

# Влияние криоконсервированных клеток фетальной печени на иммуноморфологические особенности кожи при atopическом дерматите

Л.А. НОСЕНКО, М.А. СИРОУС, М.В. ОСТАНКОВ, И.В. РАССОХА, А.Н. ГОЛЬЦЕВ  
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

## Effect of Cryopreserved Fetal Liver Cells on Immune Morphological Peculiarities of Skin at Atopic Dermatitis

L.A. NOSENKO, M.A. SIROUS, M.V. OSTANKOV, I.V. RASSOKHA, A.N. GOLTSEV  
Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

Атопический дерматит (АД) является важной медико-социальной проблемой, значимость которой определяется неуклонным ростом заболеваемости, его хроническим, рецидивирующим течением и сложностью в проведении терапии. Это системное заболевание связано не только с реакцией иммунокомпетентных клеток на антигены *in situ*, но и отображает “возбуждение” иммунной системы в целом. Перспективным методом лечения АД, как иммунозависимой патологии, могут быть препараты из фетальных тканей. Высокая эффективность этих препаратов как иммунокорректоров при различных аутоиммунных заболеваниях обусловила необходимость их криоконсервирования и длительного хранения для дальнейшего использования в клинической практике.

Цель работы – экспериментальное обоснование возможности применения криоконсервированных клеток фетальной печени (КФП) для лечения АД.

Экспериментальный АД моделировали на 6-месячных крысах линии Вистар 6 месяцев по методу Залкан П.М. и Ивлевой Е.А. (1965). Ежедневно в течение 21-х суток в кожу спины крысы втирали 5%-й спиртово-ацетоновый раствор динитрохлорбензола. КФП криоконсервировали по методу Цуцаевой А.А. и соавт. (1983). Степень выраженности АД оценивали от 0 до 5 баллов по общему состоянию, поведению, а также по толщине кожной складки и проявлению воспаления на 1-, 3-, 5- и 7-е сутки после сенсibilизации и лечения. Для выявления иммунных нарушений на локальном уровне проводили иммунофенотипирование клеток кожного инфильтрата методом проточной цитофлуориметрии (FACS Calibur, BD, США) и моноклональных антител к молекулам CD3, CD4, CD8, CD16, CD72, CD4, CD25 (BD Pharmingen, США). Статистическую обработку полученных результатов проводили параметрическим методом с помощью t-критерия Стьюдента-Фишера.

Морфологический субстрат клеточного инфильтрата участка манифестации у крыс с АД характеризовался преобладающим большинством Т-хелперов/индукторов с недостаточной численностью Т-супрессорно-цитотоксических. На 5-е сутки у крыс с АД после лечения криоконсервированными КФП были отмечены снижение кожной воспалительной реакции, а также количества лимфоцитов и клеток Лангерганса. Наблюдали повышение хемотаксиса нейтрофилов и моноцитов, восстановление фагоцитоза, повышение субпопуляции Т-супрессоров и активности естественных киллеров, транзиторное повышение содержания IgA и снижение концентрации IgE и Т-регуляторов.

Таким образом, криоконсервированные клетки фетальной печени оказывали выраженный эффект при лечении АД.

Atopic dermatitis (AD) is an important medical and social problem, the value of which is determined by constant growth of morbidity, its chronic, recurrent course and complexity in therapy performance. This system disease is not only associated with reaction of immune competent cells (ICCs) on AG *in situ*, but also it reflects “excitation” of the whole immune system. The perspective method of AD treatment as immune dependent pathology could be the application of fetal tissues preparations. Their high efficiency as immune correcting agents under different autoimmune diseases, stipulated the need of their cryopreservation and long-term storage for following use in clinical practice.

The research aim is to experimentally substantiate the possible use of cryopreserved fetal liver cells (FLC) to treat AD.

Experimental AD as the model of delayed response was initiated in Wistar rats aged of 6 months according to the method of Zalkan P.M. and Ivleva E.A. (1965). Each day during 21 day the 5% alcohol-acetone solution of dinitrochlorobenzol was applied into back skin of rats. FLCs were cryopreserved according to the method of Tsusayeva A.A. *et al.* (1983). The manifestation degree of AD was examined by animal’s general state, behaviour, as well as on the thickness of skin fold and manifested inflammation to the 1<sup>st</sup>, 3<sup>th</sup>, 5<sup>th</sup> and 7<sup>th</sup> days after sensibilization and treatment, assigning the points from 0 to 5. To reveal immune disorders at a local level there was performed an immune phenotyping of skin infiltrate cells by means of flow cytometry (FACS Calibur, BD, USA) and monoantibodies to CD3, CD4, CD8, CD16, CD72, CD4 and CD25 molecules (BD Pharmingen, USA). The obtained results were statistically processed by parametric method using the Student-Fisher t-criterion.

Morphological substrate of cell infiltrate of the manifestation site in the rats with AD was characterized with prevailing majority of helper/inducer T cells with insufficient number of suppressor-cytotoxic T cells. To the 5<sup>th</sup> day in rats with AD after treatment with cryopreserved FLCs was found the reduction of skin inflammatory reaction as well as number of lymphocytes and Langerhans cells. There was observed the rise in chemotaxis of neutrophils and monocytes, recovery of phagocytosis, increase in T suppressor subpopulation and activity of natural killers; transitory enhancement of IgA content and reduction of IgE and regulator T cell concentration.

Thus the cryopreserved cells of fetal liver contributed significantly in AD treatment.