

УДК 611-013.395:615.276:57.085
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-1-28-34>

Изучение противовоспалительной и иммуностропной активности секрета мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, индуцированных эритропоэтином, вальпроевой кислотой или дексаметазоном *in vitro*

Голубинская П.А.^{1,2}, Пузанов М.В.², Сарычева М.В.¹, Бурда С.Ю.¹, Надеждин С.В.¹,
Корокин М.В.¹, Бурда Ю.Е.^{1,2}

¹ Белгородский государственный национальный исследовательский университет (НИУ «БелГУ») 308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85

² ООО «Центр клеточных технологий Бирюч» (ООО «ЦКТ Бирюч») 309927, Россия, Белгородская обл., с. Малобыково, ул. Белая Вежа, 1

РЕЗЮМЕ

Цель. Исследовать влияние обработки вальпроевой кислотой, эритропоэтином и дексаметазоном на противовоспалительную и иммуносупрессивную активность секрета мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) жировой ткани в эксперименте *in vitro*.

Материалы и методы. ММСК выделяли из жира шести здоровых доноров. Клетки растили в культуре до четвертого пассажа, затем обрабатывали вальпроевой кислотой, эритропоэтином или дексаметазоном в течение 3 ч, отмывали от препаратов и инкубировали в бессывороточной среде в течение 48 ч. Часть клеток не обрабатывали препаратами. Супернатанты от культур клеток сконцентрировали ультрафильтрацией, стандартизировали по содержанию белка с помощью нанофотометра, стерилизовали и добавляли к мононуклеарам из периферической крови восьми здоровых доноров. Мононуклеары выделяли в градиенте плотности фиколла по стандартному протоколу. Концентрации цитокинов фактора некроза опухоли альфа (TNF α), интерлейкина (IL) 2, IL-4, IL-6, IL-10, интерферона гамма (IFN γ) в суточных культурах и IL-9, IL-10, IL-17A, IL-21 в 48-часовых культурах определяли с помощью мультиплексного анализа.

Результаты. Продукция IL-2, IL-6, TNF α , IL-10 снижается под действием секрета от обработанных вальпроевой кислотой ММСК. Продукция IL-2, IL-6, TNF α уменьшается при инкубации мононуклеаров с секретом клеток, обработанных эритропоэтином. Секретом обработанных дексаметазоном ММСК подавляет продукцию IFN γ , IL-1 β , IL-1 α , IL-2, IL-6, IL-9, IL-10, IL-17A. Статистически значимых различий по изменению продукции IL-4, IL-5, IL-9, IL-21 не выявлено.

Заключение. Среди изученных индукторов дексаметазон показал себя более активным в усилении противовоспалительной и иммуносупрессивной активности ММСК, выраженной через влияние их супернатантов на мононуклеары периферической крови.

Ключевые слова: мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, вальпроевая кислота, эритропоэтин, дексаметазон, цитокины, воспаление

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют о финансировании со стороны ООО «Инновационный центр «Бирюч – новые технологии», ООО «Центр клеточных технологий Бирюч» и программы «У.М.Н.И.К.».

Соответствие принципам этики. Все участники исследования подписали информированное согласие. Исследование одобрено этическим комитетом Белгородского государственного национального исследовательского университета (протокол № 1 от 24.01.2020).

✉ Голубинская Полина Александровна, polinapigeon@gmail.com

Для цитирования: Голубинская П.А., Пузанов М.В., Сарычева М.В., Бурда С.Ю., Надеждин С.В., Корокин М.В., Бурда Ю.Е. Изучение противовоспалительной и иммуотропной активности секретом мультитипотентных мезенхимальных стромальных клеток, индуцированных эритропоэтином, вальпроевой кислотой или дексаметазоном *in vitro*. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(1):28–34. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-1-28-34>.

