



(19) **HU**

MAGYAR KÖZTÁRSASÁG
Magyar Szabadalmi Hivatal

(11) Lajstromszám: **226 455**

(13) **B1**

SZABADALMI LEÍRÁS

(21) A bejelentés ügyszáma: **P 94 00984**

(22) A bejelentés napja: **1992. 10. 05.**

(40) A közzététel napja: **1995. 01. 30.**

(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlöny és Védjegyértesítőben: **2008. 12. 29.**

(51) Int. Cl.: **A61K 38/21** (2006.01)

(86) A nemzetközi (PCT) bejelentési szám:

PCT/US 92/08479

(87) A nemzetközi közzétételi szám: **WO 9306847**

(30) Elsőbbségi adatok:

773 382 **1991. 10. 07.** **US**

(72) Feltalálók:

**Czarniecki, Christine, San Francisco,
Kalifornia (US);
Klein, Jon B., Louisville, Kentucky (US);
Slater A. David, Louisville, Kentucky (US);
Sonnenfeld Gerald, Louisville, Kentucky (US)**

(73) Jogosult:

**GENENTECH Inc., South San Francisco,
Kalifornia (US)**

(74) Képviselő:

ADVOPATENT Szabadalmi Iroda, Budapest

(54) **Eljárás transzplantátumot befogadó szervezetekben előforduló fertőzések kezelésére
alkalmas gamma-interferont tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására**

(57) Kivonat

A találmány tárgya eljárás a transzplantátumot befogadó szervezetekben fellépő mikrobiális fertőzések kezelésére alkalmas, gamma-interferontartalmú gyógyszerkészítmények előállítására.

A gyógyszerkészítmény előállításánál hatóanyagként gamma-interferont, interleukin-2-t vagy ezek kom-

binációját a szokásos hordozó-, hígító- és/vagy segédanyagokkal összekeverik, és transzplantáció utáni fenntartó immunsuppresszív terápiának alávetett szervezetekben fellépő mikrobiális fertőzések megelőzésére vagy kezelésére alkalmas gyógyszerkészítménnyé alakítják.

HU 226 455 B1

A találmány – általánosan megfogalmazva – a transzplantátumot befogadó (vagy másképpen: transzplantált) betegekben fellépő mikrobiális fertőzések megelőzésére és kezelésére vonatkozik. Közelebbről a találmány egyik tárgya eljárás limfokinek és különösen gamma-interferon (γ -IFN) alkalmazására a transzplantátumot befogadó szervezetekben előforduló mikrobiális fertőzések megelőzése és kezelése céljából, oly módon, amelynek során az említett anyagok alkalmazása nem növeli meg az átültetett anyagok kilökődésének gyakoriságát. A találmány másik tárgya eljárás a transzplantátumot befogadó szervezetekben előforduló, fertőzéssel kapcsolatos szervkilökődés elkerülésére.

A klinikai gyakorlatban jól ismert, hogy a transzplantációt követő fertőzésekkel kapcsolatos komplikációk az allograft (átültetett idegen anyag) kilökődését eredményezhetik. Minden tizedik, a kórházi kezelés alatt mikrobiális infekciót szerzett vagy mikroorganizmusoknak tulajdonítható fertőzéstől szenvedő transzplantált beteg már a kórházi felvétel idején magában hordozza a kórokozókat. A mikrobiális infekció jelenti a transzplantáció eredményességének egyik legfőbb korlátozó tényezőjét. Ez annál is inkább így van, hogy a transzplantált betegekben az allograft kilökődésének megakadályozásához szükséges immunszuppresszió nagymértékben korlátozza a szervezetben lévő fertőzések leküzdése során végzett hagyományos antimikrobiális kezelés eredményességét [Rolston *et al.*, *Hospital Formul.* 22, 710 (1987); Glenn *et al.*, *Rev. Infec. Dis.* 10, 42 (1988); Young, L. S., *J. Infec. Dis.* 147, 611 (1983); Delgado *et al.*, *South Med. J.* 73, 627 (1980); Schipff, S. C., *Current Concepts in Antibiotic Therapy for Febrile Episodes in Neutropenic Patients*, 7. oldal, Eli Lilly and Co., Indianapolis, Indiana, Amerikai Egyesült Államok (1983)].

A transzplantált betegekben előforduló mikrobiális fertőzések kontrolljának egyik lehetséges módja az immunválasz fokozására szolgáló, biológiai választ módosító anyagok (immunmodulátorok) alkalmazása lenne. Ezt az elképzelést – nem transzplantációval kapcsolatos – trauma/infekciós állati modellekben gamma-interferon alkalmazásával már sikeresen megvalósították. Különböző típusú sérülési (trauma) modelleknek alávetett rágcsálókat immunszuppresszáltak, majd az ezt követő bakteriális fertőzés hatására jelentős mortalitásnövekedést tapasztaltak. A rágcsálók murin (egér/patkány) gamma-interferonnal végzett profilaktikus vagy terápiás kezelése több modellben fokozott túlélést eredményezett [Hershman *et al.*, *Microb. Pathogen.* 4, 165 (1988); *J. Interferon Res.* 8, 367 (1988); *Clin. Exp. Immunol.* 73, 406 (1988); és *Infec. Immun.* 56, 2412 (1988); Livingston, D. H. & Malangoni, M. A., *J. Surg. Res.* 45, 37 (1988)]. Ugyanakkor a gamma-interferonnak a transzplantált betegekben előforduló fertőzések kontrolljára történő alkalmazásával kapcsolatban igen szigorú ellenvetésekkel találkozunk ezekben a publikációkban.

Ismert, hogy a fő hisztokompatibilitási komplex génnek által kódolt sejtmembrán-molekulák döntő szerepet játszanak az immunrendszer és egy transzplantált szerv sejtjei közötti kölcsönhatásban [Thorsby, E.,

Transplant Proc. 17, 29 (1987)]. Közelebbről, a beültetett szövet fő hisztokompatibilitási komplex (major histocompatibility complex; MHC) molekulái olyan képességgel rendelkeznek, amely – a befogadó szervezetek T-sejtjeinek aktiválásával – intenzív immunválaszt indukál. Az MHC II. osztályába tartozó molekulák különösen erős transzplantációs antigénnek tűnnek [Klempnauer *et al.*, *Transplant Proc.* 17, 1987 (1985)]. Amióta ismert, hogy a gamma-interferonnal végzett immunmoduláció magában foglalja az MHC II. osztályába tartozó antigének fokozott expresszióját is [Interferons and the Immune System, Vilcek, J. & DeMaeyer, Eds., Elsevier Scientific Publishers, B. V., Amsterdam (1985)], a gamma-interferonnak a transzplantált betegek kezelése során történő alkalmazására jogos aggodalommal tekintenek. A gamma-interferon [például az interleukin-2 (IL-2)] ténylegesen az allograft kilökődésének egyik lényeges mediátora. A gamma-interferon és az interleukin-2 receptor antitestekről már kimutatták, hogy az átlatkísérletek során gátolják az allograft kilökődését [Landolfo *et al.*, *Science* 220, 176 (1985); Rosenberg *et al.*, *J. Immunol.* 144, 4648 (1990); Kirkman, R. L. *et al.*, *Transplantation* 40, 719 (1985)]. Nagyszámú vizsgálat alapján igen valószínű, hogy a limfokinek és különösen az interleukin-2, valamint a gamma-interferon képződése összefüggésben áll a vesetranszplantált betegekben fellépő kilökődési epizódokkal [Yoshimura, N. and Kahan, B. D., *Transplantation* 40, 661 (1985); Vie, H. *et al.*, *Kidney Int.* 28, 553 (1985); Claesson, K. *et al.*, *Transplantation* 38, 32 (1984)]. Megfigyelték [Woloszczuk *et al.*, *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 24, 729–734 (1986)], hogy a fertőzésekkel közvetlen összefüggésben álló vagy a fertőzésektől független kilökődési epizódok előtt megnő a gamma-interferon szérumkoncentrációja. Feltételezték, hogy ez a megfigyelés egyszerű és könnyen megvalósítható módszert kínálhat a transzplantált befogadó szervezetek immunállapotának folyamatos nyomon követésére. A vesetranszplantált befogadó szervezetekben interferonnal végzett szisztémás kezelés a szervkilökődések gyakoriságának növekedésével járt együtt [Kovarik, J. *et al.*, *Transplantation* 45, 402 (1988)]. Ennek a súlyosan hátrányos hatásnak az alapján az interferonok alkalmazása ellenjavallttá vált a vesetranszplantált betegek kezelése során [Baron *et al.*, *JAMA* 266, 1375 (1991)].

Jóllehet az, hogy a limfokinek milyen mértékben vesznek részt a szervkilökődésben, még messze nem tisztázott, sőt a gamma-interferonnal végzett terápiás kezelést követő kilökődési jelenségekkel kapcsolatos vizsgálatok bizonyos esetekben ellentétes eredményeket mutattak [McKenna, R. M. *et al.*, *Transplantation* 45, 76 (1988); Ijzermans *et al.*, *Transplantation* 48, 1039 (1989); Rosenberg *et al.*, *J. Immunol.* 144, 4648 (1990); Kover *et al.*, *Transplantation* 49, 148 (1990); Kover, K. and Moore W. V. *Transplantation Proceedings* 22, 853–85 (1990)], a gamma-interferonos kezeléssel együtt járó fokozott szervkilökődés potenciális veszélye visszatartotta az orvosokat a gamma-interferonnak a transzplantált betegekben fellépő fertőzések kezelése során történő alkalmazásától.

