

Супрессорное действие продуктов фотоокисления псоралена на реакцию контактной чувствительности у мышей: ингибирование пролиферации и индукция апоптоза лимфоцитов

И.А. Пятницкий¹, С.И. Павлова^{2,3}, Д.З. Албегова¹, И.Г. Козлов^{1,2}, А.Я. Потапенко¹, А.А. Кягова¹

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва; ²Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, Москва; ³ФГБОУ ВПО Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова, Чебоксары

Изучено действие продуктов фотоокисления псоралена (ФОП) на реакцию контактной чувствительности к 2,4-динитрофторбензолу (ДНФБ) у мышей. Обнаружено, что введение ФОП ДНФБ-сенситизированным мышам приводит к уменьшению количества клеток регионарных лимфатических узлов (ЛУ) и снижению их пролиферативной активности. Снижение пролиферации сопровождалось изменением цитокинового баланса клеток ЛУ: уменьшением продукции ИЛ-2, ИЛ-4 и ИНФ-γ и увеличением продукции ИЛ-17. При этом ФОП in vivo не влияли на продукцию ИЛ-10 и ИЛ-6 клетками лимфатических узлов. Инкубация клеток лимфатических узлов ДНФБ-сенситизированных мышей in vitro в присутствии ФОП приводила к индукции апоптоза данных клеток. Мы предположили, что в основе механизма иммуносупрессорного действия ФОП лежит модуляция цитокинового профиля лимфоцитов, что приводит к снижению пролиферативной активности и индукции апоптоза последних.

Ключевые слова: псорален; контактная чувствительность; иммуносупрессия; апоптоз; цитокины

SUPPRESSIVE EFFECTS OF PSORALENE PHOTO-OXIDATION PRODUCTS ON CONTACT SENSITIVITY REACTION IN MICE: LYMPHOCYTE PROLIFERATION INHIBITION AND APOPTOSIS INDUCTION

I.A.Pyatnitsky¹, S.I.Pavlova^{2,3}, D.Z.Albegova¹, I.G.Kozlov^{1,2}, A.Ya.Potapenko¹, A.A.Kyagova¹

¹N.I.Pirogov National Research Medical University, Moscow, Russia; ²D. Rogachev Federal Research and Clinical Center of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology, Moscow, Russia; ³I.N.Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Russia

The effects of psoralene photo-oxidation products (PPP) on 2,4-dinitrofluorobenzene (DNFB) contact sensitivity of mice were studied. Injections of PPP to DNFB-sensitized mice led to a decrease in the cell counts in the regional lymph nodes and to reduction of the cellular proliferative activity. Proliferation reduction was paralleled by changes in the lymph node cell cytokine balance: lesser production of IL-2, IL-4, and INF-γ and higher production of IL-17. Interestingly that PPP did not change the production of IL-10 and IL-6 by the lymph node cells in vivo. In vitro incubation of the lymph node cells of DNFB-sensitized mice with PPP led to induction of these cells' apoptosis. It seemed that modulation of the lymphocyte cytokine profile underlay the mechanism of PPP immunosuppressive activity, this leading to reduction of these cells' proliferative activity and apoptosis induction.

Key words: psoralene, contact sensitivity, immunosuppression, apoptosis, cytokines

Одним из эффективных методов лечения иммунопатологий, опосредованных Т-лимфоцитами, например аллергического контактного дерматита, является ПУВА-терапия. Она заключается в воздействии УФ диапазона А (УФА) на кожу пациента, предварительно получившего перорально или внутривенно препарат псоралена [1]. Однако ПУВА-терапия может сопровождаться некоторыми побочными эффектами, например эритемой, отеком, гиперпигментацией, а иногда раком кожи [2].

При проведении ПУВА-терапии в коже пациента происходит фотолиз псоралена с образованием продуктов его фото-

окисления (ФОП). Существует точка зрения, что ФОП могут вносить вклад в терапевтическое действие ПУВА [3]. Было показано, что продукты ФОП обладают иммуносупрессорными свойствами [4] и оказывают терапевтическое действие при лечении атопической экземы [5]. Однако иммунные и терапевтические механизмы действия этих продуктов остаются предметом дискуссии.

Удобной моделью для изучения иммунотропных препаратов, направленных на супрессию гиперреактивного Т-клеточного звена иммунного ответа, является реакция контактной чувстви-

Сведения об авторах:

Пятницкий Илья Алексеевич — аспирант; Павлова Светлана Ивановна — доктор мед. наук, профессор; Албегова Диана Заурбековна — кандидат мед. наук, доцент; Козлов Иван Генрихович — доктор мед. наук, профессор; Потапенко Александр Яковлевич — доктор биол. наук, профессор; Кягова Алла Анатольевна — доктор мед. наук, профессор (kyagova.alla@gmail.com).

