

УДК 616.517:612.017.1

*Є.І. Добржанська**Харківський національний медичний університет***ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ОБРАНОЇ ТЕРАПІЇ НА ПОКАЗНИКИ ІМУННОГО ЗАХИСТУ У ХВОРИХ НА ПСОРИАЗ**

При корекції імунологічних порушень у хворих на псоріаз позитивні результати принесло використання індукторів інтерферону. Ці препарати дають низку неспецифічних і специфічних ефектів, які пов'язані з інгібіцією росту клітин, модуляцією їх диференціювання та синтезом мембранних рецепторів, а також з дією на різноманітні ланки системи імунітету. Дія амізону як імуномодулятора проявляється посиленням як гуморального (збільшення титру антитіл і ендogenous інтерферону в плазмі крові в 3–4 рази), так і клітинного (стимуляція функціональної активності Т-лімфоцитів і макрофагів) ланки імунітету. Вивчали зміни стану імунного статусу у 54 хворих на псоріаз у динаміці комплексного лікування, до якого включено призначення даларгіну і амізону. Вивчено та проаналізовано деякі показники імунітету (показники клітинної ланки CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD22⁺, NK-клітини з фенотипом CD16⁺, CD56⁺ та цитокини – ІЛ-2, ІЛ-4, ІФН-α і ІФН-γ), які є інтегральним відбитком взаємозв'язку та взаємозумовленості окремих ланок імунітету у хворих, які отримували лікування даларгіном і амізоном. Проаналізовано ефективність цього лікування. Після лікування спостерігалось відновлення рівня клітинної ланки імунітету, натуральних кілерів та ІЛ-2, ІФН-α і ІФН-γ. Це свідчить про відновлення функціональних резервів імунокомпетентних клітин.

Ключові слова: псоріаз, імунна система, імуномодулятор, амізон, даларгін.

Дотепер псоріаз лишається актуальною проблемою дерматовенерології, значущість якої обумовлена недостатньою вивченістю механізмів розвитку захворювання, збільшенням кількості хворих молодого віку, частим розвитком дисемінованих та резистентних до існуючої терапії форм. Псоріаз є одним із найпоширеніших рецидивуючих хронічних запальних мультифакторіальних дерматозів, його частка в загальній структурі захворювань шкіри коливається від 3 до 10 %. За даними Міжнародної федерації псоріатичних асоціацій, у світі налічується 125 млн. людей, хворих на псоріаз [1, 2].

Метою роботи було вивчення системи імунного захисту хворих на псоріаз у динаміці лікування та розробка комплексної коригувальної терапії.

Матеріал і методи. Наведено дані дослідження 54 пацієнтів із псоріазом до та після лікування, яке здійснювали в умовах МКШВД № 5 м. Харкова.

© Є.І. Добржанська, 2014

Для лікування хворих на псоріаз нами розроблено новий метод терапії. З метою обмеження стрес-реакцій, ендокринних і імунологічних порушень хворим призначали «Даларгін» та «Амізон». Даларгін – синтетичний аналог ендogenous регуляторного пептиду лей-енкефаліну. Спектр фармакологічної активності даларгіну широкий і відображає багатогранність функцій ендogenous регуляторних пептидів, спрямованих на підтримку гомеостазу. З метою відновлення функціональних резервів усіх імунокомпетентних клітин у лікуванні використовували амізон – похідне ізонікотинової кислоти, справляє інтерферогенну дію. Залежно від методики лікування всі хворі були розподілені на дві групи: до 1-ї групи належали 20 пацієнтів, які отримували базову терапію з приводу псоріазу, до 2-ї – 34 пацієнти, що отримували базову терапію і додатково терапію даларгіном (0,001 г 1 раз на добу внутрішньом'язово – 20 днів) і амізоном (0,25 г 4 рази на добу – 7 днів).

У контрольну групу ввійшли 32 здорових особи.

Показники клітинного імунітету вивчали за вмістом Т-, В-лімфоцитів, Т-хелперів та Т-супресорів, натуральних кілерів (НК-клітин з фенотипом CD16⁺ та CD56⁺), цитокінів (ІФН-α, ІФН-γ, ІЛ-2 та ІЛ-4). Стан гуморальної ланки імунітету оцінювали за рівнем циркулюючих імунних комплексів (ЦІК). Також вивчали кількісний вміст у сироватці крові імуноглобулінів А, М та G [3].

Для ідентифікації різних субпопуляцій Т-лімфоцитів ми використовували лімфоцитотоксичний тест (ЛЦТ). Для визначення загальної кількості Т- та В-лімфоцитів, Т-хелперів і Т-супресорів, натуральних кілерів з фенотипом CD16⁺ та CD56⁺ методом ЛЦТ ми застосовували комерційні набори МКАТ («МедБиоСпектр», РФ, Москва).

