

Р.Л. Степаненко, Т.С. Коновалова

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ

## Вплив імунобіологічної терапії на мікрооточення псоріатичного процесу

**Мета роботи** — провести порівняльний аналіз імунологічних та імуногістохімічних змін у ділянці шкірної псоріатичної висипки у хворих на псоріаз після курсів системної терапії, а також оцінити ефективність лікування.

**Матеріали та методи.** Проведено імуногістохімічне дослідження біопсійного матеріалу, взятого з ділянки шкірної псоріатичної висипки та інтактної шкіри, у хворих на псоріаз. Для порівняння результатів досліджено біопсійний матеріал зі шкіри передньої черевної стінки, взятий після оперативного втручання, зокрема герніопластики, у 5 практично здорових осіб відповідного віку. Для встановлення характеру і поширення місцевих клітинних імунних та запальних реакцій у шкірі хворих на псоріаз застосовували імуногістохімічні методики з визначенням експресії маркерів імунного запалення. Показники клітинного імунітету в організмі оцінювали за зміною відносної та абсолютної кількості Т-(CD3<sup>+</sup>) та В-(CD19<sup>+</sup>)-лімфоцитів, а також субпопуляцій (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>CD71<sup>+</sup>, CD30<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>).

**Результати та обговорення.** Найбільш позитивний вплив на показники клітинної ланки імунної системи організму було виявлено у хворих, які отримували імунобіологічну терапію препаратом етанерцепту у поєднанні із вузькосмуговою (311 нм) фототерапією. Після лікування у пацієнтів цієї групи за рахунок суттєвого зниження продукції фактора некрозу пухлини та його сироваткової концентрації зменшилися прозапальні зміни в клітинній ланці імунної системи, вірогідно зменшилася кількість лімфоцитів із раннім маркером активації, які ініціювали цитокіновий каскад розвитку та пролонгації запалення.

**Висновки.** Найефективнішою щодо тривалості ремісії, нормалізації імунного статусу організму, регресу запальних реакцій та гіперпластичних процесів у шкірі, а також елімінації колоній мікроорганізмів роду *Staphylococcus* під роговим шаром епідермісу є системна імунобіологічна терапія у комбінації з вузькосмуговою (311 нм) фототерапією.

### Ключові слова

Псоріаз, зміни імунологічних показників організму, імуногістохімічні зміни в шкірі, Толл-подібні рецептори.

Псоріаз належить до найпоширеніших дерматозів. Це одна з актуальних проблем сучасної дерматології. Поширення псоріазу в різних країнах становить від 0,1 до 3,0 % загальної популяції. В структурі патології шкіри на частку цього дерматозу припадає від 8 до 15 % [5].

Незважаючи на проведення великої кількості досліджень, етіологія псоріазу залишається нез'ясованою. Не вирішено низку питань щодо його патогенезу.

Уявлення щодо патогенезу псоріазу не обмежуються ураженням шкіри. Псоріаз вважають загальним захворюванням організму. Системність цього дерматозу підтверджує наявність функціональних та органічних змін у шлунково-кишковому тракті, гепатобіліарній і серцево-судинній системі, опорно-руховому апараті. Накопичені дані свідчать про роль імунних, ендокринних та метаболічних порушень, а також генетичного чинника в розвитку цього дермато-

зу. Провідними в патогенезі псоріазу вважають імунологічні та генетичні чинники [3, 9].

Основні характеристики патологічного процесу при псоріазі: імунне запалення, яке супроводжується активацією Т-лімфоцитів, надмірною продукцією медіаторів імунної відповіді — цитокінів (інтерферону- $\gamma$ , фактора некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ), інтерлейкінів (ІЛ)-1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 17–20, 22, 23), порушення диференціювання кератиноцитів, надлишковий ангиогенез та вазодилатація в дермі [2, 3, 5–7, 11].

Низка питань, зокрема щодо системності порушень в організмі хворих на псоріаз, патогістологічних змін, імуногістохімічних особливостей запальних реакцій та імунологічних змін у шкірі при псоріазі, а також щодо існування взаємозв'язку між імуноморфологічними змінами в шкірі та імунологічними показниками крові при цьому дерматозі потребують проведення досліджень.

Клінічний перебіг псоріазу характеризується значною варіабельністю і тяжкістю. Незважаючи на велику кількість запропонованих методів лікування псоріазу, їх ефективність залишається незадовільною. Патогенетичні методи лікування псоріазу передбачають системне та місцеве лікування, а також застосування додаткових методів терапії (світлолікування, фізіотерапевтичне лікування, бальнео-, психо- і кліматотерапія тощо) [8]. Обсяг терапевтичних заходів при псоріазі визначається основними параметрами шкірного (стадією, типом, тривалістю, перебігом) та суглобового патологічних процесів, а також ступенем вираженості системних виявів.

При легкому ступені шкірного псоріатичного процесу, зокрема у хворих з обмеженою бляшковою формою псоріазу, зазвичай застосовують лише препарати зовнішньої терапії та засоби догляду за шкірою з урахуванням стадійності процесу. Із методів зовнішньої терапії використовують несупресивні (місцеві засоби із кератолітичним, розсмоктувальним, пом'якшувальним та/або зволожувальним ефектами) та супресивні (топічні глюкокортикостероїди, топічні ретиноїди) [10]. При середньотяжкому і тяжкому ступені перебігу застосовують системну терапію, зокрема несупресивну (для усунення домінуючих виявів супутніх уражень (інтоксикації з біохімічними та метаболічними порушеннями)) та супресивну терапію (метою якої є зменшення активності шкірного псоріатичного процесу та деструкції суглобового апарату).

Системна супресивна терапія псоріазу передбачає застосування глюкокортикостероїдів, препаратів, які модифікують хворобу (цитостатичних імуносупресантів, ароматичних ретиноїдів), сорбційних методів (плазмо- і гемосорбції, плазмаферезу), а також препаратів біологічної дії (моноклональних антитіл).

