



УДК 616.517-08

Клинико-морфологическое обоснование комплексного подхода к лечению легких и среднетяжелых форм псориаза

А.И. НОВИКОВ, В.А. ОХЛОПКОВ, О.В. ПРАВДИНА, Е.К. МЕДВЕДЧИКОВ, Р.В. ГОРОДИЛОВ

Омская государственная медицинская академия

Новиков Александр Иванович

доктор медицинских наук, профессор кафедры

дерматовенерологии и косметологии

644001, г. Омск, ул. 5-Линия, д. 117а

тел. (3812) 36-63-00, e-mail: pravdina76@yandex.ru

Проведен клинический и морфологический анализ (CD68, CD1a, CD80) у 34 пациентов вульгарной формой псориаза в прогрессирующую и стационарную стадии с применением фармакологического препарата СТЕМОКИН® как препарата сопровождения к традиционной терапии. Доказана его эффективность: нормализация морфологической картины, достоверное снижение CD80-лимфоцитов в дерме, положительная динамика клинической картины.

Ключевые слова: вульгарный псориаз, биоптаты кожи, молекулярно-клеточные показатели (CD68, CD1a, CD80), фармакологический препарат СТЕМОКИН®.

Clinical and morphological substantiation of a comprehensive approach to the treatment of mild and moderate forms of psoriasis

A.I. NOVIKOV, V.A. OHLOPKOV, O.V. PRAVDINA, E.K. MEDVEDCHIKOV, R.V. GORODILOV

Omsk State Medical Academy

Carried out the clinical and morphological analysis (CD68, CD1a, CD80) in 34 patients with vulgar form of psoriasis in the progressive and stationary phase with the use of pharmacological drug Stemokin as an accompaniment to traditional drug therapy. It proved its effectiveness: the normalization of morphological pattern, significant reduction in CD80-lymphocytes in the dermis, the positive dynamics of the clinical picture is shown.

Key words: vulgar psoriasis, skin biopsies, molecular cell parameters (CD68, CD1a, CD80), a pharmacological drug Stemokin®.

Псориаз — это генетически детерминированное хроническое заболевание с преимущественным поражением кожи, в основе которого лежат гиперпролиферация и нарушение дифференцировки эпидермальных кератиноцитов, изменение иммунного гомеостаза кожи с образованием иммунозависимых цитокинов и медиаторов, усиливающих пролиферацию «неполноценных» кератиноцитов, а также индуцирующих воспалительную реакцию в дерме [1-4]. В течение последних 10-15 лет наблюдается рост заболеваемости этим дерматозом, «омоложение» контингента больных, учащение случаев тяжелых форм, нередко приводящих к инвалидизации, в частности, — псориазического полиартрита, псориазической эритродермии, экссудативного и пустулезного псориаза. Обусловлено это, в первую очередь, отсутствием эффективных методов лечения, так как до

сих пор нет единой концепции этиологии и патогенеза псориаза.

На сегодняшний день доказана мультифакторность этого дерматоза, одним из звеньев которого является аутоиммунный компонент вследствие активации клеточного звена иммунитета, вызывающей воспалительный процесс с Th1-цитокиновым профилем [5]. Считается, что пусковым механизмом патогенеза псориаза является миграция в базальный слой эпидермиса Т-хелперов, которая начинается еще до появления высыпаний на коже. Источником их являются клетки периваскулярных пространств дермы, обнаруживаемые в биоптатах интактной кожи больных псориазом, где кроме Т-лимфоцитов встречаются и макрофаги [6].

Изучение распределения Т-лимфоцитов в крови и в пораженной коже выявляет с помощью моноклональ-

ных антител перемещение Т-хелперов в кожный покров. Инфильтраты в очагах поражения в прогрессивную стадию процесса преимущественно состоят из Т-хелперов, которые формируют преобладающий массив клеток вокруг сосудистого русла. В стационарную стадию заболевания интенсивность инфильтратов снижается, параллельно снижается и число хелперов [7].

