



О.А. Притуло, В.А. Бабанин

ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского», Симферополь

## Терапия NB-UVB (311 нм) как современный патогенетически обоснованный метод коррекции системного воспаления у больных псориазом

### Ключевые слова

Псориаз, цитокины, NB-UVB-терапия.

Распространенность псориаза в мире постоянно возрастает и составляет приблизительно 3 %, а следовательно, реальное количество больных в Украине — более 1 млн [3, 5].

Псориаз сопровождается развитием эритематозно-сквамозного дерматоза полиэтиологической природы и связан с генетическими факторами, которые регулируют иммунное воспаление в эпидермисе и дерме. Морфологически псориаз проявляется гиперпролиферацией эпидермальных клеток, нарушением кератинизации, изменениями в различных органах и системах [6].

Одну из причин развития псориаза связывают с нарушением регуляции иммунного ответа посредством Т-лимфоцитов. Цитокины Т-хелперов типов 1, 17, 22 и цитотоксических Т-лимфоцитов типа 1 приводят к гиперсекреции провоспалительных медиаторов с последующей активацией кератиноцитов, мастоцитов, нейроцитов, эндотелиоцитов, что в конечном итоге манифестируется персистирующим хроническим воспалением [2, 15].

Перед открытием Т-хелперов типов 17 и 22 ученые в основном изучали Т-хелперы типа 1, которые продуцируют  $\gamma$ -интерферон. Результаты многочисленных исследований показали, что концентрация этих клеток в поврежденной коже значительно повышена, а высокие уровни  $\gamma$ -интерферона коррелируют с тяжестью болезни [7, 23].

Т-хелперы типа 17 в основном продуцируют ИЛ-17А и не синтезируют  $\gamma$ -интерферон [18]. Недавно были открыты Т-хелперы типа 22, кото-

рые синтезируют ИЛ-22, но не экспрессируют ИЛ-17А и  $\gamma$ -интерферон [10, 17]. Повышенная концентрация этих клеток и их цитокинов также связана с развитием псориаза [12, 20].

Кинетику основных цитокинов Т-лимфоцитов при псориазе изучают в основном по исследованию экспрессии этих медиаторов на поверхности клеток методом проточной флуоцитометрии [15]. По данным Antonella Di Cesare [9], воспаление в коже сопровождается не только локальным синтезом цитокинов, но и повышением их концентрации в крови. Результаты исследования Н. Nakajima [19] показали у больных псориазом высокие сывороточные уровни ИЛ-22, ИЛ-6; при этом определить содержание ИЛ-17 и ИЛ-23 как в опытной, так и в контрольной группе не удалось.

Исследования *in vitro* продемонстрировали, что созревание наивных Т-лимфоцитов в направлении образования Th22-лимфоцитов зависит от присутствия ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  [11].

Развитие многих специфических для псориаза изменений эпидермиса может быть связано с повышенным образованием ИЛ-22, который тормозит дифференцировку кератиноцитов и стимулирует их пролиферацию [1].

Известно, что использование NB-UVB (narrow-band ultraviolet-B, 311 нм) приводит к транзиторной иммуносупрессии и является достаточно эффективным методом лечения псориаза. Механизмы локальной иммуносупрессии при использовании ультрафиолетового

облучения не полностью понятны. Исследования Emokey Rácz [22] указывают на то, что NB-UVB-терапия приводит к редукции фосфорилирования молекулы STAT-3 (signal transducer and activator of transcription 3) и  $\beta$ -дефензина-2 *ex vivo* в культурах клеток кожи. Кроме того, клиническое улучшение течения псориаза связано с супрессией Th17 и интерферона-I, -II сигнальных путей, что является критическим в патогенезе этого заболевания [22].

В литературе практически нет данных о влиянии NB-UVB-терапии на содержание сывороточных цитокинов (ИЛ-22, ИЛ-6, TNF- $\alpha$ ) у больных бляшечным псориазом.

Таким образом, установление роли цитокина ИЛ-22 и его связи с провоспалительными медиаторами с учетом иммуносупрессивного влияния NB-UVB-терапии при псориазе может обеспечить более глубокое понимание патогенеза и повысить эффективность лечения.

Цель работы — изучить влияние NB-UVB на содержание провоспалительных медиаторов (ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ ) и ИЛ-22 у больных бляшечным псориазом.