A transzplantált befogadó szervezetek limfokinek és különösen gamma-interferonnal végzett kezelésével kapcsolatos fenntartások, sőt ellenjavallatok még inkább jelentkeznek a ciklosporinok és a kortikoszteroidok, azaz a transzplantációban leggyakrabban alkalmazott immunuszuppresszánsok hatásmechanizmusáról mára kialakult ismereteink tükrében.

A transzplantáció során alkalmazott ciklosporinok immunuszuppresszív hatását már igen kiterjedten tanulmányozták, s az a vélemény alakult ki, hogy az immunuszuppresszív hatás elsődlegesen a ciklosporinoknak a T-sejtek által végzett limfokintermelésre gyakorolt gátlóhatásával van összefüggésben. A ciklosporin A (CsA) esetében kimutatták, hogy az *in vitro* gátolja a gamma-interferon és az interleukin-2 mRNS transzkripcióját [Kronke, M. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81, 5214 (1984); Elliot *et al.*, *Science* 226, 1439 (1984); Granelli-Piperno *et al.*, *J. Exp. Med.* 163, 922 (1986)]. Számos vizsgálat kimutatta már, hogy a ciklosporin A (CsA) segítségével végzett kezelés csökkenti a vesetranszplantált befogadó szervezetek interleukin-2 (IL-2) és gamma-interferon (γ -IFN) termelését. Például megvizsgálták [Yoshimura *et al.*, *J. Clin. Immunol. (USA)* 9, 322–328 (1989)], hogy *in vivo* a citokinek képződése és ezeknek az mRNS-szintnél lévő génexpressziója szempontjából milyen hatással van a szteroiddal alkalmazott ciklosporin A a vesetranszplantált befogadó szervezetekből származó perifériás mononukleáris vérsejtek (*peripheral blood mononuclear cells*; PBMC) kapacitására. Azt találták, hogy a ciklosporin A-val és szteroiddal végzett kombinált kezelés egyaránt gátolja a gamma-interferon és az interleukin-2 génexpresszióját.

Az immunuszuppresszánsok második fontos csoportját a kortikoszteroidok (glükokortikoidok, GCC) alkotják. Úgy tűnik, hogy az ezek immunuszuppresszív hatását kiváltó leglényegesebb celluláris mechanizmus alapját az képezi, miszerint az említett vegyületcsoport erőteljes hatással van az oldható faktorok, például a citokinek termelődésére és működésére [Guyre *et al.*, „Glucocorticoids and the immune system: activation of glucocorticoid-receptor complexes in thymus cells; modification of Fc receptors of phagocytic cells.” In: *Progress in Research and Clinical Applications of Corticosteroids*, Lee, H. J. and Walker, C. A., eds., Heyden & Son, Philadelphia, 14–27 (1981)]. Arról is beszámoltak már, hogy a glükokortikoidok blokkolják a gamma-interferon képződését [Guyre *et al.*, *J. Steroid Biochem.* 14, 35–39 (1981); Kelso, A. and Munck, A., *J. Immun.* 133, 784–791 (1984)], mivel a gamma-interferon által történő monocitaaktiválás számos paramétere változatlan vagy gátolt volt [Girard *et al.*, *J. Immun.* 138, 3235–3241 (1987)]. A glükokortikoidoknak az immuncitokinek termelődésére és működésére gyakorolt hatásáról például a következő szakirodalmi helyen található összefoglaló áttekintés: Guyre *et al.*, *J. Steroid Biochem.* 30, 89–93 (1988).

Összefoglalva, bár annak pontos mechanizmusa, hogy egy limfokin és különösen a gamma-interferon milyen szerepet játszik a szervkilökődésben, ma még

nem tisztázott, az eddigiekben publikált eredmények súlyos aggályokat vetnek fel a limfokineknek, például a gamma-interferonnak a transzplantált befogadó szervezetekben fellépő mikrobiális infekció megelőzésére és leküzdésére irányuló alkalmazásával, illetve alkalmazhatóságával kapcsolatban. Úgy tűnik, az exogén limfokinekkel végzett kezelés potenciálisan negatív hatásai lényegesen súlyosabbak, mint a mikrobiális fertőzések kezelése által elérhető hasznos eredmények.

A jelen találmány alapját az a nem várt megfigyelés képezi, hogy a limfokinek és közelebről a gamma-interferon megfelelő körülmények között mégis alkalmazható a transzplantált befogadó szervezetekben fellépő mikrobiális fertőzések megelőzése és kezelése céljára, anélkül hogy a kilökődési epizódok gyakoriságában jelentős növekedés következne be. Azt találtuk, hogy olyan klinikai körülmények között, ahol a transzplantációt követően a transzplantátumot befogadó szervezeteket rutinszerűen ciklosporin alacsony, „fenntartó” dózisaival végzett hosszú időtartamú kezelésnek vetjük alá, a gamma-interferonos kezeléssel eredményesen kontrollálhatók (megelőzhetők vagy kezelhetők) a mikrobiális infekciók, anélkül hogy a gamma-interferon hatása potenciálisan veszélyeztetné a transzplantált szerv túlélését.

A találmány egyik tárgya eljárás transzplantátumot befogadó szervezetekben fellépő mikrobiális fertőzések megelőzésére vagy kezelésére, amelynek során a transzplantátumot befogadó szervezeteket a transzplantációt követően egy antimikrobiális hatású limfokin gyógyszerileg hatásos dóziséval kezeljük, olyan körülmények között, ahol a limfokinnek a szervkilökődés fokozódását eredményező hatását elnyomjuk, miközben az antimikrobiális hatását fenntartjuk. Az antimikrobiális limfokin lehet például a gamma-interferon, interleukin-2 vagy ezek kombinációja. Az antimikrobiális limfokint előnyösen úgy alkalmazzuk, hogy a transzplantátumot befogadó szervezetet a transzplantációt követően fenntartó jellegű immunuszuppresszív terápiának vetjük alá. A fenntartó jellegű immunuszuppresszív terápia előnyösen egy vagy több immunuszuppresszáns, például ciklosporinok és/vagy szteroidok alkalmazását foglalja magában.

A találmány másik tárgya eljárás a transzplantátumot befogadó szervezetekben előforduló, fertőzéssel kapcsolatos szervkilökődés elkerülésére, amelynek során a transzplantációt követően fenntartó jellegű immunuszuppresszív terápiának alávetett transzplantátumot befogadó szervezeteket gamma-interferon gyógyszerileg hatásos dóziséval kezeljük.

A leírásban alkalmazott „limfokin” meghatározás limfoid sejtek oldékony termékeire vonatkozik, például a T-sejteknek az antigének vagy lektinek hatására történő aktivációja során kiválasztott proteinekre. A limfokinek – korlátozó jelleg nélkül – magukban foglalják például a következőket: alfa-, béta- és gamma-interferon (α -IFN, β -IFN és γ -IFN), interleukin-2 (IL-2), interleukin-3 (IL-3), alfa-(tumornekrózis-faktor) (α -TNF), valamely telepstimuláló faktor (CSF-1, CSF-G vagy CSF-GM) stb. Az „antimikrobiális” aktivitás magában

foglalja a vírusellenes (antivirális), baktériumellenes (antibakteriális), parazitaellenes és gombaellenes (antifungális) hatást. Az antimikrobiális aktivitással rendelkező limfokinek jellegzetes képviselője az alfa-interferon (α -IFN), a béta-interferon (β -IFN), a gamma-interferon (γ -IFN), az interleukin-2 (IL-2) és az alfa-(tumornekrózis-faktor) (α -TNF). Az antimikrobiális aktivitást szokásos *in vitro* és *in vivo* modellekben tesztelhetjük. A jellegzetes *in vitro* modellek esetében a monociták vagy a neutrofilek aktivitását mérjük, amelynek során az 1. példában ismertetett, triggerelt oxidatív reakció (burst) modellt alkalmazzuk [lásd még: Clifford, D. P., Repine, J. E., *Methods Enzymol.* 105, 393 (1984)]. A limfokinek, például interferonok, így a gamma-interferon antivirális, antibakteriális, parazitaellenes és antifungális aktivitásának meghatározására alkalmas *in vivo* állati (például rágszáló vagy nem humán főemlős) modellek a szakterületen általánosan ismertek, s a későbbiekben részletesebben tárgyaljuk ezeket.

A leírásban és az igénypontokban alkalmazott „gamma-interferon”, „ γ -interferon” vagy „ γ -IFN” meghatározás kiterjed a gamma-interferonok valamennyi olyan változatára, amelyek alkalmasak a fertőzéssel szembeni immunválasz aktiválására. A definíció különösen a gamma-interferon érett, pro, met vagy des(1-3) (másképpen desCysTyrCys γ -IFN) formáit foglalja magában, függetlenül attól, hogy ezeket a formákat természetes forrásból, kémiai szintézissel vagy rekombináns DNS technika alkalmazásával nyerjük.

A természetben a gamma-interferon képződését olyan idegen antigének váltják ki a T-limfocitákban, amelyekre a T-sejtek szenzitívek. Bizonyos körülmények között a természetes öltő (natural killer, NK) limfociták is termelnek gamma-interferont. A gamma-interferon rekombináns előállításáról első ízben Gray és Goeddel, valamint munkatársaik számoltak be [Gray *et al.*, *Nature* 295, 503-508 (1982)]. Ugyanerre a módszerre vonatkozik a 4,762,791, a 4,929,544, a 4,727,138, valamint a 4,925,793 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás is. A Gray és Goeddel-féle, *E. coli*-ban előállított rekombináns gamma-interferon 146 aminosavból áll, s a molekula N-terminális része a CysTyrCys szekvenciával kezdődik. Később azt találták, hogy a natív gamma-interferon (azaz az a gamma-interferon, amely humán perifériás vér limfociták mitogén indukciójából és ezt követő tisztításából származik) egy olyan polipeptid, amelyből hiányzik a Gray és munkatársai [Gray *et al.*, *Nature* 295, 503-508 (1982)] által hozzárendelt CysTyrCys N-terminális.

