

УДК 616.594–172.6–31

Поступила 15.06.2015

И. М. СЕРБИНА

## ИЗУЧЕНИЕ СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА У БОЛЬНЫХ С ГНЁЗДНОЙ АЛОПЕЦИЕЙ

Кафедра дерматовенерологии (зав. – проф. Л. А. Болотная) Харьковской медицинской академии последипломного образования <serbinaim@gmail.com>

*Приведены результаты оценки состояния показателей сосудистого эндотелиального фактора роста ( $vEgF$ ) и его растворимого рецептора первого типа ( $svEgFR1$ ) при гнёздной алопеции в зависимости от активности, степени тяжести и длительности заболевания. Дисбаланс ангиогенных факторов включал разнонаправленные изменения показателей. По мере увеличения активности заболевания выявлено повышение сывороточной концентрации  $vEgF$  и снижение  $svEgFR1$ , при хронической стадии значение  $vEgF$  достоверно снижалось по сравнению с показателями в группе контроля. Наиболее выраженные нарушения выявлены у больных с признаками активности и тяжёлой степенью течения заболевания.*

**Ключевые слова:** гнёздная алопеция, патогенез, сосудистый эндотелиальный фактор роста, растворимый рецептор первого типа сосудистого эндотелиального фактора роста.

В последние годы всё больше внимания исследователи стали уделять возможной роли эндотелиальных клеток сосудистого русла в развитии органной

патологии. К наиболее хорошо изученным стимуляторам ангиогенеза относится сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) – многофункциональный белок, влияющий на пролиферацию, а также на проницаемость эндотелия, способный оказывать иммунорегуляторное влияние [3]. Функция VEGF опосредуется взаимодействием с тремя типами клеточных рецепторов (VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3). Для реализации эффектов VEGF необходимо его взаимодействие с VEGFR2, приводящее к фосфорилированию последнего и запуску каскада внутриклеточных реакций. VEGFR3 участвует в лимфогенезе. Роль связанного с мембраной VEGFR1 неоднозначна, лучше всего изучена его растворимая форма (sVEGFR1), способная соединяться с VEGF в сосудистом русле, препятствуя взаимодействию последнего с VEGFR2 и развитию эффектов [1, 4].

VEGF является одним из важнейших медиаторов роста волосящих фолликулов. *In vivo* VEGF увеличивает микрососудистую проницаемость и ангиогенез, способствует взаимной адгезии кератиноцитов волоса, повышает прочность, толщину и плотность волос. В дермальных сосочках волосящих фолликулов VEGF стимулирует пролиферацию клеток матрикса и эндотелиоцитов сосудистой сети, формирование вещества внеклеточного матрикса, поддерживая таким образом фолликулы в состоянии анагена [1].

Патологический ангиогенез имеет важное значение в развитии болезней волос. Гнёздную алопецию (ГА) рассматривают как опосредованное Т-лимфоцитами аутоиммунное заболевание, направленное против неопределенного аутоантигена волосящего фолликула, возникающее у лиц с наследственной предрасположенностью и обусловленное воздействием экзогенных триггеров [4, 7]. Полагают, что срыв иммунологической толерантности является стимулом к началу ГА. Ключевую роль при этом играют аномальная экспрессия антигенов класса I и II главного комплекса гистосовместимости, нарушение синтеза цитокинов и факторов роста [2, 10].

Показана важная роль ангиогенеза при ГА, увеличение экспрессии VEGF в человеческих волосящих фолликулах после контактной иммунотерапии в виде дифенципрона способствовало сохранению жизнеспособности эндотелиальных клеток и восстановлению роста волос [7]. Патогенетическая роль ангиогенеза в развитии ГА свидетельствует о необходимости дальнейшего более глубокого изучения этого процесса.

**Цель исследования** – определение уровня VEGF и sVEGFR1 у больных ГА в зависимости от степени тяжести, активности и длительности патологического процесса.

**Материалы и методы.** Обследовано 36 больных с различными формами ГА в возрасте от 18 до 52 лет; 16 мужчин и 20 женщин. Диагностированы следующие формы ГА: тотальная и универсальная – у 8, субтотальная – у 10, лентовидная – у 6 и очаговая – у 12 больных. Контрольную группу составили 15 здоровых соответствующего пола и возраста.