## Материалы и методы

Для изучения влияния NB-UVB-терапии на динамику провоспалительных медиаторов и ИЛ-22 проведено исследование у 55 больных бляшечным псориазом, которые наблюдались в учебно-научно-лечебном комплексе «Университетская клиника» ГУ «КГМУ им. С.И. Георгиевского».

Диагностика и лечение больных псориазом проводилась в соответствии с протоколом, утвержденным приказом МОЗ Украины № 312 от 08.05.2009.

Стандартное лечение включало назначение седативной, дезинтоксикационной, гипосенсибилизирующей, гепатопротекторной, вегетотропной и местной терапии.

Все пациенты с бляшечным псориазом были разделены путем случайной выборки на две группы. В I группу вошли 27 больных, которым было назначено только стандартное лечение; во II группу — 28 больных, у которых применили стандартное лечение и NB-UVB-терапию.

NB-UVB-терапию проводили с использованием прибора Series X311—8 (серийный номер: НО 5048-SNBX-0008, тип контролера: Flex) производства фирмы Daavlin, США. NB-UVB (311-нм) назначали 3 раза в неделю, при этом использовалась стартовая доза 0,1–0,3 Дж/см<sup>2</sup> и средняя кумулятивная доза от 30 до 60 Дж/см<sup>2</sup>.

Контрольную группу составили 28 условно здоровых волонтеров, сопоставимых по возрасту с опытной группой.

Уровни цитокинов в сыворотке определяли на 1-е сутки, 6-ю и 12-ю недели с помощью иммуноферментного анализа. Активность ферментативной реакции определяли на автоматическом фотометре для микропланшетов Stat Fax 2100 (США).

Все полученные результаты подвергнуты статистической обработке для параметрических и непараметрических критериев с использованием программы MedStat («Альфа», Украина).

При анализе проверки распределения на нормальность использовали  $\chi^2$  и критерий Шапиро—Уилка, сравнение центральных тенденций двух независимых выборок с использованием W-критерия Вилкоксона и сравнение средних двух независимых выборок по критерию Стьюдента. Для множественного сравнения непараметрических данных использовали ранговый однофакторный анализ Крускала—Уоллиса и критерий Дана [4].

## Результаты и обсуждение

В рамках нашей работы с учетом данных литературы о возможности детекции сывороточных цитокинов ИЛ-22, ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  у больных псориазом проведен анализ. Результаты анализа (таблица) соответствовали концептуальным предположениям и литературным данным о возможности определения этих цитокинов в сыворотке крови, в первую очередь в связи с тем, что стратификации статистических совокупностей оказались достоверно различными.

Так, на 1-е сутки было зафиксировано, что псориаз приводит к резкому возрастанию ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и ИЛ-22. Кроме того, изучаемые параметры достоверно не отличались ( $p > 0,05$ ) между собой на 1-е сутки, что свидетельствует об идентичности исследуемых групп.

Сочетанное повышение провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и ИЛ-22, полученное на 1-е сутки, согласуется с данными литературы [13], в которых отмечен синергизм между увеличением уровня ИЛ-22 и ИЛ-17, ФНО- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12.

По мнению J.R. Chan и соавт. [8], основным медиатором, который запускает каскад реакций, проводящих к развитию псориаза, является ИЛ-23. Морфологические признаки псориаза в экспериментальных моделях более выраженные при стимулировании ИЛ-23, чем ИЛ-12 [25].

ИЛ-23/Th17/Th22/Th1-модель развития псориаза интегрирует (дополняет) хорошо известные патологические пути с вовлечением Т-хелперов типа 1, цитотоксических Т-лимфоцитов типа 1 и дендритных клеток, которые являются основными «режиссерами» этого заболевания (рисунок). С учетом результатов этих исследова-

Таблиця. Содержание провоспалительных медиаторов и ИЛ-22 у больных с бляшечным псориазом в динамике

Показатель	1-е сутки		6-я неделя		12-я неделя		Контроль (n = 28)
	Группа I	Группа II	Группа I	Группа II	Группа I	Группа II	
ФНО- $\alpha$ , пг/мл	25,77 $\pm$ 2,14*	26,05 $\pm$ 2,36*	20,43 $\pm$ 1,77*	16,15 $\pm$ 1,20*#	11,39 $\pm$ 1,66*	4,46 $\pm$ 0,87#	3,65 $\pm$ 0,40
ИЛ-6, пг/мл	12,9 $\pm$ 3,22*	14,17 $\pm$ 5,32*	9,11 $\pm$ 4,50*	7,02 $\pm$ 1,05*#	7,37 $\pm$ 6,15*	3,45 $\pm$ 4,43#	2,63 $\pm$ 0,37
ИЛ-22, пг/мл	37,25 $\pm$ 6,20*	35,56 $\pm$ 4,85*	19,58 $\pm$ 4,17*	17,96 $\pm$ 4,92*#	12,31 $\pm$ 2,34*	7,74 $\pm$ 1,92*#	5,38 $\pm$ 0,65

Примечание. \* Различия относительно группы контроля достоверны ( $p < 0,01$ ).

# Различия относительно показателей группы I в те же сроки достоверны ( $p < 0,05$ ).

Внутригрупповые различия между 1-ми сутками и 6-й неделей, между 1-ми сутками и 12-й неделей, между 6-й и 12-й неделями достоверны ( $p < 0,05$ ) для ФНО- $\alpha$  и ИЛ-22 группы I и для всех показателей группы II.

ний ученым удалось синтезировать моноклональные антитела, направленные на связывание субъединицы p40 ИЛ-12 и ИЛ-23, что препятствует взаимодействию их с рецептором ИЛ-12 Rb1. Клинические исследования III фазы этого препарата (устекинумаб) PHOENIX 1 [16] и PHOENIX 2 [21] показали хорошую клиническую эффективность у больных со средним и тяжелым псориазом. Тем не менее полученный ус-

пех, доказывающий эффективность и безопасность этих препаратов, не достаточно хорошо изучен в отдаленных клинических результатах. Анализ исследования G. Trinchieri [24] показал возможность развития у больных, принимающих этот препарат, тяжелых инфекций и туберкулеза.

ИЛ-23 продуцируется дермальными дендритными клетками (ДДК) и активирует Th17- и Th22-лимфоциты с последующим выделением

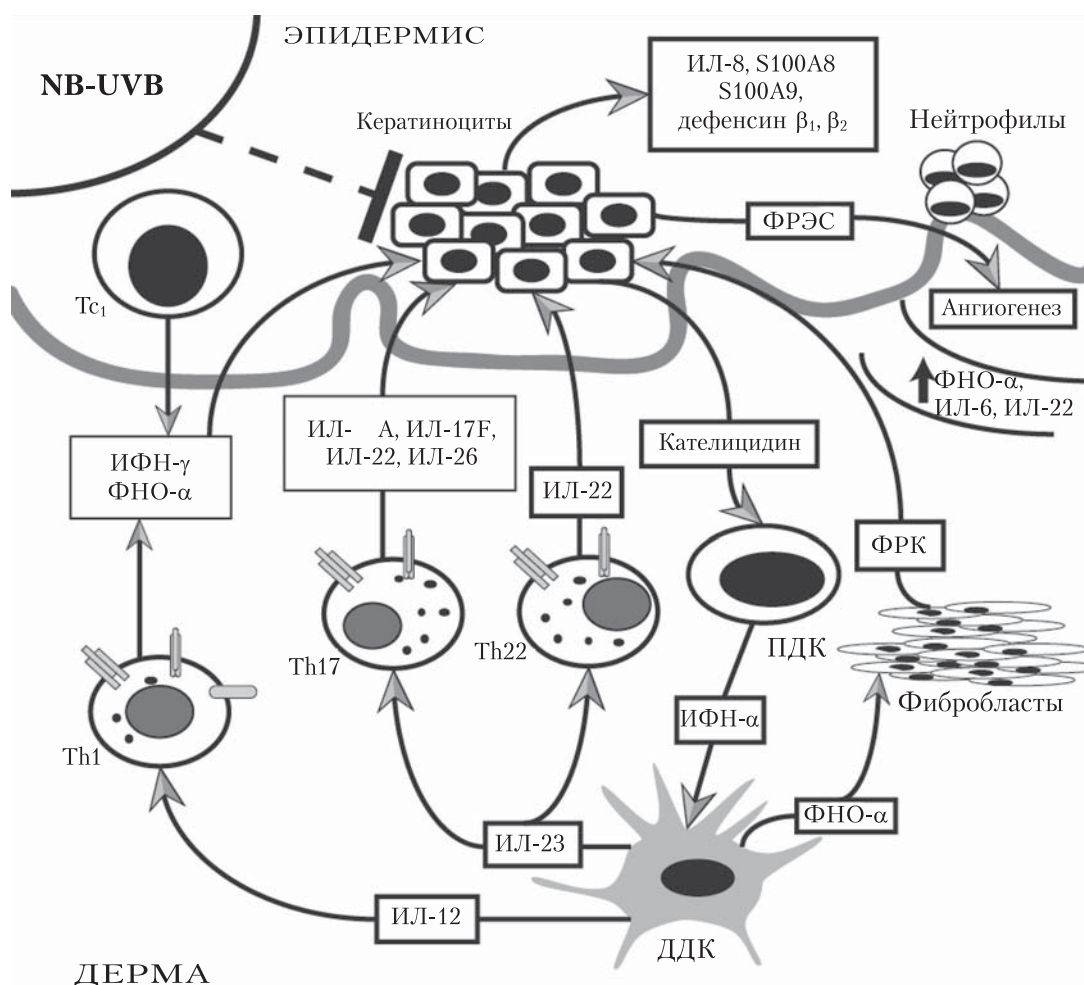


Рисунок. ИЛ-23/Th17/Th22/Th1-модель развития псориаза: клеточные и молекулярные механизмы кооперации

провоспалительных цитокинов ИЛ-17А, ИЛ-17F, ИЛ-22, ИЛ-26. ИЛ-17А, ИЛ-17F и ИЛ-22 действуют на кератиноциты (КЦ) и приводят к эпидермальной гиперплазии, акантозу и гиперкератозу. Дермальные Th1- и Tc1-лимфоциты активируются ДДК и продуцируют ФНО- $\alpha$  и ИФ- $\gamma$ . Под воздействием ФНО- $\alpha$  фибробласты начинают синтезировать фактор роста кератиноцитов (ФРК), приводящий к гиперпролиферации КЦ. Активированные КЦ также могут продуцировать ИЛ-23, который дополнительно активирует Th17-лимфоциты. Th17- и Th22-лимфоциты индуцируют КЦ, которые начинают продуцировать ИЛ-8 и антимикробные пептиды (S100A8, S100A9, дефенсин  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ), активирующие миграцию нейтрофилов, кателицидин, активирующий плазмочитарные дендритные клетки (ПДД) и фактор роста эндотелия сосудов (ФРЭС), приводящий к ангиогенезу [9]. Активация иммунокомпетентных клеток приводит к повышенной секреции сывороточных уровней ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и ИЛ-22. NB-UVB-терапия оказывает супрессивное действие на механизмы внутриклеточной сигнализации, которые участвуют в активации иммунокомпетентных клеток, а также снижает уровни сывороточных цитокинов ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и ИЛ-22.

