

## Цитокины «кожного окна» при atopическом дерматите

Загрешенко Д.С., Климов В.В., Денисов А.А., Саликова Т.И., Фирсова Е.К.

### «Skin window» cytokines in atopic dermatitis

Zagreshenko D.S., Klimov V.V., Denisov A.A., Salikova T.I., Firsova Ye.K.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Загрешенко Д.С., Климов В.В., Денисов А.А. и др.

В бесклеточной фракции экссудата «кожного окна» у 90 больных atopическим дерматитом определяли концентрацию интерлейкинов-4, -10, -17 и интерферона- $\gamma$  в зависимости от распространенности патологического процесса на коже. Показано, что колебания каждого из исследованных цитокинов носили разнонаправленный характер и отражали разные стороны иммунопатогенеза болезни в период обострения, ремиссии и после специфической иммунотерапии.

**Ключевые слова:** atopический дерматит, цитокины, «кожное окно».

There have been defined IL-4, IL-10, IL-17 and IFN- $\gamma$  in cell-free skin exudate in 90 patients of atopic dermatitis depending on spread of dermal pathological process. There been found that variations of each cytokine had different features and reflected different parts of immunopathogenesis of the disease both in an acute period and remission and after allergenspecific immunotherapy.

**Key words:** atopic dermatitis, cytokines, «skin window».

УДК 616.5-002-056.3:577.27:612.017.1/2

### Введение

Имунопатогенез atopического дерматита (АтД) обусловлен нарушением дифференцировки Т-хелперов (Т<sub>h</sub>) типа 0 и профилем их цитокиновой секреции [6]. Воспалительный процесс в коже начинается, поддерживается и заканчивается при непосредственном участии цитокинов [4]. В патогенезе АтД в разное или в одно и то же время принимают участие цитокины с противоположным действием, которые продуцируют антагонистические популяции, — Т<sub>h</sub>1- и Т<sub>h</sub>2-лимфоциты. Развитие иммунного ответа по клеточному или гуморальному типу в разные фазы течения болезни тоже определяет действие цитокинов [6].

Открытые сравнительно недавно новые субпопуляции Т<sub>h</sub>, в частности Т<sub>h</sub>17-лимфоциты, заставляют пересмотреть устоявшиеся взгляды

на механизмы развития АтД [8]. Детальное изучение патогенетического потенциала определенных цитокинов в развитии данного заболевания создает предпосылки для более точного понимания тех биологических механизмов, которые лежат в основе патологического процесса [4, 6]. Это является важным фактором для последующего развития более эффективных методов контроля заболевания, разработки новых подходов к диагностике и может оказаться концептуальной основой для новых направлений в противовоспалительной терапии [4].

Цель работы — определение профиля цитокинов в бесклеточной фракции экссудата «кожного окна» при atopическом дерматите.

### Материал и методы

Обследовано 90 человек (мужчины и женщины) в возрасте от 18 до 45 лет, находив-

шихся под наблюдением в дневном стационаре аллергологического отделения Межвузовской больницы и Центре иммунопатологии г. Томска. Диагноз atopического дерматита устанавливался на основании данных анамнеза, клинической картины, кожного аллергологического тестирования, содержания иммуноглобулина (Ig) E. Степень тяжести заболевания устанавливалась с учетом индекса SCORAD. Все пациенты предварительно дали письменное согласие на участие в проводимом исследовании.

Из исследования исключались больные в возрасте до 18 лет и старше 45 лет, с острыми инфекционными заболеваниями и обострением хронических заболеваний. Кроме этого, критериями исключения являлись получение больными иммуностропных препаратов, прививок, антибиотиков, цитостатиков, а также отсутствие добровольного информированного согласия.

В контрольную группу вошли 10 практически здоровых доноров-добровольцев в возрасте 17–24 лет. В момент обследования они были клинически здоровы, не имели хронических заболеваний, не получали прививок и иммуностропных препаратов в течение 1 мес перед исследованием, не имели отягощенного семейного аллергологического и иммунологического анамнеза. При проведении аллергологического тестирования у доноров не выявлено сенсibilизации к бытовому, эпидермальным, пыльцевым и пищевым аллергенам. Здоровые лица до включения в исследование подписали информированное согласие.

