

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «НЕОВИР» НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ CD3-КОМПЛЕКСОВ И CD4 АНТИГЕНОВ Т-ЛИМФОЦИТАМИ КРОВИ ДОНОРОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СРОКАХ ИНКУБАЦИИ

О. В. Путинцева, В. Г. Артюхов, Н. Н. Сиделева

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Поступила в редакцию 06.09.2018 г.

Аннотация. Лекарственный препарат «НЕОВИР®» относится к группе интерферогенов или индукторов эндогенного интерферона, обладает иммуотропным действием и противовирусной активностью в отношении ДНК- и РНК-геномных вирусов. Успешно используется при лечении гриппа, ОРВИ, гепатитов, ВИЧ-инфекции, герпетических и ряда других заболеваний.

Методом твердофазного иммуоферментного анализа нами было изучено влияние препарата «НЕОВИР®» на антигенраспознающую способность Т-лимфоцитов, показателем которой служила модуляция уровня экспрессии мембрансвязанных CD3-комплексов Т-клеточного антигенраспознающего рецептора (TCR) и корецепторных CD4 молекул. Было установлено, что ответная реакция лимфоцитов на внесение модификатора в различных концентрациях ($1.8 \cdot 10^{-5}$, $9 \cdot 10^{-5}$ и $4.5 \cdot 10^{-4}$ моль/л) зависела от времени контакта и от величины исходного уровня CD3-рецепторов и CD4-маркеров на поверхности мембран Т-клеток. Так, инкубация суспензии Т-лимфоцитов с препаратом «НЕОВИР®» в указанных концентрациях в течение 1 ч не оказывала влияния на уровень экспрессии анализируемых показателей, а иммуномодулирующий эффект препарата «НЕОВИР®» проявляется через 24 ч после его введения в суспензии иммунокомпетентных клеток. В связи с этим, при применении препарата «НЕОВИР®» в лечебной практике необходимо учитывать исходные показатели иммунного статуса пациентов для исключения неэффективного использования данного индуктора интерферона.

Таким образом, «НЕОВИР®» может использоваться как стимулятор или супрессор экспрессии CD3-комплекса и CD4 антигена Т-лимфоцитами. Применяя определенные концентрации этого индуктора интерферона и зная исходные показатели данных маркеров, можно добиваться требуемого уровня экспрессии CD3-комплекса и CD4 антигена и тем самым оказывать целенаправленное влияние на их важнейшие иммунологические функции.

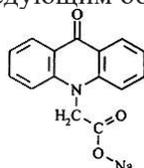
Полученные нами результаты расширяют и углубляют современные представления об особенностях модуляции рецепторного аппарата мембран Т-лимфоцитов крови в условиях воздействия низкомолекулярного индуктора интерферона – «НЕОВИР®». Они могут быть использованы для прогнозирования и коррекции патологических состояний у больных с заболеваниями различной этиологии в клинике.

Ключевые слова: CD-антигены, иммуоферментный анализ, индукторы интерферона, «НЕОВИР®», Т-лимфоциты, экспрессия

Современная медицина широко использует препараты различных цитокинов, и в частности естественные и рекомбинантные интерфероны, как средства патогенетической иммуноориентированной терапии. Высокая чувствительность иммунокомпетентных клеток к действию этих агентов обеспечивает тонкую регуляцию работы иммунной системы, а также возможность разработки новых способов лечения патологических

состояний. Однако сложность получения и побочные действия этих препаратов и наполнителей выводят на первое место химические агенты, способные вызывать синтез лейкоцитами крови человека эндогенного интерферона [1]. В результате многолетнего скрининга среди высоко- и низкомолекулярных соединений природного и синтетического происхождения российскими учёными выявлены несколько весьма перспективных для медицины индукторов эндогенного интерферона,