Nem humán állati interferonokat, köztük gamma-interferont ismertetnek például az 1983. szeptember 14-én nyilvánosságra hozott, EP 88,622 számú európai szabadalmi bejelentésben.

A leírásban és az igénypontokban alkalmazott „gamma-interferon”, „ γ -interferon” vagy „ γ -IFN” meghatározás kiterjed a gamma-interferonok különféle képpen glikozilezett formáira és egyéb variánsaira, valamint az olyan interferonszármazékokra is, amelyek egyrészt már ismertek a szakterületen, másrészt a jövőben válnak hozzáférhetővé. Az említett variánsok közé tartoz-

nak például az allélek, továbbá az oldalirányú mutagenizések termékei, amelyekben bizonyos csoportok törölve, beszűrve és/vagy helyettesítve vannak (lásd például az 1985. június 26-án nyilvánosságra hozott, EP 146,354 számú európai szabadalmi bejelentést).

Az interferonok és különösen a gamma-interferon antivirális hatását nagyszámú *in vitro* és *in vivo* modellen keresztül igen sok vírussal szemben bizonyították már a korábbiakban.

Neumann-Haefelin és munkatársai [Neumann-Haefelin *et al.*, *Med. Microbiol. Immunol.* 174, 81 (1985)] azt találták, hogy a rekombináns humán gamma-interferon (rHuIFN- γ) megakadályozza a Herpes simplex (HS) keratitis (szaruhártya-gyulladás) kialakulását az afrikai kabócamajmokban (green monkey).

Van der Meide és munkatársai [Van der Meide *et al.*, *Antiviral Research*, Suppl. 1. 199 (1985)] vaccinia-vírussal fertőzött Rhesus-majmok esetében *in vivo* összehasonlító vizsgálatokat végeztek a humán alfa-interferon (α -IFN), a humán béta-interferon (β -IFN) és a humán gamma-interferon (γ -IFN) antivirális hatása közötti különbségek megállapítása érdekében. A fertőzés alakulását úgy követték nyomon, hogy megfigyelték a bőrkárosodásokat (a papulák és pustulák megjelenését és átmérőjét). Az eredmények azt mutatták, hogy a természetes vagy rekombináns humán gamma-interferonnal intramuszkulárisan kezelt csoport esetében a bőrkárosodás lényegesen kisebb mértékű volt, mint a másik két humán interferon, azaz a humán alfa-interferon és a humán béta-interferon esetében.

A rekombináns murin gamma-interferon (rMuIFN- γ) *in vivo* antivirális aktivitását például Shalaby és munkatársai [Shalaby *et al.*, *J. Interferon Research* 5, 339 (1985)] értékelték encephalomyocarditis (EMC) vírussal fertőzött murin modell esetében. Az eredmények azt mutatták, hogy a rekombináns murin gamma-interferon képes megvédeni az egereket az EMC vírusfertőzéssel szemben. Hasonló eredményekről számolt Sim és Cerruti [Sim, I. S. and Cerruti, R. L., *Antiviral Res.* 8, 209 (1987)] is.

Fennie és munkatársai arról számoltak be [Fennie *et al.*, *Antiviral Res.* 10, 27 (1988)], hogy cytomegalovírussal (MCMV) történő fertőzést megelőzően elvégzett rekombináns murin gamma-interferonos kezelés hatására szignifikáns mértékben lecsökkent a mortalitás (elhullás) egy murinmodell esetében.

További vizsgálatok során elemezték a különféle immunmodulátorok, köztük a rekombináns murin gamma-interferon (rMuIFN- γ) hatékonyságát 2-es típusú Herpes simplex (HSV-2) vírussal, Banzi flavi vírussal, venezuelai ló encephalitis (VEE) vírussal és Caraparu bunya vírussal kísérleti célokból fertőzött egérmodellekben [Pinto *et al.*, *Intern. J. Immunopharmacology* 10, 197 (1988)].

A rekombináns patkány gamma-interferonnak (rRat-IFN- γ) a pseudorabies vírusfertőzéssel (PRV fertőzéssel) szembeni hatékonyságát immunológiai szempontból legyengített és immunszuppresszált patkányok esetében Schijns és munkatársai igazolták [Schijns *et al.*, *J. Gen. Virol.* 69, 1979 (1988)].

Jóllehet az interferonok antivirális hatását kiváltó mechanizmus ma még nem teljesen tisztázott, az már ismert, hogy az interferonok a vírusok közvetlen inaktiválása helyett közvetett módon, vírusérzékeny sejteken keresztül fejtik ki hatásukat. Az interferonok, köztük a gamma-interferon széles antivirális hatásspektruma feltehetően azon képességükkel függ össze, hogy alkalmasak a különféle antivirális hatásokkal rendelkező összetett biokémiai anyagcsere-folyamatok (pathway) módosítására, és ugyanakkor az interferonok a virális replikációs ciklusok különböző részein fejtik hatásukat [Pestka et al., *Ann. Rev. Biochem.* 56, 727 (1987); Samuel, C. E., *Prog. Nucl. Acid Res. Mol. Biol.* 35, 27 (1988); Jacobsen, H., *Arzneim. Forsch. Drug Res.* 36, 512 (1986)].

Számos tanulmány igazolta már, hogy az interferonok képesek a bakteriális fertőzések kontrolljára és különösen megelőzésére.

Hershman és munkatársai rekombináns murin gamma-interferont (rMuIFN- γ) és rekombináns patkány gamma-interferont (rRatIFN- γ) különféle szimulált sérülések bakteriálisan fertőzött modelljein, köztük műtétileg stimulált és égési sérüléssel modelleken vizsgáltak, s az említett interferonok hatékonyságát állapították meg [Hershman et al., *Clin. Exp. Immunol.* 72, 406 (1988); Hershman et al., *Microbial Pathogenesis* 4, 165 (1988); Hershman et al., *J. Interferon Res.* 8, 367 (1988)]. Herman és munkatársai a gamma-interferonnak a baleseti szepszis kezelésében történő alkalmazásáról számolnak be [Herman, M. J. et al., *Infection and Immunity* 56, 2412 (1988)].

Különféle *in vitro* és *in vivo* fertőzési modellekben bizonyították már a korábbiakban, hogy a gamma-interferon hatékony például *Kelbsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Francisella tularensis*, *Salmonella typhimurium*, valamint *Lysteria monocytogenes* fertőzések megelőzése (profilaxisa) és kezelése során.

Jóllehet ma még nem teljesen tisztázott, úgy véljük, hogy az interferonok, például a gamma-interferon hatásmechanizmusa magában foglalja azt a lépést, amelynek során az interferonnal kezelt sejtek esetében lecsökken a baktériumok azon képessége, amelynek segítségével a sejtekbe be tudnak hatolni.

A gamma-interferonnal eredményesen kontrollálhatók (megelőzhetők és/vagy kezelhetők) a parazita-fertőzések, köztük a *Leshmania donovani* által okozott infekciók [lásd például: Murray et al., *J. Clin. Invest.* 83, 1253 (1989)], a *Toxoplasma gondii* által okozott fertőzések [McCabe et al., *J. Infect. Dis.* 150, 961 (1984)], valamint a különféle *Plasmodium* malária-fertőzések.

Az *in vitro* adatok arra utalnak, hogy a gamma-interferonnal végzett inkubáció útján aktivált immunsejtek (makrofágok, neutrofilek stb.) oxidatív vagy nem oxidatív mechanizmus szerint éppoly hatékonyan írtják a gombákat (*C. albicans*, *H. capsulatum*, *B. dermatitis*, *P. brasiliensis*), mint a más osztályokba tartozó mikro-

biális patogéneket [lásd például: Brummer et al., *J. Immunol.* 140, 2786 (1988)]. Shear és munkatársai arról számoltak be [Shear et al., *J. Acquired Immune Deficiency Syndromes* 3, 943 (1990)], hogy a gamma-interferon patkányokban hatékonyan bizonyult a szteroid-indukált *Pneumocystis carinii* (olyan organizmus, amelyet esetenként a paraziták közé sorolnak) által okozott pneumonia (PCP) megelőzésében és kezelésében.

Az interferonok, köztük a gamma-interferon hatásmechanizmusáról és klinikai alkalmazásáról mostanáig rendelkezésre álló ismeretanyagot Byron és munkatársai összegzik a következő szakirodalmi helyen: Byron et al., *JAMA* 266, 1375 (1991).

Ismert, hogy a gamma-interferon specifikus, azaz a befogadó szervezetek szempontjából csak egy szűk tartományban alkalmazhatók, emiatt a kezelendő állatnak megfelelő gamma-interferonhomológokat kell alkalmazni. A humán terápia során előnyösen a desCysTyr-Cys szekvenciájú variánst alkalmazzák, amint az például a 4,717,138 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban és az ennek megfelelő, 1983. április 27-én nyilvánosságra hozott, EP 77,670 számú európai szabadalmi bejelentésben ismertetésre került. Adott esetben az előbbi variáns C-terminálisa le van rövidítve, oly módon, hogy az utolsó négy csoportot poszttranszlációs eljárással eltávolítják.

Az eredeti elnevezése szerint T-sejt növekedési faktorként ismert „interleukin-2” vagy „IL-2” leírását elsőként Morgan és munkatársai közzölték [Morgan, D. A. et al., *Science* 193, 1007 (1976)]. Az interleukin-2-nek a humán perifériás vér limfociták (peripheral blood lymphocytes; PBL) tenyésztésével történő előállítását például a 4,401,756 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás ismerteti. Az interleukin-2 rekombináns előállításáról például Taniguchi és munkatársai [Taniguchi et al., *Nature* 302, 305 (1983)], valamint Devos és munkatársai [Devos et al., *Nucleic Acid Res.* 11, 4307 (1983)] számolnak be. Az „interleukin-2” vagy „IL-2” meghatározás magában foglalja az összes olyan interleukin-2 formát, amelyek az elfogadott interleukin-2 assay-kben biológiailag hatékonyan bizonyulnak, így például idetartozik valamennyi olyan allél és variáns, amelyeket a natív aminosavszekvenciában lévő egy vagy több aminosav szubsztitúciójával, beszúrásával (inzertálásával) vagy törlésével lehet előállítani, például a 4,518,584 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban ismertetetteknek megfelelően. Az interleukin-2 antimikrobiális hatását ismertetik például a következő szabadalmi dokumentumok: WO 85/05124 közlési számú nemzetközi (PCT) szabadalmi bejelentés (közvetéve: 1985. november 21-én); WO 85/03948 közlési számú nemzetközi (PCT) szabadalmi bejelentés (közvetéve: 1985. szeptember 12-én); EP 147,819 számú európai szabadalmi bejelentés (nyilvánosságra hozva: 1985. július 10-én); EP 118,617 számú európai szabadalmi bejelentés (nyilvánosságra hozva: 1984. szeptember 19-én); EP 118,977 számú európai szabadalmi bejelentés (nyilvánosságra hozva: 1984. szeptember 19-én); EP 132,754 számú európai szabadalmi bejelentés (nyilvánosságra hozva: 1985. február 13-án);

EP 94,317 számú európai szabadalmi bejelentés (nyilvánosságra hozva: 1983. november 16-án); 4,407,945 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás és 4,473,642 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás.

Az alfa-(tumornekrózis-faktor) vagy röviden α -TNF leírását elsőként Carswell és munkatársai közölték [Carswell *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72, 3666 (1975)]. Az alfa-(tumornekrózis-faktor) rekombináns DNS technikával történő előállításáról első ízben Pennica és munkatársai számoltak be [Pennica *et al.*, *Nature* 312, 724 (1984)]; a módszert részletesen az 1986. január 15-én nyilvánosságra hozott, 168,214 számú európai szabadalmi bejelentés ismerteti.

Az emlősszervezetekben előforduló bakteriális fertőzések limfokinekkal és közelebbről önmagában alfa-(tumornekrózis-faktor)-ral vagy alfa-(tumornekrózis-faktor) és interleukin-2, illetve gamma-interferon kombinációjával végzett kezelését ismerteti a 4,879,111 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás.

Az „immunszuppresszált” beteg kifejezést azoknak a legyengített védőrendszerrel rendelkező pácienseknek az esetében alkalmazzuk, akiknél az esetleges fertőzések kifejlődésének nagy a kockázata. A transzplantált betegek esetén az immunszuppresszió a transzplantáció sikeres végrehajtásához elengedhetetlen immunszuppresszív terápiának a következménye.

A leírásban és az igénypontokban a „transzplantáció” és a „szervátültetés” vagy „szövetátültetés” kifejezést azok legszélesebb értelmében használjuk, s így magukban foglalják olyan szolid és nonszolid szervek és szövetek transzplantációját vagy átültetését, amilyenek például a máj, a szív, a vese, valamint ugyanebbe a körbe tartozik még a heterológ és az autológ csontvelő transzplantáció/átültetés is.

A leírásban és az igénypontokban alkalmazott „immunszuppresszív terápia” kifejezést ugyancsak a legszélesebb értelemben használjuk, s így idesoroljuk az olyan immunszuppresszív hatóanyagokkal (más néven immunszuppresszánsokkal) végzett kezelést, amilyenek például a ciklosporinok, a kortikoszteroidok, a citotoxikus immunszuppresszánsok, valamint az antilimfocita globulinok, azonban ebbe a kategóriába tartozik még a besugárzás és az ehhez kapcsolódó kemoterápia is. Az egyedi immunszuppresszív terápia az adott transzplantáció, illetve az adott transzplantátum jellegének függvénye.

A szolid szerv transzplantátumok esetében a befogadó szervezetből történő szervkilökődés elkerülése érdekében alkalmazott jellegzetes immunszuppresszív terápia a ciklosporinok, a kortikoszteroidok és más, további immunszuppresszív ágensek, például azathioprine, cyclophosphamide és methotrexate felhasználását foglalja magában. A csontvelő-transzplantátumot befogadó szervezeteket a transzplantációt megelőzően szokásosan extenzív besugárzásnak és kemoterápiának vetik alá.

A kortikoszteroidokról, így a prednisone-ról és a dexamethasone-ról ismert, hogy a legátfogóbb immun-

szuppresszív hatással rendelkeznek, s képesek csaknem valamennyi vonatkozásban megváltoztatni a befogadó szervezet védőrendszerét. Ezek a vegyületek gyengítik a neutrofilek, monociták és makrofágok mobilizációját, tapadását, fagocitózist és baktericid hatását, redukálják a T- és B-limfocita-aktivitást, csökkentik az interferonok és más citokinek termelődését, valamint megváltoztatják a gasztrointesztinális florát. Legnagyobb hatásuk a leukocita reakciókra (válaszokra) van. A szteroidkezelés nagymértékben fokozza a betegek különféle bakteriális, vírusos, fungális vagy parazita fertőzésre való hajlamát, illetve aktiválja a latens endogén infekciókat. A klinikai tapasztalat szerint a szteroidok nagy dózisait általában körülbelül háromhetes időtartamig jól tolerálják a betegek, azonban ezt követően lényegesen megnő a különféle, gyakran életveszélyes infekciók gyakorisága.

A kortikoszteroidokat gyakran immunszuppresszív ágensekkel, például azathioprine-nel, cyclophosphamide-dal és methotrexate-tal kombinálva alkalmazzák. Ezekről az anyagokról ugyancsak ismert, hogy károsítják a befogadó szervezetek védelmi rendszerét, továbbá növelik a fertőzőes jellegű komplikációk kockázatát.

A „ciklosporinok” a *Tolypocladium inflatum* Gams és más konídiumos gombák (Fungi imperfecti) által termelt biológiailag aktív metabolitok egyik csoportját képezik. A főkomponensek, a Ciklosporin A és C immunszuppresszív tulajdonságokkal rendelkező, nempoláris gyűrűs oligopeptidok. Immunszuppresszánsként különösen a Ciklosporin A-t (CsA) alkalmazzák széles körben a klinikai gyakorlatban. Ugyancsak ismertek szintetikus ciklosporinanalógok is, amilyen például a Ciklosporin G (CsG) [Sandoz, Inc.; lásd: McKenna *et al.*, *Transplantation (USA)* 47, 343–348 (1989)], vagy például az (Nvasup 2)-CS és a (Valsup 2)DH-CS [Hiestand *et al.*, *Immunology* 55, 249–255 (1985)]. A leírásban és az igénypontokban alkalmazott „ciklosporin” kifejezés magában foglalja az összes olyan, természetes előfordulású ciklosporint és ezek valamennyi analógját, illetve származékát – függetlenül attól, hogy ezek már ismertek a szakterületen, vagy pedig csak a későbbiekben lesznek hozzáférhetők –, amelyek a Ciklosporin A immunszuppresszív tulajdonságához hasonló immunszuppresszív jellemzőkkel rendelkeznek. A ciklosporinok előnyös jellege abban nyilvánul meg, hogy hatásuk lényegesen specifikusabb, mint a kortikoszteroidok aktivitása. Úgy tűnik, a ciklosporinok hatása specifikusan a T-limfocitákat segítő/indukáló limfocita-szubpopuláció ellen irányul, anélkül hogy közvetlen hatást gyakorolnának a funkcionáló B-sejtekre, monocitákra, makrofágokra, neutrofilekre és természetes ölő (NK) sejtekre.

A radiációs (besugárzásos) terápiának van (a citotoxikus hatóanyagokkal egyetemben) a legnagyobb hatása az új immunválasz kifejlődésének elnyomásában. Jóllehet – ha a kezelést megfelelő gondossággal végzik – a radiációs terápiával közvetlen összefüggésben álló infekciók viszonylag ritkák, az egész test besugárzása gyakran granulocytopeniához vezet.

A klinikai tapasztalatok szerint a különféle immun-suppresszív terápiák/ágensek kumulatív hatása lényegesen nagyobb, mint az egyes kezelések önmagukban történő alkalmazása során fellépő hatások összege.

A vesetranszplantált (és bizonyos módosításokkal a szívtültetéses) betegek esetében megállapított jellegzetes profilaktikus (preoperatív és fenntartó) immun-suppresszív kezelés magában foglalja a Ciklosporin A, az azathioprine és kortikoszteroidok alkalmazását. Egy reprezentatív előírás szerint a Ciklosporin A-t orálisan adagolják, ahol a preoperatív dózis 12 mg/kg, míg a kezdeti posztoperatív dózis 8 mg/kg/nap, a vérkoncentrációhoz igazítva. Folytatva az előbbi protokollt, az azathioprine-t iv. adagolják, ahol a preoperatív dózis 3 mg/kg és a posztoperatív dózis 1,5 mg/kg/nap, amelyet csökkentenek, ha a fehérvérsejtszám 3000 alá csökken. A szteroidok napi dózisa a 0., az 1. és a 2. napon 2 mg/kg/nap, amelyet fokozatosan körülbelül 0,15 mg/kg/nap értékre csökkentenek; ezt az értéket általában a körülbelül 120. napon érik el.

