

СПОНТАННАЯ ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ В СУПЕРНАТАНТАХ КУЛЬТУР КЛЕТОК, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ, ЛИМФОУЗЛОВ, СЕЛЕЗЕНКИ, ТИМУСА И КОЖИ В МОДЕЛИ ОСТРОГО ПСОРИАЗОПОДОБНОГО ДЕРМАТИТА У МЫШЕЙ

Сорокина Е.В.^{1,2}, Ахматова Э.А.¹, Столпникова В.Н.¹,
Калиниченко Е.О.¹, Бишева И.В.¹, Сходова С.А.¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

² Академия постдипломного образования ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» России, Москва, Россия

Резюме. Для изучения патогенетических механизмов псориаза и применения новых терапевтических средств для его лечения широко применяется имиквимод-индуцированная модель псориаза на мышах. Имиквимод в виде кожных аппликаций, являясь модификатором иммунного ответа, запускает сложный многостадийный процесс, имитирующий псориатическое воспаление кожных покровов, сопровождающееся изменением продукции цитокинов. Целью данной работы стало комплексное изучение спонтанной продукции цитокинов в супернатантах клеток, выделенных не только из кожи и крови, но и из центральных и периферических лимфоидных органов и влияние на него имиквимода. 46 мышей линии C57BL/6 были распределены в две группы – контрольную (n = 22) и опытную (n = 24). Формирование экспериментальной патологии было проведено по методу L. van der Fits и соавт. Мышам опытной группы в течение 7 дней наносили крем, содержащий 5%-ный имиквимод (62,5 мг/см²/сутки/мышь). Интенсивность кожного воспаления оценивали по балльной шкале. На 7-й день эксперимента были взяты пробы крови, извлекали селезенку, лимфатические узлы, тимус, а также получали биоптат кожи размерами 2/2 см. Для получения клеточной суспензии биоптата селезенки, лимфатических узлов, тимуса измельчали в гомогенизаторе, а затем пропускали через клеточные фильтры с диаметром пор 50 мкм. Для изоляции клеток из кожи применяли метод спонтанной миграции. Культуру клеток периферической крови, селезенки, лимфатических узлов, тимуса, кожи инкубировали 24 часа в RPMI-1640, затем исследовали спонтанную продукцию цитокинов. Уровень

Адрес для переписки:

Сорокина Екатерина Вячеславовна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»,
105064, Россия, Москва, Малый Казенный пер., 5а.
Тел./факс: 8 (495) 917-49-00.
E-mail: sorokina-cathrine@yandex.ru

Address for correspondence:

Ekaterina V. Sorokina
I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera,
5a Maly Kazenny Lane
Moscow
105064 Russian Federation
Phone/fax: +7 (495) 917-49-00.
E-mail: sorokina-cathrine@yandex.ru

Образец цитирования:

Е.В. Сорокина, Э.А. Ахматова, В.Н. Столпникова,
Е.О. Калиниченко, И.В. Бишева, С.А. Сходова
«Спонтанная продукция цитокинов в супернатантах
культур клеток, выделенных из периферической крови,
лимфоузлов, селезенки, тимуса и кожи в модели
острого псориазоподобного дерматита у мышей»
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,
№ 1. С. 15-22.
doi: 10.46235/1028-7221-15879-SCP

© Сорокина Е.В. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

E.V. Sorokina, E.A. Akhmatova, V.N. Stolpnikova,
E.O. Kalinichenko, I.V. Bisheva, S.A. Skhodova
“Spontaneous cytokine production by the cells from peripheral
blood, lymph nodes, spleen, thymus and skin in a murine
model of acute psoriasis-like dermatitis”, Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024,
Vol. 27, no. 1, pp. 15-22.
doi: 10.46235/1028-7221-15879-SCP

© Sorokina E.V. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.46235/1028-7221-15879-SCP

цитокинов определяли при помощи тест-системы Mouse Th1/Th2/Th17 Panel (Antigenix America) с использованием шариков, сенсibilизированных моноклональными антителами к цитокинам IFN γ (интерферон гамма), интерлейкинам IL-1 β , IL-5, IL-6, IL-10, IL-17, TNF α (фактор некроза опухоли альфа), IL-10. Проведенное исследование выявило, что клетки, выделенные из крови и других лимфоидных органов, в процессе культивирования синтезируют повышенные количества цитокинов, обладающих провоспалительным потенциалом, в первую очередь IL-1 и IL-17. Наиболее выраженные изменения цитокинового профиля наблюдаются в супернатантах культивируемых клеток крови, кожи и селезенки.

