

**ОЦЕНКА БИОАДГЕЗИИ И АБСОРБЦИИ ПЕГИЛИРОВАННОГО С ПОМОЩЬЮ
ТЕХНОЛОГИИ ЭЛЕКТРОННО-ЛУЧЕВОГО СИНТЕЗА ИНТЕРФЕРОНА
В РАЗНЫХ ОТДЕЛАХ КИШЕЧНИКА**

Д.Н. КИНСИТ^{*}, К.И. ЕРШОВ^{*}, А.Г. ЛАСТОВЕЦКИЙ^{**}, В.В. УДУТ^{***}, К.Ю. КИТАНИНА^{****}

^{*}ФГБУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России»,
Красный пр., 52, г. Новосибирск, 630091, Россия, e-mail: kinsht@scpb.ru

^{**}Центральный НИИ организации и информатизации здравоохранения,
ул. Добролюбова, 11, Москва, 127254, Россия

^{***}ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»,
НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга,
пр. Ленина, 3, г. Томск, 634028, Россия

^{****}Тульский государственный университет, пр-т Ленина, д. 92, Тула, 300028, Россия

Аннотация. Для успешного лечения энтеровирусной инфекции потенциальный лекарственный препарат, помимо специфичности действия, должен иметь особые фармакокинетические свойства, позволяющие ему представлять на протяжении желудочно-кишечного тракта в достаточной терапевтической концентрации. Цель исследования – визуализация распределения белковых молекул интерферона α -2b, иммобилизованного на полиэтиленгликоле-1500 с помощью технологии электронно-лучевого синтеза, в разных отделах кишечника. Для визуализации распределения в кишечнике использовался препарат, меченый флуоресцеинизотиоцианатом.

В кишечнике крыс под инъекционным наркозом с проксимальной и дистальной сторон фиксировали трубки для растворов. После промывания фрагментов кишечника проводили перфузию раствора интерферона, меченого ФИТЦ. Извлекали образцы кишечника, ткань нарезали на криостате, проводили исследования на приборе LSM 710 методом конфокальной микроскопии. Показано, что пегелированный с помощью технологии электронно-лучевого синтеза интерферон α 2-b обладает выраженной биоадгезией на слизистой кишечной стенки. Степень биоадгезии пегелированного с помощью технологии электронно-лучевого синтеза интерферона α 2-b, меченого ФИТЦ, на всем протяжении тонкого кишечника (*duodenum, jejunum, ileum*) одинаково велика. Наиболее выражена степень абсорбции в двенадцатиперстной и тощей кишке. В толстом кишечнике биоадгезия пегелированного с помощью технологии электронно-лучевого синтеза интерферона α 2-b, меченого ФИТЦ, менее выражена, чем в тонком кишечнике. Абсорбция осуществляется преимущественно в слепой и прямой кишке. Таким образом, изучаемый препарат можно рассматривать как прототип перорального лекарственного средства для лечения энтеровирусной инфекции.

Ключевые слова: энтеровирусная инфекция, интерферон, интерферон α 2-b, иммобилизация, конфокальная микроскопия, кишечник.

**EVALUATION OF BIOADHESION AND ABSORPTION PEGYLATED BY USING ELECTRON
BEAM TECHNOLOGY SYNTHESIS INTERFERON AT VARIOUS SECTIONS OF THE INTESTINE**

D.N. KINSHT^{*}, K.I. ERSHOV^{*}, A.G. LASTOVETSKIY^{**}, V.V. UDUT^{***}, K.YU. KITANINA^{****}

^{*}Novosibirsk State Medical University, Krasny av., 52, Novosibirsk, 630091, Russia

^{**}Central Research Institute to Organizations and Informatization of the Public Health,
Dobrolyubov str., 11, Moscow, 127254, Russia

^{***}Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine,
Lenin av., 3, Tomsk, 634028, Russia

^{****}Tula State University, Lenin av. 92, Tula, 300028, Russia

Abstract. For successful treatment of enteroviral infections potential drug addition to specificity of action should have special pharmacokinetic properties, who allow it to exist in the gastrointestinal tract in sufficient therapeutic concentration. The purpose of this study is visualization of distribution in different sections of the intestine protein molecules of interferon α -2b immobilized on polyethylene glycol-1500 by using technology of electron-beam synthesis.