имеющих достаточно высокий химиотерапевтический индекс. Индукторы интерферона (ИНФ) обладают теми же эффектами, что и собственно интерферон, но имеют ряд преимуществ перед его экзогенными формами: не обладают антигенностью; способны включать синтез ИНФ в определенных популяциях клеток; обеспечивают при однократном введении относительно длительную циркуляцию ИНФ и формирование в организме устойчивой антивирусной резистентности [2]. Среди них следует отметить соли незамещенной акридонуксусной кислоты с органическими и неорганическими основаниями [3]. В данных соединениях сочетаются высокая липофильность, обусловленная гетероароматическим кольцом, и гидрофильность за счет кольцевой кетогруппы и карбоксиметильного заместителя, что обеспечивает их высокую биологическую активность. На основе акридонуксусной кислоты ЗАО «Фармсинтез» (г. Санкт-Петербург) был разработан лекарственный препарат «НЕОВИР®» (NEUVIR), который выпускается по лицензии АСГЛ-Исследовательские Лаборатории [4]. Он обладает мощным противовирусным, противоопухолевым, антибактериальным и иммуностимулирующим эффектом. Структурная формула «НЕОВИР®» (2-(9-оксо-9,10-дигидроакридин-10-ил)ацетат натрия) выглядит следующим образом:



Механизм действия препарата заключается в его способности индуцировать образование в организме высоких титров эндогенных интерферонов. Пик активности интерферонов в сыворотке крови и тканях наблюдается через несколько часов после введения или приема «НЕОВИРА®» и сохраняется в течение 16-20 ч. [5]. Согласно инструкции по применению [6], «НЕОВИР®» обладает противовирусной активностью в отношении ДНК- и РНК-геномных вирусов. Многочисленными исследованиями доказано, что использование лекарственного препарата «НЕОВИР®» патогенетически обосновано [4]. «НЕОВИР®» успешно применяется при лечении и профилактике гриппа и ОРВИ [7], герпеса [8], инфекционных заболеваний [9], включая ВИЧ- и цитомегаловирусную инфекцию [10], острые и хронические гепатиты В и С [11], дерматовенерологических патологий [12, 13].

Определенный интерес представляет оценка влияния данного препарата на Т-клетки крови человека, которые являются одними из основных клеток-продуцентов интерферона после введения производных акридононов.

Известно, что ключевым этапом функционирования иммунной системы является экспрессия поверхностных рецепторов, которые обеспечивают восприятие иммунокомпетентными клетками внешних сигналов. На поверхности всех Т-лимфоцитов находится специализированный комплекс, с помощью которого происходит распознавание чужеродных агентов – Т-клеточный антигенраспознающий рецептор – TCR (T-cell receptor). TCR имеет сложное строение, он включает антигенсвязывающую область, образованную α - и β -цепями, комплекс CD 3, состоящий из γ -, δ - и 2 ϵ -полипептидных цепей, и 2 внутриклеточные ζ -цепи. Комплекс CD 3 необходим для экспрессии и стабилизации α - и β -цепей, а также для проведения сигнала внутрь клетки. В лабораторной диагностике CD 3-комплекс используется как маркер Т-клеток. Помимо TCR, каждый зрелый лимфоцит несет одну из корецепторных молекул CD 4 или CD 8, которые вступают в связь с молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС) II или I класса на антигенпрезентирующих клетках-мишенях. Популяция лимфоцитов, содержащая на мембранах CD 4 молекулы, получила название Т-хелперов. Они помогают В-лимфоцитам превращаться в антителопродуцирующие плазматические клетки, CD 8+ лимфоцитам – в зрелые цитотоксические Т-клетки, а макрофагам осуществлять эффекты гиперчувствительности замедленного типа. Т-хелперы являются иммунорегуляторными клетками, от которых во многом зависит сила иммунного ответа. Субпопуляции Т-хелперов (Th0, Th1 и Th2) координируют иммунный ответ за счет прямого межклеточного взаимодействия (cell-to-cell) и выработки специфических цитокинов [14]. Из CD4+ Т-лимфоцитов происходит важная субпопуляция регуляторных клеток Treg (Th3 и Tr1), осуществляющих супрессорные функции, которые ранее приписывали CD 8+ лимфоцитам. Основная функция этих клеток направлена на контроль иммунного ответа, толерантности и подавление избыточных иммунных процессов [15].

Терапевтическое действие интерферона и его индукторов на организм человека реализуется за счет их влияния на мембранные молекулы клеток крови. Известно, что при действии физических

факторов [16, 17], при развитии различных патологических процессов меняется поверхностный фенотип иммунокомпетентных клеток, количественный и качественный состав их субпопуляций, уровень индуцированных цитокинов, в результате чего изменяются механизмы регуляции иммунного ответа [18].