Ключевые слова: псориаз, имиквимод, воспаление, цитокины, Toll-like рецепторы

SPONTANEOUS CYTOKINE PRODUCTION BY THE CELLS FROM PERIPHERAL BLOOD, LYMPH NODES, SPLEEN, THYMUS AND SKIN IN A MURINE MODEL OF ACUTE PSORIASIS-LIKE DERMATITIS

Sorokina E.V.^{a,b}, Akhmatova E.A.^a, Stolpnikova V.N.^a, Kalinichenko E.O.^a, Bisheva I.V.^a, Skhodova S.A.^a

^a I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

^b Academy of Postgraduate Training FMBA, Moscow, Russian Federation

Abstract. Imiquimod-induced model of psoriasis in mice is used for the studies in psoriasis. Imiquimod administered as skin application triggers a complex multi-stage process simulating psoriatic inflammation of the skin, accompanied by changes in production of cytokines. The aim of this work was a comprehensive study of their contents in cell supernatants isolated from skin, blood, from central and peripheral lymphoid organs and the effect of imiquimod on these parameters. Forty-six C57BL/6 mice were divided into two groups: (1) control (n = 22), and (2) experimental (n = 24). Development of experimental pathology was evaluated by van de Fits et al. The mice from experimental group were treated with a cream containing 5% imiquimod (62.5 mg/cm²/day/mouse) for 7 days. On the 7th day of experiment, the animals were subject to blood sampling, extraction of spleen, lymph nodes, thymus, and skin biopsies were also made. To obtain cell suspensions, the tissues of spleen, lymph nodes, and thymus were crushed in a homogenizer, and then passed through cell filters (50 μ m pore size). The method of spontaneous migration was used to isolate skin cells. The cultures of blood, spleen, lymph nodes, thymus, and skin cells were incubated for 24 hours in RPMI-1640 followed by assessment of spontaneous cytokine production in supernatants. The cytokine level (IFN γ , IL-1 β , IL-5, IL-6, IL-10, IL-17, TNF α , IL-10) was determined using the murine Th1/Th2/Th17 Panel test system. Our study revealed that the cells isolated from blood and lymphoid organs synthesize increased amounts of pro-inflammatory cytokines: IL-1 and IL-17. The most pronounced changes in the cytokine profile are observed in cell supernatants from blood, skin and spleen cultures.

Keywords: psoriasis, imiquimod, inflammation, cytokines, Toll-like receptors

Введение

Для исследования патогенетических механизмов развития псориаза и изучения новых терапевтических средств успешно применяется мышинная имиквимод-индуцированная модель псориаза [2, 12, 14]. Многочисленными исследованиями установлено, что псориаз относится к аутоиммунным заболеваниям, и в его течении важное участие принимают клеточные механизмы [6, 7, 8]. Поэтому получение сведений о

субпопуляционном составе клеток крови и способности их продуцировать широкий спектр цитокинов (провоспалительных, противовоспалительных, регуляторных) на разных стадиях патологического процесса несет важную информацию для иммунологов и дерматологов [5, 7, 9]. Применение имиквимод-индуцированной модели псориаза дает исследователям дополнительные возможности в виде изучения продукции цитокинов не только клетками крови, но и клетками, выделенными из кожи, а также селезенки,

лимфатических узлов и тимуса. При изучении опубликованных работ по данной теме нами встречались разрозненные данные по продукции отдельных цитокинов, клетками, выделенными из отдельных органов. Нами была поставлена задача комплексно изучить цитокиновые профили клеток не только крови, но и центральных и периферических лимфоидных органов экспериментальных животных.

