

Л.М. Хамаде

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев

## Цитокиновый профиль периферической крови больных на разных стадиях развития грибовидного микоза

**Цель работы** — определить в сыворотке крови концентрации цитокинов Th2-профиля (интерлейкин (ИЛ)-10, ИЛ-4, ИЛ-5) и Th1-профиля (интерферон- $\gamma$ , ИЛ-2, фактор некроза опухоли- $\alpha$ ) у больных с эритематозной и бляшечной формой грибовидного микоза.

**Материалы и методы.** Под нашим наблюдением находились 12 пациентов с клиническими проявлениями грибовидного микоза, которых распределили в две группы: в первую ( $n = 6$ ) с гистологически подтвержденной эритематозной стадией и во вторую ( $n = 6$ ) с бляшечной стадией заболевания. Контрольную группу составили 30 здоровых доноров. Уровень сывороточных цитокинов определяли при помощи твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов тест-систем фирм Immunotech и Diaclone (Франция).

**Результаты и обсуждение.** У больных бляшечной формой грибовидного микоза отмечено статистически значимое увеличение концентрации ИЛ-10 в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой и больными с эритематозной формой заболевания и статистически значимое снижение уровня ИЛ-2 и интерферона- $\gamma$ , что может служить дифференциальным критерием для диагностики формы грибовидного микоза, а также повышение концентрации ИЛ-4 и ИЛ-5.

**Выводы.** Прогрессирование грибовидного микоза ассоциируется с переключением 1-го типа иммунного ответа на 2-й тип.

### Ключевые слова

Грибовидный микоз, воспаление, цитокины.

Грибовидный микоз (ГМ) — хроническое заболевание кожи, клинически представленное плоскими эритематозными бляшками или пятнами на ограниченных участках, и имеющее большое морфологическое сходство с незлокачественными кожными нарушениями, такими как хроническая экзема, аллергический контактный дерматит и бляшечный параспориоз [7]. На ранних стадиях ГМ типично неактивное развитие болезни. Кожный воспалительный процесс длительное время остается стабильным. Позднее кожные поражения начинают быстро распространяться с развитием больших интрадермальных опухолей. В прогрессирующей стадии заболевания злокачественные Т-лимфоциты начинают диссеминировать в лимфатические узлы, периферическую кровь и внутренние органы, что ассоциируется с неблагоприятным

прогнозом развития лейкемического варианта (синдрома Сезари) с медианой выживаемости 3 года [3].

Еще в 1986 г. T.R. Mosmann и соавт. [4] сообщили о том, что CD4<sup>+</sup> Т-лимфоциты могут быть классифицированы на две подгруппы в зависимости от способности к синтезу цитокинов определенного профиля — Th1- и Th2-тип иммунного ответа. На сегодняшний день клетки Th1- и Th2-профиля идентифицируют по их преобладающей способности продуцировать интерлейкин (ИЛ)-2, интерферон (ИФН)- $\gamma$  и фактор некроза опухоли (ФНО)- $\alpha$  или ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10 и ИЛ-13. Как выяснилось, не только CD4<sup>+</sup> Т-хелперы способны участвовать в цитокиновом ответе, классифицируемом как 1-й или 2-й тип [7]. Недавние исследования продемонстрировали значительные отличия в системном

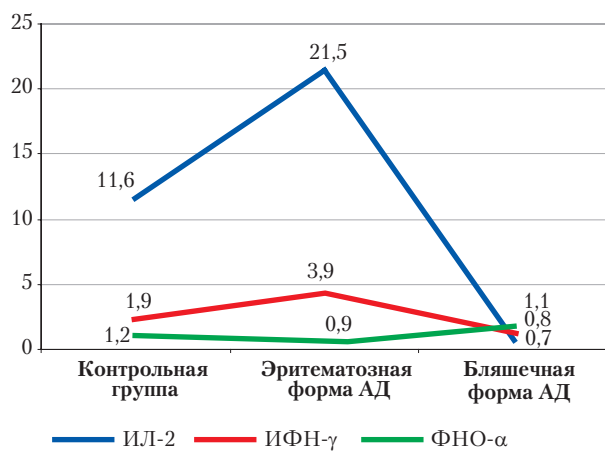


Рис. 1. Средний уровень сывороточных цитокинов, продуцируемых Т-хелперами 1-го типа у больных эритематозной и бляшечной формой грибовидного микоза (все показатели статистически значимо отличаются от нормы,  $p < 0,05$ )