Study of the anti-inflammatory and immunotropic activity of the secretome from multipotent mesenchymal stromal cells induced by erythropoietin, valproic acid or dexamethasone *in vitro*

Golubinskaya P.A.^{1,2}, Puzanov M.V.², Sarycheva M.V.¹, Burda S.Yu.¹, Nadezhdin S.V.¹, Korokin M.V.¹, Burda Yu.E.^{1,2}

¹ Belgorod State National Research University (NRU BelSU)
85, Pobedy Str., Belgorod, 308015, Russian Federation

² Biruch Center of Cell Technologies LLC
1, Belaya Vezha Str., Malobykovo village, Belgorod region, 309927, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of treatment with valproic acid, erythropoietin, and dexamethasone on the anti-inflammatory and immunosuppressive activity of the secretome of adipose-derived multipotent mesenchymal stromal cells (MMSCs) in an *in vitro* experiment.

Materials and methods. MMSCs were isolated from the fat of 6 healthy donors. The cells were grown in the culture up to passage 4. Then they were treated with valproic acid, erythropoietin or dexamethasone for 3 hours, washed from preparations, and incubated in a serum-free medium for 48 hours. Some of the cells were not treated with preparations. Supernatants from the cell cultures were concentrated by ultrafiltration, and protein standardization was performed using a nanophotometer. Then the supernatants were sterilized and added to mononuclear cells from peripheral blood of 8 healthy donors. The mononuclear cells were isolated by Ficol density gradient centrifugation according to the standard protocol. Concentrations of TNF α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, and IFN γ cytokines in 24-hour cultures and IL-9, IL-10, IL-17A, and IL-21 cytokines in 48-hour cultures were determined using multiplex analysis.

Results. The production of IL-2, IL-6, TNF α , and IL-10 was reduced by the secretome of MMSCs treated with valproic acid. The production of IL-2, IL-6, and TNF α decreased during incubation of the mononuclear cells with the secretome of MMSCs treated with erythropoietin. The secretome of dexamethasone-treated MMSCs suppressed the production of IFN γ , IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-6, IL-9, IL-10, and IL-17A. No statistically significant differences were revealed in the production of IL-4, IL-5, IL-9, and IL-21.

Conclusion. Among the studied inducers, dexamethasone enhanced the anti-inflammatory and immunosuppressive activity of MMSCs the most, which was manifested through the effect of their supernatants on peripheral blood mononuclear cells.

Keywords: multipotent mesenchymal stromal cells, valproic acid, erythropoietin, dexamethasone, cytokines, inflammation

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors declare funding from the Innovation Center “Biruch – New Technologies” LLC, Biruch Cell Technology Center LLC and the UMNIK program.

Conformity with the principles of ethics. All study participants signed an informed consent. The study was approved by the Ethics Committee at the Belgorod State National Research University (Protocol No. 1 of 24.01.2020).

For citation: Golubinskaya P.A., Puzanov M.V., Sarycheva M.V., Burda S.Yu., Nadezhdin S.V., Korokin M.V., Burda Yu.E. Study of the anti-inflammatory and immunotropic activity of the secretome from multipotent mesenchymal stromal cells induced by erythropoietin, valproic acid or dexamethasone *in vitro*. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(1):28–34. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-1-28-34>.

ВВЕДЕНИЕ

Противовоспалительная активность мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) подтверждена многочисленными исследованиями. В настоящее время большое внимание уделяется регуляторным эффектам ММСК, которые обусловлены действием биологически активных веществ их секретом. Таким образом, секретом может быть эффективной альтернативой применению стволовых клеток и является хорошей базой для создания инновационных лекарственных препаратов. Однако возможность изменения функциональной активности ММСК, а значит, и состава их секрета под влиянием эритропоэтина (ЭПО), вальпроевой кислоты (ВК) и дексаметазона (ДЕКС) еще не реализована в мире [1]. Есть данные о том, что ЭПО повышает выживаемость ММСК при их совместном введении. Также ЭПО снижает воспалительное микроокружение язв диабетической стопы. Механизм заключается в том, что ингибируется высвобождение клетками провоспалительного цитокина фактора некроза опухоли (TNF α) [2].

