

Влияние интерферон-альфа-содержащих препаратов на реакции врожденного иммунитета и популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови

А.Н. Казимирский¹, Ж.М. Салмаси¹, И.В. Кукек^{2✉}, ilyakukes@gmail.com, Г.В. Порядин¹, Л.Ю. Семенова¹, М.И. Панина¹

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова; 117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1

² Международная ассоциация клинических фармакологов и фармацевтов; 109147, Россия, Москва, ул. Малая Калитниковская, д. 2, к. 1

Резюме

Введение. Интерферон-содержащие препараты широко распространены, однако их влияние на реакции клеток врожденного иммунитета и параметры адаптивного иммунитета не исследовано.

Цель. Исследовать влияние интерферон-альфа-содержащих препаратов на формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек, популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови в условиях клеточного культивирования.

Материалы и методы. Использовали периферическую кровь 12 здоровых доноров и 6 больных с острым воспалением, которая служила источником нейтрофилов и лимфоцитов. Стимуляция нейтрофильных экстраклеточных ловушек проводилась 2 способами – спонтанно, без стимуляции, с помощью липополисахарида.

Результаты и обсуждения. Исследование реакций врожденного иммунитета: за время инкубации (4 ч) нейтрофилы здоровых доноров демонстрируют незначительное спонтанное формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек. Под влиянием липополисахарида наблюдается их значительное увеличение: через 2 ч инкубации – до $31,59 \pm 2,32\%$, а через 4 ч – до $42,93 \pm 3,56\%$. Виферон не оказывает существенного влияния на численность нейтрофильных экстраклеточных ловушек, но значительно увеличивает их размеры. Кипферон ограничивает избыточное формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек, уменьшая численность этих структур, а также существенно уменьшает их размеры и изменяет их морфологическое строение. Эргоферон вызывает не только быстрое увеличение численности нейтрофильных экстраклеточных ловушек, но и существенно изменяет морфологическое строение этих структур. Под влиянием Эргоферона наблюдаются чрезвычайно длинные волокна ДНК, выходящие за пределы поля зрения. Кипферон стимулирует образование сразу нескольких морфологических форм нейтрофильных экстраклеточных ловушек.

Заключение. Виферон и Кипферон главным образом поддерживают развитие реакций врожденного иммунитета. При этом препарат Кипферон демонстрирует ограничение интенсивности воспалительной реакции, увеличение численности активных NK-клеток. Проведенное многоуровневое исследование позволяет выявить новые свойства и механизмы действия используемых фармакологических препаратов на основе интерферона-α, подтверждающих за счет своего действия эффективную стимуляцию отдельных звеньев иммунитета.

Ключевые слова: интерферон-альфа-содержащие препараты, нейтрофильные экстраклеточные ловушки, лимфоциты, здоровые доноры, острый воспалительный процесс

Для цитирования: Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Кукек И.В., Порядин Г.В., Семенова Л.Ю., Панина М.И. Влияние интерферон-альфа-содержащих препаратов на реакции врожденного иммунитета и популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови. *Медицинский совет.* 2023;17(1):148–158. <https://doi.org/10.21518/ms2023-011>.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Effect of interferon-alpha-containing drugs on innate immunity reactions and population and subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes

Alexander N. Kazimirskii¹, Jean M. Salmasi¹, Ilya V. Kukes^{2✉}, ilyakukes@gmail.com, Gennady V. Poryadin¹, Lydmila Y. Semenova¹, Marina I. Panina¹

¹ Pirogov Russian National Research Medical University; 1, Ostrovityanov St., Moscow, 117997, Russia

² International Association of Clinical Pharmacologists and Pharmacists; 2, Bldg. 1, Malaya Kalitnikovskaya St., Moscow, 109147, Russia

Abstract

Introduction. Interferon-containing drugs are frequently used, but their effect on the innate immune cells response and adaptive immunity parameters is not well known.

Aim. To investigate the effect of interferon-alpha-containing drugs on the production of neutrophil extracellular traps, the population and subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes in cell culture conditions.

Materials and methods. We used peripheral blood from 12 healthy donors and 6 patients with acute inflammation, which was used as a neutrophil and lymphocyte source. Neutrophil extracellular traps were induced by two methods: either spontaneously, without stimulation, or by lipopolysaccharides.

Results and discussions. The investigation of innate immunity responses showed that neutrophils from healthy donors demonstrated a slight spontaneous production of neutrophil extracellular traps during incubation (4 h). The significant NET increase was observed after stimulation with lipopolysaccharides up to $31.59 \pm 2.32\%$ after 2-hour incubation period, and up to $42.93 \pm 3.56\%$ after 4-hour incubation period. Viferon does not have a significant effect on the number of neutrophilic extracellular traps, but significantly increases their size. Kipferon limits the excessive production of neutrophil extracellular traps, reducing the number of these structures, and also significantly reduces their size and changes their morphology. Ergoferon causes not only a rapid increase in the number of neutrophilic extracellular traps, but also significantly changes their morphology. The extremely long DNA fibers that go beyond the scope of view are observed when exposed to Ergoferon. Kipferon stimulates the production of several morphological forms of neutrophilic extracellular traps at once.

Conclusion. The development of innate immune responses is mainly maintained by Viferon and Kipferon. At the same time, Kipferon restrains the intensity of the inflammatory reaction and increases the number of active NK cells. The conducted multilevel study allow researchers to identify new properties and mechanisms of action of administered pharmacological products containing interferon- α , which confirm the effective stimulation of individual components of the immune system due to their action.

Keywords: interferon-alpha-containing drugs, neutrophil extracellular traps, lymphocytes, healthy donors, acute inflammatory process

For citation: Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Kukes I.V., Poryadin G.V., Semenova L.Y., Panina M.I. Effect of interferon-alpha-containing drugs on innate immunity reactions and population and subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes. *Meditsinskiy Sovet*. 2023;17(1):148–158. <https://doi.org/10.21518/ms2023-011>.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Интерфероны – многофункциональная система цитокинов, играющих важнейшую роль в защите организма от патогенов. Их особая функция в организме определяется участием в инициации защитных реакций организма, регуляции иммунных процессов, а также разрешении воспалительной реакции и предупреждении осложнений.

Поступление вируса в организм через слизистые барьеры приводит к инфицированию значительного числа клеток-мишеней. Внутриклеточная защитная система распознает вирусную РНК и некоторые внутриклеточные патогены и запускает две главные ответные реакции инфицированной клетки. Происходят активация синтеза и секреция интерферонов I типа (IFN α и IFN β), а затем – запуск апоптоза инфицированной клетки. Интерферон альфа активирует нейтрофилы и индуцирует секрецию интерферона гамма (IFN γ), привлекающего в очаг воспаления цитотоксические лимфоциты. Апоптозирующие клетки индуцируют активированные нейтрофилы к формированию нейтрофильных экстраклеточных ловушек, которые способны захватывать остатки гибнущих клеток и патогены. В дальнейшем происходит ретракция сетевидных нейтрофильных экстраклеточных ловушек, они поглощаются фагоцитирующими клетками, которые в свою очередь развивают процессы антигенной презентации.

Совокупность данных, полученных в последнее время и обобщенных в ряде наших исследований [1–7],

показывает, что эффективность противoinфекционного ответа существенно зависит как от защитных реакций самих инфицированных клеток, так и от реакций клеток врожденного иммунитета, развивающихся на ранних этапах инфицирования. В реакциях обоих типов важную роль играют интерфероны. Интерферонсодержащие препараты широко распространены, однако их влияние на реакции клеток врожденного иммунитета и параметры адаптивного иммунитета не исследовано. Не ясно также и то, как комбинация интерферона альфа с комплексом специфических и неспецифических антител влияет на иммунную систему человека. Поэтому представляется важным проведение исследования, направленного на выяснение этого вопроса.