Для визначення рівня ЦІК використовували метод, оснований на зміні світлового розсіяння внаслідок преципітації комплексів антиген-антитіло в 3,5%-вому розчині поліетиленгліколю (ПЕГ, мол. маса 6000 Д) з подальшим спектрофотометричним визначенням оптичної щільності преципітату.

Вміст IgG, IgA та IgM у сироватці крові визначали методом простої радіальної імунодифузії (уніфікований метод) з використанням моноспецифічних сироваток проти імуноглобулінів людини виробництва НДІ епідеміології та мікробіології (РФ, Нижній Новгород).

Концентрацію цитокінів (ІЛ – ІЛ-2, ІЛ-4) у сироватці крові встановлювали у хворих на псоріаз без супутньої патології внутрішніх органів, нервової системи, респіраторних вірусних інфекцій не менш ніж за півроку до дослідження. Вміст інтерлейкінів визначали

за допомогою наборів реагентів («ProCon» ЗАТ «Протеиновый контур», РФ). Інтерферони вивчали за допомогою ІФА. При цьому вміст сироваткового інтерферону досліджували мікрометодом. Концентрацію ІФН-α і ІФН-γ вивчали за допомогою сертифікованих в Україні тест-систем виробництва НПО «Диагностические системы» (РФ, Нижній Новгород).

Результати. При імунологічних дослідженнях встановили суттєві порушення клітинної та гуморальної ланок у хворих на псоріаз. У хворих 1-ї групи показники клітинної ланки імунітету CD3⁺, CD4⁺, CD16⁺ та CD56⁺ були вірогідно зменшені, показники CD8⁺-лімфоцитів збільшені та CD22⁺-лімфоцити не відрізнялися від рівня здорових осіб (табл. 1). При дослідженні цитокінів спостерігалось зниження вмісту ІФН-α, ІФН-γ, ІЛ-2 та збільшення рівня ІЛ-4 у хворих на псоріаз (табл. 2). Відбувалось збільшення рівня IgG та IgM та зниження – IgA (табл. 3). Кількість ЦІК перевищувала показник у групі контролю (табл. 2).

У 2-й групі відбувалось вірогідне зменшення вмісту CD3⁺, CD4⁺, CD22⁺-лімфоцитів, натуральних кілерів з фенотипом CD16⁺ та CD56⁺ та збільшення рівня CD8⁺-лімфоцитів (табл. 1). При дослідженні цитокінів спостерігалось зниження вмісту ІФН-α, ІФН-γ, ІЛ-2 та збільшення рівня ІЛ-4 (табл. 2). При дослідженні гуморальної ланки імунітету ми спостерігали зниження рівня IgA та збільшення рівня IgG, IgM (табл. 3). Кількість ЦІК перевищувала показник у групі контролю (табл. 2).

Однією з найважливіших складових частин функціонування імунної системи людини та тварин є виконання природних цитотоксичних реакцій, які формують першу лінію

Таблиця 1. Показники клітинної ланки імунітету у хворих на псоріаз у динаміці лікування, (M±m) %

Імунологічний показник	Контрольна група (n=32)	До лікування (n=54)	Після лікування	
			1-ша група (n=20)	2-га група (n=34)
CD3 ⁺ -лімфоцити	59,7±1,3	49,0±2,3 [#]	52,7±2,4 [#]	57,1±2,7 ^{#*}
CD4 ⁺ -лімфоцити	30,0±0,9	22,6±1,1 [#]	24,70±1,05 [#]	26,2±1,2 ^{#*}
CD8 ⁺ -лімфоцити	16,6±0,5	23,1±1,7 [#]	24,0±2,5 [#]	21,0±1,2 [#]
CD22 ⁺ -лімфоцити	10,6±0,7	8,5±0,8	9,5±1,4	10,1±0,9
CD16 ⁺ -лімфоцити	16,9±2,3	13,2±0,8 [#]	13,90±0,63 [#]	17,10±0,64 ^{#*}
CD56 ⁺ -лімфоцити	17,30±1,45	12,6±0,6 [#]	13,10±0,75 [#]	17,80±0,82 ^{#*}

Примітка. p<0,05; вірогідна різниця від аналогічного показника: [#] здорових донорів; * у динаміці лікування. Тут і в табл. 2, 3.