тельности (КЧ) к различным гаптенам у мышей. Данная реакция является экспериментальным аналогом аллергического контактного дерматита у человека [6].

Развитие реакции КЧ опосредуется специфическими Т-лимфоцитами и протекает в две фазы (стадии): афферентную (сенсibilизации) и эффекторную (разрешения) [7]. Стадии сенсibilизации и разрешения реакции КЧ развиваются после первичного и вторичного контакта организма с антигеном соответственно. Ранее нами было показано [8], что введение ФОП *per os* или внутривенно мышам приводит к антигенспецифической супрессии реакции КЧ.

Настоящая работа посвящена изучению иммунных механизмов супрессорного действия ФОП.

Материалы и методы

Приготовление предварительно облученного псоралена (ФОП). Рабочий раствор содержал 0,1 мМ псоралена в фосфатно-солевом буферном растворе (ФБР) с 1% этанола. Данный раствор облучали при температуре 4°C УФА-светом лампы Black Light ("Osram", Германия), излучающей преимущественно при 365 нм. Интенсивность света (измеренная с помощью калиброванного фотоэлемента Power Meter 1815-с, Newport 818-UV, США) составляла 23 Вт/м², доза облучения — 48 кДж/м².

В опытах использовали мышей линии СВА-Н2к (самцы массой 18—20 г, возраст 8—10 нед), содержащихся на стандартном пищевом рационе, со свободным доступом к воде и пище. Животных сенсibilизировали путем аппликации на выбритую кожу брюшка 50 мкл 0,3% раствора динитрофторбензола (ДНФБ) в ацетоне. Спустя 24, 96, 120 и 144 ч после сенсibilизации выделяли паховые лимфатические узлы, и после стандартной процедуры шадящей гомогенизации в охлажденной среде RPMI-1640 (содержащей 100 ЕД/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина) получали суспензии клеток. Количество клеток подсчитывали в камере Горяева. Для удобства подсчета ядродержащих клеток эритроциты лизировали 3% уксусной кислотой.

Для оценки пролиферации лимфоцитов суспензию клеток лимфатических узлов, полученных от ДНФБ-сенсibilизированных мышей, засеивали в 96-луночный круглодонный планшет в конечной концентрации 10⁶ клеток на лунку в полной среде RPMI-1640, содержащей антибиотик гентамицин в концентрации 80 мкг/мл, 10% инактивированную телячью сыворотку, 2 мМ L-глутамин и 10 мМ Хепес-буфер pH 7,2. Клетки инкубировали 24 ч при температуре 37°C и 5% CO₂. За 6 ч до окончания культивирования в лунки добавляли радиоактивную метку ³H-тимидин (конечная концентрация в лунке 1 мкКю/мл). По истечении времени инкубации клетки из лунки собирали на автоматическом сборщике клеток, перенося радиоактивный материал на стеклянно-волоконистые фильтры типа HA-930 ("Whatmann", Великобритания). Высушенные фильтры помещали во флаконы из кварцевого стекла, содержащие по 4 мл сцинтилляционного раствора — 4 г 1-4-ди(5-фенил)-2-оксазолил бензола — PPO и 0,1 г 2,5-дифенилоксазола — POPOP на 1 л толуола. Радиоактивность включенного ³H-тимидина подсчитывали на счетчике β-частиц. Результаты выражали в количестве импульсов в минуту.

Оценка уровня секреторных цитокинов. Мышей двукратно, с интервалом 24 ч, сенсibilизировали ДНФБ (1-й и 2-й дни). На 2-й день и еще через сутки (3-й день) мышам опытных групп внутривенно (в/в) или перорально вводили 0,5 мл ФОП или необлученного псоралена. Животным контрольной группы на 2-й и 3-й дни вводили 0,5 мл ФБР, содержащего 1% этанола. Через 3—4 ч после последнего введения тестируемого агента выделяли паховые лимфатические узлы мышей и готовили суспензии клеток. 10⁶ клеток лимфатических узлов культивировали 24 или 48 ч в присутствии 15 мкг/мл конканавалина А в 96-луночных планшетах при 37°C и 5% CO₂ в полной среде RPMI-1640. После культивирования методом цитофлюориметрического анализа оценивали внеклеточные концентрации цитокинов согласно инструкции к набору реактивов Mouse Th1/Th2 FlowCytomix Multiplex ("Bender MedSystems", Австрия). Цитокиновый профиль определяли с помощью проточного цитофлюориметра Cytomics FC-500 ("Beckman Coulter", США) и программного обеспечения FlowCytomix Pro ("Bender MedSystems", Австрия).