Таким образом, ЭПО – потенциальный регулятор функциональной активности клеток, имеющих рецепторы к нему, в том числе стромальных [2], но точные эффекты остаются слабо изученными. Показано, что применение в терапии ВК ингибирует пролиферацию, дифференцировку МСК, выделение провоспалительных цитокинов [3]. При введении липополисахарида (ЛПС) и ВК собакам показано, что ВК снижает продукцию провоспалительных цитокинов. Известно усиление противовоспалительной активности эмбриональных фибробластов под действием ДЕКС [4].

Цель исследования – изучение возможности изменения противовоспалительной и иммуносупрессивной активности секрета ММСК из жировой ткани человека после обработки клеток ВК, ЭПО и ДЕКС *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все лица, вошедшие в исследование, подписали информированное согласие. Исследование одобрено этическим комитетом Белгородского государственного национального исследовательского университета (протокол № 1 от 24.01.2020). МНК из пери-

ферической крови восьми здоровых добровольцев выделяли в градиенте плотности фикола. ММСК выделяли из человеческого жира шести доноров с использованием коллагеназы 2-го типа. ММСК растили в культуре до четвертого пассажа в среде α -MEM с 10%-й фетальной бычьей сывороткой в стандартных условиях газового инкубатора (влажная атмосфера, 5%-й CO₂, 37 °C) Затем клетки рассеивали в культуральные планшеты, обрабатывали 1 МЕ/мл эритропоэтина (Sandoz, Словения), 20 мкг/мл вальпроевой кислоты (Merck, США) или 10 мкмоль/мл дексаметазона (CSPC Ouyi Pharmaceutical, Китай) в течение 3 ч, отмывали клетки от препаратов, инкубировали в бессывороточной среде в течение 48 ч в стандартных условиях.

Часть ММСК не обрабатывали ни одним из фармакологических агентов. Супернатанты от культур ММСК перед добавлением в планшет концентрировали с помощью пробирок Vivaspin 15 R (Sartorius, Германия) с MWCO = 3 кДа, стандартизировали по содержанию общего белка (1 мг/мл) с помощью нанофотометра (Implen, Германия), стерилизовали фильтрацией и добавляли в планшеты к МНК. Для стимуляции МНК добавляли фитогемагглютинин (ПанЭко, Россия) 10 мкг/мл, липополисахарид (Merk, США) 100 нг/мл. Через 24 и 48 ч планшет центрифугировали, отбирали супернатант для исследования концентраций цитокинов. Концентрации цитокинов TNF α , интерлейкина (IL) 2, IL-4, IL-6, IL-10, интерферона гамма (IFN γ) в суточных культурах определяли с помощью наборов Bio-Plex Pro Human Cytokine 8-Plex, Human Ultrasensitive Cytokine Magnetic 10-Plex Panel (Bio-Rad, Invitrogen, США); IL-9, IL-10, IL-17A, IL-21 в 48-часовых культурах – с помощью набора Th9/Th17/Th22 Cytokine 7-Plex Human ProcartaPlex Panel (Invitrogen, США) в соответствии с инструкциями на мультиплексном анализаторе MAGPIX (Luminex, США). В качестве контроля были взяты концентрации цитокинов, продуцируемых стимулированными МНК. Для подтверждения фенотипа ММСК использовали окраску клеток антителами к CD105, CD90, CD73, CD31, CD45, CD34 (BD, Beckman Coulter, США). В качестве изотипического контроля использовали мышинные IgG1, конъюгированные с BV 421 (BD, США). Экспрессию маркеров определяли на проточном ци-

тофлуориметре FACSCanto II с программным обеспечением BD FACSDiva (BD, США).