У всех больных собран детальный анамнез заболевания. Дебют ГА варьировал в широких возрастных пределах – от 5 до 45 лет. Средний возраст начала патологического процесса –  $(19,2 \pm 5,4)$  года. Продолжительность заболевания составила в среднем 10,2 мес с диапазоном от 2 нед до 12 лет. У 21 (58 %) больного провоцирующих факторов ГА выявить не удалось, у 6 (17 %) началу заболевания предшествовало психоэмоциональное напряжение, у 5 (14 %) – нарушение функции щитовидной железы; 4 (11 %) больных связывали начало ГА с обострениями имеющихся у них хронических заболеваний. Среди наблюдаемых больных у 4 (11 %) ГА имела семейный характер.

Исследование проводили после подписания пациентом информированного согласия в соответствии с положением, регулирующим медицинские исследования. Диагноз устанавливали на основании клинической картины и данных инструментально-диагностического обследования.

Дерматоскопическое исследование проводили при помощи компьютерно-диагностической программы и видеодерматоскопического оборудования Агато

SG (Южная Корея). Исследование включало определение основных дерматоскопических признаков ГА (жёлтые точки, чёрные точки, дистрофичные волосы в форме «восклицательного знака», веллус) [9].

Степень потери волос у больных оценивали с применением критериев измерения показателей тяжести ГА на скальпе ( $S_0-S_5$ ), предложенных E. Olsen и др. [7]. Согласно данной шкале:  $S_0$  – отсутствие потери волос;  $S_1$  – потеря < 25 % волос;  $S_2$  – потеря от 25 до 49 % волос;  $S_3$  – потеря от 50 до 74 % волос;  $S_4$  – потеря 75–99 % волос с уточнением:  $S_{4a}$  – потеря от 75 до 95 % волос и  $S_{4b}$  – потеря 96–99 % волос;  $S_5$  – потеря 100 % волос на голове. Лёгкой степени тяжести соответствует локальное выпадение волос –  $S_1$ ; средней степени тяжести – клинические формы в виде субтотальной алопеции, включая офиазис, –  $S_2-S_{4a}$ ; тяжёлой степени – субтотальная форма (потеря волос 96–99 %) –  $S_{4b}$ , тотальная (100 % отсутствие волос на волосистой части головы) и универсальная (100 % отсутствие волос на голове, лице и туловище) алопеция –  $S_5$ .

При обследовании определяли уровень продукции VEGF (пг/мл) и sVEGFR1(нг/мл) в сыворотке крови 36 больных ГА и 15 здоровых группы контроля при помощи метода твёрдофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов фирм «Вектор-Бест» (Россия), «Bender Med Systems» (Австрия). Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программ «Statistica 6.0». Результаты выражали как  $M \pm m$  (среднее значение и ошибка средней величины). Различия считали достоверными при  $P < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** При наружном осмотре у больных с ГА определяли локализацию очагов и их количество. По клиническим формам с учётом критериев измерения показателей тяжести больных с ГА разделили следующим образом: лёгкая степень ( $S_1$ ) – 12; средняя степень ( $S_2-S_{4a}$ ) – 14 ( $S_2$  – 6,  $S_3$  – 4,  $S_{4a}$  – 4); тяжёлая степень –  $S_{4b}$  – 2;  $S_5$  – 8.

Активную стадию патологического процесса наблюдали у 18 больных, из них лёгкая степень тяжести – у 6, средняя и тяжёлая степень – у 8 и 6 больных соответственно. Хроническую стадию заболевания диагностировали у 18 больных, из них лёгкую степень течения ГА отмечено у 6, среднюю степень – у 6 и тяжёлую – у 4 больных. Частичная или полная потеря волос выявлена на участках, кроме волосистой части головы, у 38 % больных с  $S_2-S_3$  и у 67 % с  $S_4-S_5$  клиническими формами. В зависимости от длительности заболевания пациенты были распределены следующим образом: до 1 года – 16, от 1 года до 3 лет – 10 и более 3 лет – 12 больных.

Выявлена зависимость исследуемых дерматотрихоскопических маркёров от стадии патологического процесса. Дистрофичные волосы ( $4,9 \pm 0,8$ ;  $1,4 \pm 0,2$ ) и чёрные точки ( $3,5 \pm 0,7$ ;  $1,7 \pm 0,3$ ) являлись маркёрами активности ГА. Веллусные волосы, наоборот, отсутствовали у больных с прогрессирующим течением дерматоза, появлялись при хронической стадии ( $1,8 \pm 0,2$ ).

