

ВЛИЯНИЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО БИОФЛАВОНОИДА НА ЛИМФОЦИТЫ-ЭФФЕКТОРЫ РЕАКЦИИ КОНТАКТНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ У МЫШЕЙ

Албегова Д.З.¹, Павлова С.И.^{2,3}, Лаптев О.С.², Негребецкий В.В.¹,
Кягова А.А.¹, Козырь Л.А.¹, Албегова Ж.К.⁴, Козлов И.Г.^{1,2}

¹ ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

² ФГУ «ФНКЦ Детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева», Москва, Россия

³ ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, Россия

⁴ ГБОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения
РФ, г. Владикавказ, Республика Северная Осетия, Россия

Резюме. Реакция контактной чувствительности мышей (КЧ) к 2,4-динитрофторбензолу (ДНФБ) является моделью иммунного ответа *in vivo*, воспроизводящей заболевание контактный дерматит у человека. Считается, что иммунный ответ при развитии КЧ опосредуется преимущественно Т-лимфоцитами, поскольку эти клетки могут адоптивно переносить реакцию от сенсибилизированного экспериментального животного несенсибилизированному. КЧ проявляются в виде воспаления (обычно кожи) в месте повторного попадания антигена. В иммунопатогенезе КЧ выделяют две фазы: сенсибилизации (индуктивная, или афферентная фазы) и проявления иммунного воспаления (эфферентная фаза). Фаза сенсибилизации КЧ начинается после первичного контакта организма с антигеном, продолжительность которой у человека составляет 10-15 дней, у мыши — 5-7 дней. Фаза проявления КЧ (эффektorная) начинается при повторном контакте гаптена с организмом (накожная аппликация, либо внутри- или подкожные инъекции антигена). Повторное попадание сенсибилизирующего вещества в клетки кожи приводит к его узнаванию и запуску механизмов, приводящих к возникновению очага иммунного воспаления с участием ДНФБ-специфических эфektorных Т-лимфоцитов. Реакции достигают пика через 18-48 часов повторного контакта с гаптенем. В литературе очень мало сведений, касающихся влияния флавоноидов на течение КЧ, среди которых встречаются как стимулирующие, так и ингибиторные эффекты. Флавоноиды преимущественно обладали супрессивным эффектом в отношении развития КЧ. В нашей лаборатории модель контактной чувствительности воспроизводилась на мышах линии СВА, путем накожной сенсибилизации 2,4-динитрофторбензолом. Целью исследования стало выявление механизмов иммуномодулирующего дей-

Адрес для переписки:

Албегова Диана Заурбековна
ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский
медицинский университет им. Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения РФ
117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, 1.
Тел.: 8 (495) 434-44-92.
E-mail: bigbeaver-90@mail.ru

Address for correspondence:

Albegova Diana Z.
Russian National N.I. Pirogov Research Medical University
117997, Russian Federation, Moscow, Ostrovitjanova str., 1.
Phone: 7 (495) 434-44-92.
E-mail: bigbeaver-90@mail.ru

Образец цитирования:

Д.З. Албегова, С.И. Павлова, О.С. Лаптев, В.В. Негребецкий,
А.А. Кягова, Л.А. Козырь, Ж.К. Албегова, И.Г. Козлов,
«Влияние модифицированного биофлавоноида на лимфоциты-
эффektorы реакции контактной чувствительности
у мышей» // Медицинская иммунология, 2015. Т. 17, № 4.
С. 367-374. doi: 10.15789/1563-0625-2015-4-367-374

© Албегова Д.З. и соавт., 2015

For citation:

D.Z. Albegova, S.I. Pavlova, O.S. Laptev, V.V. Negrebetsky,
A.A. Kyagova, L.A. Kozyr, J.K. Albegova, I.G. Kozlov, "Influence
of modified bioflavonoids upon effector lymphocytes in murine
model of contact sensitivity", Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya, 2015, Vol. 17, no. 3, pp. 367-374.
doi: 10.15789/1563-0625-2015-4-367-374