Материалы и методы

Исследование проводилось на самках мышей линии C57BL/6, массой 18-20 г, полученных из питомника «Столбовая» Московской области. Животные были ранжированы путем случайного распределения на 2 группы. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова. Опытная и контрольная группы животных содержались в соответствии с этическим требованиям фармакологического комитета (1999). На мышах группы 1 (опытная, n = 24) воспроизвели модель псориазоподобного дерматита с помощью индуктора патологии (имиквимод); группа 2, контрольная, (n = 22), не получала препаратов. За один день до начала исследования всем животным удаляли шерсть площадью примерно равной 6 см² (2 × 3 см) с помощью гипоаллергенного эпилирующего крема. Формирование экспериментальной патологии было проведено по методу L. van der Fits и соавт. (2009) [15], с дозой индуктора патологии (крем, содержащий 5%-ный имиквимод) 62,5 мг/см² в день на животное (ежедневная доза 3,125 мг активного соединения) в течение 7 дней. Кровь для иммунологических исследований отбирали в пробирки с гепарином в объеме 200 мкл на 7-й день исследования. У лабораторных животных извлекали селезенку,

лимфатические узлы (подмышечные, паховые), тимус, а также получали биоптат кожи размерами 2 × 2 см (в месте формирования патологии, у здоровых мышей — в этой же локализации). Для изоляции клеток из кожи применяли метод спонтанной миграции [13].

Определение концентрации свободных цитокинов в супернатантах мононуклеарных лейкоцитов (МНЛ) периферической крови, селезенки, лимфоузлов, тимуса и кожи мышей

Культуру МНЛ периферической крови, селезенки, лимфатических узлов, тимуса, кожи инкубировали 24 часа в ростовой среде RPMI-1640, затем исследовали спонтанную продукцию цитокинов в супернатантах МНЛ. Уровень цитокинов определяли при помощи тест-системы Mouse Th1/Th2/Th17 Panel (Antigenix America, каталожный номер MMX171, США) с использованием шариков, сенсibiliзированных моноклональными антителами к цитокинам: IFN γ (интерферон гамма), IL-1 β , IL-5, IL-6, IL-10, IL-17, TNF α (фактор некроза опухоли альфа), IL-10. Уровень цитокинов определяли согласно инструкции производителя с использованием проточного цитометра FC-500 (Beckman Coulter, США). Статистическую обработку материала проводили при помощи программного пакета WINMDI 2.8.

Результаты

При изучении спонтанной продукции отдельных цитокинов в супернатантах культур клеток, взятых из разных биологических систем, выявлены следующие особенности.

От мышей были получены кожные биоптаты, которые дезинтегрировали с получением отдельных клеток. Данные о цитокинах, продуцируемых клетками, изолированными из кожи, приведены в таблице 1. В процессе культивирования, МНЛ,

ТАБЛИЦА 1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СПОНТАННОЙ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ В СУПЕРНАТАНТАХ КУЛЬТУР КЛЕТОК, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ КОЖИ МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6 (M \pm σ), пкг/мл

TABLE 1. DETERMINATION OF SPONTANEOUS CYTOKINE PRODUCTION IN CELL CULTURE SUPERNATANTS ISOLATED FROM THE SKIN OF C57BL/6 MICE (M \pm σ), pg/mL

| Продукция цитокинов Cytokine production | IFN γ | IL-6 | IL-5 | IL-17A | IL-1A | TNF α | IL-10 |
|--|------------------|----------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|----------------|
| Имиквимод IMQ | 261,6 \pm 9,0* | 46,5 \pm 4,6 | 121,5 \pm 64,5* | 286,9 \pm 8,5* | 195,6 \pm 8,8* | 182,8 \pm 10,5 | 19,0 \pm 2,7 |
| Контроль Control | 204,8 \pm 16,3 | 49,0 \pm 4,1 | 59,9 \pm 6,6 | 116,6 \pm 9,7 | 62,8 \pm 6,2 | 172,4 \pm 7,9 | 15,2 \pm 4,8 |

Примечание. M – средняя арифметическая; σ – стандартное отклонение; * p < 0,05 – достоверность различий между группами мышей (Mann-Whitney U test).

Note. M, the arithmetic mean; σ , the standard deviation; * p < 0.05, the reliability of differences between groups of mice (Mann-Whitney U test).