Как показали исследования, уровень VEGF и sVEGFR1 в сыворотке крови больных ГА ( $91,45$  пг/мл  $\pm$   $10,32$  пг/мл и  $0,095$  нг/мл  $\pm$   $0,008$  нг/мл соответственно) достоверно не отличался от данных в контрольной группе ( $79,60$  пг/мл  $\pm$   $7,31$  пг/мл и  $0,107$  нг/мл  $\pm$   $0,008$  нг/мл соответственно).

У больных, у которых выявлены признаки активности дерматоза, была значительно повышена концентрация VEGF ( $137,96$  пг/мл  $\pm$   $13,7$  пг/мл;  $P < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой. Вместе с тем уровень sVEGFR1 был ниже ( $0,073$  нг/мл  $\pm$   $0,006$  нг/мл;  $P < 0,05$ ), чем в группе контроля. При хронической стадии у больных ГА сывороточная концентрация VEGF статистически достоверно снижалась ( $31,65$  пг/мл  $\pm$   $4,50$  пг/мл;  $P < 0,05$ ) по сравнению с показателем здоровых. В то же время уровень sVEGFR1 был выше ( $0,123$  нг/мл  $\pm$   $0,015$  нг/мл), чем при активной стадии, но достоверно не отличался от значения контрольной группы.

Анализ результатов сывороточного уровня sVEGFR1 и VEGF у больных ГА показал отсутствие достоверной связи между их концентрацией и степенью тяжести дерматоза. Однако динамика изменений показателей при различной степе-

ни тяжести имела чёткую зависимость от активности процесса. Так, у больных с активной стадией со средней ( $196,96 \text{ пг/мл} \pm 18,70 \text{ пг/мл}$ ;  $P < 0,05$ ) и тяжёлой ( $275,96 \text{ пг/мл} \pm 26,20 \text{ пг/мл}$ ;  $P < 0,05$ ) степенью течения ГА показатели VEGF были достоверно выше, чем в группе контроля, и соответственно в 3,2 и 4,3 раза превышали уровень больных с лёгкой степенью ( $62,54 \text{ пг/мл} \pm 6,20 \text{ пг/мл}$ ). При хронической стадии и тяжёлой степени значение VEGF было минимальным ( $20,35 \text{ пг/мл} \pm 2,50 \text{ пг/мл}$ ;  $P < 0,05$ ), в 1,5 и 2,6 раза ниже по сравнению с показателем лёгкой ( $52,45 \text{ пг/мл} \pm 7,50 \text{ пг/мл}$ ;  $P < 0,05$ ) и средней ( $30,12 \text{ пг/мл} \pm 4,80 \text{ пг/мл}$ ;  $P < 0,05$ ) степени тяжести соответственно.

Статистически достоверные и разнонаправленные изменения значения sVEGFR1 наблюдали у больных с тяжёлой степенью тяжести, как при активности болезни ( $0,032 \text{ нг/мл} \pm 0,018 \text{ нг/мл}$ ;  $P < 0,05$ ), так и при хронической стадии ( $0,126 \text{ нг/мл} \pm 0,036 \text{ нг/мл}$ ;  $P < 0,05$ ). В случаях средней и лёгкой степени тяжести показатель в различные фазы патологического процесса не отличался от референтных значений.

Количественные изменения концентрации VEGF и sVEGFR1 наблюдали при различной длительности заболевания. Анализ состояния VEGF у больных ГА позволил констатировать, что при длительности заболевания до 1 года уровень показателя достоверно увеличивался ( $146,00 \text{ пг/мл} \pm 14,54 \text{ пг/мл}$ ;  $P < 0,05$ ) по сравнению со значением его в контрольной группе. У больных с ГА от 1 года до 3 лет и более выявлено достоверное снижение содержания VEGF ( $34,78 \text{ пг/мл} \pm 6,34 \text{ пг/мл}$ ,  $22,17 \text{ пг/мл} \pm 3,12 \text{ пг/мл}$ ;  $P < 0,05$ ) как по сравнению с показателем контрольной группы, так и с больными с длительностью заболевания до 1 года. Достоверное уменьшение уровня sVEGFR1 ( $0,069 \text{ нг/мл} \pm 0,008 \text{ нг/мл}$ ;  $P < 0,05$ ) по сравнению с его значением у здоровых наблюдали при длительности дерматоза до 1 года. При более длительном течении заболевания показатель не отличался от референтных значений.

Корреляционный анализ показал тесную корреляционную связь между VEGF и sVEGFR1 ( $r = -0,7$ ;  $P < 0,05$ ) у больных с тяжёлой степенью течения в активную стадию ГА.