Несмотря на большие перспективы использования лекарственного препарата «НЕОВИР®» в клинической практике, необходимо решить ряд проблем, связанных с трудностью прогнозирования и контроля реакций организма на терапию индуктором интерферона как на ранних этапах его приема, так и при длительном лечении.

В связи с вышеизложенным целью данной работы являлось исследование влияния лекарственного препарата «НЕОВИР®» на модуляцию уровня экспрессии CD3-компонента антигенраспознающего комплекса TCR и его корецепторных CD4 молекул на поверхности мембран Т-лимфоцитов крови доноров при различных сроках инкубации.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектами исследования служили Т-лимфоциты периферической крови доноров.

Лимфоциты выделяли из крови доноров методом седиментации в градиенте плотности фиколлурографин ($\rho=1.077 \text{ г/см}^3$) [19, 20]. Седиментацию клеток осуществляли на центрифуге типа MPW-340 в течение 15 мин при 300 g. Суспензию обогащенных Т-клеток получали, используя колонки, заполненные синтетической нейлоновой ватой по методу P.Terasaki [21]. Жизнеспособность лимфоидных клеток определяли в тесте с трипановым синим [22]. Т-лимфоциты ($2 \cdot 10^5$ клеток/мл) смешивали с равным объемом раствора препарата «НЕОВИР®» (ЗАО «Фармсинтез», Санкт-Петербург) в концентрациях $1.8 \cdot 10^{-5}$; $9 \cdot 10^{-5}$ и $4.5 \cdot 10^{-4}$ моль/л и инкубировали в питательной среде RPMI-1640 в течение 1 и 24 ч при 37 °C и 5%-ной атмосфере CO_2 . Для определения уровня экспрессии CD3-комплексов, CD4-маркеров на поверхности мембран нативных и модифицированных Т-лимфоцитов применяли непрямой твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА). Он относится к простым, чувствительным, быстрым и хорошо воспроизводимым методам [23]. В работе использовали моноклональные антитела LT3 и LT4 и конъюгат к ним – козы антитела против IgG мыши, меченные пероксидазой хрена (ООО «Сорбент», Москва). В качестве субстрата для пероксидазы применяли раствор пероксида водорода и *o*-фенилендиамин дигидрохлорида – ОФД.

Результаты экспериментов регистрировали спектрофотометрически при длине волны 492 нм на вертикальном фотометре АИФР-01 «Униплан» (Пикон, Москва) и выражали в единицах оптической плотности (опт. ед.). Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета прикладных программ «STATISTICA 6.0». Достоверность отличий контрольных и опытных значений сравниваемых показателей определяли с помощью *t*-критерия Стьюдента при 5% уровне значимости. При этом рассчитывали варьирование показателя при повторных определениях внутри опыта, а также достоверность различий внутри отдельных групп.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для оценки влияния препарата «НЕОВИР®» в концентрациях $1.8 \cdot 10^{-5}$; $9 \cdot 10^{-5}$ и $4.5 \cdot 10^{-4}$ моль/л на антигенраспознающую способность Т-лимфоцитов нами были проведены исследования на клетках крови 22 доноров, которые тестировались на изменение экспрессии CD3-комплексов, входящих в состав Т-клеточного рецептора (TCR) и его корецепторной молекулы CD4.

Нами было установлено, что ответная реакция лимфоцитов на внесение различных концентраций модификатора зависела от величины исходного уровня CD3-рецепторов и CD4-маркеров на поверхности мембран Т-клеток, поэтому все доноры были разделены на 3 группы.

Уровень экспрессии CD3-комплекса нативных Т-лимфоцитов варьировал в широких пределах от 0.200 ± 0.025 до 0.534 ± 0.059 опт. ед.

К первой группе были отнесены Т-лимфоциты 7 доноров со средним уровнем экспрессии CD3-комплекса, равным после термостатирования при 37 °C в течение 1 ч. 0.250 ± 0.040 опт. ед., а в течение 24 ч. – 0.200 ± 0.025 опт. ед.