ТАБЛИЦА 2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СПОНТАННОЙ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ В СУПЕРНАТАНТАХ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6 ($M \pm \sigma$), пкг/мл

TABLE 2. DETERMINATION OF SPONTANEOUS CYTOKINE PRODUCTION IN THE SUPERNATANTS OF MONONUCLEAR CELLS ISOLATED FROM THE PERIPHERAL BLOOD OF C57BL/6 MICE ($M \pm \sigma$), pg/mL

| Продукция цитокинов Cytokine production | IFN γ | IL-6 | IL-5 | IL-17A | IL-1A | TNF α | IL-10 |
|--|-------------------|------------------|-------------------|------------------|-----------------------------|------------------|-----------------|
| Имиквимод IMQ | 261,3 \pm 12,7* | 72,2 \pm 10,3* | 164,8 \pm 13,1* | 228,2 \pm 9,2* | 201,8 \pm 20,0* | 195,2 \pm 15,6 | 26,8 \pm 4,4* |
| Контроль Control | 172,7 \pm 7,2 | 20,8 \pm 2,9 | 51,6 \pm 6,6 | 101,1 \pm 8,1 | 22,0 \pm 3,5 [#] | 181,1 \pm 8,3 | 17,7 \pm 4,1 |

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ТАБЛИЦА 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СПОНТАННОЙ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ В СУПЕРНАТАНТАХ КЛЕТОК, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6 ($M \pm \sigma$), пкг/мл

TABLE 3. DETERMINATION OF SPONTANEOUS CYTOKINE PRODUCTION IN CELL SUPERNATANTS ISOLATED FROM LYMPH NODES OF C57BL/6 MICE ($M \pm \sigma$), pg/mL

| Продукция цитокинов Cytokine production | IFN γ | IL-6 | IL-5 | IL-17A | IL-1A | TNF α | IL-10 |
|--|-------------------|----------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|----------------|
| Имиквимод IMQ | 268,0 \pm 10,7* | 83,1 \pm 8,4 | 146,5 \pm 8,9* | 171,7 \pm 10,9* | 152,6 \pm 9,6* | 183,7 \pm 12,1 | 24,5 \pm 4,5 |
| Контроль Control | 226,6 \pm 6,1 | 81,6 \pm 5,3 | 147,1 \pm 6,1 | 137,3 \pm 5,9 | 13,2 \pm 3,5 | 188,2 \pm 12,1 | 24,0 \pm 4,1 |

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ТАБЛИЦА 4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СПОНТАННОЙ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ В СУПЕРНАТАНТАХ КУЛЬТУР КЛЕТОК, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ СЕЛЕЗЕНКИ МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6 ($M \pm \sigma$), пкг/мл

TABLE 4. DETERMINATION OF SPONTANEOUS CYTOKINE PRODUCTION IN CELL CULTURE SUPERNATANTS ISOLATED FROM THE SPLEEN OF C57BL/6 MICE ($M \pm \sigma$), pg/mL

| Продукция цитокинов в супернатантах клеток селезенки Cytokine production in the supernatants of spleen cells | IFN γ | IL-6 | IL-5 | IL-17A | IL-1A | TNF α | IL-10 |
|---|------------------|------------------|-----------------|-------------------|-------------------|------------------|-----------------|
| Имиквимод IMQ | 257,4 \pm 9,7* | 76,8 \pm 4,7* | 169,2 \pm 7,5 | 209,9 \pm 11,5* | 214,8 \pm 10,6* | 195,9 \pm 11,9 | 22,9 \pm 3,5 |
| Контроль Control | 356,6 \pm 6,9 | 108,4 \pm 10,6 | 163,6 \pm 7,5 | 137,9 \pm 5,9 | 13,2 \pm 3,5 | 188,2 \pm 12,1 | 24,02 \pm 4,1 |

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ТАБЛИЦА 5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СПОНТАННОЙ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ В СУПЕРНАТАНТАХ КУЛЬТУР КЛЕТОК, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ТИМУСА МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6 ($M \pm \sigma$), пкг/мл

TABLE 5. DETERMINATION OF SPONTANEOUS CYTOKINE PRODUCTION IN CELL CULTURE SUPERNATANTS ISOLATED FROM THE THYMUS OF C57BL/6 MICE ($M \pm \sigma$), pg/mL

| Продукция цитокинов Cytokine production | IFN γ | IL-6 | IL-5 | IL-17A | IL-1A | TNF α | IL-10 |
|--|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|----------------|
| Имиквимод IMQ | 310,1 \pm 8,6* | 124,9 \pm 6,4* | 165,6 \pm 9,1* | 202,4 \pm 8,7* | 295,1 \pm 7,9* | 196,9 \pm 8,9* | 25,9 \pm 4,1 |
| Контроль Control | 667,3 \pm 11,4 | 304,1 \pm 7,6 | 116,4 \pm 8,2 | 137,1 \pm 6,2 | 198,8 \pm 6,3 | 23,12 \pm 4,50 | 25,7 \pm 5,7 |