Статистическая обработка результатов проведена в программе SPSS Statistics 17.0 (IBM, США). Полученные данные проверяли на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро – Уилка. Описательная статистика представлена в виде медианы и интерквартильного размаха $Me [Q_1-Q_3]$. Статистически значимые различия рассчитывали по U -критерию Манна – Уитни и критерию Краскела – Уоллиса, уровень значимости принят $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Секретом от стимулированных ДЕКС ММСК достоверно ($p < 0,05$) снижает продукцию регуляторного цитокина $IFN\gamma$ (таблица). При инкубации МНК с секретом от ММСК, обработанных ЭПО и ВК, не выявлено статистически значимого снижения данного цитокина ($p > 0,05$). Снижение концентрации $IL-2$ под действием ВК, ЭПО, ДЕКС и совместной инкубации с секретом ММСК достоверно во всех случаях, независимо от наличия или отсутствия предварительной обработки ММСК (см. таблицу). Однако наибольший эффект по снижению продукции данного цитокина оказал секретом от обработанных ДЕКС ММСК ($p < 0,05$). Секретом от обработанных ДЕКС ММСК способствовал снижению продукции $IL-4$ и $IL-5$ в 1,3 и 1,6 раза соответственно ($p > 0,05$). Также отмечена тенденция к подавлению продукции $IL-21$ ($p > 0,05$). Продукция провоспалительных цитокинов после инкубации с секретом от ММСК, предварительно обработанных ДЕКС, снизилась: $TNF\alpha$ – в 6,0, $IL-1\beta$ – в 2,5, $IL-6$ – в 1,5, $IL-9$ – в 5,6 и $IL-17A$ – в 3,2 раза (см. таблицу, везде $p < 0,05$).

Попарный анализ выявил различия между снижением $TNF\alpha$, $IL-1\beta$ и $IL-17A$ после применения секрета от ММСК, обработанных ДЕКС, и секретом от нативных ММСК и обработанных ЭПО и ВК ($p < 0,05$). Снижение концентрации $IL-6$ под влиянием всех секретов было статистически значимо ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Однако попарный анализ не выявил отличий между соинкубацией с секретом от обработанных и нативных ММСК. Отмечено снижение продукции противовоспалительных цитокинов $IL-1\alpha$ и $IL-10$ (см. таблицу) после обработки клеток ЭПО и ДЕКС. Особенно выражен этот эффект после воздействия на МНК секрета ММСК обработанных ДЕКС ($p < 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Статистически значимое снижение $IFN\gamma$ наблюдалось при инкубации МНК вместе с секретом от ММСК, обработанных ДЕКС ($p < 0,05$), что со-

гласуется с данными о снижении $IFN\gamma$ глюкокортикоидами и действии ММСК при лечении имихимод-индуцированного псориаза [5]. Продуцируемый $Th1$ -лимфоцитами $IL-2$ снижался при инкубировании вместе с секретом от ММСК, обработанных ДЕКС ($p < 0,05$). Есть противоречивые литературные данные о том, что глюкокортикоиды положительно влияют на продукцию интерлейкинов $IL-4$, $IL-10$ и $IL-13$ $Th2$ -клетками, вызывая сдвиг в сторону гуморального иммунитета без иммуносупрессии. Однако в основной части научных работ показано, что синтез IgE *in vivo* идет на спад [6]. Биологической функцией $IL-21$ является индукция Т-клеточного ответа воспалительного типа, подавление выработки IgE . Показано, что лечение тромбоцитопении высокими дозами ДЕКС приводит к снижению $IL-21$ [7]. Мы выявили лишь тенденцию к снижению продукции $IL-21$ под действием инкубации МНК с секретом от ММСК. Подтверждение этого феномена наряду с выявленной тенденцией к снижению $IL-4$ и $IL-5$ может быть использовано в коррекции IgE -зависимых заболеваний.