Bizonyos esetekben közvetlenül a transzplantáció után antilimfocita készítményt [amilyen például az anti-CD3 (OKT3), anti-CD8, anti-CD11a, 11b vagy 11c, anti-CD18, antilimfocita globulin, antiinterleukin-2 receptor] adnak a betegnek. Ez lehetővé teszi a ciklosporin beadásának megszakítását, és néhány szakértő szerint kiválthatja a beültetett anyag részleges befogadását. Ebben a helyzetben igen nagy az infekció, különösen a Cytomegalovírussal (CMV) és az Epstein-Barr-féle (E-B) vírussal összefüggésben álló lymphoproliferatív szindrómák kockázata.

Amennyiben biopszia, klinikai megfigyelés vagy bármely más, a szakterületen ismert diagnosztikai módszer alapján a transzplantátum kilökődését diagnosztizálják, kilökődésellenes terápiát kezdeményeznek. Ez szteroidok nagy dózisainak a beadásából, antilimfocita terápiából vagy ezek kombinációjából állhat. Például a veseátültetéses betegeket az enyhe kilökődés megállapítása után általában négy napon keresztül Solumedrol [methylprednisolone 21-szukcinát nátriumsó (Upjohn)] 500 mg/kg/nap intravénás dóziséval kezelik. Amennyiben a kilökődés közepes mértékű vagy súlyos, egy anti-CD3 (OKT3) murin monoklonális antitestet (Orthoclone) lehet például 10–14 napon keresztül 5 mg/nap intravénás dózisban alkalmazni.

Nyilvánvaló, hogy bár a fentiekben ismertetett profilaktikus és kilökődésellenes protokollok számos transzplantációs centrumban tipikusnak mondhatók, ezekhez képest a kezelés a programfilozófia, a transzplantálandó, illetve transzplantált szerv típusa és a befogadó szervezetek, azaz a páciensek állapota szerint lényegesen módosulhat. Például a ciklosporin fenntartó dózisa körülbelül 1 mg/kg/nap és körülbelül 20 mg/kg/nap között változhat. A máj- és szívttranszplantációk esetén szükséges dózisok általában magasabbak, mint a vese- és csontvelő-átültetéseknél megkövetelt mennyiségek. Feltehető, hogy a limfokineknek és különösen a

gamma-interferonnak a transzplantált betegekben fellépő mikrobiális infekciók megelőzése vagy kezelése céljából történő alkalmazása összhangban van a klinikai gyakorlatban alkalmazott bármely profilaktikus vagy kilökődésellenes protokollal. Azoknak a transzplantált betegeknek az esetében, akik nem részesülnek antilimfocita profilaktikus kezelésben, viszont ciklosporint és nagy dózisú szteroidokat kapnak, a limfokinnel (gamma-interferonnal) történő kezelést jellegzetesen a transzplantációval egy időben meg kell kezdeni, és ezt követően tipikusan körülbelül 40 napon keresztül fenn kell tartani. A profilaktikus antilimfocita terápiában részesülő betegekben a limfokinekkel (például gamma-interferonnal) végzett kezelést jellegzetesen a transzplantációval egy időben meg kell kezdeni, és az antilimfocita terápia befejezését követő körülbelül 7–21 napon keresztül kell folytatni. Amennyiben a beteg megfigyelése azt sejteti, hogy kilökődés kezdődik, a hagyományos immun-suppresszív (például szteroidok nagy dózisaival végzett) terápiával párhuzamosan meg lehet kezdeni a limfokin (gamma-interferon) beadását, amelyet – a legyöngült immunválasszal összefüggő fertőzések megelőzése érdekében – ezt követően legalább körülbelül két héten keresztül fenn kell tartani.

A limfokinek, így például a gamma-interferont vagy az interleukin-2-t, valamint az immun-suppresszánsokat, például a ciklosporinokat általában olyan gyógyszerkészítmények formájában adják be, amely gyógyszerkészítmények a hatóanyag hatásos mennyiségét egy megfelelő, gyógyszerészeti szempontból elfogadható vívőanyaggal és adott esetben más, gyógyszerészeti szempontból elfogadható adalék anyagokkal összekeverve tartalmazzák.

A leírásban és az igénypontokban szereplő „gyógyszerkészítmény” kifejezés olyan formákban lévő kompozíciókra vonatkozik, amelyek lehetővé teszik a hatóanyagok biológiai aktivitásának egyértelmű és maradéktalan érvényesülését, s amely kompozíciók nem tartalmaznak semmiféle olyan további komponenszt, amely toxikus lehetne a készítménnyel kezelendő alanyra nézve. Az ilyen gyógyszerkészítményeket a szakterületen ismert módszerek segítségével állíthatjuk elő, illetve formálhatjuk dózisformákba; lásd például: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, USA, 15th Edition, 1975.

A „gyógyszerészeti szempontból elfogadható” töltőanyagok (vívőanyagok, adalék anyagok) azok, amelyeket az alkalmazott hatóanyag hatásos dózisának biztosítása érdekében ésszerű mennyiségben be lehet juttatni egy emlős szervezetbe. A jellegzetes vívőanyagok közé tartozik például a fiziológiás nátrium-klorid-oldat, a dextrózoldat, a Ringer-oldat stb., mivel ugyanakkor nemvizes vívőanyagok is felhasználhatók.

A limfokinek bármely, az ilyen ágensek beadására elfogadott módon beadhatjuk egy emlős-, így például egy humán szervezetbe, többek között szubkután (sc.) és parenterális úton. A parenterális beadási mód példaként megemlíthető egyebek mellett az intravé-

nás (iv.), az intrapulmonális, az intraarteriális, az intramuszkuláris (im.) és az intraperitoneális beadás. A konkrét, adott esetben alkalmazandó beadási mód számos tényező függvénye, így például függ attól, hogy az infekció támadása után megkezdett beadáskor milyen a fertőzés jellege, illetve természete. Szokásosan előnyben részesítjük a szubkután vagy az intravénás beadást, azonban tüdőfertőzések (*P. carinii*) kezelésére az intrapulmonális beadás lehet a legmegfelelőbb.

A parenterális beadásra szolgáló gyógyszerkészítményeket általában egységdózisú, injektálható formáká (például oldatokká, szuszpenziókká, emulziókká) formáljuk.

A gamma-interferont tartalmazó készítmény előnyösen folyadék formában van, amely a hatóanyagot rendszerint fiziológiás nátrium-klorid-oldattal vagy dextróldattal, valamint hagyományos stabilizálószerrel és/vagy töltőanyagokkal együtt tartalmazza. A gamma-interferonkészítmények liofilizált porok formájában is előállíthatók. Egy jellegzetes készítmény 1,0 vagy 0,2 mg/ml (20×10^6 egység) mennyiségben tartalmaz gamma-interferont, ami mellett 0,27 mg/ml borostyánkősav és dinátrium-szukcinát-hexahidrát van jelen 0,73 ml/injekció mennyiségben és pH=5,0 értéken. Az előnyös folyadék formájú készítmények nem liofilizált gamma-interferont tartalmaznak; ilyen készítményeket ismertetnek az 1989. május 18-án WO 89/4177 számon közzétett nemzetközi (PCT) szabadalmi bejelentésben. Ezek a folyadékkészítmények körülbelül 4,0 és körülbelül 6,0 közötti pH-értékkel rendelkeznek, továbbá tartalmaznak stabilizálószeret és nemionos felületaktív anyagot (detergenst) is. Az intrapulmonális beadáshoz a gamma-interferont általában a hatóanyag hatásos mennyiségét tartalmazó diszperzió formájában alkalmazzuk. A diszperzió előnyösen egy olyan aeroszolkészítmény, amelyben a részecskék több mint 15%-ának a szemcsemérete a körülbelül 0,5 μ m és a körülbelül 4 μ m közötti tartományba esik [lásd az EP 257,956 számú európai szabadalmi bejelentést (nyilvánosságra hozva: 1988. február 3-án)].

A gamma-interferont a találmány szerinti megoldás értelmében szubkután módon, körülbelül 0,01 mg/m²/nap és körülbelül 0,1 mg/m²/nap közötti dózisban, a fertőzés kezeléséhez szükséges ideig alkalmazzuk. A beadás gyakorisága függ az infekció természetétől, valamint a beteg állapotától, és a beadás előnyös gyakorisága a naponta egyszeri és a hetente egyszeri alkalmazás közötti értékű.

Olyan, interleukin-2-t tartalmazó készítményeket ismertetnek a WO 85/04328 közzétételi számú nemzetközi (PCT) bejelentésben, amelyek egy gyógyszerészeti szempontból elfogadható vizes vivőanyagban képesek az eredeti formára történő visszaalakulásra.

Farmakológiai értelemben a jelen találmánnyal összefüggésben alkalmazott „hatásos mennyiség”, azaz a limfokin, így például a gamma-interferon és/vagy az interleukin-2 „hatásos mennyisége” azt a mennyiséget jelenti, amely alkalmas a mikrobiális infekciók kont-

rolljára. Ebben az értelemben a „kontroll” kifejezés alatt egyaránt értjük az ilyen fertőzések profilaxisát (megelőzését) és kezelését is. Ennek megfelelően a gamma-interferon alkalmazható profilaktikusan (azaz a fertőzés megjelenése előtt), vagy pedig terápiás jelleggel (azaz az infekció megjelenését követően). Előnyös megoldásnak a profilaktikus alkalmazást tekintjük.