To visualize the distribution in the intestines used the drug marked fluorescein isothiocyanate. In anesthetized rats into intestines were fixed the tubes for the solutes in proximal and distal sides. After washing of fragments of intestinal carried perfused solution FITC-labeled interferon. An extracted intestines pattern was sliced

to the cryostat and samples were studied by the confocal microscopy, the microscope LSM 710. Immobilized on polyethylene glycol-1500 by using technology of electron-beam synthesis interferon α -2b has significant bioadhesion on the intestinal mucosa. The degree of bioadhesion of the FITC labeled pegylated by using electron beam technology synthesis interferon α 2-b throughout the small intestine (duodenum, jejunum and ileum) is equally large. Most expressed the degree of absorption in the duodenum and jejunum. Bioadhesion the FITC labeled pegylated by using electron beam technology synthesis interferon α 2-b in colon is less pronounced than in the small intestine. Absorption is carried out mainly in the cecum and rectum. Thus, the tested preparation can be considered as a prototype of an oral medication for the treatment of enterovirus infection.

Key words: enterovirus infection, interferon, interferon α 2-b, immobilization, confocal microscopy, intestines

Введение. Энтеновирусная инфекция распространена повсеместно, но её терапия представляет определенные трудности [16, 19, 23]. Специфической терапии энтеновирусной инфекции к настоящему времени не существует [8, 22].

Несмотря на разработку и внедрение противовирусных и иммуотропных препаратов, возможности высокоэффективного лечения энтеновирусной инфекции ограничены. Это обусловлено, прежде всего, спецификой жизнедеятельности энтеновирусов, их тропностью к эпителию кишечника. Лекарственные препараты, позиционированные как противовирусные и иммуотропные не в состоянии обеспечить должной терапевтической концентрации в желудочно-кишечном тракте по причинам быстрого разрушения ферментами верхних отделов желудочно-кишечного тракта и всасывания в системный кровоток из тощей кишки. Таким образом, для успешного лечения энтеновирусной инфекции потенциальный лекарственный препарат помимо специфичности действия должен иметь особые фармакологические свойства, позволяющие ему представлять на всём протяжении желудочно-кишечного тракта в достаточной терапевтической концентрации и проникать в интерстиций кишечной стенки.

Клинический опыт лечения инфекционных вирусных заболеваний свидетельствует о высоком терапевтическом потенциале лекарственных препаратов на основе рекомбинантных интерферонов. Противовирусный эффект интерферона при энтеновирусной инфекции был неоднократно показан в различных исследованиях [9-15]. Однако у интерферонов, как и других белков, малая устойчивость в агрессивной среде желудочно-кишечного тракта и низкая энтеральная биодоступность.

В то же время, решение задачи, связанной с биодоступностью белковых препаратов при пероральном применении, с успехом осуществлено с помощью использования технологии радиационного синтеза [2, 3]. Радиационный синтез позволяет создавать конъюгаты интерферона и полимера, которые, с одной стороны, существенно не нарушают фармакодинамических свойств интерферона, а с другой – выгодно улучшают его фармакокинетические свойства. Такой синтез осуществляется с помощью применения направленного потока ускоренных электронов с использованием широкого диапазона энергии электронов (1-5 МэВ) и доз от 0,5 до 6 Мрад [4].

Имм-ИФН α -2b – лекарственный препарат, предлагаемый для лечения энтеновирусной инфекции, но помимо специфичности своего действия он должен обладать особыми фармакокинетическими свойствами, которые позволили бы ему представлять на всём протяжении ЖКТ в достаточной терапевтической концентрации, а также проникать в интерстиций кишечной стенки [6].

В настоящий момент в мире наблюдается значительный интерес к концепции биоадгезии препаратов [18, 21]. Во-первых, это может способствовать увеличению транзитного времени нахождения препарата в ЖКТ, в результате лекарственный препарат может обладать более пролонгированным эффектом. Во-вторых, мукоадгезивные препараты способны равномерно распределяться на слизистой оболочке, способствуя более эффективному использованию площади поверхности кишечника [20]. В-третьих, с помощью биоадгезии можно локализовать эффект препарата и увеличить его градиент концентрации с поверхностью слизистой оболочки в том или ином отделе ЖКТ [17]. Способность контролировать адгезивные свойства, и, как следствие, возможность его абсорбции в кишечнике является одним из ключевых факторов, влияющих на разработку и внедрение новых пероральных препаратов.

Цель исследования – визуализация распределения белковых молекул интерферона α -2b, иммобилизованного на полиэтиленгликоле-1500 с помощью технологии электронно-лучевого синтеза (имм-ИФН), в разных отделах кишечника.

