

# Современные средства, воздействующие на Toll-подобные рецепторы, в лечении воспалительных дерматозов

M.A. Ionescu

## Current drugs acting on Toll-like receptors in the treatment of inflammatory dermatoses

M.A. IONESCU

об авторе: ►

M.A. Ionescu — M.D., dermatologist. Polyclinique de dermatologie. Hopital Saint-Louis, Paris, France

Представлены результаты исследования эмульсии «масло в воде», содержащей запатентованный лабораториями Урьяж комплекс TLR2-regul®.

На первом этапе исследования экспланты кожи здоровых доноров инкубировали в физиологическом растворе, индифферентном кремовом наполнителе «масло в воде», с моноклональными антителами к TLR2 и с исследуемой эмульсией «масло в воде» и затем образцы в каждой группе распределяли на три подгруппы и инкубировали с экстрактами *M. furfur*, *P. acnes* и *S. aureus*. Методом иммуноферментного анализа было показано значительное уменьшение продукции IL-8 и увеличение количества β-дефензина2 при инкубации с исследуемой эмульсией по сравнению с контрольной группой.

На втором этапе изучали эффективность исследуемой эмульсии при лечении больных с себорейным дерматитом ( $n = 143$ ), акне ( $n = 34$ ) и атопическим дерматитом ( $n = 48$ ) в виде монотерапии по сравнению с кремовой основой. Через 4 нед. у больных себорейным дерматитом наблюдалось значительное уменьшение эритемы, шелушения, ощущения зуда и жжения, уменьшение числа рецидивов; через 3 мес. в группе больных акне значительно уменьшилось число воспалительных элементов; через 3 нед. лечения больных атопическим дерматитом отмечено значимое уменьшение эритемы, инфильтрации и экссудации, чувства зуда и стягивания кожи.

Таким образом, исследуемое средство благодаря способности модулировать иммунный ответ открывает новые подходы к лечению воспалительных заболеваний кожи, в патогенез которых вносят существенный вклад *P. acnes*, *S. aureus* или *M. furfur*.

**Ключевые слова:** **Toll-подобные рецепторы, врожденный иммунитет, воспаление, TLR2-Regul®, себорейный дерматит, акне, атопический дерматит.**

The article presents the results of a study of the oil-in-water emulsion comprising TLR2-regul®, a complex patented by Uriage Laboratories.

At the first stage of the study, skin explants from healthy donors were incubated in the physiological salt solution, oil-in-water indifferent cream excipient, with monoclonal anti-TLR2 antibodies and with the oil-in-water study emulsion, and then samples in each groups were divided into three sub-groups and incubated with extracts of *M. furfur*, *P. acnes* and *S. aureus*. The immune-enzyme assay method demonstrated a significant reduction in the production of IL-8 and higher quantity of β-defensin 2 in case of incubation with the study emulsion vs. the control group.

At the second stage, the authors assessed the efficiency of the study emulsion in the treatment of patients suffering from seborrheic dermatitis ( $n = 143$ ), acne ( $n = 34$ ) and atopic dermatitis ( $n = 48$ ) as a monotherapy vs. the cream base. After four weeks, patients with seborrheic dermatitis had a considerable reduction of erythema, peeling, itching and stinging, reduction in the number of recurrences; after three months, the group of acne patients had a considerably reduced number of inflammatory elements; after three weeks of treatment, patients with atopic dermatitis had a considerable reduction of erythema, infiltration and exudation as well as itching and shrinking.

Thus, the study drug suggests new approaches to the treatment of inflammatory skin diseases with the pathogenesis complicated by *P. acnes*, *S. aureus* or *M. furfur* due to its ability to modulate the immune response.

**Key words:** **Toll-like receptors, congenital immunity, inflammation, TLR2-Regul®, seborrheic dermatitis, acne, atopic dermatitis.**

■ Ряд физиологических и структурных особенностей кожи позволяет этому органу функционировать в качестве прочного барьера, отграничивающего внутреннюю среду организма от воздействия внешней среды. Долгое время кожный покров считался сугубо механическим барьером от проникновения различных чужеродных веществ. К началу XXI века были получены новые сведения, дающие представления о механизмах распознавания чужеродных веществ на первых этапах их внедрения, которые осуществляются при участии патогенраспознающих рецепторов, являющихся частью врожденного иммунитета. Наиболее полно изученными рецепторами из группы патогенраспознающих рецепторов являются Toll-подобные рецепторы (TLR), распознающие молекулярные паттерны различных микроорганизмов (бактерий, дрожжеподобных грибов или вирусов). На сегодняшний день описано более 11 типов TLR [1].

