

В.А. Бабанин

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

Макрофагальная активность — маркер эффективности лечения больных псориазом узкополосным ультрафиолетом В 311 нм

Цель работы — изучить влияние NB-UVB на уровень макрофагальной активности в коже больных бляшечным псориазом.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением находилось 96 больных псориазом. Пациенты были разделены на 2 группы. Группа сравнения — 27 пациентов, получавших только стандартное лечение, и основная группа — 69 пациентов, получавших NB-UVB-терапию. NB-UVB-процедуры назначались 3 раза в неделю с применением протокола, который предполагает использование определения минимальной эритемной дозы. На 21 сут в процессе лечения больные основной группы были разделены на 4 подгруппы в зависимости от индекса регресса (ИР) PASI и применения субэритемной и эритемной стратегии лечения. Уровень макрофагальной активности в биоптатах кожи исследовали с помощью иммуногистохимического метода на 1, 21 день и 12 нед.

Результаты и обсуждение. При иммуногистохимическом исследовании биоптатов кожи больных псориазом на 1 сут исследования общий пул CD68-положительных макрофагов составил в среднем $87,42 \pm 1,33$ в основной группе больных и $89,04 \pm 1,40$ в группе сравнения, в контрольной — $11,60 \pm 0,52$ соответственно ($p < 0,01$). При иммуногистохимическом исследовании гранулярной цитоплазматической экспрессии CD68 выделено 2 типа клеток макрофагальной генерации: с низкой и высокой функциональной активностью. На 21-е сутки обнаружено абсолютное снижение экспрессии CD68. В зависимости от ИР PASI выделены критерии макрофагальной активности: $38,27 \pm 0,86$ макрофагов при ИР PASI $> 50\%$ и $47,25 \pm 1,68$ макрофагов при ИР PASI $< 50\%$, достоверно отличающиеся между собой, от контрольной группы и группы сравнения ($p < 0,05$). В группе сравнения преобладали макрофаги с низкой функциональной активностью, в основной группе — с высокой функциональной активностью. Через 12 нед исследования количество макрофагов практически соответствовало данным группы контроля, особенно в подгруппах с применением эритемной стратегии.

Выводы. NB-UVB-терапия приводит к снижению уровня экспрессии CD68 — маркера макрофагов, большей частью которых являются функционально-активные клетки, что свидетельствует об адекватности иммунного ответа и снижении воспалительной реакции на 21-е сутки исследования. Через 12 нед наблюдается восстановление морфологической структуры кожи и макрофагального баланса, особенно в подгруппах с применением эритемной стратегии лечения.

Ключевые слова

Псориаз, макрофаги, иммуногистохимия, терапия узкополосным ультрафиолетом В 311 нм.

Проблема своевременной диагностики и эффективного лечения псориаза имеет важное медико-социальное значение в связи со значительной распространенностью, системным характером клинических проявлений и увеличением количества тяжелых форм заболевания в последнее десятилетие, являющихся причинами снижения качества жизни и утраты трудоспособности больных [1, 3, 9].

В многочисленных исследованиях показана ведущая роль в патогенезе псориаза генетически

детерминированного нарушения главной функции кожи — кератинизации, обусловленная изменением динамического равновесия структурных процессов в эпидермисе — пролиферации, дифференцировки и программируемой клеточной гибели кератиноцитов, сопряженного с воспалительной реакцией в дерме [1, 3, 8, 9, 12].

В последние годы большое внимание уделяется иммунологической концепции развития псориаза [3, 8, 9, 11, 13, 16, 18, 22, 23]. Выявлены нарушения иммунной регуляции кожи, которые

способствуют активации кератиноцитов, лимфоцитов, макрофагов и резидентных клеток дермы, что приводит к выработке ими медиаторов иммунного ответа и воспаления, усиливающих пролиферацию неполноценных кератиноцитов и стимулирующих развитие характерных для псориаза воспалительных изменений в коже [2, 4, 12, 15, 23]. Поэтому сегодня псориаз рассматривается как хроническое мультифакторное заболевание с преимущественным поражением кожи, имеющее аутоиммунный компонент и развивающееся вследствие неадекватной активации клеточного звена иммунитета, вызывающей воспалительный процесс с Th-1-цитокиновым профилем, содержащие гамма-интерферон в цитоплазме, который стимулирует миграцию макрофагов в очаг воспаления [4, 6, 7, 14, 15, 19–21].

В связи с этим представляется интересным исследование экспрессии молекулы CD68, описанной как маркер моноцитов/макрофагов, и представляющей собой гомолог мышинового макросиалина, члена семейства LAMP (лизосома-ассоциированных мембранных протеинов). Его экспрессия локализована преимущественно в мембране поздних эндосом [6, 14]. Считается, что наличие у данного маркера ферментной активности препятствует повреждению мембран лизосомальными ферментами вследствие их деградации [17]. Кроме того, показано, что эта молекула процессирует антиген путем постепенного ферментного расщепления фагоцитируемых клеткой объектов. После процессинга макрофаги презентуют антиген Т-лимфоцитам. Если при этом состоятся все необходимые и достаточные ко-рецепторные взаимодействия с антигенпрезентирующей клеткой, то Т-лимфоцит получит активационный сигнал, и с этого момента начнется собственно иммунный ответ — лимфоцитарный, наблюдающийся при псориазе [15, 14, 21].

Перспективным является исследование воздействия узкополосного ультрафиолета В (NB-UVB — narrow-band ultraviolet-B, 311 нм), который приводит к транзиторной иммуносупрессии и является достаточно эффективным методом лечения псориаза. По сведениям многочисленных авторов, терапевтическое действие этого метода направлено локально на воспалительный инфильтрат в дерме, в том числе и на популяцию антигенпрезентирующих клеток [1, 7, 19, 20].

