

ТРАНСКРИПЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ГЕНОВ TLR/RLR-РЕЦЕПТОРОВ В МАКРОФАГ-ПОДОБНЫХ КЛЕТКАХ ПРИ ДЕЙСТВИИ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ АКРИДОНУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ

Наровлянский А.Н.¹, Полосков В.В.¹, Мезенцева М.В.¹,
Суетина И.А.¹, Цветнов А.В.¹, Богданов Е.Ю.¹, Федякина И.Т.¹,
Коваленко А.Л.², Ершов Ф.И.¹

¹ ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

² ФГБУ «Научно-консультативный центр токсикологии имени С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Активация Toll-подобных рецепторов (TLR) является одним из самых ранних показателей функционального включения врожденного иммунитета. Поэтому разработка препаратов-стимуляторов транскрипции TLR/RLR-генов и одновременно являющимися «мультитаргетными» препаратами является одной из основных задач современной иммунофармакологии. В связи с этим большой интерес представляют противовирусные препараты, которые сочетают свойства интерферогенов и иммуномодуляторов, к которым также принадлежит Циклоферон® и его аналоги. Цель настоящего исследования заключалась в оценке экспрессии генов, определяющих сигнальные TLR/RLR-реакции врожденного иммунитета при действии иммуномодулирующих противовирусных препаратов на основе акридонуксусной кислоты (Циклоферон® и Циклоферон L). Исследование проведено с использованием модели иммунокомпетентных клеток — THP-1, дифференцированных форболовым эфиром в макрофаг-подобные клетки. Анализ генной экспрессии выполнен с использованием полимеразной цепной реакции в реальном времени. Изучен уровень экспрессии генов, кодирующих TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR8, TLR9 и RIG-I, при действии препаратов Циклоферон® и Циклоферон L в трех концентрациях 156, 312 и 625 мкг/мл при трех сроках экспозиции — 1 час, 4 часа и 24 часа. Показано, что в культуре клеток макрофагов препарат Циклоферон® в концентрации 156 мкг/мл, 312 мкг/мл и 625 мкг/мл на 24 часа экспозиции в двух сериях экспериментов дозозависимо стимулировал экспрессию генов рецепторов TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR8. Обнаружена стабильная сти-

Адрес для переписки:

Наровлянский Александр Наумович
ФГБУ «Национальный исследовательский центр
эпидемиологии и микробиологии имени почетного
академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства
здравоохранения РФ
123098, Россия, Москва, ул. Гамалеи, 18.
Тел./факс: 8 (499) 193-43-06, 8 (985) 226-28-95.
E-mail: narovl@yandex.ru

Address for correspondence:

Alexander N. Narovlyansky
N. Gamaleya National Research Centre
for Epidemiology and Microbiology
18 Gamaleya St
Moscow
123098 Russian Federation
Phone/fax: +7 (499) 193-43-06, +7 (985) 226-28-95.
E-mail: narovl@yandex.ru

Образец цитирования:

А.Н. Наровлянский, В.В. Полосков, М.В. Мезенцева,
И.А. Суетина, А.В. Цветнов, Е.Ю. Богданов,
И.Т. Федякина, А.Л. Коваленко, Ф.И. Ершов
«Транскрипционная активность генов TLR/RLR-
рецепторов в макрофаг-подобных клетках при
действии препаратов на основе акридонуксусной
кислоты» // Медицинская иммунология, 2024. Т. 26,
№ 4. С. 663-670. doi: 10.15789/1563-0625-TAO-16722
© Наровлянский А.Н. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.N. Narovlyansky, V.V. Poloskov, M.V. Mezentsева,
I.A. Suetina, A.V. Tsvetnov, E.Yu. Bogdanov, I.T. Fedyakina,
A.L. Kovalenko, F.I. Ershov "Transcriptional activity
of TLR/RLR receptor genes in macrophage-like cells under
the influence of drugs based on acridoneacetic acid", *Medical
Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2024,
Vol. 26, no. 4, pp. 663-670.
doi: 10.15789/1563-0625-TAO-16722
© Narovlyansky A.N. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-TAO-16722

муляция экспрессии генов RIG1 рецепторов при экспозиции с препаратом во всех исследованных концентрациях на сроке 4 часа в двух сериях экспериментов. При изучении транскрипционной активности генов *TLR/RLR*-рецепторов в культуре клеток макрофагов при действии препарата Циклоферон L было впервые выявлено в двух сериях экспериментов стабильное возрастание экспрессии генов *TLR2*, *TLR3*, *TLR4*, *TLR7*, *TLR8* только на сроке экспозиции 24 час при одной концентрации препарата Циклоферон L (312 мкг/мл). Обобщая данные, полученные при исследовании препаратов Циклоферон® и Циклоферон L, можно говорить об их способности стимулировать экспрессию генов *TLR2*, *TLR3*, *TLR4*, *TLR7*, *TLR8* (и RIG1 для препарата Циклоферон), которые отвечают за синтез рецепторов врожденного иммунитета. Таким образом, подтвержден факт, что Циклоферон® и аналоги являются регуляторами генной экспрессии *TLR/RLR*-рецепторов врожденного иммунитета.