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2015-4-367-374>

ствия кверцетина дигидрата и модифицированного биофлавоноида, используя метод адоптивного переноса контактной чувствительности спленоцитами и Т-лимфоцитами. Как показали проведенные исследования, 30-минутная обработка спленоцитов и Т-лимфоцитов сенсibilизированных мышей модифицированным биофлавоноидом перед их переносом полностью отменяла развитие контактной чувствительности у сингенных мышей-реципиентов, при этом данный эффект не был связан с гибелью клеток вследствие индукции их апоптоза или цитотоксичности. Кверцетина дигидрат только частично супрессирует активность адаптивно сформированных Т-лимфоцитов-эффекторов контактной чувствительности.

Было показано, что модифицированный биофлавоноид в значительной степени сильнее подавляет адоптивный перенос контактной чувствительности в сравнении с кверцетина дигидратом, не вызывая апоптоза клеток-эффекторов.

Ключевые слова: флавоноиды, контактная гиперчувствительность, адоптивный перенос, лимфоциты, иммуномодуляция, иммуносупрессия

INFLUENCE OF MODIFIED BIOFLAVONOIDS UPON EFFECTOR LYMPHOCYTES IN MURINE MODEL OF CONTACT SENSITIVITY

Albegova D.Z.^a, Pavlova S.I.^{b,c}, Laptev O.S.^b, Negrebetsky V.V.^a,
Kyagova A.A.^a, Kozyr L.A.^a, Albegova J.K.^d, Kozlov I.G.^{a,b}

^a Russian National N.I. Pirogov Research Medical University, Moscow, Russian Federation

^b Federal D. Rogachev Research and Clinical Center for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

^c Chuvash State University, Cheboksary, Russian Federation

^d North-Ossetian State Medical Academy, Vladikavkaz, Russian Federation

Abstract. Contact sensitivity reaction (CSR) to 2,4-dinitrofluorobenzene (DNFB) in mice is a model of *in vivo* immune response, being an experimental analogue to contact dermatitis in humans. CSR sensitization phase begins after primary contact with antigen, lasting for 10-15 days in humans, and 5-7 days, in mice. Repeated skin exposure to the sensitizing substance leads to its recognition and triggering immune inflammatory mechanisms involving DNFB-specific effector T lymphocytes. The CSR reaches its maximum 18-48 hours after re-exposure to a hapten. There is only scarce information in the literature about effects of flavonoids on CSR, including both stimulatory and inhibitory effects. Flavonoids possessed, predominantly, suppressive effects against the CSR development. In our laboratory, a model of contact sensitivity was reproduced in CBA mice by means of cutaneous sensitization by 2,4-dinitrofluorobenzene. The aim of the study was to identify the mechanisms of immunomodulatory action of quercetin dihydrate and modified bioflavonoids, using the method of adoptive transfer contact sensitivity by splenocytes and T-lymphocytes. As shown in our studies, a 30-min pre-treatment of splenocytes and T-lymphocytes from sensitized mice with modified bioflavonoids before the cell transfer caused complete prevention of contact sensitivity reaction in syngeneic recipient mice. Meanwhile, this effect was not associated with cell death induction due to apoptosis or cytotoxicity. Quercetin dihydrate caused only partially suppression the activity of adaptively formed T-lymphocytes, the contact sensitivity effectors.

It was shown that the modified bioflavonoid more stronger suppress adoptive transfer of contact sensitivity in comparison with quercetin dehydrate, without inducing apoptosis of effector cells.

Thus, the modified bioflavonoid is a promising compound for further studies in a model of contact sensitivity, due to its higher ability to suppress transfer of CSR with T-lymphocytes, as compared to quercetin dihydrate.