По изучению действия и эффективности узкополосной фототерапии при псориазе имеются немногочисленные работы, которые носят противоречивый характер [7, 20]. Дискутабельны вопросы, связанные с поведением клеток иммунного воспаления в псориазическом очаге на фоне

лечения NB-UVB 311 нм [7, 19, 20]. Нет сообщений об исследовании гистологических и иммуногистохимических изменений в процессе фототерапии. Все это позволило аргументированно обосновать актуальность изучаемой проблемы.

Цель работы — изучить влияние NB-UVB на уровень макрофагальной активности в коже больных бляшечным псориазом.

Материалы и методы

Материал для исследования — биоптаты кожи, взятые у 96 пациентов с бляшечным псориазом, находившихся под наблюдением в учебно-научно-лечебном комплексе «Университетская клиника» ГУ «КГМУ имени С.И. Георгиевского», г. Симферополь. Каждый из них получал подробную информацию о проводимом исследовании и давал информированное согласие на участие. Диагностика и лечение больных псориазом соответствовали протоколу, утвержденному приказом МОЗ Украины от 08.05.2009 № 312.

Критериями включения в исследование были диагностированный бляшечный псориаз в стационарной стадии, легкое и среднетяжелое течение, индекс PASI более 10, фототипы кожи II, III, IV.

Все пациенты были разделены путем случайной выборки на две группы в зависимости от схемы лечения. В группу сравнения вошли 27 больных, которым назначили только стандартное лечение. В основной группе 69 больным проводили терапию NB-UVB 311 нм.

Стандартное лечение включало седативную, дезинтоксикационную, гипосенсибилизирующую, гепатопротекторную, вегетотропную и местную терапию.

Терапию NB-UVB 311 нм проводили с использованием прибора Series X311–8 (серийный номер: НО 5048-SNBX-0008, тип контролера: Flex) производства фирмы Daavlin, США.

В исследовании при лечении псориаза узкополосным UVB использован протокол, который предполагает определение минимальной эритемной дозы (МЭД) [13]. МЭД является минимальной дозой облучения NB-UVB, вызывающей резко отграниченную эритему после 24 ч от момента облучения и которая похожа на минимальный загар. Первая доза облучения составляла 70 % МЭД. Последующие дозы определяли в зависимости от ответа кожи на облучение. При едва отличимой эритеме использовали начальную дозу, при средней эритеме ее уменьшали на 20 %, в случае тяжелой эритемы лечение прекращали до исчезновения ожога, а потом назначали 50 % последней дозы, затем увеличивали на 10 %. При эритмогенной стратегии доза последующего облучения сохраняется, а при

субэритмогенной уменьшается на 5 %. Лечение проводили три раза в неделю (понедельник, среда, пятница).

На 21-е сутки терапии основная группа в зависимости от эффективности терапии NB-UVB была рандомизирована простым методом на четыре субгруппы с дальнейшим использованием эритмогенной или субэритмогенной стратегии: 1а — группа пациентов, у которых на 21-й день фототерапии индекс регрессии (ИР) PASI составил 50 % и более с дальнейшим использованием эритмогенной стратегии; 1б — группа пациентов, у которых на 21-й день исследования ИР PASI достиг 50 % и более с дальнейшим использованием субэритмогенной стратегии; 1в — группа пациентов, у которых на 21-й день лечения ИР PASI составил меньше 50 % с дальнейшим использованием эритмогенной стратегии; 1г — группа пациентов, у которых на 21-й день фототерапии ИР PASI составил меньше 50 % с дальнейшим использованием субэритмогенной стратегии.

В контрольную группу вошли 28 условно здоровых волонтеров, сопоставимых по возрасту с опытной группой, из которых у 10 исследовали биоптаты кожи.

В 1-й и 21-й день исследования всем пациентам произведена биопсия кожи с периферии псориазических элементов. Гистологическое исследование осуществляли по общепринятой методике с последующей окраской гематоксилином и эозином с целью выявления общей гистологической картины [10]. Иммуногистохимические реакции (ИГХР) проводили по стандартизированной методике [18] с использованием серийных парафиновых срезов толщиной 3–5 мкм, помещенных на адгезивные стекла, покрытые полизином (Menzel-Glaser, Германия) и реактивов компании DAKO с моноклональными антителами CD68 (Clone PG-M1, разведение 1 : 50) и системы визуализации EnVision™ FLEX+, Mouse, High pH (Link), Code K8012 на автостейнере фирмы DAKO.

Интенсивность экспрессии CD68 оценивали полуколичественным методом на основании выраженности окраски и количества гранул в цитоплазме по следующей схеме: слабая экспрессия и выраженная.

Морфометрическое исследование включало подсчет позитивных клеток в пяти полях зрения при увеличении 200. Полученные данные пересчитывали на 1 мм² среза. Просмотр и цифровые фотографии микропрепаратов осуществляли цифровой камерой OLYMPUS C 5050Z, установленной на микроскопе Olympus CX-41.

Все полученные результаты подвергнуты статистической обработке для параметрических и

непараметрических критериев с использованием программы MedStat (серийный номер MS0011) ДНПП ООО «Альфа» (Донецк). При проверке выборки на нормальность распределения использовали хи-квадрат и W-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 [5].

Результаты и обсуждение

При гистологическом исследовании биоптатов кожи больных бляшечным псориазом в прогрессирующей стадии до лечения наблюдались характерные морфологические признаки, проявляющиеся умеренно выраженным акантозом и паракератозом, микроабсцессами Мунро, занимающими большую часть мальпигиева слоя и проникающими в роговой. Зернистого слоя эпидермиса не было. Отмечалось увеличение количества фигур митозов, которые встречались не только в базальном слое, но и в супрабазальных слоях эпидермиса, что свидетельствует о повышенной пролиферативной активности. В сосочковой и сетчатой частях дермы наблюдались расширенные капилляры и выраженный воспалительный инфильтрат, преимущественно из лимфоцитов, гистиоцитов и нейтрофилов, локализующийся вокруг сосудов.

