

Е. С. Ярмолик, М. В. Горецкая, Д. Ф. Хворик

РОЛЬ АНГИОГЕНЕЗА И ВОСПАЛЕНИЯ В ПАТОГЕНЕЗЕ РОЗАЦЕА

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Цель исследования – изучить уровень ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α , VEGF у пациентов с различной степенью тяжести папуло-пустулезной формы розацеа. Обследовано 128 женщин, которые были разделены на три группы в зависимости от степени тяжести: I группа – с легкой ($n = 42$), II – со средней ($n = 49$), III – с тяжелой ($n = 37$). У обследуемых пациентов с папуло-пустулезной формой розацеа выявлены изменения изучаемых параметров, характер которых зависит от тяжести данной патологии. Оценка отклонений цитокинового профиля и VEGF может быть информативной для определения степени тяжести и понимания генеза дерматоза, а также при назначении терапии.

Ключевые слова: *розацеа, папуло-пустулезная форма, этиопатогенез, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), цитокины.*

□ Оригинальные научные публикации

E. S. Yarmolik, M. V. Haretskaya, D. F. Khvoryk

ROLE OF ANGIOGENESIS AND INFLAMMATION IN THE PATHOGENESIS OF ROSACEA

The purpose of our research was to examine the levels of IL-1 β , IL-6, TNF- α and VEGF in patients with different severity of papulo-pustular rosacea. We examined 128 women, which were divided into three groups depending on the severity of disease: group I – with mild rosacea (n = 42), group II – moderate rosacea (n = 49), group III – severe rosacea (n = 37). In patients with papulo-pustular rosacea revealed changes in a number of examined parameters, the nature of which depends on the severity of the disease. Evaluation of cytokine profile and VEGF level may be informative to determine the severity of this pathology understanding genesis of dermatosis, and when the prescribed therapy.

Key words: rosacea, papulo-pustular subtype, etiopathogenesis, Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), cytokines.

Кожа – это первая линия защиты на пути проникновения в организм чужеродных объектов, антигенов [5]. Будучи ассоциированной с иммунной системой, кожа обладает необходимым составом клеток для реализации иммунных реакций. Кератиноциты и клетки Лангерганса, являясь клеточными элементами эпидермиса, а также макрофаги, тучные и дендритные клетки (клеточные элементы дермы), выделяя антимикробные белки, хемоаттрактантные белки и цитокины, составляют систему раннего предупреждения об опасности, или врожденного иммунитета [9]. В ответ на травмы, УФ-облучение и другие всевозможные стимулы кератиноциты продуцируют β -дефензины (антимикробные пептиды), цитокины и нейропептиды. В активированном состоянии в ответ на стимулирующие факторы кератиноциты экспрессируют интерлейкины ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α , хемокины. При активации клеток Лангерганса, путем воздействия различных повреждающих факторов, происходит продукция цитокинов (ИЛ-1, ФНО- α), необходимых для привлечения Т-клеток в кожу. Кроме Т-клеток в дерме обнаруживаются макрофаги, тучные клетки, В-лимфоциты, фибробласты, продуцирующие цитокины ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α . Эндотелиальные клетки кровеносных и лимфатических сосудов способны экспрессировать ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α [5].