Нейтрофильные внеклеточные ловушки (НЭЛ, NET – neutrophil extracellular traps) – это одна из форм жизнедеятельности нейтрофила, которую он приобретает при активации, связанной с появлением патогена. НЭЛ защищают от инфекции, в частности, от крупных патогенов, но они также вовлечены в патологические негативные процессы при слишком сильной плохо контролируемой активации. Таким образом, НЭЛ эффективны и безопасны при отсутствии их избыточного количества при контакте нейтрофила с патогеном.

Механизмы патологического действия на организм НЭЛ включают продукцию ими активных форм кислорода (АФК), продуцируемые НАДФН-оксидазой или митохондриями, которые активируют миелопероксидазу (МПО),

нейтрофильную эластазу (НЭ) и протеин-аргининдезими-назу типа 4 (PAD4).

Сам процесс образования НЭЛ, который имеет обозначение от английского NET – НЕТоз запускается в ответ на появление патогена, но с другой стороны активность этого процесса должна регулироваться организмом в обратную сторону, чтобы предотвратить чрезмерное повреждение тканей во время острого воспаления или хронического воспалительного заболевания.

Таким образом, имеет большое практическое значение оценка влияния ряда иммуномодулирующих лекарственных средств на активность НЕТоза.

Цель настоящего исследования заключалась в изучении влияния фармакологических препаратов Виферон, Кипферон и Эргоферон на формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек и популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови в условиях клеточного культивирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали периферическую кровь 12 здоровых доноров и 6 больных с острым воспалением, которая служила источником нейтрофилов и лимфоцитов. Стимуляция НЭЛ проводилась 2 способами – спонтанно, без какой-либо стимуляции (контроль 1), и с помощью липополисахарида (LPS), который является естественным компонентом мембраны многих бактерий (контроль 2), за счет которого иммунная система распознает данные бактерии как чужеродные.

Получение клеточных фракций нейтрофилов

В исследовании использовали клеточные фракции нейтрофилов. Венозную кровь (10 мл) помещали в силиконизированную пробирку с ЭДТА для предотвращения свертывания. Для выделения нейтрофилов из венозной крови, обработанной ЭДТА, кровь разводили 2 раза натрий-фосфатным буферным раствором, pH 7,4, и наслаивали на двойной градиент плотности стерильных растворов фиколла-верографина. Плотность верхнего слоя градиента составляет 1,077, а нижнего – 1,119. После центрифугирования (1600 об/мин, 30 мин) на границе между градиентами появляется кольцо гранулоцитов с чистотой 98–100%, эритроциты при этом осаждаются на дно пробирки. Кольцо нейтрофильных гранулоцитов отбирали, переносили в пробирки для центрифугирования, дважды отмывали от примесей фиколла буферным раствором, используя центрифугирование для осаждения клеток (1200 об/мин, 15 мин). Стерильно выделенные нейтрофилы переносили в среду RPMI-1640 и использовали в экспериментах по культивированию. Жизнеспособность выделенных нейтрофилов составляла не менее 90%, которую определяли в тесте с 0,1% раствором трипанового синего.

Культивирование клеток крови с препаратами. К стерильно выделенным нейтрофилам добавляли экстракты исследуемых фармакологических препаратов и проводили инкубацию с клетками в атмосфере 5% CO₂ при 37 °C во всех экспериментах. В пробе объема 200 мкл,

приготовленной на среде RPMI-1640, содержались нейтрофилы и исследуемый фармакологический препарат. Конечная концентрация клеток в среде культивирования составляла $2 \cdot 10^5$ клеток/мл.

Иммуофлюоресцентное окрашивание нейтрофильных экстраклеточных ловушек. Для обнаружения и подсчета нейтрофильных экстраклеточных ловушек использовали флюоресцентную микроскопию. Для этого нейтрофилы после окончания инкубации помещали в лунки на предметном стекле, образованные наплавлением пленки Parafilm (Sigma) на стекло с отверстиями диаметром 5 мм. Стекло в лунках предварительно обрабатывали 0,1% поли-L-лизинем для увеличения адгезии клеток. Затем в каждую лунку вносили 20 мкл суспензии нейтрофилов из проб после культивирования. Для адгезирования нейтрофилов предметные стекла с нанесенной суспензией нейтрофилов помещали во влажную камеру и инкубировали в течение 30 мин при 37 °C. После окончания процедуры адгезии в лунки добавляли 10 мкл флюоресцентного красителя Syber Green (Evrogen) и выдерживали окрашенные пробы в течение 10 мин в темноте при 37 °C. Для удаления излишков красителя предметные стекла с адгезированными нейтрофилами промывали в натрийфосфатном буферном растворе в течение 2 мин и микроскопировали под иммерсией.

Среди 100 нейтрофилов подсчитывали количество нейтрофильных экстраклеточных ловушек. Результаты выражали в процентах как отношение количества нейтрофильных экстраклеточных ловушек к общему количеству нейтрофилов.

Получение клеточных фракций лимфоцитов

В исследовании использовали клеточные фракции лимфоцитов. Венозную кровь здоровых доноров или больных холециститом помещали в силиконизированную пробирку с ЭДТА для предотвращения свертывания. Лимфоциты выделяли в одноступенчатом градиенте плотности в стерильных условиях. Кровь разводили 1 : 5 – 50 мМ натрийфосфатным буферным раствором, pH 7,4, и наслаивали 10 мл разведенной крови на 2 мл раствора фиколла-верографина с удельным весом 1,077 и центрифугировали 30 мин при 600 g. Мононуклеарные клетки, содержащиеся в интерфазе, осторожно собирали, переносили в силиконизированные пробирки и дважды отмывали ресуспендированием с последующим центрифугированием в 50 мМ натрийфосфатном буферном растворе при 300 g в течение 10 мин. Клетки, предназначенные для определения исходной экспрессии CD-антигенов на лимфоцитах, ресуспендировали в буферном растворе с фосфатами, доводя до концентрации $2 \cdot 10^5$ клеток/мл, pH 7,4. Содержание лимфоцитов в клеточной взвеси определяли их визуальным подсчетом в камере Горяева. Жизнеспособность лимфоцитов, определяемая по прокрашиванию погибших клеток 0,1% раствором трипанового синего, составляла не менее 98%.

Определение содержания в периферической крови и в культуре *in vitro* лимфоцитов, экспрессирующих антигены CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD72, CD38, CD25, CD71, HLA-DR, CD95, CD54, проводили с помощью

моноклональных антител (Сорбент, РФ) в реакции непрямой иммунофлюоресценции. Для оценки исходной экспрессии поверхностных антигенов лимфоцитами периферической крови использовали взвесь клеток в среде RPMI-1640, pH 7,4.

Культивирование лимфоцитов с препаратом. К стерильно выделенным лимфоцитам добавляли исследуемый фармакологический препарат и проводили инкубацию с клетками в атмосфере 5% CO₂ при 37 °C в течение 2 ч во всех экспериментах. В пробе объема 200 мкл, приготовленной на среде RPMI-1640, содержались лимфоциты и исследуемый фармакологический препарат. Конечная концентрация клеток в среде культивирования составляла $2 \cdot 10^5$ клеток/мл.

Иммунофлюоресцентное окрашивание лимфоцитов. Для обнаружения и подсчета лимфоцитов использовали флюоресцентную микроскопию. Для этого лимфоциты после окончания инкубации помещали в лунки на предметном стекле, образованные наплавлением пленки Parafilm (Sigma) на стекло с отверстиями диаметром 5 мм. Стекло в лунках предварительно обрабатывали 0,1% поли-L-лизинном для увеличения адгезии клеток. Затем в каждую лунку вносили 20 мкл суспензии лимфоцитов из проб после культивирования клеток с препаратом. Адгезирование лимфоцитов на стекло проводили во влажной камере в течение 30 мин при 37 °C.

После окончания процедуры адгезии в лунки добавляли 10 мкл раствора моноклональных антител. Препарат выдерживали в течение 30 мин при 4 °C, затем снова промывали охлажденным 50 мМ натрийфосфатным буферным раствором и вносили в лунки по 10 мкл рабочего раствора Fab-фрагментов антител мыши, меченных флюорохромом. Для связывания меченых Fab-фрагментов с моноклональными антителами, локализованными на поверхности лимфоцитов, препараты инкубировали 30 мин при +4 °C. После окончания процедуры связывания препараты промывали охлажденным 50 мМ натрийфосфатным буферным раствором и покрывали 20 мкл раствора глицерина с натрийфосфатным буферным раствором (в соотношении 1 : 1). Препарат микроскопировали в водной иммерсионной системе с использованием люминесцентного микроскопа «Люмам И3».