Часовая инкубация Т-лимфоцитов с препаратом «НЕОВИР®» в используемых нами концентрациях не приводила к статистически достоверным изменениям ИФА-сигнала. Однако после 24-часового контакта лимфоцитов с модификатором было зарегистрировано повышение уровня экспрессии анализируемого показателя соответственно до величин 0.291 ± 0.030 ; 0.293 ± 0.035 и 0.278 ± 0.027 опт. ед., то есть на 46, 47 и 39 % относительно контроля (табл. 1).

У нативных Т-клеток 6 доноров, отнесенных ко 2 группе, средний уровень экспрессии CD3-комплексов на поверхности мембран был выше и после 1 ч инкубации при 37 °C он соста-

вил 0.460 ± 0.075 опт.ед., а после 24 ч. был равен 0.450 ± 0.045 опт.ед. После термостатирования Т-лимфоцитов с препаратом «НЕОВИР®» в концентрациях $1.8 \cdot 10^{-5}$; $9 \cdot 10^{-5}$ и $4.5 \cdot 10^{-4}$ моль/л в течение 1 и 24 ч нами не было обнаружено статистически достоверных отличий в уровне экспрессии исследуемого показателя опытных проб от контрольных образцов.

Самый высокий уровень экспрессии CD3-комплексов на поверхности мембран Т-лимфоцитов был в 3-ей группе доноров (9 человек): после часовой инкубации он составил 0.511 ± 0.062 опт.ед., а через 24 ч. – 0.534 ± 0.059 опт.ед. Взаимодействие лимфоцитов с препаратом «НЕОВИР®» в течение 1 ч не приводило к статистически достоверным изменениям анализируемого показателя тестируемых проб относительно контроля. Увеличение времени инкубации до 24 ч. индуцировало снижение экспрессии CD3-комплексов на поверхности мембран Т-клеток во всем используемом диапазоне концентраций препарата «НЕОВИР®» по сравнению с контрольными образцами, при этом максимальный эффект (на 43% относительно контроля) наблюдался при самой малой из использованных нами концентраций препарата – $1.8 \cdot 10^{-5}$ моль/л.

Следующим этапом нашей работы было изучение влияния препарата «НЕОВИР®» в концентрациях $1.8 \cdot 10^{-5}$, $9 \cdot 10^{-5}$ и $4.5 \cdot 10^{-4}$ моль/л на экспрессию специфичного только для субпопуляции Т-хелперов CD4 маркера.

Уровень экспрессии CD4 антигенов на поверхности нативных Т-лимфоцитов крови 22 доноров варьировал в широких пределах от 0.310 ± 0.033 до 0.537 ± 0.050 опт. ед.

В первую группу вошли Т-клетки 7 доноров с исходным уровнем экспрессии изучаемого маркера, который после 1ч. инкубации оказался равным 0.310 ± 0.033 опт.ед., а через 24 ч – 0.296 ± 0.028 опт.ед.

Было установлено, что часовое термостатирование Т-лимфоцитов с препаратом «НЕОВИР®» во всем диапазоне используемых нами концентраций не выявило статистически достоверных отличий в уровне экспрессии CD4 маркера на поверхности мембран этих клеток (табл. 2).

Увеличение времени инкубации с 1 ч до 24 ч приводило к разнонаправленному влиянию различных концентраций модификатора на анализируемый показатель. Так, при использовании препарата «НЕОВИР®» в малой концентрации ($1.8 \cdot 10^{-5}$ моль/л) не было выявлено статистически значимых отклонений в уровне экспрессии изучаемого компонента мембраны опытного образа по сравнению с контролем. Модификация клеток лекарственным препаратом в концентрациях $9 \cdot 10^{-5}$ и $4.5 \cdot 10^{-4}$ моль/л приводила к повышению уровня ИФА сигнала на 42 % (0.420 ± 0.030 опт.ед.) и 43 % (0.423 ± 0.032 опт.ед.) соответственно.

