

КРАТКОЕ СООБЩЕНИЕ

ВЛИЯНИЕ НОРТРИПТИЛИНА И ЕГО КОМБИНАЦИИ С МОМЕТАЗОНОМ НА СЕКРЕЦИЮ IL-6 И IL-8 СТИМУЛИРОВАННЫМИ МОНОНУКЛЕАРНЫМИ КЛЕТКАМИ КРОВИ *IN VITRO*

Т.В. Миронова^{1}, А.Д. Таганович¹, В.В. Макаревич¹, Т.С. Колесникова²,
О.В. Левандовская³, И.П. Шиловский⁴, М.Р. Хаитов⁴, А.Г. Кадушкин¹*

¹Кафедра биологической химии, Белорусский государственный медицинский университет, Республика Беларусь, 220083, Минск, пр-т Дзержинского, 83; *эл. почта: tomanis@mail.ru

²Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины, Белорусский государственный медицинский университет,

Республика Беларусь, 223040, Минская обл., Минский р-н, Боровлянский с/с, а.г. Лесной, 106-2

³Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии, Республика Беларусь, 220045, Минск, ул. Семашко, 83

⁴Институт иммунологии, 115522, Москва, Каширское шоссе, 24

При лечении хронического воспалительного процесса нередко средством выбора оказываются глюкокортикостероиды (ГКС). Поскольку не все пациенты одинаково чувствительны к ГКС, в настоящее время ведётся поиск путей повышения чувствительности и дополнения глюкокортикостероидной терапии другими лекарственными препаратами нестероидной природы, способными усилить противовоспалительное действие ГКС. Трициклический антидепрессант нортриптилин продемонстрировал в ряде экспериментальных исследований противовоспалительные свойства, а также способность дополнять действие ГКС. Целью данной работы было изучение влияния нортриптилина, а также его комбинации с мометазоном на мононуклеарные клетки (МНК) крови в условиях стимулированных иммунных ответов (ИО) первого, второго и семнадцатого типа. В изолированных МНК крови шести здоровых доноров в присутствии нортриптилина, мометазона или их комбинации стимулировали ИО по первому, второму или семнадцатому типу путём внесения рекомбинантных белков-активаторов (IL-2, IL-25, IL-33, тимический стромальный лимфопоэтин (TSLP), IL-12, IL-1 β , IL-23). По истечении трёх дней в супернатантах методом иммуноферментного анализа определяли концентрацию IL-6 и IL-8. В присутствии нортриптилина в конечной концентрации 10⁻⁵ М ИО второго и семнадцатого типов сопровождался снижением концентрации IL-6. Внесение в среду культивирования МНК комбинации мометазона и нортриптилина в условиях активации ИО второго типа оказывало потенцирующий эффект. Об этом свидетельствовало снижение секреции IL-6 и IL-8 по сравнению с использованием только мометазона. Проведённое исследование демонстрирует способность нортриптилина подавлять секрецию провоспалительных цитокинов клетками крови, которая носит избирательный характер и зависит от типа иммунного ответа.

Ключевые слова: IL-6; IL-8; клетки крови; иммунный ответ

DOI: 10.18097/PBVMCR1630

ВВЕДЕНИЕ

Иммунный ответ (ИО) представляет собой сложный многокомпонентный процесс, индуцируемый попаданием в организм чужеродной молекулы (антигена) и направленный на её элиминацию.

Главной задачей ИО первого типа является противостояние вирусам, бактериям и онкогенным клеткам. При ИО первого типа активируются клетки Th1 (T helper 1 cells) и высвобождаются свойственные этим клеткам провоспалительные цитокины. На следующем этапе Th1 вызывают активацию цитотоксических Т-лимфоцитов и натуральных киллеров (NK), пролиферацию Т- и В-лимфоцитов, синтез IgM, IgG2 [1].

Для развёртывания ИО по второму типу необходима активация Th2, которые отвечают за кооперацию с В-клетками, активируют гуморальный иммунный ответ и аллергическое воспаление. Th2 также могут обеспечивать иммунитет против

внеклеточных бактерий и их токсинов, стимулируя продукцию плазматическими клетками IgG4 и IgA [1].

ИО, развивающийся по Th17-типу, направлен на поддержание воспаления за счёт выработки цитокинов семейства IL-17, которые воздействуют на ряд клеток эффекторов: Т- и В-лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов, фибробластов, эндотелиальных и эпителиальных клеток, макрофагов и др. [2].

В организме человека в ходе развития воспалительной реакции чаще наблюдается постепенное вовлечение компонентов этих иммунных ответов [1]. ИО первого, второго и семнадцатого типов функционируют взаимосвязанно, а Th клетки каждого типа способны производить компоненты разных ИО. При этом цитокины, являющиеся компонентами первого, второго и семнадцатого ИО могут проявлять как провоспалительные, так и противовоспалительные свойства, что подразумевает существование сложных механизмов взаимосвязи между популяциями Th [3].



При лечении хронического воспалительного процесса нередко средством выбора оказываются глюкокортикостероиды (ГКС), которые способны эффективно снижать секрецию провоспалительных цитокинов [4]. Поскольку не все пациенты одинаково чувствительны к ГКС, в настоящее время ведётся поиск путей повышения чувствительности глюкокортикостероидной терапии [5].

Было показано, что трициклический антидепрессант нортриптилин повышает эффективность ГКС-терапии, подавляя продукцию IL-4, IL-8, TNF- α и IFN- γ естественными киллерами (NK) в крови пациентов с хронической обструктивной болезнью лёгких (ХОБЛ) [6]. Ранее нами было проведено исследование, в ходе которого была установлена способность нортриптилина снижать секрецию TNF- α , IFN- γ , IL-6 и IL-8 мононуклеарными клетками крови (МНК) пациентов с АР в условиях стимулированных ИО первого, второго и семнадцатого типов *in vitro* [7]. Целью настоящего исследования было изучение влияния нортриптилина, а также его комбинации с мометазоном на мононуклеарные клетки (МНК) крови в условиях стимулированных ИО первого, второго и семнадцатого типов.

МЕТОДИКА

Исследование включало шесть здоровых испытуемых (5 женщин и 1 мужчина, 18–19 лет). Клеточные культуры были получены методом, описанным нами в предыдущем исследовании [7]. Ресуспендированные клетки помещали в лунки 96-луночной платы (в количестве 2×10^5 клеток на лунку) и инкубировали в присутствии мометазона (конечная концентрация 10^{-10} М) [8], нортриптилина (конечная концентрация 10^{-5} М) [9] или их комбинации в течение 1 ч в CO₂-инкубаторе при 37°C, 5% CO₂. После окончания инкубации в клеточную культуру вносили рекомбинантные белки для стимуляции ИО первого, второго и семнадцатого типа согласно схеме, описанной в предыдущем исследовании [7]. По истечении 3 суток культивирования клеток собранный с чашек раствор центрифугировали (5 мин, 400 g) и хранили при температуре -70°C. В нём с помощью наборов реагентов ИФА («Вектор Бест», Россия) определяли концентрацию IL-6 и IL-8.

Статистическую обработку данных проводили в программе MedCalc («MedCalc Software Ltd.», Бельгия). Результаты представлены в виде медианы \pm 25%–75%. Для оценки статистической достоверности различий между группами использовали критерий Фридмана. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,008$; значения $0,008 < p < 0,1$ рассматривали как статистическую тенденцию.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В эксперименте со стимулированным ИО первого типа внесение мометазона в среду культивирования клеток сопровождалось статистически достоверным снижением концентрации IL-6 (0,250 [0,025–0,300] нг/мл) и

IL-8 (9,13 [3,89–14,50] нг/мл) по сравнению с пробами без ингибиторов (1,15 [0,90–1,80] нг/мл IL-6; 61,20 [31,80–84,80] нг/мл IL-8). В свою очередь, после добавления нортриптилина отмечена лишь тенденция к снижению секреции IL-6 и IL-8. Внесение в пробы комбинации ингибиторов также не привело к значимому снижению секреции цитокинов по сравнению с эффектом, оказываемым мометазоном (рис. 1).

В условиях стимуляции ИО второго типа мометазон статистически достоверно снижал концентрацию IL-6 (0,73 [0,35–1,15] нг/мл) и IL-8 (12,68 [5,74–44,08] нг/мл) по сравнению с пробами без мометазона (2,03 [1,70–3,40] нг/мл IL-6; 54,7 [42,3–72,5] нг/мл IL-8). В этих же условиях добавление нортриптилина существенно уменьшило концентрацию IL-6 (1,58 [1,05–2,00] нг/мл) по сравнению с контролем. Внесение же комбинации мометазона и нортриптилина привело к достоверному снижению секреции как IL-6 (0,40 [0,18–0,63] нг/мл), так и IL-8 (10,19 [4,55–30,78] нг/мл) по сравнению с пробами, где в качестве ингибитора вносили только мометазон (см. выше) (рис. 2).

В условиях стимулированного ИО семнадцатого типа присутствие мометазона в среде культивирования клеток сопровождалось существенным уменьшением концентрации IL-6 (6,4 [5,2–11,4] нг/мл) и IL-8 (60,9 [44,5–92,5] нг/мл) по сравнению с пробами без ингибиторов (20,0 [14,7–27,5] нг/мл IL-6; 136,9 [124,9–171,0] нг/мл IL-8). Внесение нортриптилина сопровождалось статистически достоверным снижением, но только уровня IL-6 (18,60 [13,75–25,70] нг/мл) по сравнению с пробами без ингибиторов. Внесение же комбинации мометазона с нортриптилином, как и в случае со стимулированным ИО первого типа, не привело к снижению секреции исследуемых интерлейкинов по сравнению с пробами, в которые вносили только мометазон (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании присутствие нортриптилина в среде культивирования МНК со стимулированными ИО второго или семнадцатого типов сопровождалось статистически достоверным снижением (на 22% и 7% соответственно) секреции цитокина IL-6 по сравнению с клетками, которые культивировали без нортриптилина. В условиях активации ИО первого типа эффект нортриптилина проявлялся только в виде тенденции при сравнении с положительным контролем. Похожий эффект был отмечен и другими исследователями и был связан, по их мнению, с индуцированным нортриптилином и подобными ему препаратами подавлением активации ядерного фактора кВ (NF-кВ), что приводит к снижению секреции провоспалительных белков, в том числе, IL-6 и IL-8 [10, 11]. Однако в нашем исследовании концентрация IL-8 не претерпела существенных изменений при любом из исследуемых типов ИО в результате внесения в среду культивирования клеток нортриптилина, хотя при ИО первого типа имелась тенденция к снижению концентрации этого цитокина.

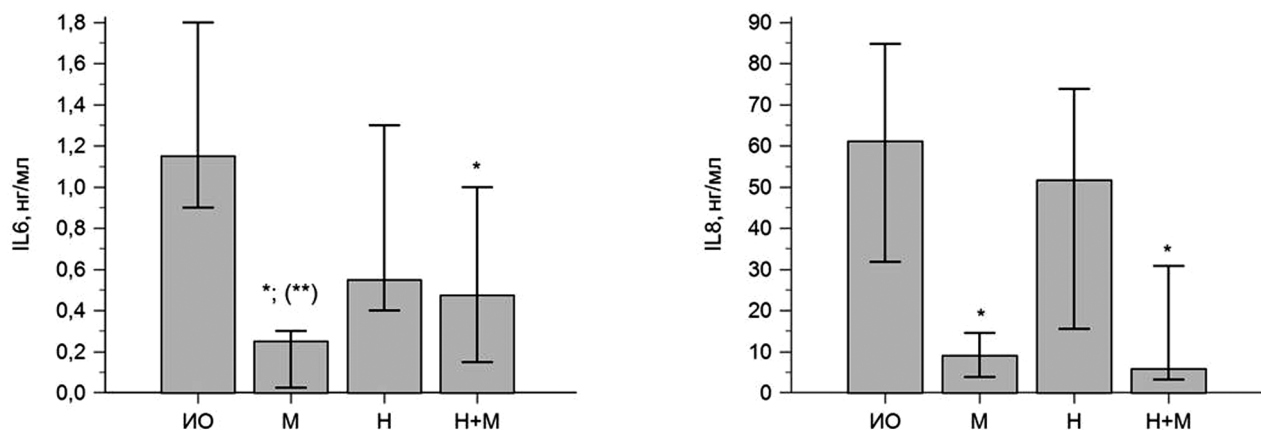


Рисунок 1. Влияние мометазона и нортриптилина на секрецию IL-6 и IL-8 МНК периферической крови в условиях стимулирования ИО первого типа. ИО – МНК крови стимулировали комплексом (IL-2+, IL-12+), М – стимулированные МНК культивировали в присутствии мометазона (10^{-10} М), Н – стимулированные МНК культивировали в присутствии нортриптилина (10^{-5} М); * – разница статистически достоверна относительно ИО, (***) – разница статистически достоверна относительно Н.

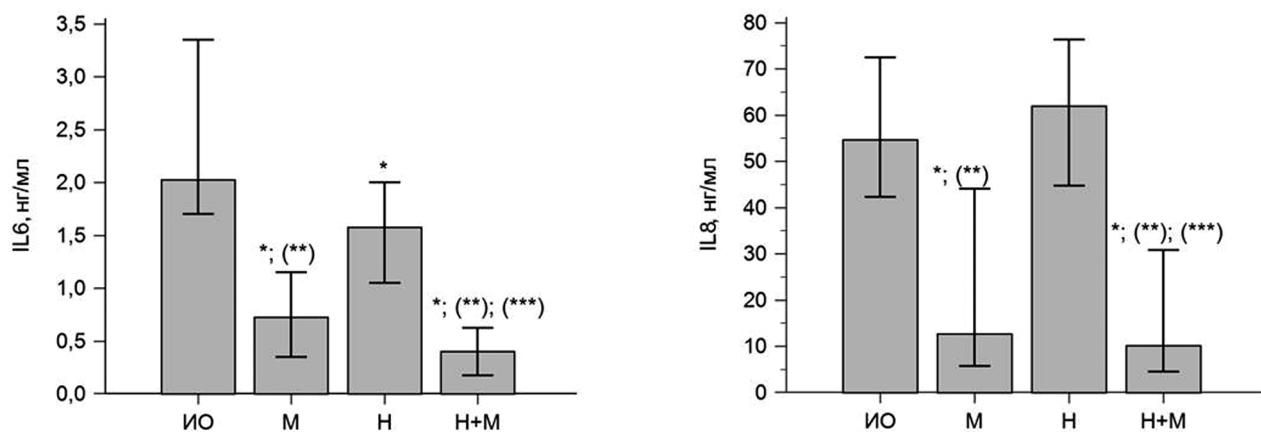


Рисунок 2. Влияние мометазона и нортриптилина на секрецию IL-6 и IL-8 МНК периферической крови в условиях стимулирования ИО второго типа. ИО – МНК крови стимулировали комплексом (IL-25+, IL-33+, TSLP+), М – стимулированные МНК культивировали в присутствии мометазона (10^{-10} М), Н – стимулированные МНК культивировали в присутствии нортриптилина (10^{-5} М); * – разница статистически достоверна относительно ИО, (***) – разница статистически достоверна относительно Н, (***) – разница статистически достоверна относительно М.

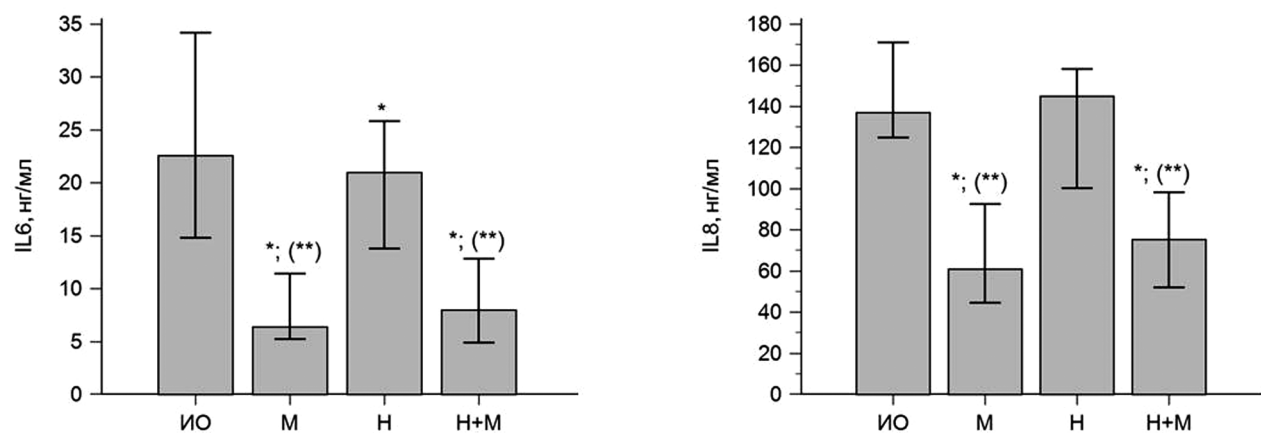


Рисунок 3. Влияние мометазона и нортриптилина на секрецию IL-6 и IL-8 МНК периферической крови в условиях стимулирования ИО семнадцатого типа. ИО – МНК крови стимулировали комплексом (IL-1 β +, IL-23+), М – стимулированные МНК культивировали в присутствии мометазона (10^{-10} М), Н – стимулированные МНК культивировали в присутствии нортриптилина (10^{-5} М); * – разница статистически достоверна относительно ИО, (***) – разница статистически достоверна относительно Н.

Проведённые нами исследования позволили наблюдать интересный, ранее неизвестный феномен. Совместное внесение в инкубационную среду МНК мометазона и нортриптилина привело к значимому снижению секреции цитокинов IL-6 (на 45%) и IL-8 (на 20%) в условиях стимулированного ИО второго типа по сравнению с пробами, в которые в качестве ингибитора вносился только мометазон. Потенцирующий эффект комбинации нортриптилина с мометазоном по снижению концентрации провоспалительных цитокинов позволяет рекомендовать её для дальнейшего исследования с целью использования в терапии заболеваний, связанных с активацией ИО второго типа, таких как аллергический ринит.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Присутствие в среде культивирования МНК нортриптилина в конечной концентрации 10^{-5} М снижает секрецию IL-6 в условиях активации иммунных ответов второго и семнадцатого типов.

2. Комбинация мометазона и нортриптилина оказывает потенцирующий эффект на снижение секреции IL-6 и IL-8 в условиях активации иммунного ответа второго типа.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований и Российского научного фонда (№ договора М23РНФ-021; № госрегистрации 20230281 от 03.01.2023).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследование было одобрено Комитетом по биомедицинской этике Белорусского государственного медицинского университета (протокол № 1 от 31.08.2023). Все испытуемые подписали информированное согласие на участие в исследовании и использовании их биоматериала.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Супрун Е.Н.* (2014) Клеточный иммунный ответ. Аллергология и иммунология в педиатрии, **3**(38), 28–32. [*Suprun E.N.* (2014) Cellular immune response. Allergology and Immunology in Paediatrics, **3**(38), 28–32.] DOI: 10.24411/2500-1175-2014-00025
2. *Миронова Т.В., Таганович А.Д., Кадушкин А.Г., Макаревич В.В., Шиловский И.П., Хаитов М.Р.* (2024) Роль компонентов иммунного ответа первого и семнадцатого типов в развитии аллергических заболеваний дыхательной системы. Вестник Московского университета. Серия 16. Биология, **79**(4), 280–286.

- [*Mironova T.V., Tahanovich A.D., Kadushkin A.G., Makarevich V.V., Shilovsky I.P., Khaitov M.R.* (2024) The role of immune response components of the first and seventeenth types in the development of allergic diseases of the respiratory system. Vestnik Moskovskogo Universiteta. Seriya 16. Biologiya, **79**(4), 280–286.] DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-79-4-11
3. *Berker M., Frank L.J., Geßner A.L., Grassl N., Holtermann A.V., Höppner S., Kraef C., Leclaire M.D., Maier P., Messerer D.A.C., Möhrmann L., Nieke J.P., Schoch D., Soll D., Woopen C.M.P.* (2017) Allergies — a T cells perspective in the era beyond the TH1/TH2 paradigm. Clin. Immunol., **74**, 73–83. DOI: 10.1016/j.clim.2016.11.001
 4. *Zhang N., Crombruggen K.V., Holtappels G., Lan F., Katotomichelakis M., Zhang L., Hogger P., Bachert C.* (2014) Suppression of cytokine release by fluticasone furoate vs. mometasone furoate in human nasal tissue ex-vivo. PLOS One, **9**(4), e93754. DOI: 10.1371/journal.pone.0093754
 5. *Hasan M.M., Tory S.* (2024) Association between glucocorticoid receptor beta and steroid resistance: a systematic review. Immun. Inflamm. Dis., **12**(1), 1137. DOI: 10.1002/iid3.1137
 6. *Kadushkin A.G., Tahanovich A.D., Movchan L.V., Dziadzichkina V.V., Levandovskaya O.V., Shman T.V.* (2022) Nortriptyline overcomes corticosteroid resistance in NK and NKT-like cells from peripheral blood of patients with chronic obstructive pulmonary disease. Research Results in Pharmacology, **8**(1), 59–70. DOI: 10.3897/rpparmacology.8.75467
 7. *Миронова Т.В., Таганович А.Д., Кадушкин А.Г., Макаревич В.В., Шиловский И.П., Хаитов М.Р.* (2025) Ингибирующее влияние мометазона и нортриптилина на продукцию провоспалительных цитокинов мононуклеарными клетками крови пациентов с аллергическим ринитом в условиях стимулированного иммунного ответа. Биомедицинская химия, **71**(4), 300–307. [*Mironova T.V., Tahanovich A.D., Kadushkin A.G., Makarevich V.V., Shilovskiy I.P., Khaitov M.R.* (2025) The inhibitory effect of mometasone and nortriptyline on the production of proinflammatory cytokines by blood mononuclear cells of patients with allergic rhinitis under conditions of stimulated immune response. Biomeditsinskaya Khimiya, **71**(4), 300–307.] DOI: 10.18097/PBMCR1568
 8. *Hochhaus G.* (2008) Pharmacokinetic/pharmacodynamic profile of mometasone furoate nasal spray: potential effects on clinical safety and efficacy. Clin. Ther., **30**(1), 1–13. DOI: 10.1016/j.clinthera.2008.01.005
 9. *Ribeiro M.G., Pereira E.L.A., Rogerio S.J., Eduardo P.D.S.* (2000) Nortriptyline blood levels and clinical outcome: metaanalysis of published studies. Revista Brasileira de Psiquiatria, **22**(2), 51–56. DOI: 10.1590/S1516-44462000000200004
 10. *Mercado N., To Y., Ito K., Barnes P.J.* (2011) Nortriptyline reverses corticosteroid insensitivity by inhibition of phosphoinositide-3-kinase- δ . J. Pharmacol. Exp. Ther., **337**(2), 465–470. DOI: 10.1124/jpet.110.175950
 11. *Maes M., Yirmiya R., Norberg J., Brene S., Hibbeln J., Perini G., Kubera M., Bob P., Lerer B., Maj M.* (2009) The inflammatory & neurodegenerative (I&ND) hypothesis of depression: leads for future research and new drug developments in depression. Metab. Brain Dis., **24**(1), 27–53. DOI: 10.1007/s11011-008-9118-1

Поступила в редакцию: 23.10.2025.
После доработки: 03.02.2026.
Принята к печати: 05.02.2026.

**THE EFFECT OF NORTRIPTYLINE AND ITS COMBINATION WITH MOMETASONE
ON SECRETION OF IL-6 AND IL-8 BY STIMULATED BLOOD MONONUCLEAR CELLS *IN VITRO***

T.V. Mironova^{1}, A.D. Taganovich¹, V.V. Makarevich¹, T.S. Kolesnikova²,
O.V. Levandovskaya³, I.P. Shilovsky⁴, M.R. Khaitov⁴, A.G. Kadushkin¹*

¹Department of Biochemistry, Belarusian State Medical University,
83 Dzerzhinski ave., Minsk, 220083 Republic of Belarus; *e-mail: tomanis@mail.ru

²Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Belarusian State Medical University,
106-2 Lesnoy, Borovlyansky rural council, Minsk district, Minsk region, 223040 Republic of Belarus

³Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology,
83 Semashko str., Minsk, 220045 Republic of Belarus

⁴Institute of Immunology, 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115522 Russia

Glucocorticosteroids (GCS) are often the medication of choice for chronic inflammation. Since not all patients are equally sensitive to GCS, certain efforts are undertaken to increase sensitivity and complement glucocorticosteroid therapy with other nonsteroidal medications that can enhance the anti-inflammatory effect of GCS. The tricyclic antidepressant nortriptyline has demonstrated anti-inflammatory properties in several experimental studies, as well as the ability to complement the action of GCS. The aim of this study was to investigate the effects of nortriptyline, as well as its combination with mometasone, on blood mononuclear cells (MNCs) under conditions of stimulated immune responses (IR) of types 1, 2, and 17. In isolated MNCs from six healthy donors, IR type I, type 2, or type 17 were stimulated in the presence of nortriptyline, mometasone, or their combination by adding recombinant activator proteins (IL-2, IL-25, IL-33, thymic stromal lymphopoietin (TSLP), IL-12, IL-1 β , IL-23). After three days, the concentration of IL-6 and IL-8 was determined in the supernatants by enzyme-linked immunosorbent assay. In the presence of nortriptyline at a final concentration of 10⁻⁵ M, IR type 2 and type 17 were accompanied by a decrease in IL-6 concentration. Addition of a combination of mometasone and nortriptyline to the MNC culture medium under conditions of IR type II activation had a potentiating effect. This was evidenced by a decrease in IL-6 and IL-8 secretion compared to the use of mometasone alone. The study demonstrates the ability of nortriptyline to suppress the secretion of proinflammatory cytokines by blood cells, which is selective and dependent on the type of immune response.

The whole English version is available at <http://pbmc.ibmc.msk.ru>.

Keywords: IL-6; IL-8; blood cells; immune response

Funding. The research was funded by Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research and Russian Science Foundation, project number 23-45-10031.

Received: 23.10.2025; revised: 03.02.2026; accepted: 05.02.2026.