УДК 616.5-002-056.3:612.017.1:612.647.035:615.014.41
https://doi.org/10.31071/promedosvity2021.02.032

СУЧАСНИЙ ПІДХІД ДО ТЕРАПІЇ АТОПІЧНОГО ДЕРМАТИТУ КОНСЕРВОВАНИМИ КЛІТИНАМИ ФЕТАЛЬНОЇ ПЕЧІНКИ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

Л. А. Леонова, канд. біол. наук Л. В. Останкова, канд. біол. наук М. О. Бондарович, канд. біол. наук М. В. Останков, проф., акад. НАН України А. М. Гольцев

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

Одним із актуальних питань сучасної дерматології є атопічний дерматит (АтД), що зумовлено мультифакторністю патоґенезу, значною розповсюдженістю хвороби, почастішанням ускладненого перебігу, відсутністю радикальних методів терапії. Доцільність застосування кріоконсервованих клітин фетальної печінки (кКФП) для лікування АтД обґрунтована широким спектром продукованих ними біологічно активних речовин із імуномодулюючою й протизапальною активністю. Розкриття механізмів терапевтичної дії біотерапевтичних препаратів у разі АтД передбачає визначення стану клітинної і гуморальної ланок імунної системи (ІС). У зв'язку з цим метою роботи була оцінка ефективності застосування кКФП за характерними клінічними й імунологічними показниками у щурів із АтД. Результатами дослідження у щурів із АтД установлено порушення в ІС, які виявляються в зниженні загальної кількості Т-лімфоцитів і їх субпопуляцій у селезінці, у підвищенні в сироватці крові рівня циркулюючих імунних комплексів і низки імуноглобулінів, зниженні фагоцитарної активності клітин перитонеальної порожнини. Терапія з використанням кКФП, на відміну від стандартного методу лікування із застосуванням преднізолону, значно поліпшує лікувальний ефект, що демонструється відновленням показників клітинної та гуморальної ланки системи імунітету у тварин із АтД. Наведено ампліфікуючий ефект поєднаного застосування кКФП і преднізолону на низку показників імунної системи в разі АтД.

Ключові слова: *атопічний дерматит, кріоконсервовані клітини фетальної печінки, імунна система, преднізолон.*

Атопічний дерматит (АтД), також відомий як атопічна екзема, є хронічним і рецидивним запальним захворюванням шкіри, яке за останні кілька десятиліть широко розповсюдилося, особливо в розвинених країнах.

Згідно з даними ВООЗ (WHO) «Global Burden of Diseases», 2010 р. на АтД хворіли близько 230 млн осіб у всьому світі, що склало понад 3 % населення світу [1].

За даними епідеміологічних досліджень, рівень захворюваності на цю недугу в усьому світі варіює в широких межах навіть між генетично схожими популяціями, проте розповсюдженість АтД збільшилася в 2–3 рази за останні десятиліття в промислово розвинених країнах, особливо в Сполучених Штатах Америки (США), Європі і Японії, досягаючи майже 30 % випадків захворювання серед деяких груп населення [2].

Причини такого збільшення невідомі, хоча кілька систематизованих великомасштабних досліджень засвідчують, що це можуть бути численні генетичні, соціальні та/або екологічні чинники.

Патоґенез АтД складний, мультифакторіальний і поєднує в собі дисфункцію шкірного бар'єру, імунну дисрегуляцію на місцевому (в шкірі) і системному рівні, дисбіоз бактеріального мікробіома шкіри й генетичні фактори [3]. Порушення шкірного бар'єру пов'язують із мутаціями або порушенням експресії гена філаггріна, який кодує структурний білок, що забезпечує формування шкірного бар'єру. До зниження надійності цього бар'єру стосуються порушення регуляції ліпідного обміну, поряд зі зменшенням вмісту церамідів, що є важливим чинником, який призводить до трансепідермальної втрати води та підвищеного проникнення подразників, алергенів

і різної мікрофлори в шкіру [4]. Порушення бар'єру спричиняє хронічні запалення і як наслідок гіперплазію епідермісу, клітинну інфільтрацію (разом із дендритними клітинами, еозинофілами і Т-клітинами). Клітини інфільтруючі ділянки пошкодженої шкіри в разі АтД, виступають продуцентами низки прозапальних цитокінів, які дають змогу перевести імунну відповідь із місцевого рівня на системний. Це своєю чергою створює можливість судити про ефективність проведеного імунотропного лікування АтД як за показниками місцевого (топічного), так і системного імунітету. Нині існує концепція двофазної імунної відповіді в разі АтД. Так, у першу фазу імунної відповіді за гострого запалення в разі АтД відбувається активація Т-хелперів (Тх) 2 типу (Тх2) імунної відповіді різними антигенами, які проникають через шкіру, і вироблення специфічних IgE антитіл В-клітинами. Активація синтезу IgE-антитіл є провідною патогенетичною ланкою в розвитку АтД. За хронічного перебігу АтД відбувається перемикання Тх2 імунної відповіді на Тх 1 типу (Тх1) із одночасним зниженням продукції цитокінів Тх2-профілю [5]. На цьому тлі клітини Тх22, які секретують інтерлейкін (ІЛ) 22, і меншою мірою клітини Тх17, що секретують ІЛ-17, відіграють важливу роль в ініціації та підтримці АтД [6, 7].

Приєднання вторинної інфекції, що має хронічний і рецидивний характер [8], на тлі розбалансування стану місцевого та системного імунітету в разі АтД є показанням для лікування цього захворювання імуномодулюючими препаратами [9, 10]. Створення препаратів, здатних модулювати імунну відповідь за рахунок мобілізації клітинної, гуморальної ланки і моноцитарно-фагоцитарної системи, може виявити нові шляхи в патогенетично обґрунтованому лікуванні АтД.

Зважаючи на все наведене, в цій роботі як такі запропоноване застосування суспензії кріоконсервованих клітин фетальної печінки (кКФП). Здатність кКФП таргетно впливати на різні ланки імунітету була продемонстрована в роботах [10, 11], у яких відображена виражена імуномодулююча активність цих клітин, що зберігається після їх кріоконсервування за розробленими раніше режимами [12].

Мета роботи — оцінити ефективність застосування кріоконсервованих клітин фетальної печінки для корекції імунної системи щурів з атопічним дерматитом.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експерименти були проведені на щурах-самцях 6-місячного віку, масою 180–200 г відповідно до правил «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментів або в інших наукових цілях» (The European Convention, 1986), а також відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.). Експериментальна частина роботи виконана відповідно до висновку Комітету з біоетики при ІПКіК НАН України: протокол № 7 від 26.02.2019 р. Лабораторні тварини, використані в експериментальній роботі, містилися в умовах віварію ІПКіК НАНУ.

Фетальну печінку отримували від ембріонів щурів 14 діб гестації. Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації в ранкові години. Суспензію КФП отримували методом механічної дисоціації органа в середовищі 199 із 3 % ембріональної телячої сироватки і 2 % цитратом натрію (робочий розчин). Клітини кріоконсервованих під захистом 10 % розчину ДМСО на програмному заморожувачі УОП-06 (СКТБ із ДВ ІПКіК НАН України) розморожували на водяній бані за 40 °С до повного зникнення твердої фази. Для відмивання клітин від кріопротектора одноразово повільно додавали дорівняний до обсягу суспензії робочий розчин Хенкса з наступним центрифугуванням протягом 10 хв за 300 g. Життєздатність КФП оцінювали методом суправітального зафарбовування 0,2 % розчином трипанового синього і методом проточної цитофлуориметрії FACS Calibur фірми «BD Bioscience», (США) із використанням пропідію йодиду (PI).

Ініціювали АтД за методом авторів [13]. Експериментальним тваринам щодня протягом 21 доби в попередньо депільованих ділянках шкіри спини (3 × 4 $см^2$) втирали по 0,5 мл 5 % спиртово-ацетонового розчину 2,4-динітрохлорбензолу (ДНХБ). Усього під спостереженням перебувало 63 щури, які були розподілені в групи: 1 — інтактні (контроль) (n = 7); 2 — АТ без лікування (n = 14); 3 — АТ + стандартне лікування (преднізолонова мазь) (n = 14); 4 — АТ + кКФП (n = 14); 5 — АТ + кКФП + преднізолонова мазь (n = 14).

Критеріями ефективності проведеного лікування були клінічні ознаки захворювання: ступінь гіперемії ураженої ділянки, відлущування, відторгнення некротизованих вогнищ, гістоморфологічні зміни шкіри хворих щурів без лікування і після застосування кКФП. Шкіру в інтактних щурів і експериментальних тварин досліджували через 28 днів із моменту індукції патології.

Імунокоригувальний ефект кКФП оцінювали за ступенем відновлення показників імунної системи на 7 добу після розвитку АтД та лікування (28 добу після початку індукції патології).

У клітинній ланці імунітету (КЛІ) визначали субпопуляційний склад клітин селезінки методом прямої імунофлюоресценції на проточному цитофлуориметрі (FACS Calibur («BD», США)) із використанням антищурячих ФІТЦ-мічених МАТ («BD», США) до CD3 (загальні Т-лімфоцити), CD4 (Т-хелпери (Тх)), CD8 (Т-супресори (Тс)), CD16 (природні кілери (ПК)), CD19 (В-лімфоцити). Окрім того, розраховували імунорегуляторний індекс (ІІ) за співвідношенням Тх і Тс ($CD4^+/CD8^+$). Для кількісної оцінки Т-регуляторних клітин використовували МАТ до CD4 і CD25 (маркер альфа-субодиниці рецептора ІЛ-2) («BD Pharmingen», США). Імуноглобуліни (Ig) тих самих ізотипів були використані як ізотипічний контроль. Усі процедури й маніпуляції із клітинами проводили стандартним способом відповідно до вказівок фірми-виробника. Аналіз даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення WinMDI 2.8 (J. Trotter, Scripps Research Institute, LA Iolla, США). У кожній пробі аналізували не менше 10 000 лімфоцитів.

Для оцінки елементів гуморальної ланки імунітету (ГЛІ) у сироватці крові визначали циркулюючі імунні комплекси (ЦІК) спектрометричним методом і імуноглобуліни (IgG, IgA, IgM) методом Манчіні [14]. Концентрацію загального IgE в сироватці крові щурів визначали методом імуноферментного аналізу. Фагоцитарну й адгезивну активність клітин (макрофагів) перитонеальної порожнини (ПП) оцінювали згідно з авторами [15].

Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою програми Statisitca v 6.0 («StatSoft», США). Під час множинних порівнянь використовували ранговий аналіз варіацій за Краскелом–Уоллісом, відмінності вважали статистично значущими за $p < 0,05$. У разі отримання статистично значущої різниці проводили попарне порівняння груп із використанням тесту Манна–Уїтні з поправкою Бонферроні за оцінки значень p.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У шкірі щурів, які отримували лікування, на 28 день із моменту початку індукції патології (АтД) дерма була набряклою. У ній відзначали велику кількість екстравазатів поряд із дифузною інфільтрацією лімфоїдними і гістіоцитарними клітинами, що ймовірно пов'язано зі збільшенням проникності стінок судин. Над поверхнею епідермісу шкіри спостерігали серозно-гнійні кірки, водночас роговий шар був відсутній, а зернистий шар епідермісу перебував у стані деструкції.

Уведення кКФП, поєднане з нанесенням преднізолонової мазі щурам із АтД, сприяло в ці терміни максимальному зниженню інтенсивності шкірних запальних реакцій. Меншою мірою лікувальний ефект був визначений у разі використання однієї тільки преднізолонової мазі.

Результати оцінки стану Т-клітинної ланки імунітету на 28 добу після індукції АтД у щурів групи 2 продемонстрували достовірне зниження вмісту загального пулу Т-клітин $CD3^+$ ($p < 0,01$), а також приблизно в рівній мірі субпопуляції $CD4^+$ ($p < 0,01$) і $CD8^+$ ($p < 0,01$) Т-лімфоцитів (табл. 1). Заслуговує на увагу майже дворазове зниження концентрації $CD16^+$ ПК порівняно з показниками у тварин контрольної групи, що узгоджується з даними літератури про зниження чисельності цієї популяції клітин у крові пацієнтів з алергічною і неалергічною формою АтД [16]. Вміст регуляторних Т-лімфоцитів ($CD4^+CD25^+$) у цей термін розвитку патології був дещо підвищеним у тварин із АтД ($p < 0,01$). Такі зміни в разі АтД були описані й іншими авторами [17]. Вони висловили припущення, що це може бути вторинний компенсаторний механізм, викликаний запаленням, якого недостатньо для подолання захворювання.

Проведення стандартного лікування підвищувало як загальний вміст $CD3^+$-клітин, так і субпопуляцій $CD4^+$ і $CD8^+$-лімфоцитів ($p < 0,01$). Водночас ці показники залишалися нижче контрольних значень ($p < 0,01$ в обох випадках). Стандартна терапія забезпечувала також підвищення вмісту $CD16^+$-клітин із цитотоксичною активністю, а також вмісту Т-рег клітин ($p < 0,01$). Підвищення рівня останніх може бути наслідком

Таблиця 1

Субпопуляційний склад імунокомпетентних клітин селезінки у щурів із АтД до і після лікування

Показники, %	Групи тварин				
	Контроль	АтД до лікування	АтД + стандартне лікування (преднізолонова мазь)	АД + кКФП	АД + преднізолонова мазь + кКФП
	1	2	3	4	5
$CD3^+$	41,8 ± 3,5	$15,5 \pm 5,5^{1, 3, 4}$	$26,0 \pm 1,0^{1, 2, 4}$	$38,3 \pm 2,3^{2, 3}$	$39,4 \pm 1,9^{2, 3}$
$CD4^+$	33,6 ± 2,6	$13,5 \pm 2,5^{1, 3, 4, 5}$	$25,6 \pm 1,3^{1, 2, 4, 5}$	$31,9 \pm 2,9^{2, 3}$	$33,2 \pm 3,1^{2, 3}$
$CD8^+$	20,0 ± 0,6	$8,2 \pm 0,2^{1, 3, 4, 5}$	$14,9 \pm 2,7^{1, 2, 4, 5}$	$18,9 \pm 1,0^{2, 3}$	$21,3 \pm 2,0^{2, 3}$
$CD16^+$	14,7 ± 0,7	$7,6 \pm 0,5^{1, 4, 5}$	$8,9 \pm 0,9^{1, 4, 5}$	$13,6 \pm 0,6^{2, 3, 5}$	$14,2 \pm 0,6^{2, 3, 4}$
$CD4^+CD25^+$	3,7 ± 0,1	$4,3 \pm 0,2^{1, 4, 5}$	$5,1 \pm 0,1^{1, 4, 5}$	$4,8 \pm 0,1^{1, 2, 3, 5}$	$5,4 \pm 0,2^{1, 2, 3, 4}$
$CD4^+/CD8^+$IPI	1,68 ± 0,09	1,65 ± 0,17	1,72 ± 0,20	1,69 ± 0,12	l,56 ± 0,15

Примітка. Відмінності достовірні ($p < 0,01$) порівняно: 1 — із контролем; 2 — із групою 2; 3 — із групою 3; 4 — із групою 4; 5 — із групою 5 у відповідні терміни.

стимулюючого впливу преднізолону на синтез GILZ (Glucocorticoid-Induced Leucine Zipper) у дендритних клітинах, що надає їм толерогенних властивостей і здатність збільшувати вміст Treг [18].

Неодноразово ми зазначали, що препарати фетального походження, серед яких і КФП, проявляють імунотропний і імунокоригувальний ефект [10, 11]. Наведені дані підтверджують цю тезу. Так, застосування КФП у щурів групи 4 і 5 нормалізувало вміст $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$-лімфоцитів і IPI ($p > 0,01$ співвідносно до показників контролю). Звертає на себе увагу важливий факт, що застосування імуномодулюючої терапії у вигляді кКФП і здебільшого кКФП із преднізолоновою маззю викликало навіть підвищення вмісту клітин Т-лімфоцитів супресорного типу, тобто Т-рег ($CD4^+CD25^+$). Іншими словами, очевидним є коригувальний ефект від застосування КФП щодо цих показників.

Неодноразово поставало питання про можливість (необхідність) застосування продуктів фетоплацентарного комплексу як самостійної терапії, або ж у поєднанні з базовою (стандартною) терапією за тих чи інших патологій [19, 20]. У порівняльному аспекті важливо зазначити, що позитивний ефект був отриманий у разі використання кКФП як монотерапії, так і за одночасного їх використання з преднізолоном, що слід розцінювати як збереження в кріоконсервованому матеріалі тих активних начал, які реалізують імунокоригувальний ефект щодо КЛІ. Одночасне застосування імуносупресора преднізолону і кКФП стимулює позитивний фармакодинамічний вплив останнього на імунну систему щурів із АтД. Цей факт акцентує увагу на тому, що змішана терапія може бути корисною на практиці в клінічній дерматології, у тому числі в пацієнтів із АтД, і потребує подальших досліджень.

Аналогічну картину спостерігали й у разі оцінювання результатів ГЛІ (табл. 2). Незважаючи на відсутність достовірних відмінностей у концентрації В-лімфоцитів ($CD19^+$) у крові щурів із АтД порівняно з контролем, вміст IgA, IgM, IgE, а також ЦІК, достовірно зростав у разі розвитку такої патології. Це дає підставу вважати задіяним механізм гуморальної опосередкованості алергічного запалення.

Стандартна терапія не змінила рівень більшості показників ГЛІ ($p > 0,01$ у всіх випадках), за винятком невеликого зниження концентрації IgE ($p < 0,01$), хоча в усіх тварин цієї групи рівень IgE був достовірно вище, ніж у контрольній групі $p < 0,01$). Використання для лікування кКФП як без, так і в поєднанні з преднізолоновою маззю нормалізувало здебільшого спочатку змінені характеристики ГЛІ щодо їх порушень, що розвинулися на тлі АтД. Одночасне застосування двох препаратів дало змогу знизити вдвічі рівень IgE, максимально наблизивши його до контрольних значень.

Таблиця 2

Показники гуморальної ланки імунітету у щурів із АтД і після лікування

Показники, %	Групи тварин				
	Контроль	АтД до лікування	АтД + стандартне лікування (преднізолонова мазь)	АтД + кКФП	АтД + кКФП + преднізолонова мазь
	1	2	3	4	5
ЦІК	2,5 ± 0,5	6,5 ± 1,1[1, 4, 5]	5,8 ± 1,0[1, 4, 5]	3,4 ± 0,6[1, 2, 3]	3,2 ± 0,5[1, 2, 3]
IgG, g/l	9,0 ± 1,0	9,2 ± 1,1	9,5 ± 1,2	9,4 ± 0,5	9,8 ± 0,4
IgA, g/l	1,5 ± 0,1	2,4 ± 0,1[1, 4, 5]	2,0 ± 0,2[1, 4, 5]	1,6 ± 0,2[2, 3]	1,5 ± 0,1[2, 3]
IgM, g/l	1,6 ± 0,1	2,3 ± 0,1[1, 4, 5]	2,1 ± 0,2[1, 4, 5]	1,7 ± 0,1[2, 3]	1,6 ± 0,3[2, 3]
IgE IU/ml	135,3 ± 9,5	330,6 ± 20,6[1, 3, 4, 5]	226,0 ± 29,0[1, 2, 4, 5]	164,8 ± 10,80[1, 2, 3, 5]	145,9 ± 9,70[1, 2, 3, 4]
$CD19^+$%	8,6 ± 1,6	10,0 ± 1,0	9,8 ± 0,8	9,2 ± 1,2	9,4 ± 1,0

Примітка. Відмінності достовірні ($p < 0,01$) порівняно: 1 — із контролем; 2 — із групою 2; 3 — із групою 3; 4 — із групою 4; 5 — із групою 5 у відповідні терміни.

Під час дослідження фагоцитозу в щурів із АтД установлено значне зменшення фагоцитарної активності, що полягало в зниженні фагоцитарного індексу (ФІ) та індексу фагоцитарної бактерицидності (ІФБ) приблизно в 3 рази (табл. 3). Водночас фагоцитарне число (ФЧ), яке становить середнє число бактерій, що містяться внутрішньоклітинно, достовірно не відрізнялося від контрольної групи.

Після проведеного стандартного лікування преднізолоновою маззю в щурів із АтД відсоток фагоцитуючих клітин (ФІ) підвищується до

Таблиця 3

Показники фагоцитарної активності клітин ПП у щурів із АтД до і після лікування

Показники, %	Групи тварин				
	Контроль	АтД до лікування	АтД + стандартне лікування (преднізолонова мазь)	АтД + кКФП	АтД + кКФП + преднізолонова мазь
	1	2	3	4	5
ФІ	81.5 ± 3,5	26.0 ± 1,4[1, 3, 4, 5]	41,0 ± 2,0[1, 3, 4, 5]	64,1 ± 4,8[1, 2, 3, 5]	71,6 ± 4,4[1, 3, 4, 5]
ФЧ	8,0 ± 1,0	7.5 ± 0,5[4, 5]	7,3 ± 2,0[4, 5]	6,7 ± 0,3[1, 2, 3]	6,4 ± 0,3[1, 2, 3]
ІФБ	6,0 ± 1,0	2,0 ± 0,5[1, 4, 5]	2,5 ± 0,5[1, 4, 5]	6,0 ± 0,7[2, 3]	5,9 ± 1,1[2, 3]

Примітка. Відмінності достовірні ($p < 0,01$) порівняно: 1 — із контролем; 2 — із групою 2; 3– із групою 3; 4 — із групою 4; 5 — із групою 5 у відповідні терміни.

41,0 ± 2,0, але не досягає контрольних значень. Під час визначення показників ФЧ і ІФБ у 3 і 2 групах статистично значущих відмінностей досліджуваних показників у щурів, яких лікували преднізолоновою маззю, і нелікованих тварин не виявлено. У ПП щурів 4 і 5 групи показник ФЧ зростав в 2,5 раза, а ІФБ — у 3 рази й досягав контрольних значень. Проте тільки в разі оцінювання показника ФЧ було виявлено ампліфікуючий ефект від поєднаного застосування кКФП і преднізолонової мазі.

ВИСНОВКИ

1. Експериментальний АтД як захворювання викликає чіткі зрушення в клітинній і гуморальній ланках імунітету.

2. Установлено односпрямовану зміну вмісту ПК, загального пулу Т-лімфоцитів і його субпопуляцій у селезінці, а також низки показників фагоцитарної активності клітин у ПП у щурів із АтД. Однак здебільшого концентрація в крові досліджених імуноглобулінів, а також ЦІК була трохи вищою, аніж у здорових тварин.

3. Застосування кКФП патогенетично обґрунтоване. Вони поліпшують показники клітинної та гуморальної ланок імунітету у щурів із АтД, і їх доцільно рекомендувати до клінічних випробувань.

4. Комплексне застосування кКФП і преднізолонової мазі має ампліфікуючий терапевтичний ефект на низку показників імунної системи, максимально наближаючи їх значення до таких у контролі.

Подальше вивчення динаміки показників клітинної і гуморальної ланок імунної системи через клінічний стан тварин із АтД у *перспективі* дасть змогу вдосконалити метод клітинної терапії АтД, що значно скоротить час на одужання. Робота потребує подальших наукових досліджень.

Заява про конфлікт інтересів. Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. The global burden of skin disease in 2010: an analysis of the prevalence and impact of skin conditions / R. J. Hay et al. *The Journal of investigative dermatology.* 2014. Vol. 134, № 6. P. 1527-1534. https://doi.org/10.1038/jid.2013.446.

2. Update on atopic dermatitis / Torres T. et al. *Acta médica portuguesa.* 2019. Vol. 32, № 9. P. 606–613. https://doi.org/10.20344/amp.11963.

3. Atopic dermatitis: role of the skin barrier, environment, microbiome, and therapeutic agents / T. Luger et al. *Journal of dermatological science.* 2021. Vol. 102, № 142–157. https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2021.04.007.

4. Increased 1-deoxysphingolipids and skin barrier dysfunction in the skin of X-ray or ultraviolet B irradiation and atopic dermatitis lesion could be prevented by moisturizer with physiological lipid mixture / B. Y. Chung et al. *Annals of dermatology*. 2020 Vol. 32, № 4. P. 306–318. https://doi.org/10.5021/ad.2020.32.4.306.

5. Differentiation of T-helper cells in distinct phases of atopic dermatitis involves Th1/Th2 and Th17/Treg / C. Su et al. *European Journal of Inflammation*. 2017, Vol. 15, № 1. P. 46–52. https://doi.org/10.1177/1721727X17703271.

6. Increased Th22 cell numbers in a general pediatric population with filaggrin haploinsufficiency: The Generation R Study / K. I. M. Looman et al. *Pediatric allergy and immunology: official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*. 2021. P. 1-9. https://doi.org/10.1111/pai.13502.

7. RNA-Seq Identifies Marked Th17 Cell Activation and altered CFTR expression in different atopic dermatitis subtypes in chinese han populations / X. Tian et al. *Frontiers in immunology.* 2021. Vol. 12, № 628512. P. 1–10. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.628512.

8. The infectious complications of atopic dermatitis / Wang V. et al. *Annals of allergy, asthma & immunology: official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology.* 2021. Vol. 126, № 1. P. 3–12. https://doi.org/10.1016/j.anai.2020.08.002.

9. Mesenchymal stem cells derived from human dental follicle modulate the aberrant immune response in atopic dermatitis / Zibandeh N. et al. *Immunotherapy*. 2021. Vol. 13, № 10. P. 825–840. https://doi.org/10.2217/imt-2020-0257.

10. Содержание цитокинов в экссудатах «кожного окна» при экспериментальном атопическом дерматите до и после лечения криоконсервированными клетками фетальной печени / Л. А. Леонова и др. *Медицина сьогодні і завтра*. 2015. Т. 69, № 4. С. 30–37.

11. Проявление иммунокорригирующего эффекта криоконсервированных клеток фетальной печени разных сроков гестации в условиях развития экспериментальной модели реакции «трансплантат против хозяина» / А. Н. Гольцев и др. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2010. Т. V, № 3, С. 82–86.

12. Влияние условий криоконсервирования на фенотипический профиль и иммуномодулирующий потенциал клеток фетальной печени / М. В. Останков и др. *Проблеми кріобіології і кріомедицини*. 2019. Т. 29, № 3. С. 266–276. https://doi.org/10.15407/cryo29.03.266.

13. Залкан П. М., Иевлева Е. А. Экспериментальная модель аллергического дерматита. Актуальные вопросы профессиональной дерматологии: сборник статей АМН СССР / под ред. А. П. Долгов, А. С. Рабен, А. А. Антоньев. Москва : Медицина, 1965. С. 106–112.

14. Иммунология: практикум / Е. У. Пастер и др. Київ : Вища школа, 1989. 304 с.

15. Меньшиков В. В. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник. Москва : Медицина, 1987. С. 123-125.

16. Иммунологические особенности аллергической и неаллергической формы атопического дерматита / Н. А. Шестакова и др. *Медицинская иммунология.* 2009. Т. 11, № 6. С. 531–540.

17. Circulating CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) T regulatory cell levels in an experimental model of canine atopic dermatitis / A. Rostaher et al. *Veterinary dermatology*. 2018. Vol. 29, № 6. P. 511–e171. https://doi.org/10.1111/vde.12693.

18. Glucocorticoid-induced leucine zipper: fine-tuning of dendritic cells function / M. Vétillard *Frontiers in immunology.* 2018. Vol. 9, № 1232. P. 1-8. https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01232.

19. Применение криоконсервированной кордовой крови в комплексной терапии острого гнойного перитонита / К. А. Гольцев и др. *Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация.* 2013. № 18 (161). Вып. 23. С. 114–119.

20. Спосіб лікування ішемічного інсульту / А. М. Гольцев та ін. Заявник та патентовласник Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України: пат. 100046 Україна. № u201413240, заявл. 10.12.2014; опубл. 10.07.2015, Бюл. № 13. С. 1–5.

СОВРЕМЕННЫЙ ПОДХОД К ТЕРАПИИ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА КОНСЕРВИРОВАННЫМИ КЛЕТКАМИ ФЕТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНИ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Л. А. Леонова, канд. биол. наук Л. В. Останкова, канд. биол. наук М. О. Бондарович, канд. биол. наук, М. В. Останков, проф., акад. НАН Украины А. М. Гольцев

Одной из актуальных проблем современной дерматологии является атопический дерматит (АтД), что обусловлено мультифакторностью патоґенеза, значительной распространенностью болезни, учащением осложненного протекания, отсутствием радикальных методов терапии. Целесообразность применения криоконсервированных клеток фетальной печени (кКФП) для лечения АтД обоснована широким спектром продуцируемых ими биологически активных веществ с иммуномодулирующей и противовоспалительной активностью. Раскрытие механизмов терапевтического действия биотерапевтических препаратов при АтД предусматривает определение состояния клеточного и гуморального звеньев иммунной системы (ИС). В связи с этим целью работы была оценка эффективности применения кКФП по характерным клиническим и иммунологическим показателям у крыс с АтД. Результатами исследования у крыс с АтД установлены нарушения в ИС, проявляющиеся в снижении общего количества Т-лимфоцитов и их субпопуляций в селезенке, в повышении в сыворотке крови уровня циркулирующих иммунных комплексов и ряда иммуноглобулинов, снижении фагоцитарной активности клеток перитонеальной полости. Терапия с использованием кКФП, в отличие от стандартного метода лечения с применением преднизолона, значительно улучшает лечебный эффект, что демонстрируется восстановлением показателей клеточного и гуморального звена системы иммунитета у животных с АтД. Показан амплифицирующий эффект сочетанного применения кКФП и преднизолона на ряд показателей иммунной системы при АтД.

Ключевые слова: *атопический дерматит, криоконсервированные клетки фетальной печени, иммунная система, преднизолон.*