Задачи исследования:

1. Оценка биоадгезии интерферона α 2-b, пегилированного с помощью технологии электронно-лучевого синтеза, на слизистой кишечной стенки в разных отделах кишечника.
2. Оценка абсорбции интерферона α 2-b, пегилированного с помощью технологии электронно-лучевого синтеза, в разных отделах кишечника.

Материалы и методы исследования. Имм-ИФН α -2b получали с помощью облучения пучком электронов в дозе 1,5 Мрад предварительно замороженной при минус 70°C смеси рекомбинантного ИФН α -2b с 5% раствором полиэтиленгликоля-1500 по методике, изложенной в пат. № 2409669 РФ [5].

Для визуализации распределения в кишечнике использовался имм-ИФН, меченый флуоресцеинизотиоцианатом (ФИТЦ). Мечение имм-ИФН ФИТЦ проводилось по методике, описанной Дж. Динглом [1]. В процессе получения имм-ИФН α -2b, меченого ФИТЦ раствор меченого белка может содержать как несвязанный ФИТЦ, так и молекулы избыточно меченого белка. Для удаления примесей непрореагировавшего ФИТЦ использовалась ультрафильтрация на центрифужных концентраторах (тип *Vivaspin, GE*), для удаления избыточно меченого белка применялась ионообменная хроматография.

В работе использовали 10 крыс *Wistar* в возрасте 4 месяцев. Содержание животных, участвующих в экспериментах, осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, Правилами лабораторной практики в Российской Федерации.

Методы исследования. Для исследования биоадгезии и адсорбции исследуемого препарата в разных отделах кишечника крысам под инъекционным наркозом (смесь ксилозина и золетила) после срединной лапаротомии в кишке (*duodenum, jejunum, ileum, caecum, rectum, colon ascendens, transversum, descendens, sigmoideum*) с проксимальной и дистальной сторон фиксировали трубки для растворов (входящая, выходящая). Длина выбранного фрагмента кишечника составляла 10 см, просвет промывали физиологическим раствором для удаления химуса и зашивали брюшную полость.

Перед инкубированием растворов в кишке базальную температуру крысы повышали с +34 до +37 °С путем нагревания тела крысы струей теплого воздуха.

Для перфузии использовали фосфатно-солевого буфера (ФСБ) с содержанием имм-ИФН α -2b 30 мкг/мл (*pH 7,4*). После инкубации в кишке в течение 60 мин при постоянной температуре +37,7±1,0 °С. Далее промывали кишечник ФСБ и фиксировали фрагмент на 60 мин в 4% формалине на 0,01 М ФСБ (*pH 7,3*), после чего дважды отмывали ФСБ. Фрагменты в 30% раствор сахарозы на ФСБ в течение 12 ч при 4 °С. Далее извлекали образцы, удаляли избыток раствора фильтровальной бумагой и замораживали при температуре –20 °С. В последующем ткань нарезают на криостате, на срезы наносили реактив, предохраняющий флуоресцентные образцы от выцветания с *DAPI (ProLong® Gold Antifade Reagent with DAPI)* и накрывали покровным стеклом. Исследования проводили на приборе *LSM 710 («Zeiss», Германия)* методом конфокальной микроскопии с использованием фильтров *MBS 458/561, MBS 405, MBS 488*, увеличение $\times 20$.

Результаты и их обсуждение. Полученные с помощью конфокальной микроскопии снимки, позволяют получить наглядное представление о степени и особенностях адсорбции препарата имм-ИФН (рис.1). ФИТЦ обеспечивает зеленое свечение меченого имм-ИФН. Так, при инкубации препарата, видно, что имм-ИФН α -2b, меченый ФИТЦ, активно адсорбируется на всей поверхности кишечных ворсин во всех отделах тонкого кишечника – в двенадцатиперстной, тощей и подвздошных кишках (рис. 1 *A, B, C*). Наиболее выражена степень адсорбции в *duodenum* и *jejunum*.