Ключевые слова: экспрессия генов *TLR/RLR*, полимеразная цепная реакция в реальном времени, индукторы интерферона, Циклоферон, макрофаг-подобные клетки

TRANSCRIPTIONAL ACTIVITY OF TLR/RLR RECEPTOR GENES IN MACROPHAGE-LIKE CELLS UNDER THE INFLUENCE OF DRUGS BASED ON ACRIDONEACETIC ACID

Narovlyansky A.N.^a, Poloskov V.V.^a, Mezentseva M.V.^a, Suetina I.A.^a,
Tsvetnov A.V.^a, Bogdanov E.Yu.^a, Fedyakina I.T.^a, Kovalenko A.L.^b,
Ershov F.I.^a

^a N. Gamaleya National Research Centre for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

^b S. Golikov Scientific Advisory Center of Toxicology, Federal Medical-Biological Agency of Russia, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Activation of Toll-like receptors (TLRs) is one of the earliest indicators of functional activation of the innate immune system. Therefore, the development of drugs that stimulate the transcription of *TLR/RLR* genes and at the same time are “multi-target” drugs is an important task of modern immunopharmacology. In this regard, antiviral drugs that combine the properties of interferonogens and immunomodulators, which also include Cycloferon® and its analogues, are of great interest. The purpose of this study was to assess the expression of genes that determine the *TLR/RLR* signalling reactions of the innate immune system under the influence of immunomodulatory antiviral drugs based on acridoneacetic acid (Cycloferon® and Cycloferon L). The study was conducted using a model of immunocompetent cells: THP-1, differentiated by phorbol ester into macrophage-like cells. Gene expression analysis was performed using real-time polymerase chain reaction. The expression level of genes encoding *TLR2*, *TLR3*, *TLR4*, *TLR7*, *TLR8*, *TLR9* and *RIG-I* was studied under the influence of the drugs Cycloferon® and Cycloferon L in three concentrations (156 µg/mL, 312 µg/mL and 625 µg/mL) on 1 hour, 4 hours and 24 hours. It was shown that the drug Cycloferon® at concentrations of 156, 312 and 625 µg/mL at 24 hours of exposure dose-dependently stimulated the expression of *TLR2*, *TLR3*, *TLR4*, *TLR7*, *TLR8* receptor genes. A stable stimulation of the expression of *RIG1* receptor genes was found upon exposure 4 hours to the drug in all studied concentrations. For the first time, it was revealed that the drug Cycloferon L stimulated a stable increase in the expression of *TLR2*, *TLR3*, *TLR4*, *TLR7*, *TLR8* genes at an exposure period of 24 hours. Hereby, it was shown that the drugs Cycloferon® and Cycloferon L stimulated the expression of the *TLR2*, *TLR3*, *TLR4*, *TLR7*, *TLR8* genes (and *RIG1* for the drug Cycloferon), which are responsible for the synthesis of innate immune receptors.

Keywords: *TLR/RLR* gene expression, real-time polymerase chain reaction, interferon inducers, Cycloferon, macrophage-like cells

Введение

Фармацевтические препараты, разработанные на основе действующего вещества меглюмина акриданонацетата (Циклоферон) и лизина акридоната (Циклоферон L), как известно,

являются производными акридонуксусной кислоты и индукторами интерферона (IFN). Кроме того, они обладают противовирусной и иммуномодулирующей активностями [1, 11]. При клиническом применении Циклоферона было вы-

явлено, что его IFN-индуцирующая активность в организме человека в отличие от исследований на мышиных моделях была незначительной [6]. Были проведены многочисленные исследования, однако до сих пор молекулярные механизмы действия препаратов Циклоферона нуждаются в изучении [14].

Активация Toll-подобных рецепторов (TLR) является одним из самых ранних показателей функционального включения врожденного иммунитета [8]. Fitzgerald and Kagan (2020) считают, что «фундаментальные особенности биологии TLR включают: (1) опосредованную патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (PAMP) димеризацию TLR, (2) опосредованную димерами TLR сборку супрамолекулярных организующих центров (SMOC) и (3) SMOC-опосредованную активацию киназ, которые управляют транскрипцией и гликолизом [9]. Все эти события приводят к активации массивных изменений в клеточной активности, которые включают изменения в транскрипции генов, сплайсинге, эффективности трансляции, аутофагии, гликолизе и окислительном фосфорилировании.

Ранее Т.М. Соколова и соавт. показали, что Циклоферон в мононуклеарах периферической крови усиливает экспрессию генов *TLR9*, *TLR3* и генов *IFN β 1* и *IFN γ* [4, 5]. Также была обнаружена стимуляция экспрессии генов IFN-регулируемых факторов транскрипции (IRF) *IRF3*, *IRF7*, и генов IFN-зависимых ферментов [2, 5].

Цель настоящего исследования заключалась в оценке экспрессии генов TLR/RLR-рецепторов, свидетельствующих о запуске сигнальных реакций врожденного иммунитета при действии иммуномодулирующих противовирусных препаратов на основе акридонуксусной кислоты (Циклоферон® и Циклоферон L). Были проведены исследования транскрипционной активности генов TLR/RLR-рецепторов (*TLR2*, *TLR3*, *TLR4*, *TLR7*, *TLR8*, *TLR9* и *RIG-I*) в модели дифференцированных форболовым эфиром моноцитарной линии клеток THP-1 при действии препаратов Циклоферон® и Циклоферон L.

Материалы и методы

Клеточная линия THP-1 (острый моноцитарный лейкоз, ATCC catalog No TIB 202) получена из РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Клетки культивировали в среде RPMI 1640 с глутамином и 10% ЭТС и антибиотиками. Получение THP-1 макрофагов (THP-PMA Мф) осуществляли с реагентом форбол 12-миристинат 13-ацетат (PMA; Cat. No. S-79346-0,005, Sigma-Aldrich, США) согласно известной процедуре PMA [7]. Для проведения экспериментов при определении цитотоксичности использовали 96-луночные планшеты,

для определения генной экспрессии использовали 6-луночные планшеты.

Препараты: лекарственные препараты Циклоферон® (125 мг/мл; серия 010220) и Циклоферон L (Поливиран) (125 мг/мл; серия B011021) были предоставлены ООО «НТФФ «Полисан». При проведении экспериментов в культуре клеток макрофагов THP-PMA Мф препараты Циклоферон® и Циклоферон L использовали в концентрациях — 156 мкг/мл, 312 мкг/мл и 625 мкг/мл. Время экспозиции клеток с препаратами составляло 1 час, 4 час и 24 час. Всего было проведено 2 серии экспериментов.

Количественная оценка цитотоксичности препаратов выполнялась с использованием МТТ (3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид) [13]. Жизнеспособность клеток, измеряя оптическую плотность при длине волны 545 нм фотометра Immunochem 2100 (США). Эксперименты проводились с тремя повторами. Выживаемость клеток в присутствии исследуемого соединения рассчитывалась по формуле: ОП опытных лунок / ОП контр. лунок $\times 100\%$, где ОП — оптическая плотность. Концентрацию раствора соединения XXV, вызывающую уменьшение значения оптической плотности при длине волны 545 нм на 50% по сравнению с контролем клеток, принимали за 50% цитотоксическую дозу (CC50).

Выделение РНК

Суммарную РНК выделяли с использованием HiPure Total RNA Plus Kit, Magen Cat. No. R411102 (Китай), согласно прилагаемой инструкции к набору.

Реакция обратной транскрипции (ОТ)

Реакцию ОТ ставили с универсальным праймером random 6 на матрицах суммарной клеточной РНК согласно прилагаемой инструкции к «Набор реагентов для проведения обратной транскрипции (ОТ)», кат. № ОТ-01, ООО «НПФ Синтол» (Россия). Полученные кДНК хранили при -70°C .

ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ)

Проводили на амплификаторе CFX Opus 96 с готовой 2-кратной смесью SSoAdvanced Universal SYBR Green Supermix Cat. No. 1725271 (Bio-Rad, США) в микропробирках с оптически-прозрачными крышками на 0,2 мл (SSIbio, США). В ПЦР-боксе смешивали 2 мкл специфических пар праймеров (прямой и обратный) с 3 мкл кДНК (разведение 2-100 раз) и 5 мкл 2-кратной смеси SSoAdvanced Universal SYBR Green Supermix. Каждая проба исследовалась в 2 повторях. Программа ПЦР: 50°C 2 мин (1 цикл), 95°C 10 мин (1 цикл), 95°C 15 сек (1 цикл), далее 45 циклов 95°C 15 сек, 60°C 30 сек, 72°C 30 сек. Программа плавления в конечной точке

65–95 °С, шаг 0,5 °С 10 сек. На экране компьютера (в реальном времени) регистрировались уровни флуоресценции, интеркалирующего в ДНК красителя SYBR Green в виде кривых накопления ДНК-амплификатов. Количество оценивалось по пороговым циклам (Cq) начала логарифмической фазы синтеза. Негативный контроль (проба, не содержащая кДНК) не давал специфических ПЦР-продуктов.

Олигонуклеотидные ПЦР-праймеры

Структуры олигонуклеотидных праймеров, использованные в работе, были взяты из PrimerBank. Синтез олигонуклеотидов осуществлен фирмой ЗАО «Евроген» (Россия).

Расчеты уровней экспрессии генов и статистическая обработка

Расчет значений 50% цитотоксической концентрации (CC₅₀) выполняли общепринятыми для биологических исследований методами при помощи пакета программ Microsoft Excel 5.0 и GraphPad Prism 6.01. За рабочую модель для анализа CC₅₀ принимали 4-параметрическое уравнение логистической кривой (пункты меню «Нелинейная регрессия» — Sigmoidal doseresponse (variable slope)).

Обработка данных амплификации выполнена в программе CFX Maestro (Bio-rad, США) в автоматическом режиме. Определены стандартные отклонения величин Cq±SD логарифмической фазы и изменения уровней в опытных пробах (дельта Cq±SD). Ген 18S рибосомальная РНК использовался как стабильный референс-нормализатор генной экспрессии. Специфичность ДНК-продуктов устанавливали по Т-плавления.

Изменения активности генов (2deltaCq) в опытных образцах клеток определяли относительно контрольных, принятых равными 1.

Результаты и обсуждение

Оценка цитотоксичности препаратов Циклоферон® и Циклоферон L

После обработки результатов исследования цитотоксического действия препаратов Циклоферон® и Циклоферон L на культуру клеток ТНР-РМА Мф с использованием красителя МТТ с помощью программы GraphPad Prism 6.01 была построена аналитическая кривая, из которой определено значение CC₅₀. Концентрация, уменьшающая значение оптической плотности на 50% по сравнению с контролем, составила 2,028 мг/мл для препарата Циклоферон® (рис. 1А) и 1,877 мг/мл для Циклоферона L (рис. 1Б).

Таким образом при проведении экспериментов в культуре клеток макрофагов ТНР-РМА Мф препараты Циклоферон® и Циклоферон L использовали в нетоксичных концентрациях.

Транскрипционная активность генов TLR/RLR-рецепторов (TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR8, TLR9 и RIG-I) в культуре клеток макрофагов ТНР-РМА Мф при действии препаратов Циклоферон® и Циклоферон L

Суммарные данные двух серий экспериментов, в которых изучалось влияние препаратов Циклоферон® и Циклоферон L на уровни генной экспрессии TLR/RLR-рецепторов (2deltaCq) в опытных образцах клеток относительно контрольных значений, принятых равными 1, позволили выявить следующие изменения актив-

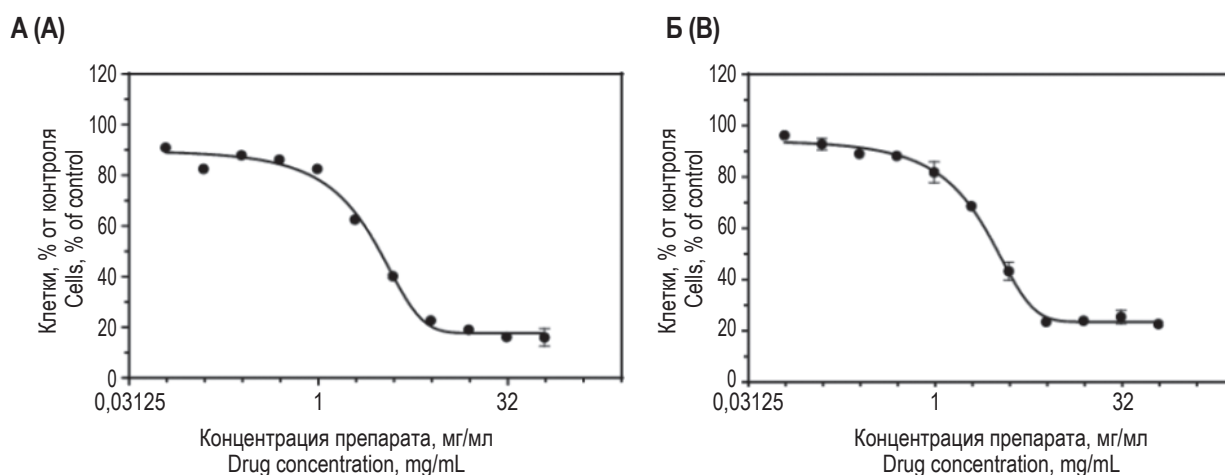


Рисунок 1. Определение цитотоксического действия препарата Циклоферон® (А – CC₅₀ = 2,028 мг/мл) и Циклоферон L (Б – CC₅₀ = 1,877 мг/мл) через 48 ч после добавления к культуре клеток макрофагов ТНР-РМА Мф (с использованием красителя МТТ)

Figure 1. Determination of the cytotoxic effect of the drug Cycloferon® (A, CC₅₀ = 2.028 mg/mL) and Cycloferon L (B, CC₅₀ = 1.877 mg/mL) 48 hours after adding THP-RMA Mφ to the macrophage cell culture (using MTT dye)

ности (в скобках представлены данные кратности максимальной стимуляции активности генов в двух сериях экспериментов). В культуре клеток макрофагов ТНР-РМА Мф препарат Циклоферон® в концентрации 156 мкг/мл, 312 мкг/мл и 625 мкг/мл на 24 часа экспозиции в двух сериях экспериментов стабильно дозо-зависимо стимулировал экспрессию генов рецепторов TLR2 (59,08 и 18,9), TLR3 (381,63 и 950,22), TLR4 (165,74 и 78,14), TLR7 (110,19 и 13,11), TLR8 (18,51 и 88,72) (рис. 2). Обращает на себя внимание кратность стимуляции экспрессии генов TLR3 на сроке 24 часа, которая значительно возрастает (дозовая зависимость) с увеличением концентрации препарата Циклоферон® (156 мкг/мл – 40,9 и 118,35; 312 мкг/мл – 164,11 и 270,13; 625 мкг/мл – 381,63 и 950,22). Стимуляция экспрессии TLR9 в 5,16 и 3,04 раз выявлена только в одном эксперименте на 1 и 24 часа соответственно экспозиции с препаратом Циклоферон® в концентрации 156 мкг/мл. Обнаружена также стабильная стимуляция (максимально в 8,7 раза) экспрессии генов RIG1 рецепторов при экспозиции с препаратом Циклоферон® практически почти во всех исследованных концентрациях на сроке 4 час в двух сериях экспериментов.

При изучении экспрессии генов TLR/RLR-рецепторов в культуре клеток макрофагов ТНР-РМА Мф при действии препарата Циклоферон L было выявлено в двух сериях экспериментов стабильное возрастание экспрессии генов TLR2 (21,35 и 8,43), TLR3 (86,62 и 386,26), TLR4 (39,48 и 21,55), TLR7 (54,50 и 6,21), TLR8 (7,94 и 34,73) только на сроке экспозиции 24 часа при одной концентрации препарата Циклоферон L (312 мкг/мл) (рис. 3). Экспрессия гена TLR9 (кратность стимуляции 4,25) обнаружена только в одном эксперименте. Не обнаружено экспрессии генов RIG1 при действии препарата Циклоферон L.

Обобщая данные, полученные при исследовании индукторов ИФН препаратов Циклоферон® и Циклоферон L, можно говорить об их способности стимулировать экспрессию генов TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR8 (и RIG1 для препарата Циклоферон®) и синтез мРНК этих рецепторов, которые и определяют синтез непосредственно рецепторов врожденного иммунитета. Наши исследования в культуре макрофагов ТНР-РМА Мф подтвердили ранее полученные в клетках крови данные Т.М. Соколовой и соавт. [3, 4] об активации генной экспрессии TLR3 и TLR9 и дополнительно выявили экспрессию генов TLR2,