Экстрагирование препаратов. Для экстрагирования препаратов Виферона, Кипферона и Эргоферона из готовых лекарственных форм к ним добавляли 5 мл натрийфосфатного буферного раствора 50 мМ, pH 7,4, и инкубировали 30 мин при 37 °C. Затем проводили обработку на виброплатформе в течение 10 мин и центрифугировали 30 мин при 600 g. Водорастворимую фракцию отбирали и использовали в экспериментах по культивированию клеток. Во всех экспериментах экстракт исследуемых фармакологических препаратов занимал десятую часть объема пробы культивирования клеток.

Активация нейтрофилов. Стерильно выделенные нейтрофилы здоровых доноров активировали препаратом LPS Sigma (*Klebsiella pneumoniae*) в конечной концентрации 50 мкг/мл. За время инкубации 2 ч используемый липополисахарид вызывал активацию интактных нейтрофилов

и 30%-ное раскрытие нейтрофильных экстраклеточных ловушек.

Статистическая обработка. Статистическая обработка полученных результатов с целью оценки достоверности регистрируемых изменений проводилась при большой выборке – с помощью критерия t Стьюдента, при малой выборке – с ненормальным распределением, а также при сравнении попарно связанных вариантов – с применением непараметрических критериев Вилкоксона и Манна – Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Исследование реакций врожденного иммунитета

Формирование НЭЛ под влиянием LPS и действие фармакологических препаратов Виферона, Кипферона и Эргоферона приведены на *рис. 1, 2* и в *табл. 1*.

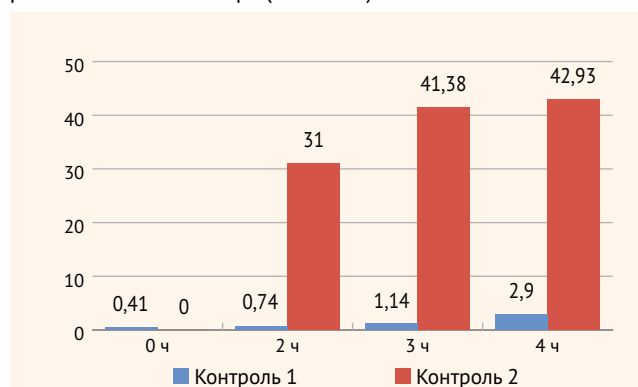
За время инкубации (4 ч) нейтрофилы здоровых доноров демонстрируют незначительное спонтанное формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек (контроль 1, *рис. 1*). Этот эффект, видимо, вызван механической стимуляцией интактных клеток, которая ведет к их активации. Однако этот эффект незначителен, и за весь период инкубации (4 ч) численность нейтрофилов, формирующих НЭЛ, не превышает 3%. Под влиянием LPS наблюдается значительное увеличение количества НЭЛ. Так, уже через 2 ч инкубации нейтрофилов здоровых доноров с LPS численность НЭЛ увеличивается до $31,59 \pm 2,32\%$, а через 4 ч инкубации возрастает до $42,93 \pm 3,56\%$ (контроль 2, *рис. 1*). Этот эффект описан в литературе и вызван активацией нейтрофилов, которые получают сигналы активации через рецепторы врожденного иммунитета TLR4.

Действие препаратов Виферон, Кипферон и Эргоферон изучали на нейтрофилах здоровых доноров, получивших стимулирующее воздействие путем обработки LPS (*рис. 2*).

Влияние Виферона на формирование НЭЛ, индуцированное LPS, практически отсутствует.

● **Рисунок 1.** Спонтанное формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек (контроль 1) и LPS-индуцированное образование нейтрофильных экстраклеточных ловушек (контроль 2)

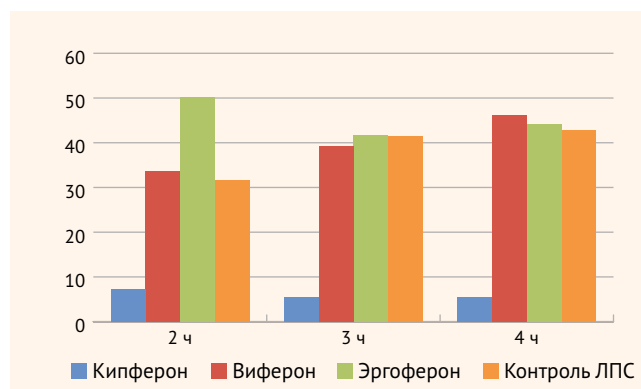
● **Figure 1.** Spontaneous production of neutrophilic extracellular traps (Control 1) and LPS-induced production of neutrophilic extracellular traps (Control 2)



Примечание. По горизонтальной оси – время инкубации нейтрофилов (ч). По вертикальной оси – количество нейтрофильных экстраклеточных ловушек (%).

● **Рисунок 2.** Влияние препаратов Кипферон, Виферон и Эргоферон на LPS-индуцированное образование нейтрофильных экстраклеточных ловушек

● **Figure 2.** Effect of Kipferon, Viferon and Ergoferon on LPS-induced production of neutrophil extracellular traps



Примечание. По горизонтальной оси – время инкубации нейтрофилов (ч). По вертикальной оси – количество нейтрофильных экстраклеточных ловушек (%).

Через 2, 3 и 4 ч инкубации количество НЭЛ, образованных нейтрофилами, активированными LPS, под влиянием этого препарата практически совпадает с численностью НЭЛ без действия Виферона. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии достоверного влияния Виферона на формирование НЭЛ, индуцированное LPS.

Динамика раскрытия НЭЛ под влиянием Кипферона совершенно иная. Результаты свидетельствуют о значительном подавляющем эффекте этого препарата на формирование НЭЛ, который был индуцирован LPS в интактных нейтрофилах здоровых доноров.

Так, уже через 2 ч инкубации Кипферона с нейтрофилами, активированными LPS, формирование НЭЛ значительно снижается до уровня $7,23 \pm 0,48\%$, тогда как в контроле численность НЭЛ составляет $31,59 \pm 2,32\%$ ($p < 0,01$). В продолжении инкубации Кипферона с активированными нейтрофилами этот эффект ингибирования раскрытия НЭЛ еще больше усиливается. Через 3 и 4 ч инкубации численность НЭЛ под влиянием Кипферона составляет $5,58 \pm 1,05\%$ ($p < 0,001$) и $5,51 \pm 0,87\%$ ($p < 0,001$) по сравнению с контролем – $41,38 \pm 3,83$ и $42,93 \pm 3,56\%$ соответственно.

Эргоферон оказывает значительное стимулирующее действие на формирование НЭЛ через 2 ч инкубации.

Эргоферон с активированными LPS нейтрофилами – количество НЭЛ значительно увеличивается и составляет $50,29 \pm 2,04\%$ ($p < 0,01$), превышая контрольные значения ($31,59 \pm 2,32\%$) в 1,6 раза. Через 3 и 4 ч инкубации этого препарата с нейтрофилами, активированными LPS, достоверных отличий в формировании НЭЛ по сравнению с контролем не наблюдается.

Результаты этого раздела исследования показывают, что все применяемые препараты характеризуются различным влиянием на формирование НЭЛ. Кроме этого, структура формирующихся НЭЛ под влиянием исследуемых препаратов также существенно различается.

Исследуемые препараты существенно влияют на морфологию НЭЛ. В контрольных исследованиях, где не применялся какой-либо лекарственный препарат, LPS индуцирует формирование НЭЛ в сетевидной форме нейтрофилами здоровых доноров (рис. 3), причем в течение 2 ч инкубации размеры НЭЛ не превышают десяти клеточных диаметров (рис. 4).

Виферон не оказывает существенного влияния на численность НЭЛ, но значительно увеличивает размеры формирующихся нейтрофильных ловушек. Регистрируются НЭЛ, имеющие размеры в несколько десятков клеточных диаметров (рис. 5, 6). Необходимо отметить, что все НЭЛ имеют сетевидное строение, характерное для инфекционного воспаления.

Кипферон, в отличие от достаточно близкого по фармакологическому составу Виферона, ограничивает избыточное формирование НЭЛ, уменьшая численность этих структур, а также существенно уменьшает их размеры и изменяет их морфологическое строение (рис. 7, 8). Наши исследования показывают, что под влиянием Кипферона обнаруживаются как нитевидные структуры (рис. 7), ранее нами обнаруженные при асептическом воспалении, так и сетевидные формы НЭЛ (рис. 8), характерные для инфекционного воспаления. Размеры найденных под влиянием Кипферона НЭЛ не превышают 10 клеточных диаметров.

Эргоферон вызывает не только быстрое увеличение численности НЭЛ, но и существенно изменяет морфологическое строение этих структур. Под влиянием Эргоферона наблюдаются чрезвычайно длинные волокна ДНК, выходящие за пределы поля зрения. Полный размер

● **Таблица 1.** Влияние препаратов Виферон, Кипферон, Эргоферон на формирование НЭЛ нейтрофильными лейкоцитами у здоровых доноров, индуцированными LPS

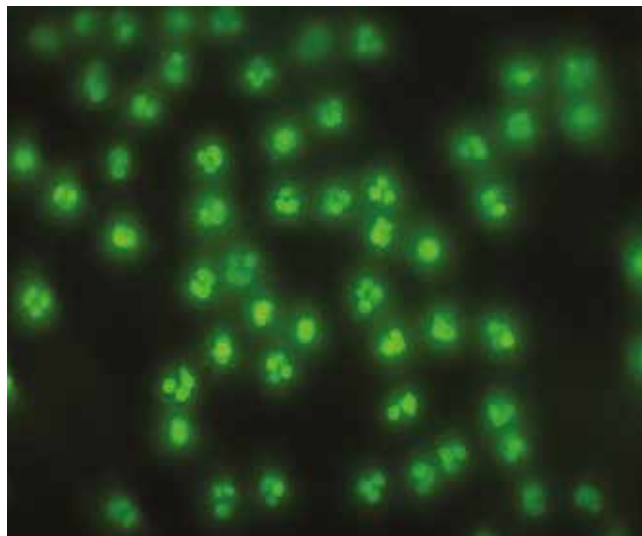
● **Table 1.** Effect of Viferon, Kipferon, Ergoferon on the LPS-induced production of NETs by neutrophilic leukocytes in healthy donors

Время инкубации нейтрофилов (ч)	Спонтанное формирование НЭЛ (контроль 1) в %	LPS-индуцированное формирование НЭЛ (контроль 2) в %	Влияние на LPS-индуцированные НЭЛ в %		
			Виферон	Кипферон	Эргоферон
0	$0,41 \pm 0,17$	Нет данных	Нет данных	Нет данных	Нет данных
2	$0,74 \pm 0,12$	$31,59 \pm 2,32^*$	$33,55 \pm 4,25$	$7,23 \pm 0,48^*$	$50,29 \pm 2,04^*$
3	$1,14 \pm 0,20$	$41,38 \pm 3,83^{##}$	$39,28 \pm 3,32$	$5,58 \pm 1,05^{**}$	$41,60 \pm 5,62$
4	$2,93 \pm 0,45$	$42,93 \pm 3,56^{###}$	$46,18 \pm 5,01$	$5,51 \pm 0,87^{**}$	$44,22 \pm 9,32$

Примечание. Результаты представлены как $M \pm m$ (среднее \pm ошибка среднего). # – $p < 0,05$ по сравнению с контролем 1; ## – $p < 0,01$ по сравнению с контролем 1; ### – $p \leq 0,001$ по сравнению с контролем 1; * – $p < 0,01$ по сравнению с контролем 2; ** – $p < 0,001$ по сравнению с контролем 2.

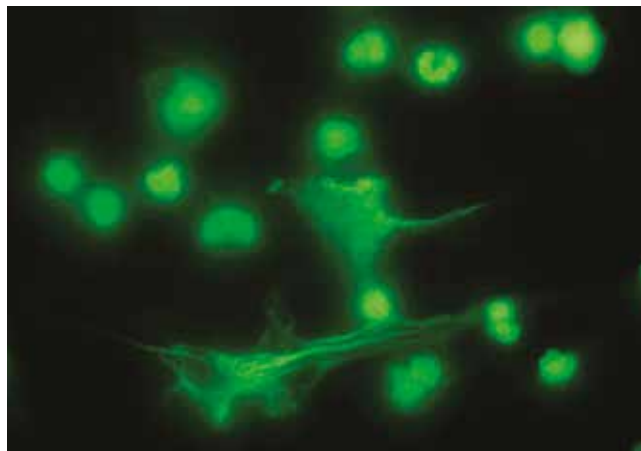
● **Рисунок 3.** Нейтрофилы здоровых доноров. Окрашивание двухцепочечной ДНК Cyber Green

● **Figure 3.** Neutrophils from healthy donors. SYBR Green staining of double-stranded DNA



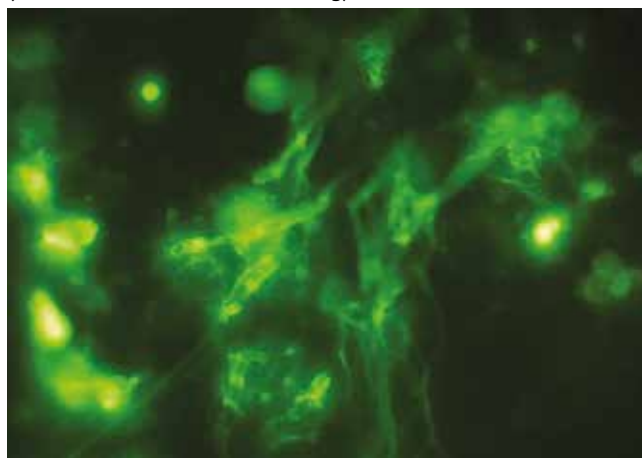
● **Рисунок 4.** Нейтрофильные экстраклеточные ловушки, формирующиеся нейтрофилами здоровых доноров, индуцированные добавлением LPS. Окрашивание двухцепочечной ДНК Cyber Green

● **Figure 4.** Neutrophil extracellular traps produced by healthy donor neutrophils in response to LPS addition. SYBR Green staining of double-stranded DNA



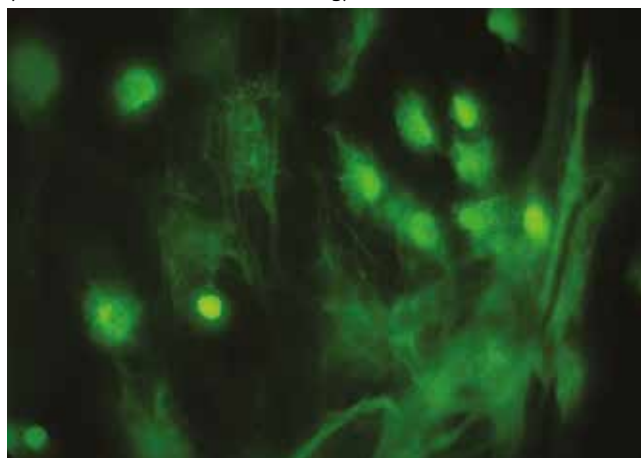
● **Рисунок 5.** Нейтрофильные экстраклеточные ловушки под влиянием Виферона (2 ч инкубации с препаратом)

● **Figure 5.** Neutrophil extracellular traps exposed to Viferon (2-hour incubation with the drug)



