

Влияние криоконсервированной кордовой крови на функциональное состояние дендритных клеток кожи крыс с atopическим дерматитом

А.К. Коваль, М.В. Останков, Н.А. Бондарович, Е.Е. Ямпольская,
Л.В. Останкова, А.Н. Гольцев

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Effect of Cryopreserved Cord Blood on Functional State of Dendritic Cells of Rat Skin with Atopic Dermatitis

A.K. Koval, M.V. Ostankov, N.A. Bondarovich, E.Ye. Yampolskaya,
L.V. Ostankova, A.N. Goltsev

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

При atopическом дерматите (АД) наблюдаются значительные иммунологические нарушения, что является причиной развития аллергического воспаления кожи. В индукции и поддержании воспалительного процесса непосредственное участие принимают дендритные клетки (ДК) кожи (клетки Лангерганса, CD1a⁺), которые представляют аллергены Т-лимфоцитам и способствуют накоплению эффекторных клеток в очагах воспаления, тем самым запуская фазу сенсибилизации аллергической реакции. В связи с этим ДК рассматривают как эндогенные клетки-мишени для таргетных подходов терапии, включая коррекцию их цитокинового профиля при АД. Результаты многочисленных исследований биологической активности лейкоконцентрата кордовой крови, являющегося источником биологически активных веществ с выраженным иммуномодулирующим действием, дают основания для его использования при АД.

Цель работы – изучение механизма влияния криоконсервированного лейкоконцентрата кордовой крови человека на функциональное состояние и распределение дендритных клеток в экссудатах «кожного окна» у крыс с atopическим дерматитом.

Эксперименты выполняли на 6-месячных крысах линии Вистар. Моделировали АД ежедневным втиранием в кожу спины (9 см²) 5%-го спиртово-ацетонового раствора динитрохлорбензола в течение 21-х суток. Животному внутрибрюшинно вводили криоконсервированный лейкоконцентрат кордовой крови человека (кЛККЧ) по 5×10⁶ клеток. Количество CD1a⁺-клеток определяли иммуногистохимически с использованием антикрысиных антител («Novocastra», США). На 7-е сутки развития АД и введения кЛККЧ микроскопировали срезы кожи эпидермиса крыс на микроскопе («Zeiss Primo Star», ×400). В экссудате «кожного окна» иммуноферментным методом определяли ИФН-γ, ИЛ-4, ИЛ-10 («Вектор-Бест», Украина).

На 7-е сутки развития АД в эпидермисе и сосочковом слое дермы в 2 раза увеличивались число ДК и степень ветвления клеточных отростков. Отмечено повышение уровня ИЛ-4 и ИФН-γ на фоне снижения продукции ИЛ-10 клетками экссудата. После лечения кЛККЧ увеличилось число дендритных отростков CD1a⁺-клеток в средней трети эпидермиса, снизилась концентрация ИЛ-4 и ИФН-γ в бесклеточных фракциях экссудата «кожного окна».

Полученные результаты исследования являются научным обоснованием перспективности использования кЛККЧ в комплексной терапии иммунопатологических состояний, в частности АД.

Significant immunologic disorders accompany atopic dermatitis (AD) and result in development of allergic skin inflammations. The dendritic cells (DCs) from skin (Langerhans cells, CD1a⁺) are directly involved into inflammatory process induction and maintaining. They present allergens to T-lymphocytes and promote the accumulation of effector cells in inflammatory foci, thereby triggering the sensitization phase of allergic response. In this context the DCs are considered as endogenous target cells for therapeutic approaches, including the correction of their cytokine profile in AD. Numerous researches on studying a biological activity of cord blood leukoconcentrate, being the source of biologically active substances with a pronounced immunomodulating effect, provide the reasons to consider its possible use in AD.

The research aim was to study the effect mechanism of cryopreserved human cord blood leukoconcentrate (cHCBL) on a functional state and redistribution of dendrite cells in the 'skin window' exudates in the rats with AD.

The experiments were performed in 6-month-old Wistar rats. The AD was simulated by daily rubbing the 5% alcohol-acetone dinitrochlorobenzene solution onto the rat back skin (9 cm²) for 21 days. The rats were intraperitoneally injected with cHCBL by 5×10⁶ of cells. The number of CD1a⁺ cells was determined immunohistochemically using the anti-rat antibodies (Novocastra, USA). To day 7 of AD development and after cHCBL administration the rat epidermal skin sections were analyzed with microscope (Zeiss Primo Star, ×400). The IFN-γ, IL-4, IL-10 were determined by ELISA technique (Vektor-Best, Ukraine) in the 'skin window' exudate.

To day 7 of AD development, the number of DCs in epidermis and papillary layer of the dermis and the degree of branching of the cell processes were twice increased. At the same time there was an increase in IL-4 and IFN-γ levels at the background of a decreased production of IL-10 by exudate cells. After therapy with cHCBL the number of dendritic processes of CD1a⁺ cells in the middle third of the epidermis increased, and the concentrations of IL-4 and IFN-γ in cell-free fractions of 'skin window' exudate decreased.

Our findings scientifically substantiate a promising use of cHCBL in a combined therapy of immunopathological states, in particular AD.