В контрольных пробах пиковые концентрации цитокинов ИЛ-2, ИЛ-4, ИФН-γ наблюдались через 24 ч, а ИЛ-10, ИЛ-17, ИЛ-5, ИЛ-6, гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) и ФНО-α — через 48 ч культивирования. В дальнейших сериях экспериментов концентрации вышеуказанных секреторных цитокинов определяли именно через то время культивирования (24 или 48 ч), когда они должны были достигать своего максимального уровня. ИЛ-1 ни в одной из 3 серий экспериментов не детектирован.

Оценка апоптоза. Мышей сенсibilизировали ДНФБ и через 24 ч готовили суспензии паховых лимфатических узлов. К суспензиям, содержащим 5 • 10⁶ клеток в ФБР, добавляли различные объемы ФОП таким образом, чтобы конечный объем пробы составлял 2 мл и конечные концентрации по псоралену до его облучения составляли 10⁻⁶, 10⁻⁵ или 5 • 10⁻⁵ М. Инкубацию суспензий проводили в течение 15 мин при температуре 37°C и 5% CO₂. В контрольной пробе (К⁺) 5 • 10⁶ клеток в 2 мл ФБР инкубировали в присутствии 1% этанола. Для определения апоптотической активности необлученного псоралена к суспензии, также содержащей 5 • 10⁶ клеток в ФБР, добавляли 1 мл необлученного агента в концентрации 10⁻⁴ М (конечная концентрация составляла 5 • 10⁻⁵ М). После инкубации суспензии клеток трехкратно отмывали в среде RPMI-1640 путем центрифугирования (5 мин, 400 g). Затем удаляли супернатант и осадок, содержащий клетки лимфатических узлов, культивировали в полной среде RPMI-1640 при 37°C и 5% CO₂ в течение 4 или 18 ч. После культивирования 5 • 10⁵ клеток были помечены аннексином-V и йодистым пропидием (An/Pi) согласно инструкции к набору реагентов. Дабы избежать "температурного" апоптоза, все манипуляции, с момента завершения культивирования вплоть до постановки пробы в цитофлюориметр, проводили при 4°C. В область (гейт) анализа включали все события, за исключением дедбриса. Долю AnV⁺-клеток (ранний апоптоз), AnV⁺Pi⁺-клеток (поздний апоптоз) и Pi⁺-клеток (некроз) определяли с помощью набора Annexin V-FITC-Pi ("Beckman Coulter", США) по стандартной методике на проточном цитофлюориметре Altra ("Beckman Coulter", США) согласно инструкции производителя.

Интенсивность подачи суспензии подбирали таким образом, чтобы скорость сбора к моменту записи данных составляла 300 событий в 1 с. Анализировали 10 000 событий.

Статистическую обработку результатов осуществляли методами вариационной статистики с соответствующими расчетами среднего арифметического значения, стандартного отклонения (σ_{n-1}) и стандартной ошибки среднего значения (SEM). Статистическую значимость различий между опытными и контрольными группами определяли по *t*-критерию Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при *p* < 0,05.

Результаты и обсуждение

Влияние ФОП на динамику клеточности лимфатических узлов ДНФБ-сенсibilизированных мышей. Во время афферентной фазы реакции КЧ происходит пролиферация, созревание и накопление пула специфических Т-лимфоцитов в ответ на накожную аппликацию гаптена [7]. Ранее мы установили [9], что ФОП способен подавлять реакцию КЧ на ее афферентной стадии, что указывало на возможность угнетения пролиферации антигенспецифических лимфоцитов под действием ФОП. В связи с этим была поставлена задача изучить, как изменяется количество лимфоцитов в регионарных лимфатических узлах ДНФБ-сенсibilизированных мышей после введения ФОП.

Для этого через 24, 96, 120 и 144 ч после сенсibilизации мышей ДНФБ выделяли паховые лимфатические узлы животных и подсчитывали в них абсолютное количество ядродержащих клеток (группа положительного контроля, К⁺). В опытной группе мышам вводили перорально по 0,5 мл раствора ФОП через 24 ч после сенсibilизации ДНФБ. В группе положительного контроля К⁺ вместо ФОП перорально вводили по 0,5 мл ФБР, содержащего 1% этанола. В качестве отрицательного контроля (К⁻) была выбрана группа интактных мышей, у которых оценивали абсолютное количество клеток в паховых лимфатических узлах.