$IL-1\beta$ после воздействия секрета от ММСК, обработанных ДЕКС, достоверно снижался. Известно отсутствие значимого влияния ВК на продукцию данного цитокина [8], его умеренное повышение при добавлении ЭПО [9]. $IL-6$ после фармакологической обработки клеток снизился, что согласуется со статьей [8].

Недавние данные подтверждают, что клетки $Th1$, $Th2$ и $Th17$ имеют различную чувствительность к глюкокортикоидам [10, 11]. Показано, что цитокины клеток $Th1$, $Th17$ участвуют в развитии системного склероза [4], а повышенная экспрессия $IL-17A$ наблюдается при развитии псориазического воспаления [5]. Авторами продемонстрировано значимое снижение продукции $IL-1\beta$, $IL-6$, $IL-10$, $IFN\gamma$, TNF и $IL-17A$ путем воздействия *in vitro* ДЕКС на МНК от больных системным склерозом [4]. Возможно, выявленный нами эффект снижения $IL-17A$ после воздействия секрета ММСК, обработанных ДЕКС, может быть использован в терапии системного склероза и псориаза.

Кроме того, выявлена тенденция к снижению $IL-17A$ под действием секрета от обработанных ЭПО ММСК, что потенциально может быть использовано при хронических воспалительных заболеваниях, например при колите [12]. Показано, что индуцированное ДЕКС снижение $TNF\alpha$ было менее выраженным после высоких доз ЛПС, чем после 0,1 нг ЛПС. Напротив, влияние ДЕКС на секрецию $IL-10$ двухфазно: стимуляция при более низких дозах и ингибирование при более высоких дозах ЛПС [13].

Таблица

Клетки	Концентрация цитокинов											
	IFN γ	IL-2	IL-4	IL-5	IL-21	TNF α	IL-1 β	IL-6	IL-9	IL-17A	IL-1ra	IL-10
МНК	3,4 [2,3–4,5]*	159 [150,6– 171,6]*	187 [155,7–229,2]*	70,7 [33,2–120,7]	1,8 [1,8–1,8]*	45,0 [25,2–65,8]	17,4 [12,2–23,6]*	18186,7 [18111,7– 18286,7]	0,1 [0,1–0,3]*	1,6 [0,4–1,6]*	1314,2 [1309– 1319,3]	11,7 [7,4–14,4]
МНК _{с/инк.}	2067,5 [837,6– 2737,7]	1330,4 [1255,4– 1430,4]	445,8 [370,8–545,8]	141,3 [66,3–241,3]	53,3 [52,1–80,6]	3961,2 [3886,2– 4061,2]	9880,1 [8479,8– 13256,2]	22955,0 [22820,7– 23041,2]	45,3 [23,5– 153,7]	308,3 [219,3– 698,4]	3996,5 [2821,7– 4730,5]	6017 [4495,2– 7995,4]
ММСК _{с/инк.}	103,7 [76,1– 122,4]*	75,8 [29,4–84,4]*	98,8 [52,8–127,9]*	34,8 [14,4–47]	23,6 [18,2–24,3]*	40,8 [24,4– 62,3]*	185,1 [64,8– 329,3]*	6271,9 [1147– 7513,4]*	6,4 [5–6,9]*	32,8 [28,1– 39,1]*	13,7 [9,9–44,5]*	22,6 [5,7–73,9]*
ММСК + МНК _{с/инк.}	1567,9 [865–2120,4]	624,3 [616,8– 809,8]*	319,6 [312,1–397,9]	137,9 [129,2–167,4]	37,9 [12,6–75,7]	2254,7 [1638– 2272,5]*	7848,6 [6251– 12121,9]	14703,6 [14380,4– 15615,5]*	33,0 [20–99,7]	335,3 [328,7– 702,8]	4191,7 [3170,8– 4918,3]	5522,9 [4074,3– 8209]
ММСК + ЭПО + МНК _{с/инк.}	1421,2 [1379– 1634,7]	731,8 [720,6– 838,4]*	386,1 [361,8–390,7]	144,7 [143,3–154,7]	36,4 [35,1–49,5]	1985,6 [1895,4– 2297,6]*	7015,0 [6092,2– 7050,6]	14304,2 [14072,9– 15377,4]*	15,3 [8,2–24,3]	243,9 [51,8– 1089,8]	3659 [2561,3– 4317,6]	4618,7 [4125,6– 5603,2]
ММСК + ДЕКС + МНК _{с/инк.}	654,9 [203,5– 2036,6]*	252,5 [248,7– 264,5]*	331 [245,7–350,2]	80,5 [74,3–86,6]	37,4 [10,4–134,2]	657,1 [652,8– 685,8]* \otimes	3970,8 [1034,7– 4806,9]* \otimes	11886,7 [11792,4– 15446,3]*	8,1 [5,5–9,8]*	96,6 [65,5– 261,3 7]* \otimes	1924,4 [1312,1– 2169,3]*	2457,4 [2085,2– 2984]*
ММСК + ВК + МНК _{с/инк.}	1371,8 [1157,3– 1577,2]	756,8 [680,1– 798,4]*	353,8 [352,3–374,7]	158,9 [132,5–174,3]	37 [34,6–74,7]	2389,5 [1897,1– 2449,1]*	6281,3 [6178,3– 6387,6]	14755,9 [12630,9– 14819,1]*	17,0 [11,7–25,7]	400,7 [146,7– 552,3]	4303,5 [3012,5– 078,1]	4235,7 [3710,2– 4764,3]*