Проводилось трехкратное обследование пациентов с atopическим дерматитом: в период обострения, ремиссии и после курса специфической иммунотерапии. Материалом для исследования служила бесклеточная фракция экссудата «кожного окна» [3]. Для оценки содержания цитокинов использовался метод «кожного окна» по J. Rebeck в модификации В.В. Климова и соавт. [5].

В экссудате «кожного окна» определялись цитокины локального действия — интерферон- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), интерлейкины (IL)-4, -10 и -17. Выбор данных цитокинов связан с тем, что IFN- $\gamma$  яв-

ляется ключевым цитокином для Th1, а IL-4 — для Th2 [1, 4]. IL-17 — это ключевой цитокин сравнительно недавно открытой субпопуляции CD4<sup>+</sup> Th-лимфоцитов — Th17 [8]. IL-10 считается главным цитокином CD4<sup>+</sup>-T-regulatory cell (Tr1), субпопуляции, ответственной за регенерацию тканей и развитие рубцовой ткани [1]. Определение цитокинов проводилось с помощью иммуноферментного анализа. Использовались тест-системы фирмы «Вектор-Бест» (г. Новосибирск).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью пакета статистических программ SPSS. Для представления количественных данных, не подчиняющихся нормальному закону распределения, использовались описательные статистики: медиана Me, Q<sub>1</sub> (1-й квартиль (25%)) и Q<sub>3</sub> (3-й квартиль (75%)). Для всех имеющихся выборок данных применялись непараметрические критерии Краскала–Уолиса и Манна–Уитни. Различие двух сравниваемых величин считалось достоверным с надежностью  $p > 0,95$ , если вероятность их тождества оказывалась меньше 5% [2].

Всем больным с АД было проведено общеклиническое обследование, направленное на выявление сопутствующей патологии, которое включало общий анализ крови, биохимический анализ крови, общий анализ мочи, копрологическое исследование, анализ кала на дисбактериоз, ультразвуковое исследование органов брюшной полости, эзофагогастродуоденоскопия, рентгенологическое исследование, консультации узких специалистов по показаниям.

При аллергологическом обследовании у 42 (46%) больных АД была выявлена сопутствующая аллергологическая патология: бронхиальная астма, аллергический ринит, конъюнктивит. У всех пациентов зарегистрирована сенсibilизация к разным группам аллергенов: бытовой, эпидермальной, растительной.

При проведении общеклинического обследования у всех больных установлены сопутствующие заболевания (табл. 1).

Таблица 1  
Сопутствующая патология у больных АД

| Сопутствующее заболевание | Число больных АД, абс. (%) |
|---------------------------|----------------------------|
|---------------------------|----------------------------|

## Экспериментальные и клинические исследования

|   |         |
|---|---------|
| Хронические заболевания желудочно-кишечного тракта (хронический гастродуоденит, хронический холецистит и др.) | 52 (57) |
| Дисбактериоз кишечника  | 24 (26) |
| Паразитарная инвазия  | 22 (24) |
| Аутоиммунный тиреоидит  | 4 (4)   |
| Хронические заболевания ЛОР-органов   | 4 (4)   |
| Очаги хронической инфекции мочеполовых органов  | 2 (2)   |
| Другие заболевания (витилиго, рецидивирующий фурункулез)  | 2 (2)   |

В зависимости от распространенности патологического процесса все пациенты в период обострения были разделены на три группы (табл. 2): пациенты с ограниченно-локализованной формой АтД, распространенной и диффузной. Период ремиссии разделен на стойкую (пациенты без клинических проявлений АтД в течение 2 лет и более), полную (отсутствие клинических проявлений заболевания в течение 2 мес) и неполную (имеются небольшие очаги поражения в виде инфильтрации, лихенизации, сухости кожи).

Таблица 2

Содержание IL-4, IL-10, IL-17 и IFN- $\gamma$  в экссудате «кожного окна» при atopическом дерматите и у здоровых лиц, Me (Q<sub>1</sub>–Q<sub>3</sub>)

| Группа                             | IL-4, пг/мл                             | IL-10, пг/мл                                   | IL-17, пг/мл                                     | IFN- $\gamma$ , пг/мл                |
|------------------------------------|---|--|--|--------------------------------------|
| Контрольная группа                 | $n = 10$<br>0,5 (0,45–0,7)              | $n = 10$<br>7 (3,5–13,5)                       | $n = 8$<br>26 (18,25–40,25)                      | $n = 10$<br>46 (39–51,75)            |
| Обострение, локализованная форма   | $n = 17$<br>0,6 (0,35–1,0)              | $n = 18$<br>21,5 (16,5–42,5)<br>$p_1$          | $n = 15$<br>19 (11,5–29)                         | $n = 22$<br>38 (31–59)               |
| Обострение, распространенная форма | $n = 13$<br>1,0 (0,65–1,02)<br>$p_1$    | $n = 11$<br>27 (15–58)<br>$p_1$                | $n = 8$<br>12,5 (11–13)<br>$p_1$                 | $n = 14$<br>36 (28,75–53,75)         |
| Обострение, диффузная форма        | $n = 4$<br>1,2 (0,92–1,4)<br>$p_1, p_2$ | $n = 4$<br>49,5 (24,87–64)<br>$p_1$            | $n = 4$<br>8 (4,25–8,75)<br>$p_1, p_2, p_3$      | $n = 4$<br>31,5 (15–51)              |
| Стойкая ремиссия                   | $n = 4$<br>0,5 (0,15–0,85)<br>$p_4$     | $n = 4$<br>10,5 (9,25–23)<br>$p_4$             | $n = 4$<br>24 (13,5–41,25)                       | $n = 4$<br>25,5 (22–44)              |
| Полная ремиссия                    | $n = 10$<br>0,65 (0,27–0,85)<br>$p_4$   | $n = 9$<br>27 (20–38)<br>$p_1, p_5$            | $n = 9$<br>28 (14,5–29,5)                        | $n = 12$<br>32,5 (14–45,5)<br>$p_1$  |
| Неполная ремиссия                  | $n = 7$<br>0,95 (0,9–1,2)<br>$p_1$      | $n = 8$<br>37,5 (30,5–47,5)<br>$p_1, p_3, p_5$ | $n = 7$<br>15 (8–29)                             | $n = 8$<br>31 (16,25–35,5)<br>$p_1$  |
| Группа после АСИТ                  | $n = 15$<br>0,6 (0,2–1,0)               | $n = 8$<br>13 (9–21)<br>$p_2, p_3, p_4, p_7$   | $n = 14$<br>29,5 (17,62–44,7)<br>$p_2, p_3, p_4$ | $n = 15$<br>44 (34–57)<br>$p_6, p_7$ |

Примечание.  $n$  – количество обследованных;  $p_1$  – достоверность различий в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ );  $p_2$  – достоверность различий в сравнении с локализованной формой ( $p < 0,05$ );  $p_3$  – достоверность различий в сравнении с распространенной формой ( $p < 0,05$ );  $p_4$  – достоверность различий в сравнении с диффузной формой ( $p < 0,05$ );  $p_5$  – достоверность различий в сравнении со стойкой ремиссией ( $p < 0,05$ );  $p_6$  – достоверность различий в сравнении с полной ремиссией ( $p < 0,05$ );  $p_7$  – достоверность различий в сравнении с неполной ремиссией ( $p < 0,05$ ).

## Результаты

Из данных, приведенных в табл. 2, следует, что при распространенной и диффузной формах АтД и в период неполной ремиссии уро-

вень IL-4 достоверно повышен в сравнении с контрольными значениями. При локализованной форме АтД, а также в периодах стойкой и полной ремиссии его содержание достоверно не отличается от контрольных величин. Уро-

вень IL-4 после проведения аллергенспецифической иммунотерапии (АСИТ) не отличается от значений контрольной группы.

Содержание IL-10 в экссудате «кожного окна» в зависимости от распространенности патологического процесса имеет тенденцию к увеличению. При локализованной, распространенной и диффузной формах АД наблюдается достоверное повышение концентрации IL-10 в сравнении с контролем. В период неполной ремиссии уровень IL-10 достаточно высокий и достоверно отличается от такового в периоды стойкой и полной ремиссии. В период полной ремиссии тенденция к снижению IL-10 сохраняется. Содержание данного цитокина достигает контрольных значений в период стойкой ремиссии. В период неполной ремиссии IL-10 достоверно повышен в сравнении с контрольными величинами, а также стойкой и полной ремиссии. На фоне проводимой АСИТ концентрация цитокина достоверно уменьшается в сравнении с локализованной, распространенной и диффузной формами АД, а также в сравнении с периодом неполной ремиссии.

Содержание IL-17 при обострении в зависимости от распространенности патологического процесса имеет тенденцию к снижению. При ограниченно-локализованной форме АД уровень данного цитокина снижен в сравнении с контрольными величинами, но не достоверно. При распространенной форме тенденция к дальнейшему уменьшению уровня IL-17 сохраняется и по сравнению с контрольными величинами носит достоверный характер. При диффузной форме АД наблюдается достоверное значительное снижение IL-17 по сравнению с контрольными значениями и другими формами АД. В период неполной ремиссии содержание IL-17 ниже контрольной выборки, но различия не достоверны. В периоды стойкой и полной ремиссии концентрация данного цитокина повышается до контрольных значений. АСИТ приводит к достоверному увеличению IL-17 по сравнению с локализованной, распространенной и диффузной формами АД.

Содержание IFN- $\gamma$  при обострении достоверно не отличается от значений в контрольной группе, но наблюдается тенденция к его снижению в зависимости от распространенности воспалительного процесса на коже. В ремиссию (полную и неполную) уровень IFN- $\gamma$  достоверно меньше по сравнению с контрольными величинами. В период стойкой ремиссии содержание данного цитокина ниже, чем в контрольной выборке, но не достоверно. После АСИТ происходит достоверное увеличение содержания IFN- $\gamma$  по сравнению со значениями периодов полной и неполной ремиссии до уровня контрольных величин.

## Обсуждение

Наблюдающаяся тенденция к снижению уровня IFN- $\gamma$  и одновременное повышение уровней IL-4 и IL-10 в экссудате «кожного окна» в период обострения может свидетельствовать о подавлении функциональной активности Th1-звена иммунитета на фоне повышения функциональной активности Th2-лимфоцитов и Tr1. Разные авторы объясняют данную ситуацию тем, что изначально Th1- и Th2-субпопуляции лимфоцитов находятся в реципрокных отношениях, и, продуцируя противоположные по эффекту цитокины, каждая из субпопуляций подавляет дифференцировку полярной группы, тем самым снижая продукцию альтернативных цитокинов [1, 4, 6]. Также на торможение продукции провоспалительных цитокинов, к которым относится IFN- $\gamma$ , способен IL-10, являющийся ключевым цитокином супрессорных Tr1. IL-10, подавляя образование Th1 и провоспалительных цитокинов, сдвигает баланс Th1 и Th2 в сторону Th2 [4]. АСИТ приводит к снижению уровней IL-10 и повышению содержания IFN- $\gamma$ , что может быть связано с ослаблением супрессорного влияния Tr1 на Th1-клетки.

IL-17, как и IFN- $\gamma$ , имеет тенденцию к уменьшению в период обострения. Причем чем больше кожных покровов вовлечено в патологический процесс, тем достоверно ниже уровень IL-17 по сравнению с контролем. В ремиссию уровень данного цитокина восстанавливается до значений контрольной группы. АСИТ тоже

приводит к повышению IL-17 до значений контрольной выборки по сравнению с величинами в период обострения. IL-17 является мало изученной молекулой. Известно, что этот цитокин принимает участие в развитии аллергических и аутоиммунных процессов, а также при инфекционных заболеваниях бактериальной природы [7, 8]. Его содержание повышается при псориазе, ревматоидном артрите и аллергическом контактном дерматите [7]. В данном исследовании снижение уровня IL-17 может быть связано с влиянием цитокинов Th2-клеток и Th1. Согласно литературным данным [7], IL-4 способен подавлять продукцию данного цитокина. Повышение IL-17 в периоды, полной и стойкой ремиссии, а также на фоне проводимой АСИТ может быть связано с постепенным снижением влияния Th1, а также восстановлением баланса Th1 и Th2.

## Заключение

Разнонаправленный характер колебаний исследуемых цитокинов в бесклеточной фракции экссудатов «кожного окна» при atopическом дерматите отражает вовлечение разных иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов в

патологический процесс. В целом поляризация Th2 в сторону повышения функциональной активности в остром периоде и некоторое снижение в периоде ремиссии соответствует классическим представлениям об иммунопатогенезе atopического воспаления. При этом функционирование субпопуляции Th1 носит односторонний характер с Th2, а Th1 — с Th17.

## Литература

1. Бурместер Г.-Р., Пецутто А. Наглядная иммунология. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. 320 с.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. 459 с.
3. Иммунологические методы / Под ред. Г. Фримеля. М.: Медицина, 1987. 472 с.
4. Маянский А.Н. Лекции по иммунологии. 2-е издание. Нижний Новгород: Изд-во НГМА, 2005. 272 с.
5. Пат. 1534395. Способ диагностики аллергического диатеза / В.В. Климов, Т.В. Кошовкина, В.К. Раткин, А.А. Денисов.
6. Система цитокинов: теоретические и клинические аспекты / Под ред. В.А. Козлова, С.В. Сенникова. Новосибирск: Наука, 2004. 324 с.
7. Astrid J. Van Beelen. IL-17 and Immune Pathology in the Skin // Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2007. V. 7, № 5. P. 374—381.
8. Toda M., Donald Y.M., Leung D.Y.M. et al. Polarized *in vivo* expression of IL-11 and IL-17 between acute and chronic skin lesions // J. Allergy and Clinical Immunology. 2003. V. 111. Issue 4. P. 875—881.

Поступила в редакцию 15.05.2009 г.

Утверждена к печати 17.06.2009 г.

## Сведения об авторах

**Д.С. Загрешенко** — аспирант кафедры иммунологии и аллергологии СибГМУ (г. Томск).

**В.В. Климов** — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой иммунологии и аллергологии СибГМУ (г. Томск).

**А.А. Денисов** — канд. мед. наук, доцент кафедры иммунологии и аллергологии СибГМУ (г. Томск).

**Т.И. Саликова** — аспирант кафедры иммунологии и аллергологии СибГМУ (г. Томск).

**Е.К. Фирсова** — аспирант кафедры иммунологии и аллергологии СибГМУ (г. Томск).

## Для корреспонденции

**Загрешенко Денис Сергеевич**, тел. 8-923-418-38-58, e-mail: zagreshenko@rambler.ru

## Дорогие друзья и коллеги!

ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет Росздрава» (СибГМУ) продолжает издание научно-практического медицинского журнала «Бюллетень сибирской медицины».

Научно-практический медицинский журнал «Бюллетень сибирской медицины / Bulletin of Siberian Medicine» — регулярное рецензируемое печатное издание, публикующее научные и научно-практические материалы по медицине и смежным специальностям, проблемам здравоохранения и медицинского образования.

Журнал основан в 2001 году. Зарегистрирован в Министерстве Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций. Свидетельство о регистрации СМИ № ПИ 77-7366 от 26 марта 2001 г. Периодичность выхода журнала — 4 раза в год. Тираж — 1000 экземпляров.

Журнал включен в Перечень периодических научных и научно-технических изданий, выпускаемых в РФ, в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук.

Журнал включен в информационно-библиографическую базу РИНЦ Научной электронной библиотеки.

Журнал включен в Реферативный журнал и Базы данных ВИНТИ. Сведения о журнале ежегодно публикуются в международной справочной системе по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals Directory».

## **Предлагаем вам подписаться на наш журнал с любого номера**

В 2009 году стоимость подписки на полугодие — 1000 рублей, на год — 2000 рублей.

**Как оформить подписку на журнал «Бюллетень сибирской медицины»**

**На почте во всех отделениях связи**

Подписной индекс **46319** в каталоге агентства Роспечати «Газеты и журналы 2009, 2-е полугодие».

**В редакции**

- Без почтовых наценок.
- С любого месяца.
- Со своего рабочего места.

По телефону (382-2) 51-57-08; факс (382-2) 51-53-15.

На сайте <http://bulletin.tomsk.ru>

Если вы являетесь автором публикаций или хотите приобрести наш журнал, он будет выслан вам наложенным платежом при заполнении заявки. Стоимость приобретения одного номера 300 рублей.

Заявку на приобретение журнала нужно выслать по адресу редакции:

634050, г. Томск, пр. Ленина, 107,

Научно-медицинская библиотека Сибирского государственного медицинского университета, редакция журнала «Бюллетень сибирской медицины»,

тел. (8-3822) 51-57-08. E-mail: [bulletin@bulletin.tomsk.ru](mailto:bulletin@bulletin.tomsk.ru)