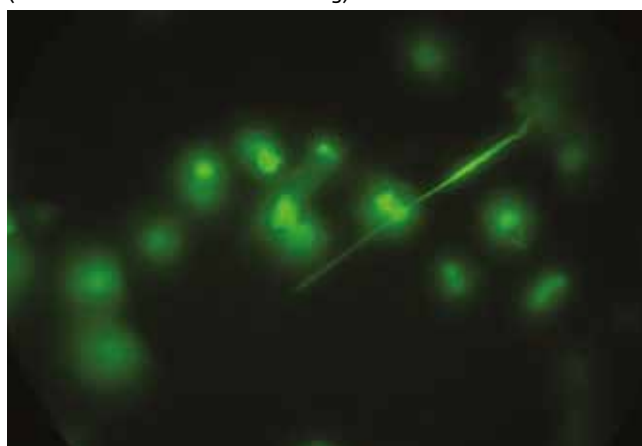
● **Рисунок 6.** Нейтрофильные экстраклеточные ловушки под влиянием Виферона (3 ч инкубации с препаратом)

● **Figure 6.** Neutrophil extracellular traps exposed to Viferon (3-hour incubation with the drug)



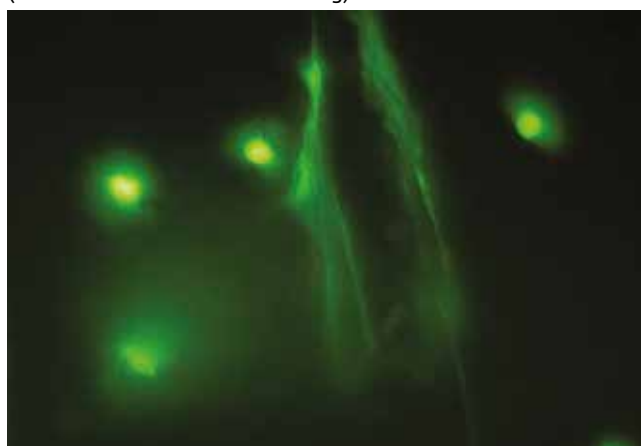
● **Рисунок 7.** Нейтрофильные экстраклеточные ловушки под влиянием Кипферона (2 ч инкубации с препаратом)

● **Figure 7.** Neutrophil extracellular traps exposed to Kipferon (2-hour incubation with the drug)



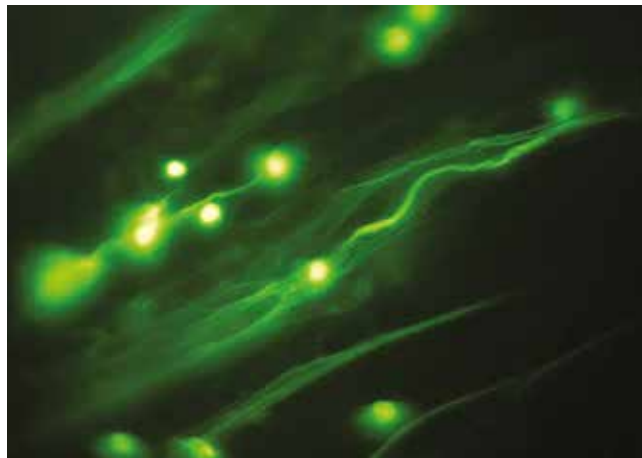
● **Рисунок 8.** Нейтрофильные экстраклеточные ловушки под влиянием Кипферона (3 ч инкубации с препаратом)

● **Figure 8.** Neutrophil extracellular traps exposed to Kipferon (3-hour incubation with the drug)



● **Рисунок 9.** Нейтрофильные экстраклеточные ловушки под влиянием Эргоферона (2 ч инкубации с препаратом)

● **Figure 9.** Neutrophil extracellular traps exposed to Ergoferon (2-hour incubation with the drug)



НЭЛ, по-видимому, значительно превышает несколько десятков клеточных диаметров. Поэтому представить полную структуру НЭЛ невозможно. *Рис. 9* демонстрирует фрагмент структуры НЭЛ, формирующейся под действием Эргоферона. НЭЛ представляет собой волокнистую структуру, состоящую из параллельных переплетающихся толстых и тонких нитей ДНК. Ранее такие структуры НЭЛ в наших исследованиях не встречались.

Ориентируясь на результаты наших предыдущих работ, и результаты данной экспериментальной работы, следует отметить, что Кипферон стимулирует образование сразу нескольких морфологических форм НЭЛ. Помимо сетевидной формы НЭЛ, которая участвует в захвате патогена, образуются и нитевидные НЭЛ. Функция НЭЛ с такой морфологической структурой продолжает изучаться. Это имеет потенциальное клиническое значение, т.к. Кипферон позволяет формировать несколько разновидностей НЭЛ для более эффективного подавления ими патогена.

Влияние Виферона, Кипферона и Эргоферона на популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов здоровых доноров

В пределах настоящего исследования определяли изменения популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, полученных от здоровых доноров под влиянием препаратов Виферона, Кипферона и Эргоферона. Результаты этого исследования в сопоставлении с показателями здоровых доноров приведены в *табл. 2*.

Влияние исследуемых фармакологических препаратов на популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов здоровых доноров в целом незначительное.

Виферон не влияет как на общее содержание Т-лимфоцитов (CD3), так и на численность субпопуляций Т-лимфоцитов (CD4 и CD8). Под влиянием Виферона наблюдается незначительное увеличение субпопуляции естественных киллерных клеток (CD56⁺-лимфоциты). Количество В-лимфоцитов, а также численность клеток, экспрессирующих активационные антигены лимфоцитов, под влиянием Виферона не изменяется.

● **Таблица 2.** Влияние препаратов Виферон, Кипферон, Эргоферон на популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов с учетом активационных антигенов у здоровых доноров

● **Table 2.** Effect of Viferon, Kipferon, Ergoferon on the population and subpopulation composition of lymphocytes with due account for activation antigens in healthy donors

Маркеры лимфоцитов	Контроль (n = 6)	Виферон (n = 6)	Кипферон (n = 6)	Эргоферон (n = 6)
Т-лимфоциты (%)				
CD3	66,83 ± 3,66	67,91 ± 3,83	66,04 ± 2,38	54,80 ± 3,34*
CD4	37,78 ± 1,65	47,56 ± 2,73	36,57 ± 4,07	37,50 ± 3,38
CD8	26,18 ± 0,96	28,91 ± 3,15	24,50 ± 1,13	27,84 ± 1,66
НК-клетки (%)				
CD16	12,88 ± 0,82	11,43 ± 1,35	7,54 ± 0,67*	15,90 ± 2,56
CD56	4,47 ± 0,52	7,20 ± 1,09*	7,58 ± 1,18*	4,74 ± 0,49
В-лимфоциты (%)				
CD20	14,88 ± 1,38	13,12 ± 1,34	12,52 ± 1,35	11,93 ± 0,94
CD72	5,38 ± 0,89	8,14 ± 2,14	5,96 ± 0,31	7,74 ± 0,49
Активационные маркеры лимфоцитов (%)				
CD23	5,25 ± 0,99	5,04 ± 0,88	3,89 ± 0,30	4,18 ± 0,52
CD25	5,97 ± 1,44	4,44 ± 0,54	4,26 ± 0,31	6,07 ± 0,56
CD71	6,94 ± 1,05	6,04 ± 0,81	6,99 ± 0,67	6,60 ± 1,01
HLA-DR	11,62 ± 0,93	12,14 ± 1,89	14,25 ± 1,34	11,45 ± 0,97
CD95	6,19 ± 0,94	6,74 ± 1,46	7,04 ± 0,60	5,46 ± 0,63
CD54	5,49 ± 0,98	6,60 ± 0,82	6,73 ± 0,82	5,49 ± 1,08

Примечание. Результаты представлены как М ± m (среднее ± ошибка среднего).
*p < 0,05 по сравнению с контролем.