Таблиця 2. Рівень цитокінів та ЦІК у сироватці крові хворих на псоріаз у динаміці лікування, (M±m)

Імунологічний показник	Контрольна група (n=32)	До лікування (n=54)	Після лікування	
			1-ша група (n=20)	2-га група (n=34)
ІФН- α , пг/мл	5,74±1,10	3,28±0,40 [#]	3,31±0,50 [#]	6,25±0,40*
ІФН- γ , пг/мл	82,4±7,9	31,8±1,9 [#]	37,2±2,3 [#]	81,7±5,1*
ІЛ-4, пг/мл	22,7±3,4	58,2±4,7 [#]	52,6±3,9 [#]	24,6±1,8*
ІЛ-2, пг/мл	28,3±2,6	15,7±1,4 [#]	17,4±2,1 [#]	30,1±2,2*
ЦІК, у. о.	56,2±5,0	94,2±10,6 [#]	86,5±4,3 [#]	61,2±2,8*

Таблиця 3. Вміст імуноглобулінів у сироватці крові хворих на псоріаз у динаміці лікування, (M±m) г/л

Імунологічний показник	Контрольна група (n=32)	До лікування (n=54)	Після лікування	
			1-ша група (n=20)	2-га група (n=34)
IgA	3,3±0,3	2,2±0,2 [#]	1,9±0,2 [#]	1,8±0,3 [#]
IgM	1,4±0,2	1,7±0,4	1,6±0,1	1,4±1,2
IgG	10,6±0,7	14,2±1,6 [#]	14,4±1,3 [#]	12,2±0,8

протипухлинного та протівірусного захисту організму [2, 4]. Ці реакції опосередковуються окремою групою лімфоцитів – природними (натуральними) кілерами, що здатні без попередньої імунізації, участі комплементу та антитіл, а також, вочевидь, без забезпечення імунологічною пам'яттю елімінувати пряму цитотоксичною дією широкий спектр злоякісно трансформованих та модифікованих вірусами клітин. CD16 є найкраще вивченим маркером NK-клітин. Трансмембранно закріплена ізоформа CD16 експресована на більшості NK-клітин. CD56 вважається типовим маркером для NK-клітин, хоча експресія CD56-молекул притаманна багатьом типам клітин. Окрім NK-клітин, CD56 можуть бути представлені на невеликій частині CD4⁺, CD8⁺-клітин, а також на клітинах головного мозку та мозочка. Значний стимулюючий вплив на активність NK-клітин чинять усі типи ІФН (α , β , γ). Існує думка, що інтерферони самі по собі не викликають проліферації NK-клітин, але підвищують їх цитотоксичну активність шляхом перетворення нелітичних NK-клітин у літичні [5, 6]. При сумісному введенні ІФН з ІЛ-2 NK-активність синергічно посилюється.

При вивченні цитокінів ми встановили, що рівень ІФН- α , ІФН- γ та ІЛ-2 був вірогідно зменшений у всіх хворих на псоріаз, що опосередковано свідчить про пригнічення функціональної активності Т-хелперів 1-го типу, які синтезують ІЛ-2 та ІФН- γ , та виснаження

функціональних резервів усіх імунокомпетентних клітин, оскільки ІФН- α синтезується багатьма клітинами периферичної крові. В той же час при первинному обстеженні було виявлено підвищення сироваткового вмісту ІЛ-4 у всіх хворих на псоріаз, який є основним цитокіном, що синтезується Т-хелперами 2-го типу.

Таким чином, дефіцит Т-клітинного імунітету та зниження вмісту CD22⁺ свідчать про частковий імунодефіцит у вигляді недостатності клітинної ланки імунітету у хворих на псоріаз.

У спостережуваних нами хворих відмічалось формування надмірної кількості у крові ЦІК. ЦІК є природним компонентом складних імунопатологічних процесів при аутоімунному стані. Патологічним для аутоімунного процесу є виявлення антинуклеарних факторів, більшість яких належить до імуноглобулінів класу G. У хворих, за якими ми спостерігали, відмічалось вірогідне збільшення концентрації IgG у сироватці крові, яке було особливо виражене під час прогресуючої стадії псоріазу. Від цих антитіл у першу чергу залежить утворення ЦІК при псоріазі [7].