С целью детального изучения уровня и качества макрофагального компонента воспалительного инфильтрата в коже больных бляшечным псориазом проведено иммуногистохимическое исследование с моноклональными антителами CD68 (Clone PG-M1, разведение 1 : 50) и системы визуализации EnVision™ FLEX+, Mouse, High pH (Link), Code K8012 на автостейнере фирмы DAKO. Все показатели экспрессии CD68 отображены в таблице.

При иммуногистохимическом исследовании в биоптатах кожи больных псориазом в первые сутки исследования определялось значительное увеличение количества CD68-позитивных моноцитов/макрофагов. CD68-позитивные клетки характеризовались гранулярным окрашиванием цитоплазмы и локализовались как в пределах воспалительного инфильтрата, так и в многослойном плоском эпителии, в частности в области абсцесса Мунро (рис. 1).

Общий пул CD68-позитивных макрофагов составил в среднем $87,42 \pm 1,33$ в основной группе больных и $89,04 \pm 1,40$ в группе сравнения, что является достоверным по отношению к контро-

Таблиця. Уровень экспрессии CD68-позитивных макрофагов в воспалительном инфильтрате кожи больных псориазом в 1-е, 21-е сутки и на 12-ю неделю исследования в зависимости от их функциональной активности

	Основная группа (n = 69)				Группа сравнения (n = 27)	Контрольная группа (n = 10)
1-е сутки исследования						
Слабая экспрессия	54,97 ± 1,22*#				58,93 ± 1,27*#&	6,50 ± 0,34
Выраженная экспрессия	32,45 ± 0,85*				30,11 ± 0,97*	5,00 ± 0,42
Всего	87,42 ± 1,33*				89,04 ± 1,40*#&	11,60 ± 0,52
21-е сутки исследования						
	1a (n = 20)	1б (n = 21)	1в (n = 14)	1г (n = 14)	Группа сравнения	Контрольная группа
Слабая экспрессия	16,40 ± 0,84*#&∞	17,86 ± 0,72*#&∞	21,64 ± 1,44*#&∞	20,79 ± 1,18*#&∞	39,70 ± 1,55*#&	6,50 ± 0,34
	1a + 1б (n = 41) 17,15 ± 0,55*#&∞		1в + 1г (n = 28) 21,21 ± 0,92*#&∞			
Выраженная экспрессия	22,20 ± 0,83*#&∞	20,10 ± 0,94*#&∞	26,50 ± 1,61*#&∞	25,57 ± 1,46*#&∞	29,15 ± 0,88*	5,00 ± 0,42
	1a + 1б (n = 41) 21,12 ± 0,65*#&∞		1в + 1г (n = 28) 26,04 ± 1,07*#&∞			
Всего	38,60 ± 1,31*#&∞	37,95 ± 1,15*#&∞	48,14 ± 2,63*#&∞	46,36 ± 2,16*#&∞	68,85 ± 1,93*#&	11,60 ± 0,52
	1a + 1б (n = 41) 38,27 ± 0,86*#&∞		1в + 1г (n = 28) 47,25 ± 1,68*#&∞			
12-я неделя исследования						
Слабая экспрессия	6,95 ± 0,52*#&	7,57 ± 0,52*#&∞	7,07 ± 0,59*#&§	10,00 ± 0,81*#&§∞	21,15 ± 1,22*#&	6,50 ± 0,34
Выраженная экспрессия	6,30 ± 0,44*#&	5,71 ± 0,40*#&∞	6,50 ± 0,57*#&§	9,36 ± 0,82*#&§∞	17,19 ± 0,87*#&	5,00 ± 0,42
Всего	13,25 ± 0,76*#&	13,29 ± 0,79*#&∞	13,57 ± 1,10*#&§	19,36 ± 1,23*#&§∞	38,33 ± 1,62*#&	11,60 ± 0,52

Примечание. *Достоверность отличий показателей основной группы и группы сравнения от контроля, p < 0,01; #Достоверность отличий показателей группы сравнения от основной группы в 1-е, 21-е сутки и на 12-ю неделю, p < 0,05; &Достоверность отличий показателей основной группы и группы сравнения в 1-е, 21-е сутки и на 12-ю неделю, p < 0,01; §Достоверность отличий показателей подгрупп 1а от 1б и 1в от 1г в 21-е сутки и на 12-ю неделю, p < 0,01; ∞Достоверность отличий показателей группы 1а от 1в и 1б и 1г на 21-е сутки и на 12-ю неделю, p < 0,05.

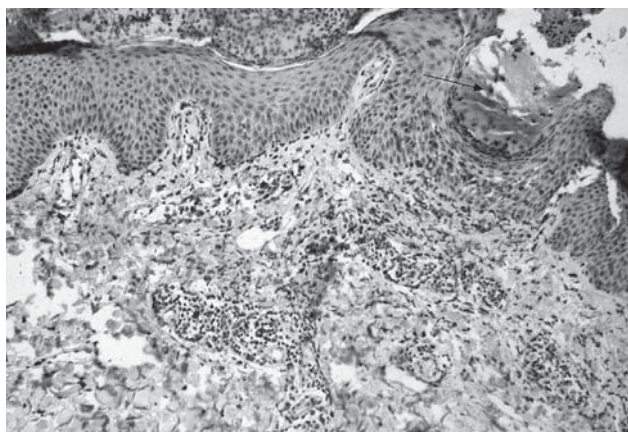


Рис. 1. Фрагмент кожи. Основная группа больных псориазом. 1-е сутки исследования

Экспрессия CD68-макрофагов, локализующихся в дерме и в эпидермисе. Абсцесс Мунро (стрелка). ИГХР. Система визуализации FLEX. Ув. 4