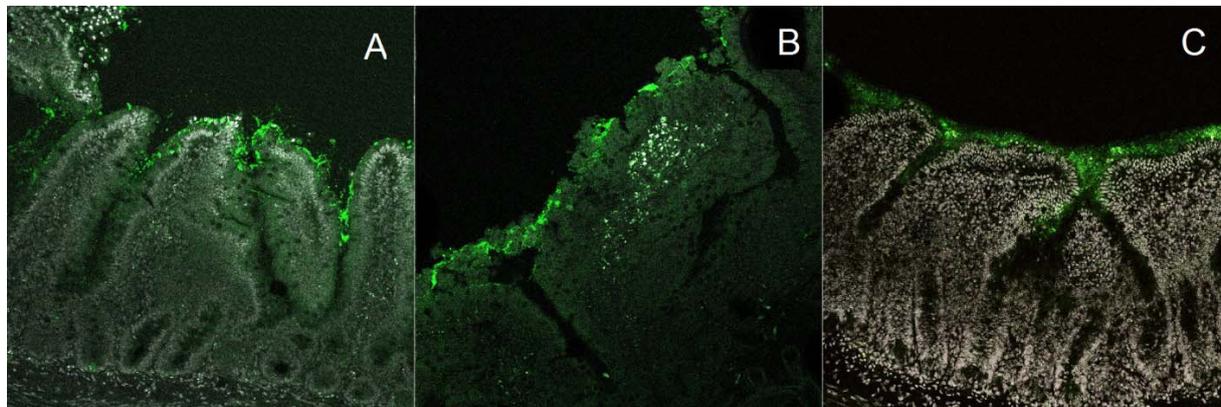


Рис. 1. Конфокальные снимки после 60 мин инкубации раствора иммобилизованного интерферона α -2b, меченого ФИТЦ, в тонкой кишке крыс. *A* – двенадцатиперстная кишка (*duodenum*); *B* – тощая кишка (*jejunum*); *C* – подвздошная кишка (*ileum*) (увеличение $\times 20$)

На конфокальных снимках после инкубации раствора имм-ИФН α -2b, меченого ФИТЦ, в толстом кишечнике заметна меньшая степень адсорбции препарата на слизистой в слепой кишке, но он адгезируется по всей длине кишечной ворсины (рис. 2 *B, C, D, E*) наблюдается схожая тенденция: имм-ИФН α -2b, меченый ФИТЦ, фрагментарно адгезируется лишь на апикальном полюсе кишечных ворсин, при этом степень свечения внутренней стромы ворсин остается на уровне автофлуоресценции. В прямой кишке четко различается присутствие имм-ИФН α -2b, меченого ФИТЦ, он активно адгезируется на слизистой оболочке кишки и детектируется внутри кишечных ворсин, что указывает на высокую степень адсорбции данного препарата (рис. 2 *F*).