Значення імунних порушень знаходить відображення в гіперпродукції ЦІК, що містять IgA, CD8⁺ Т-лімфоцитів, виявленні фіксованих імуноглобулінів, комплементу, інфільтрації CD4⁺ Т-лімфоцитами. Деякі науковці розглядають аутоімунну патологію з позиції імунодефіцитного стану Т-лімфоци-

тів-супресорів [6]. Підвищення вмісту CD8⁺ у хворих на псоріаз опосередковано вказує на зниження функціональної активності цих клітин. Відомий імуносупресуючий ефект глюкокортикоїдів при псоріазі спостерігається відносно ІЛ-2. Причиною цього факту може бути порушення чутливості рецепторного апарату, у першу чергу Т-хелперів, до гормональних сигналів [8]. Впливаючи на Т- і В-клітини, ІЛ-2 є центральним регулятором імунної відповіді. Виявлене при псоріазі зниження рівня ІЛ-2, індукуючого проліферацію Т-клітин, дозрівання цитотоксичних Т-лімфоцитів, проліферацію та диференціювання В-лімфоцитів, пояснює існування вторинного імунодефіциту при дерматозі, встановлене раніше іншими дослідниками [7].

Підвищення вмісту ІЛ-4 у всіх хворих на псоріаз свідчить про переважання Th2-імунної відповіді при дерматозі, але може бути направлено і на проліферацію Т-лімфоцитів у зв'язку зі зниженням рівня ІЛ-2, що виділяється переважно Th1-клітинами. В механізмах активації системи прозапальних цитокінів, імовірно, відіграють роль аутоімунні процеси, характерні для псоріазу, а також дисбаланс системи окислювального гомеостазу, який звичайно супроводжує загострення хвороби. Можливо, у хворих на псоріаз збільшення вмісту ІЛ-4 бере участь у підтримці запального процесу і розвитку торпідних форм захворювання.

Порушення при псоріазі показників імунного статусу зі значним підвищенням вмісту прозапального ІЛ-4, зниженням рівня основного Т-клітинного фактора регуляції ІЛ-2, наявність кореляційних зв'язків імунологічних та ендокринних показників з перебігом псоріазу потребують залучення до комплексної терапії хворих препаратів, що нормалізують регуляцію імунітету [5].

Оцінивши в цілому лікування хворих у 1-й групі, ми констатуємо, що лабораторні показники мали лише тенденцію до нормалізації і не досягли рівня групи контролю. У 2-й групі під впливом терапії даларгіном і амізонам вміст CD3⁺-лімфоцитів збільшився

у 1,3 разу, CD4⁺-лімфоцитів – у 1,2 разу, CD22⁺ – у 1,3 разу, рівень CD16⁺- та CD56⁺-натуральних кілерів збільшився в 1,2 та 1,3 разу відповідно. Ми спостерігали зниження вмісту CD8⁺-лімфоцитів у 1,4 разу. Констатовано збільшення вмісту ІФН- α в 1,75 разу, ІФН- γ – у 2,6 разу, ІЛ-2 – в 1,8 разу, а також зниження концентрації ІЛ-4 у 2,6 разу. Відбулася нормалізація вмісту всіх спостережених імуноглобулінів класів А, М та G. Вміст ІgА збільшився в 1,8 разу, вміст ІgМ знизився в 1,2 разу та вміст ІgG знизився в 1,35 разу. Рівень ЦІК знизився в 1,4 разу та не відрізнявся від контрольного. Поліпшення імунологічних показників супроводжувалось клінічним поліпшенням стану хворих.

Висновки

У хворих на псоріаз спостерігалось порушення імунологічного балансу, яке полягало у пригніченні клітинної ланки імунітету, встановлено вірогідне зниження відносної кількості NK-клітин із фенотипом CD16⁺ та CD56⁺. Також було виявлено достовірне зниження концентрації ІФН- γ , ІЛ-2 та ІФН- α , що опосередковано свідчить про пригнічення функціональної активності Т-хелперів 1-го типу, які синтезують ІЛ-2 та ІФН- γ , та виснаження функціональних резервів усіх імунокомпетентних клітин. Виявлено підвищення сироваткового вмісту ІЛ-4. Спостерігалось збільшення вмісту ІgG та ЦІК. Розроблено оригінальний метод лікування хворих на псоріаз з використанням даларгіну й амізону. Після лікування у хворих на псоріаз виявлено поліпшення показників імунітету, яке особливо виражено у хворих, у яких використовувались даларгін і амізон разом із традиційною терапією.

Розвиток досліджень у цьому напрямку може сприяти оптимізації лікувального процесу та пошуку нових терапевтичних засобів і методів, спрямованих на нормалізацію імунної системи у хворих на псоріаз. Це, на нашу думку, дозволить детальніше вивчити патогенез псоріазу та розробити більш ефективні методи лікування цього захворювання.

Список літератури

1. Ryan C. Psoriasis / C. Ryan, A. Menter, A. M. Bowcock // Brenner's online encyclopedia of genetics / ed. by S. Maloy, K. Hughes. – [2nd ed.]. – Academic Press, 2013. – P. 524–526.