В рамках этой работы мы использовали NB-UVB-терапию, которая имеет локальный характер действия и вызывает транзиторную иммуносупрессию.

В группе больных, которым дополнительно к стандартному лечению назначали NB-UVB-терапию (см. таблицу), на 6-й неделе уровни ИЛ-6, TNF- $\alpha$ , ИЛ-22 были достоверно ниже ( $p < 0,05$ ), чем в группе, где проводилось только стандартное лечение, хотя были достоверно выше показателей контрольной группы ( $p < 0,05$ ).

На 12-й неделе уровни этих цитокинов в группе I были достоверно ниже ( $p < 0,05$ ), чем на 6-й неделе, но выше значений контрольной группы. Для группы II содержание ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  достоверно не отличались от контроля ( $p > 0,05$ ), а уровень ИЛ-22 был достоверно выше ( $p < 0,05$ ) показателей контрольной группы.

Таким образом, результаты исследования, с одной стороны, показали, что псориаз вызывает повышенную секрецию сывороточных цитокинов ИЛ-22, ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$ , с другой — что NB-UVB-терапия на протяжении 12 нед приводит к нормализации провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и снижению уровня ИЛ-22. Наблюдаемое нами супрессивное действие NB-UVB-терапии по отношению к изучаемым сывороточным цитокинам дополняют результаты L.M. Johnson-Huang [14], в которых NB-UVB-терапия приводила *in vivo* к иммунологической интервенции специфических молекулярных путей, вовлеченных в сигнализацию ИЛ-23/Th17/Th22/Th1-модели развития псориаза (см. рисунок).

В этой связи можно поставить два важных вопроса. Первый состоит в необходимости связи полученных нами иммунологических критериев с тяжестью состояния больных. Второй вопрос сопряжен с возможностью прогнозирования эффективности NB-UVB-терапии с учетом динамики сывороточных цитокинов ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6 и ИЛ-22.

## Выводы

Бляшечный псориаз ассоциируется с выраженной секрецией сывороточного цитокина ИЛ-22 CD4<sup>+</sup>Th17/Th22 и провоспалительных медиаторов (ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ ).

Комбинированное использование стандартной и NB-UVB-терапии на протяжении 12 нед достоверно снижает уровни цитокинов CD4<sup>+</sup>Th17/Th22 (ИЛ-22) и провоспалительных медиаторов (ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ ) в сравнении с группой больных, где проводилось только стандартное лечение.

**Перспективы дальнейших исследований.** С учетом полученных данных о динамике ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ , ИЛ-22 у больных бляшечным псориазом необходимо изучить клиническую эффективность NB-UVB-терапии, связь цитокинов с состоянием локального иммунитета, ассоциированного с кожей.

## Список литературы

1. Белозоров А.П. Новая субпопуляция эффекторных хелперных Т-лимфоцитов (Th22) и ее участие в патогенезе заболеваний кожи // Дерматол. та венерол.— 2010.— № 2 (48).— С. 7—10.
2. Белозоров А.П. Т-хелперы-17 (Th17) — новая субпопуляция эффекторных CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов и их роль в па-

тологии // Дерматол. та венерол.— 2008.— № 4 (42).— С. 19—21.

3. Коляденко В.Г., Чернишов П.В. Вибір стратегії лікування хворих на псориаз з обмеженими висипами // Укр. журн. дерматол., венерол., косметол.— 2006.— № 4.— С. 23—26.
4. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях.— К.: Морион, 2000.— 319 с.



5. Сизон О.О., Степаненко В.І. Артропатичний псоріаз: обґрунтування раціональних методів лікування та профілактики. Ч. 1 // Укр. журн. дерматол., венерол., косметол.— 2011.— № 1.— С. 7–24.
6. Чернишов П.В. Атопічний дерматит і псоріаз. Спільні риси у порівняльній характеристиці // Укр. журн. дерматол., венерол., косметол.— 2008.— № 2.— С. 11–15.
7. 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.
8. Chan J.R., Blumenschein W., Murphy E. et al. IL-23 stimulates epidermal hyperplasia via TNF and IL-20R2-dependent mechanisms with implications for psoriasis pathogenesis // J. Exp. Med.— 2006.— Vol. 203.— P. 2557–2587.
9. Di Cesare A. et al. The IL-23/Th17 Axis in the immunopathogenesis of psoriasis // J. Invest. Dermatol.— 2009.— Vol. 129.— P. 1339–1350.
10. Duhon T., Geiger R., Jarrossay D. et al. Production of interleukin 22 but not interleukin 17 by a subset of human skin-homing memory T cells // Nat. Immunol.— 2009.— Vol. 10.— P. 857–863.
11. Fujita H., Nogales K.E., Kikuchi T. et al. Human Langerhans cells induce distinct IL-22-producing CD4<sup>+</sup> T cells lacking IL-17 production // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.— 2009.— Vol. 106, N 51.— P. 21795–21800.
12. Harper E.G., Guo C., Rizzo H. et al. Th17 cytokines stimulate CCL20 expression in keratinocytes in vitro and in vivo: implications for psoriasis pathogenesis // J. Invest. Dermatol.— 2009.— Vol. 129.— P. 2175–2183.
13. Hvid H., Teige I., Kvist P.H., Svensson L., Kemp K. TPA induction leads to a Th17-like response in transgenic K14/VEGF mice: a novel in vivo screening model of psoriasis // Int. Immunol.— 2008.— Vol. 20.— P. 1097–1106.
14. Johnson-Huang L.M., Suarez-Farinas M., Sullivan-Whalen M. et al. Effective narrow-band UVB radiation therapy suppresses the IL-23/IL-17 axis in normalized psoriasis plaques // J. Invest. Dermatol.— 2010.— Vol. 130.— P. 2654–2663.
15. Kagami S., Rizzo H.L., Lee J.J. et al. Circulating Th17, Th22, and Th1 cells are increased in psoriasis // J. Invest. Dermatol.— 2010.— Vol. 130.— P. 1373–1383.
16. Leonardi C.L., Kimball A.B., Papp K.A. et al. Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 76-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 1) // Lancet.— 2008.— Vol. 371.— P. 1665–1674.
17. Liu Y., Yang B., Zhou M. et al. Memory IL-22-producing CD4<sup>+</sup> T cells specific for *Candida albicans* are present in humans // Eur. J. Immunol.— Vol. 39.— P. 1472–1479.
18. Miossec P., Korn T., Kuchroo V.K. Interleukin-17 and type 17 helper T cells // N. Engl. J. Med.— 2009.— Vol. 361.— P. 888–898.
19. Nakajima H., Nakajima K., Tarutani M. et al. Kinetics of circulating Th17 cytokines and adipokines in psoriasis patients // Arch. Dermatol. Res.— 2011.— Vol. 303.— P. 451–455.
20. Nogales K.E., Zaba L.C., Shemer A. et al. IL-22-producing T22 T cells account for upregulated IL-22 in atopic dermatitis despite reduced IL-17-producing T(H)17 T cells // J. Allergy Clin. Immunol.— 2009.— Vol. 123.— P. 1244–1252.
21. Papp K.A., Langley R.G., Lebwohl M. et al. Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 52-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 2) // Lancet.— 2008.— Vol. 371.— P. 1675–1684.
22. Rácz E., Prens E.P., Kurek D. Effective treatment of psoriasis with narrow-band UVB phototherapy is linked to suppression of the IFN and Th17 pathways // J. Invest. Dermatol.— 2011.— Vol. 131.— P. 1547–1558.
23. Szabo S.K., Hammerberg C., Yoshida Y. et al. Identification and quantitation of interferon-gamma producing T cells in psoriatic lesions: localization to both CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> subsets // J. Invest. Dermatol.— 1998.— Vol. 111.— P. 1072–1078.
24. Trinchieri G. Proinflammatory and immunoregulatory functions of interleukin-12 // Int. Rev. Immunol.— 1998.— Vol. 16.— P. 365–396.
25. Zheng Y., Danilenko D.M., Valdez P. et al. Interleukin-22, a T(H)17 cytokine, mediates IL-23-induced dermal inflammation and acanthosis // Nature.— 2007.— Vol. 445.— P. 648–651.

О.О. Притуло, В.А. Бабанін

## Терапія NB-UVB (311-нм) як сучасний патогенетично обґрунтований метод корекції системного запалення у хворих на псоріаз

Досліджено 55 хворих на псоріаз. Пацієнтів було розділено на дві групи. Група I — 27 пацієнтів, які отримували тільки стандартне лікування, і група II — 28 пацієнтів, які отримували стандартну і NB-UVB-терапію. Контрольну групу становили 28 донорів-волонтерів. NB-UVB призначали 3 рази на тиждень, використовуючи стартову дозу 0,1–0,3 Дж/см<sup>2</sup>, середня кумулятивна доза 30–60 Дж/см<sup>2</sup>. Рівні цитокінів у сироватці визначали на 1-шу добу, 6-й і 12-й тижні за допомогою імуноферментного аналізу. У групах I і II на 1-й день спостерігали підвищення рівнів ІЛ-22, ІЛ-6 та ФНП-α порівняно з показниками контрольної групи. На 6-й тиждень рівні цитокінів у групі II були нижчими за показники групи I. Рівні цитокінів на 12-й тиждень у групі II не відрізнялися від контрольної групи, але були вищими, ніж у групі I. NB-UVB-терапія сприяє зниженню рівня ІЛ-22 та прозапальних цитокінів.

O.A. Prytulo, V.A. Babanin

## NB-UVB (311 nm) therapy as modern pathogenic method of systemic inflammation correction in patients with psoriasis

We examined 55 patients with psoriasis. Patients were divided in two groups. In the 1st group were included 27 patients who received only standard therapy and in the 2nd group – 28 patients who received standard and NB-UVB therapy. NB-UVB treatment was applied three times weekly. Starting UVB dose 0.1–0.3 J/cm<sup>2</sup>, the mean cumulative UVB dose was 30–60 J/cm<sup>2</sup>. The control group included 28 volunteers who were blood donors of similar age and gender. Levels of cytokines in the blood serum were determinate in the 1st day, 6th and 12th week using the immune-enzyme analysis. Increasing of IL-22, IL-6 and TNF- $\alpha$  in comparison with indexes of the control group were determinate in 1st and 2nd group in the 1st day of research. In the 6th week in the 2nd group levels of cytokines were lower than in the 1st group. In the 12th week levels of cytokines in the 2nd group were same that in the control group but were higher than in 1st group. NB-UVB therapy assists to decreasing of IL-22 levels as well as anti-inflammatory cytokines.