Роль антигенных факторов, запускающих механизмы Т-клеточной активации, а также клеточных субпопуляций в формировании клеточного и гуморального ответа, до конца не выяснены. Установлено, что не только бактериальные токсины *S. aureus* действуют как суперантигены, но и многие патогенные микроорганизмы способны к синтезу этих макромолекул, играющих важную роль в патогенезе различных заболеваний, в том числе и псориаза [8]. Такие антигены нарушают нормальный контроль активации Т-клеток и активируют все Т-клеточные клоны, несущие определенные типы вариабельной цепи на Т-клеточном рецепторе: это приводит к мощной активации Т-клеток и высвобождению цитокинов.

Иммуногенные детерминанты вызывают антигенспецифичную активацию Т-клеток, которая осуществляется при сочетанном взаимодействии некоторых молекул на поверхности Т-лимфоцита с рядом комплементарных молекул на поверхности антигенпрезентирующей клетки.

Возникает так называемый иммунный синапс между антигенпрезентирующей клеткой и наивным Т-лимфоцитом [9]. Такое межклеточное взаимодействие не только способствует передаче информации об антигене, но и стимулирует активацию и клональную проли-

ферацию лимфоцитов, необходимых для дальнейшего иммунного ответа.

Иммунный синапс представляет собой двухкомпонентную систему: с одной стороны, это антигенпрезентирующая клетка, несущая на своей поверхности молекулы II класса главного комплекса гистосовместимости со встроенным в нее антигеном, с другой стороны — это Т-лимфоцит [10].

В процессе дифференцировки лимфоцит экспрессирует в надлежащем количестве мембранные молекулы и цитокины, необходимые для атаки на клетки-мишени. Состояние активации заключается в биосинтезе и секреции эффекторных молекул. В случае CD4+Th1 — это цитокины, «нанимающие» для деструкции антигена те или иные лейкоциты (макрофаги, нейтрофилы и др.) [11].

В последние годы достигнуты значительные успехи в изучении молекулярных механизмов регулирования иммунной системы. Перспективным направлением повышения эффективности лечения больных псориазом является применение препаратов, влияющих на реакции клеточного, гуморального иммунитета и неспецифическую резистентность организма как препаратов сопровождения к традиционной терапии. К таким препаратам можно отнести новый отечественный иммуномодулятор Стемокин® производителя ЗАО «Центр «Пептос» (г. Москва, регистрационное удостоверение ЛСР-003014/09-160409). Стемокин® обладает корректирующим действием на клеточные и гуморальные звенья иммунитета, нормализуя цитокиновый профиль, при этом механизм действия и точки приложения данного препарата до конца не изучены [12].

Таблица 1. Клиническая эффективность комплексной терапии больных псориазом традиционными методами в зависимости от длительности заболевания

Возраст больных (лет)	Число больных (n)	Результат терапии на 21-й день наблюдения					
		Значительное улучшение		Клиническое улучшение		Незначительное улучшение	
		Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%
До 1 года	14	0	0,00	13	92,86	1	7,14
1-5 лет	13	0	0,00	13	100,00	0	0,00
6-10 лет	6	4	66,67	2	33,33	0	0,00
11-15 лет	1	1	100,00	0	0,00	0	0,00

Таблица 2. Клиническая эффективность комплексной терапии больных псориазом с включением препарата Стемокин® в зависимости от длительности заболевания

Возраст больных (лет)	Число больных (n)	Результат терапии на 21-й день наблюдения					
		Клиническая ремиссия		Значительное улучшение		Клиническое улучшение	
		Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%
До 1 года	13	3	23,08	10	76,92	0	0,00
1-5 лет	15	3	20,00	6	40,00	6	40,00
6-10 лет	5	0	0,00	0	0,00	5	100,00
11-15 лет	1	0	0,00	0	0,00	1	100,00



Таблица 3.
Степень экспрессии CD68- и CD80- и CD1a молекул в клетках воспалительного инфильтрата биоптатов пациентов (в 1 мм² среза) (M±σ)

Маркер	Основная группа		Группа сравнения	
	1-й день исследования	21-й день исследования	1-й день исследования	21-й день исследования
CD68	49,85±17,42*	36,55±16,66*	49,0±21,93*	33,5±14,14*
CD80	25,46±7,70*	12,75±6,44*	24,7±7,66**	18,2±7,48**
CD1a	41,44±22,48*	28,08±8,79*	45,93±17,11*	32,36±11,92*

*Примечание. Уровень достоверности относительно соответствующих значений в сравниваемых группах: *p<0,05; **p>0,05.*

Стемокин® является натриевой солью синтетического трипептида, состоящего из L-аминокислотных остатков изолейцина, глутаминовой кислоты и триптофана. В основе механизма действия Стемокина® лежит прямое воздействие на ранние предшественники гемопоэза — стимуляцию процессов дифференцировки и цитопротекторный эффект. Стемокин® 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 — проанализировать клинический эффект и динамику морфологических и молекулярно-клеточных показателей в прогрессирующую и стационарную стадии псориаза с применением фармакологического препарата Стемокин® как препарата сопровождения к традиционной терапии.

Материалы и методы

Изучение динамики морфологических и молекулярно-клеточных (CD68, CD1a, CD80) показателей в прогрессирующую и стационарную стадии у больных псориазом, получающих в комплексном лечении препарат Стемокин®. Всего под наблюдением находилось 68 больных, согласно критериям включения и исключения.

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

Основную группу составили 34 пациента мужского пола с прогрессирующей стадией вульгарного псориаза легкой и средней степени тяжести, получавших с традиционной терапией препарат Стемокин®.

Критерии включения:

— псориаз легкой и среднетяжелой формы в прогрессирующей стадии;

— мужской пол;

— возраст от 18 до 55 лет;

— информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения:

— лица, получающие другие виды иммунной терапии на момент проведения исследования;

— развитие побочных эффектов на получаемую терапию;

— наличие декомпенсированной хронической патологии;

— нарушение режима лечения;

— осложненный аллергологический анамнез;

— алкоголизм, наркомания.

Участие только мужчин объясняется тем, что они более сговорчивы, 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.

Методика применения Стемокина® была следующей: всем больным препарат назначался по 1 мл 0,01% раствора внутримышечно 1 раз в сутки в течение 10 дней, затем через день по 1 мл 1 раз в сутки в течение следующих 10 дней. Длительность курса лечения составила 20 дней. Препарат Стемокин® вводился на фоне традиционной терапии. Традиционная терапия включала введение тиосульфата натрия 30% — 10,0 внутривенно N 10; 5 мл Эссенциале форте внутривенно в аутокрови N 10; аскорбиновой кислоты 5% — 2,0 внутримышечно N 10; ретинола пальмитата 400 тыс. в сутки; при зуде — прием антигистаминных препаратов. По показаниям назначались витамины группы B (B₁, B₆, B₁₂) по 1 мл внутримышечно N 10. Наружно применялась 3% серно-салициловая мазь, УФО общее.

Возраст больных составил от 18 до 50 лет, в том числе 25 пациентов — в возрасте 18-27 лет, 5 пациентов — в возрасте 28-37 лет, 4 пациента — в возрасте 38-50 лет, средний возраст больных составил 26 лет. Давность заболевания варьировала от 3 недель до 9 лет. Провоцирующую роль играли различные эндогенные и экзогенные факторы: психоэмоциональный стресс, вирусные и инфекционные заболевания (ОРВИ, ангина). Изучение структуры сопутствующих заболеваний не выявило каких-либо отклонений от нормы.

Группу сравнения составили 34 человека в возрасте от 18 до 55 лет, средний возраст пациентов составил 29 лет, которым проводилась только традиционная терапия.

Патологический процесс на коже был представлен лентикулярными, нумулярными папулами и бляшками различных размеров округлой формы розового и ярко-красного цвета с серебристо-белым шелушением на поверхности. Феномены псориазической триады положительные.