Keywords: flavonoids, contact hypersensitivity, adoptive transfer, lymphocytes, immunomodulation, immunosuppression

Флавоноиды представляют собой одно из самых структурно разнообразных (более 4000 индивидуальных представителей) семейств вторичных метаболитов растительной клетки полифенольной структуры. На сегодняшний день они рассматриваются как активные продукты метаболизма растений, играющие важную роль в процессах фотосинтеза, дыхания, формировании устойчивости к инфекционным агентам. Согласно результатам многочисленных современных исследований, можно утверждать, что эти природные соединения обладают широким диапазоном биологических активностей, проявляя противовоспалительные, иммуностимулирующие, антиканцерогенные, противоопухолевые и многие другие свойства [2, 7]. Данные эффекты могут реализовываться благодаря тому, что флавоноиды влияют на фосфорилирование ключевых молекул сигнальных путей в клетках, ингибируя активность протеинтирозинкиназ [3]. В связи с этим мы предположили, что флавоноиды могут стать новым источником для изыскания лекарственных препаратов с иммуномодулирующей активностью.

В нашей лаборатории были проведены исследования с использованием модели контактной чувствительности (КЧ), индуцированной 2,4-динитрофторбензолом (ДНФБ) у мышей, где кверцетин дигидрат (КД) и модифицированный биофлавоноид (МБФ) с различной эффективностью подавляли развитие реакции КЧ. Ингибирование КЧ зависело от пути введения исследуемых агентов животным и максимально проявлялось при внутривенном введении [4]. В дальнейшем в этой же модели были предприняты попытки выяснения механизмов действия кверцетина дигидрата (КД) и модифицированного биофлавоноида (МБФ). С учетом многоэтапности реализации патогенеза реакции КЧ очевидно, что механизмы ограничения развития данной реакции под действием тех или иных иммуномодулирующих агентов могут быть многообразны. Целью данной работы являлось исследование возможного влияния изучаемых веществ на функциональную активность зрелых иммунокомпетентных клеток, участвующих в реализации КЧ. Для этого был использован метод адоптивного переноса, в основе которого лежит индукция КЧ при введении несенсибилизированному животному зрелых Т-лимфоцитов-эффекторов от сенсибилизированного сингенного донора.

Материалы и методы

Препараты

В опытах использован полученный экспериментальным путем модифицированный биофлавоноид, а также препарат сравнения – кверцетин дигидрат.

В клеточную суспензию вносили раствор КД или МБФ в этаноле (рабочая концентрация 5×10^{-8} моль/мл) так, чтобы финальная концентрация этанола не превышала 1%. В качестве контроля использовали соответствующие объемы растворителя. Во всех экспериментах после 30-минутной инкубации (37 °С, 5% CO₂) с препаратами клетки отмывали от тестируемых агентов и медленно вводили внутривенно мышам в объеме 0,5 мл раствора Хенкса с 10 мМ HEPES-буфера.

Лабораторные животные

В экспериментах были использованы мыши линии СВА (Н-2^к) (самцы весом 18-20 г, возраст 8-10 недель), полученные из питомника РАМН (Крюково, Московская область). Животные содержались на стандартном пищевом рационе вивария при свободном доступе к воде и пище.

Модель КЧ

Инициацию реакции КЧ к ДНФБ у мышей проводили согласно общепринятому экспериментальному подходу с незначительными модификациями [6]. Животных сенсибилизировали путем аппликации на выбритую кожу брюшка 50 мкл 0,3% раствора ДНФБ в ацетоне на 0 день. Через 6 суток после сенсибилизации на внутреннюю поверхность правого уха наносили разрешающую дозу ДНФБ (5 мкл 0,2%). На левое ухо наносили 5 мкл растворителя (ацетона). Отрицательным контролем (К⁻) служила группа интактных (несенсибилизированных) мышей, получивших только аппликацию разрешающей дозы ДНФБ. Через 24 часа после повторного нанесения ДНФБ оценивали интенсивность реакции КЧ по разнице отека правого и левого ушей (специфическое локальное воспаление). Толщину ушей измеряли в миллиметрах специальным микрометром, снабженным световым сигналом (Россия).

Адоптивный перенос КЧ

У сенсибилизированных ДНФБ мышей-доноров через 6 суток после сенсибилизации вы-

деляли клетки селезенки. Суспензию спленоцитов (3×10^7 кл/мышь, 0,5 мл) или их отдельную популяцию ($CD3^+$), выделенную из того же количества клеток селезенки, медленно внутривенно вводили в хвостовую вену интактным мышам-реципиентам. В опытной группе клетки инкубировали с КД или МБФ в течение 30 мин. при 37°C и $5\% \text{CO}_2$, в контрольной – с соответствующим объемом растворителя. Через 1 час после переноса клеточной суспензии мышам-реципиентам, включая интактных мышей (K^- , отрицательный контроль), наносили разрешающую дозу ДНФБ на внутреннюю поверхность уха. На внутреннюю поверхность другого уха в качестве контроля наносили такой же объем ацетона. Еще через 24 часа регистрировали интенсивность реакции КЧ мышей-реципиентов вышеописанным методом.

Иммуномагнитная сепарация

Для получения $CD3^+$ популяции спленоцитов использовали метод негативной селекции и набор реактивов Dynal Mouse Negative Isolation Kit (Invitrogen Dynal AS, Норвегия). Фракции клеток, не относящихся к интересующей популяции, удаляли, обрабатывая спленоциты кок-

тейлем моноклональных антител (IgG высокоспецифичные к поверхностным популяционным маркерам) и связывающими их парамагнитными полимерными микрочастицами Dynalbeads. Сепарацию проводили в магнитном поле штатива DynalMag-2 (Invitrogen Dynal AS, Норвегия). Очищенную популяцию, не прикрепившуюся к полимерным микрочастицам (в составе супернатанта), отмывали и после подсчета использовали для обработки исследуемыми агентами *in vitro*, а затем вводили внутривенно экспериментальным животным.

Контроль чистоты популяции осуществляли методом проточной цитометрии на цитофлуориметре Cytomics FC500 (Beckman-Coulter, США) с использованием флюорохром-меченых моноклональных антител к $CD3$ антигенам мышей (Invitrogen, США).

Оценка жизнеспособности и «раннего» апоптоза

Количественные исследования жизнеспособности и апоптоза клеток при воздействии изучаемого агента проводили методом проточной цитофлуориметрии, используя Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit (Beckman Coulter,

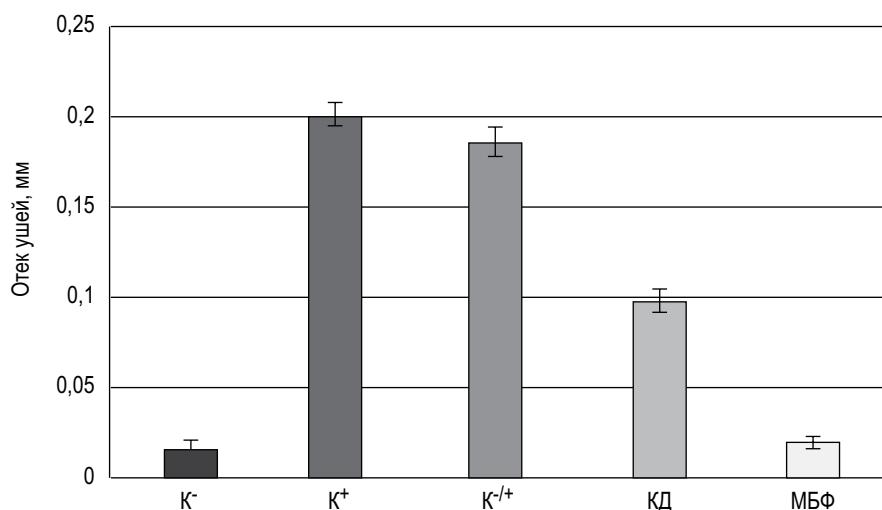


Рисунок 1. Интенсивность реакции при адоптивном переносе КЧ спленоцитами сенсibilизированных мышей-доноров интактным мышам-реципиентам

Примечание. (K^-) – отрицательный контроль; (K^+) – положительный контроль без адоптивного переноса; ($K^{-/+}$) – адоптивный перенос КЧ спленоцитами (3×10^7 /мышь); (КД) – адоптивный перенос спленоцитов, инкубированных с КД; (МБФ) – адоптивный перенос спленоцитов, инкубированных с МБФ.