Призначення системних кортикостероїдних гормонів та препаратів, які модифікують хворобу, при лікуванні середньотяжкого і тяжкого перебігу псоріазу потребує індивідуального підходу. Системна терапія із застосуванням цих препаратів може призвести до дестабілізації перебігу псоріазу з формуванням торпідних, тяжких та атипових форм дерматозу. Це зумовлено тим, що системні кортикостероїди та препарати, які модифікують хворобу, не володіють селективною дією. Зокрема пригнічення цими препаратами імунної реакції не обмежується пригніченням активованих Т-лімфоцитів і відбувається паралельно з порушенням вуглеводного, білкового і ліпідного обміну.

Новим перспективним напрямом у терапії псоріазу є застосування препаратів біологічної

дії — моноклональних антитіл, які володіють селективною дією, що дає змогу уникнути численних ускладнень та побічних ефектів. Вивчення механізмів регуляції та впливу моноклональних антитіл на патогенетичні процеси в організмі хворих на псоріаз на системному і локальному рівнях, а також визначення терапевтичної ефективності моноклональних антитіл при лікуванні цього дерматозу потребують поглибленого дослідження [1, 8–11].

Значне поширення, велика кількість гіпотез етіопатогенезу, варіабельність клінічних виявів псоріазу та недостатня ефективність методів лікування цього дерматозу зумовлюють необхідність дослідження його патогенетичних ланок.

Триває вивчення ролі та функції Толл-подібних рецепторів (TLR) у шкірі людини. Деякі автори вважають, що TLR активованих кератиноцитів здатні моделювати адаптивну імунну відповідь [4]. Установлено, що TLR-стимульовані кератиноцити супернатанта здатні спричинити дозрівання дендритних клітин. Активацію TLR виявлено при деяких захворюваннях шкіри інфекційної етіології.

Таким чином, дослідження експресії TLR клітинами шкіри має важливе значення для поліпшення розуміння механізму розвитку імунного запалення в шкірі хворих на псоріаз.

Мета роботи — провести порівняльний аналіз імунологічних та імуногістохімічних змін у ділянці шкірної псоріатичної висипки у хворих на псоріаз після курсів системної терапії, а також оцінити ефективність лікування.

## Матеріали та методи

У хворих на псоріаз проводили дворазове дослідження біоптатів, зокрема з ділянок шкіри, ураженої псоріатичною висипкою, та інтактної шкіри. Для порівняння результатів досліджено біопсійний матеріал зі шкіри передньої черевної стінки, взятий після оперативного втручання, зокрема герніопластики, у 5 практично здорових осіб відповідного віку.

Фрагменти біопсійного матеріалу шкіри фіксували в 10 % нейтральному формаліні, потім матеріал проводили по серії спиртів і заливали в парафінові блоки, з яких готували зрізи товщиною 4–6 мкм.

Для визначення характеру і поширення місцевих клітинних імунних і запальних реакцій у шкірі застосовували імуногістохімічні методики з визначенням вмісту прозапальних маркерів імунного запалення.

Отримані імуногістохімічні препарати вивчали з використанням мікроскопа Olympus BX 51, цифрової камери Olympus C5050 Z та програм-

ного забезпечення Olympus DP-Soft. Імуногістохімічні дослідження проведено в Інституті патології Карл Тім Клінікум (академічна школа «Шаріте», м. Котбус, Німеччина).

Показники клітинного імунітету в організмі оцінювали за зміною відносної та абсолютної кількості Т-(CD3<sup>+</sup>) та В-(CD19<sup>+</sup>)-лімфоцитів, а також субпопуляцій (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>CD71<sup>+</sup>, CD30<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>). Для ідентифікації поверхневих структур лімфоцитів використовували метод прямої імунофлюоресценції, при якому флюоресцентна мітка приєднана до анти-CD-мононуклеарних антитіл серії Leu фірми Becton Dickinson (США). Обчислення проводили на лазерному проточному цитофлюориметрі фірми Baston (США).

Для оцінки терапевтичної ефективності препарату імунобіологічної дії етанерцепту та його комбінації з вузькосмуговою ультрафіолетовою В-терапією порівняно зі стандартними схемами терапії псоріазу обстежені нами 20 хворих були розподілені на чотири рівноцінні клінічні групи з урахуванням віку і статі пацієнтів, тяжкості, характеру та терміну перебігу псоріазу.

Лікування у першій групі (n = 54) проводили згідно зі стандартною схемою шляхом індивідуального призначення топічних глюкокортикостероїдів з різною силою дії (бетаметазон, гідрокортизону бутират, дексаметазон, клобетазол, метилпреднізолон, преднікарбат, триамцінолон, флутиказол) з урахуванням тривалості і тяжкості перебігу дерматозу. Також призначали інгібітори кальциневрину, вітамін D<sub>3</sub> або один з його аналогів, а також додаткову терапію для корекції діагностованої супутньої патології. Тривалість лікування хворих — від 20 до 40 днів залежно від тяжкості перебігу дерматозу.

У другій групі (n = 51) призначали стандартну схему терапії із застосуванням топічних глюкокортикостероїдів, антигістамінних препаратів та додаткових засобів з урахуванням супутньої патології. Після індивідуального визначення біодози призначали еритемні дози УФ-опромінення кварцевими лампами зонально за схемою, розробленою І.І. Потоцьким, щоденно або через день. Курс — 12–15 сеансів. Тривалість лікування — від 30 до 40 днів.

Лікування хворих у третій групі (n = 50) проводили препаратом імунобіологічної дії етанерцептом у дозі 50 мг підшкірно 1 раз на тиждень протягом 3 тиж.

У четвертій (основній) групі (n = 52) призначали етанерцепт у дозі 50 мг підшкірно 1 раз на тиждень протягом 3 міс, а також проводили вузькосмугову УФ-В-терапію через день. Курс — 10 сеансів.

Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали з використанням параметричних і непараметричних методів за допомогою пакета для статистичного аналізу Statistica 7. Розраховували середнє арифметичне значення (M), стандартну похибку (m), мінімальне та максимальне значення, медіану. Якісні зміни представлено абсолютними та відносними частотами (відсотками). Статистичну значущість відмінності між групами для якісних змінних перевіряли за допомогою критерію  $\chi^2$ , точного критерію Фішера. Тестування проводили для двостороннього рівня статистичної значущості (рівня достовірності  $p < 0,05$ ).

### Результати та обговорення

Аналіз результатів після завершення курсів лікування виявив суттєві переваги системної імунобіологічної терапії порівняно зі стандартною схемою лікування псоріазу щодо тривалості ремісії. Отже, запропонована нами модифікована схема терапії хворих на псоріаз вульгарний, яка передбачає проведення курсу системної імунобіологічної терапії препаратом етанерцепту з одночасним призначенням курсу вузькосмугової (311 нм) УФ-В-терапії, дає змогу підвищити ефективність лікування та подовжити термін тривалості ремісії дерматозу.

У динаміці лікування із використанням різних схем терапії встановлено їх різноспрямований вплив на показники клітинної ланки імунітету. Зокрема у пацієнтів першої групи спостерігали статистично значуще ( $p < 0,05$ ) підвищення загальної кількості лейкоцитів, яке перевищувало показник здорових осіб на 23,4 %. Відсоткова кількість лімфоцитів при цьому статистично значущо ( $p < 0,05$ ) зменшилася на 41,45 %. Ці зміни пов'язані з дією глюкокортикостероїдів на кровотворну систему, яка полягає в підвищенні рівня еритроцитів, лейкоцитів і тромбоцитів та зниженні вмісту моноцитів і лімфоцитів. У пацієнтів із псоріазом, які отримували стандартну терапію, вміст В-лімфоцитів статистично значущо ( $p < 0,05$ ) не змінювався в динаміці лікування і перевищував показник контрольної групи на 58,2 %. Відносна кількість CD16<sup>+</sup>-клітин під час лікування залишалася в межах значень здорових осіб.

Установлено статистично значуще ( $p < 0,05$ ) зниження вмісту активованих лімфоцитів із раннім маркером активації на 12,1 %, але він перевищував нормативний показник на 48,7 % ( $p < 0,05$ ). На тлі стандартної терапії спостерігали збільшення відносної кількості CD95<sup>+</sup>-лімфоцитів на 26,8 % ( $p < 0,05$ ), що пов'язано із властивостями глюкокортикостероїдів посилю-

вати експресію Fas-рецептора. Відсотковий вміст CD30<sup>+</sup>-лімфоцитів у динаміці лікування залишався незмінним і перевищував аналогічний показник здорових осіб у 5,83 разу ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, стандартна схема лікування, окрім недостатньої клінічної ефективності, незначною мірою впливала на показники основних популяцій та субпопуляцій лімфоцитів, про що свідчило зниження вмісту активованих лімфоцитів із фенотипом CD25<sup>+</sup>CD71<sup>+</sup> та підвищення рівня CD95<sup>+</sup>-клітин.

Аналогічні мінімальні зміни в клітинній ланці імунної системи організму хворих відбувалися при використанні стандартної схеми лікування з призначенням УФ-опромінення кварцевими лампами. Відзначено статистично значуще ( $p < 0,05$ ) підвищення загальної кількості лейкоцитів, яка перевищувала показник здорових осіб на 25,8 %, а відсоткова кількість лімфоцитів статистично значущо ( $p < 0,05$ ) зменшилася на 37,5 %. Вміст В-лімфоцитів статистично значущо ( $p < 0,05$ ) не змінювався в динаміці лікування і перевищував показник контрольної групи на 57,12 %. Відносна кількість CD16<sup>+</sup>-клітин залишалася в межах значень здорових осіб. Виявлено статистично значуще ( $p < 0,05$ ) зниження вмісту активованих лімфоцитів із раннім маркером активації CD25<sup>+</sup>CD71<sup>+</sup> у динаміці лікування на 15,4 %, однак їх кількість перевищувала нормативний показник на 43,2 % ( $p < 0,05$ ). Також виявлено зростання відносної кількості CD95<sup>+</sup>-лімфоцитів на 27,1 % ( $p < 0,05$ ), що зумовлено використанням глюкокортикостероїдів. Відносна кількість CD30<sup>+</sup>-лімфоцитів у динаміці лікування залишалася незмінною і перевищувала аналогічний показник здорових осіб у 5,8 разу ( $p < 0,05$ ).

У пацієнтів третьої групи загальна кількість лейкоцитів у динаміці лікування зменшилася та була нижчою за показник здорових осіб на 19,2 % ( $p < 0,05$ ), а у хворих четвертої групи — не мала статистично значущої відмінності від показника здорових осіб ( $p > 0,1$ ). Відносна кількість лімфоцитів в обох групах досягла нормативних значень, при цьому у пацієнтів третьої групи вона статистично значущо ( $p < 0,05$ ) зменшилася на 26,0 %, а у хворих четвертої групи — на 23,3 % ( $p < 0,05$ ) порівняно із вихідним показником. Установлено статистично значуще ( $p < 0,05$ ) зниження відносної кількості В-клітин, що є маркером, який підтверджує високий протизапальний ефект лікування. В третій групі кількість CD19<sup>+</sup>-лімфоцитів знизилась ( $p < 0,05$ ) на 32,3 %, а у четвертій — на 41,1 % ( $p < 0,05$ ) щодо значень контрольної групи.