Кипферон также не влияет на численность Т-лимфоцитов и их субпопуляций, но оказывает влияние на НК-клеточное звено иммунной системы. Однако под влиянием Кипферона при снижении общего числа НК-клеток (CD16⁺-лимфоциты) в 1,7 раза увеличивается количество активированных НК-клеток (CD56⁺-клетки) в 1,6 раза. Количество В-лимфоцитов, а также численность клеток, экспрессирующих активационные антигены лимфоцитов, под влиянием Кипферона не изменяется. Эти результаты могут интерпретировать свойство препарата Кипферона поддерживать баланс иммунной системы между более эффективной нейтрализацией патогена и ограничением количества самих НК-клеток, чье избыточное количество может быть ассоциировано с дополнительными осложнениями от воспалительного процесса, влияющими на организм пациента.

Эргоферон снижает общее количество Т-лимфоцитов до 54,80 ± 3,34% по сравнению с контрольными показателями здоровых доноров – 66,83 ± 3,66%. Причем численность субпопуляций Т-лимфоцитов (CD4 и CD8) под

влиянием этого препарата практически не изменяется. Этот эффект, по-видимому, вызван экранировкой части Т-клеточных рецепторов. Количество НК-клеток, В-лимфоцитов, а также численность клеток, экспрессирующих активационные антигены лимфоцитов, под влиянием Эргоферона не изменяется.

Влияние Виферона, Кипферона и Эргоферона на популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов пациентов с острым воспалением

Результаты исследования популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, полученных от пациентов с острым воспалительным процессом под влиянием препаратов Виферона, Кипферона и Эргоферона, приведены в *табл. 3*.

Воспаление вызывает ряд изменений в популяционном и субпопуляционном составе лимфоцитов. В частности отмечается снижение численности Т-лимфоцитов (CD3⁺-клетки), увеличение количества НК-клеток (CD16⁺-лимфоциты), В-лимфоцитов (CD20⁺-клетки), активационных антигенов лимфоцитов (CD 23, CD25, CD71), а также количества лимфоцитов, экспрессирующих рецептор запуска активационного апоптоза CD95. Помимо этого воспаление существенно увеличивает численность лимфоцитов, экспрессирующих рецептор адгезии (молекулу межклеточной коммуникации) CD54 (ICAM-1).

Изменения популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов, характерные для острого инфекционного воспалительного процесса, были исследованы нами ранее [8, 9]. В настоящем исследовании изменения популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов при остром инфекционном воспалении полностью соответствуют ранее полученным данным.

Виферон не влияет на общее содержание Т-лимфоцитов (CD3⁺-клетки) и на численность субпопуляций Т-лимфоцитов (CD4⁺- и CD8⁺-лимфоциты). Под влиянием Виферона наблюдается увеличение субпопуляции естественных киллерных клеток (НК-клетки, CD16⁺), а также их активированных форм (CD56⁺-лимфоциты).

Численность В-лимфоцитов не изменяется, но увеличивается в 1,4 раза вероятность у ряда В-лимфоцитов развивать интенсивный синтез иммуноглобулинов (увеличение CD72⁺-лимфоцитов). Под влиянием Виферона регистрируется существенное повышение в 1,9 раза численности активированных В-лимфоцитов (CD23⁺-клетки). Повышение содержания в крови CD23⁺-клеток отражает активацию В-клеточного звена иммунной системы.

Количество клеток, экспрессирующих другие активационные антигены лимфоцитов (CD25, CD71, HLA-DR), под влиянием этого препарата практически не изменяется. Не изменено также количество клеток, экспрессирующих маркер активационного апоптоза (CD95⁺-клетки). Виферон существенно, в 1,6 раза, снижает численность клеток, экспрессирующих молекулу межклеточной коммуникации CD54 (ICAM-1), участвующую в презентации антигенов.

Наиболее выраженные количественные изменения популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов под влиянием Виферона регистрируются

● **Таблица 3.** Влияние препаратов Виферон, Кипферон, Эргоферон на популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов с учетом активационных антигенов у пациентов с острым воспалением

● **Table 3.** Effect of Viferon, Kipferon, Ergoferon on the population and subpopulation composition of lymphocytes with due account for activation antigens in patients with acute inflammation

Маркеры лимфоцитов	Больные, контроль (n = 6)	Виферон (n = 6)	Кипферон (n = 6)	Эргоферон (n = 6)
Т-лимфоциты (%)				
CD3	54,25 ± 1,95	55,31 ± 1,63	51,0 ± 1,00	36,83 ± 2,04*
CD4	34,94 ± 1,50	35,31 ± 2,30	37,77 ± 2,83	32,33 ± 1,66
CD8	25,13 ± 1,18	26,75 ± 1,39	14,30 ± 0,98*	15,20 ± 2,44*
НК-клетки (%)				
CD16	11,53 ± 0,54	14,99 ± 1,32*	20,20 ± 2,13*	5,70 ± 1,52*
CD56	8,56 ± 0,50	12,63 ± 0,93**	6,90 ± 0,30	4,90 ± 0,37*
В-лимфоциты (%)				
CD20	17,67 ± 0,57	16,77 ± 0,69	18,67 ± 1,33	7,67 ± 1,17*
CD72	6,81 ± 0,88	9,84 ± 0,70*	7,77 ± 0,53	6,57 ± 0,86
Активационные маркеры лимфоцитов (%)				
CD23	8,62 ± 0,89	16,01 ± 2,68*	8,60 ± 0,79	3,63 ± 0,48*
CD25	13,46 ± 2,17	14,1 ± 1,64	7,83 ± 0,63*	9,11 ± 1,67*
CD71	13,73 ± 0,84	12,87 ± 1,14	7,59 ± 0,79*	13,21 ± 2,77
HLA-DR	12,90 ± 0,93	11,75 ± 0,61	13,19 ± 1,01	11,20 ± 0,99
CD95	8,47 ± 0,49	10,0 ± 0,67	7,03 ± 0,99	6,46 ± 0,37*
CD54	11,68 ± 0,54	7,29 ± 1,21**	13,93 ± 3,02	8,81 ± 1,25

Примечание. Результаты представлены как М ± m (среднее ± ошибка среднего).
* p < 0,05 по сравнению с контролем; ** p < 0,01 по сравнению с контролем.

в НК-клеточном звене (CD16 и CD56), субпопуляции В-лимфоцитов (CD72) и количестве активированных В-лимфоцитов (CD23). Увеличение В-лимфоцитов, с одной стороны, может иметь как положительное клиническое значение, так в то же время и отрицательное. При длительной активации лимфоцитов на фоне инфекционного процесса могут возникать условия формирования иных форм воспалительных реакций, например реакций при хронических вирусных инфекциях [9] и аутоиммунных процессах [10], а также онкогенных процессах [11]. В таком случае безопасность длительного воздействия на активацию В-лимфоцитов должна отдельно оцениваться в соответствующих клинических исследованиях.

Кипферон оказывает значительное влияние на количество цитотоксических лимфоцитов, не изменяя общую численность Т-лимфоцитов (CD3⁺-клетки) и количество Т-лимфоцитов с хелперно-индукторной функцией (CD4⁺-клетки). Предположительно, эти изменения связаны с подавлением экспрессии CD8-антигена на поверхности Т-лимфоцитов. Под влиянием Кипферона увеличивается

количество NK-клеток (CD16+), что характерно для действия интерферонов, и поддерживается врожденный иммунитет. Численность В-лимфоцитов (CD20+ -клетки) и количество стимулированных антигенами В-лимфоцитов (CD72+ -клетки) не изменено. Уровень активации В-лимфоцитов не изменяется, т. к. численность активированных В-лимфоцитов (CD23+ -клетки) совпадает с контрольными значениями. Количество лимфоцитов, экспрессирующих ранние дифференцировочные активационные антигены (CD25 и CD71), под влиянием Кипферона снижается в 1,7 и 1,8 раза соответственно, по сравнению с контролем. Количество зрелых, функционально активных лимфоцитов (HLA-DR+ -клетки) под влиянием этого препарата не изменяется.

Не изменяется также численность лимфоцитов, экспрессирующих маркер активационного апоптоза (CD95+ -клетки). Кипферон не влияет на количество клеток, экспрессирующих рецептор адгезии и молекулу межклеточной коммуникации CD54 (ICAM-1). Это указывает, что Кипферон стимулирует, главным образом, системы врожденного иммунитета, позволяя сформировать такой тип ответа, который более локально и быстро отвечает на инфекцию, ограничивает ее распространение и формирование дальнейших осложнений [12].