Во вторую группу вошли лимфоциты 6 доноров с исходным уровнем экспрессии CD4 антигенов, равным 0.430 ± 0.050 опт. ед. после 1

Таблица 1

Уровень экспрессии CD3-комплексов на поверхности мембран Т-лимфоцитов крови доноров после модификации препаратом «НЕОВИР®» в различных концентрациях в течение разного времени

| Группа | Время контакта, ч | Контроль | «НЕОВИР®», моль/л | | |
|--------|-------------------|-------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | | | $1.8 \cdot 10^{-5}$ | $9 \cdot 10^{-5}$ | $4.5 \cdot 10^{-4}$ |
| I | 1 | 0.250 ± 0.040 | 0.256 ± 0.032 | 0.224 ± 0.040 | 0.260 ± 0.032 |
| I | 24 | 0.200 ± 0.025 | $0.291 \pm 0.030^*$ | $0.293 \pm 0.035^*$ | $0.278 \pm 0.027^*$ |
| II | 1 | 0.460 ± 0.075 | 0.445 ± 0.056 | 0.456 ± 0.062 | 0.458 ± 0.063 |
| II | 24 | 0.450 ± 0.045 | 0.477 ± 0.053 | 0.422 ± 0.064 | 0.435 ± 0.056 |
| III | 1 | 0.510 ± 0.062 | 0.446 ± 0.059 | 0.455 ± 0.058 | 0.485 ± 0.032 |
| III | 24 | 0.534 ± 0.059 | $0.305 \pm 0.050^*$ | $0.329 \pm 0.060^*$ | $0.534 \pm 0.056^*$ |

* - отклонения исследуемого показателя относительно значений в интактной группе статистически значимы

Таблица 2

Уровень экспрессии CD4-маркера на поверхности мембран Т-лимфоцитов крови доноров после модификации препаратом «НЕОВИР®» в различных концентрациях в течение разного времени

| Группа | Время контакта, ч | Контроль | «НЕОВИР®», моль/л | | |
|--------|-------------------|-------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | | | $1.8 \cdot 10^{-5}$ | $9 \cdot 10^{-5}$ | $4.5 \cdot 10^{-4}$ |
| I | 1 | 0.310 ± 0.033 | 0.304 ± 0.025 | 0.315 ± 0.029 | 0.300 ± 0.040 |
| I | 24 | 0.296 ± 0.028 | 0.291 ± 0.030 | $0.420 \pm 0.030^*$ | $0.423 \pm 0.032^*$ |
| II | 1 | 0.430 ± 0.050 | 0.428 ± 0.049 | 0.434 ± 0.045 | 0.422 ± 0.066 |
| II | 24 | 0.411 ± 0.041 | 0.429 ± 0.039 | 0.393 ± 0.040 | 0.387 ± 0.050 |
| III | 1 | 0.537 ± 0.050 | 0.530 ± 0.049 | 0.511 ± 0.051 | 0.530 ± 0.044 |
| III | 24 | 0.511 ± 0.038 | $0.419 \pm 0.025^*$ | $0.355 \pm 0.039^*$ | $0.326 \pm 0.042^*$ |

* - отклонения исследуемого показателя относительно значений в интактной группе статистически значимы

ч. и 0.411 ± 0.041 опт.ед. после 24 ч. инкубации Т-клеток. В результате проведенных экспериментов на клетках данной группы доноров выявить статистически достоверных изменений в уровне экспрессии CD 4 антигенов на поверхности мембран Т-лимфоцитов после 1 и 24 ч. воздействия препарата «НЕОВИР®» во всем используемом диапазоне концентраций не удалось.

Третья группа включала Т-лимфоциты 9 доноров с исходно высоким уровнем экспрессии CD4 антигена, равным 0.537 ± 0.050 опт.ед. после 1 ч и 0.511 ± 0.038 опт.ед. после 24 ч инкубации. Исследования по изучению влияния препарата «НЕОВИР®» в концентрациях $1.8 \cdot 10^{-5}$, $9 \cdot 10^{-5}$ и $4.5 \cdot 10^{-4}$ моль/л на экспрессию корцепторной молекулы, входящей в состав Т-клеточного рецептора, после 1 ч термостатирования клеток с модификатором не выявили достоверных изменений в уровне экспрессии изучаемого антигена во всем диапазоне концентраций. В результате увеличения времени инкубации Т-лимфоцитов с индуктором интерферона до 24 ч. отмечалось пропорциональное росту концентрации использованного препарата снижение уровня ИФА сигнала на 18% (0.419 ± 0.025 опт.ед.), 31 % (0.355 ± 0.039 опт.ед.) и 36 % (0.326 ± 0.042 опт.ед.) относительно контрольного образца.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования уровня экспрессии поверхностных маркеров Т-лимфоцитов крови человека, модифицированных лекарственным препаратом «НЕОВИР®», свидетельствуют о том, что данный индуктор интерферона в концентрациях $1.8 \cdot 10^{-5}$, $9 \cdot 10^{-5}$ и $4.5 \cdot 10^{-4}$ моль/л оказывает значительное влияние на структурное состояние мембран этих клеток и может выступать в роли фактора, целенаправленно регулирующего уровень интенсивности иммунного ответа.