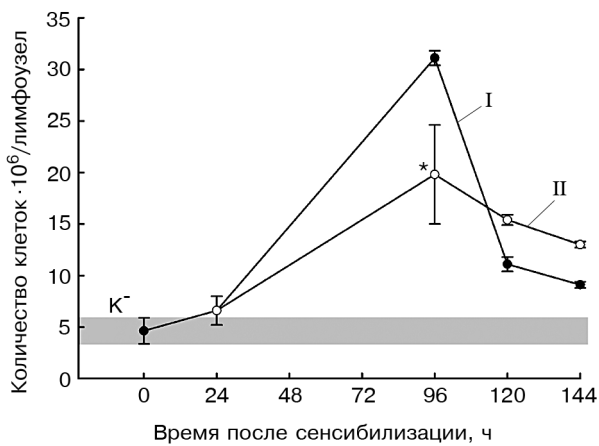


Рис. 1. Влияние ФОП *in vivo* на динамику клеточности регионарных лимфатических узлов.

I — ДНФБ-сенсibilизированные мыши (положительный контроль, K+); II — мыши, получившие ФОП; K (отрицательный контроль) — интактные мыши. * $p < 0,05$.

На рис. 1 видно, что абсолютное количество клеток в лимфатических узлах сенсibilизированных мышей (положительный контроль K+, сплошная кривая) увеличилось в 6 раз через 96 ч после сенсibilизации. На 6-е и 7-е сутки количество клеток уменьшалось. Увеличение клеточности лимфатических узлов было обусловлено, согласно данным литературы [7], пролиферацией, дифференцировкой и созреванием в лимфатических узлах клона антигенспецифических T-лимфоцитов. Затем, через 120 ч после сенсibilизации, количество клеток в лимфатических узлах уменьшалось, что, по-видимому, было обусловлено миграцией лимфоцитов из лимфатических узлов в кровотоки, а затем — в ткани организма животного [10].

Также видно (см. рис. 1), что введение ФОП мышам приводило к уменьшению клеточности лимфатических узлов сенсibilизированных ДНФБ мышей (пунктирная кривая). Через 96 ч после сенсibilизации в лимфатических узлах мышей, полу-

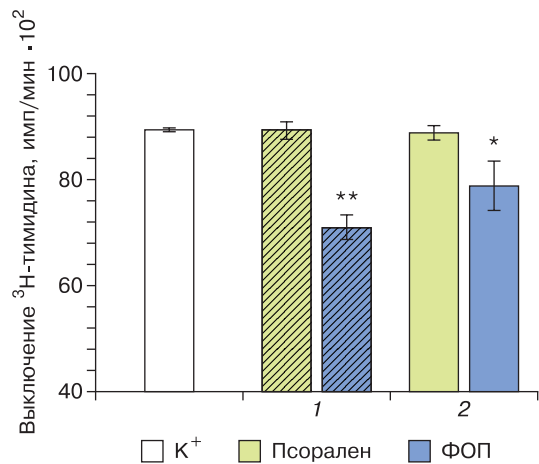


Рис. 2. Пролиферативная активность клеток лимфатических узлов ДНФБ-сенсibilизированных мышей. K+ — ДНФБ-сенсibilизированные мыши.

Здесь и на рис. 2, 3: * $p < 0,05$; ** $p < 0,03$; 1 — внутривенно; 2 — перорально.

чивших ФОП, содержалось меньше клеток, чем в положительном контроле (K+): $19,2 \pm 3,1 \cdot 10^6$ и $31,3 \pm 0,8 \cdot 10^6$ клеток на лимфатический узел соответственно ($p < 0,05$). Представленные данные указывают на то, что введение мышам ФОП могло приводить либо к угнетению пролиферации антигенспецифических T-лимфоцитов, как это показано для ПУВА-воздействия [9], либо к апоптозу клеток лимфатических узлов.

Введение ФОП ДНФБ-сенсibilизированным мышам приводило к увеличению клеточности лимфатических узлов через 120 и 144 ч по сравнению с положительным контролем (см. рис. 1). Такая динамика может свидетельствовать о том, что использованный нами агент, по-видимому, угнетает миграцию антигенспецифических T-клеток из лимфатических узлов в кровотоки в конце афферентной фазы развития реакции КЧ [7].