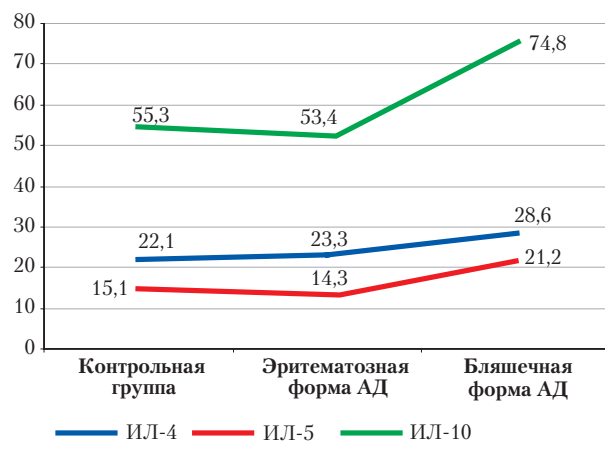


Рис. 2. Средний уровень сывороточных цитокинов, продуцируемых Т-хелперами 2-го типа, у больных эритематозной и бляшечной формой грибовидного микоза (все показатели статистически значимо отличаются от нормы,  $p < 0,05$ )

и локальном цитокиновом спектре при разных формах и стадиях развития распространенных дерматозов. Например, на разных стадиях псориаза, который изначально считали типичным вариантом Th1-типа иммунного ответа, цитокиновый спектр отличается. Хроническая стадия атопического дерматита сопровождается повышенной продукцией ИЛ-10 (2-й тип иммунного ответа) и ИФН-γ (маркерный цитокин характерный для 1-го типа иммунного ответа) при почти полном отсутствии продукции ИЛ-4, характерного для 2-го типа [1].

Считается, что цитокины Th1- и Th2-профиля играют большую роль в патогенезе ГМ. Имеются немногочисленные данные о том, что разные формы ГМ отличаются по спектру цитокинов как в пораженной коже, так и в периферической крови пациентов. В связи с этим предполагают трансформацию 1-го типа иммунного ответа во 2-й [8]. Учитывая ключевую роль некоторых цитокинов Th1- и Th2-профиля в патогенезе ГМ, возможна ранняя дифференциальная диагностика стадий заболевания, основанная на отличии концентраций этих цитокинов в периферической крови.

**Цель работы** — определить в сыворотке крови концентрации цитокинов Th<sub>2</sub>-профиля (ИЛ-10, ИЛ-4, ИЛ-5) и Th1-профиля (интерферон-γ, ИЛ-2, фактор некроза опухоли-α) у больных с эритематозной и бляшечной формой грибовидного микоза.

### Материалы и методы

Под нашим наблюдением находились 12 пациентов в возрасте от 55 до 85 лет с клиническими

проявлениями ГМ, которых распределили в две группы: в первую ( $n = 6$ ) с гистологически подтвержденной эритематозной стадией и во вторую ( $n = 6$ ) с бляшечной стадией заболевания. Контрольную группу составили 30 здоровых доноров.

Уровень сывороточных цитокинов Th1-профиля (ИЛ-2, ИФН-γ и ФНО-α) и Th<sub>2</sub>-профиля (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10) определяли при помощи твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием коммерческих наборов тест-систем фирм Immunotech и Diaclone (Франция).

### Результаты и обсуждение

Результаты изучения уровня сывороточных цитокинов ИЛ-2, ИФН-γ и ФНО-α, продуцируемых Т-хелперами 1-го типа, представлены на рис. 1.

У больных эритематозной формой ГМ отмечено статистически значимое увеличение концентрации ИФН-γ и ИЛ-2 в сыворотке крови по сравнению с группой больных бляшечной формой заболевания и контрольной группой. У пациентов с ГМ выявили отсутствие изменений концентрации ФНО-α в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой.

Данные об уровне сывороточных цитокинов ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, продуцируемых Т-хелперами 2-го типа, представлены на рис. 2.

У больных бляшечной формой ГМ зафиксировано значительное увеличение концентрации ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-10 по сравнению с больными эритематозной формой и контрольной группой.