У хворих третьої та четвертої груп виявлено статистично значуще ( $p < 0,05$ ) зменшення відносної кількості CD25<sup>+</sup>CD71<sup>+</sup>-лімфоцитів до показників здорових осіб відповідно на 37,7 та 42,8 %. Суттєві зміни спостерігали у відсотковому вмісті активованих CD95<sup>+</sup>-лімфоцитів у динаміці. Призначення препарату інгібітора ФНП сприяло статистично значущому зменшенню експресії Fas-рецептора на лімфоцитах, тобто зниженню їх готовності до апоптозу. У пацієнтів третьої групи їх рівень знизився на 51,35 % ( $p < 0,05$ ), а у хворих четвертої групи — на 55,6 % ( $p < 0,05$ ). Показники в обох групах досягли нормативного значення. Зниження вмісту CD95<sup>+</sup>-лімфоцитів може бути спричинене насамперед зменшенням сироваткової концентрації ФНП- $\alpha$  як основного індуктора апоптозу лімфоцитів.

У пацієнтів третьої групи виявлено статистично значуще ( $p < 0,05$ ) зниження відсоткового вмісту CD30<sup>+</sup>-лімфоцитів у 3,66 разу щодо вихідного показника, а у хворих четвертої групи — у 4,22 разу ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, найбільш позитивну дію на показники клітинної ланки імунної системи виявлено у пацієнтів, які отримували імунобіологічну терапію препаратом етанерцепту, та її поєднання із вузькосмуговою (311 нм) фототерапією. За рахунок суттєвого зниження продукції ФНП та його сироваткової концентрації зменшилися прозапальні зміни в клітинній ланці імунної системи, вірогідно зменшилася кількість лімфоцитів із раннім маркером активації, які ініціювали цитокіновий каскад розвитку та пролонгації запалення. Крім того, зниження кількості CD30<sup>+</sup>-лімфоцитів є опосередкованим чинником, який свідчить про переключення Тх<sub>2</sub>-відповіді (автоімунні вияви) на Тх<sub>1</sub>-відповідь, а отже, на досягнення клініко-імунологічної ремісії псоріатичного процесу. Важливим для функціонування імунної системи можна вважати зниження вмісту активованих лімфоцитів, які експресують Fas-рецептор, оскільки внаслідок посиленого апоптозу лімфоцитів, а саме Т-цитотоксичних лімфоцитів, відбувалися автоімунні та проліферативні зміни, притаманні загостренню псоріатичного процесу.

У динаміці лікування у хворих першої та другої груп спостерігали статистично значуще ( $p < 0,05$ ) зменшення показника спонтанної продукції відповідно на 19,38 і 20,62 %, проте він перевищував показник здорових осіб на 40,14 % ( $p < 0,05$ ) та 37,99 % ( $p < 0,05$ ). У пацієнтів третьої та четвертої груп зазначений показник статистично значущо ( $p < 0,05$ ) знизився відповідно на 42,06 та 41,44 % і досяг значень контроль-

ної групи. Показник стимульованої ФГА проліферативної активності лімфоцитів після лікування у хворих першої та другої груп статистично значущо не відрізнявся від початкових значень і був статистично значуще вищим за нормативне значення. У третій та четвертій групах виявлено статистично значуще ( $p < 0,05$ ) зниження зазначеного показника відповідно на 8,7 та 8,8 % до значень контрольної групи. Нормалізація показників проліферативної активності лімфоцитів пов'язана насамперед зі зменшенням явищ автоактивації та автосенсибілізації, відновленням чутливості рецепторного апарату лімфоцитів, зниженням антигенної та цитокінової стимуляції. У хворих першої групи відзначено зниження фагоцитарного індексу на 8,72 % ( $p < 0,05$ ), а фагоцитарного числа – на 5,82 % ( $p < 0,05$ ), а в другій групі – відповідно на 8,33 % ( $p < 0,05$ ) та 4,84 % ( $p > 0,1$ ).

У третій групі призначення етанерцепту сприяло частковому відновленню фагоцитарної активності, фагоцитарний індекс Гамбурга збільшився порівняно із вихідним значенням на 8,3 % ( $p < 0,05$ ), а фагоцитарне число Райта – на 17,68 % ( $p < 0,05$ ), але обидва показники залишалися статистично значущо нижчими за аналогічні у здорових осіб. У четвертій групі зафіксували підвищення фагоцитарного індексу Гамбурга на 8,7 % ( $p < 0,05$ ) порівняно із початковими даними, а фагоцитарного числа Райта – на 18,64 % ( $p < 0,05$ ).

Призначення хворим на псоріаз стандартної схеми лікування сприяло статистично значущому, проте недостатньому зменшенню явищ імунотоксикозу. Так, рівень патогенних середньомолекулярних циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) та ЦІК малого розміру статистично значущо ( $p < 0,05$ ) зменшився відповідно на 19,12 та 20,52 %, однак перевищував показники контрольної групи на 28,9 % ( $p < 0,05$ ) та в 2,72 рази ( $p < 0,05$ ). Одночасно спостерігали зростання вмісту ЦІК великого розміру на 16,77 % ( $p < 0,05$ ), проте цей показник залишався нижчим від значень у здорових осіб на 37,42 % ( $p < 0,05$ ).

Аналогічну динаміку вмісту ЦІК спостерігали в другій групі. Рівень патогенних середньомолекулярних ЦІК та ЦІК малого розміру статистично значущо ( $p < 0,05$ ) зменшився відповідно на 17,89 та 26,83 %, однак перевищував показники контрольної групи на 30,86 % ( $p < 0,05$ ) та в 2,5 рази ( $p < 0,05$ ). Також відзначено зростання вмісту ЦІК великого розміру на 20,6 % ( $p < 0,05$ ), проте цей показник залишався нижчим від значень у здорових осіб на 37,32 % ( $p < 0,05$ ).

Більшу позитивну динаміку показників ЦІК спостерігали у хворих на псоріаз при викорис-

танні імунобіологічної терапії. Рівень патогенних середньомолекулярних ЦІК та ЦІК малого розміру статистично значущо ( $p < 0,05$ ) зменшився відповідно на 29,0 і 47,01 %, однак перевищував показники контрольної групи на 13,17 % ( $p < 0,05$ ) та в 1,8 рази ( $p < 0,05$ ). Відзначено зростання вмісту ЦІК великого розміру на 45,30 % ( $p < 0,05$ ), проте цей показник залишався нижчим від значень у здорових осіб на 21,98 % ( $p < 0,05$ ). Позитивні зміни концентрації ЦІК зумовлені протизапальним ефектом, зменшенням автоантигенемії та утворенням специфічних антитіл, частковим відновленням фагоцитарної активності нейтрофілів.