TLR — трансмембранные рецепторы, состоящие из внеклеточной части, обогащенной лейцином, и внутриклеточного домена, гомологичного внутриклеточному домену рецептора интерлейкина-1 (L10-1). Известно, что TLR специфически соединяются с молекулярными структурами микроорганизмов, что сопровождается изменением конформации внутриклеточного домена и активацией временной сигнальной многокомпонентной молекулярной структуры, что в конечном итоге приводит к высвобождению антимикробных пептидов ( $\beta$ -дефензина, кателецидина) и цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL, IL-10, IL-12), опосредующих воспалительную реакцию [2, 3].

Ранее были получены сведения о том, что активация TLR имеет место при таких заболеваниях инфекционной этиологии, как лепра, боррелиоз, кандидоз, герпес [4]. В последние годы в литературе обсуждается этиологическая и патогенетическая значимость активации TLR при некоторых воспалительных дерматозах. В частности, было показано, что гликопептиды *P. acnes* являются лигандами, активирующими TLR2 и TLR4 при акне, а воспалительная реакция при этом заболевании сопровождается увеличением экспрессии IL-6 и IL-8 на кератиноцитах, выстилающих фолликулы, и в макрофагах дермы [5, 6], а также повышением синтеза антимикробных пептидов. Другими исследователями опубликованы данные о роли TLR2 и TLR4 в механизмах развития атопического дерматита. Авторы считают, что лигандом, активирующим эти рецепторы у больных, страдающих атопическим дерматитом, является *S. aureus*, который колонизирует как очаги поражения, так и непораженную кожу. Как и при акне, в коже у больных атопическим дерматитом повышен уровень антимикробных пептидов ( $\beta$ -дефензина и кателецидина) [7]. При себорейном дерматите активация TLR2 осуществляется при распознавании

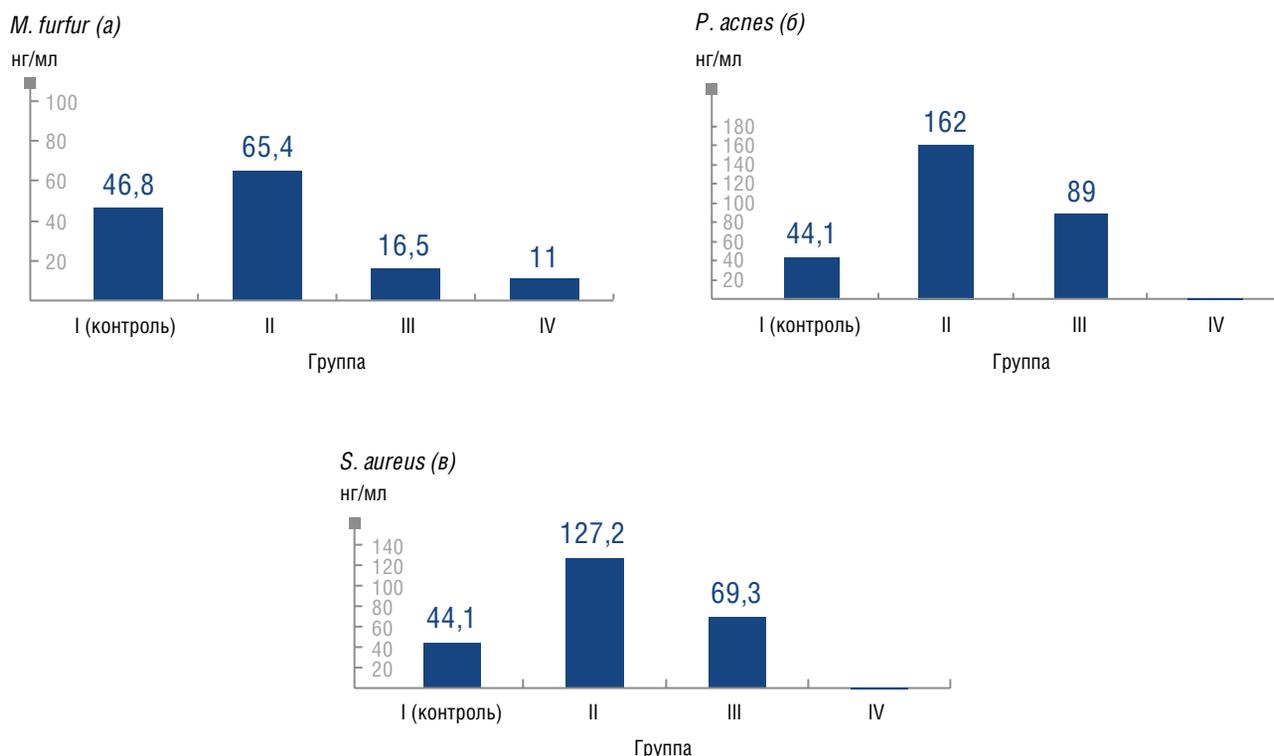
зимозана, входящего в состав клеточной стенки *M. furfur* и *C. albicans* [8, 9].

