

КЛЕТОЧНЫЕ ТЕСТ-СИСТЕМЫ *in vitro* ДЛЯ ПОИСКА И СРАВНЕНИЯ ИНГИБИТОРОВ TNF- α И IL-17A

© 2022 г. Н. К. Осина¹, *, Е. И. Пугачев¹, Е. В. Орлов¹, Л. Т. Волова¹

¹ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, 443099 Россия

*e-mail: n.k.osina@samsmu.ru

Поступила в редакцию 16.06.2022 г.

После доработки 21.06.2022 г.

Принята к публикации 05.07.2022 г.

Для оценки биологической активности ингибиторов фактора некроза опухоли- α (TNF- α) и интерлейкина-17A (IL-17A) разработаны клеточные тест-системы *in vitro* на основе первичных культур клеток человека, полученных из тканей ювенильных доноров. Фибротест-система основана на количественном анализе продукции провоспалительных цитокинов: MCP-1, IL-6 и IL-8 – в стимулированных TNF- α или IL-17A фибробластах крайней плоти человека (HFF). Хондротест-система основана на использовании культуры хондральных клеток человека, которые были получены из суставной хрящевой ткани дополнительных пальцев ювенильных доноров, прооперированных по поводу полидактилии. С помощью хондротест-системы проведено сравнение биологической активности ингибиторов TNF- α : оригинального препарата Remicade® (MSD, Ирландия) и его биоаналога Infliximab® («Биокад», Россия).

Ключевые слова: клеточная биология, цитокины, IL-17A, TNF- α , ингибиторы, фибротест-система, хондротест-система

DOI: 10.56304/S0234275822040111

Для поиска и тестирования лекарственных препаратов необходим метод определения их биологической активности. Такой метод должен отражать механизм действия лекарственного средства и позволять количественно сравнивать препараты между собой. Для этих целей используют клеточные тест-системы *in vitro* [1–3]. Обычно поиск и тестирование лекарственных средств *in vitro* проводят на иммортализованных культурах клеток. Однако сложная картина генетических изменений в иммортализованных клетках приводит не только к их пролонгированной пролиферации, но затрагивает и ряд других важных характеристик. Это приводит к изменениям в цитотоксичности, проницаемости и утилизации лекарственных средств [1]. Учитывая ключевую роль в выборе типа клеток для поиска и тестирования лекарственных веществ, в современной биотехнологии наметилась тенденция к разработке тест-систем *in vitro* нового поколения, учитывающих физиологические процессы клеток человека *in vivo* при том или ином заболевании [4, 5]. Считается, что в идеале

клеточные культуры для тестирования препаратов *in vitro* должны удовлетворять следующим критериям: это культура немодифицированных клеток человека, хорошо растущих в условиях *in vitro* и экспрессирующих маркеры, специфичные для конкретного заболевания.

Целью представленной работы была разработка тест-системы нового поколения с использованием клеток человека, которые участвуют в патогенезе псориаза (фибротест-система) и ревматоидного артрита (хондротест система).

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Материалы

Первичный материал получали от ювенильных доноров после подписания добровольного информированного согласия законными представителями и одобрения исследования Комитетом по биоэтике ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (протокол № 184 от 03.05.2017). Клетки выделяли методом миграции из измельченных (3–5 мм) фрагментов послеоперационных тканей по методике Гринберга и соавт. [6]. Фрагменты кожи были получены во время операции циркумцизии у маль-

Список сокращений: HFF (human foreskin fibroblasts) – дермальные фибробласты человека, полученные из кожи крайней плоти человека; IL – интерлейкин; TNF- α – фактор некроза опухоли- α .

чиков в возрасте до 10 лет, хрящевая ткань – из ампутированных пальчиков шестипалых младенцев.

Клетки, их культивирование и стимуляция продукции провоспалительных цитокинов

Клетки культивировали в питательной среде 199 (“Биолот”, Россия), содержащей 10% эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (FBS; “Биолот”) и 40 мкг/мл гентамицина (ОАО “Дальхимфарм”, Россия). Для проведения стимуляции клетки высевали на 96-луночный планшет (TPP, Швейцария) в количестве 1.5×10^4 клеток/луночка. Тестирование препаратов проводили при конfluэнтности не менее 80%. За 3 ч до стимуляции клеток культуральную среду меняли на бессывороточную, не содержащую антибиотиков.

Стимуляцию секреции провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8, MCP-1 проводили добавлением в культуральную среду клеток интерлейкина-17A (IL-17A) (Институт белка РАН, Россия) или фактора некроза опухоли- α (TNF- α) (ООО “Мабскейл”, Россия) в концентрации 10 нг/мл. Через 18 ч культуральную среду собирали в микропробирки (“Биолот”) и хранили при -20°C для последующего анализа провоспалительных цитокинов.

Анализ биологической активности ингибиторов TNF- α и IL-17A

В экспериментах по активности лекарственных препаратов как ингибиторов цитокинов TNF- α и IL-17A использовали коммерчески доступные моноклональные антитела соответствующей специфичности.

IL-17A в концентрации 5 нг/мл инкубировали с нетакимабом (“Биокад”, Россия) – моноклональным антителом, связывающим IL-17A, – взятым в дозах 10, 5 и 2.5 нг/мл.

TNF- α в концентрации 2 нг/мл инкубировали с коммерчески доступными моноклональными антителами: адалимумабом и инфликсимабом, – взятыми в 4-кратно снижающихся дозах: 40, 10, 2.5 и 0.625 нг/мл.

Реакционные смеси (содержащие только среду-199 – контроль, среду с IL-17A или TNF- α – стимуляция, среду с IL-17A или TNF- α и соответствующим ингибитором – нейтрализация) инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре, после чего добавляли к клеткам, культивируемыми в 96-луночном планшете. После 18 ч инкубации клеточные супернатанты из каждой лунки перенесли в отдельную микропробирку и хранили при -20°C для последующего анализа секреции провоспалительных цитокинов методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Образцы культуральной среды анализировали в соответствии с инструкциями производителя ИФА (“Вектор-Бест”, Россия). Чувствительность анализа составляла 0.5, 2 и 15 пг/мл для IL-6, IL-8 и MCP-1 соответственно.

Все эксперименты проводили минимум в двух повторах.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В работе представлены примеры клеточных тест-систем, предназначенных для анализа биологической активности соединений, ингибирующих сигнальные каскады TNF- α и IL-17A.

Известно, что цитокины TNF- α и IL-17A играют важную роль синергетических триггеров в патогенезе псориаза кожи, вызывая активацию Т-лимфоцитов, воспалительную инфильтрацию иммунных клеток и ускоренную пролиферацию кератиноцитов в очагах поражения [7–9]. Оба триггера воспаления, TNF- α и IL-17A, усиливают экспрессию воспалительных цитокинов в фибробластах, принимающих участие в патогенезе псориаза [10–12]. Нами проведены эксперименты по изучению продукции провоспалительных цитокинов: IL-6, IL-8 и MCP-1 – в культуральной среде дермальных фибробластов, полученных из кожи крайней плоти человека (human foreskin fibroblasts, HFF). Показано, что в ответ на стимуляцию сигнальными молекулами воспаления: TNF- α и IL-17A – HFF продуцируют в культуральную среду воспалительные цитокины IL-6, IL-8 и MCP-1 (рис. 1).

Исследованных провоспалительных молекул: IL-6, IL-8 и MCP-1 – практически не было в культуральной среде нестимулированных клеток (рис. 1, контроль), но их концентрация резко возрастала при стимуляции клеток TNF- α и IL-17A (рис. 1) и снижалась в присутствии ингибиторов последних. Так, на рис. 2 представлены результаты анализа концентрации хемокина MCP-1 в культуральной среде TNF- α -стимулированных клеток в присутствии адалимумаба (Humira®; AbbVie, США) – рекомбинантного моноклонального антитела против TNF- α .

Добавление к дермальным фибробластам смеси TNF- α с адалимумабом приводило к зависимому от концентрации ингибитора снижению продукции MCP-1 в культуральной среде. На основании этих данных была создана фибротест-система *in vitro*, позволяющая оценить биологическую активность лекарственных средств с TNF- α -ингибирующей активностью. Эта фибротест-система также может быть использована для анализа биологической активности ингибиторов IL-17A, применяемых для лечения псориаза. Современные стратегии развития фармацевтической промышленности России ориентированы на импортозамещение в

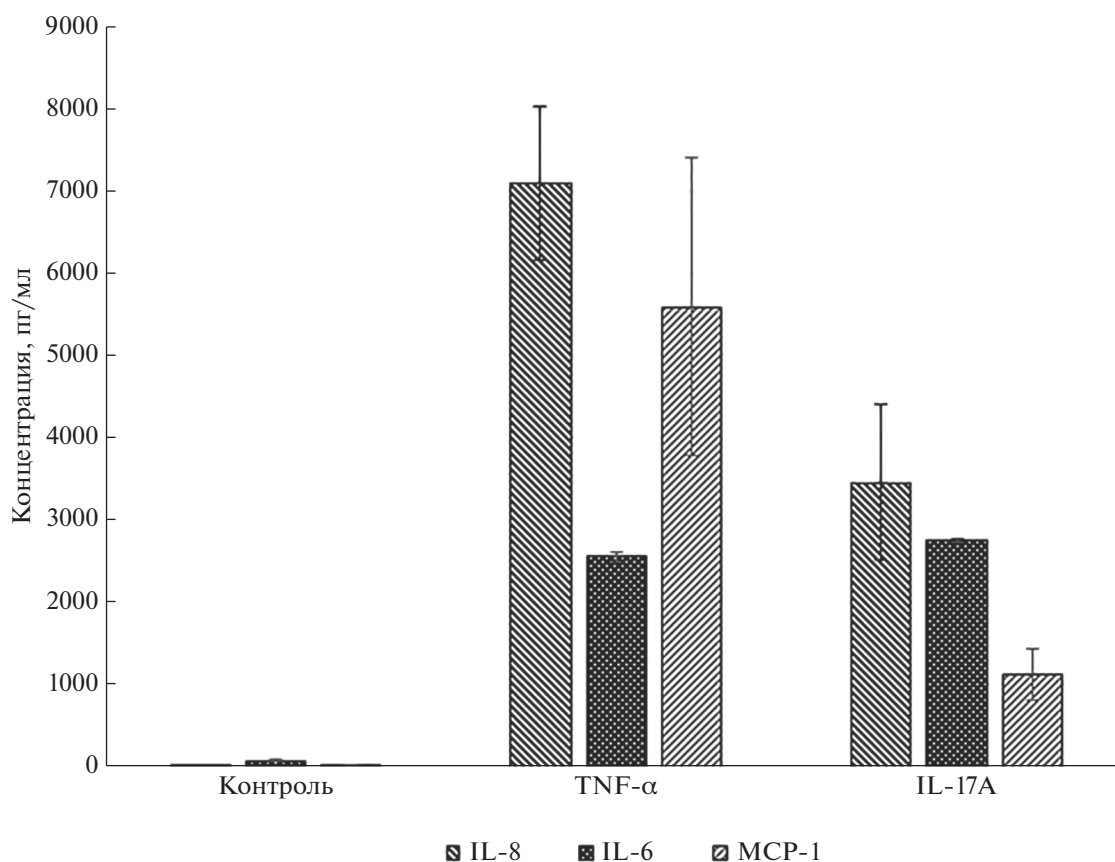


Рис. 1. TNF- α - и IL-17A-зависимая стимуляция продукции провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8 и MCP-1 фибробластами крайней плоти человека (HFF). Содержание цитокинов IL-6, IL-8 и MCP-1 в культуральной среде HFF, не стимулированных ни TNF- α , ни IL-17A (контроль), и в присутствии TNF- α (TNF) или IL-17A в концентрации 10 нг/мл. Результаты представлены в виде среднего \pm стандартное отклонение ($M \pm SD$).

Fig. 1. TNF- α - and IL-17A-dependent production of proinflammatory cytokines IL-6, IL-8 and MCP-1 by human foreskin fibroblasts (HFF). The amounts of cytokines (IL-6, IL-8 and MCP-1) in the growth medium of HFF cells cultured without stimulation by TNF- α and IL-17A (control) and in the presence of TNF- α (TNF) or IL-17A at a concentration of 10 ng/mL. The results are present as mean \pm standard deviation ($M \pm SD$).

том числе и лекарственных препаратов. В апреле 2018 года в России зарегистрировано оригинальное гуманизированное моноклональное антитело, специфичное к IL-17A, — нетакимаб (Эфлейра®; “Биокад”) [13]. С помощью фибротест-системы нами раннее проведено детальное исследование зависимости продукции цитокинов IL-6 и IL-8 от дозы нетакимаба — IL-17A-ингибитора отечественного производства [14]. Дозы нетакимаба, вызывавшие 50%-ное ингибирование продукции IL-6 и IL-8, составили 3.83 и 1.51 нг/мл соответственно.

Таким образом продемонстрировано, что биологическая активность TNF- α - и IL-17A-ингибиторов, применяемых для лечения псориаза, может быть оценена в условиях *in vitro* с использованием фибротест-системы, основанной на дермальных клетках ювенильных доноров.

Клинически доказано, что ингибиторы TNF- α являются высокоэффективными препаратами для лечения заболеваний опорно-двигательного ап-

парата, таких как ревматоидный артрит, болезнь Бехтерева и др. Первыми моноклональными антителами, использованными для лечения этих заболеваний, были такие TNF- α -ингибиторы, как адалимумаб (Humira®, США), этанерцепт (Enbrel®, США) и инфликсимаб (Remicade®, США). С тех пор создано множество биоаналогов анти-TNF- α [15]. Так, Inflectra® (Hospira Inc., США) Remsima® (Celltrion Inc., Южная Корея); Flammegis® (Egis Pharmaceuticals, Венгрия) — это биоаналоги инфликсимаба. В январе 2018 года биоаналог инфликсимаба BCD-055, разработанный отечественной биотехнологической компанией “Биокад”, был одобрен для медицинского применения в России [16]. Спектр биоаналогов на фармацевтическом рынке расширяется с каждым годом и настала необходимость в сравнении их биологической активности современными методами.

Для сравнения биологической активности лекарственных средств с TNF- α -ингибирующей ак-

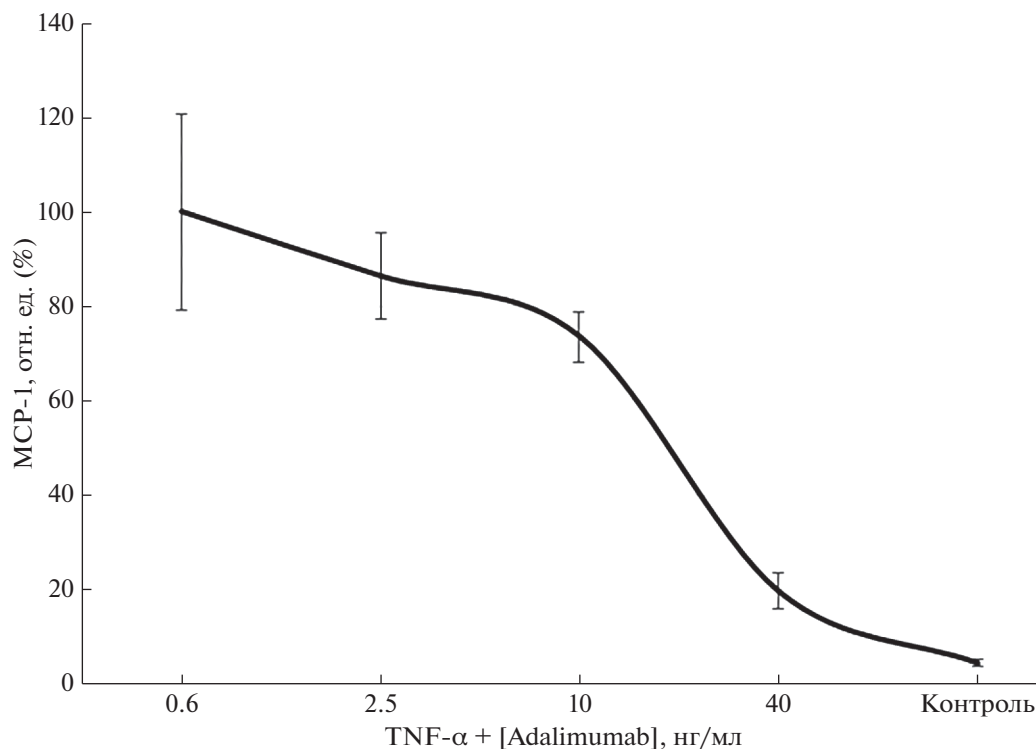


Рис. 2. Анализ продукции MCP-1 TNF- α -стимулированными клетками HFF в присутствии TNF- α -ингибитора адалимумаба. В присутствии адалимумаба дозозависимым образом снижается концентрация хемокина MCP-1 в культуральной среде клеток HFF, стимулированных TNF- α . Максимальное содержание MCP-1 в культуральной среде клеток, стимулированных TNF- α , без добавления ингибитора, принято за 100%; контроль – клетки, не содержащие ни TNF- α , ни адалимумаб.

Fig. 2. Analysis of MCP-1 production by TNF- α -stimulated HFF cells in the presence of TNF- α inhibitor adalimumab. In the presence of adalimumab, the concentration of the chemokine MCP-1 in the culture medium of TNF- α -stimulated HFF cells decreased in a dose-dependent manner. The maximum concentration of MCP-1 in the growth medium of cells stimulated with TNF- α was taken as 100%; the control was the content of MCP-1 in the culture medium of cells that did not contain TNF- α and its inhibitor.

тивностью нами была разработана и апробирована хондротест-система, основанная на использовании ювенильных хондральных клеток человека [17]. Воспаление суставов сопровождается изменением экспрессии воспалительных цитокинов и протеаз, разрушающих матрикс хрящевой ткани. Хрящ представляет собой уникальную ткань, состоящую только из двух компонентов: хондральных клеток и производимого ими матрикса. Многочисленные попытки получить иммортализованные культуры хондральных клеток человека, пригодных для изучения механизмов воспаления, не привели к положительным результатам. Как было показано, иммортализованные клеточные линии хондроцитов человека T/C-28a2 и SW-1353 не подходят для изучения механизма действия классических провоспалительных стимулов [18]. Длительное репрограммирование индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPSC) или мезенхимальных стволовых клеток (MSC) в хондроциты приводит к получению частично дифференцированной популяции клеток, что делает невозможным их использование для разра-

ботки тест-систем [19, 20]. Неудачные попытки создания пригодных для тестирования культур хондроцитов человека позволяют считать хондральные клетки ювенильных доноров, обладающие способностью продуцировать медиаторы воспаления после пролонгированного культивирования *in vitro* (месяцы), уникальной культурой клеток, пригодной для создания тест-систем [21]. Используя эту хондротест-систему, мы провели сравнение биологической активности ингибиторов TNF- α : оригинального препарата Remicade® (MSD, Ирландия) и его биоаналога Инфликсимаб® (“Биокад”, Россия) (рис.3).

Биоаналоги – это биологические лекарственные препараты, содержащие версию действующего вещества оригинального биопрепарата и имеющие эквивалентный профиль эффективности с последним. Чтобы сохранить профиль эффективности оригинального биопрепарата, при разработке биоаналога наибольшее значение придается функциональным испытаниям, которые позволяют выявить любые различия между двумя препаратами

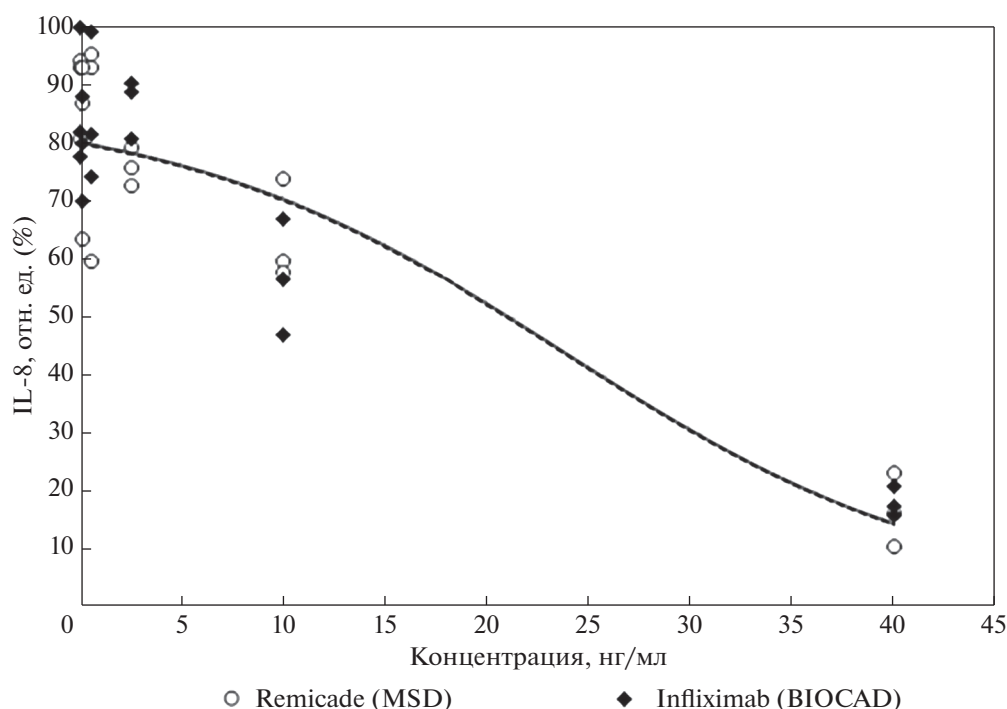


Рис. 3. Сравнение биологической активности препарата Remicade® (MSD, Ирландия) и его биоаналога Инфликсимаб® (“Биокад”, Россия) проведено с использованием хондротест-системы. Математическое моделирование выполнено в среде статистического пакета SPSS21. Зависимость наблюдаемых в эксперименте значений концентрации IL-8 от дозы ингибиторов TNF- α построена аппроксимацией S-образной функции – 4-параметрической логистической регрессией. Максимальное содержание IL-8, продуцируемого клетками при стимуляции TNF- α (2 нг/мл) без добавления ингибиторов, принято за 100%.

Fig. 3. Comparison of the biological activity of Remicade® (MSD, Ireland) with its biosimilar Infliximab® (BIOCAD, Russia) was carried out by Chondro-based bioassay. Mathematical modeling was performed using the SPSS21 statistical package. Depending on the dose of TNF- α inhibitors, the experimental values of IL-8 concentration were approximated by an S-shaped function – 4-parameter logistic regression. The maximum concentration of IL-8, produced by cells upon stimulation with TNF- α (2 ng/mL) in the absence of inhibitors was taken as 100%.

на молекулярном уровне и оценить их клиническую значимость. Нами впервые в мире создана хондротест-система, основанная на использовании немодифицированных хондральных клеток человека, которые непосредственно вовлечены в патогенез ревматоидного артрита. Разработанная хондротест-система позволяет сравнить биологическую эффективность любых ингибиторов TNF- α и, в частности, продемонстрировала, что биологическая активность Инфликсимаба® (“Биокад”, Россия) сопоставима по эффективности ингибирования воспалительного цитокина IL-8 с оригинальным препаратом Remicade® (MSD, Ирландия). Как видно из рис. 3, с помощью разработанной хондротест-системы оба лекарственных препарата: Ремикэйд® и его биоаналог Инфликсимаб® – показали абсолютно идентичное ингибирование TNF- α -стимулированной продукции провоспалительного цитокина IL-8. Таким образом, с помощью разработанной хондротест-системы удалось показать, что биоаналог Инфликсимаб® имеет эквивалентный профиль биологической эффективности с оригинальным препаратом Remicade®.

Известно, что в зависимости от типа клеток лекарственные препараты могут оказывать различное фармакологическое действие. В представленной работе мы обосновали универсальный принцип создания клеточных тест-систем для определения биологической активности лекарственных средств с использованием профильных клеток, полученных из тканей человека (хрящ, кожа, кровь и др.), характерных для того или иного заболевания. Такой подход может быть использован в научных исследованиях для экспресс-скрининга впервые синтезированных соединений и при решении прикладных задач, таких как оценка эффективности воспроизведенных (биоаналогичных) препаратов и возможности репозиционирования известных лекарственных средств, а также в персонифицированной медицине.

Авторы выражают искреннюю благодарность Н.А. Максименко, О.П. Данильченко и Н.В. Комаровой за техническую помощь и ценные замечания.

Исследования проведены в соответствии с положениями Хельсинской Декларации по иссле-

дованиям с участием человека. Протокол исследования одобрен Комитетом по биоэтике ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (протокол № 184 от 03.05.2017).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Horvath P., Aulner N., Bickle M., Davies A., Nery E., Ebner D., Montoya M., Ostling P., Pietiainen V., Price L., Shorte S., Turcatti G., Von Schantz C., Carragher N. Screening out irrelevant cell-based models of disease. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2016, 15(11), 751–769. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.175>
2. Michelini E., Cevenini L., Mezzanotte L., Coppa A., Roda A. Cell-based assays: fuelling drug discovery. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2010, 398(1), 227–238. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-3933-z>
3. Podgurskaya A.A., Tsvelaya V.A., Slotvitsky M.M., Dementyeva E.V., Valedzina K.R., Agladze K.I. The use of iPSC-derived cardiomyocytes and optical mapping for erythromycin arrhythmogenicity testing. *Cardiovasc. Toxicol.*, 2019, 19(6), 518–528. <https://doi.org/10.1007/s12012-019-09532-x>
4. Eglén R., Reisine T. Primary cells and stem cells in drug discovery: emerging tools for high-throughput screening. *Assay Drug Dev. Technol.*, 2011, 9(2), 108–124. <https://doi.org/10.1089/adt.2010.0305>
5. Dunne A., Jowett M., Rees S. Use of primary human cells in high-throughput screens. *Methods Mol. Biol.*, 2009, 565, 239–257. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-258-2_12
6. Гринберг К.Н., Кухаренко В.И., Ляшко В.Н., Терехов С.М., Пицугина Е.М., Фрейдун М.И., Черников В.Г. Культивирование фибробластов человека для диагностики наследственных болезней. *Методы культивирования клеток. Сб. научн. трудов*, Ленинград, Наука, 1987, 250–257.
7. Wang C.Q.F., Akalu Y.T., Suarez-Farinas M., Gonzalez J., Mitsui H., Lowes M.A., Orlov S.J., Manga P., Krueger J.G. IL-17 and TNF synergistically modulate cytokine expression while suppressing melanogenesis: potential relevance to psoriasis. *J. Invest. Dermatol.*, 2013, 133(12), 2741–2752. <https://doi.org/10.1038/jid.2013.237>
8. Martin D.A., Towne J.E., Kricorian G., Klekotka P., Gudjonsson J.E., Krueger J.G., Russell C.B. The emerging role of IL-17 in the pathogenesis of psoriasis: pre-clinical and clinical findings. *J. Invest. Dermatol.*, 2013, 133(1), 17–26. <https://doi.org/10.1038/jid.2012.194>
9. Onishi R.M., Gaffen S.L. Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease. *Immunology*, 2010, 129(3), 311–321. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2009.03240.x>
10. Wright J.F., Bennett F., Li B., Brooks J., Luxenberg D.P., Whitters M.J., Tomkinson K.N., Fitz L.J., Wolfman N.M., Collins M., Dunussi-Joannopoulos K., Chatterjee-Kishore M., Carreno B.M. IL-17RA/IL-17RC receptor complex cytokine signals through the human IL-17F/IL-17A heterodimeric. *J. Immunol. Ref.*, 2008, 181, 2799–2805. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.4.2799>
11. Debets R., Hegmans J.P., Deleuran M., Hooft S., Benner R., Prens E.P. Expression of cytokines and their receptors by psoriatic fibroblasts I. Altered IL-6 synthesis. *Cytokine*, 1996, 8(1), 70–79. <https://doi.org/10.1006/cyto.1996.001011>
12. Beringer A., Noack M., Miossec P. IL-17 in chronic inflammation: from discovery to targeting. *Trends Mol. Med.*, 2016, 22(3), 230–241. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2016.01.001>
13. Кубанов А.А., Бакулев А.Л., Самцов А.В., Хайрутдинов В.Р., Соколовский Е.В., Кохан М.М., Артемьева А.В., Черняева Е.В., Иванов Р.А. Нетакимаб — новый ингибитор ИЛ-17А: результаты 12 недель клинического исследования III фазы BCD-085-7/PLANETA у пациентов со среднетяжелым и тяжелым вульгарным псориазом. *Вестник дерматологии и венерологии*, 2019, 95(2), 15–28. <https://doi.org/10.25208/0042-4609-2019-95-2-15-28>
14. Осина Н.К., Пугачев Е.И., Коляденко И.А., Пряжкина В.В., Шакуров Э.Г., Орлов Е.В., Волова Л.Т. Тест-система *in vitro* для скрининга лекарственных препаратов с ИЛ-17А ингибирующей активностью. *Гены и клетки*, 2021, 16(1), 43–48. <https://doi.org/10.23868/202104006>
15. Declerck P., Farouk R.M. The road from development to approval: evaluating the body of evidence to confirm biosimilarity. *Rheumatology (Oxford)*, 2017, 56(4), 4–13. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kex27916>
16. Каратеев Д.Е., Мазуров В.И., Зонина Е.В., Несмеянова О.Б., Плаксина Т.В., Кречикова Д.Г., Решетько О.В., Денисов Л.Н., Гордеев И.Г., Покровская Т.Г., Антипова О.В., Кропотина Т.В., Поварова Т.В., Шестерня П.А., Ушакова Е.Н., Сорока Н.Ф., Пристром А.М., Еремеева А.В., Черняева Е.В., Иванов Р.А., Усачева Ю.В. Сравнительная эффективность и безопасность биоаналога инфликсимаба (BCD-055) и оригинального инфликсимаба у пациентов с анкилозирующим спондилитом (результаты международных многоцентровых рандомизированных двойных слепых клинических исследований I и II фазы). *Современная ревматология*, 2017, 11(3), 14–25. <https://doi.org/10.14412/1996-7012-2017-3-14-25>
17. Volova L.T., Pugachev E.I., Rossinskaya V.V., Boltovskaya V.V., Dolgushkin D.A., Ossina N.K. Rheumatoid arthritis: applicability of ready-to-use human cartilaginous cells for screening of compounds with TNF-alpha inhibitory activity. *Biomolecules*, 2020, 10(11), 1563. <https://doi.org/10.3390/biom10111563>
18. Santoro A., Conde J., Scotece M., Abella V., López V., Pino J., Gómez R., Gómez-Reino J.J., Gualillo O. Choosing the right chondrocyte cell line: focus on nitric oxide. *J. Orthop. Res.*, 2015, 33(12), 1784–1788. <https://doi.org/10.1002/jor.22954>
19. Суханов Ю.В., Воротеляк Е.А., Лядова И.В., Васильев А.В. Терапия мезенхимальными стволовыми клетками — сосуд наполовину полон или наполовину пуст? *Онтогенез*, 2020, 316–320. <https://doi.org/10.31857/S0475145020040102>
20. Somoza R.A., Welter J.F., Correa D., Caplan A.I. Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells: challenges and unfulfilled expectations. *Tissue Eng. Part B Rev.*, 2014, 20(6), 596–608. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2013.0771>
21. Осина Н.К., Волова Л.Т. Способ использования хондральных клеток для скринирования веществ, обладающих противовоспалительной активностью. Патент RU 2683277 C1, опублик. 27.03.2019. <https://patents.google.com/patent/RU2683277C1/ru>

Cell Culture-Based *in vitro* Test Systems for Screening and Comparison of TNF- α and IL-17A Inhibitors

N. K. Ossina^{a, #}, E. I. Pugachev^a, E. V. Orlov^a, and L. T. Volova^a

^aSamara State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Samara, 443099 Russia

[#]e-mail: n.k.osina@samsmu.ru

Abstract—Based on primary human cell cultures obtained from tissues of juvenile donors, bioassays to assess *in vitro* the biological activity of TNF- α and IL-17A inhibitors have been developed. The fibro-bioassay system included the quantification of pro-inflammatory cytokines MCP-1, IL-6 and IL-8 in human foreskin fibroblasts (HFF) stimulated with TNF- α and IL-17A. The chondro-bioassay is based on cartilage-derived cell culture obtained from six-fingered juvenile donors with polydactyly. Using the chondro-test system, the biological activities of the TNF- α inhibitor Remicade[®] (MSD, Ireland) as an original commercial drug and its biosimilar Infliximab[®] (BIOCAD, Russia) were compared.

Keywords: cellular biology, cytokines, IL-17A, TNF- α , inhibitors, fibro-test system, chondro-test system

Свидетельство о регистрации средства массовой информации
 ПИ № ФС77-75946 от 13 июня 2019 г., выдано Федеральной службой по надзору в сфере связи,
 информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)

Подписано к печати 19.07.2022 г.

Формат 60 × 88¹/₈

Усл. печ. л. 15.16

Уч.-изд. л. 15.50

Тираж 117 экз.

Зак. 5362

Цена договорная

Учредители: Федеральное государственное бюджетное учреждение
 «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»

Издатель: НИЦ "Курчатовский институт", 123182, Россия, г. Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1

Изготовитель оригинал-макета ООО "ТЕМАТИЧЕСКАЯ РЕДАКЦИЯ",

125252, г. Москва, ул. Зорге, д. 19, этаж 3, помещ. VI, комн. 44

Отпечатано в типографии «Book Jet» (ИП Коняхин А.В.),

390005, г. Рязань, ул. Пушкина, 18, тел. (4912) 466-151