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

выделенные из воспаленного очага, продуцировали повышенные уровни таких цитокинов, как IL-1A (повышение в 3,1 раза), IL-17 (в 2,4 раза), IL-5 (в 2,1 раза), IFN γ (в 1,3 раза). Содержание IL-6, TNF α и IL-10 было сопоставимо с контрольной группой. Так как продукция IL-10 достоверно не повышалась, баланс провоспалительных/противовоспалительных цитокинов был сдвинут в сторону преобладания воспалительных процессов. В связи с этим местное воспаление кожных покровов перерастало в системное.

Оценивая спонтанную продукцию цитокинов в супернатантах мононуклеаров периферической крови мышей (табл. 2), обращает на себя внимание, что у мышей с острым воспалением достоверно повышенными оказались почти все изучаемые цитокины (за исключением TNF α). Более всего была повышена продукция IL-1A (201,8 \pm 20,0 по сравнению с контролем 22,0 \pm 3,5) – в 9,1 раза; IL-6 (72,0 \pm 10,3 по сравнению с контролем 20,9 \pm 2,6) – повышение концентрации в 3,6 раза, IL-5 (164,8 \pm 13,1 по сравнению с контролем 51,6 \pm 6,6) – повышение в 3,2 раза, IL-17A (228,2 \pm 9,2 по сравнению с контролем 101,1 \pm 8,1) – выше в 2,3 раза по сравнению с контрольными мышами.

Спонтанная продукция цитокинов в супернатантах клеток, выделенных из лимфоузлов мышей (табл. 3), характеризуется несколько меньшей интенсивностью по сравнению с клетками крови. Однако и в этом исследуемом биоматериале были выявлены достоверные изменения. Максимально повышенным – в 1,9 раза, оказался синтез IL-1A (152,6 \pm 9,6 против 79,1 \pm 5,8), затем IFN γ в 1,6 раза (268,0 \pm 10,7 против 167,0 \pm 4,5). Уровень IL-6, IL-5 и IL-17 был выше по сравнению с интактными мышами в 1,3-1,2 раза. Продукция TNF α и IL-10 была сопоставима со значениями контрольной группы.

Спонтанная продукция цитокинов в супернатантах спленцитов носит разнонаправленный характер (табл. 4). Уровень двух цитокинов – IL-1A (214,8 \pm 10,6 против 13,2 \pm 3,5) и IL-17A (209,9 \pm 11,5 против 137,9 \pm 5,9) был повышен по сравнению с контрольной группой в 16,1 и 1,5 раза. В то же время продукция IL-6 (76,8 \pm 4,7 против 108,4 \pm 10,6) и IFN γ (257,4 \pm 9,7 против 356,6 \pm 6,9) была ниже, чем в супернатантах МНЛ селезенки контрольных мышей. Значения концентрации IL-5, TNF α и IL-10 были сопоставимы с контрольной группой.

При анализе цитокинов, продуцируемых культурами клеток, выделенных из тимуса (табл. 5), в группе воспроизводимой модели воспаления по сравнению с контролем было выявлено угнетение продукции части цитокинов – IL-6 (99,0 \pm 28,0 против 460,3 \pm 52,6), IFN γ (267,0 \pm 47,0 против 517,1 \pm 70,4), IL-5 (157,0 \pm 12,0 против 291,9 \pm 28,9), IL-10 (24,0 \pm 5,0 против 39,7 \pm 5,1) в 4,6, 1,9, 1,9 и 1,6 раза соответственно. Однако уровень IL-1A (266,0 \pm 31,0 против 194,5 \pm 23,9) был выше в 1,4 раза по сравнению с контролем. Уровень продукции IL-10 был схожим в сравниваемых группах.

Мониторинг концентрации цитокинов показал изменение уровня провоспалительных цитокинов (IL-1 α , IL-6, IL-17, IFN γ), продукция противовоспалительного цитокина IL-10 была повышена только в супернатантах культуры МНЛ крови.