Для объективной оценки степени тяжести течения заболевания и эффективности проводимой терапии у наблюдаемых пациентов использовался индекс PASI.

Морфологическое исследование включало гистологическую оценку биоптатов кожи пациентов обеих групп до и после лечения. Участок кожи диаметром 0,7 см иссекался дерматомом в периферической зоне наиболее крупной папулы в области спины. Кусочки ткани фиксировали в нейтральном формалине (pH 7,2-7,4, фосфатный буфер). Изготавливали срезы толщиной 4-5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. При микроскопическом исследовании оценивали состав и распространение воспалительного инфильтрата, а также выраженность акантоза. Для идентификации молекулярно-клеточных показателей (популяций клеток иммунного синапса) использовали иммуногистохимический метод детекции с последующей окраской ядер гематоксилином. В работе применяли первичные антитела к молекулам CD1a (клон 010, Dako), CD68 (клон PG-M1, Dako) и CD80 (клон NCL-LN3, Dako), а также систему детекции LSAB+ (Dako). Осуществляли подсчет клеток в 5 последовательных полях зрения при увеличении микроскопа $\times 600$, с последующим пересчетом на 1 мм^2 .

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

Статистический анализ проведен с использованием методов описательной статистики. Значимость различий между разными группами рассчитывалась по критериям Манна-Уитни и Вилкоксона. Все расчеты выполнены в Microsoft Excel, Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

У больных, получающих в комплексном лечении дополнительно Стероидин®, отмечалось улучшение клинической картины заболевания. Уже с первых дней лечения у пациентов с легкой степенью тяжести заболевания 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, отмечалась устойчивая положительная динамика, проявляющаяся постепенным уменьшением зуда, прекращением появления свежих высыпаний, исчезновением периферического ободка роста (симптом Пильнова) на 7-10-й день. Перед назначением лечения были определены начальные показатели PASI, которые варьировали от 6,4 до

20,0 в основной группе, среднее значение составило 11,6; от 7,2 до 19,9 — в группе сравнения, среднее значение составило 12,2.

Изучая состояние больных на 21-й день лечения, было отмечено, что значение PASI колебалось от 0 до 6,6 в основной группе, среднее значение при этом было 2,66, и от 2 до 10,1 в группе сравнения, среднее значение составило 6,13.

Клиническую ремиссию (уменьшение PASI более чем на 96%) удалось добиться у 6 пациентов. Значительное клиническое улучшение (уменьшение PASI на 76-95%) у пациентов в основной группе отмечалось у 16 человек и клиническое улучшение достигнуто у 12 пациентов. У пациентов группы сравнения значительное клиническое улучшение отмечено у 5 больных, клиническое улучшение у 28 человек и в одном случае отмечено незначительное улучшение (отсутствие выраженного регресса псориазных элементов).

Клиническая эффективность комплексной терапии больных псориазом в основной группе и группе сравнения в зависимости от длительности заболевания представлена в таблицах 1 и 2.

Анализ клинической эффективности в зависимости от длительности заболевания показал, что она наиболее высока у лиц, страдающих псориазом менее 5 лет, особенно у лиц с давностью заболевания до 1 года. В основной группе большинство больных (6, 17,6%) достигли клинической ремиссии, значительного улучшения — 16 (47,1%) и клинического улучшения — 6 (17,6%), тогда как в группе сравнения клиническое улучшение наблюдалось лишь в 26 (76,5%) случаях и незначительное клиническое улучшение достигнуто у 1 больного (2,9%).

Перед началом терапии у пациентов обеих групп были описаны гистологические проявления псориазного поражения в стадии прогрессирования, так как патологический процесс носил достаточно стереотипный характер.

Гистологическая характеристика биоптатов пациентов основной группы и группы сравнения к 21-му дню лечения представлены на рисунках 1 и 2.

Таким образом, исходя из субъективных критериев гистологической оценки тяжести воспалительного процесса при псориазе, выявлены отличия между больными основной группой, получавшими Стероидин®, и больными группы сравнения, находившимися на традиционной терапии. Учитывая, что эти изменения подтвердить статистически достоверными данными невозможно, использовались иммуногистохимические методы оценки субпопуляций антигенпрезентирующих

Рисунок 1.
Результаты гистологического исследования биоптатов пациентов группы сравнения

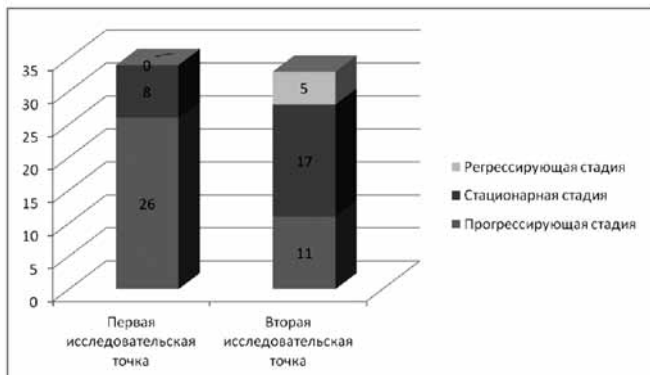
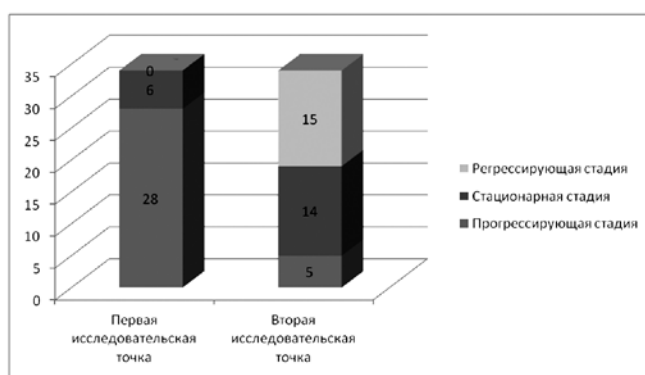


Рисунок 2.
Результаты гистологического исследования биоптатов пациентов основной группы





клеток и лимфоцитов, взаимодействие которых контролируют воспалительный процесс в условиях формирования псориатической папулы.

В биоптатах 46 пациентов проведены иммуногистохимические исследования (основная группа — 22, группа сравнения — 24 наблюдения).

В первой исследовательской точке CD68-позитивные клетки (макрофаги) характеризовались гранулярным окрашиванием цитоплазмы и локализовались в пределах дермы, там же определялись CD80 (лимфоциты). CD1a (клетки Лангерганса) располагались в эпидермисе, в ходе реакции антитела к CD1a в виде коричневой метки прокрашивали цитоплазматические отростки, располагавшиеся между кератиноцитами.

На 21-й день терапии при иммуногистохимическом исследовании внутридермально выявлялись CD68-позитивные клетки и CD80-лимфоциты, а также сохранялась инфильтрация клетками Лангерганса вне зависимости от принадлежности к исследуемой группе. Тем не менее при проведении морфометрических исследований (табл. 3) во второй исследовательской точке выявлено снижение популяции клеток, как в основной группе, так и в группе сравнения.

При статистическом анализе иммуноморфологических показателей псориатической папулы обнаружено достоверное снижение клеток Лангерганса кожи, как на фоне проводимой как стандартной терапии, так и терапии с использованием Стемокина®. При этом, сравнивая значения количества CD1a-позитивных клеток в биоптатах кожи пациентов к моменту окончания исследования, мы не выявили статистически достоверных отличий.

Такая же тенденция отмечалась и в отношении CD68-позитивных клеток воспалительного инфильтрата. Достоверно статистическое снижение количества этих клеток отмечалось к окончанию проведения терапии вне зависимости от использования препарата Стемокин®.

В то же время было выявлено статистически достоверное снижение количества CD80-позитивных лимфоцитов только у тех больных псориазом, которые в своей комплексной терапии получали Стемокин®. Это свидетельствует об иммунорегуляторных механизмах воздействия изучаемого препарата на морфогенез псориатической папулы. Существенное снижение инфильтрации CD80-лимфоцитами в участках пораженной кожи свидетельствует о наступлении стойкой ремиссии воспалительного процесса. Даже в условиях возможной персистенции антигена, при малом количестве CD80-лимфоцитов, резко снижается вероятность формирования в очаге кожного поражения иммунного синапса. А именно такие межклеточные контакты считаются в настоящее время ведущими в образовании псориатической папулы.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об отсутствии влияния Стемокина® на систему антигенпрезентирующих клеток, участвующих в формировании псориатической папулы.

Выводы

1. Проведение комбинированной терапии (с включением препарата Стемокин®) больным с легким и среднетяжелым течением псориаза приводит в сравнении с традиционной терапией к более полному разрешению кожных проявлений, что подтверждается достоверным снижением индекса PASI у пациентов основной группы ($p=0,001$), в отличие от группы сравнения, к 21-му дню терапии.

2. При гистологической оценке воспалительного процесса в биоптатах кожи у пациентов с псориазом выявлены отличия между основной группой и группой сравнения, что проявлялось в выраженном снижении мононуклеарной инфильтрации папулы у пациентов основной группы.

3. У пациентов основной группы с использованием фармакопрепарата Стемокин® отмечается достоверное снижение субпопуляции CD80-лимфоцитов псориатической папулы к моменту окончания терапии, что снижает возможность формирования иммунных синапсов и развития очередного обострения дерматоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мордовцев В.Н., Суколин Г.И., Сергеев А.С. Эпидемиология и генетика псориаза // Симпозиум по псориазу дерматовенерологов соц. стран, 3-й. — М., 1987. — 89 с.
2. Baker H. Psoriasisclinical features // Br. Med. J. — 1994. — № 3. — P. 231—233.
3. Elder J.T., Henseler T., Christophers E. The genetis of psoriasis // Arch. Dermatol. — 1994. — № 130. — P. 216—224.
4. Farber E.M. Infantile psoriasis: a follow-up study // Pediatr. Dermatol. — 1986. — № 3. — P. 237—243.
5. Ghoreschi K., Weigert C., Röcken M. Immunopathogenesis and role of T cells in psoriasis // Clin. Dermatol. — 2007. — № 25 (6). — P. 574—580.
6. Склянская О.А. и др. О возможном сочетании эозинофильной инфильтрации желудка, тонкой и толстой кишок с псориазом // Арх. патологии. — 1997. — № 3. — С. 54—57.
7. Вавилов А.М. и др. Иммуноморфологические исследования Т-лимфоцитов в коже больных псориазом // Вестн. дерматологии и венерологии. — 2000. — № 4. — С. 4—6.
8. Travers J.B., Qutayba A., Norris D.A. Epidermal HLA-DR and the enhancement of cutaneous reactivity to superantigenic toxins in psoriasis // J. Clin. Invest. — 1999. — Vol. 104. — № 9. — P. 1181—1189.
9. Nickoloff B.J., Qin J.Z., Nestle F.O. Immunopathogenesis of psoriasis // Clin. Rev. Allergy Immunol. — 2007. — № 33 (1-2). — P. 45—56.
10. Baier G., Asadullah K., Zugel U. The immunological synapse kinases in T cell signalling as potential drug targets // Immunol. Lett. — 2006. — Vol. 105. — № 1. — P. 3—5.
11. Sabat R., Philipp S., Höflich C. et al. Immunopathogenesis of psoriasis // Exp. Dermatol. — 2007. — № 16 (10). — P. 779—798.
12. Борисов И.В. Клинико-иммунологическое обоснование патогенетической терапии генитального герпеса: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2007.

WWW.MFVT.RU