США). Для анализа использовали аликвоты, содержащие 10^6 клеток.

Статистическая обработка

Для статистического анализа результатов использовалась программа Excel для Windows XP. Все результаты выражались как значения среднего \pm стандартное отклонение. Полученные в ходе экспериментов данные распределялись по нормальному закону, поэтому для оценки достоверности различий применяли критерий Стьюдента, вычисляя коэффициент достоверности. Различие средних показателей считалось достоверным, если величина коэффициента достоверности соответствовала уровню значимости $P < 0,05$.

Результаты

Нами был использован метод адоптивного переноса реакции контактной чувствительности сингенным животным для изучения прямого влияния КД и МБФ на спленоциты мышей, а также на Т-лимфоциты, выделенные из суспензии спленоцитов с помощью иммуномагнитной сепарации.

Результаты экспериментов по адоптивному переносу КЧ спленоцитами сенсibilизированных мышей-доноров интактным мышам-реципиентам представлены на рисунке 1.

Как демонстрирует гистограмма, в группе К- аппликация разрешающей дозы ДНФБ не вызывала развития реакции КЧ: разница толщины ушей составляла $0,016 \pm 0,006$ мм. Напротив, перенос спленоцитов от сенсibilизированных ДНФБ доноров интактным мышам-реципиентам приводил к сенсibilизации, что проявлялось в развитии у последних КЧ уже при первичной аппликации ДНФБ на ухо. У мышей данной группы отек составил $0,186 \pm 0,008$ мм, что было сравнимо с интенсивностью КЧ в группе положительного контроля (K^+) без адоптивного переноса ($0,2 \pm 0,005$ мм). Однако в том случае, когда спленоциты предварительно (до введения мышам-реципиентам) инкубировали в течение 30 мин с МБФ, адоптивный перенос КЧ не наблюдался. Отек уха в этой группе мышей составлял в среднем $0,015 \pm 0,003$ мм, что достоверно не различалось с таковыми значениями в группе отрицательного контроля ($0,016 \pm 0,006$ мм), и было на 92% ($p < 0,05$) ниже в сравнении с группой $K^{-/+}$ (адоптивный перенос КЧ

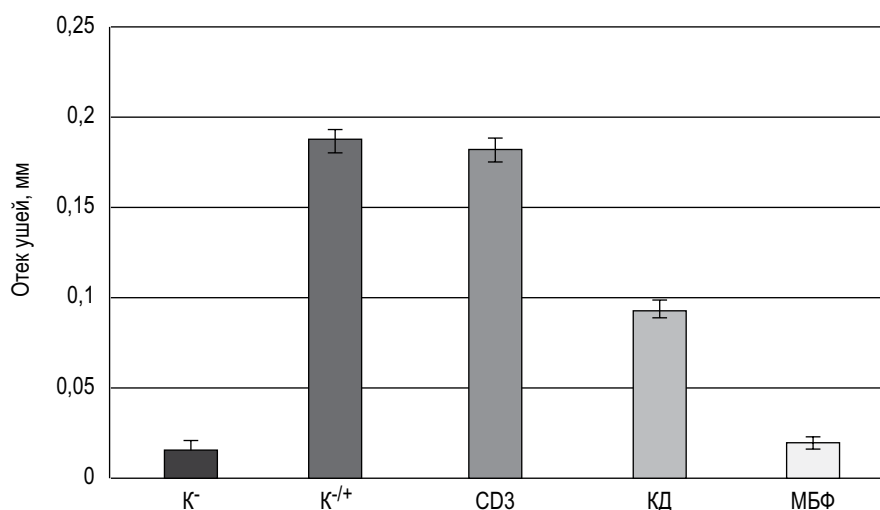


Рисунок 3. Интенсивность реакции при адоптивном переносе КЧ популяцией спленоцитов сенсibilизированных мышей-доноров интактным мышам-реципиентам

Примечание. (К-) – отрицательный контроль, ($K^{-/+}$) – адоптивный перенос КЧ спленоцитами, (CD3) – адоптивный перенос КЧ Т-лимфоцитами, (КД) – адоптивный перенос Т-лимфоцитов, инкубированных с КД, (МБФ) – адоптивный перенос Т-лимфоцитов, инкубированных с МБФ.

спленоцитами). В то время как преинкубация спленоцитов с КД, с последующим введением мышам-реципиентам, не отменяла адоптивно-го переноса КЧ. Отек уха в этой группе мышей составлял в среднем $0,098 \pm 0,006$ мм, что было ниже на 47% в сравнении с группой К^{-/+}.

Для оценки апоптогенного эффекта КД и МБФ, спленоциты инкубировали 0,5; 2; 6; 12 ч в их присутствии, затем окрашивали аннексин-ФИТЦ и пропидий йодидом. Ни в одной из проб не наблюдали повышения доли аннексин-положительных клеток при инкубации с исследуемыми агентами в сравнении с контрольными образцами (рис. 2, см. 3-ю обложку).

Следующим экспериментальным шагом стала иммуномагнитная сепарация Т-лимфоцитов из суспензии спленоцитов мышей, сенсibilизированных ДНФБ, с целью их адоптивного переноса интактным мышам.

Контроль чистоты выделенной популяции осуществляли методом проточной цитометрии с использованием флюорохром-меченых моноклональных антител к поверхностным маркерам мышинных лимфоцитов. При проведении цитометрического контроля чистота популяции составляла $93,0 \pm 1,0\%$.

Результаты экспериментов по изучению влияния КД и МБФ на адоптивный перенос КЧ Т-лимфоцитами представлены на рисунке 3. Как и предполагалось, Т-лимфоциты сенсibilизированных мышей эффективно переносили КЧ несенсibilизированным реципиентам. Выраженность реакции ($0,181 \pm 0,007$ мм) статистически не отличалась от группы с адоптивным переносом суммарной клеточной фракции спленоцитов ($0,186 \pm 0,008$ мм). Инкубация *in vitro* сепарированных Т-лимфоцитов с МБФ заблокировала способность этих клеток адоптивно переносить КЧ интактным мышам. Отек уха составил $0,016 \pm 0,004$ мм, что практически совпадало с аналогичным показателем в группе отрицательного контроля и было на 91,2% ($p < 0,05$) ниже в сравнении с группой Т-лимфоциты. По всей вероятности, МБФ супрессировал активность адаптивно сформированных Т-лимфоцитов-эффекторов КЧ.

Преинкубация *in vitro* сепарированных Т-лимфоцитов с КД полностью не отменяла

адоптивного переноса КЧ интактным мышам. Отек уха составил $0,092 \pm 0,005$ мм, что было на 50,5% ($p < 0,05$) ниже в сравнении с группой Т-лимфоциты. По всей вероятности, КД только частично супрессировал активность адоптивно сформированных Т-лимфоцитов-эффекторов КЧ.

Таким образом, в результате проведенного исследования можно сделать заключения:

1. Эксплантированные на 6 сутки спленоциты ДНФБ-сенсibilизированных мышей способны адоптивно переносить КЧ интактным мышам-реципиентам.

2. Инкубация с МБФ (5×10^{-8} моль/мл) *in vitro* эксплантированных на 6 сутки спленоцитов ДНФБ-сенсibilизированных мышей отменяет адоптивный перенос КЧ сингенным мышам-реципиентам. В свою очередь использование КД полностью не отменяло адоптивного переноса КЧ. Эффекты МБФ и КД не связаны с гибелью клеток.

3. Т-лимфоциты, выделенные из эксплантированных на 6 сутки спленоцитов ДНФБ-сенсibilизированных мышей, способны адоптивно переносить КЧ сингенным интактным мышам-реципиентам.

4. Инкубация с МБФ (5×10^{-8} моль/мл) *in vitro* сепарированных Т-лимфоцитов ингибирует адоптивный перенос КЧ сингенным мышам-реципиентам, тогда как КД только частично супрессировал активность адаптивно сформированных Т-лимфоцитов-эффекторов КЧ.

Обсуждение

Используя методику адоптивного переноса КЧ, было изучено прямое влияние КД и МБФ на суммарную фракцию спленоцитов мышей, полученную спустя 6 суток после сенсibilизации ДНФБ, а также на Т-лимфоциты, выделенные из суспензии этих спленоцитов с помощью иммуномагнитной сепарации.

В контрольной группе реакция КЧ достоверно переносилась спленоцитами ДНФБ-сенсibilизированных мышей-доноров сингенным интактным мышам-реципиентам при внутривенном введении их в количестве свыше 2×10^7 клеток в расчете на 1 мышшь. При адоптив-

ном переносе 10^8 спленоцитов/мышь развивался отек уха такой же выраженности, как в группе мышей K^+ (инициация КЧ и ее разрешение в одном и том же животном). В том случае, когда переносили меньшее количество спленоцитов, наблюдалась незначительная тенденция к снижению интенсивности реакции. Исходя из этих предварительных результатов, в данной работе для адоптивного переноса КЧ использовали 3×10^7 клеток в расчете на 1 мышь. Сепарация и перенос Т-лимфоцитов проводились из такого же количества спленоцитов.

Как показали проведенные исследования, 30-минутная обработка спленоцитов сенсibilизированных мышей МБФ перед их переносом полностью отменяла развитие КЧ у сингенных мышей-реципиентов, при этом данный эффект не был связан с гибелью клеток вследствие индукции их апоптоза или цитотоксичности.

Представленные в литературе сведения, касающиеся фенотипа клеток, являющихся эффекторами КЧ, противоречивы. Предполагается, что фенотип индуцированных клеток-эффекторов КЧ зависит, прежде всего, от вида гаптена,

а также от генетических особенностей сенсibilизированного организма. Тем не менее, большинство исследований показывают, что сенсibilизация мышей ДНФБ приводит к генерации клеток-эффекторов КЧ, имеющих фенотип $CD8^+$ [1, 5].

Как и следовало ожидать исходя из данных литературы, в контрольной группе реакция КЧ эффективно переносилась также отдельно Т-лимфоцитами, поэтому нашей дальнейшей целью является выделение субпопуляций $CD8^+$ и $CD4^+$ из суспензии спленоцитов сенсibilизированных мышей и исследование их способности в достаточной степени переносить КЧ.

Прямое воздействие МБФ на Т-лимфоциты сенсibilизированных мышей, подобно обработке всех спленоцитов, полностью блокировало адоптивный перенос КЧ.

Таким образом, в результате проведенного исследования и сравнения двух препаратов показано, что иммуномодулирующие эффекты МБФ в большей мере, чем КД реализуются на эффекторной стадии развития реакции КЧ.

Список литературы / References

1. Албегова Д.З., Козырь Л.А., Кягова А.А., Негребецкий В.В. Павлова С.И. Модифицированный биофлавоноид супрессирует реакцию контактной гиперчувствительности у мышей // Российский иммунологический журнал, 2014. Т. 8, № 2 (1). С. 11-14. [Albegova D.Z., Kozyr L.A., Kyagova A.A., Negrebetsky V.V., Pavlova S.I. Modified bioflavanoid suppress contact hypersensitivity in mice. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2014, Vol. 8, no. 2 (1), pp. 11-14. (In Russ.)]
2. Akiyama T., Fukami Y., Ishida J., Itoh N., Nakagawa S., Ogawara H., Shibuya M., Watanabe S. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J. Biol. Chem.*, 1987, Vol. 262, pp. 5592-5595.
3. Dagne A., Kassie F., Luo X., Melkamu T., Qian X., Schutten M.M., Upadhyaya P. Enhanced inhibition of lung adenocarcinoma by combinatorial treatment with indole-3-carbinol and silibinin in A/J mice. *Carcinogenesis*. 2011, Vol. 32, no. 4, pp. 561-567.
4. Fisher G.J., Fonseca M.J., He T., Shao Y., Verri W.A. Jr., Vicentini F.T., Xu Y. Quercetin inhibits UV irradiation-induced inflammatory cytokine production in primary human keratinocytes by suppressing NF- κ B pathway. *J. Dermatol. Sci.* 2011, Vol. 61, no. 3, pp. 162-168.
5. Kim T.Y., Kripke M.L., Ullrich S.E. Immunosuppression by factors released from UV-irradiated epidermal cells: selective effects on the generation of contact and delayed hypersensitivity after exposure to UVA or UVB radiation. *J. Invest. Dermatol.*, 1990, Vol. 94, pp. 26-32.

6. Gaspari A.A., Gober M.D. Allergic contact dermatitis. *Curr. Dir. Autoimmun*, 2008, Vol. 10, pp. 1-26.

7. Assossou O., Desvignes C., Ducluzeau M.T., Hahne M., Horand F., Kägi D., Kaiserlian D., Kehren J., Krasteva M., Nicolas J.F. Cytotoxicity is mandatory for CD8(+) T cell-mediated contact hypersensitivity. *J. Exp. Med.*, 1999, Vol. 189, no. 5, pp. 779-786.

Авторы:

Албегова Д.З. — к.м.н., доцент кафедры фармакологии ПФ, ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Павлова С.И. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой фармакологии, клинической фармакологии и биохимии МФ, ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, Россия

Лаптев О.С. — аспирант лаборатории экспериментальной и клинической фармакологии, ФГУ «ФНКЦ Детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева»; ассистент кафедры организации фармацевтической деятельности, ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Негребецкий В.В. — д.х.н., профессор, заведующий кафедрой химии ЛФ, ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Кязова А.А. — д.м.н., профессор, ученый секретарь кафедры физики и математики ПФ, ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Козыр Л.А. — к.б.н., доцент, заведующая учебной частью кафедры физики и математики ПФ, ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Албегова Ж.К. — д.м.н., доцент, профессор кафедры нормальной физиологии, ГБОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Владикавказ, Республика Северная Осетия, Россия

Козлов И.Г. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой фармакологии ПФ, ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Albegova D.Z., PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Pharmacology, Russian National N.I. Pirogov Research Medical University, Russian Ministry of Healthcare, Moscow, Russian Federation

Pavlova S.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Biochemistry, I.N. Uljanov Chuvash State University, Cheboksary, Russian Federation

Laptev O.S., Research Student, Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Federal D. Rogachev Research & Clinical Center for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology; Assistant Professor, Department of Pharmaceutical Management, Russian National N.I. Pirogov Research Medical University, Russian Ministry of Healthcare, Moscow, Russian Federation

Negrebetsky V.V., PhD, MD (Chemistry), Professor, Head, Department of Chemistry, Russian National N.I. Pirogov Research Medical University, Russian Ministry of Healthcare, Moscow, Russian Federation

Kyagova A.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Physics and Mathematics, Russian National N.I. Pirogov Research Medical University, Russian Ministry of Healthcare, Moscow, Russian Federation

Kozyr L.A., PhD (Biology), Assistant Professor, Department of Physics and Mathematics, Russian National N.I. Pirogov Research Medical University, Russian Ministry of Healthcare, Moscow, Russian Federation

Albegova J.K., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Department of Normal Physiology, North-Ossetian State Medical Academy, Vladikavkaz, Russian Federation

Kozlov I.G., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Pharmacology, Russian National N.I. Pirogov Research Medical University, Russian Ministry of Healthcare, Moscow, Russian Federation

Поступила 24.03.2015

Отправлена на доработку 29.04.2015

Принята к печати 06.07.2015

Received 24.03.2015

Revision received 29.04.2015

Accepted 06.07.2015