Обсуждение

Имиквимод, нанесенный на интактную кожу, путем связывания с TLR 7-го типа на дендритных клетках, в частности клетках Лангерганса, непосредственно вмешиваясь в процесс цитокиновой регуляции и запуская выраженную гиперпродукцию целого ряда провоспалительных цитокинов, запускает патологический процесс [1, 10, 11]. Как

видно из представленных данных, несмотря на то, что индуктор патологии — имиквимод поступал в организм мышей через кожу, его введение оказало системное воздействие — воспалительная реакция не ограничилась кожными покровами, а протекала в центральных и периферических иммунных органах.

Сравнивая спонтанную продукцию цитокинов в супернатантах клеток, выделенных из разных биолокусов, обращает на себя внимание, что максимально заметные изменения в интенсивности синтеза медиаторов иммунного ответа наблюдаются в крови мышей.

Наиболее выраженная реакция на поступление имиквимода в организм мышей наблюдалась в отношении провоспалительного цитокина интерлейкина-1. Анализируя спонтанную продукцию этого цитокина у интактных мышей, видно, что в отсутствие воздействия индуктора патологии (имиквимода) у мышей наблюдается некий базовый уровень синтеза IL-1 (13-22 пкг), при этом в коже и тимусе синтез данного цитокина протекает более интенсивно (62 и 198 пкг), что можно объяснить тем, что даже здоровая кожа испытывает значительное антигенное воздействие. У мышей опытной группы, обработанных имиквимодом, в культурах клеток из всех изучаемых биолокусов наблюдалось повышенное накопление IL-1 в супернатантах. В крови, лимфоузлах и селезенке оно было очень выраженным. Наибольший рост концентрации IL-1 (16-кратный) был выявлен в супернатантах селезенки, а в коже и тимусе он был менее интенсивным, что связано с изначально более высокими концентрациями этого цитокина у интактных мышей.

Интересными были полученные данные по содержанию IL-6. У интактных мышей спонтанная продукция данного провоспалительного цитокина в отсутствие стимуляции имиквимодом была довольно значительной в культуре МНЛ крови, тимуса (304 пкг), а в культурах МНЛ селезенки, кожи и лимфоузлов синтез протекал менее интенсивно (108, 49 пкг). А в процессе воспроизведения модели острого псориатического воспаления наблюдалось угнетение синтеза данного цитокина в культурах МНЛ крови, тимуса и селезенки в 2,4 и 1,4 раза, а в культурах МНЛ лимфоузлов и кожи продукция IL-6 не различалась у мышей контрольной и экспериментальной групп.

Спонтанная продукция IL-17 у мышей контрольной группы находилась приблизительно на одном уровне во всех исследуемых биолокусах и колебалась в пределах 101,0-137,0 пкг. По современным представлениям, IL-17A вызывает пролиферацию кератиноцитов и является одним из главных эффекторов при псориазе [3, 4]. При

воздействии имиквимода на организм мышей наблюдалось усиление продукции данного провоспалительного цитокина в 1,2-2,4 раза, наиболее ощутимое в культуре МНЛ крови и кожи (в 2,2 и 2,4 раза).

Продукция TNF α в культуре МНЛ тимуса была незначительной и составляла 23 пкг, в то время как в культивируемых МНЛ из остальных биолокусов продукция была более интенсивной и варьировала в пределах от 172 пкг до 188 пкг. Имиквимод оказал свое воздействие на интенсивность продукции фактора некроза опухоли α только в культуре МНЛ тимуса, где наблюдалось усиление продукции в 8,5 раза, а в остальных исследуемых биолокусах не наблюдалось изменения продукции данного цитокина.

Культура МНЛ крови и кожи интактных мышей продуцировала в культуральную жидкость незначительные количества IL-5 (51 и 59 пкг), уровень продукции в культурах клеток из других биолокусов был более высоким в диапазоне от 116 пкг до 169 пкг. Под влиянием имиквимода синтез IL-5 усиливался в 1,4-3,2 раза в культурах МНЛ тимуса, кожи и крови, а в культурах МНЛ лимфоузлов и селезенки изменений продукции не наблюдалось.

Спонтанная продукция регуляторного цитокина IFN γ была достаточно интенсивной у мышей контрольной группы, особенно высоким этот синтез был в культуре МНЛ тимуса. Влияние имиквимода на продукцию IFN γ было разнонаправленным — в культуральных жидкостях селезенки и тимуса наблюдалось подавление синтеза цитокина в 1,4-2,1 раза, а в супернатантах МНЛ крови, лимфоузлов и кожи была замечена незначительная активизация продукции в 1,2-1,5 раза.