Это утверждение сочетается с результатами другой части данной экспериментальной работы, где отражены преимущественно изменения в лимфоцитах, активированных воспалением, под влиянием Кипферона. Они проявляются в NK-клеточном звене и активационных маркерах лимфоцитов. Это приводит к увеличению численности натуральных киллерных клеток, сопровождающееся снижением количества цитотоксических Т-лимфоцитов, а также нормализацией численности лимфоцитов, экспрессирующих ранние активационные антигены.

Эргоферон содержит в своем составе набор антител к гамма-интерферону человека, гистамину, рецептору CD4, но не содержит в своем составе интерферон альфа. Его влияние на популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови выражено особенно сильно. Из 13 исследованных маркеров лимфоцитов, характеризующих параметры адаптивного иммунитета, Эргоферон в условиях наших экспериментов вызывает снижение численности 8 субпопуляций лимфоцитов.

Это может быть объяснено подавлением экспрессии поверхностных рецепторов лимфоцитов под влиянием антител, входящих в состав препарата. В какой степени эти изменения влияют на функциональную активность исследуемых популяций и субпопуляций лимфоцитов можно только предполагать [13–15].

Регистрируется резкое снижение количества как NK-клеток (CD16+ -лимфоциты), так и активированных NK-клеток (CD56+ -лимфоциты), в 2,0 и в 1,7 раза соответственно, по сравнению с контролем. Значительно снижено в 2,3 раза количество В-лимфоцитов (CD20+ -клетки). При этом численность примированных антигенами В-лимфоцитов (CD72+ -клетки) не изменяется. С наибольшей

вероятностью можно ожидать развития иммунодепрессивного эффекта впоследствии [16–17], что требует дальнейшей научно-клинической оценки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет оценить механизмы иммуномодулирующего действия нескольких лекарственных препаратов на отдельные звенья иммунного ответа при рассмотрении экспериментальной модели бактериальной инфекции у пациентов.

Виферон и, главным образом, Кипферон поддерживают развитие реакций врожденного иммунитета. Врожденный иммунитет, как известно, – это ответ нашего организма на инфекцию в острую фазу воспаления. Он включается наиболее быстро, а его активность наиболее важна для пациента в первые 7–10 дней с момента появления симптомов заболевания.

При этом препарат Кипферон демонстрирует ограничение интенсивности воспалительной реакции, что проявляется снижением количества НЭЛ, а также изменением их морфологической структуры на менее «агрессивную» форму. Кроме того, отмечается увеличение численности активных NK-клеток, чья важнейшая функция – нейтрализация бактерий и вирусов, а также клеток организма, которые они уже заразили. Это также имеет важное клиническое значение для предупреждения осложнений на фоне присоединения вторичной инфекции.

Отмечается разница во взаимодействии препаратов Кипферон и Виферон на систему адаптивного иммунитета. В рамках условий проведенного исследования отмечается, что Кипферон за счет, по-видимому, комплекса иммуноглобулинов в его составе стимулирует преимущественно врожденный иммунитет, что является достаточным для уничтожения микробной угрозы.

Что касается препарата Эргоферон, то по результатам оценки реакций врожденного иммунитета видна его провоспалительная направленность стимуляции иммунного ответа на представленной модели. В то же время Эргоферон обладает способностью существенно снижать содержание в крови популяций и субпопуляций лимфоцитов, ответственных за формирование адаптивного иммунитета.

Полученные данные позволяют утверждать, что эффект препаратов интерферона-α связан, в первую очередь, с их влиянием на реакции клеток врожденного иммунитета. Влияние этих препаратов на популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови здоровых людей, отражающий состояние адаптивного иммунитета, не столь клинически значительно.

Таким образом, проведенное многоуровневое исследование позволяет выявить новые свойства и механизмы действия используемых фармакологических препаратов на основе интерферона-α, подтверждающих за счет своего действия эффективную стимуляцию отдельных звеньев иммунитета.



Поступила / Received 10.01.2023
Поступила после рецензирования / Revised 24.01.2023
Принята в печать / Accepted 26.01.2023

Список литературы / References

1. Казимирский А.Н., Порядин Г.В., Салмаси Ж.М., Семенова Л.Ю. Эндогенные регуляторы иммунной системы (sCD100, малоновый диальдегид, аргиназа). *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2018;164(5):693–700. <https://doi.org/10.1007/s10517-018-4061-6>.
2. Kazimirskii A.N., Poryadin G.V., Salmasi J.M., Semenova L.Yu. Endogenous regulators of the immune system (sCD100, malonic dialdehyde, and arginase). *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2018;164(5):693–700. <https://doi.org/10.1007/s10517-018-4061-6>.
3. Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V. Coordination of Innate and Adaptive Immunity Depending on Neutrophilic Extracellular Traps Formation. *Austin J Clin Immunol*. 2019;6(1):1037. Available at: <https://www.austinpublishinggroup.com/clinical-immunology/fulltext/ajci-v6-id1037.php>.
4. Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В. Нейтрофильные экстраклеточные ловушки – регуляторы формирования врожденного и адаптивного иммунитета. *РМЖ. Медицинское обозрение*. 2020;4(1):38–41. <https://doi.org/10.32364/2587-6821-2020-4-1-38-41>.
5. Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V. Neutrophil extracellular traps regulate the development of innate and adaptive immune system. *RMJ. Medical Review*. 2020;4(1):38–41. (In Russ.) <https://doi.org/10.32364/2587-6821-2020-4-1-38-41>.
6. Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В. Антивирусная система врожденного иммунитета: патогенез и лечение COVID-19. *Вестник РГМУ*. 2020;5(5):5–14. <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2020.054>.
7. Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V. Antiviral system of innate immunity: COVID-19 pathogenesis and treatment. *Bulletin of Russian State Medical University*. 2020;5(5):5–14. (In Russ.) <https://doi.org/10.24075/brsmu.2020.054>.
8. Порядин Г.В., Салмаси Ж.М., Кукуес И.В., Казимирский А.Н., Данилов А.Б., Лазарева Н.Б. Современные знания о воспалительных заболеваниях различной локализации и этиологии: новые возможности фармакотерапии. *Фарматека*. 2020;27(14):37–46. <https://doi.org/10.18565/pharmateca.2020.14.37-46>.
9. Poryadin G.V., Salmasi J.M., Kukes I.V., Kazimirsky A.N., Danilov A.B., Lazareva N.B., Danilov A.B. Modern knowledge of inflammatory diseases of various localization and etiology: new possibilities of pharmacotherapy. *Farimateka*. 2020;27(14):37–46. (In Russ.) <https://doi.org/10.18565/pharmateca.2020.14.37-46>.
10. Кукуес И.В., Салмаси Ж.М., Терновой К.С., Казимирский А.Н., Ободзинская Т.Е., Лим В.Г. и др. Предпосылки к созданию атласа постковидного воспаления как способа персонализированной фармакотерапии, а также прогнозирования и предупреждения органных и системных дисфункций. *Медицинский совет*. 2021;12(72):72–88. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-12-72-88>.
11. Kukes I.V., Salmasi J.M., Ternovoy K.S., Kazimirskii A.N., Obodzinskaya T.E., Lim V.G. et al. Prerequisites for the creation of an atlas of postcovid inflammation as a way of personalized pharmacotherapy, as well as predicting and preventing organ and systemic dysfunctions. *Meditsinskiy Sovet*. 2021;12(72):72–88. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-12-72-88>.
12. Салмаси Ж.М., Казимирский А.Н., Кукуес И.В., Порядин Г.В., Поздняков Д.И. Интерферонсодержащие препараты: клиникофармакологические и иммунологические задачи применения при респираторных заболеваниях. *Медицинский совет*. 2021;11(210):210–220. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-11-210-220>.
13. Salmasi J.M., Kazimirskii A.N., Kukes I.V., Poryadin G.V., Pozdnyakov D.I. Interferon-containing drugs: clinical, pharmacological, and immunological points of their use for respiratory diseases treatment. *Meditsinskiy Sovet*. 2021;11(210):210–220. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-11-210-220>.
14. Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Кукуес И.В. Современные иммунофармакологические возможности оценки свойства бензидами-на для влияния на клетки врожденного и адаптивного иммунитета. *Медицинский совет*. 2021;11(111):111–117. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-11-111-117>.
15. Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V., Kukes I.V. Modern immunopharmacological methods of discovering new properties of benzydamine by its influence on innate and adaptive immune cells. *Meditsinskiy Sovet*. 2021;11(111):111–117. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-11-111-117>.
16. Hua S., Viganò S., Tse S., Zhengyu O., Harrington S., Negroni J. et al. Pegylated Interferon- α -Induced Natural Killer Cell Activation Is Associated With Human Immunodeficiency Virus-1 DNA Decline in Antiretroviral Therapy-Treated HIV-1/Hepatitis C Virus–Coinfected Patients. *Clin Infect Dis*. 2018;66(12):1910–1917. <https://doi.org/10.1093/cid/cix1111>.
17. Rönnblom L., Lövgren T., Bse U., Alm G.V. Production of IFN- α by Natural IFN- α Producing Cells (NIPC), induced by apoptotic cells and autoantibodies via Fc γ RII, could be a pivotal event in the etiopathogenesis of SLE. *Arthritis Res Ther*. 2002;4(7). Available at: <https://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/ar514>.
18. Buddingh E.P., Ruslan S.E., Berghuis D., Gelderblom H., Anninga J.K., Hogendoorn P.C. et al. Intact interferon signaling in peripheral blood leukocytes of high-grade osteosarcoma patients. *Cancer Immunol Immunother*. 2012;61(6):941–947. <https://doi.org/10.1007/s00262-012-1232-6>.
19. Wiesolek H.L., Bui T.M., Lee J.J., Dalal P., Finkielstein A., Batra A. et al. Intercellular Adhesion Molecule 1 Functions as an Efferocytosis Receptor in Inflammatory Macrophages. *Am J Pathol*. 2020;190(4):874–885. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2019.12.006>.
20. Marshak A., Doherty P.C., Wilson D.B. The control of specificity of cytotoxic T lymphocytes by the major histocompatibility complex (AG-B) in rats and identification of a new alloantigen system showing no AG-B restriction. *J Exp Med*. 1977;146(6):1773–1790. <https://doi.org/10.1084/jem.146.6.1773>.
21. Kappler J.W., Marrack P. The role of H-2-linked genes in helper T-cell function: I. In vitro expression in B cells of immune response genes controlling helper T-cell activity. *J Exp Med*. 1977;146(6):1748–1764. <https://doi.org/10.1084/jem.146.6.1748>.
22. Li J., Barreda D.R., Zhang Y.A., Boshra H., Gelman A.E., Lapatra S. et al. B lymphocytes from early vertebrates have potent phagocytic and microbicidal abilities. *Nat Immunol*. 2006;7(10):1116–1124. <https://doi.org/10.1038/ni1389>.
23. Cross A.H., Klein R.S., Piccio L. Rituximab combination therapy in relapsing multiple sclerosis. *Ther Adv Neural Disord*. 2012;5(6):311–319. <https://doi.org/10.1177/1756285612461165>.
24. Kläsener K., Jellusova J., Andrieux G., Salzer U., Böhler C., Steiner S.N. et al. CD20 as a gatekeeper of the resting state of human B cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2021;118(7):e2021342118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2021342118>.