В модельных экспериментах на изолированных Т-лимфоцитах крови доноров было выявлено, что иммуномодулирующая активность препарата «НЕОВИР®» по отношению к мембрансвязанным CD3-комплексам и CD4 антигенам проявляется через 24 ч после его введения в суспензии иммунокомпетентных клеток. При этом установлено, что данный индуктор интерферона оказывает иммунокорректирующее влияние на экспрессию CD3-комплекса и CD4 молекул Т-лимфоцитами: снижает исходно завышенный уровень анализируемых показателей и стимулирует повышение количества молекул CD3-TCR и корцепторов CD4 при низком содержании их на поверхности клеток. Кроме того, обнаружено, что препарат

«НЕОВИР®» действует избирательно и влияет только на физиологически измененные параметры составляющих компонентов антигенраспознающего рецептора Т-лимфоцитов. В связи с полученными результатами при применении препарата «НЕОВИР®» в лечебной практике необходимо учитывать исходные показатели иммунного статуса пациентов для исключения неэффективного использования данного индуктора интерферона.

Таким образом, «НЕОВИР®» может использоваться как стимулятор или супрессор экспрессии CD3-комплекса и CD4 антигена Т-лимфоцитами. Применяя определенные концентрации этого индуктора интерферона и зная исходные показатели данных маркеров, можно добиваться требуемого уровня экспрессии CD3-комплекса и CD4 антигена и тем самым оказывать целенаправленное влияние на их важнейшие иммунологические функции.

Полученные нами результаты расширяют и углубляют современные представления об особенностях модуляции рецепторного аппарата мембран Т-лимфоцитов крови в условиях воздействия низкомолекулярного индуктора интерферона – «НЕОВИР®». Они могут быть использованы для прогнозирования и коррекции патологических состояний у больных с заболеваниями различной этиологии в клинике.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ершов Ф.И., Киселев О.И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств) Москва, ГЭОТАР - Медиа, 2005, 368 с.
2. Ершов Ф.И. Интерферон – 2011: сборник научных статей к 80-летию академика РАМН Феликса Ивановича Ершова – Москва, 2012, 512 с.
3. Коваленко А.Л., Романцов М.Г., Ершов Ф.И. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2000. № 5. С. 103-108.
4. pharmsynthez.com/?page_id=3687 (дата обращения: 12.09.2018)
5. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России. Москва, АстраФармСервис, 2005, 1536 с.
6. <https://health.jandex.ru/pillis/neovir> – 2614 (дата обращения: 12.09.2018)
7. Захаров К.А., Сурков К.Г., Василюк Б.Б., Синенченко А.Г., Волков Г.А., Сухорук А.А., Эсауленко Е.В. // Фарматека. 2015. № 11. С. 72-77.
8. Веретенникова М.А. // Фундаментальные исследования. 2014. № 8 (часть 7). С. 1630-1634.
9. Парахонский А.П. // Фундаментальные исследования. 2007. № 11. с. 124-125.