* статистическая значимость различия в сравнении с показателем МНК_{с/инк.} ($p < 0,05$); \otimes статистическая значимость различия в сравнении с показателями других секретомов ($p < 0,05$).

Нами были использованы 10 мкмоль/мл ДЕКС и 100 нг/мл ЛПС, что в 10 раз больше, чем в приведенном источнике, но эффекты оказались закономерными: снижение продукции TNF α и IL-10. Это позволяет предполагать более выраженное противовоспалительное влияние секрета ММСК, обработанных ДЕКС, чем секрета нативных ММСК.

Известно, что глюкокортикоиды способствуют снижению продукции IL-1 β . В нашем случае наблюдалось наибольшее снижение продукции IL-1 β и TNF α именно под действием секрета от ММСК, обработанных ДЕКС ($p < 0,05$), что показывает способность глюкокортикоидов оказывать опосредованное противовоспалительное действие через влияние на стромальные клетки. Известно, что под воздействием ДЕКС в сыворотке крови пациентов с тромбоцитопенией продукция TNF α достоверно снижается [7]. У пациентов с болезнью Крона уменьшается TNF α , IL-6, ингибируются гены, связанные с фагоцитозом, что может приводить к персистирующей инфекции [14]. Возможно, получится использовать глюкокортикоиды для подавления синтеза провоспалительных цитокинов опосредованно, с помощью ММСК, обработанных ДЕКС, и их секрета, избегая повышенного риска развития инфекционных заболеваний. Снижение продукции IL-9, одного из факторов дифференцировки тучных клеток, под действием секрета от обработанных ДЕКС ММСК, может быть использовано при аллергическом и аутоиммунном воспалении.

Учеными показано, что ММСК костного мозга снижают продукцию IL-9 МНК пациентов с ревматоидным артритом *in vitro* [14]. Есть данные о том, что ЭПО не оказывает эффекта на продукцию IL-10 [9] и оказывает супрессорное действие на синтез TNF α [6]. Это согласуется с нашими данными: достоверное снижение TNF α под действием ЭПО и тенденция к подавлению IL-10. Показано, что ДЕКС снижает продукцию IL-10 стимулированными ЛПС МНК [6]. В нашем случае противовоспалительные цитокины, продуцируемые МНК под действием ЭПО, и секрета от обработанных ЭПО ММСК снизились ($p > 0,05$). Данный эффект может быть подробнее изучен и в случае подтверждения использован в терапии. Как показано в статье [13], продукция IL-1ra снижается под действием ДЕКС, что согласуется с нашими данными. Однако этот эффект сильнее при использовании секрета ММСК, обработанных ДЕКС, что предполагает возможные ограничения его противовоспалительного эффекта при длительном применении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано достоверное подавление продукции IL-2, IL-6, TNF α под действием секрета от предварительно обработанных эритропоэтином и вальпроевой кислотой ММСК. Однако данный эффект более выражен при обработке клеток дексаметазоном. Установлено усиление противовоспалительной и иммуносупрессивной активности секрета от ММСК после предварительной стимуляции клеток дексаметазоном в концентрации 10^{-5} моль/л. Данный эффект наблюдается в виде снижения продукции мононуклеарами регуляторных цитокинов IFN γ и IL-2, провоспалительных цитокинов TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-9, IL-17A под действием данного секрета ММСК. Достоверное уменьшение продукции IL-10, IL-1ra предполагает возможные ограничения длительной терапии воспалительных заболеваний с помощью изученного секрета.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Golubinskaya P.A., Sarycheva M.V., Burda S.Y., Puzanov M.V., Nadezhkina N.A., Kulikovskiy V.F. et al. Pharmacological modulation of cell functional activity with valproic acid and erythropoietin. *Research Results in Pharmacology*. 2019;5(2):89–99. DOI: 10.3897/rppharmacology.5.34710.
2. Lu H., Wu X., Wang Z., Li L., Chen W., Yang M. et al. Erythropoietin-activated mesenchymal stem cells promote healing ulcers by improving microenvironment. *Journal of Surgical Research*. 2016;205(2):464–473. DOI: 10.1016/j.jss.2016.06.086.
3. Leu S.J., Yang Y.Y., Liu H.C., Cheng C.Y., Wu Y.C., Huang M.C. et al. Valproic acid and lithium mediate anti-inflammatory effects by differentially modulating dendritic cell differentiation and function. *Journal of Cellular Physiology*. 2017;232(5):1176–1186. DOI: 10.1002/jcp.25604.
4. De Almeida A.R., Dantas A.T., Pereira M.C., Cordeiro M.F., Gonçalves R.S.G., de Melo Rêgo M.J.B. et al. Dexamethasone inhibits cytokine production in PBMC from systemic sclerosis patients. *Inflammopharmacology*. 2019;27(4):723–730. DOI: 10.1007/s10787-019-00600-w.
5. Baliwag J., Barnes D.H., Johnston A. Cytokines in psoriasis. *Cytokine*. 2015;73(2):342–350. DOI: 10.1016/j.cyto.2014.12.014.
6. Cain D.W., Cidlowski J.A. Immune regulation by glucocorticoids. *Nature Reviews Immunology*. 2017;17(4):233–247. DOI: 10.1038/nri.2017.1.
7. Zhang Q., Bai H., Wang M.L., Ma H., Zhang X.L., Wang C.B. et al. Effects of the interleukin-21 expression in patients with immune thrombocytopenia and its regulation by high-dose dexamethasone. *Zhongguo shi yan xue ye xue za zhi*. 2015;23(2):465–470. DOI: 10.7534/j.issn.1009-2137.2015.02.033.
8. Steinborn B., Żarowski M., Winczewska-Wiktor A., Wójcicka M., Młodzikowska-Albrecht J., Losy J. Concentration of IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF α in the blood serum in children with generalized epilepsy treated by valproate. *Pharmacological Reports*. 2014;66(6):972–975. DOI: 10.1016/j.pharep.2014.06.005.