A páciens állapotának ismeretében a dózisok és a beadási gyakoriság pontos megállapítása a képzett szakember számára nem jelenthet problémát. Az egyedi alkalmazások immunológiai szempontból hatásos dózisaik meghatározásához általános segítséget nyújt például a következő szakirodalmi helyen ismertetett úgynevezett Maluish-féle eljárás: Maluish et al., *J. Clin. Oncol.* 6, 434–435 (1988).

A „mikrobiális infekció” kifejezést, illetve ennek különféle nyelvtani variánsait valamennyi olyan, a transzplantált betegek szervezetében előforduló fertőzésre vonatkoztatjuk, amelyek limfokinek, például gamma-interferon vagy interleukin-2 segítségével végzett kezeléssel kontrollálhatók. Az ilyen mikrobiális infekciók elsődlegesen azok, amelyek a transzplantált betegekben az immunszuppresszáns kezeléssel összefüggésben fellépő elnyomott immunitás következményeképpen jelennek meg, s amelyek gyakran előfordulnak más, legyengült immunitású szervezetekben is, például az AIDS-betegekben [Gottlieb, et al., *Ann. Intern. Med.* 99, 208 (1983); Periti, P. and Mazzei, T., *Clinical Therapeutics* 8, 100–117 (1985)]. A legyengült immunitású betegekben infekciós komplikációkat okozó gyakori patogén mikroorganizmusok közé tartoznak például a következők: baktériumok, amilyen például a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Legionella pneumophila*, *Salmonella* species, *Aeromonas hydrophila*, tengeri (halofil) vibrók, *Nocardia* species, *Mycobacterium tuberculosis*; gombák, amilyen például a *Candida* species, *Torulopsis* species, *Aspergillus* species, *Zygomyceták*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*; vírusok, amilyen például a Herpes simplex, Varicella zoster, Cytomegalovírus (CMV), Epstein-Barr- (E-B) vírus, Hepatitis B vírus; paraziták, amilyen például a *Toxoplasma gondii*, *Strongyloides stercoralis*, *Pneumocystis carinii* (az utóbbi organizmust gombának is vélik) [Periti, P. and Mazzei, T., „Infections in immunocompromised Patients” in *Clin. Ther.* 8, 100–117 (1985); valamint Ho, M., „Human cytomegalovirus infections in immunosuppressed patients” in *Cytomegalovirus: Biology and Infection*, 171–204, Plenum Press, New York, NY, USA (1982)]. Ezeknek a fertőzéseknek a leggyakoribb klinikai megjelenési formája a *Pneumocystis (P.) carinii* vagy a *Legionella* species által okozott pneumonia (tüdőgyulladás); ugyanakkor másféle gyakori bakteriális (*Salmonella* species, *Lysteria monocytogenes*), mycobakteriális, fungális és protozoális fertőzések is jelentkeznek. A találmány szerinti megoldás értelmében gamma-interferon alkalmazásával az előbbieken felsorolt és más, ismert fertőzések is megelőzhetők vagy kezelhetők.

A gamma-interferonnak a legyengült immunitású, transzplantált betegekben előforduló mikrobiális infekciók kezelése során történő alkalmazhatóságát olyan további beszámolók is alátámasztják, amelyek például a korábban már felismert, az immunválaszra kifejtett hatás mellett arról számolnak be, hogy a gamma-interferon fokozza az AIDS-es betegektől nyert monociták és makrofágok *in vitro* fagocitózisát, oxidatív kapacitását, kemotaxisát és mikrobiális kapacitását [Murray *et al.*, *N. Engl. J. Med.* 310, 883 (1984)].

A fentiekben felsoroltak jó néhány képviselője, valamint más mikrobiális fertőzések gyakran a transzplantációs sebészeti sérüléssel vannak közvetlen összefüggésben. Az ezeknek a sérüléseredetű infekcióknak a tipikus példái közé tartoznak a következő baktériumok által okozott bakteriális fertőzések: Gram-pozitív baktériumok, amilyen például a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Pneumococcus*ok, anhaemolyticus *Enterococcus*ok, *Sarcina* species és haemolyticus *Streptococcus*ok; valamint Gram-negatív baktériumok, amilyen például az *Escherichia coli*, *Pseudomonas* species, *Klebsiella* species, *Proteus* species, *Enterobacter Cloacae*, coliform baktériumok (vastagbél- vagy coli-féle baktériumok), *Serratia* species, *Citrobacter* species, továbbá *Providencia* species [Allgower *et al.*, *Surg. Clin. N. Am.* 60, 133–144 (1980)].

A limfokineket és közelebbről a gamma-interferont egymással vagy más, a transzplantált páciensek kezelésében alkalmazott antimikrobiális vagy terápiás ágensekkel együtt is beadhatjuk. Az együttes kezelés magában foglalja a párhuzamos és az egymást követő beadást is. Az orális antimikrobiális ágensek – amelyek az aerob flóra szuppressziója ellenére megóvják a kolonizációs rezisztenciát – magukban foglalják például a következőket: co-trimoxazole, nalidixinsav, oxolininsav, pipemidinsav, framycetin, polymyxin B, colistin, nystatin, amphoterin B, clotimazole, miconazole, ke-tonazole. A co-trimoxazole-lal végzett profilaxis például már standard eljárássá vált az olyan betegek esetében, akiknél nagy a szerzett *P. carinii* pneumonia veszélye [Russe *et al.*, *J. Antimicrob. Chemother.* 8, 87 (1981)]. A kolonizációs rezisztenciát csökkentő orális antimikrobiális ágensek közé tartoznak például az aminoglikozidáz antibiotikumok, amilyen például a neomycin, paromomycin, kanamycin, bekanamycin, ribostamycin, dibekacin, tobramycin, amikacin, gentamicin, sisomicin, netilmicin, bacitracin, valamint a vancomycin. Az aminoglikozidáz antibiotikumokat általában egy béta-laktám (penicillin és/vagy cephalosporin) antibiotikummal együtt adják be. A penicillin antibiotikumok magukban foglalják például a következő anyagokat: penicillin, carbenicillin, ampicillin, amoxacillin, methicillin, oxacillin, dicloxacillin, nafcillin, thienamycin, piperacillin, azlocillin, mezlocillin stb. A cephalosporin antibiotikumok magukban foglalják például a következőket: cephalixin, cephadrine, cefaclor, cefadroxil, cefatrizine, cefaparolet, cefroxadine, cephalothin, cephaloridine, cefalozin, cefonicid, cefametzazole stb. A találmány szerinti antimikrobiális terápiát együttesen alkalmaz-

hatjuk a transzplantált betegeknél szokásosan alkalmazott, hagyományos mikrobiális ágensek segítségével végzett kezelésekkel. A további részleteket például a következő szakirodalmi helyeken lehet megtalálni: Periti, P. and Mazzei, T., *Clinical Therapeutics* 8, 100–117 (1985); Periti, P. and Mazzei, T., „Infections in immunocompromised Patients” in *Clin. Ther.* 8, 100–117 (1985); valamint Cushing, *Surg. Clin. N. Am.* 57, 165 (1977).

A találmány további részleteit a következő, nem korlátozó jellegű példákkal illusztráljuk.

1. példa

A gamma-interferon beadása szívátültetési betegeknek

I. Anyagok és módszerek Patkányok

A Lewis-törzshöz és az AC törzshöz tartozó patkányokat a következő helyről szereztük be: Charles River Laboratories, Portage, Michigan, Amerikai Egyesült Államok.

Transzplantációs eljárás

Valamennyi patkányt 10%-os phenobarbital-nátrium-oldattal anesztetizáltuk. A Lewis-törzshöz tartozó patkányok mindegyike intramuszkuláris úton 1 mg gentamicint kapott. Az AC törzshöz tartozó patkányok intravénásan 100 egység heparint kaptak. Az AC törzshöz tartozó patkányból eltávolítottuk a szívet, az aortát 4 °C hőmérsékleten átmostuk fiziológiás sóoldattal (szalinnal), majd jegelt szalínoldatba helyeztük. Az AC törzshöz tartozó patkány szívének heterotop transzplantációval a Lewis-törzshöz tartozó patkány hasüregébe (abdomenjébe) helyeztük. Az átültetést Ono és Lindsey módszere szerint hajtottuk végre [Ono and Lindsey, *J. Thorac. Cardio. Surg.* 57, 15 (1969)]. Standard felépülési körülményeket alkalmaztunk, és a kitapintható szívverésre nézve naponta vizsgáltuk az állatokat. A kilökődés akkor bizonyult teljesnek, amelyik napon utoljára volt kitapintható a szívverés. A kilökődést követő napon, illetve abban az esetben, ha nem történt kilökődés, a transzplantáció végrehajtását követő 20. vagy 45. napon leöltük az állatokat. A jobb és bal szívkamra középrészének keresztirányú (transzverzális) metszeteit hematoxylinnel és eosinnal megfestettük. A lemezeket megvizsgáltuk, és a Texas Heart Institute hisztológiás kilökődési skálájának [McAllister *et al.*, *Texas Heart Inst. J.* 13, 1 (1986)] alkalmazásával 0 és 10 fokozat között osztályoztuk. A vizsgálatok során az osztályozást egy olyan patológus végezte, aki nagy gyakorlattal rendelkezett a szívtranszplantációs kilökődések fokozatainak megállapításában. Az említett patológus előtt a kísérleti protokoll a legteljesebb mértékben ismeretlen volt.