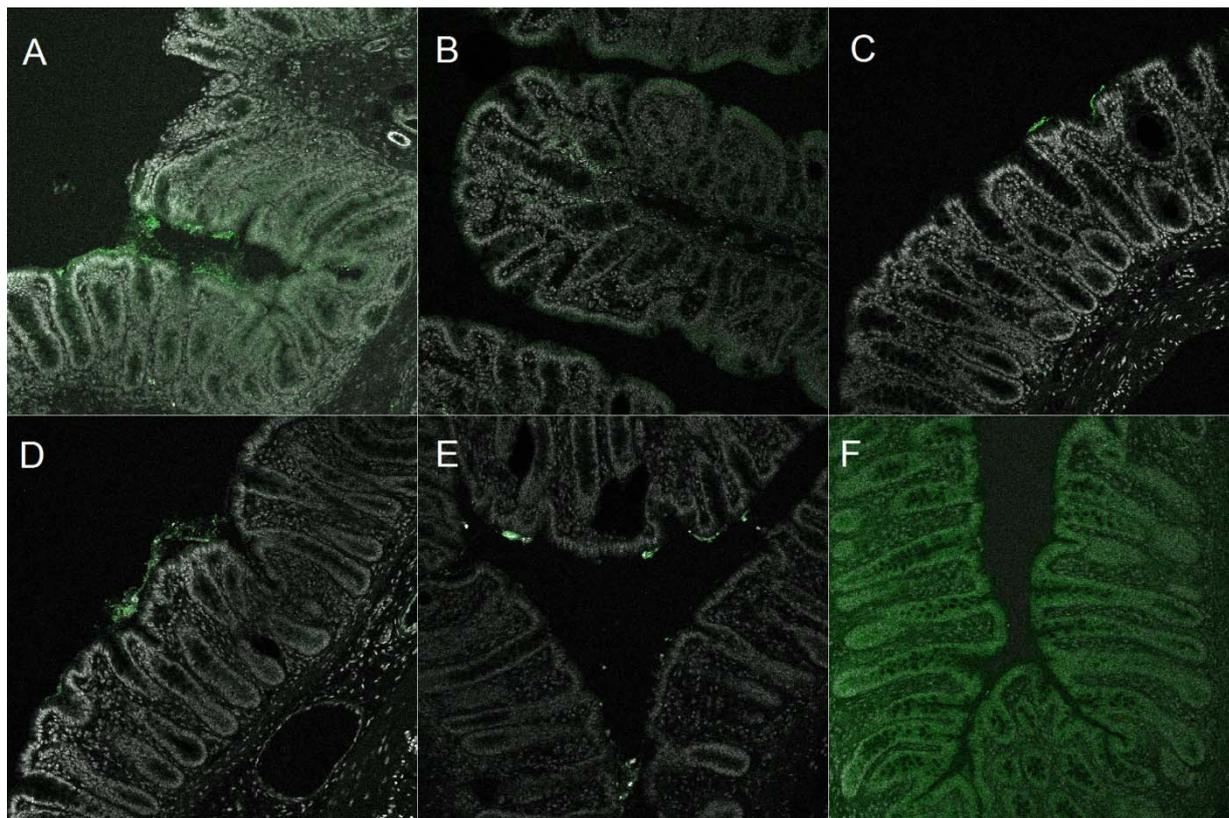


Рис. 2. Конфокальные снимки после 60 мин инкубации раствора иммобилизованного интерферона α -2b, меченого ФИТЦ, в толстой кишке крыс *Wistar*. А – слепая кишка (*caecum*); В – восходящая ободочная кишка (*colon ascendens*); С – поперечная ободочная кишка (*colon transversum*); D – нисходящая ободочная кишка (*colon descendens*); E – сигмовидная кишка (*colon sigmoideum*); F – прямая кишка (*rectum*) (увеличение $\times 20$)

Известно, что около 90% от общей абсорбции всех питательных веществ приходится на тонкий кишечник, он является главной пищеварительной и всасывающей областью ЖКТ. С этим отчетливо коррелируют полученные экспериментальные данные. Так, в большинстве случаев, на конфокальных снимках, полученных в результате исследования, наблюдалась выраженная биоадгезия на всем протяжении тонкого кишечника и высокая адсорбция имм-ИФН α -2b по всей длине кишечных ворсин. Известно, что существует прямая связь между биоадгезией и абсорбцией препарата [7]. Поэтому правомерно утверждать, что тонкий отдел кишечника является основным местом абсорбции имм-ИФН α -2b. Помимо этого, во внутренней строме кишечных ворсин (*duodenum, jejunum*) заметна флуоресценция имм-ИФН α -2b, меченого ФИТЦ, выраженная выше фоновой, что дополнительно свидетельствует о происходящей абсорбции препарата.

В проксимальных отделах толстой кишки (*caecum, colon ascendens, transversum, descendens, sigmoideum*) степень биоадгезии имм-ИФН α -2b, меченого ФИТЦ, была значительно ниже, чем в тонкой кишке. Это объясняется спецификой всасывания – в толстом отделе кишки абсорбируется лишь вода и витамины. Полученные результаты с имм-ИФН α -2b свидетельствуют о низкой степени проницаемости препарата через муцин содержащий слой в проксимальном отделе толстой кишки.

В прямой кишке степень адгезии исследуемого препарата выражена по всей площади слизистой оболочки. Во внутренней строме наблюдается присутствие имм-ИФН α -2b, меченого ФИТЦ, выше фонового уровня, что свидетельствует о высокой абсорбции препарата. Следовательно, путь введения *per rectum* может являться дополнительным способом введения для данного препарата.

Выводы:

1. Пегилированный с помощью технологии электронно-лучевого синтеза интерферон α 2-b обладает выраженной биоадгезией на слизистой кишечной стенке. Степень биоадгезии пегилированного с помощью технологии электронно-лучевого синтеза интерферона α 2-b, меченого ФИТЦ, на всем протяжении тонкого кишечника (*duodenum, jejunum, ileum*) одинаково велика. В толстом кишечнике биоадгезия пегилированного с помощью технологии электронно-лучевого синтеза интерферона α 2-b, меченого ФИТЦ, менее выражена, чем в тонком кишечнике.

2. Наиболее выражена степень абсорбции в двенадцатиперстной и тощей кишке. В толстом кишечнике абсорбция осуществляется преимущественно в слепой и прямой кишке.

3. Выраженная биоадгезия пегилированного с помощью технологии электронно-лучевого синтеза интерферона $\alpha 2$ -b на слизистой кишечной стенки в сочетании с абсорбцией в двенадцатиперстной и тощей кишке позволяет рассматривать данное лекарственное средство как прототип перорального средства для лечения энтеровирусной инфекции.