9. Melashchenko O.V., Meniailo M.E., Malashchenko V.V., Gazatova N.D., Goncharov A.G., Seledtsova G.V. et al. Erythropoietin directly affects human macrophage functionality. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2018;19(11):902–909. DOI: 10.2174/1389201019666181031164520.
10. Banuelos J., Lu N.Z. A gradient of glucocorticoid sensitivity among helper T cell cytokines. *Cytokine & Growth Factor Review*. 2016; (31):27–35. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2016.05.002.
11. Pouya S., Heidari M., Baghaei K., Aghdaei H.A., Moradi A., Namaki S. et al. Study the effects of mesenchymal stem cell conditioned medium injection in mouse model of acute colitis. *International Immunopharmacology*. 2018;54:86–94. DOI: 10.1016/j.intimp.2017.11.001.
12. Rütten S., Schrödl W., Abraham G. Modulation of TNF- α , IL-1Ra and IFN- γ in equine whole blood culture by glucocorticoids. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2019;(210):1–5. DOI: 10.1016/j.vetimm.2019.03.002.
13. Olivares-Morales M.J., De La Fuente M.K., Dubois-Camacho K., Parada D., Diaz-Jiménez D., Torres-Riquelme A. et al. Glucocorticoids impair phagocytosis and inflammatory response against crohn’s disease-associated adherent-invasive *Escherichia coli*. *Frontiers in Immunology*. 2018;(9):1026. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01026.
14. Abd-Elhalem S.S., Haggag N.Z., El-Shinnawy N.A. Bone marrow mesenchymal stem cells suppress IL-9 in adjuvant-induced arthritis. *Autoimmunity*. 2018;51(1):25–34. DOI: 10.1080/08916934.2018.1428956.

Вклад авторов

Голубинская П.А. – проведение экспериментов, анализ и интерпретация данных, написание текста статьи. Пузанов М.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Сарычева М.В. – анализ и интерпретация данных. Бурда С.Ю. – анализ и интерпретация данных, написание текста статьи. Надеждин С.В. – методическое консультирование работ, проверка критически важного интеллектуального содержания. Корокин М.В. – руководство исследованием, окончательное утверждение для публикации рукописи. Бурда Ю.Е. – разработка концепции и дизайна, контроль за качеством результатов исследования.

Информация об авторах

Голубинская Полина Александровна – аспирант, кафедра фармакологии и клинической фармакологии, НИУ «БелГУ», г. Белгород; клеточный инженер, ООО «Центр клеточных технологий Бирюч», с. Малобыково, Белгородская обл., polinapigeon@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-1765-9042>

Пузанов Максим Викторович – генеральный директор, ООО «Центр клеточных технологий Бирюч», с. Малобыково, Белгородская обл., maxbff@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9279-7584>

Сарычева Марина Владиславовна – аспирант, кафедра фармакологии и клинической фармакологии, НИУ «БелГУ», г. Белгород, dr.sarycheva@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3618-5284>

Бурда Светлана Юрьевна – мл. науч. сотрудник, опытно-производственный участок «Клеточные и вспомогательные репродуктивные технологии», НИУ «БелГУ», г. Белгород, svetlanaburda@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-7944-2319>

Надеждин Сергей Викторович – канд. биол. наук, доцент, кафедра биологии, Институт фармации, химии и биологии, НИУ «БелГУ», г. Белгород, nadezhdin@bsu.edu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6249-2464>

Корокин Михаил Викторович – д-р мед. наук, профессор, кафедра фармакологии и клинической фармакологии, НИУ «БелГУ», г. Белгород, mkorokin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5402-0697>

Бурда Юрий Евгеньевич – канд. мед. наук, доцент, кафедра фармакологии и клинической фармакологии, НИУ «БелГУ», г. Белгород; директор по науке, ООО «Центр клеточных технологий Бирюч», с. Малобыково, Белгородская обл., burda@bsu.edu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1183-4436>

✉ Голубинская Полина Александровна, polinapigeon@gmail.com

Поступила в редакцию 04.12.2020;
одобрена после рецензирования 09.03.2021;
принята к публикации 25.05.2021