Таким образом, полученные результаты подтверждают гипотезу о том, что прогрессирующая

ние ГМ ассоциируется с переключением 1-го типа иммунного ответа на 2-й тип [2], тогда как G. Saed и соавт. предполагали, что на всех стадиях развития ГМ характерен исключительно 1-й тип иммунного ответа [6]. Логично предположить, что на наиболее ранней (эритематозной) стадии ГМ, когда в инфильтратах обнаруживается небольшое количество опухолевых клеток, цитокиновый профиль представлен 1-м типом и продуцируется в основном реактивными Т-клетками инфильтрата. При прогрессирующих поражениях кожи эритематозная форма заболевания сменяется более инфильтративной бляшечной формой с высокой долей опухолевых клеток, которые заменяют реактивные Т-клеточные инфильтраты, что сопровождается 2-м типом иммунного ответа. Отсутствие выраженного увеличения концентрации ИЛ-4 и ИЛ-5 у пациентов с бляшечной формой ГМ могло быть результатом низкой чувствительности нашей системы тестирования этих цитокинов. Очевидное отсутствие выраженной продукции ИЛ-4 и ИЛ-5 у таких пациентов может также опровергать тот факт, что типичные Th<sub>2</sub>-клетки являются единственным источником продукции ИЛ-10.

Относительно недавно была описана новая Th-клеточная субпопуляция, которая способна продуцировать исключительно ИЛ-10 и ФНО-β. Существует предположение, что злокачественные клетки при ГМ обладают способностью продуцировать этот спектр цитокинов и также принадлежат к этому Th-фенотипу. Распространение этих клеток во время опухолевой прогрессии объяснило бы повышение системной фоновой концентрации ИЛ-10 и соответствующее

снижение противоопухолевого ответа с уменьшением активности натуральных киллеров и лимфокин-активированных клеток киллеров на поздних стадиях заболевания [5].

Анализ сывороточной концентрации цитокинов, продуцируемых хелперами Th1- и Th2-типа у обследованных больных ГМ, выявил интересные результаты, позволяющие утверждать, что у больных с разными формами ГМ наблюдается переключение синтеза цитокинов с Th1-типа на Th2-тип. Значительное увеличение концентрации ИЛ-10 в сыворотке крови больных бляшечной формой ГМ, возможно, является важным дифференциальным критерием. Однако обнаруженные отличия в синтезе ИЛ-10 у больных эритематозной и бляшечной формой заболевания должны быть подтверждены результатами изучения спонтанной и индуцированной продукции цитокинов Т-лимфоцитами в супернатантах в условиях *in vitro*.

### Выводы

У больных бляшечной формой грибовидного микоза выявлено статистически значимое выраженное увеличение концентрации ИЛ-10 в сыворотке крови с контрольной группой и больными с эритематозной формой заболевания и статистически значимое снижение уровня ИЛ-2 и интерферона-γ, что может служить дифференциальным критерием для диагностики формы грибовидного микоза.

В группе больных бляшечной формой грибовидного микоза зафиксировано увеличение концентрации ИЛ-4 и ИЛ-5 по сравнению с контрольной группой и больными с эритематозной формой заболевания.

### Список литературы

1. Austin L.M., Ozawa M., Kikuchi T. et al. The majority of epidermal T-cells in psoriasis vulgaris lesions can produce type 1 cytokines, interferon-gamma, interleukin-2, and tumor necrosis factor-alpha, defining TC1 (cytotoxic T lymphocyte) and TH1 effector populations: a type 1 differentiation bias is also measured in circulating blood T-cells in psoriatic patients // *J. Invest Dermatol.*— 1999.— Vol. 113.— P. 752–759.
2. Girardi M., Heald P.W., Wilson L.D. The pathogenesis of mycosis fungoides // *N. Engl. J. Med.*— 2004.— Vol. 350.— P. 1978–1988.
3. Huang K.P., Weinstock M.A., Clarke C.A. et al. Second lymphomas and other malignant neoplasms in patients with mycosis fungoides and Sezary syndrome: evidence from population-based and clinical cohorts // *Arch. Dermatol.*— 2007.— Vol. 143.— P. 45–50.
4. Mosmann T.R., Cherwinski H., Bond M.W. et al. Two types of murine helper T-cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins // *J. Immunol.*— 1986.— Vol. 136 (7).— P. 2348–2357.
5. Pimpinelli N., Olsen E.A., Santucci M. et al. Defining early mycosis fungoides // *J. Am. Acad. Dermatol.*— 2005.— Vol. 53.— P. 1053–1063.
6. Saed G., Fivenson D.P., Naidu Y., Nickoloff B.J. Mycosis fungoides exhibits a th1-type cell-mediated cytokine profile whereas sezary syndrome express a Th2-type profile // *J. Invest Dermatol.*— 2004.— Vol. 103, N 1.— P. 29–33.
7. Sarantopoulos G.P., Palla B., Said J. et al. Mimics of cutaneous lymphoma: report of the 2011 Society for Hematopathology/European Association for Haematopathology workshop // *Am. J. Clin. Pathol.*— 2013.— Vol. 139.— P. 536–551.
8. Zackheim H.S., McCalmont T.H. Mycosis fungoides: the great imitator // *J. Am. Acad. Dermatol.*— 2002.— Vol. 47.— P. 914–918.

Л.М. Хамаде

*Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ*

## Цитокиновий профіль периферичної крові хворих на різних стадіях розвитку грибоподібного мікозу

**Мета роботи** – визначити в сироватці крові концентрації цитокінів Th2-профілю (інтерлейкін (ІЛ)-10, ІЛ-4, ІЛ-5) і Th1-профілю (інтерферон- $\gamma$ , ІЛ-2, фактор некрозу пухлини- $\alpha$ ) у хворих на еритематозну та бляшкову форму грибоподібного мікозу.

**Матеріали та методи.** Під нашим спостереженням перебували 12 пацієнтів з клінічними виявами грибоподібного мікозу, яких розподілили на дві групи: першу (n = 6) з гістологічно підтвердженою еритематозною стадією та другу (n = 6) з бляшковою стадією захворювання. Контрольну групу становили 30 здорових донорів. Рівень сироваткових цитокінів визначали за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу з використанням комерційних наборів тест-систем фірм Immunotech і Diaclone (Франція).

**Результати та обговорення.** У хворих на бляшкову форму грибоподібного мікозу відзначено статистично значуще збільшення концентрації ІЛ-10 у сироватці крові порівняно з контрольною групою і хворими на еритематозну форму захворювання та статистично значуще зниження рівня ІЛ-2 і інтерферону- $\gamma$ , що може бути диференціальним критерієм для діагностики форми грибоподібного мікозу, а також збільшення концентрації ІЛ-4 та ІЛ-5.

**Висновки.** Прогресування грибоподібного мікозу асоціюється з перемиканням 1-го типу імунної відповіді на 2-й тип.

**Ключові слова:** грибоподібний мікоз, запалення, цитокіни.

L.M. Hamadeh

*O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv*

## Cytokine profile of peripheral blood of patients at different stages of mycosis fungoides

**Objective** – to determine the serum concentration of cytokines of Th2-profile (interleukin (IL)-10, IL-4, IL-5) and Th1-profile (interferon- $\gamma$ , IL-2, tumor necrosis factor- $\alpha$ ) in patients with erythematous and plaque form of mycosis fungoides.

**Materials and methods.** We have observed 12 patients with clinical manifestations of mycosis fungoides that were divided into two groups: the first (n = 6) – with histologically confirmed erythematous stage and second (n = 6) – with plaque stage of the disease. The control group consisted of 30 healthy donors. The level of serum cytokines was determined by ELISA using commercial kits of test systems (Immunotech and Diaclone companies (France)).

**Results and discussion.** Patients with plaque form of mycosis fungoides have had a significant increase of IL-10 concentration in the blood and statistically significant decrease of IL-2 and interferon- $\gamma$  concentration compared to the control group and the group with erythematous form of the disease. This may be a differential criterion for the diagnosis of mycosis fungoides and increased concentration of IL-4 and IL-5.

**Conclusions.** The progression of mycosis fungoides is associated with switching of type 1 immune response to type 2.

**Key words:** mycosis fungoides, inflammation, cytokines.

### Дані про автора:

Хамаде Луай Мустафа, аспірант кафедри дерматології та венерології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця

01601, м. Київ, бульв. Тараса Шевченка, 13

E-mail: E-mail: dvk2@ukr.net