

## ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ У БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ НА ФОНЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ

В.А. ОХЛОПКОВ, Е.К. МЕДВЕДЧИКОВ, Т.И. ДОЛГИХ, О.В. ПРАВДИНА, Р.В. ГОРОДИЛОВ, И.Ф. ЗАРАЕВА

### Assessment of the cytokine profile in psoriasis patients against the background of an immune-modulating therapy

V.A. OKHLOPKOV, E.K. MEDVEDCHIKOV, T.I. DOLGIKH, O.V. PRAVDINA, R.V. GORODILOV, I.F. ZARAYEVA

Об авторах:

В.А. Охлопков — профессор кафедры дерматовенерологии ОмГМА, г. Омск, д.м.н.

Е.К. Медведчиков — ассистент кафедры дерматовенерологии ОмГМА, г. Омск

Т.И. Долгих — заведующая Центральной научно-исследовательской лабораторией ОмГМА, г. Омск, д.м.н., профессор

О.В. Правдина — доцент кафедры дерматовенерологии ОмГМА, г. Омск, к.м.н.

Р.В. Городилов — доцент кафедры патологической анатомии с курсом клинической патологии, г. Омск, к.м.н.

И.Ф. Зараева — клинический ординатор кафедры дерматовенерологии ОмГМА, г. Омск

Изучен клинический эффект и динамика иммунологических показателей (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) в прогрессирующую и стационарную стадии псориаза с применением фармакологического препарата Стемокин®. На фоне лечения отмечалось достоверное снижение уровня IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$ , что сопровождалось выраженным клиническим эффектом. В комплексной терапии установлены два варианта реагирования иммунной системы.

*Ключевые слова:* иммунологические показатели (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ), псориаз, фармакологический препарат Стемокин®.

The authors examined the clinical effect and dynamics of immunological indices (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) at the progressing and stationary stages of psoriasis with the administration of Stemokin®. A reliable reduction of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  was observed against the background of treatment and was accompanied with an evident clinical effect. Two variants of the immune system response were revealed for the complex therapy.

*Key words:* immunological indices (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ), psoriasis, Stemokin®.

Псориаз считается генетически детерминированным хроническим заболеванием с преимущественным поражением кожи, в основе которого лежат гиперпролиферация и нарушение дифференцировки эпидермальных кератиноцитов, изменение иммунного гомеостаза кожи с образованием иммунонезависимых цитокинов и медиаторов, усиливающих пролиферацию «неполноценных» кератиноцитов, а также индуцирующих воспалительную реакцию в дерме [1–6]. В настоящее время существует множество концепций патогенеза псориаза, однако ни одна из них не является общепризнанной.

На сегодняшний день доказана мультифакториальная природа дерматоза, одним из звеньев патогенеза которого является аутоиммунный механизм, характеризующийся активацией клеточного звена

иммунной системы, вызывающей воспалительный процесс с Th1 — цитокиновым профилем [7].

Установленное гиперактивное состояние Т-хелперов при псориазе сегодня рассматривается в качестве главного механизма, приводящего к эпидермальной пролиферации с нарушением дифференцировки кератиноцитов, расширению сосудов, пролиферации и кумуляции нейтрофилов и Т-лимфоцитов [8].

Активация Т-клеток является ключевым событием в каскаде взаимодействий клеток воспалительного инфильтрата, кровеносных сосудов и кератиноцитов [9].

За последние годы приоритетным направлением стало изучение цитокинового профиля у больных псориазом, так как именно цитокинам отводится одна из ключевых ролей в развитии данного заболевания.

Преобладающими в псориатических очагах являются цитокины Th1-типа: интерферон- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) и фактор некроза опухолей- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), интерлейкин-12 (IL-12)

[8, 10]. TNF- $\alpha$  рассматривается как основной цитокин в каскаде аутоиммунных нарушений при псориазе и является мощным модификатором воспалительных иммунных реакций. Одновременно с повышением уровня TNF- $\alpha$  повышается уровень IL-1 $\beta$ , 2, 6, 7, 8 и IFN- $\gamma$  [11].

Главный цитокин IFN- $\gamma$  вырабатывают антиген-презентирующие клетки, CD4+ и CD8+ Т-лимфоциты и кератиноциты [12—14]. IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  активируют кератиноциты к выработке IL-6, 7, 8, 12, 15, 18 [15, 16]. IFN- $\gamma$  и другие цитокины являются причиной гиперпролиферации кератиноцитов, а IFN- $\gamma$  и IL-15 увеличивают резистентность кератиноцитов к апоптозу [17—19]. Важную роль в гиперпролиферации эпидермиса при псориазе играет также повышенная продукция TNF- $\alpha$  и эпидермального фактора роста. Указанный цитокиновый каскад при псориазе может стать самоподдерживающимся процессом, замыкающим порочный круг.

В конечном счете на коже образуется воспалительная папула, являющаяся следствием внутриэпидермальной инфильтрации CD8+ Т-лимфоцитами и нейтрофилами, утолщения эпидермиса, пролиферации и ангиогенной реакции ткани, полностью реконструирующего вовлеченный участок кожи [13].

Выявленные в последние годы нарушения содержания биологических медиаторов, воздействующих на клетки-мишени кожи и других органов и объединенных в единую систему иммунного ответа, отражают механизм и динамику патологического процесса на разных фазах развития заболевания. Несмотря на значительное количество работ, посвященных исследованию колебаний уровня цитокинов у больных псориазом, полная картина трансформации этих показателей до конца не раскрыта, поэтому дальнейшее изучение цитокинового статуса при данном дерматозе является весьма актуальным.

В настоящее время установлено повышенное содержание провоспалительных цитокинов и цитокинов широкого спектра действия в псориазической папуле, данные о содержании этих цитокинов в периферической крови остаются весьма неоднозначными.

В связи с вышесказанным перспективным направлением повышения эффективности лечения больных псориазом является применение препаратов, влияющих на реакции клеточного и гуморального иммунитета, а также неспецифическую резистентность организма и назначаемых наряду с традиционной терапией. К таким препаратам можно отнести новый отечественный иммуномодулятор СТЕМОКИН<sup>®</sup> производства ЗАО «Центр «Пептос» (Москва, регистрационное удостоверение ЛСР-003014/09-160409). СТЕМОКИН<sup>®</sup> оказывает корригирующее действие на клеточные и гуморальные звенья иммунитета, нормализуя цитокиновый профиль, однако механизм действия и точки приложения данного препарата до конца не изучены [20].

СТЕМОКИН<sup>®</sup> является натриевой солью синтетического трипептида, состоящего из L-аминокислотных

остатков изолецитина, глутаминовой кислоты и триптофана. Основу механизма действия СТЕМОКИНА<sup>®</sup> составляют стимуляция процессов дифференцировки клеток и цитопротективный эффект. СТЕМОКИН<sup>®</sup> оказывает регулирующее влияние на реакции клеточного, гуморального иммунитета и неспецифическую реактивность организма; обладает выраженной детоксикационной активностью, которая определяется структурой и молекулярной природой препарата, повышает устойчивость клеточных мембран к цитотоксическому действию лекарственных препаратов и химических веществ, снижает их токсичность.

*Цель исследования:* изучить клиническую эффективность применения препарата СТЕМОКИН<sup>®</sup> в комплексной терапии больных псориазом в прогрессирующей и стационарной стадии и оценить динамику иммунологических показателей в процессе лечения.

### Материал и методы

Под наблюдением находились 68 больных псориазом.

*Критерии включения:*

- вульгарный псориаз легкой и средней степени тяжести в прогрессирующей стадии;
- мужской пол;
- возраст от 18 до 55 лет;
- информированное согласие пациента на участие в исследовании.

*Критерии исключения:*

- лица, получающие другие виды иммунной терапии на момент проведения исследования;
- развитие побочных эффектов от проводимой терапии;
- наличие декомпенсированной хронической соматической патологии;
- нарушение режима лечения;
- осложненный аллергологический анамнез;
- алкоголизм, наркомания.

Участие в исследовании только мужчин объясняется тем, что они легче соглашаются на участие в исследовании. Кроме того, чем более однороден собранный материал, тем меньше ошибка репрезентативности при его статистической обработке, что является одним из основных требований, предъявляемых к проведению выборочных исследований.

В зависимости от схемы лечения все пациенты путем рандомизации были разделены на две группы. Применение метода рандомизации (проводилась простая рандомизация с использованием таблицы случайных цифр) позволило обеспечить равномерное распределение больных по возрасту, длительности и тяжести заболевания.

Основную группу составили 34 пациента, получавших наряду с традиционной терапией препарат СТЕМОКИН<sup>®</sup>.

Методика применения Стемокина®: всем больным препарат назначали по 1 мл 0,01% раствора внутримышечно 1 раз в сутки в течение 10 дней, затем по 1 мл 1 раз в сутки через день в течение следующих 10 дней. Длительность курса лечения 20 дней. Возраст больных варьировал от 18 до 50 лет, в возрасте 18—27 лет было 25 пациентов, в возрасте 28—37 лет — 5 пациентов, в возрасте 38—50 лет — 4 пациента, средний возраст больных составил 26 лет. Давность заболевания варьировала от 3 нед. до 9 лет. Среди провоцирующих факторов больные отмечали психоэмоциональный стресс, вирусные и инфекционные заболевания (ОРВИ, ангина). Изучение структуры сопутствующих заболеваний не выявило каких-либо особенностей.

Группу сравнения составили 34 больных в возрасте от 18 до 55 лет (средний возраст 29 лет), которым проводили традиционную терапию, включавшую применение 30% раствора тиосульфата натрия 10 мл внутривенно № 10; эссенциале форте 5 мл внутривенно в аутокрови № 10; 5% раствора аскорбиновой кислоты 2 мл внутримышечно № 10; ретинола пальмитата внутрь по 400 000 МЕ в сутки, витаминов группы В (В<sub>1</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>) по 1 мл внутримышечно № 10; общее УФ-облучение при зуде — антигистаминных препаратов. Наружно назначали серно-салициловую, нафталановую, дегтярную, папавериновую мази.

Патологический процесс на коже был представлен папулами и бляшками различных размеров округлой формы, розового и ярко-красного цвета с серебристо-белым шелушением на поверхности. Выявлялись феномены псориатической триады.

Для объективной оценки степени тяжести заболевания и эффективности терапии использовали индекс PASI. Клинической ремиссией считали полное разрешение очагов поражения или уменьшение величины индекса PASI не менее чем на 96% от исходного. Значительное улучшение констатировали при уменьшении индекса PASI на 76—95%, улучшение — при уменьшении индекса PASI на 26—75%. За отсутствие эффекта принимали уменьшение индекса PASI менее чем на 26% от первоначальной его величины.

Иммунологическое обследование включало в себя определение интерферонового статуса (спонтанный и индуцированный IFN- $\gamma$ ) и цитокинового профиля (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ), поскольку считается, что именно эти цитокины поддерживают воспалительный процесс на системном уровне [21]. Контрольную группу составили 34 практически здоровых мужчин в возрасте 18—55 лет.

Основной группе больных, получавших в комплексной терапии препарат Стемокин®, иммунологическое обследование было проведено до начала лечения и повторно на 21-й день терапии.

Уровень циркулирующих цитокинов определяли методом иммуноферментного анализа с приме-

нием тест-систем производства ООО «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург). Постановку метода осуществляли согласно рекомендациям фирмы-производителя.

Терапия проводилась под контролем общеклинических анализов крови и мочи, биохимического исследования крови.

Статистический анализ осуществляли применением пакетов программ Microsoft Excel и Statistica 6.0. Значимость различий между группами рассчитывали с использованием критериев Крускала—Уоллиса и Вилкоксона. Все расчеты выполнены в Microsoft Excel, Statistica 6.0.