лю (11,60 ± 0,52). Межгрупповые отличия также достоверны (p < 0,01). Учитывая интенсивность гранулярной цитоплазматической экспрессии CD68, выделено два типа клеток макрофагальной генерации: 1-й — мелкие со слабой визуализацией коричневых гранул, рассеянно заполняющих цитоплазму клетки, 2-й — крупные с выраженной визуализацией коричневых гранул, диффузно расположенных в цитоплазме клетки. 1-й тип мы расценили как клетки низкой функциональной активности, а 2-й тип — как клетки высокой функциональной активности.

Среди антигенпрезентирующих клеток у всех пациентов в 1-е сутки исследования преобладали макрофаги низкой функциональной активности. В основной группе и группе сравнения таких макрофагов обнаруживали 54,97 ± 1,22 и 58,03 ± 1,27

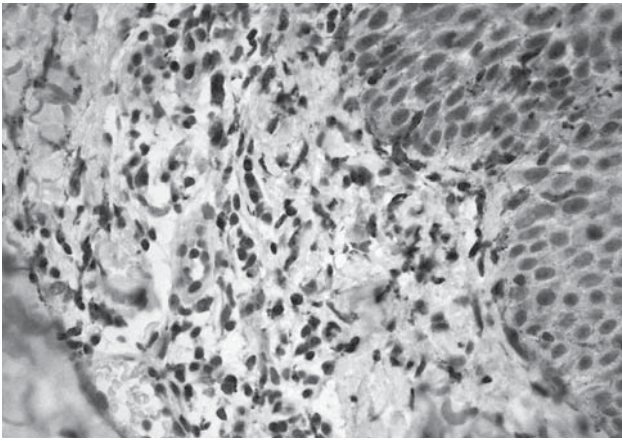


Рис. 2. Фрагмент кожи. 1 группа больных псориазом. 1-е сутки исследования

Экспрессия CD68-макрофагов, локализирующихся в дерме и в эпидермисе, за счет преобладания клеток низкой функциональной активности. ИГХР. Система визуализации FLEX. Ув. 40

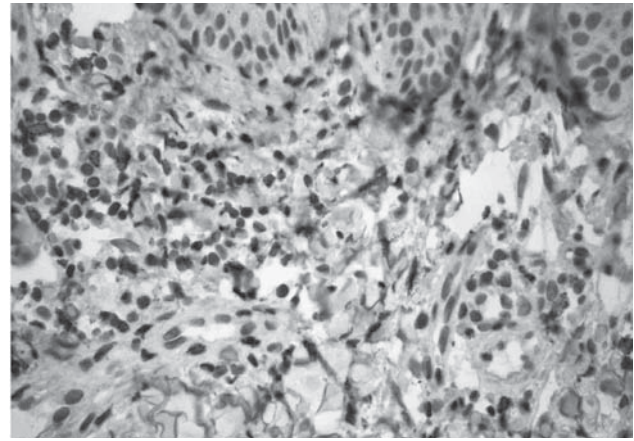


Рис. 3. Фрагмент кожи. Группа сравнения. 21-е сутки исследования

Экспрессия CD68-макрофагов, локализирующихся в дерме, за счет преобладания клеток низкой функциональной активности. ИГХР. Система визуализации FLEX. Ув. 40

соответственно, что превышало контрольные показатели почти в 9 раз ($6,50 \pm 0,34$). Функционально активные макрофаги в обеих группах превышали их количество в контрольной группе почти в 6 раз и составили $32,45 \pm 0,85$ и $30,11 \pm 0,97$ соответственно. Преобладание низкофункциональных макрофагов в обеих группах свидетельствует о недостаточности функции макрофагальной системы в очаге воспаления, неадекватности иммунного ответа и прогрессировании воспалительных реакций (рис. 2). Все показатели достоверно отличались от контрольных и в группах ($p < 0,01$).

На 21-е сутки исследования на фоне стандартной и комбинированной терапии NB-UVB 311 нм у пациентов исследуемых групп обнаруживались признаки лечебного патоморфоза. При гистологическом исследовании в биоптатах кожи на 21-й день лечения отмечалось уменьшение объема воспалительного инфильтрата. Характерным являлось отсутствие нейтрофильных лейкоцитов и абсцессов Мунро. Явления паракератоза и акантоза сохранялись в обеих группах. Пrolиферация эпителиоцитов была только в базальном слое эпидермиса.

При иммуногистохимическом исследовании выявлено абсолютное снижение экспрессии CD68 в обеих группах. Общий пул позитивных макрофагов в группе сравнения снизился в 1,3 раза и составил $68,85 \pm 1,93$. Но оставаясь в 6 раз выше, чем в контрольной группе, показатели достоверно отличались от контрольных и между собой. Позитивные клетки локализовались только в дерме. Несмотря на уменьшение общего количества CD68-позитивных клеток, в воспалительном инфильтрате сохранялось достоверное

преобладание макрофагов низкой функциональной активности — $39,70 \pm 1,55$ позитивных клеток со слабой экспрессией по сравнению с уровнем функционально активных макрофагов — $29,15 \pm 0,88$ ($p < 0,05$) (рис. 3).

В основной группе пациентов наблюдалась такая же тенденция к уменьшению количества макрофагов в воспалительном инфильтрате, но с преобладанием функционально активных форм.