10. Абидов А.М., Исамухамедова Н.Р. // Украинський журнал дерматології, венерології, косметології. 2004. № 2. С. 69-70.
11. Рослый И.М., Ющук Н.Д., Кравченко А.В., Максимов С.Л., Данилова Т.В. // Ж. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2003. № 1. С. 64-67.
12. Ломоносов К.М., Цыкин А.А. // Росс. журнал кожных и венерических болезней. 2005. № 2. С. 49-50.
13. Ломоносов К.М., Кладова А.Ю., Иванов О.Л. // Росс. журнал кожных и венерических болезней. 2003, № 1. С. 30-33.
14. Хаитов Р.М. Иммунология. Москва, ГЕОТАР-Медиа, 2006, 320 с.
15. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии. [Электронный ресурс]. Москва, ГЭОТАР-Медиа, 2012, 640 с.
16. Артюхов В.Г., Путинцева О.В., Вдовина В.А., Колтаков И.А., Пашков М.В., Василенко Д.В. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2011. Т. 51, № 2. С. 258-283.
17. Артюхов В.Г., Путинцева О.В., Брагина В.А., Пашков М.В., Василенко Д.В. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012. Т. 153. № 6. С. 891-895.
18. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. Москва, ООО «Медицинское информационное агентство», 2003, 604 с.
19. Voym A. // Tissue antigens. 1974. № 4. pp. 269-274.
20. Кэтти Д. Антитела. Методы. В 2-х кн., кн. 2. Москва, Мир, 1991, 380 с.
21. Зарецкая М.Ю. Клиническая иммуногенетика. Москва, Медицина, 1983, 208 с.
22. Новиков Д.К., Новикова В.И. Оценка иммунного статуса. Москва, Медицина, 1996. 282 с.
23. Егоров В.А. Теория и практика иммуноферментного анализа. Москва, Высшая школа, 1991, 288 с.

*Воронежский государственный университет
Путинцева О. В., доктор биол. наук, профессор
кафедры биофизики и биотехнологии*

*Артюхов В. Г., доктор биол. наук, профессор,
заведующий кафедрой биофизики и биотехнологии*

*Сиделева Н. Н., студентка кафедры биофизики
и биотехнологии*

*Voronezh State University
Putintseva O. V., PhD., DSci (Biology), Full
professor, Dept. of Biophysics and Biotechnology*

*Artyukhov V. G., PhD., DSci (Biology), Full
professor, Head of Biophysics and Biotechnology
dept.*

*Sideleva N.N., student, Dept. of Biophysics and
Biotechnology*

INFLUENCE OF THE PREPARATION "NEOVIR" ON THE LEVEL OF EXPRESSION OF CD3 COMPLEXES AND CD4 ANTIGENS OF BLOOD DONORS T-LYMPHOCYTES AT DIFFERENT TERM OF INCUBATION

O. V. Putintseva, V. G. Artyukhov, N. N. Sideleva

Voronezh State University

Abstract. The drug "NEOVIR®" refers to the group of interferonogens or inducers of endogenous interferon, they has an immunotropic effect and antiviral activity against DNA and RNA genomic viruses. It is successfully used in the treatment of influenza, acute respiratory viral infections, hepatitis, HIV infection, herpes and a number of other diseases.

Using the method of enzyme-linked immunosorbent assay, we studied the effect of the drug "NEOVIR®" on the antigen recognition ability of T-lymphocytes, which was indicated by modulation of the expression level of membrane-bound CD3-complexes of T-cell antigen recognition receptor and co-receptor CD4 molecules. It was found that the response of lymphocytes to the introduction of a modifier in various

concentrations ($1.8 \cdot 10^{-5}$, $9 \cdot 10^{-5}$ and $4.5 \cdot 10^{-4}$ mol/l) depended on the contact time and on the value of the initial level of CD3 receptors and CD4-markers on the surface of T-cell membranes. Thus, the incubation of a suspension of T-lymphocytes with the drug "NEOVIR®" in the indicated concentrations for 1 hour did not affect the expression level of the analyzed parameters, and the immunomodulating effect of the preparation "NEOVIR®" manifested 24 hours after its introduction into suspensions of immunocompetent cells. In this regard, when using the drug "NEOVIR®" in medical practice, it is necessary to take into account the initial indicators of the immune status of patients to eliminate the ineffective use of this interferon inducer.

Thus, "NEOBIR®" can be used as a stimulator or suppressor of expression of the CD3 complex and CD4 antigen by T-lymphocytes. Applying certain concentrations of this interferon inducer and knowing the initial indicators of these markers, we can achieve the required level of expression of the CD3-complex and CD4 antigen and thereby have a targeted influence on their most important immunological functions.

Our results expand and deepen the current understanding of the modulation of the receptor apparatus of the blood T-lymphocyte membranes under the influence of a low-molecular-weight interferon inducer – "NEOVIR®". They can be used to predict and correct pathological conditions in patients with diseases of various etiologies in the clinic.

Keywords: CD antigens, enzyme immunoassay, interferon inducers, "NEOBIR®", T-lymphocytes, expression

REFERENCES

1. Ershov F.I., Kiselev O.I. Interferony i ih induktory (ot molekul do lekarstv) Moskva, GEHOTAR – Media, 2005, 368 s.
2. Ershov F.I. Interferon – 2011: sbornik nauchnyh statej k 80-letiyu akademika RAMN Feliksa Ivanovicha Ershova – Moskva, 2012, 512 s.
3. Kovalenko A.L., Romancov M.G., Ershov F.I. // ZHurnal mikrobiologii, ehpideologii i immunobiologii, 2000, № 5, S. 103-108.
4. pharmsynthez.com/?page_id=3687 (data obrashcheniya: 12.09.2018)
5. Spravochnik Vidal'. Lekarstvennye preparaty v Rossii. Moskva, AstraFarmServis, 2005, 1536 s.
6. <https://health.jandex.ru/pillis/neovir> – 2614 (data obrashcheniya: 12.09.2018)
7. Zaharov K.A., Surkov K.G., Vasilyuk B.B., Sinenchenko A.G., Volkov G.A., Suhoruk A.A., EHsauleiko E.V. // Farmateka, 2015, № 11, S. 72-77.
8. Veretennikova M.A. // Fundamental'nye issledovaniya, 2014, № 8 (chast' 7), S. 1630-1634.
9. Parahonskij A.P. // Fundamental'nye issledovaniya, 2007, № 11, S. 124-125.
10. Abidov A.M., Isamuhamedova N.R. // Ukraïns'kij zhurnal dermatologii, venerologii, kosmetologii, 2004, № 2, S. 69-70.
11. Roslyj I.M., YUshchuk N.D., Kravchenko A.V., Maksimov S.L., Danilova T.V. // ZH. mikrobiologii, ehpideologii i immunobiologii, 2003, № 1, S. 64-67.
12. Lomonosov K.M., Cykin A.A. // Ross. zhurnal kozhnyh i venericheskikh boleznej, 2005, № 2, S. 49-50.
13. Lomonosov K.M., Kladova A.YU., Ivanov O.L. // Ross. zhurnal kozhnyh i venericheskikh boleznej, 2003, № 1, S. 30-33.
14. Haitov R.M. Immunologiya. Moskva, GEOTAR-Media, 2006, 320 s.
15. Koval'chuk L.V., Gankovskaya L.V., Meshkova R.YA. Klinicheskaya immunologiya i allergologiya s osnovami obshchej immunologii. [EHlektronnyj resurs]. Moskva, GEHOTAR-Media, 2012, 640 s.
16. Artyuhov V.G., Putinceva O.V., Vdovina V.A., Koltakov I.A., Pashkov M.V., Vasilenko D.V. // Radiacionnaya biologiya. Radioehkologiya, 2011, T. 51, № 2, S. 258-283.
17. Artyuhov V.G., Putinceva O.V., Bragina V.A., Pashkov M.V., Vasilenko D.V. // Byulleten' ehksperimental'noj biologii i mediciny, 2012, T. 153, № 6, S. 891-895.
18. Drannik G.N. Klinicheskaya immunologiya i allergologiya. Moskva, OOO «Medicinskoe informacionnoe agentstvo», 2003, 604 s.
19. Boyum A. // Tissue antigens, 1974, № 4, pp. 269-274.
20. Kehtti D. Antitela. Metody. V 2-h kn., kn. 2. Moskva, Mir, 1991, 380 s.
21. Zareckaya M.YU. Klinicheskaya immunogenetika. Moskva, Medicina, 1983, 208 s.
22. Novikov D.K., Novikova V.I. Ocenka immunnogo statusa. Moskva, Medicina, 1996, 282 s.
23. Egorov V.A. Teoriya i praktika immunofermentnogo analiza. Moskva, Vysshaya shkola, 1991, 288 s.