Выявлен дисбаланс ангиогенных факторов, который характеризуется изменением содержания сывороточного VEGF и sVEGFR1, что может создавать условия для развития эндотелиальной дисфункции, возможных иммуновоспалительных реакций и свидетельствовать о непосредственном вовлечении их в механизмы формирования ГА. Проведённые исследования позволили отметить как общие закономерности, так и особенности функционирования VEGF и sVEGFR1 при дерматозе. Необходимо указать на наиболее выраженные нарушения изучаемых показателей у больных с признаками активности и тяжёлой степенью течения ГА.

VEGF – «профессиональный» ангиогенный фактор, оказывающий выраженное иммуномодулирующее действие. Клетки иммунной системы являются одновременно и регуляторами ангиогенеза, и мишенями действия VEGF, поскольку они обладают специфическими рецепторами для взаимодействия с этим фактором. VEGF обладает способностью регулировать синтез цитокинов, сдвигая баланс в сторону Th1 [1, 3]. Добавление VEGF к крысиным Т-лимфоцитам, стимулированным митогеном или антигеном, вызывало повышение продукции INF- $\gamma$  и снижение продукции IL-10. По мнению исследователей, VEGF способен усиливать развитие аутоиммунного заболевания. Из иммуномодулирующих эффектов VEGF следует отметить его способность влиять на пролиферацию ИЛ-2 зависимых Т-лимфоцитов периферической крови [3].

В настоящее время цитокины можно рассматривать как медиаторное звено в формировании патофизиологической стадии аутоиммунных реакций при ГА, нарушающее механизмы поддержания состояния иммунотолерантности структур волосяного фолликула [2, 10]. В патогенезе заболевания ведущую роль отводят активизации CD4+ Т-лимфоцитов по Th-1 типу с последующим синтезом провоспалительных цитокинов – ИЛ-1, ИФН- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$  и др. В нормальных условиях их сверхпродукции препятствуют цитокины, продуцируемые Th2 типа, глав-

ным образом ИЛ-10, который угнетает экспрессию антигенов HLA класса II, ингибирует фиброз и атрофию в различных тканях и органах, уменьшает антигенпрезентирующую и цитокинпродуцирующую активность макрофагов, индуцирует апоптоз натуральных киллеров и Т-лимфоцитов. В ингибирующем действии на клеточный иммунитет ИЛ-10 синергичен с ИЛ-4. Отмечено, что уровень противовоспалительных цитокинов ИЛ-10 и ИЛ-4 у больных ГА снижен, что может свидетельствовать об угнетении функции Th-2 типа и формировании условий для развития иммуновоспалительных реакций [8]. Повышение уровня VEGF, выявленное нами у больных с активными проявлениями ГА, может отражать тесную взаимосвязь провоспалительных цитокинов с данным фактором и указывать на его функцию как стресс-индуцированного белка.

Увеличение содержания VEGF в сыворотке крови больных с ГА в стадии прогрессирования, с одной стороны, свидетельствует об активной пролиферации сосудов, с другой – об эндотелиальной дисфункции, которую можно определить как неадекватное (увеличенное или сниженное) образование в эндотелии различных биологически активных веществ [1]. По мнению авторов, при этой стадии наблюдается умеренный ангиогенез, который регулируется макрофагальными элементами воспалительного инфильтрата и отчасти эндотелием существующих сосудов [2]. В исследовании В. Maurer и соавт. [6] выявили, что высокий уровень VEGF в сыворотке крови индуцирует недостаточность ангиогенеза с последующим развитием фиброза. Снижение уровня VEGF при хронической стадии, особенно у больных с ГА средней и тяжёлой степени тяжести, может свидетельствовать о недостаточном сосудистом обеспечении, угнетении ангиогенеза, индукции апоптоза посредством активизации генов Casp9 и Bad – основных факторов апоптоза клеток волосных фолликулов, что способствует поддержанию волос в фазе телогена и возможности развития фиброзных изменений [2, 10].

**Выводы.** Таким образом, полученные данные свидетельствуют о важном значении нарушений VEGF и sVEGFR1 при ГА. Патогенетическая роль ангиогенеза (как маркера эндотелиальной дисфункции) в развитии ГА обуславливает необходимость дальнейшего более глубокого изучения этого процесса, а также факторов, способных влиять на регуляцию роста сосудов, взаимосвязь иммунного воспаления и степень эндотелиальных нарушений у больных с разными формами и степенью тяжести дерматоза. Выявление и идентификация ключевых сигнальных молекул, вовлечённых в процессы «включения» и «выключения» жизненного цикла волоса при ГА, позволят разработать качественно новые программы решения этой проблемы.

#### С п и с о к л и т е р а т у р ы

1. Болотная Л. А., Сербина И. М., Сарван Е. И. Сосудистый эндотелиальный фактор роста и его патогенетическое значение при заболеваниях кожи // Дерматовенерология, косметология, сексопатология. – 2011. – № 1/4. – С. 88–94.
2. Гаджигорова А. Г., Коган Е. А., Потехаев Н. Н., Терещенко Г. П. Соотношение процессов апоптоза, пролиферации, неоангиогенеза и клеточной дифференцировки при иммунном воспалении в очагах гнездной алопеции // Клини. дерматология и венерология. – 2010. – № 2. – С. 23–31.
3. Киселёва Е. П., Крылов А. В., Старикова Э. А., Кузнецова С. А. Фактор роста сосудистого эндотелия и иммунная система // Успехи соврем. биологии. – 2009. – Т. 129, № 4. – С. 1–12.
4. Кубышкин В. Ф., Мангилёва Т. А., Малый К. М. Сосудистый эндотелиальный фактор роста у больных артериальной гипертензией I степени // Серце і судини. – 2013. – № 1. – С. 32–37.
5. Gilhar A., Etzioni A., Paus R. Alopecia Areata // N. Engl. J. Med. – 2012. – Vol. 366. – P. 1515–1525.
6. Maurer B., Distler A., Suliman Y. A. et al. Vascular endothelial growth factor aggravates fibrosis and vasculopathy in experimental models of systemic sclerosis // Ann. Rheum. Dis. – 2013. – Vol. 10. – P. 11–36.
7. Olsen E., Hordinsky M. K., Price V. et al. Alopecia areata investigational assessment guidelines. Part II // J. Am. Acad. Dermatol. – 2004. – Vol. 51. – P. 440–447.
8. Simonetti O., Lucarini G., Bernardini M. L. et al. Expression of vascular endothelial growth factor, apoptosis inhibitors (survivin and p16) and CCL27 in alopecia areata before and after

diphencyprone treatment: an immunohistochemical study // Br. J. Dermatol. – 2004. – Vol. 150, N 5. – P. 940–948.

9. *Tembhre M. K., Sharma V. K.* T-helper and regulatory T-cell cytokines in the peripheral blood of patients with active alopecia areata // Br. J. Dermatol. – 2013. – Vol. 169. – P. 543–548.
10. *Tosti A.* Dermoscopy of hair and scalp disorders: pathological and clinical correlations. – Informa Healthcare, 2007. – 168 p.

#### ВИВЧЕННЯ СУДИННОГО ЕНДОТЕЛІАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТУ У ХВОРИХ З ГНІЗДОВОЮ АЛОПЕЦІЄЮ

*I. M. Serbina (Харків)*

Наведено результати оцінки стану показників судинного ендотеліального фактора росту (VEGF) та його розчинного рецептора першого типу (sVEGFR1) при гніздовій алопеції залежно від активності, ступеня тяжкості та тривалості захворювання. Дисбаланс ангіогенних факторів включає різноспрямовані зміни показників. При збільшенні активності захворювання виявлено підвищення сироваткової концентрації VEGF і зниження sVEGFR1, при хронічній стадії значення VEGF достовірно знижувалося порівняно з показниками у здорових. Найбільш виражені порушення відмічено у хворих з ознаками активності та тяжким ступенем перебігу захворювання.

**Ключові слова:** гніздова алопеція, патогенез, судинний ендотеліальний фактор росту, розчинний рецептор першого типу судинного ендотеліального фактора росту.

#### EXAMINATION OF VASCULAR ENDOTHELIAL FACTOR OF GROWTH IN PATIENTS WITH ALOPECIA AREATA

*I. M. Serbina (Kharkov, Ukraine)*

Kharkov Medical Academy of Postgraduate Education

The results of assessment of state of indexes of vascular endothelial factor of growth (VEGF) and its soluble receptor (sVEGFR1) in case of alopecia areata depending on activity of inflammatory process, degree of severity and length of illness, are presented. Imbalance of angiogenic factors is presented by multidirectional changes of indexes. Increase of serum concentration of VEGF and decrease of sVEGFR1 is registered with the growth of activity of illness, during chronic stage the level of VEGF is veraciously falling in comparison to results of healthy individuals. Most significant violations are identified in patients with signs of activity and severe course of disease.

**Key words:** alopecia areata, pathogenesis, vascular endothelial factor of growth, soluble receptor of vascular endothelial factor of growth.