### Результаты и обсуждение

У больных с легкой степенью тяжести заболевания, получавших в комплексном лечении препарат Стемокин®, уже с первых дней лечения отмечалась выраженная положительная динамика кожного процесса, заключающаяся в значительном уменьшении зуда, прекращении периферического роста папул и появления свежих эффоресценций. У 13 больных со средней степенью тяжести заболевания начиная с 3—4-го дня лечения наблюдалась устойчивая положительная динамика, проявлявшаяся постепенным уменьшением зуда, прекращением появления свежих высыпаний, исчезновением на 7—10-й день периферического ободка роста (симптом Пильнова). Исходные значения индекса PASI в основной группе варьировали от 6,4 до 20,0 (среднее значение 11,6) в группе сравнения — от 7,2 до 19,9 (среднее значение 12,2).

При оценке состояния больных на 21-й день лечения значения индекса PASI в основной группе варьировали от 0 до 6,6 (среднее значение 2,66), в группе сравнения — от 2 до 10,1 (среднее значение 6,13) (рис. 1).

В основной группе клиническая ремиссия (уменьшение индекса PASI более чем на 96%) была достигнута у 6 пациентов, значительное клиническое улучшение (уменьшение индекса PASI на 76—95%) — у 16, клиническое улучшение — у 12 (рис. 2—5). В группе сравнения значительное клиническое улучшение отмечено у 5 больных, клиническое улучшение — у 28, незначительное улучшение (отсутствие выраженного регресса псориазных элементов) — у 1.

При анализе результатов иммунологических исследований установлено значительное повышение содержания цитокинов в периферической крови больных псориазом по сравнению с группой практически здоровых лиц (см. таблицу).

Исследование содержания TNF- $\alpha$  в сыворотке крови больных псориазом до лечения выявило его достоверное повышение ( $p < 0,05$ ; рис. 6). Существенных различий содержания TNF- $\alpha$  в зависимости от возраста пациентов не выявлено. У 3 пациентов отмечались более высокие показатели TNF- $\alpha$  внутри группы, клиническая картина заболевания

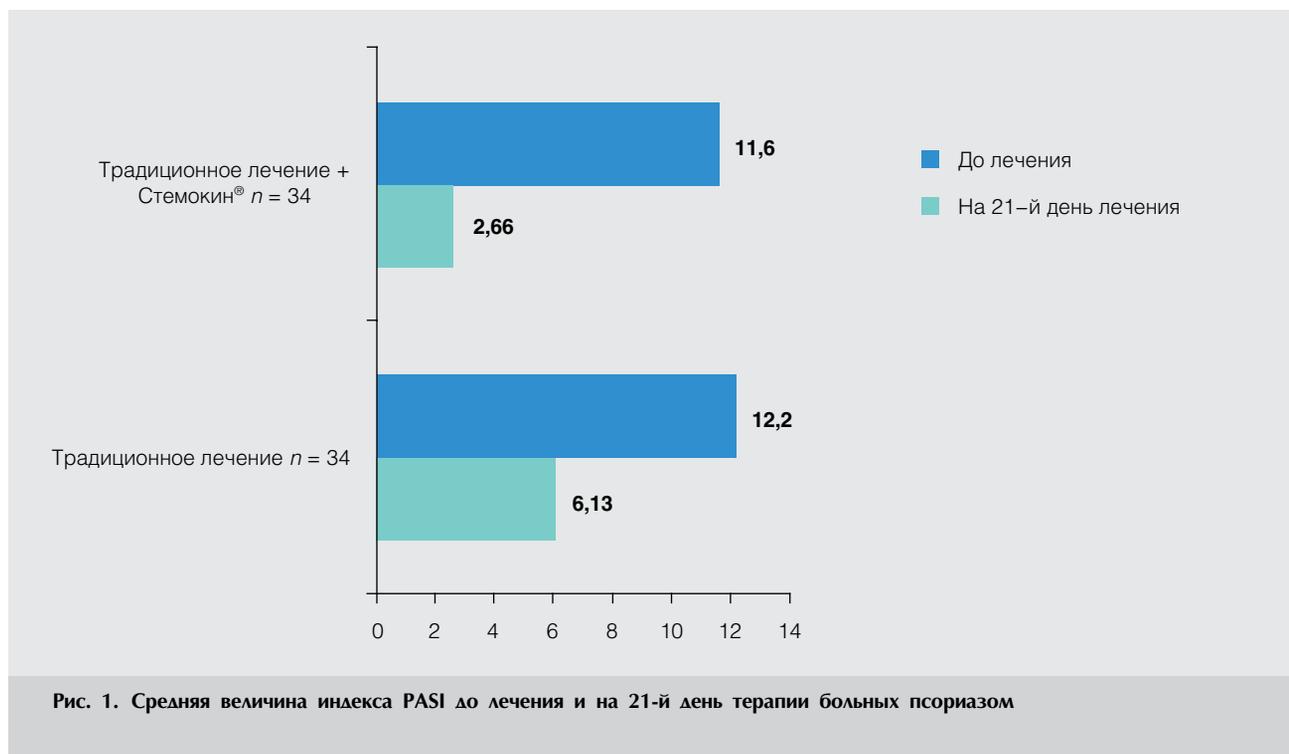


Рис. 1. Средняя величина индекса PASI до лечения и на 21-й день терапии больных псориазом



Рис. 2. Псориаз обыкновенный, прогрессирующая стадия (до лечения). Пациент С., 1958 г. рождения



Рис. 3. Псориаз обыкновенный, регрессирующая стадия (21-й день лечения). Пациент С., 1958 г. рождения



Рис. 4. Псориаз обыкновенный, прогрессирующая стадия (до лечения). Пациент К., 1953 г. рождения



Рис. 5. Псориаз обыкновенный, регрессирующая стадия (21-й день лечения). Пациент К., 1953 г. рождения

Таблица

Уровень исследованных цитокинов в периферической крови практически здоровых добровольцев и больных псориазом до лечения (в пг/мл)

Группа	IFN- $\gamma$ (Me(25%;75%))	IL-1 $\beta$ (Me(25%;75%))	TNF- $\alpha$ (Me(25%;75%))	IL-6 (Me(25%;75%))
Здоровые лица	4,1 (2,9; 7,9)	3,6 (1,9; 6,2)	3,2 (2,2; 5,7)	0,9 (0,1; 1,1)
Больные псориазом	1908,1 (543,4; 3066)*	17,6 (6,9; 52,6)*	7 (1,5; 20,2)*	8,7 (3,2; 14,5)**

Примечание. Достоверность различий показателей в сравниваемых группах: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p > 0,05$ .

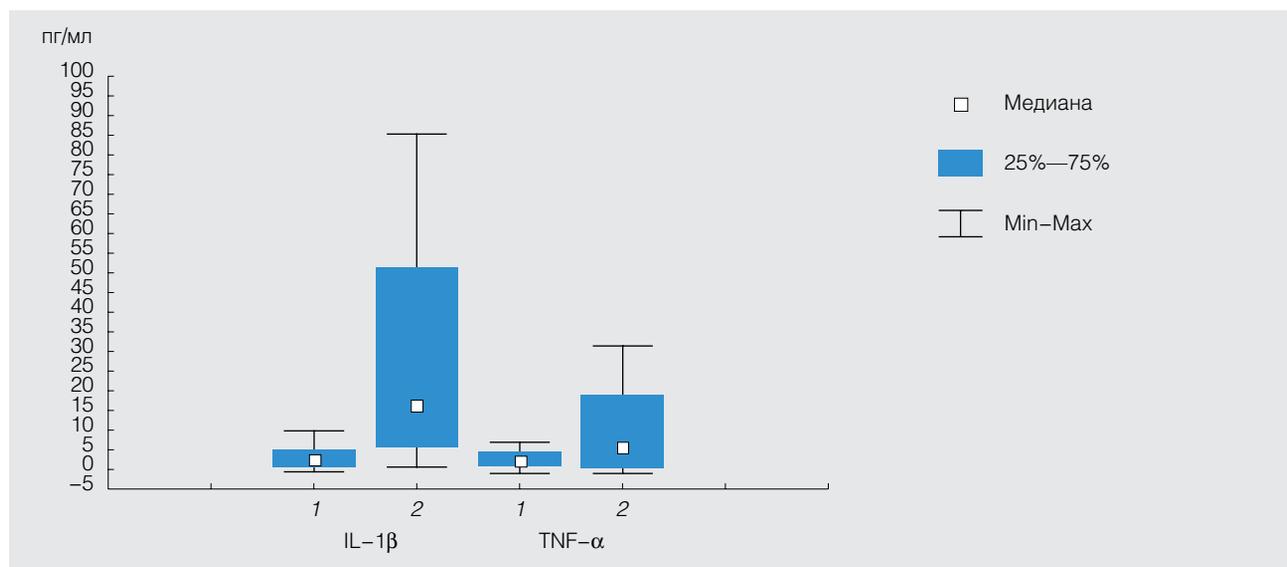


Рис. 6. Содержание IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  в сыворотке крови практически здоровых людей (1) и больных псориазом до лечения (2)

у этих больных характеризовалась большей распространенностью и стойкостью процесса.

До сих пор нет четких данных о содержании белков семейства IL-1 в эпидермисе и сыворотке больных псориазом. Нами установлено достоверное повышение содержания в сыворотке крови провоспалительного цитокина IL-1 $\beta$  по сравнению с таковым в группе практически здоровых добровольцев ( $p < 0,05$ ; см. рис. 6).

Уровень провоспалительного цитокина IL-6 в сыворотке крови больных достоверно не отличал-

ся от показателя в группе здоровых лиц ( $p > 0,05$ ; см. таблицу), хотя и имел тенденцию к повышению.

Содержание IFN- $\gamma$  в сыворотке крови больных было достоверно выше, чем в группе практически здоровых лиц ( $p < 0,05$ ; см. таблицу).

Для оценки адекватности ответа цитокиновой системы на лечение проведена повторная оценка состояния цитокинового статуса у больных псориазом основной группы на 21-й день лечения. Установлено достоверное снижение содержания TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$

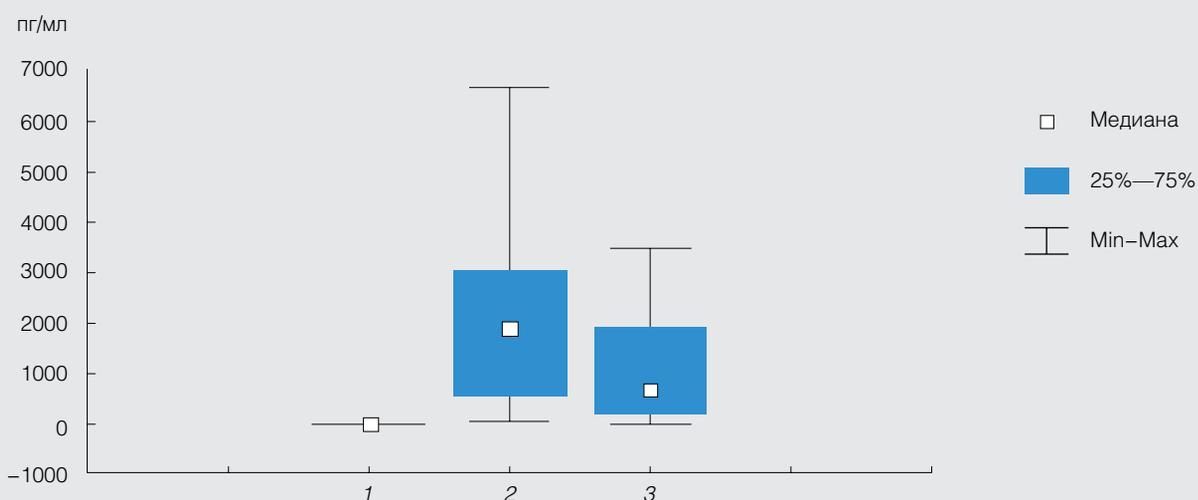


Рис. 7. Содержание IFN- $\gamma$  в сыворотке крови практически здоровых добровольцев (1) и больных псориазом до лечения (2) на 21-й день лечения с применением препарата Стемокин® (3)