Розацеа является распространенным заболеванием и среди всех дерматологических диагнозов занимает 7 место по частоте [1]. По современным представлениям важная роль в патогенезе розацеа отводится активаторам ангиогенеза и воспаления, к которым относятся фактор роста сосудов эндотелия (Vascular Endothelial Growth Factor – VEGF) и ряд провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α). VEGF синтезируют фибробласты, эпителиальные клетки, тучные клетки, эндотелиоциты и др. В условиях патологии VEGF, помимо стимуляции неоангиогенеза, способствует нарушению локального иммунного ответа с высвобождением провоспалительных цитокинов и последующим развитием воспаления. Гиперпродукция VEGF, по мнению Frank et al. (1995) влечет за собой продукцию энзимов (матриксных металлопротеаз), что вызывает деградацию волокон дермы, поддерживающих кровеносные сосуды, и тем самым провоцирует атонию стенок сосудов и повышает их хрупкость, что приводит к вазодилатации, появлению или усилению эритемы, телеангиэктазий [10]. Также данный фактор активрует процессы ангиогенеза, которые инициируют, усугубляют воспалительный процесс, а также способствуют его хронизации, рецидивированию и торпидному течению. Продолжающееся иммунное воспаление повреждает соединительную ткань, что приводит к пассивному расширению сосудов и застою в них крови. Эти процессы изменяют сосудистую стен-

ку, сквозь нее в периваскулярное пространство просачиваются медиаторы воспаления. Кроме того, сосудистая стенка сама состоит из соединительной ткани и повреждается в результате воспаления. Цитокиновая регуляция на системном уровне и роль ее нарушений в патогенезе розацеа остаётся недостаточно изученной до настоящего времени.

В конце прошлого века большинство авторов главенствующую роль в патогенезе розацеа отводили клещу *D. folliculorum*, в то время как в современной дерматологической литературе участие демодекса в возникновении данного патологического состояния является одним из наиболее дискуссионных вопросов.

Цель исследования – изучить уровень VEGF и провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α у пациентов с различной степенью тяжести папуло-пустулезной формы розацеа.

Материал и методы. В ходе проводимого исследования были обследованы 128 женщин с папуло-пустулезной формой розацеа, обратившихся за медицинской помощью в УЗ «Гродненский областной кожно-венерологический диспансер» и на кафедре дерматовенерологии УО «Гродненский государственный медицинский университет».

Критериями включения в исследование явились: информированное согласие пациента на медицинское вмешательство и соблюдение указаний врача относительно назначенной терапии; женский пол; возраст старше 18 лет; папуло-пустулезная форма розацеа (L71); стадия обострения; отсутствие сопутствующих заболеваний в фазе обострения, требующих постоянной медикаментозной терапии; отрицательный тест на беременность.

Диагноз папуло-пустулезной формы розацеа устанавливается по данным анамнеза и клиническим признакам болезни. При оценке степени тяжести учитывали клинические признаки согласно классификации, предложенной P. E. Pochi, A. R. Shalita et al. (1991).

Согласно степени тяжести все обследуемые пациенты были разделены на три группы: I группа – с легкой (n = 42), II – со средней (n = 49), III – с тяжелой (n = 37) степенью тяжести. Контрольную группу составила 41 практически здоровая женщина.

Определение уровня цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α) осуществляли путем твердофазного иммуноферментного анализа: в плазме крови с помощью стандартных наборов ЗАО «Вектор Бест»; в сыворотке крови – VEGF с помощью стандартного набора Human VEGF ELISA, DRG®.

Статистические методы обработки результатов исследования проводили с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 6.0, расчеты производились в Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

Возраст пациентов варьировал от 18 до 68 лет и в среднем составил $40,1 \pm 0,99$ год. Длительность заболевания была от 1 месяца до 10 лет и в среднем составила $44,5 \pm 2,5$ месяцев. У всех обследуемых клиническая картина характеризовалась наличием папул и пустул на фоне стойкой эритемы, а также телеангиэктазий. Распространенность эритемы была различной: у 123 (96,1%) – она занимала область щек, у 115 (89,8%) – подбородок, у 99 (77,3%) – лоб, у 37 (28,9%) – нос, у 16 (12,5%) – распространялась периорально, у 3 (2,3%) – на веки, у 1 (0,8%) – на шею. На фоне эритемы визуально и дерматоскопически верифицировалась сеть древовидно разветвленных сосудов. Множественные папулезные и пустулезные элементы у 83 (67,5%) пациентов располагались на коже щек, у 39 (30,5%) – на коже подбородка, у 24 (18,6%) – лба, у 23 (18,0%) – носа, у 3 (2,3%) – периорально. Размер папул и пустул варьировал от 1 до 4 мм.

Первым этапом настоящего исследования было изучение уровня VEGF у пациентов с различной степенью тяжести папуло-пустулезной формы розацеа. Оценка полученных данных показала, что в сыворотке крови пациентов первой ($93,72 \pm 4,98$ пг/мл, $p < 0,05$), второй ($107,93 \pm 5,03$ пг/мл, $p < 0,001$) и третьей ($122,15 \pm 4,5$ пг/мл, $p < 0,001$) групп концентрация VEGF была достоверно выше по сравнению с контрольной ($77,81 \pm 4,42$ пг/мл). Выявлена отрицательная корреляционная зависимость между уровнем VEGF в первой группе и уровнем VEGF во второй группе ($r = -0,33$). С утяжелением клинической картины заболевания концентрация VEGF в сыворотке крови увеличивалась, что подтверждалось наличием достоверных различий между первой и второй ($p < 0,05$), второй и третьей ($p < 0,05$), первой и третьей ($p < 0,001$) группами.

Следующим этапом настоящего исследования было изучение уровня провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α), регуляторов естественного иммунитета, у пациентов с различной степенью тяжести папуло-пустулезной формы розацеа (таблица).

Таблица. Содержание провоспалительных цитокинов у женщин с папуло-пустулезной формой розацеа

Цитокины, пг/мл	Содержание цитокинов (M \pm m)			
	контроль (n = 41)	1 группа (n = 42)	2 группа (n = 49)	3 группа (n = 37)
ИЛ-1 β	$3,28 \pm 0,13$	$3,68 \pm 0,09^*$	$3,98 \pm 0,10^{*}\#$	$4,32 \pm 0,12^{*}\#@$
ИЛ-6	$1,25 \pm 0,06$	$1,34 \pm 0,09$	$1,48 \pm 0,09$	$1,80 \pm 0,13^{*}\#@$
ФНО- α	$1,55 \pm 0,04$	$1,71 \pm 0,05^*$	$1,84 \pm 0,08^*$	$2,21 \pm 0,10^{*}\#@$

Примечания: * – достоверность различий между показателями контрольной и первой групп, контрольной и второй групп; контрольной и третьей групп; # – достоверность различий между показателями первой и второй групп, первой и третьей групп; @ – достоверность различий между показателями второй и третьей групп.

Активация иммунных клеток – один из важнейших механизмов защиты кожи от антигенов. Антигенная стимуляция приводит к секреции цитокинов ИЛ-1, ФНО- α и ИЛ-6 [7]. Изучение иммунологических аспектов кожи важно для понимания механизма развития розацеа.

ИЛ-1 экспрессируется в коже человека для регуляции синтеза и деградации коллагеновых волокон и гиалуроновой кислоты в дерме и др. [8]. ИЛ-1, обладая плейотропным характером биологической активности, регулирует все стороны воспалительной реакции [6]. ИЛ-1 β – играет ключевую роль в развитии и регуляции неспецифической защиты и специфического иммунитета, один из первых включает

ся в ответную защитную реакцию организма при действии патогенных факторов. ИЛ-1 β активирует нейтрофилы, Т- и В-лимфоциты, стимулирует синтез белков острой фазы, цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-6, ФНО- α). ИЛ-1 β повышает хемотаксис, фагоцитоз, гемопоэз, проницаемость сосудистой стенки, цитотоксическую и бактерицидную активность. ИЛ-1 участвует в регуляции температуры тела, а его повышенная продукция приводит к развитию лихорадки [3]. В норме ИЛ-1 экспрессируется в эпидермисе в небольшом количестве. Активность его экспрессии возрастает при нарушении целостности кожного барьера.

Концентрация ИЛ-1 β у пациентов с легкой степенью тяжести папуло-пустулезной формы розацеа была достоверно выше аналогичного показателя контрольной группы ($p < 0,05$). При анализе средних значений изучаемого интерлейкина у пациентов второй ($3,98 \pm 0,10$ пг/мл, $p < 0,001$) и третьей ($4,32 \pm 0,12$ пг/мл, $p < 0,001$) групп также установлено его достоверное повышение по сравнению с контрольной ($3,28 \pm 0,13$ пг/мл соответственно). У пациентов второй группы уровень ИЛ-1 β был достоверно ниже, чем у первой и достоверно выше, чем у второй ($p < 0,05$). Кроме того, данный показатель имел достоверные различия между первой и третьей группой (таблица 1). Таким образом, выраженность активности воспалительного процесса у пациентов с папуло-пустулезной формой розацеа возрастала с утяжелением клинической картины заболевания.

ФНО – медиатор апоптоза, воспаления и иммунного ответа. Основными продуцентами ФНО являются моноциты и макрофаги. ФНО стимулирует выделение каскада эндогенных медиаторов воспаления ИЛ-1, ИЛ-6 из различных клеток [7]. ФНО- α по спектру клеток-мишеней и биологических эффектов близок к ИЛ-1. Низкие концентрации ФНО- α регулируют развитие местной воспалительной реакции, в то время как высокие концентрации вызывают развитие системной воспалительной реакции, сопровождающейся лихорадкой, лейкоцитозом, повышением уровня белков острой фазы. ИЛ-1 и ФНО- α являются короткоживущими, локальное повышение их уровня наблюдается лишь в момент воздействия стимулирующего агента. При этом пик секреции ИЛ-1 и ФНО- α наблюдается в течение 6–48 ч после воздействия индуцирующего фактора. Вместе с тем известно, что цитокины не депонируются в клетках, а синтезируются импульсно «по запросу» через транскрипцию мРНК соответствующего гена. Однако имеются исключения, в частности, описано депонирование небольших количеств ИЛ-1 в кератиноцитах и ФНО- α в гранулах тучных клеток [4]. Анализ результатов исследования позволил выявить достоверное повышение концентрации ФНО- α в плазме крови пациентов первой ($1,71 \pm 0,05$ пг/мл, $p < 0,05$), второй ($1,84 \pm 0,08$ пг/мл, $p < 0,01$) и третьей ($2,21 \pm 0,10$ пг/мл, $p < 0,001$) групп по сравнению с контрольной ($1,55 \pm 0,04$ пг/мл). Вероятно, повышение воспалительной активности, индуцированной розацеа, привело к увеличению концентрации ФНО- α . У пациентов с тяжелой степенью тяжести данный цитокин был выше в 1,2 раза по сравнению со второй ($p < 0,01$) и в 1,3 раза – по сравнению с первой ($p < 0,001$) группой. Выявлена положительная корреляция между уровнем ФНО- α во второй группе и уровнем ФНО- α в третьей группе ($r = 0,43$). Отмечается закономерность увеличения уровня ФНО- α со степенью тяжести заболевания.

ФНО- α наряду с ИЛ-1 инициирует каскад провоспалительных цитокинов, особенно ИЛ-6. Влияние, которое ИЛ-6 оказывает на прогрессирование воспалительного процесса, достаточно сложное, потому что он обладает как про- так и противовоспалительным действием, а так же эффектом отрицательной обратной связи по отношению к ИЛ-1 и ФНО- α

□ Оригинальные научные публикации

[2]. ИЛ-6 индуцирует синтез белков острой фазы, ингибирует секрецию альбумина и является одним из эндогенных пирогенов. Избыточная продукция ИЛ-6 способствует повреждению тканей. В плазме крови пациентов с тяжелой степенью тяжести обнаружено достоверное повышение концентрации ИЛ-6 по сравнению с контрольной группой ($1,80 \pm 0,13$ пг/мл и $1,25 \pm 0,06$ пг/мл, соответственно; $p < 0,001$). При оценке аналогичного показателя у пациентов первой и второй групп достоверных различий выявлено не было ($p > 0,05$), однако отмечалась тенденция к его повышению. У пациентов третьей группы ИЛ-6 был выше в 1,2 раза по сравнению со второй ($p < 0,05$) и в 1,3 раза – по сравнению с первой группой ($p < 0,01$). Кроме того, нами выявлена положительная корреляция между уровнем ИЛ-6 в третьей группе и уровнем ФНО- α во второй группе ($r = 0,37$). Известны две фазы высвобождения провоспалительных медиаторов в ответ на тканевое повреждение. Медиаторы первой волны ИЛ-1 и ФНО- α запускают каскад реакций, в результате чего наступает вторая фаза цитокиновой стимуляции. ИЛ-6 высвобождается во второй фазе и становится первичным эффектором в продукции острофазовых белков. Поскольку ФНО- α синтезируется в первой фазе цитокинового выброса, изменение его концентрации в крови происходит быстрее, чем более инертного ИЛ-6 [2].

Таким образом, с утяжелением патологического процесса уровень изучаемых провоспалительных цитокинов повышался от первой группы пациентов к третьей.

У всех 128 пациентов определяли инфицированность *D. folliculorum*. Частота его выявления составила 60,2%, причем у 22 (52,4%) – с легкой степенью тяжести, у 30 (61,2%) – со средней, у 25 (67,6%) – с тяжелой. При анализе демодекозной инвазии в зависимости от длительности заболевания обнаружилось, что при «стаже» патологического процесса менее года преобладали пациенты без *D. folliculorum*, более длительное течение дерматоза чаще осложнялось демодекозом (в 40,6% и 14,1% случаев у пациентов с длительностью 1–5 лет и более 5 лет, соответственно). Оценка инфицированности *D. folliculorum* не выявила взаимосвязи с возрастом пациентов.

Уровень фактора роста эндотелия сосудов у пациентов с наличием *D. folliculorum* ($n = 77$) был достоверно выше аналогичного показателя контрольной группы ($109,81 \pm 4,16$ пг/мл и $77,81 \pm 4,42$ пг/мл, соответственно $p < 0,001$). Однако и у пациентов без верификации клеща ($n = 51$) данный цитокин был выше, чем в контрольной группе (соответственно, $103,72 \pm 4,10$ пг/мл и $77,81 \pm 4,42$ пг/мл; $p < 0,001$). При сравнении концентрации VEGF у пациентов группы «демодекс+» и «демодекс-» не было установлено достоверных различий ($p > 0,05$).

Анализ уровня провоспалительных цитокинов у 77 пациентов, инфицированных *D. folliculorum* показал достоверное увеличение ИЛ-1 β (соответственно, $4,06 \pm 0,07$ пг/мл и $3,28 \pm 0,13$ пг/мл; $p < 0,001$), ИЛ-6 (соответственно, $1,58 \pm 0,09$ пг/мл и $1,25 \pm 0,06$ пг/мл; $p < 0,05$) и ФНО- α (соответственно, $1,91 \pm 0,07$ пг/мл и $1,55 \pm 0,04$ пг/мл; $p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. Оценка аналогичных показателей у пациентов с отсутствием *D. folliculorum* ($n = 51$) выявила повышение ИЛ-1 β (соответственно, $3,86 \pm 0,11$ пг/мл и $3,28 \pm 0,13$ пг/мл; $p < 0,01$) ИЛ-6 (соответственно, $1,45 \pm 0,07$ пг/мл и $1,25 \pm 0,06$ пг/мл; $p < 0,05$) и ФНО- α (соответственно, $1,90 \pm 0,08$ пг/мл и $1,55 \pm 0,04$ пг/мл; $p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. При сравнении средних концентраций изучаемых цитокинов между группами пациентов с наличием и отсутствием клеща достоверных различий выявлено не было ($p > 0,05$).

Выводы

1. С утяжелением клинической картины папуло-пустулезной формы розацеа возрастает активность воспалительного процесса, что подтверждается закономерным увеличением уровня ИЛ-1 β , ФНО- α , VEGF от первой группы пациентов к третьей. Следовательно, данные показатели могут быть использованы в качестве диагностических критериев оценки степени тяжести папуло-пустулезной формы розацеа, а также эффективности лечения.

2. Частота выявления *D. folliculorum* в первой группе составила 52,4%, во второй – 61,2%, в третьей – 67,6%. При сравнении средних концентраций провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α) и VEGF между группами пациентов с наличием ($n = 71$) и отсутствием клеща ($n = 51$) достоверных различий установлено не было.

Таким образом, развитие иммунных реакций в коже с массовой активацией клеток, привлечением лимфоцитов, продукцией цитокинов происходит при ряде патологических процессов. Изучение уровня цитокинов у пациентов с розацеа, необходимо для оценки механизмов компенсации иммунологического дисбаланса, так как течение розацеа способствует повышению повреждающей провоспалительной цитокиновой активности. Нарушение баланса в системе цитокинов, а именно повышения уровня провоспалительных цитокинов, может рассматриваться как патогенетическое звено развития тяжести дерматоза. Выявленные изменения в иммунном статусе при различных формах розацеа, в зависимости от фонового состояния кожи, могут применяться в клинике для мониторинга характера течения заболевания, оценки эффективности терапии и прогноза.

Литература

1. Адаскевич, В. П. Акне вульгарные и розовые / В. П. Адаскевич. – М.: Медицинская книга, 2005. – 160 с.
2. Активность воспалительного ответа у пациентов с сочетанием острого коронарного синдрома и острого ишемического повреждения мозга / Митьковская Н. П. [и др.] // Медицинский журнал. – 2008. – № 3. – С. 34–37.
3. Интерлейкин 1 как медиатор воспаления и терапевтическая мишень / А. Е. Ильина [и др.] // Научно-практическая ревматология. – 2011. – № 3. – С. 62–71.
4. Катунина, О. Р. Провоспалительные цитокины ИЛ-1 и ФНО- α в очагах пораженной кожи больных псориазом / О. Р. Катунина, А. В. Резайкина // Вестник дерматологии и венерологии. – 2011. – № 4. – С. 25–30.
5. Катунина, О. Р. Современные представления об участии кожи в иммунных процессах / О. Р. Катунина, А. В. Резайкина // Вестник дерматологии и венерологии. – 2009. – № 2. – С. 39–46.
6. Кожа как орган иммунной системы / Т. Э. Боровик [и др.] // Педиатрия – 2010. – Т. 89. – № 2. – С. 132–136.
7. Роль интерлейкина-8, дефензинов, фактора некроза опухоли и его рецепторов в процессе реализации воспалительной реакции / Л. В. Кирковский [и др.] // Медицинский журнал. – 2008. – № 3. – С. 8–12.
8. Schoch, P. Интерлейкин-1-альфа эпидермальный цитокин, регулятор процессов формирования и функционирования кожи (обзор) / P. Schoch, И. Помыткин // Эстетическая медицина. – 2010. – № 2. – С. 115–122.
9. Murphy, J. E. Interleikin-1 and cutaneous inflammation: a crucial link between innate and acquired immunity / J. E. Murphy, C. Robert, T. S. Kupper // J. Invest. Dermatol. – 2000. – № 114, – P. 602–608.
10. Regulation of VEGF expression in cultured keratinocytes: Implications for normal and impaired wound healing / S. Frank [et al.] // J. Biol. Chem. – 1995. – № 270. – P. 12607–12613.

Поступила 17.08.2015 г.