Вклад авторов:

Концепция статьи – Кукуес И.В.
 Концепция и дизайн исследования – Порядин Г.В., Салмаси Ж.М., Кукуес И.В.
 Написание текста – Казимирский А.Н., Кукуес И.В.
 Сбор и обработка материала – Казимирский А.Н., Семенова Л.Ю.
 Обзор литературы – Казимирский А.Н.
 Перевод на английский язык – Кукуес И.В.
 Анализ материала – Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М.
 Статистическая обработка – Панина М.И.
 Редактирование – Кукуес И.В., Салмаси Ж.М., Панина М.И.
 Утверждение окончательного варианта статьи – Салмаси Ж.М., Кукуес И.В.

Contribution of authors:

Concept of the article – Ilya V. Kukes
 Study concept and design – Gennady V. Poryadin, Jean M. Salmasi, Ilya V. Kukes
 Text development – Alexander N. Kazimirskii, Ilya V. Kukes
 Collection and processing of material – Alexander N. Kazimirskii, Lydmila Y. Semenova
 Literature review – Alexander N. Kazimirskii
 Translation into English – Ilya V. Kukes
 Material analysis – Alexander N. Kazimirskii, Jean M. Salmasi
 Statistical processing – Marina I. Panina
 Editing – Ilya V. Kukes, Jean M. Salmasi, Panina M.I.
 Approval of the final version of the article – Jean M. Salmasi, Ilya V. Kukes

Информация об авторах:

Казимирский Александр Николаевич, д.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник отдела молекулярных технологий, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова; 117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1; <https://orcid.org/0000-0002-3079-4089>; alnica10@mail.ru

Салмаси Жеан Мустафаевич, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патофизиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета, Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова; 117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1; <https://orcid.org/0000-0001-8524-0019>; profjms@yandex.ru

Кукес Илья Владимирович, к.м.н., врач клинический фармаколог, иммунолог, руководитель научно-клинического отдела, Международная ассоциация клинических фармакологов и фармацевтов; 109147, Россия, Москва, ул. М. Калитниковская, д. 2/1; <https://orcid.org/0000-0003-1449-8711>; ilyakukes@gmail.com

Порядин Геннадий Васильевич, член-корр. РАН, д.м.н., профессор, профессор кафедры патофизиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета, Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова; 117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1; <https://orcid.org/0000-0003-2010-3296>; poryadin_GV@rsmu.ru

Семенова Людмила Юрьевна, д.м.н., доцент, профессор кафедры патофизиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета, Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова; 117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1; <https://orcid.org/0000-0003-1000-0453>; Semenovaly@mail.ru

Панина Марина Ивановна, д.м.н., профессор, профессор кафедры патофизиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова; 117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1; <https://orcid.org/0000-0002-7651-0037>; pan-mar@list.ru

Information about the authors:

Alexander N. Kazimirskii, Dr. Sci. (Biol.), Associate Professor, Leading Researcher, Department of Molecular Technologies, Pirogov Russian National Research Medical University; 1, Ostrovityanov St., Moscow, 117997, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3079-4089>; alnica10@mail.ru

Jean M. Salmasi, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Pathophysiology and Clinical Pathophysiology, Faculty of Medicine, Pirogov Russian National Research Medical University; 1, Ostrovityanov St., Moscow, 117997, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-8524-0019>; profjms@yandex.ru

Ilya V. Kukes, Cand. Sci. (Med.), Laureate of the Grant of the President of the Russian Federation, Clinical Pharmacologist, Immunologist, Head of the Scientific and Clinical Department, International Association of Clinical Pharmacologists and Pharmacists; 2, Bldg. 1, Malaya Kalitnikovskaya St., Moscow, 109147, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1449-8711>; ilyakukes@gmail.com

Gennady V. Poryadin, Corr. Member RAS, Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Pathophysiology and Clinical Pathophysiology, Faculty of Medicine, Pirogov Russian National Research Medical University; 1, Ostrovityanov St., Moscow, 117997, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-2010-3296>; poryadin_GV@rsmu.ru

Lydmila Y. Semenova, Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Pathophysiology and Clinical Pathophysiology, Faculty of Medicine, Pirogov Russian National Research Medical University; 1, Ostrovityanov St., Moscow, 117997, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1000-0453>; Semenovaly@mail.ru

Marina I. Panina, Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Pathophysiology and Clinical Pathophysiology, Faculty of Medicine, Pirogov Russian National Research Medical University; 1, Ostrovityanov St., Moscow, 117997, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-7651-0037>; pan-mar@list.ru