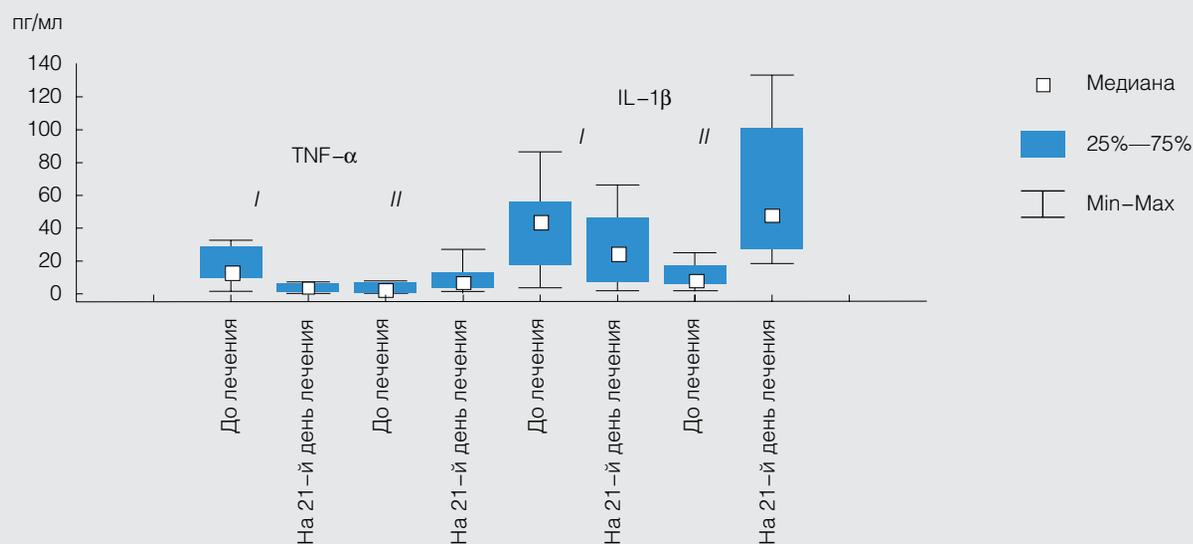


Рис. 8. Варианты иммунного реагирования на проводимую комплексную терапию. I — первый вариант реагирования; II — второй вариант реагирования

по сравнению с исходными показателями до лечения ( $p < 0,05$ ; рис. 7).

По результатам исследований нами были выделены два варианта иммунного реагирования на проводимую комплексную терапию.

Первый вариант характеризовался исходно высоким уровнем провоспалительных цитокинов, по окончании терапии которого наблюдалось достоверное снижение исследуемых показателей ( $p < 0,05$ ), что сопровождалось выраженным клиническим эффектом.

При втором варианте ответа выявлялись изначально низкие показатели цитокинов, что могло свидетельствовать о неадекватном реагировании иммунной системы на данное заболевание. Это ограничило запуск каскада реакций для формирования иммунного ответа. При данном варианте течения псориаза после лечения отмечалось незначительное увеличение содержания TNF- $\alpha$  и особенно IL-1 $\beta$  и IL-6, хотя также наблюдался выраженный клинический эффект (рис. 8).

### Выводы

1. Выявленные у больных псориазом клинико-лабораторные взаимосвязи подтверждают вовлеченность иммунной системы в регуляцию патологических процессов при этом дерматозе и важную роль цитокинов в его патогенезе.

2. У больных псориазом в сыворотке крови выявлен достоверно повышенный уровень провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) и IFN- $\gamma$  по сравнению с группой практически здоровых лиц. В результате проведенного лечения, включавшего наряду с традиционной терапией иммуномодулирующий препарат Стемокин<sup>®</sup>, обнаружено достоверное снижение уровня IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$ , что сопровождалось выраженным клиническим эффектом. При комплексной терапии установлены два варианта реагирования иммунной системы.

3. Полученные данные обосновывают целесообразность назначения иммуномодулирующих препаратов в комплексном лечении больных псориазом.

### Литература

1. Мордовцев В.Н., Суколин Г.И., Сергеев А.С. Эпидемиология и генетика псориаза. Симпозиум по псориазу дерматовенерологов социалистических стран, 3-й. М., 1987; 89.
2. Baker H. Psoriasisclinical features. Br Med J 1994; 3: 231—233.
3. Elder J.T., Henseler T., Christophers E. The genetis of psoriasis. Arch Dermatol 1994; 130: 216—224.
4. Farber E.M. Infantile psoriasis: a follow-up study. Pediatr Dermatol 1986; 3: 3: 237—243.
5. Matthews D., Powles A.V., Fry L., Williamson. Conformation of genetic heterogeneity in familial psoriasis. J Invest Dermatol 1995; 105: 3: 457—461.
6. Roenigk H.H., Maibach H.I. Psoriasis. Second edition, revised and expanded. New York—Basel—Hong Kong: Marcel Dekker 1991; 992.
7. Кацамбас А.Д., Лотти Т.М. Европейское руководство по лечению дерматологических заболеваний. М. 2008.
8. Довжанский С.И., Пинсон И.Я. Генетические и иммунологические факторы в патогенезе псориаза. Рос. журн. кожн. и венерич. болезней. 2006; 1: 14—18.
9. Christophers E. The immunopathology of psoriasis and biologic immunotherapy. J. Am. Acad. Dermatol 2003; 49: 44—50.
10. Павлова О.В. Иммуномодулирующая терапия псориаза у больных с сопутствующим шизотиническим расстройством. Рос. журн. кожн. и венерич. болезней. 2006; 4: 32—35.
11. Gillitzer R., Ritter U., Spandau U. et al. Differential expression of GRO- and IL-8 mRNA in psoriasis: a model for neutrophil migration and accumulation in vivo. J Invest Dermatol 1996; 107: 5: 778—782.
12. Alice B. Gottlieb Psoriasis: Emerging Therapeutic Strategies. Nature Reviews Drug Discovery 4 2005; 1: 19—34.
13. Bromley S.K., et al. The immunological synapse. Annu. Rev. Immunol 2001; 19: 375—396.
14. Takematsu H., Tagami H. Interleukin-2, soluble interleukin-2 receptor, and interferon-gamma in the suction blister fluids from psoriatic skin [comments]. Arch Dermatol Res 1990; 282: 149—152.
15. Yawalkar N, Karlen S, Hunger R et al. Expression of interleukin-12 is increased in psoriatic skin. J Invest Dermatol 1998; 111: 1053—7.
16. Gearing AJ, Fincham NJ, Bird CR et al. Cytokines in skin lesions of psoriasis. Cytokine 1990; 2: 68—75.
17. Prinz JC, Gross B, Vollmer S et al. T cell clones from psoriasis skin lesions can promote keratinocyte proliferation in vitro via secreted products. Eur J Immunol 1994; 24: 593—8.
18. Quin JZ, Chaturvedi V, Denning MF et al. Role of NF-kappaB in the apoptotic-resistant phenotype of keratinocytes. J Biol Chem 1999; 274: 37957—64.
19. Ruckert R, Asadullah K, Seifert M et al. Inhibition of keratinocyte apoptosis by IL-15: a new parameter in the pathogenesis of psoriasis. J Immunol 2000; 165: 2240—50.
20. Борисов И.В. Клинико-иммунологическое обоснование патогенетической терапии генитального герпеса. Автореф. дис... канд. мед. наук. М., 2007.
21. Левшин Р.Н., Бобынцев И.И., Силина Л.В. Современные представления об иммунопатогенезе псориазической болезни. Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2007; 1: 72—78.