Литература

1. Дингл Дж. Лизосомы. Методы исследования. М.: Мир, 1980. 342 с.
2. Дыгай А.М., Верещагин Е.И., Жданов В.В., Зюзьев Г.Н., Ермакова Н.Н., Мадонов П.Г., Мирошниченко Л.А., Минакова М.Ю., Симанина Е.В., Ставрова Л.А., Удут Е.В., Фирсова Т.В., Хричкова Т.Ю. Механизмы гранулоцитопозестимулирующей активности иммобилизованного гранулоцитарного колонистимулирующего фактора при цитостатической миелосупрессии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2009. № 148(1). С. 60–64.
3. Дыгай А.М., Зюзьев Г.Н., Чурин А.А., Жданов В.В., Артамонов А.В., Бекарев А.А., Мадонов П.Г., Киншт Д.Н., Фомина Т.И., Ветошкина Т.В., Дубская Т.Ю., Ермолаева Л.А., Удут Е.В., Мирошниченко Л.А., Симанина Е.В., Ставрова Л.А., Чайковский А.В., Маркова Т.С., Минакова М.Ю., Рейхард Д.В. Фармакологические свойства пегилированного с помощью нанотехнологии электронно-лучевого синтеза соматотропина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012. №153(2). С. 232–234.
4. Дубровин А.В., Мадонов П.Г., Ершов К.И., Заполоцкий Е.Н., Мирошников П.Н., Шилова М.А., Киншт Д.Н. Электронно-лучевая модификация препаратов белковой природы для улучшения их фармакологических свойств // Медицина и образование в Сибири: сетевое научное издание. 2013. №4. URL: http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1115.
5. Верещагин Е.И., Бекарев А.А., Артамонов А.В. Способ иммобилизации биологически активного вещества (БАВ) на носитель (варианты) и конъюгат БАВ-носитель, полученный данными способами, 2008. Пат. № 2409669 РФ
6. Шерстобоев Е.Ю., Шитикова О.Г., Масная Н.В., Данилец М.Г., Трофимова Е.С., Лигачева А.А., Мадонов П.Г., Киншт Д.Н., Ершов К.И., Шилова М.А. Иммунотропные свойства иммобилизованного интерферона альфа-2b // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2016. №161(5). С. 637–641.
7. Arangoa M.A., Ponchel G., Orecchioni A.M., Renedo M.J., Duchêne D., Irache J.M. // European Journal of Pharmaceutical Sciences. 2000. Vol. 11, №4. P. 333–341.
8. Chen T.C., Weng K.F., Chang S.C., Lin J.Y., Huang P.N., Shih S.R. Development of antiviral agents for enteroviruses // J Antimicrob Chemother. 2008. Vol. 62, № 6. P. 1169–1173.
9. Heim A., Brehm C., Stille-Siegener M., Mullerm G., Hakem S., Kandolf R., Figulla H. R. Cultured human myocardial fibroblasts of pediatric origin: natural human interferon-alpha is more effective than recombinant interferon-alpha 2a in carrier-state coxsackievirus B3 replication // J. Mol. Cell. Cardiol. 1995. Vol. 27, №10. P. 2199–2208.
10. Heim A., Grumbach I., Pring-Akerblom P., Stille-Siegener M., Muller G., Kandolf R., Figulla H. R. Inhibition of coxsackievirus B3 carrier state infection of cultured human myocardial fibroblasts by ribavirin and human natural interferon-alpha // Antivir. Res. 1997. Vol. 34, № 3. P. 101–111.
11. Kandolf R., Canu A., Hofschneider P. H. Coxsackie B3 virus can replicate in cultured human foetal heart cells and is inhibited by interferon // J. Mol. Cell. Cardiol. 1985. Vol. 17, № 2. P. 167–274.
12. Matsumori A., Crumpacker C. S., Abelman W. H. Prevention of viral myocarditis with recombinant human leukocyte interferon alpha A/D in a murine model // J. Am. Coll. Cardiol. 1987. Vol. 9, № 6. P. 1320–1325.
13. Matsumori A., Tomioka N., Kawai C. Protective effect of recombinant alpha interferon on coxsackievirus B3 myocarditis in mice // Am. Heart J. 1988. Vol. 115, № 6. P. 1229–1232.
14. Okada I., Matsumori A., Matoba Y., Tominaga M., Yamada T., Kawai C. Combination treatment with ribavirin and interferon for coxsackievirus B3 replication // J. Lab. Clin. Med. 1992. Vol. 120, № 4. P. 569–573.
15. Padalko E., Nuyens D., De Palma A., Verbeken E., Aerts J.L., De Clercq E., Carmeliet P., Neyts J. The interferon inducer ampligen [poly(I)-poly(C12U)] markedly protects mice against coxsackie B3 virus-induced myocarditis // Antimicrob Agents Chemother. 2004. Vol. 48, № 1. P. 267–274.
16. Pallansch M.A., Roos R.P. Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses // In Fields Virology. 4th edition. Edited by Knippe D.M., Howley P.M. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins. 2001. P. 723–775.
17. Ponchel G., J-M. Irache Specific and non-specific bioadhesive particulate systems for oral delivery to the gastrointestinal tract // Advanced Drug Delivery Reviews. 1998. Vol. 34, №2. P. 191–219.
18. Rahmat D., Muller C., Barthelmes J., Shahnaz G., Martien R. A.B. Thiolated hydroxyethyl cellulose: design and in vitro evaluation of mucoadhesive and permeation enhancing nanoparticle // European Journal of

Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2013. Vol. 83, № 2. P. 149–155.

19. Richman D.D., Whitley R.J., Hayden F.G. Clinical virology (In: Rotbart H.A., editor) Enteroviruses // Washington, DC, USA: ASM Press; 2002. P. 971–994.

20. Smart J. D. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion // Advanced Drug Delivery Reviews. 2005. Vol. 57, №11. P. 1556–1568.

21. Srivalli, K.M.R., Lakshmi P.K., Balasubramaniam J. Design of a novel bilayered gastric mucoadhesive system for localized and unidirectional release of lamotrigine // Saudi Pharmaceutical Journal. 2013. Vol. 21, №1. P. 45–52.

22. Tan E.L., Tan T.M., Tak Kwong Chow V., Poh C.L. Inhibition of enterovirus 71 in virus-infected mice by RNA interference // Mol Ther. 2007. Vol. 15, № 11. P. 1931–1938.

23. Yeung W.C., Rawlinson W.D., Craig M.E. Enterovirus infection and type 1 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis of observational molecular studies // BMJ. 2011. Vol. 3. P. 1–9.

References

1. Dingl Dzh. Lizosomy. Metody issledovaniya [Lysosomes. Research methods]. Moscow: Mir; 1980. Russian.
2. Dygay AM, Vereshchagin EI, Zhdanov VV, Zyuz'kov GN, Ermakova NN, Madonov PG, Miroshnichenko LA, Minakova Mu, Simanina EV, Stavrova LA, Udut EV, Firsova TV, Khrichkova TYu. Mekhanizmy granulotsitopoezstimuliruyushchey aktivnosti immobilizirovannogo granulotsitarnogo koloniestimuliruyushchego faktora pri tsitostaticheskoy mielosupressii [the Mechanisms granulocytopenia activity of immobilized granulocytic colony-stimulating factor in cytostatic myelosuppression]. Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny. 2009;148(1):60-4. Russian.
3. Dygay AM, Zyuz'kov GN, Churin AA, Zhdanov VV, Artamonov AV, Bekarev AA, Madonov PG, Kinsht DN, Fomina TI, Vetoshkina TV, Dubskaya TY, Ermolaeva LA, Udut EV, Miroshnichenko LA, Simanina EV, Stavrova LA, Chaykovskiy AV, Markova TS, Minakova MY, Reykhard DV. Farmakologicheskie svoystva pegilirovannogo s pomoshch'yu nanotekhnologii elektronno-luchevogo sinteza somatotropina [Reichard Pharmacological properties of pegylated using nanotechnology electron-beam synthesis of somatotropin]. Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny. 2012;153(2):232-4. Russian.
4. Dubrovin AV, Madonov PG, Ershov KI, Zapolotskiy EN, Miroshnikov PN, Shilova MA, Kinsht DN. Elektronno-luchevaya modifikatsiya preparatov belkovoy prirody dlya uluchsheniya ikh farmakologicheskikh svoystv [Electron beam modification of drugs protein nature for improvement of their pharmacological properties]. Meditsina i obrazovanie v Sibiri: setevoe nauchnoe izdanie. 2013;4. Russian. Available from: http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1115.
5. Vereshchagin EI, Bekarev AA, Artamonov AV. Sposob immobilizatsii biologicheskii aktivnogo veshchestva (BAV) na nositel' (varianty) i kon'yugat BAV-nositel', poluchennyi dannymi sposobami [Method of immobilizing biologically active substances (BAS) on carrier (versions) and conjugate BAS-carrier obtained by these methods]; 2008. Pat. № 2409669 Russian Federation.
6. Sherstoboev EY, Shitikova OG, Masnaya NV, Danilets MG, Trofimova ES, Ligacheva AA, Madonov PG, Kinsht DN, Ershov KI, Shilova MA. Immunotropnye svoystva immobilizirovannogo interferona alfa-2b [Immunotropic properties of immobilizer-ized interferon Alfa-2b]. Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny. 2016;161(5):637-41. Russian.
7. Arango MA, Ponchel G, Orecchioni AM, Renedo MJ, Duchêne D, Irache JM. European Journal of Pharmaceutical Sciences. 2000;11(4):333-41.
8. Chen TC, Weng KF, Chang SC, Lin JY, Huang PN, Shih SR. Development of antiviral agents for enteroviruses. J Antimicrob Chemother. 2008;62(6):1169-73.
9. Heim A, Brehm C, Stille-Siegenger M, Mullerm G, Hakem S, Kandolf R, Figulla HR. Cultured human myocardial fibroblasts of pediatric origin: natural human interferon-alpha is more effective than recombinant interferon-alpha 2a in carrier-state coxsackievirus B3 replication. J. Mol. Cell. Cardiol. 1995;27(10):2199-208.
10. Heim A, Grumbach I, Pring-Akerblom P, Stille-Siegenger M, Muller G, Kandolf R, Figulla HR. Inhibition of coxsackievirus B3 carrier state infection of cultured human myocardial fibroblasts by ribavirin and human natural interferon-alpha. Antivir. Res. 1997;34(3):101-11.
11. Kandolf R, Canu A, Hofschneider PH. Coxsackie B3 virus can replicate in cultured human foetal heart cells and is inhibited by interferon. J. Mol. Cell. Cardiol. 1985;17(2):167-274.
12. Matsumori A, Crumpacker CS, Abelman W H. Prevention of viral myocarditis with re-combinant human leukocyte interferon alpha A/D in a murine model. J. Am. Coll. Cardiol. 1987;9(6):1320-5.
13. Matsumori A, Tomioka N, Kawai C. Protective effect of recombinant alpha interferon on coxsackievirus B3 myocarditis in mice. Am. Heart J. 1988;115(6):1229-32.
14. Okada I, Matsumori A, Matoba Y, Tominaga M, Yamada T, Kawai C. Combination treatment with ribavirin and interferon for coxsackievirus B3 replication. J. Lab. Clin. Med. 1992;120(4):569-73.