Ciklosporinnal végzett kezelés

A ciklosporint valamennyi transzplantált patkány 20 mg/kg/nap dózisban kapta a transzplantáció napján, valamint az átültetés utáni 1. és 2. napon. Ez a dózis kontrollálja a kilökődést, s így a szívtranszplantátumok csak a transzplantáció után 45 nappal lökődnek ki

[Hershman *et al.*, *Infect. Immun.* 56, 2412 (1988)]; valamint Clifford D. P. and Repine, J. E., *Methods Enzymol.* 105, 393 (1984)]. Néhány transzplantált patkány szondabetáplálás útján 8 mg/kg/nap dózisban további „fenntartó” ciklosporint kapott a transzplantáció utáni harmadik naptól kezdődően, majd ezt követően a kísérlet teljes időtartama alatt.

Gamma-interferonnal végzett kezelés

A rekombináns patkány gamma-interferont a következő cégtől vásároltuk: Amgen Biologicals, Thousand Oaks, California, Amerikai Egyesült Államok. A rekombináns patkány gamma-interferon 4×10^8 egység/mg protein értékű fajlagos aktivitással rendelkezett. A patkányoknak adagolt gamma-interferon mennyiségét az egyedi kísérletek ismertetése során adjuk meg.

Az oxidatív reakció (burst) mérése

A patkányok teljes véréből 1119 izolációs médium (Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri, Amerikai Egyesült Államok) alkalmazásával végzett gradiens- vagy sűrűség- (density) centrifugálással szeparáltuk a neutrofileket. A légzési reakció triggerelésére (indítására) F-Met Leu-Phe-t (FMLP-t) alkalmaztunk, és fluorometrikus módszerekkel mértük a szuperoxid-termelést [Clifford *et al.*, *Methods Enzymol.* 105, 393 (1984)].

Statisztikai elemzés

Amennyiben egyes csoportok mintamérete egyenlő volt, az adatok analíziséhez a Student *t* Testet alkalmaztuk. Ha a mintaméret eltérő volt, az adatok elemzését a Behrens-Fisher *t* statisztikával és a Welsh-féle *df* korrekcióval együttesen végeztük.

Valamennyi kísérletet a National Society for Medical Research által meghatározott „Principles of Laboratory Animal Care” előírásainak megfelelően végeztük. Az állatokat a National Institute of Health (NIH) útmutatójának megfelelő AAALAC körülmények között, állandó állatorvosi felügyelet mellett helyeztük el.

II. A gamma-interferon hatása a szívtranszplantátum kilökődésére

A Lewis-törzshöz tartozó befogadó patkányok a transzplantáció napján és az ezt követő két napon 20 mg/kg/nap dózisú ciklosporint kaptak. Az AC törzshöz tartozó patkányok szívét a befogadó állatok abdomenjébe transzplantáltuk. A kontrollcsoportba tartozó patkányok nem kaptak semmiféle további kezelést. A kilökődés kontrollja céljából ismert módon 20 mg/kg/nap dózisú ciklosporinos kezelést alkalmaztunk, s így a transzplantált szívek az átültetést követő 45 nap elteltével lökődnek ki [Hershman *et al.*, *Infect. Immun.* 56, 2412 (1988)].

A kísérleti patkányok mindegyike a transzplantáció napján és az ezt követő további három napon keresztül intramuszkuláris úton naponta 750 egységnyi gamma-interferont kapott.

Az eredményeket az 1. táblázatban foglaljuk össze. Az adatok azt mutatják, hogy a kontrollcsoporthoz képest a gamma-interferonnal kezelt csoportban igen nagy mértékben felgyorsul a kilökődés.

1. táblázat

A gamma-interferonnal végzett kezelés hatása a szívtranszplantátumok visszatartására patkányok esetén

Kezelés	N	A kilökődés átlagos napja	P
Kontroll	10	44,7	—
750 egység γ -IFN	5	11,0	<0,05

(Egy harmadik csoportban a transzplantációt olyan, Lewis-törzshöz tartozó recipiens állatokon hajtottuk végre, amelyek nem kaptak ciklosporint, azonban a fentiek szerinti gamma-interferonos kezelésben részesültek. A korai kilökődés miatt ez a csoport nem volt értékelhető.)

III. A ciklosporin fenntartó dózisainak hatása a szívtranszplantátum gamma-interferonnal befolyásolt fokozott kilökődésére

A) A ciklosporin fenntartó dózisainak hatása a transzplantált szívek kilökődésére

A Lewis-törzshöz tartozó befogadó patkányok a transzplantáció napján és az ezt követő két napon 20 mg/kg/nap dózisú ciklosporint kaptak. A transzplantációt követő harmadik naptól kezdődően és ezt követően a kísérlet teljes időtartama alatt folyamatosan mindennap 8 mg/kg/nap fenntartó dózisú ciklosporint kaptak a patkányok. A patkánycsoportot a transzplantáció utáni 20. vagy 45. napon leöltük. A transzplantáció utáni 20. és 45. napon leölt állatok esetében nem tapasztaltunk különbséget a hisztológiás kilökődési fokozatok értékében. Az eredményeket a 2. táblázatban foglaljuk össze.

2. táblázat

A ciklosporin „fenntartó” dózisainak hatása a transzplantált szívek kilökődésére

A leölés ideje	N	Átlagos kilökődési fokozat	P
20 nappal a műtét után	10	1,0	—
45 nappal a műtét után	10	1,2	NS

(NS=nem szignifikáns)

B) A fenntartó ciklosporinos kezelés hatása a szívtranszplantátumoknak a gamma-interferonnal fokozott kilökődésére

Valamennyi patkány a transzplantáció napján és az ezt követő két napon 20 mg/kg/nap dózisú ciklosporint kapott. A transzplantációt követő harmadik naptól kezdődően és ezt követően a kísérlet teljes időtartama alatt folyamatosan mindennap 8 mg/kg/nap fenntartó dózisú ciklosporint kaptak az állatok, egészen a leölésükig. A kísérleti patkányokat a transzplantáció napján és további három napon gamma-interferon egyrészt

750 egység/nap, másrészt 7500 egység/nap dózisaival kezeltük. A kísérlet ideje alatt a transzplantált szívek nem mutattak teljes kilökődést (szívverésleállást), azaz a transzplantáció utáni 45 nap alatt a szívek nem lökődtek ki. Az átlagos kilökődési fokozat (MRS) csak a

750 egységes gamma-interferondózissal végzett esetben a 20. napon emelkedett észrevehető módon, azonban ekkor sem volt szignifikáns különbség a transzplantáció utáni 45. napon kapott értékekhez viszonyítva (3. táblázat).

3. táblázat

A „fenntartó” ciklosporinkezelés hatása a szívnek a gamma-interferonnal fokozott kilökődésére

Kezelés	MRS (20 nap)	N	P	MRS (5 nap)	N	P
Nincs	1,0	10	–	1,2	10	–
750 E γ -IFN	3,0	10	<0,05	1,5	5	NS
7500 E γ -IFN	2,9	5	NS	2,2	4	NS

MRS=átlagos kilökődési fokozat; a Texas Heart Institute által az endomyocardialis biopszisokra alkalmazott osztályozási eljárás alkalmazásával meghatározva. 1–3 fokozat: enyhe; 4–6 fokozat: közepes; és 7–10 fokozat: veszélyes [részleteiben lásd: McAllister et al., A system for grading cardiac allograft rejection. *Texas Heart Institute J.* 13, 1 (1986)].

NS=nem szignifikáns

IV. A „fenntartó” ciklosporinkezelés hatása a neutrofileknek a gamma-interferonnal befolyásolt, FMLP segítségével indukált oxidatív reakciójára

A fenti előírásoknak megfelelően „fenntartó” ciklosporinkezelésben részesített, Lewis-törzshöz tartozó patkányok AC törzshöz tartozó patkányokból kaptak szívtranszplantátumot. Valamennyi patkány 20 mg/kg/nap dózissal ciklosporint kapott a transzplantáció napján és az azt követő két napon. A patkányok a transzplantáció utáni harmadik naptól kezdődően egy „fenntartó” ciklosporinkezelést is kaptak 8 mg/kg/nap dózisban, s a fenntartó kezelést az állatok leoléséig, mégpedig a transzplantáció utáni negyedik napig folytattuk. A transzplantáció napján kezdődően és további három napon keresztül intramuszkuláris úton nagy dózissal, 75 000 egységnyi gamma-interferont kaptak a patkányok. A négy nap elteltével a patkányokat leöltük és kivéztettük, majd a gamma-interferonnal befolyásolt, FMLP által indukált oxidatív reakcióra nézve teszteltük a neutrofileiket. Két kísérletet végeztünk, mindkettőben két-két patkányt alkalmazva. A kapott eredményeket a 4. táblázatban foglaljuk össze. A táblázatban található adatok összességükben arra utalnak, hogy a „fenntartó” jellegű ciklosporinos kezelés nem gátolta a neutrofilek gamma-interferonnal szabályozott szuperoxidtermelését.

4. táblázat

A „fenntartó” jellegű ciklosporinkezelés hatása a gamma-interferont kapott állatokból származó neutrofilek FMLP által indukált oxidatív reakciójára

Kezelés	N	Szuperoxidfejlődés	(nm/10 ⁶ sejt)
Kontroll	2	(duplikátumban)	0,68
75 000 E γ -IFN	2	(duplikátumban)	3,70

V. Diskusszió

A heterológ szívtranszplantáción átesett patkányok gamma-interferonnal végzett kezelése azt mutatta, hogy az adott vizsgálatok során megnőtt a szív kilökődésének a sebessége. A kilökődés ideje 44,7 napról 11 napra csökkent. Ez arra utal, hogy az infekciókkal kapcsolatban a transzplantáció ideje alatt alkalmazott gamma-interferonos kezelés drasztikusan leonthatja a transzplantáció végeredményét. A fokozott kilökődés valószínűleg azzal állhat összefüggésben, hogy a gamma-interferonos kezelés hatására fokozódik a hisztokompatibilitási antigének, különösen a II. osztályba tartozó hisztokompatibilitási antigének indukciója. Ugyanakkor – mivel a gamma-interferon igen jelentős immunreguláló hatással rendelkezik – az is elképzelhető, hogy a gamma-interferon más, ma még nem ismert mechanizmusok útján gyakorol a transzplantáció végeredménye szempontjából hátrányos hatást a kilökődésre. Annak a pontos megállapítása, hogy a gamma-interferon milyen mechanizmus útján fokozza a kilökődést, további, a jövőben végrehajtandó vizsgálatokat tesz szükségessé.

A jelen vizsgálat eredményei minden esetben arra utalnak, hogy a gamma-interferonnak a transzplantált szervezetekben történő felhasználásakor fellépő potenciálisan káros hatások elkerülhetők. A vizsgálati idő alatt alacsony („fenntartó”) dózisokban folyamatosan adagolt ciklosporin – amelyet a legtöbb transzplantált beteg hosszabb időtartamon keresztül egyébként is megkap – megszünteti a gamma-interferonos kezelésnek az átültetett szívre gyakorolt káros hatásait. Ennek eredményeképpen lehetőség nyílik arra, hogy a transzplantált egyedeket szisztémás úton gamma-interferonnal kezeljük, anélkül hogy kiváltanánk a transzplantált szövet kilökődését. A gamma-interferon alkalmazásának lehetőségeit tovább fokozhatjuk, ha a szervátültetésen átesett beteg kezelését lokális úton (például egy aeroszol segítségével) végezzük.

Mivel a ciklosporin közismerten immunszuppresszív hatóanyag, joggal tehető fel a kérdés, vajon a

„fenntartó” jellegű ciklosporinos kezelésnek a gamma-interferon által indukált fokozott szívtranszplantátum-ki-lökődést megszüntető hatása nem jár-e együtt azzal, hogy megszünteti a gamma-interferonos kezelésnek az előnyös, antimikrobiális hatásait is. A jelen vizsgálato-
5
k eredményei azt mutatják, hogy ebben az esetben másról van szó. A „fenntartó” jellegű ciklosporinos terápia nem változtatja meg az előzetesen gamma-interfe-
ront kapott állatokból nyert neutrofilnek a fokozott, FMLP által indukált oxidatív reakcióját. Mivel a neutrofil
10
a fertőzések leküzdésében legfőbb szerepet játszó sejt, ezek az eredmények arra utalnak, hogy „fenntartó” jellegű ciklosporinos terápia alkalmazásával a szervát-
ültetésen átesett egyedek gamma-interferonos kezelé-
sének pozitív, előnyös mikrobiális hatásai legalább
részben megtarthatók.

2. példa

A gamma-interferon hatása egérben, autológ csontvelő-átültetés transzplantációs modellen

Ebben a modellben kifejlett hím, egyenként 20–25 g tömegű CBA/J egereket (Jackson Laborato-
ries, Bar Harbor, Maine, Amerikai Egyesült Államok) 900 rad értékű röntgenbesugárzással letálisan besu-
gárzunk. Az egerek állapotát ezt követően – még
ugyanazon a napon – normál CBA/J donoregerek fe-
murjaiból (combcsontjaiból) és tibiáiból (sípcsontjaiból)
nyert hozzávetőleg 1×10^7 csontvelősejttel helyreállít-
juk. Az egereket megsavanyított vízben, tiszta környe-
zetben tartjuk, s az állatok közül jó néhány még a
transzplantáció utáni két-három hét elteltével is él. Az
egerek a csontvelő-átültetés napjától kezdődően és to-
vábbi két napon keresztül 20 mg/kg/nap ciklosporint
kapnak. Az állatok a transzplantáció utáni harmadik
naptól kezdődően és a leölésig folyamatosan
8 mg/kg/nap dózisban „fenntartó” jellegű ciklosporint is
kapnak. A kísérleti egereket egyrészt 750 egység/nap,
másképp 7500 egység/nap mennyiségű rekombináns
murin gamma-interferonnal kezeljük. (A kezeléshez fel-
használt rekombináns murin gamma-interferon a Ge-
nentech, Inc., South San Francisco, California, Ameri-
kai Egyesült Államok ajándéka volt.) Ennek a gamma-
interferonnak a fajlagos aktivitása hozzávetőleg $2,3 \times 10^7$ egység/mg protein; a csontvelő-átültetés nap-
ján kezdődő és további három napon keresztül folytató-
dó, intramuszkuláris úton történő beadáshoz az eredeti
anyagot RPMI-1640 médiummal (Gibco Laboratories,
Grand Island, New York, Amerikai Egyesült Államok)
meghígítjuk. A kísérletek egyik csoportjában az egerek
túlélését egy háromhetes periódus alatt vizsgáljuk.
A beültetés eredményességének megállapításához el-
végezzük a perifériás teljes vér számlálását. Ezen túl-
menően a gamma-interferonnal kezelt és a kontrollcso-
port tagjai közül hetente egyet-kettőt leölünk, és a beül-
tetés eredményessége szempontjából megvizsgáljuk
az állatok csontvelőjét. Amikor az állatok elpusztulnak,
az infekció vonatkozásában is vizsgálatot végzünk.
A perifériás vér limfocitáin fellépő la antigénexpresszió
mennyiségét fajlagos antitestfestéssel és áramlási cito-
metria segítségével határozzuk meg, egy nappal a

transzplantáció előtt és a transzplantáció utáni 1., 7. és
14. napon. A kontrollcsoport és a kezelt csoport között
összehasonlítva a teljes vérszámlálás eredményeit és
a túlélési arányokat, érzékelhetővé válik a gamma-in-
terferonnal végzett kezelésnek az autológ csontvelő-át-
ültetésre gyakorolt hatása.

3. példa

A gamma-interferonnal végzett kezelés hatása a transzplantált betegekben exogén módon indukált infekcióra

A gamma-interferonnak a szándékosan megfertő-
zött, transzplantált rágcsálók túlélési arányára gyako-
rolt hatását az 1. és 2. példában ismertetett szív-
transzplantátum és autológ csontvelő-transzplantátum
modellekben vizsgáltuk. 3–0 hosszúságú, sodrott pa-
mut varratfonalakat egy éjszakán keresztül trypticase
szója táptalajban (BBL Microbiological Systems, Coc-
keysville, Maryland, Amerikai Egyesült Államok) inku-
bálunk, majd *Klebsiella pneumoniae*-vel (Capsular
Type 2) inokulálunk. A transzplantációt követő harma-
dik napon a varratfonalat speciális (French eye) tübe
fűzzük, és aseptikus körülmények között minden
egyes rágcsáló jobb combjába szúrjuk, majd a varratfo-
nalat a bőr felszínénél úgy vágjuk el, hogy a varratfona-
l egyik vége a bőr alatt (szubkután módon) helyezkedik
el. Mindkét modell esetében a transzplantált rágcsálók
egy csoportját gamma-interferonnal kezeljük, lényegé-
ben annak megfelelően, ahogyan azt a fenti 1. és 2.
példában ismertettük. A másik csoportot hígítószerrel
(placebóval) kezeljük. A rágcsálókat két-három héten
keresztül figyeljük. A baktériummal fertőzött vérből má-
sodnaponként tenyészeteket készítünk. Annak biztosí-
tására, hogy a transzplantációs eljárás komplikációi
nem felelősek az állati mortalitásért, nem fertőzött
transzplantált rágcsálók szolgálnak kontrollként.
A gamma-interferonos kezelés hatékonyságát a túlélés
növekedésének megfigyelésével és a vérből készült te-
nyészetek elemzésével határozzuk meg. Az elhullás
idején valamennyi állatot boncoljuk, különös tekintettel
a pneumonitis, peritonitis és az endocarditis jeleinek
gondos vizsgálatára.

Az előző leírásban a találmány szerinti eljárások és
készítmények reprezentatív példáit részleteztük. Nyil-
vánvaló, hogy számos olyan módosításra és változta-
tásra van lehetőség, amelyek nem jelentenek eltérést a
találmány általános koncepciójától, s így az ilyen mó-
dosítások és változtatások is a találmány oltalmi köré-
be tartoznak.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás hatóanyagként gamma-interferont, inter-
leukin-2-t vagy ezek kombinációját tartalmazó gyógy-
szerkészítmények előállítására, azzal jellemezve, hogy
az ismert módon előállított hatóanyagot a szokásos
hordozó-, hígító- és/vagy segédanyagokkal összeke-
verjük, és transzplantáció utáni fenntartó immunszupp-
resszív terápiának alávetett, transzplantátumot befoga-

dó szervezetekben fellépő mikrobiális infekciók megelőzésére vagy kezelésére alkalmas gyógyszerkészítménnyé alakítjuk.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a mikrobiális infekciót okozó organizmusok közül legalább egy bakteriális, fungális, virális vagy parazita jellegű.

3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a gamma-interferont folyékony gyógyszerkészítménnyé alakítjuk.

4. A 3. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a készítményhez stabilizálószer és nemionos

tenzidet adunk, és kívánt esetben a folyékony gyógyszerkészítmény pH-értékét 4,0 és 6,0 közötti értékre állítjuk.

5. Az 1–4. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a készítményt olyan, a gamma-interferon terápiásan hatásos mennyiségét tartalmazó diszperzióvá alakítjuk, amely ultrapulmonáris beadásra alkalmas.

10. 6. Az 1–5. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy olyan gamma-interferont alkalmazunk, amelyből hiányzik az utolsó négy C-terminális aminosavcsoport.