Кроме того, анализ морфометрического исследования показал широкий разброс показателей, которые варьировали от 30 до 50 макрофагов среди клеток воспалительного инфильтрата. Учитывая индекс регрессии (ИР) PASI, всех пациентов основной группы мы разделили на две подгруппы: ИР PASI 50 % и более ($n = 41$) и менее 50 % ($n = 28$).

С целью последующего применения различной стратегии терапии NB-UVB 311нм у пациентов с высоким ИР PASI ($57,3 \pm 0,5$), то есть более 50 %, были выделены подгруппы 1a+ 1б ($n = 41$), в которых общий пул экспрессии CD68-макрофагов составил $38,27 \pm 0,86$, что достоверно по отношению к данным контрольной группы, группы сравнения и между подгруппами ($p < 0,05$).

Среди пациентов с низким ИР PASI ($42,5 \pm 0,8$), то есть менее 50 %, выделено также две подгруппы 1в + 1г ($n = 28$). При этом общий пул позитивных CD68-клеток составил $47,25 \pm 1,68$, что также достоверно по отношению к контролю, группе сравнения и между подгруппами ($p < 0,05$).

Обнаружено, что в подгруппах 1a и 1б количество высокофункциональных макрофагов составило $21,12 \pm 0,65$, а низкофункциональных макрофагов со слабой экспрессией — $17,15 \pm 0,55$. В подгруппах 1в и 1г высокофункциональных

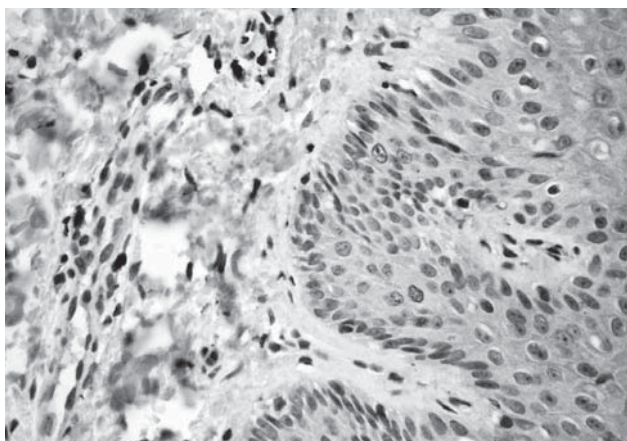


Рис. 4. Фрагмент кожи. Основная группа. 21-е сутки исследования

Экспрессия CD68-макрофагов, локализирующихся в дерме, за счет преобладания клеток высокой функциональной активности. ИГХР. Система визуализации FLEX. Ув. 40

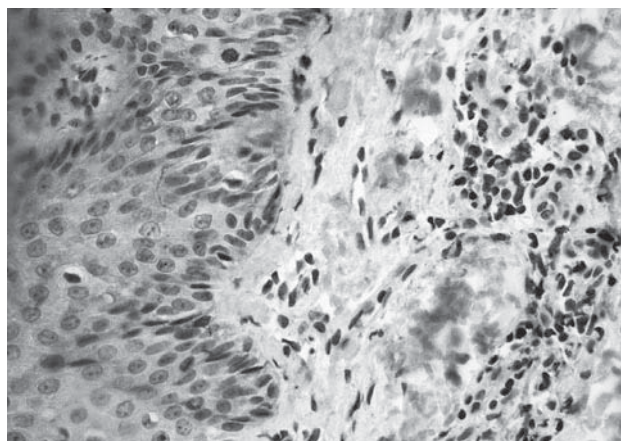


Рис. 5. Фрагмент кожи. Группа сравнения. 12-я неделя исследования

Экспрессия CD68-макрофагов, локализирующихся в дерме. ИГХР. Система визуализации FLEX. Ув. 40

макрофагов было $26,04 \pm 1,07$, низкофункциональных — $21,21 \pm 0,92$. Полученные результаты достоверны по отношению к данным контроля, группы сравнения и между подгруппами ($p < 0,05$) (рис. 4).

Таким образом, для последующего исследования эффективности применения терапии NB-UVB 311 нм с эритмогенной и субэритмогенной стратегией сформированы подгруппы, не только отличающиеся ИР PASI, но и имеющие определенные критерии уровня макрофагальной активности.

Через 12 нед терапии NB-UVB 311 нм у всех пациентов с бляшечной формой псориаза наступило клиническое выздоровление, проявляющееся не только исчезновением бляшек и восстановлением кожи, но и рассасыванием воспалительного инфильтрата на уровне гистологического исследования. Общий пул CD68 позитивных макрофагов в биоптатах кожи пациентов основной группы на этом этапе исследования уменьшился почти на 40 %. Наиболее разрешающий эффект наблюдался в подгруппах 1а, 1б и 1в, где количество макрофагов достоверно уменьшалось в 3 раза по сравнению с изначальными показателями при выделении подгрупп на 21-е сутки лечения ($p < 0,01$; $p < 0,05$). Причем результаты достоверно не отличались от группы контроля ($11,60 \pm 0,52$) ($p > 0,01$), варьировали от $13,25 \pm 0,76$ до $13,57 \pm 1,10$ позитивных клеток, локализованных в дерме. Следует отметить, что соотношение макрофагов низкой и высокой функциональной активности определялось почти 1 : 1, особенно в подгруппе 1а с применением эритмогенной стратегии, что наблюдается и в норме.

В подгруппах, где регистрировали высокий уровень PASI (1а и 1б), обнаруживали $13,25 \pm 0,76$ и $13,29 \pm 0,79$ позитивных макрофагов, что достоверно не отличалось от контрольных показателей и между подгруппами ($p > 0,05$) независимо от применяемой стратегии лечения. Однако эти показатели были достоверны только относительно группы сравнения и между подгруппами на 21-е сутки исследования ($p < 0,05$).