15. Padalko E, Nuyens D, De Palma A, Verbeken E, Aerts JL, De Clercq E, Carmeliet P, Neyts J. The interferon inducer amplitgen [poly(I)-poly(C12U)] markedly protects mice against coxsackie B3 virus-induced myocarditis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48(1):267-74.

16. Pallansch MA, Roos RP. Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses. In *Fields Virology*. 4th edition. Edited by Knippe D.M., Howley P.M. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins. 2001;723-75.

17. Ponchel G, JM. Irache Specific and non-specific bioadhesive particulate systems for oral delivery to the gastrointestinal tract. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 1998;34(2):191-219.

18. Rahmat D, Muller C, Barthelmes J, Shahnaz G, Martien RAB. Thiolated hydroxyethyl cellulose: design and in vitro evaluation of mucoadhesive and permeation enhancing nanoparticle. *Euro-pean Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.* 2013;83(2):149-55.

19. Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. *Clinical virology* (In: Rotbart H.A., editor) Enteroviruses. Washington, DC, USA: ASM Press; 2002.

20. Smart JD. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 2005;57(11):1556-68.

21. Srivalli KMR., Lakshmi PK, Balasubramaniam J. Design of a novel bilayered gastric mucoadhesive system for localized and unidirectional release of lamotrigine. *Saudi Pharmaceutical Journal.* 2013;21(1):45-52.

22. Tan EL, Tan TM, Tak Kwong Chow V, Poh CL. Inhibition of enterovirus 71 in virus-infected mice by RNA interference. *Mol Ther.* 2007;15(11):1931-8.

23. Yeung WC, Rawlinson WD, Craig ME. Enterovirus infection and type 1 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis of observational molecular studies. *BMJ.* 2011;3:1-9.

Библиографическая ссылка:

Киншт Д.Н., Ершов К.И., Ластовецкий А.Г., Удут В.В., Китанина К.Ю. Оценка биоадгезии и абсорбции пегилированного с помощью технологии электронно-лучевого синтеза интерферона в разных отделах кишечника // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2017. №4. Публикация 2-21. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2017-4/2-21.pdf> (дата обращения: 06.12.2017). DOI: 10.12737/article_5a3214e4631275.53211648.