Измерение пролиферативной активности клеток лимфатических узлов под действием ФОП *in vivo*. В следующей серии

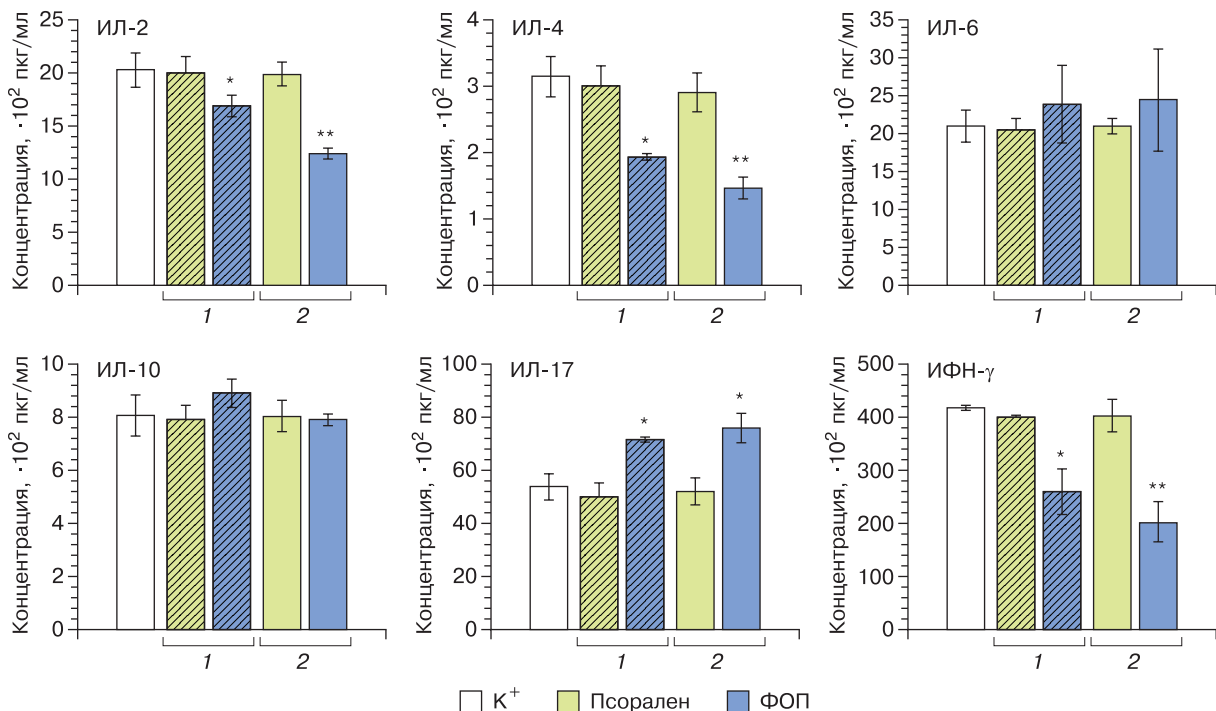


Рис. 3. Уровень секреторных цитокинов клеток лимфатических узлов ДНФБ-сенсibilизированных мышей. ФОП или псорален вводили мышам внутривенно или перорально. K+ — ДНФБ-сенсibilизированные мыши.

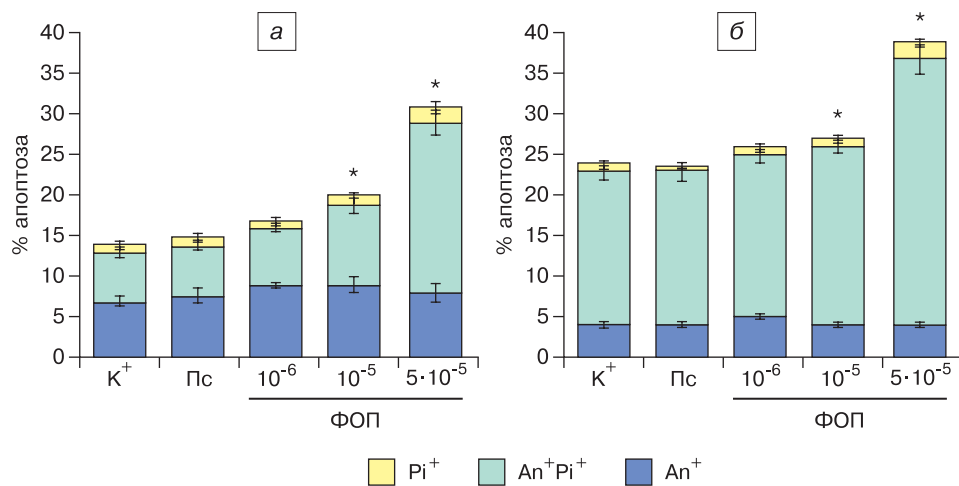


Рис 4. Индукция апоптоза клеток лимфатических узлов при действии ФОП *in vitro* через 4 ч (а) и 18 ч (б) культивирования. Ap⁺ — ранний апоптоз, An⁺Pi⁺ — поздний апоптоз, Pi⁺ — некроз. Пс — необлученный псорален, К⁺ — положительный контроль; **p* < 0,05.

экспериментов мы оценили влияние ФОП *in vivo* на пролиферативную активность клеток лимфатических узлов ДНФБ-сенсibilизированных мышей.

