

АПРОБАЦИЯ МОДЕЛИ ИМИКВИМОД-ИНДУЦИРОВАННОГО ПСОРИАЗОПОДОБНОГО ВОСПАЛЕНИЯ КОЖИ У МЫШЕЙ ЛИНИИ BALB/C

Зуева А. А., Крышень К. Л., Макарова М. Н., Макаров В. Г.

Общество с ограниченной ответственностью «Институт доклинических исследований», гп Кузьмоловский, Всеволожский район, Ленинградская область, Россия

Контактная информация:

Зуева Алена Алексеевна,
ООО «ИДКИ»,
ул. Заводская 3, к. 245, гп Кузьмоловский,
Всеволожский район, Ленинградская
область, Россия, 188663.
E-mail: zueva.aa@doclinika.ru

Статья поступила 17.07.2019 и принята
к печати 24.08.2019.

Резюме

Актуальность. Противопсориазные препараты с подтвержденными терапевтическими эффектами на модели имиквимод-индуцированного воспаления кожи мышей могут быть апробированы для лечения псориаза, вызванного иммунным ответом организма. **Цель.** Апробация имиквимод-индуцированного псориазоподобного воспаления кожи мышей линии BALB/c, поиск наиболее информативного метода оценки развития патологии для дальнейшей экстраполяции данных на клиническую ситуацию. **Материалы и методы.** Формирование экспериментальной патологии выполняли с помощью кожного нанесения индуктора, Алдара®, крема, содержащего 5 % имиквинола (IMQ), на участок спины мышей. Регистрацию формирования патологии проводили с помощью адаптированного для животных индекса площади и тяжести псориаза (PASI), гистологического исследования, оценки динамики массы тела и относительной массы селезенки и тимуса, гематологического анализа и анализа площади поражения кожи спины. **Результаты.** У животных с IMQ-индуцированным воспалением наблюдали увеличение PASI до 18 баллов с образованием псориазоподобных бляшек, статистически значимое снижение массы тела и относительной массы тимуса, статистически значимое увеличение относительной массы селезенки, лейкоцитоз и изменение лейкоцитарной формулы крови. Гистологический анализ показал статистически значимое увеличение толщины эпидермиса, гиперкератоз и воспалительную инфильтрацию разной степени. **Заключение.** Результаты апробации модели IMQ-индуцированного псориазоподобного воспаления кожи мышей с использованием гематологического анализа и измерения площади поражения соответствовали данным аналогичных исследований и отчасти клиническим признакам у больных псориазом.

Ключевые слова: имиквимод-индуцированное псориазоподобное воспаление кожи, Алдара, самки мышей линии BALB/c.

Для цитирования: Зуева А.А., Крышень К.Л., Макарова М.Н. и др. Апробация модели имиквимод-индуцированного псориазоподобного воспаления кожи у мышей линии BALB/c. Трансляционная медицина. 2019;6(4):50–58.

APPROBATION OF THE IMIQUIMOD-INDUCED PSORIASIS-LIKE SKIN INFLAMMATION IN BALB/C MICE

Zueva A. A., Kryshen K. L., Makarova M. N., Makarov V. G.

“Institute for Preclinical Research” Ltd., Vsevolozhskiy district, Leningrad region, Russia

Corresponding author:

Zueva Alena A.,
“Institute for Preclinical Research” Ltd.,
Zavodskaya str., 3-245, Kuzmolovskiy,
Vsevolozhskiy district, Leningradskaya
region, Russia, 188663.
E-mail: zueva.aa@doclinika.ru

Received 17 July 2019; accepted 24 August 2019.

Abstract

Background. Antipsoriatic medicines that have been successfully tested by imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in BALB/c mice may be used for therapy of psoriasis induced by the immune response as inflammatory cascade into skin layers. **Objective.** Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation approbation in BALB/c mice and search of more informative method of pathologic progress assessment for further extrapolating data to clinical cases. **Design and methods.** Psoriasis-like skin inflammation in mice was induced by topical applying of the Aldara® cream (5 % imiquimod) to back skin for 7 days. Psoriasis Area and Severity Index (PASI), histological study, calculation of relative spleen and thymus mass to the body weight, hematological analysis and skin disease area determination were used for registration of pathologic building. **Results.** During the study, was detected the increase of PASI score of animals with pathology to 18 with the formation of psoriasis-like plaques, significantly decrease body weight and relative thymus mass, significantly increase relative spleen mass, leukocytosis and leukocytic blood profile change, significant increase epidermal thickness, hyperkeratosis and inflammatory infiltration different degree. **Conclusion.** Results of approbation studied pathologic model with using of hematological analysis and skin disease area determination consistent with similar studies' data and partly clinical sings in patient with psoriasis.

Key words: imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation, Aldara, BALB/c female mice.

For citation: Zueva AA, Kryshen KL, Makarova MN et al. Approbation of the iimiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in BALB/c mice. Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine. 2019;6(4):50–58. (In Russ.)

Список сокращений: IMQ — имиквимод; PASI — индекс площади и тяжести псориаза.