В подгруппах 1г и 1в, где регистрировали низкий уровень регрессии PASI, общий пул макрофагов составил $13,57 \pm 1,10$ и $19,36 \pm 1,23$ соответственно, причем показатели были достоверны по отношению к группе сравнения и между подгруппами в зависимости от применяемой стратегии лечения ($p < 0,05$).

Следует отметить, на 12-й неделе исследования во всех подгруппах независимо от лечения преобладали макрофаги низкой функциональной активности над макрофагами высокой активности. Причем уровень экспрессии CD68 низкофункциональных макрофагов в 1б ($7,57 \pm 0,52$) и 1г ($10,00 \pm 0,81$) подгруппах с применением субэритмогенной стратегии достоверно выше ($p < 0,05$), чем в подгруппах 1а ($6,95 \pm 0,52$) и 1в ($7,07 \pm 0,59$), где применяли эритмогенную стратегию.

В группе сравнения (стандартная терапия) количество макрофагов уменьшилось только на 24 %, незначительно преобладали низкофункциональные (рис. 5).

Обобщая результаты научной литературы и нашего исследования, можно утверждать, что в очаге хронического воспаления макрофагам отводится одна из ведущих ролей, анализ которой на сегодняшний день облегчается внедрением в

практику методов иммуногистохимии, позволяющих идентифицировать и визуализировать определенные генерации клеток макрофагальной системы в зависимости от их функциональной активности. Выделение двух типов макрофагов позволило установить критерии адекватности местного иммунного ответа при псориазе. Повышенное количество макрофагов с преобладанием низкофункциональных клеток у пациентов с бляшечной формой псориаза до лечения свидетельствует о неадекватном иммунном ответе и персистенции хронического воспаления, что может являться диагностическим маркером не только классического проявления псориаза, но и иметь значение при оценке эффективности лечения.

Немногочисленные научные работы последних лет [7, 19, 22] и наши исследования показали, что применение терапии NB-UVB 311 нм обладает иммуносупрессорным действием на локальный очаг иммунного воспаления при псориазе. Этот эффект подтверждается достоверным снижением уровня экспрессии CD68-позитивных макрофагов в отличие от групп сравнения и контроля через 3 и 12 недель лечения. При этом на 21-е сутки исследования преобладающим типом макрофагов являются функционально активные клетки, наличие которых обеспечивает адекватный иммунный ответ в очаге поражения и способствует восстановлению структурно-функциональных компонентов кожи. Однако показатели уровня макрофагальной активности, несмотря на достоверное уменьшение количества макрофагов в 2 раза, не достигали контрольных значений, что требовало дальнейшего воздействия NB-UVB 311 нм. С учетом индивидуальных особенностей каждого пациента, типа чувствительности кожи, ИП PASI проведен анализ уровня экспрессии CD68-позитивных макрофагов и выделены показатели, характерные для пациентов с высоким ИП PASI, выше 50 %, и низким ИП PASI, ниже 50 %. Высокий ИП PASI обнаружен у 41 пациента, а макрофагальная активность воспалительного инфильтрата в среднем составила $(38,27 \pm 0,86)$ клетки в исследуемых полях зрения биоптатов. Низкий ИП PASI выявлен у 28 пациентов со средним показателем макрофагальной активности $47,25 \pm 1,68$. Для увеличения эффективности узкоспектрального ультрафиолетового излучения на кожу основная группа была разделена на подгруппы. В подгруппах 1а (ИП PASI > 50 %) и 1в (ИП PASI < 50 %) применяли эритмогенную стратегию, в 1б (ИП PASI > 50 %) и 1г (ИП PASI < 50 %) — субэритмогенную стратегию. На 12-й неделе лечения в подгруппах 1а, 1б, 1в независимо от применяемой стратегии общий пул CD68-позитивных макрофагов достоверно снизился в 3 раза по сравнению с предыдущим сроком исследования, соотношение низко- и высокофункциональных клеток выровнялось и составило 1 : 1, что характерно для контрольных значений, наиболее четко прослеживаемое в подгруппе 1а, это свидетельствует об эффективности применения эритмогенной стратегии лечения NB-UVB 311 нм.

Таким образом, влияние NB-UVB 311 нм в сочетании со стандартной терапией псориаза является наиболее эффективным методом лечения, направленным на восстановление не только морфологической структуры кожи, но и способствующим развитию местного адекватного иммунного ответа. Анализ динамики снижения макрофагальной активности в зоне псориагической бляшки, как компонента клеточной локальной защиты, показал, что через 3 нед лечения узкоспектральным ультрафиолетовым облучением 311 нм развилась адекватная иммунная реакция с преобладанием функционально активных макрофагов в воспалительном инфильтрате, а через 12 недель соотношение низко- и высокоактивных макрофагов составило 1 : 1, что соответствовало контрольным показателям, особенно в группе пациентов с высоким ИП PASI и эритмогенной стратегией терапии. Такая же тенденция наблюдалась в группе пациентов с низким ИП PASI и эритмогенной стратегией лечения. Следовательно, применение эритмогенной стратегии повышает эффект терапии, восстанавливая при этом иммунный гомеостаз в очаге разрешения псориагического воспаления.

Выводы

Комбинированное использование терапии стандартной и NB-UVB достоверно снижает уровень экспрессии CD68-позитивных макрофагов в воспалительном инфильтрате кожи при псориазе по сравнению с группой больных, которым было назначено только стандартное лечение. Повышенное количество макрофагов с преобладанием низкофункциональных клеток свидетельствует о неадекватном иммунном ответе и персистенции хронического воспаления, что может являться диагностическим критерием классического проявления бляшечной формы псориаза. Преобладание функционально активных макрофагов в коже больных псориазом через 3 недели является диагностическим критерием терапевтической эффективности комбинированного использования терапии стандартной и NB-UVB. Выделены критерии макрофагальной активности в зависимости от ИП PASI: $38,27 \pm 0,86$ макрофагов при ИП PASI > 50 % и $47,25 \pm 1,68$ макрофагов при ИП PASI < 50 %, достоверно

отличающиеся между собой, от контрольной группы и группы сравнения ($p < 0,05$).