Для этого мышей дважды сенсibilизировали ДНФБ на 1-е и 2-е сутки. Через 24 и 44 ч с момента первой сенсibilизации 0,5 мл ФОП или необлученного псоралена вводили мышам в/в или перорально. Через 72 ч с момента первичной аппликации ДНФБ получали суспензию клеток лимфатических узлов, культивировали в течение 24 ч и оценивали пролиферативную активность клеток.

Введение мышам необлученного псоралена не влияло на пролиферативную активность клеток лимфатических узлов (рис. 2). При этом как внутривенное, так и пероральное введение ФОП мышам приводило к снижению пролиферативной активности клеток лимфатических узлов на $22 \pm 2,4\%$ ($p < 0,03$) и $16 \pm 4,9\%$ ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с контролем. Таким образом, введение ФОП мышам приводило к снижению пролиферативной активности клеток лимфатических узлов.

Цитокиновый профиль клеток лимфатических узлов в реакции КЧ под действием ФОП. Известно, что супрессорное действие многих агентов на реакцию КЧ, включая ПУВА-воздействие, может быть следствием регуляции цитокинового профиля иммунокомпетентных клеток, принимающих участие в развитии КЧ [11]. Поэтому мы изучили влияние ФОП *in vivo* на продукцию секреторных цитокинов клеток лимфатических узлов на афферентной фазе развития реакции КЧ.

Мыши были дважды сенсibilизированы ДНФБ на 1-е и 2-е сутки. ФОП или необлученный псорален вводили мышам в/в или перорально на 2-е (48 ч) и 3-и (72 ч) сутки с момента первичной сенсibilизации. Через 72 ч с момента первичной аппликации ДНФБ получали суспензию клеток лимфатических узлов. Суспензию клеток в полной среде культивировали в присутствии конканавалина А в течение 24 или 48 ч.

Согласно полученным данным, уровни ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10, ГМ-КСФ и ФНО- α в опытных группах (получивших ФОП или псорален) статистически значимо не отличались от таковых в контрольных группах. Однако введение ФОП ДНФБ-сенсibilизированным мышам приводило к уменьшению продукции таких цитокинов, как ИЛ-2, ИЛ-4 и ИФН- γ , по сравнению с контрольной группой (К⁺) на 16,3, 39,1 и 38% при его в/в введении и на 40,8, 53,7 и 51,6% при пероральном. Секретция клетками ИЛ-17 под действием ФОП увеличивалась при в/в введении на 33,3%, при пероральном на 40,7% по сравнению с положительным контролем. Необлученный псорален не влиял на профиль цитокинов клеток лимфатических узлов ДНФБ-сенсibilизированных мышей (рис. 3).

Индукция апоптоза сенсibilизированных клеток лимфатических узлов продуктами фотоокисления псоралена *in vitro*. Нами была проведена оценка проапоптотической активности

ФОП *in vitro*. Для этого в суспензию клеток лимфатических узлов, выделенных спустя 24 ч после сенсibilизации мышей ДНФБ, добавляли ФОП таким образом, чтобы конечная концентрация по псоралену до его облучения составляла 10^{-6} М, 10^{-5} М или $5 \cdot 10^{-5}$ М. Концентрация необлученного псоралена в суспензии клеток всегда составляла $5 \cdot 10^{-5}$ М. Процент апоптотических клеток определяли путем суммирования An-положительных (An⁺Pi⁺, ранний апоптоз) и AnPi-положительных (An⁺Pi⁺, поздний апоптоз) клеток (событий) в каждой группе и последующего их сравнения с группой положительного контроля. Разность между группой положительного контроля и опытными группами расценивали как долю апоптотических клеток в последних.

На рис. 4 видно, что необлученный псорален *in vitro* как через 4 ч (а), так и через 18 ч (б) культивирования не влиял на процент погибших (в том числе через механизм апоптоза) клеток. Однако добавление ФОП *in vitro* к суспензиям клеток лимфатических узлов ДНФБ-сенсibilизированных мышей в концентрациях 10^{-5} М и $5 \cdot 10^{-5}$ М через 4 ч культивирования увеличивало количество погибших через апоптоз лимфоцитов на 6 и 16% соответственно по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Через 18 ч прирост апоптотических клеток в вышеуказанных пробах составлял 2,5 и 15% соответственно по сравнению с положительным контролем ($p < 0,05$). Также нами было показано, что добавление ФОП *in vitro* в концентрации 10^{-6} М к суспензиям клеток лимфатических узлов ДНФБ-сенсibilизированных животных не влияло на количество погибших клеток как через 4 ч, так и через 18 ч культивирования по сравнению с положительным контролем.