В последнее время исследователями предпринимаются попытки по разработке лекарственных средств, способных модулировать активацию TLR [10—12]. В дерматологических лабораториях Урьяж было разработано и протестировано соединение TLR2-regul® [13]. Данное соединение запатентовано дерматологическими лабораториями Урьяж, в его состав входят экстракт растения из семейства *Ombelliferae*, синтетические липиды [14, 15].

Исследование проводилось в специализированной микробиологической лаборатории (Laboratoire dermatologique specialisee, ACM Pharma, B.P. 27 34, avenue du 21 aout 1944 45270 Bellegarde) группой фармакологов под руководством научного директора Эрика А. Петата в два этапа. Целью первого этапа была оценка влияния TLR2-regul® на экспрессию IL-8 и выработку  $\beta$ -дефензина-2 в нормальной коже человека в условиях эксперимента *ex vivo*. Экспланты кожи диаметром 8 мм, полученные от здоровых доноров в процессе абдоминопластики, с согласия пациентов были разделены на 4 группы. Образцы I группы (контрольной) помещались в физиологический раствор. Образцы II группы ( $n = 3$ ) помещались на чашку Петри, на каждый образец наносили по 20 мл индифферентного кремового наполнителя «масло в воде», инкубировали в течение 1 ч. Образцы III группы ( $n = 3$ ) помещались на чашку Петри, на каждый образец наносили по 20 мл моноклональных антител к TLR2 (20 мкг/мл; производства фирмы Tebu®, Франция). Образцы IV группы ( $n = 3$ ) помещались на чашку Петри, на каждый образец наносили по 20 мл эмульсии «масло в воде», содержащей комплекс TLR2-regul®, инкубировали в течение 1 ч. Далее образцы в каждой группе делили на три подгруппы, которые инкубировали с экстрактами *M. furfur* (в течение 48 ч.), *P. acnes* и *S. aureus* (в течение 24 ч.), содержащими  $4\text{—}5 \cdot 10^9$  КОЕ/мл. Затем методом иммуноферментного анализа в образцах кожи определяли уровень IL-8 и  $\beta$ -дефензина-2 (нг/мл).

Результаты исследования показали, что каждый из микробных экстрактов спровоцировал значительное повышение экспрессии IL-8 в образцах кожи II группы, инкубированных с индифферентным кремовым наполнителем «масло в воде» ( $p < 0,001$ ). В образцах III группы, инкубированных с моноклональными антителами к TLR2, также отмечалось увеличение экспрессии IL-8, что можно объяснить активацией других разновидностей TLR [16—18]. В эксплантах кожи, инкубированных с эмульсией «масло в воде», содержащей комплекс TLR2-regul®, наблюдалось значительное уменьшение продукции IL-8 по сравнению с контрольной группой (рис. 1).

Содержание  $\beta$ -дефензина-2 в образцах кожи контрольной группы составило 0,92 нг/мл, в образцах



**Рис. 1.** Содержание IL-8 в образцах кожи человека после инкубации с экстрактом *M. Furfur* (а), *P. acnes* (б), *S. aureus* (в)

кожи II группы после стимуляции TLR2 микробными экстрактами количество  $\beta$ -дефензина-2 достигало 1,46 нг/мл. При инкубации эксплантов с моноклональными антителами к TLR2 (III группа) уровень  $\beta$ -дефензина-2 понижался до 0,62 нг/мл, в то время как в образцах, инкубированных с комплексом TLR2-regul<sup>®</sup> (IV группа), количество  $\beta$ -дефензина-2 повышалось до 2,77 нг/мл. Полученные данные свидетельствуют, что комплекс TLR2-regul<sup>®</sup> не подавляет иммунный ответ, а модулирует его, приводя, с одной стороны, к уменьшению продукции цитокина IL-8, что препятствует развитию воспалительной реакции, а с другой стороны — к увеличению синтеза  $\beta$ -дефензина-2, обладающего антимикробной активностью в отношении различных микроорганизмов [19—21].

Целью второго этапа исследования явилась оценка клинической эффективности TLR2-regul<sup>®</sup> при лечении больных с различными воспалительными дерматозами (себорейным дерматитом, акне, atopическим дерматитом). Необходимо отметить, что TLR2-regul<sup>®</sup> входил в состав эмульсий, которые назначались больным в виде монотерапии, больные не получали других системных или топических средств. Больные были рандомизированы на две группы. Пациенты основной группы получали средства, в состав которых входил TLR2-regul<sup>®</sup>, больные группы сравнения получали крем-эмульсию.

Пациенты с проявлениями себорейного дерматита легкой степени ( $n = 143$ ) применяли эмульсию DS

emulsion<sup>®</sup> cream (TLR2-régul<sup>™</sup>), которую наносили непосредственно на очаги воспаленной кожи 2 раза в день. Через 4 нед. у больных, применявших данное средство, наблюдалось значительное уменьшение эритемы, шелушения, ощущения зуда и жжения (рис. 2), отмечалось уменьшение количества рецидивов по сравнению с больными, которые использовали только крем-основу.

Больным ( $n = 34$ ) с легкими воспалительными элементами акне (<3 баллов по шкале ECLA) было назначено лечение с использованием эмульсии Hyséac AI<sup>®</sup> cream (TLR2-régul<sup>™</sup>). Через 3 мес. в основной группе больных наблюдалось значительное уменьшение количества воспалительных элементов (рис. 3) по сравнению с группой больных, применявших только крем-эмульсию.

У 48 больных с умеренными проявлениями atopического дерматита (>15 и <30 баллов по шкале SCORAD), применявших спрей TLR2-régul<sup>™</sup> and Corper-Zinc, через 3 нед. лечения наблюдалось значимое уменьшение эритемы, инфильтрации и экссудации, чувства зуда и стягивания кожи (рис. 4).

Таким образом, научно доказана клиническая эффективность активных препаратов французской лаборатории Урьяж, содержащих запатентованное соединение TLR2-regul. Данные средства способны модулировать иммунный ответ, что позволяет открыть новые пути в области лечения воспалительных заболеваний кожи, осложненных колони-



*a*



*б*

Рис. 2. Пациент с себорейным дерматитом, получавший лечение эмульсией DS emulsion® cream (TLR2-réguI™):  
*a* — до начала лечения; *б* — через 4 нед. лечения



*a*



*б*

Рис. 3. Пациент с акне, получавший лечение эмульсией Hyséac AI® cream (TLR2-réguI™):  
*a* — до начала лечения; *б* — через 3 мес. лечения



Рис. 4. Пациент с атопическим дерматитом, применявший спрей TLR-2-régul™ and Copper-Zinc: а — до начала лечения; б — через 10 дней терапии

защией микроорганизмами, такими как *P. acne*, *S. aureus* или *M. furfur*. В дерматологических лабораториях Урьяж продолжаются более крупные кли-

нические исследования для подтверждения многообещающих результатов, полученных в настоящем исследовании. ■