2. Mak R. K. H. Progress in understanding the immunopathogenesis of psoriasis / R. K. H. Mak, C. Hundhausen, F. O. Nestle // *Actas Dermo-Sifiliográficas*. – 2009. – V. 100, suppl. 2. – P. 2–13.
3. Dabbs D. J. Diagnostic immunohistochemistry / D. J. Dabbs. – London : Churchill Livingstone, 2006. – 828 p.
4. Charlesworth E. N. Immunomodulation in dermatology lessons learned in the treatment of psoriasis / E. N. Charlesworth // *Allergy Asthma Proc.* – 2006. – V. 27, № 2. – P. 123–125.
5. Cytokines and anticytokines in psoriasis / A. T. Pietrzak, A. Zalewska, G. Chodorowska [et al.] // *Clin. Chimica Acta*. – 2008. – V. 394, issues 1–2. – P. 7–21.
6. Circulating Th17, Th22, and Th1 cells are increased in psoriasis / Kagami Shinji, H. L. Rizzo, J. J. Lee [et al.] // *J. Invest. Dermatol.* – 2010. – V. 130. – P. 1373–1383.
7. Basavaraj K. H. Study on the levels of trace element in mild and severe psoriasis / K. H. Basavaraj, M. S. Darshan, P. Shanmugavelu // *Clinica Chimica Acta*. – 2009. – V. 405, issues 1–2. – P. 66–70.
8. Gatton D. D. Lymphocytic reaction on ultraviolet radiation on the conjunctiva of the rabbit Ann / D. D. Gatton, H. Lichter // *Ophthalmol. (Skokie)*. – 2007. – V. 39. – P. 128–133.

Е.И. Добржанская

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРОВОДИМОЙ ТЕРАПИИ НА ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ

При коррекции иммунологических нарушений у больных псориазом положительные результаты принесло использование индукторов интерферона. Эти препараты дают ряд неспецифических и специфических эффектов, связанных с ингибированием роста клеток, модуляцией их дифференцировки и синтезом мембранных рецепторов, а также с действием на различные звенья системы иммунитета. Действие амизона в качестве иммуномодулятора проявляется усилением как гуморального (увеличение титра антител и эндогенного интерферона в плазме крови в 3–4 раза), так и клеточного (стимуляция функциональной активности Т-лимфоцитов и макрофагов) звена иммунитета. Изучали изменения состояния иммунного статуса у 54 больных псориазом в динамике комплексного лечения, в которое включено назначение даларгина и амизона. Изучены и проанализированы некоторые показатели иммунитета (показатели клеточного звена CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD22⁺, NK-клетки с фенотипом CD16⁺, CD56⁺ и цитокины – ИЛ-2, ИЛ-4, ИФН-α и ИФН-γ), которые являются интегральным отражением взаимосвязи и взаимообусловленности отдельных звеньев иммунитета у больных, получавших лечение даларгином и амизоном. Проанализирована эффективность этого лечения. После лечения наблюдалось восстановление уровня клеточного звена иммунитета, натуральных киллеров и ИЛ-2, ИФН-α и ИФН-γ. Это свидетельствует о восстановлении функциональных резервов иммунокомпетентных клеток.

Ключевые слова: псориаз, иммунная система, иммуномодуляторы, амизон, даларгин.

E.I. Dobrzanska

STUDY OF THE INFLUENCE OF THE THERAPY ON IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH PSORIASIS

In the method of correction of immunological disorders in patients with psoriasis has brought positive results using interferon inducers. These products offer a number of specific and non-specific effects associated with inhibition of cell growth, modulation of differentiation and synthesis of the membrane receptors as well as effects on various parts of the immune system. Step Amizon manifested as an immunomodulator amplification of both humoral (antibody titer and increase in endogenous interferon in the blood plasma in 3–4 times), and the cell (stimulation of the functional activity of T-lymphocytes and macrophages) immunity. We studied the changes of immune status in 54 patients with psoriasis in the dynamics of complex treatment, which included the appointment of Dalargin and Amizon. There have been studied and analyzed, some immunological parameters (cellular link CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD22⁺, NK-cells with the phenotype CD16⁺, CD56⁺, and cytokines – IL-2, IL-4, IFN-α, and IFN-γ), which are integral reflection interrelationship and interdependence of individual components of immunity in patients treated with Dalargin and Amizon. Effectiveness analysis was carried out this treatment. After treatment there was a restoration of the level of cellular immunity, natural killer cells and IL-2, IFN-α and IFN-γ. This testifies to the restoration of functional reserves of immunocompetent cells.

Key words: psoriasis, immune system, immune modulators, Amizon, Dalargin.

Поступила 12.03.14