В настоящей работе обнаружено, что пероральное введение ФОП ДНФБ-сенсibilизированным мышам вызывало уменьшение количества клеток в лимфатических узлах (см. рис. 1). Известно, что на афферентной фазе развития реакции КЧ происходит пролиферация и накопление пула специфических Т-лимфоцитов [7], поэтому вышеуказанное действие ФОП могло быть следствием подавления их пролиферации либо индукции в них апоптоза [9, 12]. Действительно, нами установлено снижение пролиферативной активности клеток лимфатических узлов ДНФБ-сенсibilизированных мышей, получивших ФОП, независимо от способа его введения (перорально или в/в, рис. 2). Также было показано (см. рис. 3), что такое снижение пролиферации имеет под собой цитокиновую природу, заключающуюся в том, что ФОП обладает модулирующим влиянием на продукцию секреторных цитокинов клетками лимфатических узлов ДНФБ-сенсibilизированных мышей. ФОП снижал продукцию ИЛ-2 лимфоцитами — Th1-цитокина, который, по данным литературы [7], ответствен за усиление пролиферации иммунокомпетентных клеток при развитии реакции КЧ. Также было показано, что ФОП подавляет секрецию лимфоцитами

таких провоспалительных цитокинов, как ИЛ-4 и ИФН- γ , тем самым свидетельствуя о возможности использованного нами агента нарушать процесс дифференцировки CD8⁺-лимфоцитов (ведущих реакцию КЧ при использовании ДНФБ в качестве сенсибилизатора [13]) в Тс1- и Тс2-субпопуляции. Увеличение секреции провоспалительного цитокина ИЛ-17 может говорить о том, что ФОП вызывает переключение иммунного ответа, а именно: блокирует формирование Th1- и Th2-ответа, стимулируя образование Th17-лимфоцитов [14].

Известно, что при добавлении ФОП, полученного при облучении очень концентрированного раствора псоралена (2,7 мМ), к опухолевой Т-клеточной линии Jurkat наблюдается генерация апоптотических клеток [12]. Кроме того, по данным литературы [15], известны агенты, способные подавлять реакцию КЧ путем одновременного подавления пролиферации Т-эффекторных лимфоцитов и индукции апоптоза последних. Таким образом, другим механизмом супрессорного действия ФОП могла стать индукция апоптоза эффекторных клеток (созревающих Т-лимфоцитов), принимающих участие в развитии иммунного ответа в реакции КЧ. Действительно, нами было показано, что обработка *in vitro* клеток лимфатических узлов ДНФБ-сенсибилизированных мышей раствором ФОП, полученным при фотоокислении 0,1 мМ раствора псоралена и разбавленного затем в 100 раз фосфатно-солевым буферным раствором (что сравнимо с концентрацией ФОП в кровотоке животных при его введении *per os* или в/в), через 4 ч культивирования на 13% по сравнению с ДНФБ-сенсибилизированным контролем повышает процент апоптотических клеток. Необходимо отметить, что раствор ФОП представляет собой сложную смесь фотопродуктов [4, 12]. Таким образом, на данный момент неясно, являются ли вышеприведенные иммунологические эффекты результатом действия лишь одного фотопродукта либо за индукцию апоптоза и ингибирование пролиферации Т-клеток ответственны различные продукты фотоокисления псоралена. Проапоптотическая активность ФОП *in vivo* (при введении данного агента мышам *per os* через 24 ч после сенсибилизации ДНФБ) нами не отмечена (данные не приведены).

Таким образом, можно предположить, что механизмами действия продуктов фотоокисления псоралена являются как модуляция цитокинового профиля иммунокомпетентных клеток, приводящая в свою очередь к снижению пролиферативной активности лимфоцитов-эффекторов, так и индукция апоптоза Т-эффекторов.

REFERENCES [ЛИТЕРАТУРА]

1. Butov Yu.S., Moshnina Z.I., Kyagova A.A., Potapenko A.Ya. Treatment of atopic contact dermatitis method PUVA therapy with amifurin. Russian Journal of Skin and Sexually Transmitted Diseases (Lechenie atopicheskogo kontaktnogo dermatita metodom PUVA-terapii s amifurinom. Rossijskij zhurnal kozhnyh i venericheskikh boleznej). 2007; 3: 22—5. (in Russian)
[Бутов Ю.С., Мошина З.И., Кягова А.А. Потапенко А.Я. Лечение atopического контактного дерматита методом PUVA-терапии с амифурином. Российский журнал кожных и венерических болезней]. 2007; 3: 22—5.
2. Hearn R., Kerr A., Rahim K., Ferguson J., Dawe R. Incidence of skin cancers in 3867 patients treated with narrow-band ultraviolet B phototherapy. Br. J. Dermatol. 2008; 159(4): 931—5.
3. Kyagova A.A., Malakhov M.V., Potapenko A.Ya. Immunosuppression caused by photochemo-and photodynamic therapy: focus on photosensitizer photoproducts. In: Taylor C.B., ed. Immunosuppression: new research. Nova Science Publishers; 2009: 167—83.

4. Potapenko A.Ya., Malahov M.V., Kyagova A.A. Fotobiofizika furokumarinov: psoralenov. (Fotobiofizika furokumarinov: psoralenov). Biophysika. 2004; 2: 322—38. (in Russian)
[Потапенко А.Я., Малахов М.В., Кягова А.А. Фотобioфизика фурукумаринов (псораленов). Биофизика]. 2004; 2: 322—38.
5. Potapenko A.Ya., Kyagova A.A. Biophysical problems of fotomedical in dermatology. In: Butov Yu.S., Skripkin Yu.K., Ivanov O.L. Kryzhanovsky, eds. Dermatovenerology. National guide (Biofizicheskie problemy fotomeditsiny v dermatologii. V kn.: Butov Ju.S. Skripkin Ju.K., Ivanov O.L., red. Dermatovenerologija. Nacional'noe rekovodstvo). Moscow: GEOTAR-Media; 2011: 111—21. (in Russian)
[Потапенко А.Я., Кягова А.А. Биофизические проблемы фотомедицины в дерматологии. В кн.: Бутов Ю.С. Скрипкин Ю.К., Иванов О.Л., ред. Дерматовенерология. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа]; 2011: 111—21.
6. Shiohara T., Hayakawa J., Mizukawa Y. Animal models for atopic dermatitis: are they relevant to human disease? J. Dermatol. Sci. 2004; 36(1): 1—9.
7. Christensen A.D., Haase C. Immunological mechanisms of contact hypersensitivity in mice. Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. 2011; 120(1): 1—27.
8. Pyatitskiy I.A., Pavlova S.I., Albegova D.Z., Kozir' L.A., Kozlov I.G., Kyagova A.A., Potapenko A.Ya. Mechanisms suppressor actions fotooxidized psoralen on afferent phase of reaction contact sensitivity in mice. Russian Journal of Immunological (Mehanizmy supressornogo dejstvija fotookislennogo psoralena na afferentnoj faze reakcii kontaktnoj chuvstvitel'nosti u myshej. Rossijskij immunologicheskij zhurnal). 2012; 6(15): 139—46. (in Russian)
[Пятницкий И.А., Павлова С.И., Албегова Д.З., Козыр' Л.А., Козлов И.Г., Кягова А.А., Потапенко А.Я. Механизмы супрессорного действия фотоокисленного псоралена на афферентной фазе реакции контактной чувствительности у мышей. Российский иммунологический журнал]. 2012; 6(15): 139—46.
9. Kim Y.K., Kim Y.S., Ryu S.Y. Antiproliferative effect of furanocoumarins from the root of Angelica dahurica on cultured human tumor cell lines. Phytother Res. 2007; 21(3): 288—90.
10. Honda T., Egawa G., Grabbe S., Kabashima K. Update of immune events in the murine contact hypersensitivity model: toward the understanding of allergic contact dermatitis. J. Invest. Dermatol. 2013; 133(2): 303—15.
11. Coimbra S., Oliveira H., Reis F., Belo L., Rocha S., Quintanilha A. et al. Interleukin (IL)-22, IL-17, IL-23, IL-8, vascular endothelial growth factor and tumour necrosis factor-alpha levels in patients with psoriasis before, during and after psoralen-ultraviolet A and narrowband ultraviolet B therapy. Br. J. Dermatol. 2010; 163(6): 1282—90.
12. Caffieri S., Di Lisa F., Bolesani F., Facco M., Semenzato G., Dall'Acqua F., Canton M. The mitochondrial effects of novel apoptogenic molecules generated by psoralen photolysis as a crucial mechanism in PUVA therapy. Blood. 2007; 109(11): 4988—94.
13. Vocanson M., Hennino A., Rozières A., Poyet G., Nicolas J. Effector and regulatory mechanisms in allergic contact dermatitis. Allergy. 2009; 64(12): 1699—714.
14. Gaffen S.L. Recent advances in the IL-17 cytokine family. Curr. Opin. Immunol. 2011; 23(5): 613—9.
15. Fang F., Tang Y., Gao Z., Xu Q. A novel regulatory mechanism of naringenin through inhibition of T lymphocyte function in contact hypersensitivity suppression. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2010; 397(2): 163—9.

Поступила 26.05.13