Заключение

Проведенное исследование свидетельствует о том, что при воспроизведении первичного имиквимод-индуцированного воспаления кожи мышей линии C57BL/6, клетки, выделенные из крови и других лимфоидных органов в процессе культивирования, синтезируют повышенные количества цитокинов, обладающих провоспалительным потенциалом. в первую очередь, IL-1 и IL-17, а также IFN γ , IL-6, которые поддерживают псориазоподобное воспаление. При этом роста продукции противовоспалительного цитокина — IL-10 не наблюдалось (кроме супернатантов МНЛ крови), что способствовало прогрессированию воспалительной реакции.

Список литературы / References

1. Бозрова С.В., Левицкий В.А., Недоспасов С.А., Друцкая М.С. Имиквимод: биохимические механизмы иммуномодулирующей и противовоспалительной активности // Биомедицинская химия, 2013. Т. 59, вып. 3. С. 249-266. [Bozrova S.V., Levitsky V.A., Nedospasov S.A., Drutskaya M.S. Imiquimod: The biochemical mechanisms of immunomodulatory and anti-inflammatory activity. *Biomeditsinskaya khimiya = Biomedical Chemistry*, 2013, Vol. 3, pp. 249-266. (In Russ.)]
2. Жуков А.С., Лавров Н.В., Хайрутдинов В.Р., Самцов А.В. Модели псориаза на лабораторных животных: современное состояние проблемы // Иммунология, 2019. Т. 40, № 2. С. 64-69. [Zhukov A.S., Lavrov N.V., Khairutdinov V.R., Samtsov A.V. Models of psoriasis on laboratory animals: current status of the problem. *Immunologiya = Immunology*, 2019, Vol. 40, no. 2, pp. 64-69. (In Russ.)]
3. Камиллов Ф.Х., Муфазалова Н.А., Капулер О.М., Разумная Ф.Г., Муфазалова Л.Ф. Цитокиновый дисбаланс в иммунопатогенезе псориаза // Фундаментальные исследования, 2015. №1 (ч. 5). С. 1065-1071. [Kamilov F.Kh., Mufazalova N.A., Kapuler O.M., Razumnaya F.G., Mufazalova L.F. Cytokine imbalance in the immunopathogenesis of psoriasis. *Fundamentalnye issledovaniya = Fundamental Research*, 2015, no. 1, pp. 1065-1071. (In Russ.)]
4. Круглова Л.С., Моисеев С.В. Блокада интерлейкина-17 – новые горизонты эффективности и безопасности в лечении псориаза // Клиническая фармакология и терапия, 2017. № 26 (2). С. 5-12. [Kruglova L.S., Moiseev S.V. Inhibition of interleukin-17 – new horizons of efficacy and safety in the treatment of psoriasis. *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya = Clinical Pharmacology and Therapy* 2017, no. 26 (2), pp. 5-12. (In Russ.)]
5. Меркушова Е.Д., Хасанова Е.М., Ганковская Л.В. Механизмы врожденного иммунитета в патогенезе псориаза: подходы к таргетной терапии // Медицинская иммунология, 2020. Т.22, № 3. С. 449-458. [Merkushova E.D., Khasanova E.M., Gankovskaya L.V. Mechanisms of innate immunity in pathogenesis of psoriasis: approaches to targeted therapy. *Medsinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2020, Vol. 22, no. 3, pp. 449-458. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-MOI-1949.
6. Патрушев А.В., Самцов А.В., Никитин В.Ю., Сухарев А.В., Иванов А.М., Гумилевская О.П., Сухина И.А. Влияние очагов хронической инфекции на иммунный статус больных псориазом // Вестник дерматологии и венерологии, 2019. Т. 95, № 3. С. 16-24. [Patrushev A.V., Sukharev A.V., Nikitin V.Yu., Ivanov A.M., Sukhina I.A., Gumilevskaya O.P. Influence of focal infection on the cytokine profile in patients with chronic dermatosis. *Vestnik dermatologii i venerologii = Bulletin of Dermatology and Venereology*, 2019, Vol. 95, no. 3, pp. 16-24. (In Russ.)]
7. Пинегин Б.В., Иванов О.Л., Пинегин В.Б. Роль клеток иммунной системы и цитокинов в развитии псориаза // Российский журнал кожных и венерических болезней, 2013. № 3. С. 19-25. [Pinegin B.V., Ivanov O.L., Pinegin V.B. The role of immune cells and cytokines in the development of psoriasis. *Rossiyskiy zhurnal kozhnykh i venericheskikh bolezney = Russian Journal of Skin and Venereal Diseases*, 2013, no. 3, pp. 19-25. (In Russ.)]
8. Сенникова С.В., Топтыгина А.П., Семикина Е.Л., Закиров Р.Ш., Акулова С.С. Субпопуляционный состав мононуклеаров и цитокиновый профиль венозной и капиллярной крови больных псориазом и здоровых людей // Медицинская иммунология, 2021. Т. 23, № 6. С. 1333-1346. [Sennikova S.V., Toptygina A.P., Semikina E.L., Zakirov R.Sh., Akulova S.S. Mononuclear subsets and cytokine profile of venous and capillary blood in patients with psoriasis and healthy people. *Medsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2021, Vol. 23, no. 6, pp. 1333-1346. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-MSA-2391.
9. Симбирцев А.С., Тотолян А.А. Цитокины в лабораторной диагностике // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение, 2015. № 2. С. 82-98. [Simbirtsev A.S., Totolyan A.A. Cytokines in laboratory diagnostics. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie = Infectious Diseases: News, Opinions, Training*, 2015, no. 2, pp. 82-98. (In Russ.)]
10. Смирнов В.С., Кудрявцева Т.А. Вартоцид (имиквимод). СПб.: Гиппократ, 2017. 144 с. [Smirnov V.S., Kudryavtseva T.A. Vartocid (imiquimod)]. St. Petersburg: Hippocrates, 2017. 144 p.
11. Bubna A.K. Imiquimod – its role in the treatment of cutaneous malignancies. *Ind. J. Pharmacol.*, 2015, Vol. 47, no. 4, pp. 354-363.
12. Conn M.P. Animal models for the study of human disease. London: Academic Press, 2017. 1200 p.
13. Richters C.D., Hoekstra M.J., du Pont J.S., Kreis R.W., Kamperdijk E.W. Isolation of human skin dendritic cells by in vitro migration. *Methods Mol. Med.*, 2001, Vol. 64, pp. 145-153.