## Литература

- Kang S.S., Kauls L.S., Gaspari A.A. Toll-like receptors: applications to dermatologic disease. *J Am Acad Dermatol* 2006; 54(6): 951—83.
- Musette P., Auquit Auckbur I., Begon E. Innate immunity: cutaneous expression of Toll-like receptors. *Medecine/Science*, 2006; 22: 149—52.
- Meyer T., Stockfleth E., Christophers E. Immune response profiles in human skin. *Br J Dermatol*, 2007; 157(suppl): 1—7.
- Wang X., Bi Z., Wang Y., Wang Y. Increased MAPK and NF- $\kappa$ B expression of Langerhans cells is dependent on TLR2 and TLR4, and increased IRF-3 expression is partially dependent on TLR4 following UV exposure. *Mol Med Report*, 2011; 4(3): 541—6.
- Hänsel A., Günther C., Ingwersen J., Starke J., Schmitz M., Bachmann M., Meurer M., Rieber E.P., Schäkel K. Human slan (6-sulfo LacNAc) dendritic cells are inflammatory dermal dendritic cells in psoriasis and drive strong TH17/TH1 T-cell responses. *J Allergy Clin Immunol*, 2011 Mar; 127(3): 787—94.
- O'Neil DA, Porter EM, Elewaut D, Anderson GM, Eckmann L, Ganz T, Kagnoff MF. Expression and regulation of the human beta-defensins hBD-1 and hBD-2 in intestinal epithelium. *J Immunol* 1999; 163: 6718—24. Schwandner R., Dziarski R., Wesche H., Rothe M., Kirschning C.J. Peptidoglycan- and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by toll-like receptor 2. *J Biol Chem*, 1999; 274: 17406—9.
- Yang R.B., Mark M.R., Gurney A.L., Godowski P.J. Signaling events induced by lipopolysaccharide-activated toll-like receptor 2. *J Immunol*, 1999; 163: 639—43.
- Nagy I., Pivarcsi A., Koreck A., Széll M., Urbán E., Kemény L. Distinct strains of *Propionibacterium acnes* induce selective human beta-defensin-2 and interleukin-8 expression in human keratinocytes through toll-like receptors. *J Invest Dermatol* 2005; 124: 931—8.
- Liu P.T., Krutik S.R., Kim J., Modlin R.L. Cutting edge: all-trans retinoic acid down-regulates TLR2 expression and function. *J Immunol*, 2005; 174: 2467—70.
- Kurokawa I., Danby F.W., Ju Q., Wang X., Xiang L.F., Xia L., Chen W., Nagy I., Picardo M., Suh D.H., Ganceviciene R., Schagen S., Tsatsou F., Zouboulis C.C. New developments in our understanding of acne pathogenesis and treatment. *Exp Dermatol*, 2009; 18(10): 821—32.
- Bellew S., Thiboutot D., Del Rosso J.Q. Pathogenesis of acne vulgaris: what's new, what's interesting and what may be clinically relevant. *J Drugs Dermatol*, 2011; 10(6): 582—5.
- Leyden J.J., Marples R.R., Kligman A.M. *Staphylococcus aureus* in the lesions of atopic dermatitis. *Br J Dermatol*, 1974; 90: 525—30.
- Giustizieri M.L., Mascia F., Frezzolini A., De Pità O., Chinni L.M., Giannetti A., Girolomoni G., Pastore S.J. Keratinocytes from patients with atopic dermatitis and psoriasis show a distinct chemokine production profile in response to T cell-derived cytokines. *Allergy Clin Immunol*, 2001; 107: 871—7.
- Cho S.H., Strickland I., Tomkinson A., Fehring A.P., Gelfand E.W., Leung D.Y. Preferential binding of *Staphylococcus aureus* to skin sites of Th2-mediated inflammation in a murine model. *J Invest Dermatol*, 2001; 116: 658—63.
- Harder J., Bartels J., Christophers E., Schröder J.M. A peptide antibiotic from human skin. *Nature*, 1997; 387 (6636): 861.
- Schwandner R., Dziarski R., Wesche H., Rothe M., Kirschning C.J. Peptidoglycan- and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by toll-like receptor 2. *J Biol Chem*, 1999; 274: 17406—9.
- Ong P.Y., Ohtake T., Brandt C., Strickland I., Boguniewicz M., Ganz T., Gallo R.L., Leung D.Y. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *N Engl J Med*, 2002; 347: 1151—60.
- Niebuhr M., Heratizadeh A., Wichmann K., Satzger I., Werfel T. Intrinsic alterations of pro-inflammatory mediators in unstimulated and TLR-2 stimulated keratinocytes from atopic dermatitis patients. *Exp Dermatol*, 2011; 20(6): 468—72.
- Baroni A., Orlando M., Donnarumma G., Farro P., Iovene M.R., Tufano M.A., Buommino E. Toll-like receptor 2 (TLR2) mediates intracellular signalling in human keratinocytes in response to *Malassezia furfur*. *Arch Dermatol Res*, 2006 Jan; 297(7): 280—8.
- Dreno B., Alirezai M., Auffret N., Beylot C., Chivot M., Daniel F., Faure M., Lambert D., Poli F., Merial-Kieny C., Nocera T. Clinical and psychological correlation in acne: use of the ECLA and CAD1 scales. *Ann Dermatol*, 2007; 134: 451—5.
- Ionescu M.A., Baroni A., Brambilla L., Cannavò S.P., Cristaudo A., Vedove C.D., Frasca M., Girolomoni G., Gneccchi L., Peris K., Trifirò C., Matta A.M., Robert G. Double blind clinical trial in a series of 115 patients with seborrheic dermatitis: prevention of relapses using a topical modulator of Toll like receptor 2. *G Ital Dermatol Venereol*, 2011; 146: 185—9.