Введение

Одним из значимых трансляционных барьеров при внедрении биомедицинских исследований в клинику является проблематичность экстраполяции данных, полученных на животных, на клиническую ситуацию. Преодоление этого барьера позволит сократить существующий разрыв между научными изобретениями и повседневной медицинской практикой [1].

На сегодняшний день особые сложности для лечения представляют мультифакторальные

заболевания. Одним из таких заболеваний является псориаз, изучение которого широко ведется во всем мире для создания более эффективных методов терапии.

Псориаз является распространенным мультифакторальным заболеванием и классифицируется как неинфекционное хроническое иммуновоспалительное заболевание кожи и суставов. Данным заболеванием страдают 1–5 % мирового населения, в зависимости от этнических и географических факторов [2]. Среди больных псориазом встречаются люди разных возрастов.

Изменения в коже больного обусловлены продукцией каскада провоспалительных цитокинов

и факторов роста Т-лимфоцитами и дендритными клетками, накапливающимися в основании псориазных высыпаний. Т-лимфоциты и дендритные клетки являются основными медиаторами воспаления и вызывают гиперпролиферацию кератиноцитов, их ускорение и нарушение дифференцировки. В результате провоспалительных процессов развиваются псориазоподобная гиперплазия эпидермиса (акантоз и папилломатоз), гиперкератоз, очаговый агранулез и образуются микроабсцессы Мунро. В самой дерме пациентов наблюдают расширение и извитость кровеносных сосудов поверхностной сети, неоваскуляризация, образование периваскулярных лимфоцитарно-гистиоцитарных инфильтратов с умеренной плотностью в сосочковой части [3].

В поисках эффективного лекарственного средства, обладающего противопсориазным действием, были созданы разные *in vitro* и *in vivo* модели. Для исследования лекарственных средств на животных чаще используют мышинные модели, которые разделены на 4 группы: трансгенные, спонтанные, ксенотрансплантационные и индуцированные [4].

Модель имиквимод-индуцированного (IMQ-индуцированного) псориазоподобного поражения была создана благодаря случайному открытию. Пациенты с хорошо контролируемым псориазом во время местного применения лекарственного препарата с IMQ жаловались на обострение заболевания. В настоящее время данную модель признают наиболее простой, легко воспроизводимой на многих линиях мышей и финансово оправданной [5]. В таблице 1 представлена сравнительная характеристика исследований, в которых была использована модель IMQ-индуцированного псориазоподобного воспаления кожи мышей. Для индукции патологии наиболее широко используют мышей линии BALB/c, как самцов, так и самок, в возрасте 6–12 недель.

Индуктором патологии являются препараты с IMQ, применяемые для местного лечения наружных остроконечных кондилом на наружных половых органах или в перианальной области, небольших поверхностных базалиом, а также клинически типичного, негиперкератического, негипертрофического актинического кератоза на коже лица и головы у пациентов с нормально функционирующей иммунной системой. IMQ проявляет эффективность против вирусных инфекций и действует как противоопухолевый агент, индуцируя синтез α -интерферонов и других цитокинов после нанесения препарата на пораженные ткани.

IMQ является лигандом толл-подобных рецепторов TLR7 и TLR8, которые активируют продук-

цию провоспалительных цитокинов и хемокинов, что в свою очередь приводит к притоку клеток иммунного ответа в место введения IMQ. Введение IMQ индуцирует миграцию клеток Лангерганса в лимфоидные органы, стимулирует созревание плазматикоидных дендритных клеток. Под действием IMQ происходит стимулирование кератиноцитов к увеличению продукции провоспалительных цитокинов [5]. В результате гистологического исследования кожи мышей наблюдают увеличение толщины эпидермиса за счет акантоза, вызванного гиперпролиферацией кератиноцитов [5, 6, 8–18], гипер- и паракератоз [5, 6, 7, 11, 12, 15, 16, 18], отсутствие зернистого слоя [5, 6], периваскулярную инфильтрацию воспалительными клетками [6, 8–11, 14], иногда папилломатоз [9] и микроабсцессы Мунро [6, 17].

Индуктор патологии наносят на участок кожи спины, предварительно лишенный волосяного покрова, и/или кожу правой (или левой) ушной раковины мышей один раз в день на протяжении 5–15 дней [5–19].

В качестве позитивного контроля используют препараты с такими активными веществами, как клобетазол пропионат, кальцитриол, тазаротен, кампотетин, метотрексат, ацитретин, такролимус и дексаметазон ацетат.

Для регистрации протекания экспериментальной патологии всегда используют визуальную оценку по индексу площади и тяжести псориаза (PASI — Psoriasis Area and Severity Index), адаптированному для животных. Оценка площади пораженного участка кожи не учитывается, так как индуктор патологии наносят на фиксированную площадь выбритого участка кожи животного [5, 6, 11, 18]. При этом исследователи регистрируют степень эритемы, инфильтрации и шелушения пораженного участка кожи спины экспериментальных животных по шкале от 0 до 4, где 0 — норма (нет), 1 — легкое, 2 — умеренное, 3 — выраженное, 4 — очень выраженное. В результате суммирования баллов эритемы, инфильтрации и шелушения получают балл степени тяжести псориазоподобного воспаления [5–19].

Такой метод оценки, используемый на животных, является достаточно субъективным, поэтому в нашем исследовании было апробировано использование гематологического анализа и регистрации пораженного участка кожи спины животных. Изучение влияния накожного нанесения IMQ на гематологические параметры позволит нам дать оценку течению экспериментальной патологии и связать наблюдаемые изменения в крови с клиническими признаками у пациентов. Второй метод оценки па-

Таблица 1. Сравнительная характеристика моделей IMQ-индуцированного псориазоподобного воспаления кожи мышей

Животные, линия, пол, масса, возраст	Наименование индуктора, доза, место нанесения, кратность и количество дней индукции патологии	Результаты регистрации PASI ^{A, B} , изменения толщины эпидермиса кожи и массы селезенки мышей с патологией (в сравнении с контрольной группой)
Мыши линий BALB/c, C57BL/6, 8–11 недель ^[5]	Aldara® крем, 5 %, 62,5 мг/животное на участок кожи спины и правую ушную раковину 1 раз/день, 5–6 дней	Эритема — 2,0. Инфильтрация — 3,0. Шелушение — 2,0. Увеличение толщины ушной раковины в $\approx 2,5$ раза и массы селезенки в ≈ 2 раза ^B
Мыши BALB/c, самки, 8–12 недель ^[7]	Aldara® крем, 5 %, 80 мг/животное на участок кожи спины 1 раз/день, 6 дней	Эритема — 2,9. Инфильтрация — 3,3. Шелушение — 3,8. Увеличение толщины эпидермиса спины в $\approx 4,3$ раза
Мыши BALB/c, 6–8 недель ^[8]	Крем, содержащий 5 % IMQ, 20 мг/см ² на правую ушную раковину 1 раз/день, 10 дней	Суммарный балл — 4,2. Увеличение толщины ушной раковины в $\approx 1,8$ раза ^{B, B}
Мыши самцы линии BALB/c, 8 недель, 18–20 г ^[9]	Крем, содержащий 5 % IMQ, 62,5 мг/животное на участок кожи спины 1 раз/день, 7 дней	Эритема — 3,5. Инфильтрация — 4. Шелушение — 3,4. Увеличение толщины эпидермиса спины в $\approx 5,2$ раза ^B и массы селезенки
Мыши линии BALB/c, самки, 8–10 недель ^[10]	Aldara® крем, 5 %, 80 мг/животное на участок кожи спины и правую ушную раковину 1 раз/день, 6 дней	PASI кожи спины: Эритема — 3,0. Инфильтрация — 3,0. Шелушение — 2,0. Увеличение толщины ушной раковины в $\approx 1,8$ раза ^B
Мыши линии BALB/c, самцы, 8–10 недель, 18–20 г. ^[11]	Крем, содержащий 5 % IMQ, 42 мг/животное на участок кожи спины 1 раз/день, 7 дней	Эритема — 2,3. Инфильтрация — 2,3. Шелушение — 2,0. Увеличение толщины эпидермиса спины в ≈ 4 раза ^B
Мыши линии BALB/c, 8 недель ^[12]	Крем, содержащий 5 % IMQ, 42 мг/животное на участок кожи спины 1 раз/день, 8 дней	Эритема — 2,3. Инфильтрация — 2,3. Шелушение — 2,3. Увеличение толщины эпидермиса кожи спины в $\approx 9,4$ раза и массы селезенки в $\approx 2,8$ раза ^B
Мыши линии BALB/c, самки, 7 недель ^[13]	Крем, содержащий 5 % IMQ, 62,5 мг/животное на участок кожи спины 1 раз/день, 8 дней	Эритема — 3,0. Увеличение толщины эпидермиса спины в ≈ 4 раза ^B
Мыши линии BALB/c, самки, 7 недель ^[14]	Aldara® крем, 5 %, 62,5 мг/животное на участок кожи спины 1 раз/день, 6 дней	Эритема — 2,5. Инфильтрация — 3,0. Шелушение — 2,5. Увеличение толщины кожи спины в $\approx 1,7$ раза и массы селезенки в ≈ 2 раза ^B
Мыши линии BALB/c, самцы 8–11 недель, примерно 20 г ^[15]	Aldara®, крем 5 % 62,5 мг/животное на участок кожи спины и 20 мг/см ² на правую ушную раковину 1 раз/день, 15 дней	Эритема — 2,5. Инфильтрация — 2,0. Шелушение — 2,0. Увеличение индекса селезенки выше чем в 6,3 раза ^B
Мыши линии BALB/c, самцы 7–8 недель, 20–25 г ^[16]	Крем, содержащий 5 % IMQ, 62,5 мг/животное на участок кожи спины 1 раз/день, 7 дней	Эритема — 2,9. Инфильтрация — 2,8. Шелушение — 1,3. Увеличение эпидермиса кожи спины в $\approx 4,7$ раза ^B
Мыши линий BALB/c, 8–11 недель ^[17]	Крем, содержащий 5 % IMQ, 62,5 мг/5 см ² на участок кожи спины и левую ушную раковину 1 раз/день, 6 дней	Эритема — 3,5. Инфильтрация — 3,8. Шелушение — 3,5. Увеличение индекса селезенки в 3,1 раза ^B . Увеличение толщины кожной складки спины в $\approx 1,5$ раза, ушной раковины — в $\approx 1,3$ раза ^{B, B}
Мыши линии BALB/c, самцы 8 недель ^[18]	Aldara®, крем 5 %, 80 мг/животное на участок кожи спины 1 раз/день, 7 дней	Суммарный балл — 8,5

Мыши линии ICR, 6 недель ^[19]	Aldara [®] , крем 5 %, 62,5 мг/см ² на участок кожи спины и 20 мг на правую ушную раковину 1 раз/день, 6 дней	Эритема — 2,0. Шелушение — 3,0. Увеличение толщины эпидермиса ушной раковины в $\approx$ 4,2 раза, кожи спины — в $\approx$ 2,7 раза
Мыши самцы линии C57bl6/6J ^[20]	Aldara [®] , крем 5 %, 20 мг/см ² на участок кожи спины и правую ушную раковину 1 раз/день, 6 дней	Эритема — 2,6. Инфильтрация — 2,5. Шелушение — 3,3. Увеличение толщины ушной раковины в $\approx$ 2 раза ^{Б, В}

Примечания: А — результаты индекса площади и тяжести псориаза, адаптированного для животных на последний день исследования, единица измерения — баллы; Б — приведены результаты источника по графику; В — измерение с помощью штангенциркуля. В квадратных скобках указаны литературные источники.

тологии, регистрация площади поражения кожи, позволит более точно оценить площадь пораженного участка кожи. Такие методы ранее не использовались исследователями в условиях ИМQ-индуцированного псориазоподобного воспаления.

Целью настоящего исследования являлась апробация метода ИМQ-индуцированного псориазоподобного воспаления кожи на самках мышей линии BALB/c, поиск наиболее информативного метода оценки развития патологии для дальнейшей экстраполяции данных, полученных на животных, на клиническую ситуацию.

Материалы и методы

В качестве тест-системы были задействованы самки мышей линии BALB/c массой тела $24 \pm 0,6$ г и возрастом 8 недель к первому дню исследования (питомник АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»», Россия). Животных содержали в стандартных условиях: 20–26 °С и относительной влажности воздуха 30–70 %, $\text{NH}_3 \leq 10$ мг/м³, $\text{CO}_2 \leq 0,15$ об. %. Световой режим составлял 12 часов света и 12 часов темноты. Данное исследование было рассмотрено биоэтической комиссией АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»» и одобрено для проведения (БЭК № 1.67/18 от 24 октября 2018 г., присутствовало 12 человек).

Было сформировано 2 группы животных: интактная группа и группа экспериментальной патологии (по 5 самок в группе). За 1 день до начала исследования всем животным удаляли шерсть площадью примерно равной 6 см² (2×3 см) [7] с помощью триммера для животных «Rex Mini» (Moser, Германия) и одноразовой бритвы.

Формирование экспериментальной патологии было проведено по методу L. van der Fits и соавторов (2009) [5], но с увеличенной дозой индуктора патологии. Самкам мышей, у которых формировали псориазоподобное воспаление, многократно на кожу наносили индуктор, препарат Алдара[®] крем, 5 %, на выбритый участок спины в дозе 80 мг/животное на протяжении 7 дней [6]. Препарат аккумуля

ратно массажными движениями втирали до полного впитывания в кожу. Далее животных помещали в рестрейнер. Массу тела регистрировали в утренние часы непосредственно перед первым нанесением и далее ежедневно. На 7-й день исследования животных эвтаназировали с помощью диоксида углерода с последующим обескровливанием из полостей сердца. Во многих экспериментах исследуют только изменение относительной массы селезенки. В нашем исследовании было дополнительно апробировано изучение изменения относительной массы тимуса как центрального органа иммунной системы. Поэтому после эвтаназии у животных были отобраны тимус и селезенка для расчета процентного отношения массы органов к массе тела. Взвешивание внутренних органов осуществляли на электронных весах «Adventurer» модель RV 214 (ОНАУС, Китай).

Визуальную оценку степени тяжести псориазоподобного воспаления кожи животных проводили перед первым нанесением индуктора и далее ежедневно с использованием адаптированного для мышей PASI [5, 7–20]. Степень эритемы регистрировали по цветной шкале от 0 до 15 баллов (рис. 1). Степень инфильтрации и шелушения пораженного участка кожи спины оценивали по шкале от 0 до 4, где 0 — норма (нет), 1 — легкое, 2 — умеренное, 3 — выраженное, 4 — очень выраженное. Далее баллы показателей были суммированы для получения общего балла PASI.

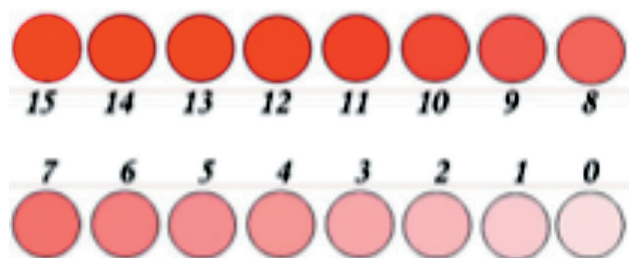


Рис. 1. Шкала оценки кожных проб

Таблица 2. Результаты, полученные в ходе формирования экспериментальной патологии на 7-й день исследования

Исследуемые параметры	Интактная группа, n = 5	Индуктор патологии Алдара®, n = 5	Разница между группами, %
Me (Q ₁ ; Q ₃)			
Эритема, балл	10,0 (10,0; 10,0)	12,0 (12,0; 12,0) *	20
Инфильтрация, балл	0,0 (0,0; 0,0)	2,0 (2,0; 3,0)*	—
Шелушение, балл	0,0 (0,0; 0,0)	2,0 (2,0; 3,0)*	—
Суммарные данные показателей PASI, балл	10,0 (10,0; 10,0)	16,0 (16,0; 18,0) *	60
Степень воспаления, балл	0,0 (0,0; 0,0)	1,0 (1,0; 2,0) *	—
Площадь пораженного участка кожи спины, % (относительно от общей площади участка кожи спины)	0 (0; 0)	100 (100; 100)*	—
M ± m			
Масса тела, % (относительно 1-го дня исследования)	98,1 ± 1,11	90,6 ± 2,02 [#]	7,5
WBC, 10 ⁹ /л	7,9 ± 0,9	13,3 ± 2,1 [#]	59
LYM, %	74 ± 1,4	43 ± 3,4 [#]	58
MON, %	8,0 ± 0,6	17,7 ± 1,7 [#]	121
GRA, %	18 ± 0,8	40 ± 2,3 [#]	116
Толщина эпидермиса, мкм	53 ± 3,5	132 ± 16,8 [#]	149
Тимус, % от массы тела	0,27 ± 0,03	0,12 ± 0,01 [#]	44
Селезенка, % от массы тела	0,39 ± 0,02	0,85 ± 0,11 [#]	118

Примечания: * — $p < 0,05$, критерий Манна–Уитни; # — $p < 0,05$, t-тест.

Измерение площади поражения проводили только в конце исследования макрофотографированием с помощью цифровой фотокамеры. Далее по полученным фотографиям измеряли площадь поражения относительно площади нанесения IMQ с помощью программного обеспечения «Видеотест-Размер» (Россия).

Кровь для клинического анализа отбирали в пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) в объеме 200 мкл из полостей сердца самок мышей на 7-й день исследования. Гематологические показатели [количество лейкоцитов (WBC), лимфоцитов (LYM), моноцитов (MON), гранулоцитов (GRA)] определяли в образцах цельной крови с антикоагулянтном на гематологическом анализаторе MYTHIC 18 (Orphee, Швейцария) в день забора крови.

Для гистологического исследования тимус, селезенку и участок кожи спины (место нанесения) фиксировали в 10 %-ом растворе нейтрального формалина в течение 24 часов [20], после чего по общепринятой методике заливали в парафин [21]. Затем изготавливали срезы толщиной 5–7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Анализ гистологических препаратов проводился при помощи светооптического микроскопа Carl Zeiss Axio Scope A1 (Германия) при увеличении 100. Микрофотографирование проводили при помощи цифровой фотокамеры AxioCam ICc 1 и программного обеспечения AxioVision Rel. 4.8 (Германия). Для оценки воспаления кожи была применена полуколичественная оценка поражения 0–3 баллов, где: 0 — отсутствие воспаления; 1 — воспаление слабой степени: небольшое количество

лимфоцитов определяется в эпидермисе, дерме и в подлежащей жировой клетчатке, носит очаговый характер, гиперкератоз незначителен; 2 — воспаление умеренной степени: увеличение количества клеток воспаления, увеличение площади поражения, небольшие участки некроза в пределах эпидермиса; 3 — выраженное воспаление: большое количество воспалительных элементов, может наблюдаться некроз, процесс распространяется обширно вплоть до подкожно-жировой клетчатки и мышечного слоя, выраженный гиперкератоз. Для морфометрической оценки изменений в коже была измерена толщина эпидермиса.

Для оценки влияния индуктора патологии Алдара® крем, 5 %, на исследуемые показатели проводили попарное сравнение с интактной группой с помощью t-теста для данных нормального распределения и критерия Манна–Уитни для данных, не подчиняющихся закону нормального распределения. Различия были определены при 0,05 уровне значимости. Статистический анализ выполняли с помощью программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft, США).

Результаты и их обсуждение

Видимые изменения были заметны со 2–3 дня исследования. В результате формирования экспериментальной патологии наблюдали покраснение участка кожи спины с 10 баллов до 13 ($p < 0,05$; критерий Манна–Уитни), куда на кожу наносили индуктор, инфильтрация и шелушение — до 3 баллов ($p < 0,05$; критерий Манна–Уитни, табл. 2, рис. 2), что соответствует литературным данным [5, 9–11, 13, 14]. К 3-му дню исследования наблюдали статистически значимое снижение массы тела ($p < 0,05$; t-тест), а к концу исследования статистически значимая разница составляла 7,5 % в сравнении с интактной группой, что также было зарегистрировано ранее в литературе ($p < 0,05$; t-тест) [22].

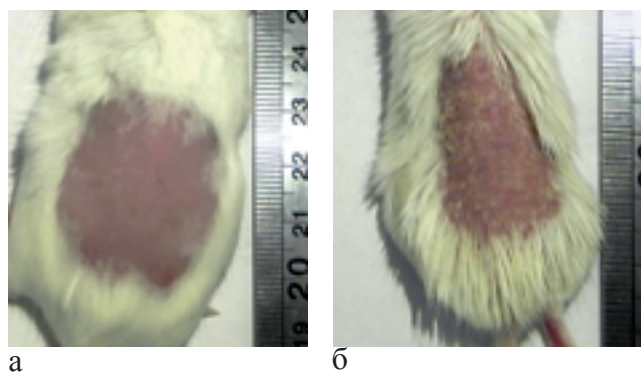


Рис. 2. Участки кожи спины самок мышей интактной группы (а) и группы с патологией (б) на 7-й день исследования

Гематологический анализ показал статистически значимое увеличение количества лейкоцитов на 59 % ($p < 0,05$; t-тест) и изменение лейкоцитарного профиля крови, что свидетельствует о системном воспалительном процессе и встречается у больных пустулезным псориазом [2] или при псориазе тяжелой степени [23], а также в период обострения болезни [23].

В результате анализа площади поражения кожи на 7-й день исследования было подтверждено, что экспериментальная патология распространилась равномерно на всем участке кожи спины, куда наносили индуктор.

При гистологическом исследовании кожи спины наблюдали воспалительную инфильтрацию различной степени и гиперкератоз (рис. 3, а), что обуславливает появление шелушения. В единичном случае наблюдали небольшие участки некроза (рис. 3, б) Степень воспаления кожи мышей с патологией была статистически значимо выше в сравнении с интактной группой. Выявленные нами изменения соответствуют литературным данным [9, 14]. У интактных животных гистологических изменений не было выявлено (рис. 3, в). Толщина эпидермиса мышей с патологией превышала таковую интактных мышей в 2,5 раза ($p < 0,05$; t-тест) [13,18].

Было зарегистрировано увеличение массового коэффициента селезенки на фоне экспериментальной патологии в 2,2 раза в сравнении с интактной группой ($p < 0,05$; t-тест), что связано со сформированным системным воспалительным процессом (табл. 2) [5, 8, 11, 13–16]. Относительная масса тимуса мышей с патологией была снижена в 2,25 раза ($p < 0,05$; t-тест), что установлено впервые.

У пациентов, страдающих псориазом, диагностика выражается в наличии шелушащихся папул, бляшек и высыпаний, которые обусловлены гипер- и паракератозом, акантозом, исчезновением зернистого слоя эпидермиса, воспалительной инфильтрацией, папилломатозом, образованием микроабсцессов Мунро и спонгиозных пустул Когоя [2]. Модель IMQ-индуцированного псориазоподобного воспаления кожи мышей не отражает полный спектр клинических признаков псориаза. Она отражает лишь один фактор появления псориаза, который выражается в каскадной цепочке провоспалительных процессов кожи как иммунный ответ организма на внешний фактор. Ранее было подтверждено, что важную роль в развитии псориазоподобного воспаления кожи мышей играют интерлейкины IL-23/IL-17A [7] и активация STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3) — NF-κB-связанного механизма в кератиноци-

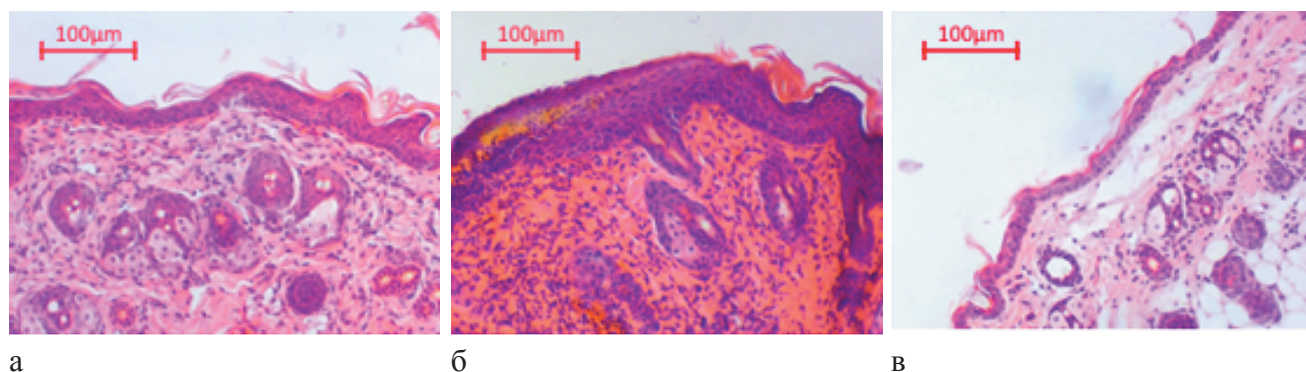


Рис. 3. Окрашенные гематоксилин-эозином срезы участков кожи спины мышей:

а — группа с патологией, воспаление 1 балл (гиперкератоз, слабовыраженная воспалительная инфильтрация); б — группа с патологией, воспаление 2 балла (умеренно выраженная воспалительная инфильтрация, гиперкератоз, некроз); в — интактная группа, воспаление 0 баллов. Ув. x100

тах [15]. Поэтому модель IMQ-индуцированного псориазоподобного воспаления кожи мышей подходит для тестирования *in vivo* противопсориазных препаратов. Таким образом, нами была апробирована модель псориазоподобного воспаления, которая имела визуальные и клинико-диагностические признаки, подтверждающиеся гематологическим и гистологическим исследованиями, измерением площади и степени тяжести поражения кожи.

Заключение

Апробирована модель IMQ-индуцированного псориазоподобного воспаления кожи самок мышей линии BALB/c. Получены результаты, сопоставимые с литературными данными для данной модели по показателям PASI, массы тела, массового коэффициента селезенки и гистологическому анализу. Дополнительно использован гематологический анализ, с помощью которого были выявлены изменения, схожие с клиническими признаками пациентов с псориазом. Так же нами было опробовано измерение площади поражения кожи с помощью программного обеспечения «Видеотест-Размер» (Россия), которое позволило более точно измерить площадь поражения. Данный метод оценки протекания патологии можно рекомендовать к использованию при тестировании противопсориазных препаратов в данной экспериментальной патологии. С помощью модели IMQ-индуцированное псориазоподобное воспаление были получены результаты, которые подтверждали наличие воспалительных процессов в коже на фоне введения IMQ.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Shlyakhto EV. Translational Research as a Model of Progress in Current Medical Science. *Translyatsionnaya meditsina*= Translational Medicine. 2014;(1):5–18. In Russian [Шляхто Е. В. Трансляционные исследования как модель развития современной медицинской науки. *Трансляционная медицина*. 2014;(1):5–18].
2. Bolotna LA. Psoriasis: Pathogenesis, Clinical Manifestations, Principles of Therapy. *Vostochnoevropeyskiy zhurnal vnutrenney i semeynoy meditsiny*=East European Journal of Internal and Family Medicine. 2015;(1):4–9. In Russian [Болотная Л. А. Псориаз: патогенез, клинические проявления, принципы терапии. *Восточноевропейский журнал внутренней и семейной медицины*. 2015;(1):4–9].
3. Khairutdinov VR, Belousova IE, Samtsov AV. Immune Pathogenesis of Psoriasis. *Vestnik dermatologii i venerologii*=Bulletin of Dermatology and Venereology. 2016;(4):20–26. In Russian [Хайрутдинов В. Р., Белоусова И. Э., Самцов А. В. Иммунный патогенез псориаза. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2016;(4):20–26].
4. Bocheńska K, Smolińska E, Moskot M et al. Models in the Research Process of Psoriasis. *Int J Mol Sci*. 2017;18(12). pii: E2514.
5. van der Fits L, Mourits S, Voerman JS et al. Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Skin Inflammation in Mice is Mediated via the IL-23/IN-17 Axis. *J Immunol*. 2009;182(9):5836–5845.
6. Luo DQ, Wu HH, Zhao YK et al. Original Research: Different Imiquimod Creams Resulting in Differential Effects for Imiquimod-Induced Psoriatic Mouse Models. *Exp Biol Med* (Maywood). 2016;241(16):1733–1738.
7. Sun J, Zhao Y, Hu J. Curcumin Inhibits Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Inflammation by Inhibiting IL-1beta and IL-6 Production in Mice. *PLoS One*. 2013;8(6):e67078.
8. Di TT, Ruan ZT, Zhao JX et al. Astilbin Inhibits Th17 Cell Differentiation and Ameliorates Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Skin Lesions in BALB/c Mice via Jak3/Stat3 Signaling Pathway. *Int Immunopharmacol*. 2016;32:32–38.
9. Baek JO, Byamba D, Wu WH et al. Assessment of an Imiquimod-Induced Psoriatic Mouse Model in Relation to Oxidative Stress. *Arch Dermatol Res*. 2012;304(9):699–706.
10. Meng Y, Wang M, Xie X et al. Paeonol Ameliorates Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Skin Lesions in BALB/c

Mice by Inhibiting the Maturation and Activation of Dendritic Cells. *Int J Mol Med*. 2017;39(5):1101–1110.

11. Zhao J, Di T, Wang Y et al. Multi-Glycoside Of Tripterygium Wilfordii Hook. F. Ameliorates Imiquimod-Induced Skin Lesions Through a STAT3-Dependent Mechanism Involving the Inhibition of Th17-Mediated Inflammatory Responses. *Int J Mol Med*. 2016;38(3):747–757.

12. Lin YK, Yang SH, Chen CC et al. Using Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Skin as a Model to Measure the Skin Penetration of Anti-Psoriatic Drugs. *PLoS One*. 2015;10(9):e0137890.

13. Byamba D, Kim DY, Kim DS et al. Skin-Penetrating Methotrexate Alleviates Imiquimod-Induced Psoriasiform Dermatitis via Decreasing IL-17-Producing Gamma Delta T Cells. *Exp Dermatol*. 2014;23(7):492–496.

14. Na Takuathung M, Wongnoppavich A, Panthong A et al. Antipsoriatic Effects of Wannachawee Recipe on Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Dermatitis in BALB/c Mice. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2018;2018:7931031.

15. Wang A, Wei J, Lu C et al. Genistein Suppresses Psoriasis-Related Inflammation Through a STAT3–NF- κ B-Dependent Mechanism in Keratinocytes. *Int Immunopharmacol*. 2019;69:270–278.

16. Sunkari S, Thatikonda S, Pooladanda V et al. Protective Effects of Ambroxol in Psoriasis Like Skin Inflammation: Exploration of Possible Mechanisms. *Int Immunopharmacol*. 2019;71:301–312.

17. Li Y, Zhang G, Chen M et al. Rutaecarpine Inhibited Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Dermatitis via Inhibiting the NF- κ B and TLR7 Pathways in Mice. *Biomed Pharmacother*. 2019;109:1876–1883.

18. Rather IA, Bajpai VK, Huh YS et al. Probiotic Lactobacillus Sakei Probio-65 Extract Ameliorates the Severity of imiquimod Induced Psoriasis-Like Skin Inflammation in a Mouse Model. *Front Microbiol*. 2018;9:1021.

19. Guillaume P, Lepage M, Goineau S et al. Preclinical Evaluation of Anti-Psoriasis Activity Using the Imiquimod-Induced Inflammation Test in the Mouse. *J Invest Dermatol*. 2015; 135 (Suppl. 2): 078

20. Gushchin Ya, Muzhikyan A. Effect of Fixing Liquids on Microscopic Structure of Small Laboratory Animals. *Mezhdunarodnyj vestnik veterinarii=International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2014;3:88–95. In Russian [Гущин Я. А., Мужикян А. А. Влияние фиксирующих жидкостей на микроскопическую структуру органов мелких лабораторных животных. *Международный вестник ветеринарии*. 2014;3:88–95].

21. Muzhikyan A, Makarova M, Gushin Y. Features Histological Processing of Organs and Tissues of Laboratory Animals. *Mezhdunarodnyj vestnik veterinarii=International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2014;2:103–109. In Russian [Мужикян А. А., Макарова М. Н., Гущин Я. А. Особенности гистологической обработки органов и тканей лабораторных животных. *Международный вестник ветеринарии*. 2014;2:103–109].

22. Orlov EV, Arnautova MS, Gergel NI. The Assessment of Metabolic Status and Cellular Blood Composition in Case of Psoriasis and Psoriatic Arthritis. *Medicinskij al'manah=Medical Almanac*. 2013;5(28):197–200. In Russian [Орлов Е. В., Арнаутова М. С., Гергель Н. И. Оценка метаболического статуса и клеточного

состава крови при псориазе и псориатическом артрите. *Медицинский альманах*. 2013;5(28):197–200].

23. Isakov SA. The Immunological Status at the Pathients with Psoriasis in Acute Period. *Rossijskij medikobologicheskij vestnik imeni akademika I.P. Pavlova=IP Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2001;(1–2):114–119. In Russian [Исаков С. А. Иммунные реакции у больных псориазом в период обострения болезни. *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова*. 2001;(1–2):114–119].

Информация об авторах:

Зуева Алена Алексеевна, токсиколог группы общей токсикологии ООО «ИДКИ»;

Крышень Кирилл Леонидович, к.б.н., руководитель отдела токсикологии и микробиологии ООО «ИДКИ»;

Макарова Марина Николаевна, д.м.н., директор ООО «ИДКИ»;

Макаров Валерий Геннадьевич, д.м.н., заместитель директора по науке ООО «ИДКИ».

Author information:

Zueva Alena A., Toxicologist of General Toxicology Group “Institute of Preclinical Research” Ltd.;

Kryshen Kirill L., PhD, Head of Toxicology and Microbiology Department “Institute of Preclinical Research” Ltd.;

Makarova Marina N., Dr. Sc., Director of “Institute of Preclinical Research” Ltd.;

Makarov Valeriy G., Dr. Sc., Deputy Director for Science of “Institute of Preclinical Research” Ltd.