14. Zhang S., Liu X., Mei L., Wang H. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) inhibits imiquimod-induced psoriasis-like inflammation of BALB/c mice. *BMC Complement. Altern. Med.*, 2016, Vol. 16, no. 1, 334. doi: 10.1186/s12906-016-1325-4.

15. van der Fits L., Mourits S., Voerman J.S.A., Kant M., Boon L., Laman J.D., Cornelissen F., Mus A.-M., Florencia E., Prens E.P., Lubberts E. Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 Axis. *J. Immunol.*, 2009, Vol. 182, no. 9, pp. 5836-5845.

Авторы:

Сорокина Е.В. — д.м.н., профессор, заведующая лабораторией механизмов регуляции иммунитета ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»; профессор кафедры дерматовенерологии и косметологии Академии постдипломного образования ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» России, Москва, Россия

Ахматова Э.А. — младший научный сотрудник лаборатории терапевтических вакцин ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Стопникова В.Н. — к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов регуляции иммунитета ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Калиниченко Е.О. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории механизмов регуляции иммунитета ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Бишева И.В. — научный сотрудник лаборатории механизмов регуляции иммунитета ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Сходова С.А. — к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов регуляции иммунитета ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Authors:

Sorokina E.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Mechanisms of Regulation of Immunity, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera; Professor, Department of Dermatovenereology and Cosmetology, Academy of Postgraduate Education of the Federal State Budgetary Institution "Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency" of Russia, Moscow, Russia

Akhmatova E.A., Junior Research Associate, Laboratory of Therapeutic Vaccines, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Stolpnikova V.N., PhD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Mechanisms of Regulation of Immunity, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Kalinichenko E.O., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Mechanisms of Regulation of Immunity, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Bisheva I.V., Research Associate, Laboratory of Mechanisms of Regulation of Immunity, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Skhodova S.A., PhD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Mechanisms of Regulation of Immunity, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation