

УДК 616.5-002-056.3:612.017.1:612.647.035:615.014.41

*Л.А. Леонова, Л.В. Останкова, Е.Е. Ямпольская, Н.А. Бондарович,  
М.В. Останков, А.Н. Гольцев*

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков*

### **СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В ЭКССУДАТАХ «КОЖНОГО ОКНА» ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АТОПИЧЕСКОМ ДЕРМАТИТЕ ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫМИ КЛЕТКАМИ ФЕТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНИ**

В работе приведены сведения, касающиеся локального содержания цитокинов ИЛ-4, ИЛ-10, ИФН- $\gamma$  в экссудатах «кожного окна» у крыс линии Вистар в модели атопического дерматита до и после лечения. Показано, что при развитии данной патологии на уровне «шокового органа» (кожа) наблюдается дисбаланс цитокинов, продуцируемых субпопуляциями Тх1, Тх2 и Трег1-лимфоцитов, что выразилось в увеличении содержания ИЛ-4 и ИЛ-10 и снижении продукции ИФН- $\gamma$ . Экспериментально доказано, что введение криоконсервированных клеток фетальной печени способствует снижению уровня противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-10, при этом восстанавливается продукция провоспалительного цитокина ИФН- $\gamma$ , что является одним из факторов стабилизации ремиссии болезни. Показан также положительный эффект сочетанного введения криоконсервированных клеток фетальной печени и преднизолона в отношении уровня продукции указанных цитокинов в экссудатах «кожного окна» у животных с атопическим дерматитом начиная с 7-х суток после лечения.

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

В современной литературе накоплено немало данных, касающихся патогенеза атопического дерматита (АД), одно из центральных мест в котором отводится иммунным нарушениям [1–6]. Хорошо изученной является характеристика иммунного ответа на уровне целого организма [5, 7, 8]. С развитием новых концепций относительно патогенеза АД большое значение придается состоянию местного иммунитета кожи [7, 9].

Согласно современным представлениям, значимое место в нарушении состояния иммунной системы при данной патологии отводится перепрофилированию (дисбалансу) клеточного звена иммунитета, а именно Т-лимфоцитам с хелперной активностью, продуцирующим цитокины разнонаправленного действия [10–12].

Известно, что в патогенезе АД принимают участие цитокины, которые продуциру-

ются антагонистическими субпопуляциями Т-лимфоцитов, а именно Т-хелперами 1 (Тх1) и Т-хелперами 2 (Тх2), продуцирующими соответственно воспалительные и противовоспалительные медиаторы [13, 14]. Воспалительный процесс в коже инициируется, поддерживается и завершается при непосредственном участии этих цитокинов [10, 15–20].

Доказано, что в основе развития АД лежит изменение как количественных, так и качественных характеристик иммунокомпетентных клеток в коже, участвующих в реализации воспалительного процесса как в острой, так и в хронической фазе заболевания [14, 21].

Для многих цитокинов основных регуляторных субпопуляций Т-клеток характерны короткодистантные (аутокринные, паракринные) действия на клетки-мишени [7, 21–23], что определяет актуальность исследования их на уровне «шокового органа» (кожа). В связи

© Л.А. Леонова, Л.В. Останкова, Е.Е. Ямпольская и др., 2015

с этим целесообразным является изучение содержания провоспалительного ИФН- $\gamma$  и противовоспалительных ИЛ-4, ИЛ-10 медиаторов на уровне «шокового органа» при данной патологии до и после лечения.

Как указывалось выше, иммунопатогенез АД связывают с нарушением баланса Тх1/Тх2 и продуцируемых ими воспалительных и противовоспалительных цитокинов. Вместе с тем мало известно и о характере формирования Тх1 и Тх2 из наивных Т-клеток, а также корректоров качественных и количественных параметров этих трех паттернов регуляторных клеток и продуцируемых ими медиаторов.

Традиционно при легких и умеренно выраженных формах АД используются обычные методы противовоспалительной терапии. При осложнениях вторичной инфекцией и сопутствующих заболеваниях с вторичным иммунодефицитом применяют иммуностимулирующие средства, а при тяжелых рефрактерных формах – иммуносупрессивную терапию [16].

Неоднократно отмечалось, что в развитии АД имеют место хотя и местные, но системные нарушения иммунокомпетентной сферы организма [2, 3, 5, 6, 24]. В данном случае целесообразно применение препаратов, обладающих надсистемной регуляторной активностью [25], к которым можно отнести продукты фетоплацентарного комплекса [26, 27].

Цель настоящей работы – оценить эффективность применения криоконсервированных клеток фетальной печени на восстановление цитокинов в экссудатах «кожного окна» в экспериментальной модели атопического дерматита.

**Материал и методы.** Экспериментальная работа была проведена на 110 крысах-самцах линии Вистар 6-месячного возраста, массой 180–200 г в соответствии с «Общими принципами экспериментов на животных», одобренными III Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2010).

Моделировали АД у крыс ежедневным втиранием в течение 21 суток в кожу спины 5 % спиртово-ацетонового раствора динитрохлорбензола в одно и то же время по методу П.М. Залкан и Е.А. Ивлевой [28].

В данном исследовании у животных с индуцированной формой АД были применены криоконсервированные клетки фетальной печени (кКФП) как один из препаратов клеточной и тканевой терапии [28]. Криоконсервировали клетки фетальной печени в одноразовых пластиковых пробирках («Nunc», США) по двухэтапной программе на замораживателе ОП ИПКиК НАН Украины по методу [29]. Хранили кКФП при  $-196^{\circ}\text{C}$  в низкотемпературном банке ИПКиК НАН Украины. В день эксперимента образцы с кКФП оттаивали на водяной бане при температуре  $40\text{--}41^{\circ}\text{C}$  до исчезновения твердой фазы.

Лечение животных проводили на 22-е сутки (после окончания применения индуктора патологии) одноразовым внутрибрюшинным введением кКФП в дозе  $5 \cdot 10^6$  клеток в объеме  $0,5 \text{ мл}^2$ . В качестве контрольного препарата лечения внутрибрюшинно вводили преднизолон в дозе  $0,1 \text{ мл}$  на  $100 \text{ г}$  массы животного в объеме  $0,5 \text{ мл}^2$  в течение 3 дней после индукции патологии. Животные были разделены на шесть групп: 1-я – интактные ( $n=10$ ); 2-я – с индукцией АД без лечения ( $n=20$ ); 3-я – АД + преднизолон ( $n=20$ ); 4-я – АД + введение нативных КФП (нКФП) ( $n=20$ ); 5-я – АД + введение кКФП ( $n=20$ ); 6-я – АД + введение кКФП + преднизолон ( $n=20$ ).

Для обоснования эффективности применения кКФП проводили анализ продукции цитокинов Т-хелперов на 7-е и 14-е сутки до и после лечения в бесклеточных кожных экссудатах по методу J. Rebusk и J. Crowley в модификации В.В. Климова [30]. Участок кожи спины крысы площадью  $0,5 \text{ см}^2$  дезинфицировали спиртом. Затем с помощью стерильного скальпеля удаляли верхний слой эпидермиса, не затрагивая более глубокие слои кожи. После удаления рогового слоя на участке кожи образовывалась поверхность с характерным блеском. Слой шиповатых и базальных клеток и базальная мембрана эпидермиса оставались «интактными». На скарифицированный участок помещали камеру объемом  $1,0 \text{ мл}$ , предварительно заполненную с помощью шприца стерильной средой 199. Камеру фиксировали на коже с помощью лейкопластыря с круговой обвязкой бинтом, что обеспечивало надежную ее фиксацию.

Через 6 часов содержимое камеры перенесли в пробирку. После центрифугирования экссудата получали супернатант, который в дальнейшем использовали для определения цитокинов ИЛ-4, ИЛ-10, ИФН- $\gamma$ . Для иммуноферментного анализа продукции цитокинов были использованы наборы реагентов «ИЛ-4-ИФА-БЕСТ», «ИЛ-10-ИФА-БЕСТ» и «гамма-ИНТЕРФЕРОН-ИФА-БЕСТ» фирмы «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Анализ результатов иммуноферментного анализа проводили на микропланшетном фотометре GBG Stat Fax 2100 в соответствии с методическими рекомендациями производителя. Расчет концентрации цитокинов осуществляли по калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. Количество выражали в пикограммах на миллилитр (пг/мл).

Статистическую обработку полученных результатов экспериментального исследования проводили методом Стьюдента–Фишера с помощью программы Statistica 7.0 (Stat Soft Inc.), адаптированной к поставленным задачам [31].

**Результаты и их обсуждение.** Из данных, приведенных в табл. 1, видно, что содержание

мунорегуляторной субпопуляцией Т-клеток – Тх1, а также дендритными клетками, Тх2-лимфоцитами и др. [13, 14, 19, 20]. Полученные результаты свидетельствуют о повышенной активности Тх1-клеток, что, возможно, связано с их участием в регуляции аллергического воспаления в коже.

Содержание ИФН- $\gamma$  в кожных экссудатах у крыс группы 2 имело тенденцию к снижению на 7-е сутки. На 14-е сутки их уровень был значительно снижен и достоверно отличался от контрольных значений (табл. 1).

Низкий уровень ИФН- $\gamma$  совпадает с высоким уровнем ИЛ-4, что указывает на сохраняющийся дисбаланс Тх1/Тх2 в сторону избыточной активации Тх2-клеток в период с 7-х по 14-е сутки. Данный факт может свидетельствовать о том, что у крыс даже при отсутствии клинических проявлений АД в коже имеет место резидуальная воспалительная активность, регулируемая Тх2-лимфоцитами [14].

Показатели цитокинового профиля на локальном уровне у крыс, которых лечили преднизолоном (группа 3), на 7-е и 14-е сутки достоверно не отличались от концентрации

Таблица 1. Содержание ИЛ-4, ИЛ-10 и ИФН- $\gamma$  в экссудатах «кожного окна» у крыс с индукцией АД до и после лечения, пг/мл

Группа животных	Сутки после развития АД	ИЛ-4	ИЛ-10	ИФН- $\gamma$
1-я – интактные (контроль)		0,30±0,01	7,0±0,5	46,0±4,0
2-я – АД, без лечения	7-е	1,10±0,0*	21,5±2,7*	26,4±2,4*
	14-е	1,20±0,0*	11,8±2,8*	16,0±2,0*
3-я – АД, лечение преднизолоном	7-е	0,7±0,4*	12,5±3,5*	23,5±1,5**
	14-е	1,20±0,04*	9,5±2,0**	29,5±2,5**
4-я – АД, лечение нКФП	7-е	0,30±0,01**	8,0±1,0**@	40,2±1,2**@
	14-е	0,30±0,03*	6,5±1,0**@	45,5±5,5#@
5-я – АД, лечение кКФП	7-е	0,50±0,01**^	8,5±0,5**@^	40,5±1,4**@^
	14-е	0,40±0,01**@^	8,0±1,0**^	46,0±2,7**@
6-я – АД, лечение кКФП + преднизолон	7-е	0,60±0,05**^	7,0±0,8#@^!	40,8±2,8**#@^!
	14-е	0,30±0,02#@^	7,0±1,2#@^!	46,2±2,2#@

*Примечание.* Достоверность различий ( $p < 0,05$ ) в сравнении с аналогичным показателем животных: \* интактных; # группы 2; @ группы 3; ^ группы 4; ! группы 5.

ИЛ-4 у животных на 7-е сутки после индукции АД (группа 2) было повышенным, оставаясь на более высоком уровне и на 14-е сутки.

В отношении концентрации ИЛ-10 в период с 7-х по 14-е сутки развития АД у крыс этой группы отмечали увеличение данного показателя по сравнению с контролем в 3 раза. Известно, что ИЛ-10 продуцируется им-

аналогичных цитокинов у животных группы 2 (табл. 1).

У крыс, которых лечили введением нКФП (группа 4), были отмечены достоверно более низкие уровни ИЛ-4 и ИЛ-10 и достоверно более высокая концентрация ИФН- $\gamma$  по отношению к контролю в исследуемые сроки ( $p < 0,05$ ).

У животных групп 5 и 6 показатели всех изучаемых цитокинов на 7-е сутки приближались, а на 14-е соответствовали контрольным значениям (табл. 1).

Известно, что патогенетическое значение в развитии данной патологии имеет соотношение оппозиционных пулов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. В связи с этим кроме определения ключевых цитокинов, Tх2 и Tх1 субпопуляций лимфоцитов в экссудатах «кожного окна» были проанализированы коэффициенты соотношений цитокинов: ИФН- $\gamma$ /ИЛ-4 (характеризует соотношение Tх1 субпопуляции к Tх2); ИФН- $\gamma$ /ИЛ-10 (характеризует соотношение Tх1 субпопуляции к Tрег1), ИЛ-4/ИЛ-10 (соотношение Tх2 субпопуляции к Tрег1).

Из результатов, приведенных в табл. 2, видно, что в группе контроля коэффициент соотношения ИФН- $\gamma$ /ИЛ-10 составил  $6,6 \pm 1,9$ .

В контрольной группе данный индекс составил  $0,04 \pm 0,02$ ; у крыс с АД на 7-е сутки –  $0,005 \pm 0,007$ , на 14-е сутки –  $0,100 \pm 0,007$ .

Соотношения ИЛ-4/ИЛ-10 и ИФН- $\gamma$ /ИЛ-10 достоверно снижались относительно контроля как на 7-е, так и на 14-е сутки развития АД. Данный факт свидетельствует о компенсаторном повышении функциональной активности Tрег1 при АД относительно показателя интактных животных. Соотношение ИФН- $\gamma$ /ИЛ-4 достоверно снижалось на 7-е сутки и соответствовало контрольным значениям – на 14-е (табл. 2).

Показатели коэффициента соотношений цитокинов у крыс, которых лечили преднизолоном (группа 3), незначительно повысились на 7-е и достоверно снизились на 14-е сутки, практически не отличаясь от таковых у животных группы 2 (табл. 2). У крыс, которых лечили введением нативных и криоконсервированных КФП (группы 4, 5), были

Таблица 2. Коэффициенты соотношений цитокинов у животных с индукцией АД до и после лечения

Группа животных	Сутки после развития АД	ИЛ-4	ИЛ-10	ИФН- $\gamma$
1-я – интактные (контроль)		$153,3 \pm 4,1$	$6,6 \pm 1,9$	$0,04 \pm 0,02$
2-я – АД, без лечения	7-е	$18,5 \pm 1,7^*$	$1,23 \pm 0,90^*$	$0,005 \pm 0,007^*$
	14-е	$13,3 \pm 2,2^*$	$1,34 \pm 0,40^*$	$0,10 \pm 0,01^*$
3-я – АД, лечение преднизолоном	7-е	$33,6 \pm 0,9^*$	$1,34 \pm 0,40^*$	$0,06 \pm 0,01^{*#}$
	14-е	$24,6 \pm 1,2^*$	$3,1 \pm 1,3$	$0,130 \pm 0,002^*$
4-я – АД, лечение нКФП	7-е	$121,0 \pm 1,2^*$	$4,9 \pm 1,2^*$	$0,04 \pm 0,05$
	14-е	$151,7 \pm 2,5^*$	$7,0 \pm 2,5^*$	$0,05 \pm 0,03^*$
5-я – АД, лечение кКФП	7-е	$81,0 \pm 1,2^*$	$4,8 \pm 1,5^*$	$0,060 \pm 0,002^*$
	14-е	$115,0 \pm 2,4^*$	$5,8 \pm 1,3^*$	$0,05 \pm 0,01^*$
6-я – АД, лечение кКФП + преднизолон	7-е	$88,0 \pm 2,5^*$	$5,8 \pm 1,8$	$0,09 \pm 0,02^*$
	14-е	$154,0 \pm 2,1$	$6,6 \pm 1,8$	$0,04 \pm 0,02$

\* Достоверность различий в сравнении с контролем  $p < 0,05$ .

В период с 7-х по 14-е сутки данного заболевания наблюдалось существенное снижение коэффициента соотношения ИФН- $\gamma$ /ИЛ-10 в сравнении с контролем.

При атопических заболеваниях именно под действием ИЛ-4 происходит развитие иммунного ответа по Tх2-пути. ИЛ-10 в большей степени подавляет функциональную активность Tх1 и в меньшей степени – Tх2. Так как ИЛ-4 и ИЛ-10 являются при атопических заболеваниях своего рода антагонистическими цитокинами, было интересным сравнить коэффициенты соотношений ИЛ-4/ИЛ-10 между группами.

отмечены достоверно более высокие коэффициенты соотношений цитокинов, чем у животных группы 2, но по отношению к контролю они были значительно ниже на 7-е сутки ( $p < 0,05$ ) и приближались к контрольным значениям на 14-е сутки. У животных, которых лечили кКФП с преднизолоном (группа 6), коэффициент соотношений цитокинов на 7-е сутки приближался к контрольным значениям, а на 14-е сутки соответствовал им (табл. 2).

Таким образом, при применении терапии преднизолоном клинический эффект наблюдался у 16 (80 %) животных с легкой и средней степенью тяжести заболевания. При лечении

кКФП с преднизолоном клинический эффект наблюдался у 19 (98 %) животных независимо от тяжести заболевания.

Проанализировав данные, полученные у крыс в период с 7-х по 14-е сутки развития АД, мы отметили, что ведущими изменениями в цитокиновом профиле на локальном уровне можно считать достоверное повышение содержания ИЛ-4 и ИЛ-10 в экссудатах «кожного окна» по отношению к контрольным величинам ( $p < 0,05$ ). В отношении ключевого цитокина Тх1 была обнаружена тенденция к снижению уровня ИФН- $\gamma$  в экссудатах «кожного окна» у животных с АД. Наблюдающаяся тенденция к снижению уровней ИФН- $\gamma$  на 7-е сутки и одновременное повышение уровней ИЛ-4 и ИЛ-10 в экссудатах «кожного окна» в этот же период может свидетельствовать о том, что происходит подавление функциональной активности Тх1 на фоне повышения функциональной активности Тх2 и Трег1. Повышение уровня ИЛ-4 можно объяснить тем, что этот цитокин относится к основным пусковым медиаторам атопического воспаления, регулируемого Тх2-клетками, и выполняет ключевую роль в продукции IgE.

Со стороны Тх1-звена отмечается тенденция к снижению продукции ИФН- $\gamma$ . Так как Тх1 и Тх2 находятся в реципрокных отношениях и преимущественная активация одного звена угнетает функциональную активность другого, то в период обострения АД выявляется недостаточная активность Тх1-клеток и снижение продукции ими ИФН- $\gamma$ .

Динамика ключевых цитокинов Тх1- и Тх2-клеток свидетельствует о дисбалансе иммунных реакций в сторону избыточной активации Тх2-пути, что соответствует классическим представлениям об иммунопатогенезе атопического воспаления [24].

В отношении концентрации ИЛ-10 у животных с АД отмечено увеличение данного показателя по сравнению с контролем. Известно, что ИЛ-10 продуцируется иммунорегуляторной субпопуляцией Т-клеток – Трег1, а также дендритными клетками, Тх2-лимфоцитами и др. [6, 14]. Полученные результаты отражают повышенную активность Трег1-клеток, что, возможно, связано с их участием в регуляции аллергического воспаления в коже [6, 32].

Низкий уровень ИФН- $\gamma$  совпадает с высоким уровнем ИЛ-4, что указывает на сохраняющийся дисбаланс Тх1/Тх2 в сторону избыточной активации Тх2-клеток [13]. Данный факт может свидетельствовать о том, что у животных даже при отсутствии клинических проявлений АД в коже наблюдается резидуальная воспалительная активность, регулируемая Тх2-лимфоцитами [14], что соответствует современной концепции о минимальной воспалительной активности в коже, которая сохраняется в период ремиссии АД в участках визуально неизменной кожи [24].

Показатель ИЛ-10 у животных с АД значительно превышает контрольные значения. Можно предположить, что Трег1 могут препятствовать развитию АД на различных патогенетических этапах, включая сенсибилизацию, ремоделирование и персистенцию аллергического воспаления [33]. Таким образом, ИЛ-10 как противовоспалительный цитокин, супрессируя продукцию провоспалительных цитокинов и антигенпредставляющую функцию дендритных клеток, вероятно, является одним из факторов стабилизации ремиссии болезни [33–35], что подтверждается данными, полученными у животных с терапией кКФП с преднизолоном.

#### **Выводы**

1. Полученные данные, касающиеся локального содержания цитокинов у животных с атопическим дерматитом в экссудатах «кожного окна», свидетельствуют об участии ИЛ-4, ИЛ-10 и ИФН- $\gamma$  в развитии данной патологии.

2. У крыс с атопическим дерматитом в коже на уровне «шокового органа» наблюдается дисбаланс ключевых цитокинов субпопуляций Тх1, Тх2 и Трег1-лимфоцитов.

3. Регистрируется сдвиг соотношения Тх1/Тх2-лимфоцитов в сторону Тх2, что вызывает атопическое воспаление.

4. Наблюдается компенсаторное повышение функциональной активности Трег1-лимфоцитов.

5. Отмечается увеличение содержания ИЛ-10 и выраженное уменьшение локальной продукции ИФН- $\gamma$  в экссудатах «кожного окна» при развитии атопического дерматита.

6. Показана эффективность применения терапии криоконсервированными клетками

фетальной печени, также как и нативными клетками, в сравнении со стандартным лечением преднизолоном по показателям уровня цитокинов в коже животных с атопическим дерматитом.

7. Экспериментально доказано, что применяемая терапия введением криоконсервированных клеток фетальной печени с пред-

низолоном в большей степени, чем только криоконсервированных клеток фетальной печени, восстанавливает (нормализует) уровень противовоспалительного цитокина ИЛ-10, который, супрессируя продукцию провоспалительных цитокинов ИЛ-4 и ИФН- $\gamma$ , является одним из факторов стабилизации ремиссии болезни.

### Список литературы

1. Давлетбаева Г. Р. Иммунные нарушения у детей с атопическим дерматитом в сочетании с хроническими заболеваниями / Г. Р. Давлетбаева // Вестник современной клинической медицины. – 2015. – Т. 8, вып. 4. – С. 56–64.
2. Иммунопатогенез атопического дерматита как основа для системной и топической терапии / Н. В. Кунгуров, Ю. В. Кенинксфест, М. М. Кохан [и др.] // Лечащий врач. – 2013. – № 11. – С. 56–62.
3. Федоров С. М. Иммунные механизмы развития аллергических дерматозов / С. М. Федоров, А. Н. Гура // Вестник дерматологии и венерологии. – 1999. – № 6. – С. 11–14.
4. Investigation of underlying primary immunodeficiencies in patients with severe atopic dermatitis / A. Aghamohammadi, Z. G. Moghaddam, H. Abolhassani [et al.] // Allergol. Immunopathol. (Madr). – 2014. – Jul.–Aug., v. 42 (4). – P. 336–341.
5. Immune regulation in atopic dermatitis / C. A. Akdis, M. Akdis, A. Trautmann [et al.] // Curr. Opin. Immunol. – 2000. – V. 12, № 6. – P. 641–646.
6. Atopic dermatitis: expression of immunological imbalance / S. Manti, R. Chimenz, A. Salpietro [et al.] // J. Biol. Regul. Homeost. Agents. – 2015. – Apr.–Jun., v. 29 (2, suppl. 1). – P. 13–17.
7. Фрейдлин И. С. Паракринные и аутокринные механизмы цитокиновой иммунорегуляции / И. С. Фрейдлин // Иммунология. – 2001. – № 5. – С. 4–7.
8. Фримель Г. Иммунологические методы / Г. Фримель. – М. : Медицина, 1987. – 472 с.
9. Skin-infiltrating CD8<sup>+</sup> T cells initiate atopic dermatitis lesions / A. Hennino, M. Vocanson, Y. Toussaint [et al.] // J. Immunol. – 2007. – V. 178. – P. 5571–5577.
10. Кобец А. А. Динамика цитокинов ИЛ-2, ИЛ-4 и индексов крови у детей с атопическим дерматитом с учётом уровня IgE в сыворотке крови / А. А. Кобец // Таврический медико-биологический вестник. – 2014. – Т. 17, № 2 (66). – С. 65–67.
11. Ревякина В. А. Атопический дерматит: роль цитокинов в механизмах развития / В. А. Ревякина, Д. С. Коростовцев, Н. Д. Дигилова // Аллергология. – 2000. – № 1. – С. 40–48.
12. The role of T-cell reactivity towards the autoantigen alpha-NAC in atopic dermatitis / A. Heratizadeh, I. Mittermann, H. Balaji [et al.] // Br. J. Dermatol. – 2011. – V. 164. – P. 316–324.
13. Early pediatric atopic dermatitis shows only a cutaneous lymphocyte antigen (CLA)(+) TH2/TH1 cell imbalance, whereas adults acquire CLA(+) TH2/TC22 cell subsets / T. Czarnowicki, H. Esaki, J. Gonzalez [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2015. – Oct., v. 136 (4). – P. 941–951.
14. A mechanism for the initiation of allergen-induced T helper type 2 responses / C. L. Sokol, G. M. Barton, A. G. Farr, R. Medzhitov // Nat. Immunol. – 2008. – V. 9. – P. 310–318.
15. Исследование уровня циркулирующих цитокинов у больных атопическим дерматитом / Е. Н. Волкова, С. Г. Морозов, М. В. Тарасова [и др.] // Вестник дерматологии и венерологии. – 2014. – № 2. – С. 26–30.
16. Динамика содержания цитокинов на фоне иммуносупрессивной терапии тяжелых форм атопического дерматита А у детей и подростков / Н. Г. Короткий, А. А. Тихомиров, В. Н. Короткий, Н. С. Сметанина // Педиатрия. – 2014. – Т. 93, № 3. – С. 25–33.

17. *Силков А. Н.* Цитокины в иммунопатогенезе атопического дерматита / А. Н. Силков, Т. В. Ковалевская-Кучерявенко, С. В. Сенников // Цитокины и воспаление. – 2012. – Т. 11, № 1. – С. 5–10.
18. Атопический дерматит: современный взгляд на проблему / Т. М. Филимонова, О. Г. Елисютина, О. В. Штырбул [и др.] // Аллергология и иммунология. – 2012. – № 2. – С. 36–40.
19. *Brandt E. B.* Th2 cytokines and atopic dermatitis / E. B. Brandt, U. Sivaprasad // J. Clin. Cell Immunol. – 2011. – V. 2. – P. 110.
20. Cytokines and chemokines orchestrate atopic skin inflammation / B. Homey, M. Steinhoff, T. Ruzicka, D. Y. Leung // J. Allergy Clin. Immunol. – 2006. – Jul., v. 118 (1). – P. 178–189.
21. *Решетняк В. К.* Боль: физиологические и патофизиологические аспекты / В. К. Решетняк, М. Л. Кукушкин // Актуальные проблемы патофизиологии (избранные лекции) / [под ред. Б. Б. Мороза]. – М. : Медицина, 2001. – С. 354–387.
22. *Маянский А. Н.* Цитокины и медиаторные функции уроэпителия в воспалительных реакциях мочевыводящей системы / А. Н. Маянский // Цитокины и воспаление. – 2003. – № 4. – С. 3–9.
23. *Симбирцев А. С.* Цитокины: классификация и биологические функции / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3, № 2. – С. 16–23.
24. New insights into atopic dermatitis / D. Y. Leung, M. Boguniewicz, M. D. Howell [et al.] // J. Clin. Invest. – 2004. – V. 113, № 5. – P. 651–657.
25. *Утешев Б. С.* Анализ современных направлений в создании иммуностропных средств / Б. С. Утешев, А. С. Сергеев, С. А. Коростелев // Эксперим. и клин. фармакология. – 1995. – Т. 58, № 3. – С. 3–7.
26. *Гольцев А. Н.* Возможные причины развития аутоиммунной патологии и поиск путей ее лечения / А. Н. Гольцев // Проблемы мед. науки та освіти. – 2000. – № 1. – С. 22–37.
27. *Грищенко В. И.* Трансплантация продуктов эмбриоплацентарного комплекса. От понимания механизма действия к повышению эффективности применения / В. И. Грищенко, А. Н. Гольцев // Проблемы криобиологии. – 2002. – № 1. – С. 54–84.
28. *Залкан П. М.* Влияние синтетических моющих средств на реактивность кожи морских свинок / П. М. Залкан, Е. А. Иевлева // Актуальные вопросы профессиональной дерматологии. – М. : Медицина, 1965. – С. 106–112.
29. Пат. № 30723А Україна, МПК6 А61К35/50 Спосіб лікування аутоімунних захворювань / Гольцев А. М., Грищенко О. В., Дубрава Т. Г., Луценко О. Д., Останкова Л. В., Цогоєва Л. М. ; заявник і патентовласник Інститут проблем криобіології і кріомедицини НАН України. – № 98042108 ; заявл. 28.04.98 ; опубл. 15.12.2000, Бюл. № 7.
30. Патент № 1534395 на изобретение Украина. Способ диагностики аллергического диатеза / Климов В. В., Кошовкина Т. В., Раткин В. К., Денисов А. А. – опубл. 10.09.1993.
31. *Ланг Т. А.* Как описывать статистику в медицине : руководство для авторов, редакторов и рецензентов / Т. А. Ланг, М. Сесик ; пер. с англ. под ред. В. П. Леонова. – М. : Практическая медицина, 2011. – 480 с.
32. Regulatory T-cells: development, function and role in autoimmunity / R. Y. Lan, A. A. Ansari, Z. X. Lian, M. E. Gershwin // Autoimmun. Rev. – 2005. – V. 4, № 6. – P. 351–363.
33. *Roncarolo M. G.* Differentiation of T-regulatory cells by immature dendritic cells / M. G. Roncarolo, M. K. Levings, C. Traversari // J. Exp. Med. – 2001. – Jan. 15, v. 193 (2). – P. 5–9.
34. *De Waal Malefyt R.* Direct effects of IL-10 on subsets of human CD4<sup>+</sup> T cell clones and resting T-cells. Specific inhibition of IL-2 production and proliferation / R. de Waal Malefyt, H. Yssel, J. E. de Vries // J. Immunol. – 1993. – Jun. 1, v. 150 (11). – P. 4754–4765.
35. The dual role of IL-10 / S. Mocellin, M. C. Panelli, E. Wang [et al.] // Trends Immunol. – 2003. – V. 24, № 1. – P. 36–43.

**Л.А. Леонова, Л.В. Останкова, К.Є. Ямпольська, М.О. Бондарович, М.В. Останков, А.М. Гольцев**  
**ВМІСТ ЦИТОКІНІВ У ЕКСУДАТІ «ШКІРНОГО ВІКНА» ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ**  
**АТОПІЧНОМУ ДЕРМАТИТІ ДО І ПІСЛЯ ЛІКУВАННЯ КРІОКОНСЕРВОВАНИМИ КЛІТИНАМИ**  
**ФЕТАЛЬНОЇ ПЕЧІНКИ**

У роботі наведено відомості щодо локального вмісту цитокінів ІЛ-4, ІЛ-10, ІФН- $\gamma$  в ексудатах «шкірного вікна» у щурів лінії Вістар у моделі атопічного дерматиту до і після лікування. Показано, що під час розвитку даної патології на рівні «шокового органа» (шкіра) спостерігається дисбаланс цитокінів, які продукуються субпопуляціями Тх1, Тх2 і Трег1-лімфоцитів, що виражалось збільшенням вмісту ІЛ-4 та ІЛ-10 і зниженням продукції ІФН- $\gamma$ . Експериментально доведено, що введення кріоконсервованих клітин фетальної печінки сприяє зниженню рівня протизапальних цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-10, при цьому відновлюється продукція прозапальних цитокінів ІФН- $\gamma$ , що є одним із факторів стабілізації ремісії хвороби. Показано також позитивний ефект поєданого введення кріоконсервованих клітин фетальної печінки і преднізолону щодо рівня продукції зазначених цитокінів в ексудатах «шкірного вікна» у тварин із АД починаючи з 7-ї доби після лікування.

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

**L.A. Leonova, L.V. Ostankova, Ye.Ye. Yampolskaya, N.A. Bondarovich, M.V. Ostankov, A.N. Goltsev**  
**CYTOKINES CONTENT IN SKIN-WINDOW EXUDATES IN EXPERIMENTAL ATOPIC DERMATITIS**  
**PRIOR TO AND AFTER TREATMENT OF CRYOPRESERVED FETAL LIVER CELLS**

The an information about the local content of cytokines of IL-4, IL-10, IFN- $\gamma$  in the «skin-window» exudates in Wistar rats in the model of atopic dermatitis prior to and after treatment has been provided. It has been shown, that in this pathology development at the level of «shock organ» (skin), there is observed an imbalance of cytokines produced by subpopulations of Th1, Th2 and Treg1 lymphocytes that was expressed with an increase in IL-4 and IL-10 and lowering IFN- $\gamma$  production. It has been experimentally proven, that the applied therapy by means of introduction of cryopreserved fetal liver cells contributed to the reduced level of inflammatory cytokines IL-4 and IL-10, herewith restoring the production of pro-inflammatory cytokine IFN- $\gamma$ , which is a factor in stabilizing the disease remission. There was also been demonstrated a positive effect of combined administration of prednisolone and cryopreserved fetal liver cells in respect of the level of these cytokines production in the «skin-window» exudates in animals with atopic dermatitis starting the 7<sup>th</sup> day after treatment start.

**Keywords:** atopic dermatitis, cytokines, cryopreserved fetal liver cells, prednisolone.

Поступила 26.11.15