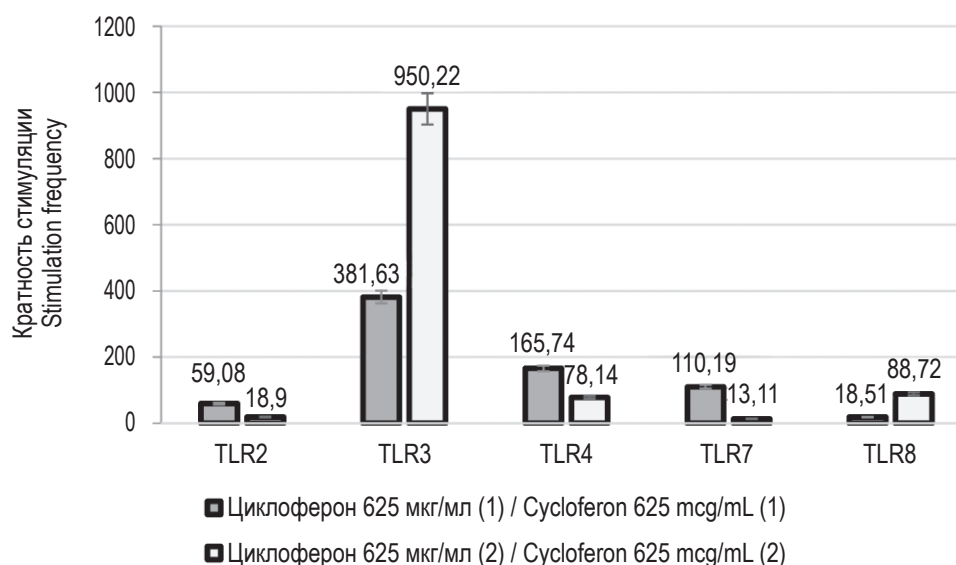


Рисунок 2. Экспрессия генов TLRs при экспозиции 24 часа с Циклофероном® в концентрации 625 мкг/мл в культуре клеток макрофагов ТНР-РМА Мф

Примечание. По оси ординат – кратность стимуляции генной экспрессии. По оси абсцисс – название препарата и концентрация. В скобках обозначен номер эксперимента.

Figure 2. Expression of TLRs genes upon exposure for 24 hours to Cycloferon® at a concentration of 625 µg/mL in a culture of macrophage cells THP-RMA Mf

Note. The y-axis is the frequency of stimulation of gene expression. The x-axis is the drug name and concentration. The experiment number is indicated in parentheses.

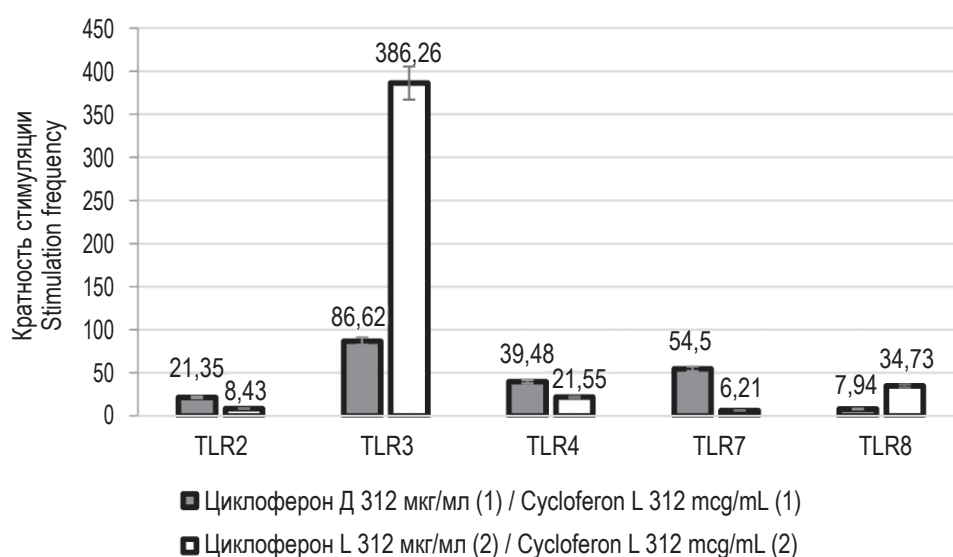


Рисунок 3. Экспрессия генов TLRs при экспозиции 24 часа с Циклофероном Л в концентрации 312 мкг/мл в культуре клеток макрофагов ТНР-РМА Мф

Примечание. См. примечание к рисунку 2.

Figure 3. Expression of TLRs genes upon exposure for 24 hours to Cycloferon L at a concentration of 312 µg/mL in the THP-RMA Mf macrophage cell culture

Note. As for Figure 2.

TLR4, *TLR7*, *TLR8* и *RIG1* для препарата Циклоферон®.

Известно, что рецепторы TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 и IL1R, расположенные на клеточной плазматической мембране, запускают каскад сигналов через MyD88-регулируемый путь, который не связан с индукцией генов *IFN*. Исключение составляет только рецептор TLR4, который задействует TRIF-зависимый механизм индукции синтеза *IFN*. Эндосомальные рецепторы TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9 с использованием MyD88 and TRIF адапторов также формируют сигнальный механизм активации *IFN*-регулируемых факторов транскрипции IRF3, IRF5 и IRF7, который приводит к индукции генов *IFN* [10, 12]. Интересно, что в клетках цельной крови Циклоферон® также стимулировал экспрессию генов *IRF3* и *IRF7*, *IFNβ1* и *IFNγ*. [4, 5].

Заключение

Разработка препаратов, активирующих экспрессию *TLR/RLR*-генов, является важной задачей иммунофармакологии [15]. Кроме того, такие препараты довольно часто одновременно являются «мультицелестными» препаратами, что представляет исключительный интерес для современного здравоохранения. В связи с этим обращают на себя внимание противовирусные препараты, которые сочетают свойства интерферогенов и иммуномодуляторов, к которым также принадлежит Циклоферон® и его аналоги. Таким образом, Циклоферон® и его аналог Циклоферон Л являются регуляторами генной экспрессии *TLR/RLR*-рецепторов врожденного иммунитета, и стимулируют экспрессию генов *TLR2*, *TLR3*, *TLR4*, *TLR7*, *TLR8* и *RIG1* в модели макрофаг-подобных клеток.

Список литературы / References

1. Ершов Ф.И., Киселев О.И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств). М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. 368 с. [Ershov F.I., Kiselev O.I. Interferons and their inducers (from molecules to drugs). Moscow: GEOTAR-Media, 2005. 368 p.]
2. Соколова Т.М., Кособокова Е.Н., Шувалов А.Н., Шаповал И.М., Косоруков В.С., Ершов Ф.И. Активность генов системы интерферона в клетках аденокарциномы толстого кишечника HCT-116: регуляция рекомбинантными интерферонами альфа-2 из бактериальных и растительных продуцентов // Российский биотерапевтический журнал, 2013. № 3. С. 39-44. [Sokolova T.M., Kosobkova E.N., Shuvalov A.N., Shapoval I.M., Kosorukov V.S., Ershov F.I. of Interferon system gene activity in colon adenocarcinoma cells HCT-116: regulation by interferon-alpha-2B from bacteria or plants. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy*, 2013, no. 3, pp. 39-44. (In Russ.)]

3. Соколова Т.М., Полосков В.В., Бурова О.С., Шувалов А.Н., Соколова З.А., Иншаков А.Н., Шишкин Ю.В., Ершов Ф.И. Действие интерферонов и индукторов интерферонов на экспрессию генов рецепторов TLR/RLR и дифференцировку опухолевых линий клеток ТНР-1 и НСТ-116 // Российский биотерапевтический журнал, 2016. Т. 15, № 3. С. 28-33. [Sokolova T.M., Poloskov V.V., Burova O.S., Shuvalov A.N., Sokolova Z.A., Inshakov A.N., Shishkin Yu.V., Ershov F.I. Action of interferons and IFN-inducers on TLR/RLRs genes expression and differentiation of tumor cell lines THP-1 and HCT-116. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy*, 2016, Vol. 15, no. 3, pp. 28-33. (In Russ.)]
4. Соколова Т.М., Шувалов А.Н., Полосков В.В., Ершов Ф.И. Стимуляция генов сигнальной трансдукции препаратами Ридостин, Циклоферон и Ингавирин // Цитокины и воспаление, 2015. № 2. С. 26-34. [Sokolova T.M., Shuvalov A.N., Poloskov V.V., Ershov F.I. Stimulation of signal transduction genes with drugs Ridostin, Cycloferon and Ingavirin. *Tsitokiny i vospaleniye = Cytokines and Inflammation*, 2015, no. 2, pp. 26-34. (In Russ.)]
5. Соколова Т.М., Шувалов А.Н., Шаповал И.М., Соколова З.А., Ершов Ф.И. Активация генов сигнальных путей иммунитета: различная индивидуальная чувствительность клеток крови человека к препаратам интерферонов и индукторов IFN // Медицинская иммунология, 2015. Т. 17, № 1. С. 7-18. [Sokolova T.M., Shuvalov A.N., Shapoval I.M., Sokolova Z.A., Ershov F.I. Activation of genes controlling the immune signaling pathways: differential individual sensitivity of human blood cells for interferon preparations and IFN inducers. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2015, Vol. 17, no. 1, pp. 7-18. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2015-1-7-18.
6. Суханов Д.С., Романцов М.Г., Смагина Ф.И., Коваленко А.Л., Локтева О.М. Доза зависимая интерферон индуцирующая активность и фармакокинетика циклоферона у здоровых лиц // Экспериментальная и клиническая фармакология, 2012. № 75. С. 23-26. [Sukhanov, D.S., Romantsov M.G., Smagina F.I., Kovalenko A.L., Lokteva O.M. Dose-dependent interferon-inducing activity and pharmacokinetics of cycloferon in healthy individuals. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya = Experimental and Clinical Pharmacology*, 2012, no. 75, pp. 23-26. (In Russ.)]
7. Assay Guidance Manuel. Available at: <http://www.ncgc.nih.gov/guidance/section2.html>.
8. El-Zayat S.R., Sibai H., Mannaa F.A. Toll-like receptors activation, signaling, and targeting: an overview. *Bull. Natl Res. Cent.*, 2019, Vol. 43, 187. doi: 10.1186/s42269-019-0227-2.
9. Fitzgerald K.A., Kagan J.C. Toll-like Receptors and the Control of Immunity. *Cell*, 2020, Vol. 180, no. 6, pp. 1044-1066.
10. Kawai T., Akira S. Signaling to NF-kappaB by toll-like receptors. *Trends Mol. Med.*, 2007, Vol. 13, no. 11, pp. 460-569.
11. Kramer M.J., Cleeland R., Grunberg E. Antiviral Activity of 10-Carboxymethyl-9-Acridanone. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1976, Vol. 9, no. 2, pp. 233-238.
12. Mancino A., Lawrence T. Nuclear factor-κB and tumor-associated macrophages. *Clin. Cancer Res.*, 2010, Vol. 16, pp. 784-789.
13. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods*, 1983, Vol. 65, no. 1-2, pp. 55-63.
14. Plotnikova M.A., Klotchenko S.A., Kiselev A.A., Gorshkov A.N., Shurygina A.-P.S., Vasilyev K.A., Uciechowska-Kaczmarzyk U., Samsonov S.A., Kovalenko A.L., Vasin A.V. Meglumine acridone acetate, the ionic salt of CMA and N-methylglucamine, induces apoptosis in human PBMCs via the mitochondrial pathway. *Sci. Rep.*, 2019, Vol. 9, 18240. doi: 10.1038/s41598-019-54208-9.
15. Tarte S., Takeuchi O. Pathogen recognition and Toll-like receptor targeted therapeutics in innate immune cells. *Int. Rev. Immunol.*, 2017, Vol. 6, pp. 1-17.

Авторы:

Наровлянский А.Н. — д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории цитокинов ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Полосков В.В. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории цитокинов ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Мезенцева М.В. — д.б.н., руководитель лаборатории культур тканей ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Narovlyansky A.N., PhD, MD (Biology), Professor, Chief Research Associate, Cytokine Laboratory, N. Gamaleya National Research Centre for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Poloskov V.V., PhD (Medicine), Research Associate, Cytokine Laboratory, N. Gamaleya National Research Centre for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Mezentseva M.V., PhD, MD (Biology), Head of the Laboratory of Tissue Cultures, N. Gamaleya National Research Centre for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Суетина И.А. — к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории культур тканей ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Цветнов А.В. — младший научный сотрудник лаборатории цитокинов ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Богданов Е.Ю. — лаборант-исследователь лаборатории цитокинов ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Федякина И.Т. — к.б.н., ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории экологии вирусов ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Коваленко А.Л. — д.б.н., ведущий научный сотрудник химико-аналитического отдела ФГБУ «Научно-консультативный центр токсикологии имени С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия

Ершов Ф.И. — д.м.н., академик РАН, главный научный сотрудник отдела интерферонов ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Suetina I.A., PhD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Tissue Cultures, N. Gamaleya National Research Centre for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Tsvetnov A.V., Junior Research Associate, Cytokine Laboratory, N. Gamaleya National Research Centre for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Bogdanov E.Yu., Research Assistant, Cytokine Laboratory, N. Gamaleya National Research Centre for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Fedyakina I.T., PhD (Biology), Leading Research Associate, Head of the Laboratory of Virus Ecology, N. Gamaleya National Research Centre for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Kovalenko A.L., PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Chemical-Analytical Department, S. Golikov Scientific Advisory Center of Toxicology, Federal Medical-Biological Agency of Russia, St. Petersburg, Russian Federation

Ershov F.I., PhD, MD (Medicine), Full Member, Russian Academy of Sciences, Chief Research Associate, Interferon Department, N. Gamaleya National Research Centre for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Поступила 29.03.2024
Отправлена на доработку 30.03.2024
Принята к печати 04.04.2024

Received 29.03.2024
Revision received 30.03.2024
Accepted 04.04.2024