Позитивну динаміку показників ЦІК відзначено також у пацієнтів четвертої групи. Зокрема рівень патогенних середньомолекулярних ЦІК та ЦІК малого розміру статистично значущо ( $p < 0,05$ ) зменшився відповідно на 31,10 % і в 2,11 рази, однак перевищував показники контрольної групи на 9,8 % ( $p < 0,05$ ) та 61,9 % ( $p < 0,05$ ). Також спостерігали зростання вмісту ЦІК великого розміру на 47,4 % ( $p < 0,05$ ), проте цей показник залишався нижчим від значень у здорових осіб на 20,85 % ( $p < 0,05$ ).

У динаміці лікування хворих на псоріаз при використанні різних схем терапії вміст імунoglobulinів G, M і A у сироватці крові зменшився і відповідав нормативним значенням. Це є свідченням позитивної дії схем лікування, які чинять протизапальну дію та не спричиняють стимуляцію окремих ланок імунної системи.

Аналіз імунологічної ефективності схем комбінованого лікування хворих на псоріаз виявив, що вони мають імунореабілітивні властивості, проте ступінь їх вираженості відрізнявся. Найбільшу ефективність відзначено при поєднаному застосуванні етанерцепту та УФ-В-терапії. При цьому зменшувалися проліферативні та запальні зміни в шкірі, знижувалося антигенне навантаження, зменшувався рівень ЦІК, автосенсибілізація та автоімунні порушення.

В інтактних ділянках шкіри у хворих на псоріаз, які отримували етанерцепт та етанерцепт з паралельним призначенням курсу вузькосмугової (311 нм) фототерапії, після лікування було виявлено наявність регресу та нормалізацію фонових структурних змін. Зокрема епідерміс набував нормальної товщини і правильного стратифікаційного вигляду. Явища набряку епідермісу та дерми не відзначали. Запальна інфільтрація дерми була відсутня. Спостерігали фібротизацію сосочкового шару дерми, зменшення кількості еластичних волокон, дещо хаотичне їх розташування в субепідермальних ділянках дерми.

При імуногістохімічному дослідженні біоптатів з ділянок інтактної шкіри хворих на псоріаз третьої та четвертої груп виявлено поодинокі CD4<sup>+</sup>-лімфоцити, які локалізувались у сосочковому шарі дерми в периваскулярних ділянках. У самих сосочках відповідні клітини не визначали. Спостерігали поодинокі CD8<sup>+</sup>-клітини в дермі, які локалізувались як у сосочковому шарі, так і на межі з базальними епітеліоцитами. Інфільтрації епідермісу не відзначено. CD20<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup> та перфорин-вмісні клітини в ділянках інтактної шкіри не виявлено. В сосочковому шарі дерми та периваскулярних зонах ділянок інтактної шкіри зафіксували поодинокі CD68<sup>+</sup>-клітини. Міграції зазначених клітин в епідерміс не спостерігали, що свідчить про відсутність антигенної стимуляції епітеліоцитами макрофагальних клітин.

Після проведеного лікування в інтактній шкірі дещо зменшувалась інтенсивність імуногістохімічної реакції на TLR2 та TLR4, більш виражена в третій та четвертій групах. В ядрах епітеліоцитів про експресію цього маркера свідчило дрібногранулярне забарвлення частини епітеліоцитів, розташованих переважно в базальних відділах епідермісу. Відзначено також неспецифічне цитоплазматичне дрібногранулярне забарвлення (переважно перинуклеарне). Кератиновий шар епідермісу не зазнав тинкторіальних змін. У дермі внаслідок зменшення кількості запальних клітин експресію TLR2 та TLR4 спостерігали лише в поодиноких макрофагах, а також в ендотелії кровоносних судин. При проведенні імуногістохімічних досліджень в епідермісі інтактної шкіри хворих на псоріаз після лікування етанерцептом та етанерцептом з паралельним призначенням курсу вузькосмугової (311 нм) фототерапії відзначено суттєве зменшення кількості TLR9-позитивних клітин.

Після курсів терапії у хворих на псоріаз першої та другої груп у ділянках регресу шкірної псоріатичної висипки спостерігали тенденцію до нормалізації встановлених до лікування патологічних структурних змін шкіри, а у пацієнтів третьої та четвертої груп — повну нормалізацію. Зокрема при патогістологічному дослідженні відповідних біоптатів шкіри у хворих третьої та четвертої груп установлено стоншення шару епідермісу в 2–3 рази порівняно з вихідним показником. Повністю відновлювалося співвідношення між шарами епідермісу. В ділянках регресу псоріатичної висипки спостерігали чітке контурування базальних мембран епітелію, які відділяють епідерміс від строми сосочків, а також широку зону рогової речовини. Найбільш представленим був шар шипоподібних клітин,

які виявляли певний клітинний і ядерний поліморфізм, і вогнищево зберігали різноспрямовану орієнтацію. Базальні клітини набували характерної гістоархітектоніки. Розширювався зернистий шар. Також встановлено суттєве зниження активності проліферативних процесів в епідермісі та відсутність в епідермісі запальних клітин. У пацієнтів першої та другої груп в окремих зонах виявлено міграцію поодиноких запальних клітин в епідермісі.

У дермі з ділянок регресу псоріатичної висипки зменшувались кількість і висота сосочків. Виявлено також зменшення виявів набряку дерми та згладжування фестончастості сосочкового шару, більш виражене у пацієнтів четвертої групи. В сосочках і сітчастому шарі дерми визначалися лише поодинокі запальні клітини. Периваскулярні інфільтрати, які реєстрували у ділянках шкірної псоріатичної висипки до лікування, не виявляли. Спостерігали поодинокі периваскулярно розташовані скупчення неактивованих макрофагів і лімфоїдних клітин. Запальна інфільтрація виявлялася периваскулярно в зоні розташування лімфатичних колекторів, а не в стінках кровоносних судин.

Судини мікроциркуляторного русла у пацієнтів третьої та четвертої груп у ділянках регресу псоріатичної висипки зазнавали редукції, їх кількість зменшувалась. У судинах, розташованих в основі сосочків, клітинні елементи, зокрема ендотелій, функціональну активність не виявляли. Ендотелій сплющувався, клітини зменшувалися в розмірах порівняно з клітинами до лікування. У пацієнтів першої та другої груп у частині судин мікроциркуляторного русла спостерігалися високий ендотелій з великими гіперхромними ядрами, що свідчило про функціональну активність і проліферативну готовність. Лімфатичні капіляри, які супроводжують судини мікроциркуляторного русла в сосочках і в основі сосочків, були розширеними. В їх просвіті виявляли лише поодинокі запальні клітини.

Таким чином, у шкірі хворих на псоріаз у ділянках регресу псоріатичної висипки спостерігали затухання запальних процесів, часткове чи близьке до норми відновлення будови епідермісу і дерми. У пацієнтів першої та другої груп повного відновлення в епідермісі та дермі не відзначено. У них мала місце легка запальна інфільтрація, дещо підвищена функціональна активність ендотелію, незначна вогнищева проліферація клітин і незначний інтерстиціальний набряк. Спостерігали фібротизацію сосочкового і частково сітчастого шару.

При імуногістохімічному дослідженні біоптатів шкіри хворих на псоріаз з ділянок регресу

псоріатичної висипки після лікування виявлено суттєве зменшення порівняно з вихідними показниками кількості запальних клітин, які виявляють позитивну експресію (CD4, CD8, CD56, CD68), більш виражене у пацієнтів третьої та четвертої груп.

В епідермісі біоптатів з ділянок регресу псоріатичної висипки у хворих третьої та четвертої груп CD4<sup>+</sup>-лімфоцити практично не виявляли, однак вони були наявні в сітчастому шарі дерми, де розташовувалися периваскулярно. У пацієнтів першої та другої груп у сосочковому шарі дерми зберігалися периваскулярні запальні інфільтрати, частка CD4<sup>+</sup>-клітин становила від 30 до 50 %.

Після курсу лікування в біоптатах шкіри хворих на псоріаз, взятих з ділянок регресу псоріатичної висипки, виявлено суттєве зменшення кількості CD8<sup>+</sup>-клітин. Якщо в запальних інфільтратах у ділянках псоріатичної висипки до лікування переважали CD8<sup>+</sup>-клітини, то після проведеної терапії серед поодиноких лімфоїдних елементів переважали CD4<sup>+</sup>-клітини. Поодинокі CD8<sup>+</sup>-клітини виявляли в дермі та на межі дерми та епідермісу. На окремих ділянках відзначено контакти CD8<sup>+</sup>-клітин з епітеліоцитами. Поодинокі клітини виявляли також в епідермісі. У сітчастому шарі дерми CD8<sup>+</sup>-клітини були відсутні. В окремих запальних інфільтратах дерми в ділянках регресу псоріатичної висипки виявлено поодинокі CD20<sup>+</sup>-клітини. У нечисленних периваскулярних інфільтратах також спостерігали незначну кількість CD20<sup>+</sup>-клітин (до 10 %). В епідермісі та сітчастому шарі дерми ці клітини були відсутні.

У пацієнтів першої та другої груп установлено збереження незначних запальних інфільтратів дерми. CD56<sup>+</sup>-клітини траплялися поодинокі в периваскулярних ділянках. В епідермісі та сітчастому шарі дерми ці клітини не виявляли.

У ділянках регресу шкірної псоріатичної висипки хворих з третьої та четвертої груп після курсу лікування спостерігали суттєве зменшення кількості CD68<sup>+</sup>-клітин. Поодинокі клітини виявляли в зонах сосочків, а дещо більшу їх кількість — у збережених незначних периваскулярних інфільтратах сосочкового шару дерми. Кількість CD68<sup>+</sup>-клітин у збережених інфільтратах становила майже 5 %. Ці макрофаги локалізувалися в лімфатичних судинах периваскулярно поблизу стінок дрібних артеріальних судин. Спостерігали значне зменшення розмірів макрофагів і кількості CD68<sup>+</sup>-гранул в їх цитоплазмі. У дермі на межі із сітчастим шаром виявляли поодинокі CD68<sup>+</sup>-клітини, які зазвичай розташовуються периваскулярно. В епідермісі CD68<sup>+</sup>-клітини не спостерігали.

У шкірі з ділянок регресу псоріатичної висипки після лікування перфорин-вмісні клітини не виявляли.

Проведені імуногістохімічні реакції на виявлення експресії TLR2 та TLR4 виявили, що після лікування в епідермісі значно знижувалась як кількість забарвлених клітин, так і інтенсивність реакції. Кількість клітин, які експресують TLR4, в епідермісі становила до 60 %. Найчіткіше реакція була виражена в дендритних клітинах. У хворих з третьої та четвертої груп в епідермісі з'являлися ділянки, де експресія TLR4 була відсутня. Таким чином, установлена важлива роль дендритних клітин в адсорбції лігандів мікроорганізмів і активації TLR. Гістотопографічно відростки дендритних клітин досягали поверхневих шарів епідермісу, де під зроговілим шаром виявляли гранулярні забарвлені скупчення, ймовірно, мікроорганізмів. Субепідермально спостерігали забарвлені макрофаги. Виявлено аналогічні особливості експресії клітинами епідермісу TLR2. Кількість забарвлених епітеліоцитів становила майже 50 %. Характерна мембранна експресія виявлялась лише в дендритних клітинах і макрофагах, розташованих безпосередньо під базальним шаром.

Після лікування в дермі відзначено значне зменшення кількості запальних клітин, зокрема TLR2<sup>+</sup>- та TLR4<sup>+</sup>-макрофагів, більш виражене у пацієнтів третьої та четвертої груп.

Установлено тісний контакт TLR2<sup>+</sup>-макрофагів у субепітеліальних ділянках із забарвленими дендритними клітинами епідермісу, причому в цих зонах експресію маркера спостерігали в епітеліоцитах у всій товщі шару аж до рогового шару.

Зазначені структурні особливості можуть свідчити про активацію макрофагів дендритними клітинами епідермісу, котрі зв'язують і концентрують відповідні ліганди. Аналогічні зміни виявляли при вивченні експресії TLR4. В епідермісі навіть після лікування спостерігали значну кількість TLR4<sup>+</sup>-клітин, які мали збільшені розміри і досягали відростками до рогового шару. Відзначено досить інтенсивне фонове цитоплазматичне забарвлення цих клітин. Лусочки рогової речовини у хворих на псоріаз мали пухку поширену структуру, що створює умови для колонізації їх значною кількістю мікроорганізмів, продукти життєдіяльності яких можуть бути лігандами в активації TLR.

Після лікування в біоптатах з ділянок регресу псоріатичної висипки спостерігали слабку TLR9-позитивну реакцію в базальному шарі епідермісу, а також поодинокі забарвлені запальні клітини в дермі. Виявлено більш виразну TLR9-позитивну реакцію в ділянках набряку

епідермісу, тоді як у місцях компактного розташування епітеліоцитів реакція була негативною.

При морфометричному дослідженні імуногістохімічних препаратів, зафарбованих для виявлення експресії CD68<sup>+</sup>-клітин, що є специфічним маркером макрофагів, виявлено статистично значущу відмінність у кількості цих клітин у сосочковому шарі дерми шкіри на ділянці псоріатичних бляшок у хворих до та після лікування.

Проведені дослідження дають змогу об'єктивно (на тканинному рівні) оцінити ступінь зменшення інтенсивності запального процесу за кількістю ефекторних клітин, а саме, макрофагів (шляхом визначення експресії CD68 – маркера макрофагів), що було підтверджено поліпшенням клінічного стану хворих.

У динаміці лікування хворих на псоріаз із використанням різних схем терапії встановлено різний вплив на колонії мікроорганізмів, виявлених у шкірі до лікування. Зокрема у першій, другій і третій групах під роговим шаром епідермісу біоптатів шкіри з ділянок регресу псоріатичної висипки у 21 (61,76 %), 14 (42,42 %) та 5 (14,28 %) пацієнтів відповідно було встановлено наявність колоній мікроорганізмів, які згідно з антигенними властивостями належали до *Staphylococcus aureus*. У всіх пацієнтів четвертої групи відзначено відсутність колоній мікроорганізмів. Запальна інфільтрація дерми та епідермісу у ділянках регресу псоріатичної висипки була відсутня. У 10 (76,92 %) пацієнтів першої групи, у 7 (53,84 %) – другої та у 3 (23,07 %) – третьої виявлено наявність колоній зазначених мікроорганізмів під роговим шаром епідермісу біоптатів з ділянок інтактної шкіри, тоді як в усіх пацієнтів четвертої групи відзначено відсутність колоній мікроорганізмів.

Морфологічним показником ефективності лікування хворих на псоріаз є регрес запальних реакцій і гіперпластичних процесів в епідермісі та дермі, а також зворотність структурних змін шкіри. Після лікування в шкірі хворих зменшувалася кількість клітин (як дендритних, так і макрофагів), в яких виявляли експресію TLR2 та TLR4. У пацієнтів першої та другої групи існувала фонова готовність до активації TLR. Лікування сприяло зниженню продукції та експресії біологічних прозапальних маркерів в епідермісі, значному зменшенню ступеня запальної інфільтрації як у ділянках псоріатичних бляшок, так і в інтактній шкірі. В пацієнтів третьої та четвертої груп відповідні позитивні зміни були більш значними порівняно з хворими першої та другої груп. На особливу увагу в аспекті патогенезу псоріазу, зокрема розвитку рецидиву, а також для розробки тактики комплексної терапії хворих заслуговує наявність колоній *Staphylococcus aureus* під роговим шаром епідермісу у ділянках регресу псоріатичної висипки та інтактної шкіри після терапії та досягнення клінічної ремісії. Бактеріальний компонент може бути додатковим несприятливим чинником щодо терміну виникнення рецидиву шкірного псоріатичного процесу.

## Висновки

Установлено, що найефективнішою щодо тривалості ремісії, нормалізації імунного статусу організму, регресу запальних реакцій та гіперпластичних процесів у шкірі, а також щодо елімінації колоній мікроорганізмів роду *Staphylococcus* під роговим шаром епідермісу є системна імунобіологічна терапія у комбінації з вузькосмуговою (311 нм) фототерапією.

## Список літератури

- Asadullah K., Sterry W., Trefzer U. Cytokines: interleukin and interferon therapy in dermatology // Clin. Exp. Dermatol. – 2002. – Vol. 27. – P. 578–584.
- Chang E., Hammerberg C., Fisher G. et al. T-cell activation is potentiated by cytokines released by lesional psoriatic, but not normal, epidermis // Arch. Dermatol. – 1992. – Vol. 128. – P. 1479–1485.
- Ettehad P., Greaves M., Wallach D. et al. Elevated tumour necrosis factor-alpha (TNF) biological activity in psoriatic skin lesions // Clin. Exp. Immunol. – 1994. – Vol. 96. – P. 146–151.
- James E., McInturff R., Modlin J.K. The role of toll-like receptors in the pathogenesis and treatment of dermatological disease // J. Invest. Dermatol. – 2005. – N 1. – P. 1–8.
- Nockowski P., Baran W. Novel approach to psoriasis // Terapia. – 2005. – N 3. – P. 20–24.
- Ozawa M., Aiba S. Immunopathogenesis of psoriasis // Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy. – 2004. – N 3. – P. 137–144.
- Parisi R., Symmons D., Griffiths C., Ashcroft D. Identification and Management of Psoriasis and Associated Comorbidity (IMPACT) project team «Global epidemiology of psoriasis: a systematic review of incidence and prevalence» // J. Invest. Dermatol. – 2013. – Vol. 133. – P. 377–385.
- Singri P., West D., Gordon K. Biologic therapy for psoriasis: the new therapeutic frontier // Arch. Dermatol. – 2002. – Vol. 138. – P. 657–663.
- Trznadel-Budźko E. Nitric oxide and selected biochemical and immunological parameters in pathogenesis of psoriasis vulgaris // Praca habilitacyjna. – 1999.
- Tzu J., Mamelak A., Sauder D. Current advancements in the treatment of psoriasis: Immunobiologic agents // Clin. Applied Immunol. Rev. – 2006. – N 6. – P. 99–130.
- Yoshinaga Y., Higaki M., Terajima S. et al. Detection of inflammatory cytokines in psoriatic skin // Arch. Dermatol. Res. – 1995. – Vol. 287. – P. 158–164.

Р.Л. Степаненко, Т.С. Коновалова

*Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев*

## Влияние иммунобиологической терапии на микроокружение псориатического процесса

**Цель работы** — провести сравнительный анализ иммунологических и иммуногистохимических изменений в области кожной псориатической сыпи у больных псориазом после курсов системной терапии, а также оценить эффективность терапии.

**Материалы и методы.** Проведено иммуногистохимическое исследование биопсийного материала, взятого из области кожной псориатической сыпи и интактной кожи, у больных псориазом. Для сравнения результатов проведено исследование биопсийного материала кожи передней брюшной стенки, взятого после оперативного вмешательства, в частности герниопластики, у 5 практически здоровых лиц соответствующего возраста. Для установления характера и распространенности местных клеточных иммунных и воспалительных реакций в коже больных на псориаз использовали иммуногистохимические методики с определением экспрессии маркеров иммунного воспаления. Показатели клеточного иммунитета в организме оценивали по изменению относительного и абсолютного количества Т- (CD3<sup>+</sup>) и В-(CD19<sup>+</sup>)-лимфоцитов, а также субпопуляций (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>CD71<sup>+</sup>, CD30<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>).

**Результаты и обсуждение.** Наибольшее положительное влияние на показатели клеточного звена иммунной системы организма выявлено у больных, получавших иммунобиологическую терапию препаратом этанерцепта в сочетании с узкополосной (311 нм) фототерапией. После лечения у пациентов этой группы за счет существенного снижения продукции фактора некроза опухоли и его концентрации в сыворотке крови уменьшились провоспалительные изменения в клеточном звене иммунной системы, достоверно уменьшилось количество лимфоцитов с ранним маркером активации, которые инициировали цитокиновый каскад развития и пролонгации воспаления.

**Выводы.** Наиболее эффективной относительно длительности ремиссии, нормализации иммунного статуса организма, регресса воспалительных реакций и гиперпластических процессов в коже, а также элиминации колоний микроорганизмов рода *Staphylococcus* под роговым слоем эпидермиса является системная иммунобиологическая терапия в комбинации с узкополосной (311 нм) фототерапией.

**Ключевые слова:** псориаз, изменения иммунологических показателей организма, иммуногистохимические изменения в коже, Толл-подобные рецепторы.

R.L. Stepanenko, T.S. Konovalova

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

## Influence of immunobiological therapy on microwashing the psoriatic process

**Objective** — make a comparative analysis of immunological and immunohistochemical changes in the skin psoriasis rash in patients with psoriasis after the course of systemic therapy, as well as evaluate the therapeutic effectiveness of the therapy.

**Materials and methods.** Immunohistochemical research of biopsy material, taken from areas of skin psoriasis of patients on psoriasis, was performed. In addition, for comparison of results of immunogistochemical research, a study of biopsy material of skin of front abdominal wall was undertaken for the persons of corresponding age without psoriasis (5 patients), was executed while the operation of hernioplastick. In order to set the type and prevalence of local cellular immune and inflammatory reactions, immunohistochemical methodologies were used for the exposure of immune inflammation marker. The indices of cellular immunity in the body were assessed by the change in the relative and absolute number of T-(CD3<sup>+</sup>) and B-(CD19<sup>+</sup>) lymphocytes, as well as subpopulations (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>CD71<sup>+</sup>, CD30<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>).

**Results and discussion.** The most positive effect on the indices of the cellular part of the body's immune system was found in patients with psoriasis who received immunotherapy with etanercept in combination with narrowband (311 nm) phototherapy. After the treatment of patients in this group, due to a significant decrease in production of TNF and its serum concentration in the blood serum, proinflammatory changes in the cellular system of the immune system decreased, the number of lymphocytes with an early activation marker decreased, which initiated a further cytokine cascade of development and prolongation of the inflammation.

**Conclusions.** It was found that, according to the analysis of the results of clinical studies, as well as immunological and morphological studies conducted after the completion of treatment courses for psoriasis patients, the most effective

method is a systemic immunobiological therapy in combination with a narrow wave (311 nm) UV B therapy, regarding terms of remission, normalization of the body's immune status, regression of inflammatory reactions and hyperplastic processes in the skin, and also elimination of colonies of microorganisms The genus *Staphylococcus* under the stratum corneum epidermis.

**Key words:** psoriasis, changes in the immunological parameters of the body Tolllike receptors, systemic immunosuppressive therapy, immunohistochemical changes.

---

**Дані про авторів:**

**Степаненко Роман Леонідович**, д. мед. н., доц. кафедри дерматології та венерології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця

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

E-mail: stepanenkorl@ukr.net

**Коновалова Тетяна Сергіївна**, к. мед. н., доц. кафедри дерматології та венерології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця