



УДК 616.594.15-092:612.017.1-078.33

ЦИТОКИНОПОСРЕДОВАННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ГНЕЗДНОЙ АЛОПЕЦИИ

На основании анализа существующих сведений о клеточных и молекулярных механизмах гнездной алопеции рассматривается роль цитокинов, белка теплового шока 70 в патогенезе заболевания. Полученные результаты характеризуются дисбалансом системного цитокинового гомеостаза, который проявляется разнонаправленными изменениями показателей – повышением ИЛ-1 β , ИЛ-17 и снижением ИЛ-10 на фоне тенденции к понижению ИЛ-4 относительно данных контрольной группы. Наиболее значимые нарушения изучаемых показателей отмечены у пациентов, которые имели признаки активности и тяжелую степень течения дерматоза. Выявлено повышение содержания сывороточного белка теплового шока 70 при прогрессировании заболевания. Обсуждается роль системы Th-17 как ключевого звена провоспалительного ответа в дополнение к Th-1 субпопуляции у пациентов с гнездной алопецией.

Ключевые слова: гнездная алопеция, патогенез, иммунологические нарушения, цитокиновый баланс, интерлейкины, белок теплового шока.

И.М. СЕРБИНА

*Харьковская медицинская академия
последипломного образования*

e-mail: serbinaim@gmail.com

Иммуновоспалительные процессы составляют основу патогенеза широкого спектра заболеваний. Полученные к настоящему времени данные о механизмах развития ГА свидетельствуют о том, что в основе патогенеза этого заболевания лежат клеточно-опосредованные местные иммунные реакции, обусловленные генетическими факторами и экзогенными триггерами. Предполагается, что они связаны с Т-лимфоцитами (CD8+ и CD4+) и изменениями цитокинового профиля, что приводит к формированию неспецифического аутоиммунного воспаления [4, 11, 15].

По современным представлениям, характер иммунного ответа зависит от преимущественной активации определенных субпопуляций Т-лимфоцитов, которые обладают способностью синтезировать цитокины различных типов. Ведущую роль в патогенезе ряда аутоиммунных заболеваний, как известно, играет иммунный ответ, развивающийся по Th1-типу [3, 6]. В последние годы открыт новый тип Т-хелперов – Th-17, продуцирующих интерлейкин-17 (ИЛ-17). Дифференцировка Th-17 происходит независимым от Th-1, Th-2 путем. ИЛ-17 проявляет выраженную провоспалительную активность *in vitro* и *in vivo*, способен индуцировать синтез различных медиаторов воспаления, включая фактор некроза опухоли α (ФНО- α), интерлейкин 1 β (ИЛ-1 β), интерлейкин 6 (ИЛ-6). Установлено, что Th-17 играют фундаментальную роль в иммунопатогенезе широкого спектра аутоиммунных заболеваний: ревматоидный артрит, системная красная волчанка, рассеянный склероз, псориаз, реакции отторжения трансплантата [7, 10].

Анализ данных, полученный в последнее время, показал, что внеклеточный белок теплового шока 70 (БТШ-70) обладает множественными функциями, важнейшая из которых иммуномодуляторная. Внеклеточный БТШ-70 принимает участие в презентации антигенов с участием белков основного комплекса гистосовместимости (МНС), стимулирует активность натуральных киллерных клеток (НК), синтез и секрецию провоспалительных цитокинов [2, 5]. В ходе изучения научной литературы были найдены лишь единичные зарубежные работы последних лет по изучению ИЛ-17, внеклеточного БТШ-70 при ГА [14, 15, 16].

Дискуссионность механизмов развития, отсутствие однозначных данных об иммунопатологических процессах являются основанием для дальнейшего изучения роли цитокинов, БТШ-70 в патогенезе ГА. Поэтому **целью нашей работы** стало определение уровня про- и противовоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-17, ИЛ-4, ИЛ-10 и БТШ-70 у больных ГА в зависимости от степени тяжести и активности патологического процесса.

Материалы и методы исследования. Обследовано 36 больных с различными формами ГА в возрасте от 18 до 52 лет, из них 16 мужчин и 20 женщины. Были диагностированы следующие формы ГА: тотальная и универсальная форма – у 8, субтотальная – у 10, лентовидная – у 6 и очаговая – у 12 больных. Контрольную группу составили 15 здоровых лиц соответствующего пола и возраста.

У всех пациентов был собран детальный анамнез заболевания (дебют, характер течения болезни, количество и продолжительность эпизодов и ремиссий, возможная связь с сопутствующими



ющей патологией, проведенное лечение). Дебют ГА варьировал в широких возрастных пределах – от 4 до 47 лет. Средний возраст начала патологического процесса составил 14,2, продолжительность заболевания – от 2-4 недель до 14 лет.

У 21 (58%) больных ГА провоцирующих факторов выявить не удалось, у 6 (17%) пациентов началу заболевания предшествовало психо-эмоциональное напряжение, у 5 (14%) – нарушение функции щитовидной железы. 4 (11%) пациентов связывали начало ГА с обострениями имеющихся у них хронических заболеваний. Среди наблюдаемых больных у 4 (11%) ГА имела семейный характер.

Исследование проводили после подписания пациентом информированного согласия в соответствии с положением, регулирующим медицинские исследования, согласно полученного заключения комиссии по вопросам медицинской этики ХМАПО (протокол № 4 от 16.04.2013).

Диагноз устанавливали на основании клинической картины и данных инструментально-диагностического обследования. Методы клинко-лабораторной диагностики соответствовали единому плану, который предусматривал общий осмотр больного, общепринятые лабораторные анализы (общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови), по показаниям – исследование щитовидной железы, консультация смежных специалистов, биопсия кожи скальпа. Дерматоскопическое исследование проводили при помощи компьютерно-диагностической программы и видеодерматоскопического оборудования Aramo SG (Корея), которое позволяет получать изображение при увеличении 60 и 200. Исследование включало определение основных дерматоскопических признаков ГА («желтые точки», «черные точки», дистрофичные волосы в форме «восклицательного знака», веллюс (миниатюризированные волосы)) [13].

Степень потери волос у больных оценивалась с применением критериев измерения показателей тяжести ГА на скальпе (S₀ – S₅), предложенных Olsen et Canfield [12]. Согласно данной шкалы: S₀ – отсутствие потери волос; S₁ – потеря <25% волос; S₂ – потеря от 25 до 49% волос; S₃ – потеря от 50 до 74% волос; S₄ – потеря 75–99% волос с уточнением: S_{4a} – потеря от 75 до 95% волос и S_{4b} – потеря 96–99% волос; S₅ – потеря 100% волос на голове. Легкой степени тяжести соответствует локальное выпадение волос – S₁; средняя степень тяжести – клинические формы в виде субтотальной алопеции, включая офиазис – S₂ – S_{4a}; тяжелая степень тяжести – субтотальная форма (потеря волос 96-99%) – S_{4b}, тотальная (100% отсутствие волос на волосистой части головы) и универсальная алопеция (100% отсутствие волос на голове, лице и туловище) – S₅.

При иммунологическом обследовании определяли уровень продукции цитокинов (ИЛ-1β (пг/мл), ИЛ-4 (пг/мл), ИЛ-10 (пг/мл), ИЛ-17 (пг/мл)), БТШ-70 (нг/мл) в сыворотке крови 18 больных ГА и 10 здоровых лиц группы контроля методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов фирм «Вектор-Бест» (Россия) и «BCM Diagnostics» (США).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программ «Statistica 6.0». Результаты были выражены как M±m (среднее значение и ошибка средней величины). Различия считали достоверными при p<0,05.

Результаты и их обсуждение. При наружном осмотре у больных с ГА определяли локализацию очагов и их количество. По клиническим формам с учетом критериев измерения показателей тяжести, больные ГА распределялись следующим образом: легкая степень тяжести (S₁) – 12 человек; средняя степень тяжести (S₂ – S_{4a}) – 14 человек (S₂ – 6, S₃ – 4, S_{4a} – 4); тяжелая степень тяжести (S_{4b} – S₅) – 10 человек (S_{4b} – 2, S₅ – 8).

С активной стадией патологического процесса наблюдалось 18 человек, из них легкая степень тяжести отмечена у 6, средняя и тяжелая степени тяжести – у 8 и 6 больных соответственно. Хроническую стадию заболевания диагностировали у 18 пациентов, среди которых легкая степень течения ГА встречалась у 6, средняя степень тяжести – у 6 и тяжелая – у 4 больных.

Пациенты с активной стадией заболевания жаловались на усиленное выпадение волос, сопровождающееся формированием очагов облысения, субъективно ощущались симптомы в виде умеренного зуда, жжения, чувства «ползания мурашек» в коже скальпа, где позже формировались очаги алопеции. При клиническом осмотре отмечались такие симптомы, как: наличие очагов облысения с четкими границами, слегка гиперемированных, в самих очагах и по краю – волосы, обломанные на высоте 1-2 мм; при ручной эпиляции волос на границе очагов выявлялась зона расшатанных волос шириной около 0,3-1 см, в которой легко эпилировались телогеновые либо дистрофичные волосы, многократно расщепленные и обламывающиеся у основания их выхода из устья волосяного фолликула на поверхность кожи. Хроническая стадия ГА характеризовалась отсутствием роста волос, субъективных жалоб, связанных с нарушением или изменением чувствительности кожи в очагах облысения. Клиническая картина заболевания

имела более скудные симптомы: кожа в очагах облысения была обычной окраски и слегка гипотрофична, устья фолликулов не визуализировались, отсутствовала зона расшатанных волос.

Изменение ногтевых пластинок по типу продольной исчерченности и точечных вдавлений наблюдались у 5 пациентов.

При дерматоскопическом исследовании число «желтых точек» было наибольшим при активной стадии ГА ($24,3 \pm 7,2$), достоверно снижалось в 1,4 раза при хронической стадии ($16,5 \pm 7,3$). Аналогичная закономерность регистрировалась для дистрофичных волос ($4,9 \pm 0,8$; $1,4 \pm 0,2$) и «черных точек» ($3,5 \pm 0,7$; $1,7 \pm 0,3$). Веллусные волосы, наоборот, отсутствовали у больных с прогрессирующим течением дерматоза, появлялись в хроническую стадию ($1,8 \pm 0,2$).

Как показали исследования уровень провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-17 в сыворотке крови больных ГА ($5,16 \pm 0,87$ и $6,58 \pm 1,12$ $p < 0,01$) был повышен по сравнению с данными показателями в контрольной группе ($1,87 \pm 0,55$ пг/мл и $2,72 \pm 0,85$ пг/мл соответственно). В то же время уровень противовоспалительного ИЛ-4 имел тенденцию к понижению ($1,26 \pm 0,26$, $p > 0,05$), а значение ИЛ-10 был ниже ($1,94 \pm 0,67$ $p < 0,05$), чем эти показатели в группе контроля ($1,71 \pm 0,34$ и $3,97 \pm 1,02$ соответственно). Выявлена тенденция к повышению содержания БТШ-70 ($0,278 \pm 0,026$ нг/мл, $p > 0,05$) относительно уровня показателя у здоровых лиц ($0,198 \pm 0,061$ нг/мл).

Анализ содержания цитокинов и БТШ-70 при различных клинических проявлениях дерматоза выявил их зависимость от степени активности патологического процесса и степени тяжести заболевания.

У пациентов, которые имели признаки активности дерматоза, более значительно повышалась концентрация ИЛ-1 β ($7,84 \pm 1,28$, $p < 0,01$), ИЛ-17 ($8,28 \pm 1,65$, $p < 0,01$) по сравнению с их значением в контрольной группе. Принадлежность ИЛ-1 β к Th-1 типу иммунного ответа знаменует развитие и усиление клеточного звена иммунитета и подавление гуморальных реакций. Известно, что повышенная продукция ИЛ-1 β свидетельствует об активации и обострении заболевания [6, 9]. Увеличение ИЛ-17 демонстрирует его участие в иммунном ответе у пациентов с ГА. В то же время уровень противовоспалительных ИЛ-4 и ИЛ-10 были значительно ниже ($0,46 \pm 0,11$, $p < 0,01$ и $1,12 \pm 0,28$ $p < 0,01$ соответственно), чем их значения в группе контроля.

В хроническую стадию у больных ГА сывороточные концентрации цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-17 имели тенденцию к понижению ($3,85 \pm 0,78$, $p < 0,01$; $4,75 \pm 0,89$, $p < 0,05$ соответственно) по сравнению с прогрессирующей стадией, но были выше уровня этих показателей в контрольной группе. В то же время уровень противовоспалительного цитокина ИЛ-4 статистически достоверно повышался ($4,98 \pm 0,62$, $p < 0,01$), а ИЛ-10 был ниже значения показателей здоровых лиц, но увеличивался относительно его уровня при активности процесса ($2,04 \pm 0,75$, $p < 0,05$).

У пациентов, которые имели признаки прогрессирования дерматоза, значительно повышалась концентрация БТШ-70 ($1,258 \pm 0,078$, $p < 0,01$), по сравнению с показателями больных при неактивных проявлениях ГА, когда его уровень не отличался от референтных значений ($0,225 \pm 0,068$ нг/мл, $p > 0,05$).

Уровень провоспалительных цитокинов был прямо пропорционален тяжести процесса. Так, содержание ИЛ-1 β в сыворотке крови больных с тяжелой и средней степенью тяжести были достоверно выше ($5,04 \pm 2,12$ и $5,49 \pm 0,32$, $p < 0,05$ соответственно), чем у больных с легкой степенью тяжести ($3,14 \pm 0,57$, $p < 0,05$). Обращает внимание факт увеличения уровня ИЛ-17 также при средней и тяжелой степени тяжести ГА ($4,68 \pm 0,55$, и $7,12 \pm 1,67$, $p < 0,05$) по сравнению с таковым при легком течении дерматоза ($2,97 \pm 0,48$, $p > 0,05$), когда его концентрация не отличалась от референтных значений.

При легкой степени тяжести ГА содержание ИЛ-4 и ИЛ-10 в сыворотке крови имело тенденцию к повышению по сравнению с его значением у здоровых лиц. У больных средней степени тяжести отмечено снижение уровня ИЛ-4 ($1,16 \pm 0,35$, $p < 0,05$), ИЛ-10 ($2,10 \pm 0,52$, $p < 0,05$) относительно показателей в контрольной группе. У больных с тяжелым течением ГА наблюдалось максимальное снижение уровня ИЛ-10 ($1,44 \pm 0,42$, $p < 0,01$) по сравнению с данным показателем у здоровых лиц, содержание ИЛ-4 достоверно не отличалось от такового у больных средней степени тяжести ($1,65 \pm 0,42$, $p > 0,05$).

Анализ результатов сывороточного уровня БТШ-70 у больных ГА показал отсутствие зависимости между его концентрацией и степенью тяжести дерматоза.

Выявленные изменения характеризуются дисбалансом системного цитокинового гомеостаза, изменением содержания сывороточного БТШ-70, что создает условия для развития иммунновоспалительных реакций и свидетельствует о непосредственном вовлечении их в механизмы формирования ГА. Проведенные исследования позволили показать как общие закономерности, так и особенности функционирования цитокинов и БТШ 70 при дерматозе. Необходимо отметить наиболее значимые нарушения изучаемых показателей у пациентов, которые имели признаки активности и тяжелую степень течения ГА.



Цитокины в настоящее время могут рассматриваться как медиаторное звено в формировании патофизиологической стадии аутоиммунных реакций при ГА, нарушая механизмы поддержания состояния иммунотолерантности структур волосяного фолликула [8, 9, 12]. В патогенезе заболевания ведущее место отводится активации CD4+T – лимфоцитов по Th-1 типу с последующим синтезом провоспалительных цитокинов – ИЛ-1, ИФН-γ, ФНО-α и др. В нормальных условиях их сверхпродукции препятствуют цитокины, продуцируемые Th2 типа, главным образом ИЛ-10, который угнетает экспрессию антигенов HLA класса II, ингибирует фиброз и атрофию в различных тканях и органах, уменьшает антигенпрезентирующую и цитокинпродуцирующую активность макрофагов, индуцирует апоптоз натуральных киллеров и Т-лимфоцитов. В своем ингибирующем действии на клеточный иммунитет ИЛ-10 синергичен с ИЛ-4 [3, 4, 6]. Нами установлено, что уровень провоспалительных цитокинов ИЛ-10 и ИЛ-4 у больных ГА снижен, что может свидетельствовать об угнетении функции Th-2 типа и формировании условий для развития иммуновоспалительных реакций.

В тоже время в последние годы была поставлена под сомнение ведущая патогенетическая роль Th1 клеток в выбранной модели аутоиммунных заболеваний и созданы предпосылки для поиска альтернативных механизмов аутоагрессивных иммунных реакций [7]. Кроме того, системная терапия антагонистами ФНО-α, которая используется для лечения других аутоиммунных заболеваний, может вызвать или усугубить течение ГА, предполагая, что важными патогенетическими факторами могут также являться и другие механизмы. Вероятным кандидатом на роль ключевого звена провоспалительного ответа, в дополнение к Th-1 субпопуляции CD4+ лимфоцитов, может выступать система Th-17, активность которой выявлена в нашем исследовании [14, 15]. Вероятнее всего ИЛ-17 индуцирует экспрессию различных провоспалительных цитокинов, усиливая каскад цитокиновых реакций и утяжеляя патологический процесс. Определена прямая зависимость продукции ИЛ-17 и процессов апоптоза при аутоиммунных состояниях, что дает основание рассматривать его в качестве возможного индуктора апоптоза клеток волосяного фолликула, вызывая преждевременное вступление волоса в фазу телогена [1, 11].

В процессе иммунного ответа цитокины индуцируют экспрессию БТШ, которым отводится важная роль в распознавании антигенов и внутриклеточной адгезии. В норме БТШ-70 содержится преимущественно внутри клетки, благодаря чему к ним не развивается иммунологическая толерантность. Именно это свойство является причиной участия БТШ-70 в патогенезе аутоиммунных заболеваний. Любое, в том числе аутоиммунное повреждение тканей приводит к выбросу БТШ-70 во внеклеточное пространство, что стимулирует макрофаги и дендритные клетки, в результате чего усиливается синтез адгезивных молекул, провоспалительных цитокинов [2, 5]. Эти факты подтверждаются и нашими результатами – увеличение сывороточного уровня БТШ-70 у больных ГА на фоне повышения ИЛ-1β и ИЛ-17, наиболее ярко выраженное при проявлениях активности процесса. Повышенный БТШ-70 может способствовать активной передаче стресс-ассоциированных сигналов НК-клеткам, экспрессия лиганд рецепторов которых NKG2D выявлена в фолликулярном эпителии волосяного фолликула при ГА, регулируя иммунный надзор клеток. В результате чего происходит стимуляция молекул МНС класса 1, представление фолликулярных аутоантигенов CD8+ клеткам и потере иммунологической толерантности [11, 15].

Выводы. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о важной роли иммунопатологических процессов, развивающихся при ГА. Изменения, обнаруженные в процессе иммунологического исследования, при различных формах и стадиях заболевания свидетельствуют об углубляющемся процессе иммунной дисфункции при активности и по мере развития тяжести дерматоза. Перспективным является изучение роли ИЛ-17, БТШ-70 при ГА, их взаимосвязи с другими цитокинами и факторами роста, в первую очередь потому, что они являются посредниками в патогенезе ряда аутоиммунных и воспалительных нарушений. Отсутствие единого мнения о причинах появления и закономерностях течения ГА делает актуальной проблему изучения звеньев патогенеза этого дерматоза, поскольку полученные данные позволяют разработать патогенетические подходы терапии с учетом стадии и степени тяжести патологического процесса.

Литература

1. Гаджигороева А.Г., Коган Е.А., Потехаев Н.Н., Терещенко Г.П. Соотношение процессов апоптоза, пролиферации, неоангиогенеза и клеточной дифференцировки при иммунном воспалении в очагах гнездовой алопеции // Клиническая дерматология и венерология. – 2010. – № 2. – С. 23-31.
2. Евдонин А.Л., Медведева Н.Д. Внеклеточный белок теплового шока 70 и его функции // Цитология/ – 2009. – Т.51, №2. – С. 130-137.
3. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. – СПб.: ООО Изд-во «Фолиант», 2008. – 552 с.
4. Диденко И.В. Иммуноопосредованные аспекты патогенеза гнездовой алопеции и методы их реабилитации: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Ростов-на-Дону, 2006. – 18 с.



5. Ивашкин ВТ., Драпкина О.М. Клиническое значение оксида азота и белков теплового шока. 2-е издание. – М., 2011. – 376 с.
6. Костина С.В., Хорева М.В., Варивода А.С., Короткий Н.Г. и др. Клиническое значение цитокинов при различных формах очаговой алопеции у детей // Современные проблемы дерматовенерологии. – 2009. – №2 (5). – С. 5 – 9.
7. Кологривова И.В., Кологривова Е.Н., Сулова Т.Е. Молекулярные аспекты функционирования Т-хелперов 17-го типа // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – №11. – С. 93-99.
8. Олисова О.Ю., Верхогляд И.В., Гостроверхова И.П. Современные представления об этиологии, патогенезе и лечении очаговой алопеции // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2010. – №1. – С. 48 – 52.
9. Фомченко Ю. А. Распределение факторов роста и цитокинов в волосяных фолликулах и их микроокружении в норме и при гнездовой алопеции // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2007. – Том 6, N 2 . – С. 19-24.
10. Bettelli E., Korn T., Vijay K. Th17: the third member of effector T cell Trilogy // Immunol. – 2007. – Vol. 19. – P. 652–657.
11. Grandolfo M, Biscazzi AM, Pipoli M. Alopecia areata and autoimmunity // G. Ital. Dermatol. Venereol. – 2008. – Vol. 143 (5). – P. 277-281.
12. Olsen E., Hordinsky M. K., Price V. et al. Alopecia areata investigational assessment guidelines. Part II // J. Am. Acad. Dermatol. – 2004. – Vol. 51. – P. 440-447.
13. Tosti A. Dermoscopy of hair and scalp disorders: pathological and clinical correlations. – Informa Healthcare, 2007. – 168 p.
14. Tembhe MK, Sharma VK. T-helper and regulatory T-cell cytokines in the peripheral blood of patients with active alopecia areata // Br J Dermatol. – 2013. – Vol. 169. – P. 543-548.
15. Wang E., McElwee J. Etiopathogenesis of alopecia areata: Why do our patients get it? // Dermatologic Therapy. – 2011. -Vol. 24. – P. 337–347.
16. Wikramanayake TC., Villasante AC., Mauro LM. et al. Prevention and treatment of alopecia areata with quercetin in the C3H/HeJ mouse model // Cell Stress and Chaperones. – 2012. – Vol. 17. – P. 267-274.

CYTOKINE-MEDIATED MECHANISMS OF DEVELOPMENT OF ALOPECIA AREATA

Based on the analysis of the existing data on cellular and molecular mechanisms of alopecia areata the role of cytokines, heat shock protein 70 in pathogenesis of the disease is considered. The results obtained are characterized by imbalanced systemic cytokine homeostasis, which appears in multidirectional changes of indexes – increase of IL-1 β , IL-17 and decrease of IL-10 against the background of relative to the control group decrease of IL-4. Most significant disturbances of studied indexes were registered for patients who had signs of activity and severe stage of dermatosis treatment. The increase of content of serum heat shock protein 70 in the progress of disease was found. The role of system of Th-17 as a key element of proinflammatory response in addition to Th-1 subpopulation for patients with alopecia areata is discussed.

I.M. SERBINA

*Kharkov Medical Academy
of Postgraduate Education*

e-mail: serbinaim@gmail.com

Key words: alopecia areata, pathogenesis, immune disorders, cytokine balance, interleukins, heat shock protein.