Применение эритмогенной стратегии терапии NB-UVB 311 нм повышает эффективность разрешения псориатической бляшки с восстановлением морфологической структуры кожи и макрофагального баланса не только в группе пациентов с высоким ИР PASI, но и в группе пациентов с низким ИР PASI. Уровень экспрессии CD68 в коже больных с низким ИР PASI и применением эритмогенной стратегии был достоверно ниже ($p < 0,05$), чем в подгруппе с применением

субэритмогенной стратегии — $13,57 \pm 1,10$ и $19,36 \pm 1,23$ позитивных клеток соответственно.

Перспективы дальнейших исследований.

С учетом полученных данных о количестве, качестве и локализации макрофагов в биоптатах кожи больных бляшечным псориазом необходимо изучить клиническую эффективность терапии NB-UVB, их взаимосвязь с Т-клеточным компонентом воспалительного инфильтрата и содержанием провоспалительных медиаторов.

Список литературы

1. Беляев Г.М. Современный взгляд на проблему лечения больных псориазом // Дерматология и венерология.— 2009.— № 3 (45).— С. 7–17.
2. Городилов Р.В. Морфологическая характеристика клеточного обновления эпидермиса и иммунофенотипа клеток воспалительного инфильтрата в различные стадии вульгарного псориаза (биопсийное исследование): Дис. ...канд. мед. наук.— Омск, 2003.— 119 с.
3. Катунина О.Р. Иммуноморфологическая характеристика клеток воспалительного инфильтрата при псориазе // Вестн. дерматол. и венерол.— 2005.— № 2.— С. 25–28.
4. Кунгуров Н.В., Филимонова Н.Н., Тузанкина И.А. Псориазическая болезнь.— Екатеринбург, 2002.— 193 с.
5. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях.— К.: Морион, 2000.— 319 с.
6. Новиков А.И., Охлопков В.А., Городилов Р.В. и др. Состояние популяции мононуклеарных фагоцитов (CD68) в псориатической папуле под влиянием Тимодепрессина // Клин. дерматол. и венерол.— 2006.— № 3.— С. 30–32.
7. Олисова О.Ю., Талыбова А.М., Владимирова Е.В., Владимиров В.В. Влияние узкополосной (311 нм) фототерапии на показатели клеточного и гуморального иммунитета у больных псориазом // Клин. дерматол. и венерол.— 2011.— № 1.— С. 80–82.
8. Пинсон И.Я. Иммунопатологические механизмы псориаза и их коррекция при фототерапии УФБ-лучами (308 нм) эксимерным лазером: Дис. ...д-ра мед. наук.— М., 2006.— 183 с.
9. Самсонов В.А., Знаменская А.Ф. Псориаз: этиопатогенез, клиника, лечение. Электронный ресурс // Медицина для всех.— 2001.— № 2.— Режим доступа: <http://medi.ru/doc/8310202.htm>.
10. Сапожников А.Г., Дорошевич А.Е. Гистологическая и микроскопическая техника: Руководство // Смоленск: САУ, 2000.— 476 с.
11. Хайрутдинов В.Р., Самцов А.В. и соавт. Современные представления об иммунных механизмах развития псориаза // Вестн. дерматол. и венерол.— 2007.— № 1.— С. 3–7.
12. Albanesi C. Keratinocytes in inflammatory skin diseases // Curr. Drug. Targets Inflamm. Allergy.— 2005.— Vol. 4, N 3.— P. 329–334.
13. Alice N. D., John Y.M. Koo Initiating Narrow-band UVB for the Treatment of Psoriasis // J. for national psoriasis foundation.— 2004.— Vol. 10, N 1.— P. 1–6.
14. Baker B.S. Recent advances in psoriasis: The role of the immune system // Medicine at St. Mares. London, 2000.— 172 p.
15. Boehncke W.H., Wortmann S., Kaufmann R. et al. A subset of macrophages located along the basement membrane («lining cell») is a characteristic histopathological feature of psoriasis // Am. J. Dermatopathol.— 1995.— Vol. 17.— P. 139–144.
16. Bos J.D., Hulsebosch H.J., Krieg S.R. et al. Immunocompetent cells in psoriasis. In situ immunophenotyping by monoclonal antibodies // Arch. Dermatol. Res.— 1983.— Vol. 275.— P. 181–189.
17. Charlesworth E.N. Immunomodulation in dermatology lessons learned in the treatment of psoriasis // Allergy Asthma Proc.— 2006.— Vol. 27, N 2.— P. 123–125.
18. Dabbs D.J. Diagnostic immunohistochemistry.— London: Churchill Livingstone, 2006.— 828 p.
19. Gudjonsson J.E., Johnston A., Sigmundsdottir H., Valdimarsson H. Review immunopathogenic mechanisms in psoriasis // Clin. Exp. Immunol.— 2004.— Vol. 135, N 1.— P. 1–8.
20. 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.
21. Rotsztein H. Influence of systemic photochemotherapy on regulatory T cells and selected cytokine production in psoriatic patients: a pilot study // Med. Sci. Monit.— 2005.— Vol. 1, N 12.— С. 594–598.
22. Shimizu T., Nishihira J., Misue Y. et al. Histochemical analysis of macrophage migration inhibitory factor in psoriasis vulgaris // Histochem. Cell. Biol.— 2002.— Vol. 118.— P. 251–257.
23. Shinji Kagami, 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.

В.А. Бабанін

ДУ «Кримський державний медичний університет імені С.І. Георгієвського», Сімферополь

Макрофагальна активність — маркер ефективності лікування хворих на псориаз вузькосмуговим ультрафіолетом В 311 нм

Мета роботи — вивчити вплив NB-UVB на рівень макрофагальної активності у шкірі хворих на бляшковий псориаз.

Матеріали та методи. Під спостереженням перебували 96 хворих на псориаз. Пацієнтів було розподілено на дві групи. Група порівняння — 27 осіб, які отримували лише стандартне лікування, основна група — 69 осіб, яким при-

значали терапію вузькосмуговим ультрафіолетом В 311 нм. Процедури хворі приймали 3 рази на тиждень із застосуванням протоколу, який передбачає визначення мінімальної еритемної дози. На 21-шу добу в процесі лікування пацієнтів основної групи було розподілено на чотири підгрупи залежно від індексу регресії (IP) PASI та застосування суберитмогенної та еритмогенної стратегії лікування. Рівень макрофагальної активності в біоптатах шкіри досліджували за допомогою імуногістохімічного методу на 1-й, 21-й дні та 12-й тиждень.

Результати та обговорення. За результатами імуногістохімічного дослідження біоптатів шкіри хворих на псоріаз на 1-шу добу дослідження загальний пул CD68-позитивних макрофагів становив у середньому $87,42 \pm 1,33$ в основній групі хворих, $89,04 \pm 1,40$ — у групі порівняння, в контрольній — $11,60 \pm 0,52$ відповідно ($p < 0,01$). Імуногістохімічні дослідження гранулярної цитоплазматичної експресії CD68 виявили два типи клітин макрофагальної генерації: низької і високої функціональної активності. На 21-шу добу простежувалося абсолютне зниження експресії CD68. Залежно від IP PASI виділено критерії макрофагальної активності: $38,27 \pm 0,86$ макрофагів при IP PASI $> 50\%$ і $47,25 \pm 1,68$ макрофагів при IP PASI $< 50\%$, що вірогідно відрізняються від показників контрольної групи та групи порівняння ($p < 0,05$). У групі порівняння переважали макрофаги низької функціональної активності, в основній групі — високої. Через 12 тиж дослідження кількість макрофагів практично відповідала даним групи контролю, особливо в підгрупах, в яких застосовано еритмогенну стратегію лікування.

Висновки. Терапія вузькосмуговим ультрафіолетом В 311 нм сприяє зниженню рівня експресії CD68 — маркера макрофагів, більшою частиною якої є функціонально активні клітини, що свідчить про адекватність імунної відповіді та зниження запальної реакції на 21-шу добу дослідження. Через 12 тиж спостерігається відновлення морфологічної структури шкіри та макрофагального балансу, особливо в підгрупах, в яких застосовано еритмогенну стратегію лікування.

Ключові слова: псоріаз, макрофаги, імуногістохімія, терапія вузькополосним ультрафіолетом В 311 нм.

V.A. Babanin

SE «Crimea State Medical University named after S.I. Georgievsky», Simferopol

Macrophage activity as a marker of effective treatment of psoriasis with narrow-band ultraviolet B 311 nm

The purpose of the research was to study the influence of NB-UVB on the level of macrophage activity in the skin of patients with plaque psoriasis.

Materials and methods. The study included 96 patients with psoriasis. Patients were divided into 2 groups. The comparison group consisted of 27 patients treated only with standard therapy and the main group — of 69 patients treated with narrow-band ultraviolet B 311 nm. The procedures were administered three times a week using a protocol that involved the determining of minimal erythema dose. On 21 day the main group was divided into 4 subgroups according to the regression of PASI index and application of suberythmogenic and erythmogenic treatment strategies. Level of macrophage activity in skin biopsy specimens were examined by immunohistochemistry at 1, 21 day and 12 week.

Results and discussions. Immunohistochemical study of skin biopsy specimens of patients with psoriasis on 1 day of study showed that common pool of CD68-positive macrophages averaged 87.42 ± 1.33 in the main group, 89.04 ± 1.40 in the comparison group and 11.60 ± 0.52 ($p < 0.01$) in the controls. During the investigation of granular cytoplasmic expression of CD68 cells, two types of macrophage generation were identified — those of low and high functional activity. Absolute reduction of expression of CD68 cells was detected on 21 day. The criteria of macrophage activity were identified depending on the index of PASI regression: 38.27 ± 0.86 macrophages in regression index of PASI $> 50\%$ and 47.25 ± 1.68 macrophages in regression index of PASI $< 50\%$, which significantly differed from the control group and the comparison group ($p < 0.05$). Macrophages of low functional activity dominated in the comparison group and those of high functional activity — in the main group. After 12 weeks of study the number of macrophages, especially in the subgroups using erythmogenic strategy of treatment, almost coincided with that in the control group.

Conclusions. Narrow-band ultraviolet B therapy (311 nm) leads to the decrease of expression of CD68 cells — a marker of macrophages, most of which are functionally active cells, which indicates the adequacy of immune response and the reduction of inflammation on 21 day of study. In 12 weeks the restoration of the morphological structure of the skin and the macrophage balance, especially in subgroups using erythmogenic treatment strategy, was detected.

Key words: psoriasis, macrophages, immunohistochemistry, narrow-band ultraviolet B therapy 311 nm.

Дані про автора:

Бабанін Володимир Анатолійович, ДУ «Кримський державний медичний університет імені С.І. Георгієвського», асист. кафедри шкірних та венеричних хвороб 95006, м. Сімферополь, бульв. Леніна, 5/7