

Чалая Е.Л.², Сорокина Е.В.¹, Ахматова Н.К.¹, Масюкова С.А.², Флакс Г.А.²,
Кахивили Н.Н.²

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ НАРУШЕНИЙ В СИСТЕМЕ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА ПРИ МИКРОБНОЙ ЭКЗЕМЕ

¹ ФГБНУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, 105064, г. Москва, Россия; ² кафедра кожных и венерических болезней с курсом косметологии Медицинский институт усовершенствования врачей ФГБОУ ВПО Московский государственный университет пищевых производств, 125080, г. Москва, Россия

Микробная экзема наблюдается у 12–27% больных экземой и является наиболее распространенной клинической формой после истинной экземы. Отмечающийся в последние десятилетия рост частоты тяжелых, хронических форм микробной экземы, склонных к рецидивированию, обусловлен нарушением иммунологической реактивности вследствие длительного персистирования микробных аллергенов. Поэтому на современном этапе изучение патогенеза микробной экземы акцентируется на определении роли иммунной системы, изучении функционирования клеточных и молекулярных механизмов врожденного иммунитета.

Цель исследования: выявление особенностей экспрессии TLRs, синтеза антимикробных пептидов и цитокинового профиля у больных микробной экземой.

Материалы и методы. Изучение экспрессии TLRs на мононуклеарных лейкоцитах периферической крови и на клетках кожи проводили методом проточной цитометрии с применением МАТ к TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR8, TLR9 (“Caltag Laboratories”, США) с помощью проточного цитометра FC-500 (“Beckman Coulter”, США). Определение уровней экспрессии генов TLRs и цитокинов в биоптатах определяли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Определение концентрации α -дефенсинов HNP1-3 и лактоферрина в сыворотке крови определяли с помощью твердофазной ИФА тест-системы (HNP1-3, LF, Elisa Kit, “Nucult Biotech”, Нидерланды; SerazymR Human IgA, IgM, Германия). Определение содержания цитокинов в сыворотках/плазме крови больных проводили методом твердофазного ИФА с использованием тест-систем фирмы “Biosource” (Австрия).

Результаты. Под наблюдением находились 126 пациентов с микробной экземой: 48 больных с типичным вариантом дерматоза, 54 – нумулярной экземой, 11 – варикозной экземой, 5 – паратравматической, 4 – сикозиформной, 4 больных – экземой сосков.

Группа больных микробной экземой в целом характеризовалась повышенными уровнями экспрессии TLR4 на МЛПК ($11,51 \pm 3,57\%$), что указывает на наличие инфекционных агентов и распознавание ЛПС грамотрицательных бактерий.

Однако при высокой тяжести течения микробной экземы отмечено выраженное снижение экспрессии TLR2, TLR4 (до $2,56 \pm 0,22$ и $2,92 \pm 0,19\%$) и TLR9 на клетках крови ($4,85 \pm 1,27\%$), что может приводить к нарушению распознавания пептидогликанов, липопротеинов бактериальной клеточной стенки, ЛПС грамотрицательных бактерий, липотейхоевых кислот грамположительных бактерий, неметилированных CpG-мотивов бактериальной ДНК, а также дрожжеподобных грибов. Выявлена обратная корреляционная связь между тяжестью микробной экземы и уровнями экспрессии TLR2 ($r = -0,592$), TLR4 ($r = -0,612$) и TLR9 ($r = -0,781$) на клетках крови ($p < 0,05$), что указывает на важную роль нарушений в системе врожденного распознавания патоген-ассоциированных молекулярных структур в формировании тяжелых рецидивирующих форм микробной экземы.

В очагах микробной экземы выявлена повышенная экспрессия TLR2 ($4,5 \pm 0,9\%$) и TLR4 ($5 \pm 1,3\%$), а также TLR7, TLR8 и TLR9 на клетках кожи ($12 \pm 1,7\%$, $12,5 \pm 2,8\%$ и $9,5 \pm 1,1\%$ соответственно) по сравнению с группой здоровых лиц ($1,6 \pm 0,3\%$; $1,9 \pm 0,7\%$; $3,3 \pm 1,1\%$; $3,7 \pm 1,9\%$; $1,4 \pm 1,1\%$ соответственно). Надо отметить, что уровни экспрессии TLR2 и TLR9 на клетках кожи из очагов были сопоставимы с уровнями экспрессии этих рецепторов на клетках крови. Для острого течения микробной экземы были характерны наиболее высокие уровни экспрессии TLR2, TLR4, TLR9, в то время как при длительном хроническом течении дерматоза в очагах зарегистрированы наиболее высокие уровни экспрессии TLR8. У больных микробной экземой выявлена высокая прямая корреляционная связь между длительностью заболевания и экспрессией TLR8 на клетках кожи. Вероятно, гиперэкспрессия TLR8 в коже отражает хронизацию воспалительного процесса. В результате изучения уровней экспрессии генов TLR2, TLR4, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9 клетками кожи в очагах микробной экземы выявлена наиболее выраженная экспрессия TLR6 ($0,012 \pm 0,02$) усл.ед., TLR7 ($0,122 \pm 0,149$) усл.ед., TLR9 ($0,051 \pm 0,012$) усл.ед., причем максимальные уровни TLR6 и TLR9 экспрессировались у боль-

ных нумулярной и паратравматической формами экземы, что указывает на распознавание в очагах у этой группы больных пептидогликанов, зимозана и неметилированных CpG-мотивов бактериальной ДНК. Выявленное увеличение экспрессии TLR2 и гена *TLR2* на клетках кожи в очагах микробной экземы может быть связано с прямым действием патогенов или быть следствием действия провоспалительных цитокинов, продуцируемых в ответ на инфекционные лиганды.

Полученные данные указывают на индукцию воспалительной реакции в коже в области очагов, что обеспечивает защиту от патогенов.

Выявлена обратная корреляционная связь между экспрессией гена *TLR2* в очагах у больных микробной экземой и степенью тяжести дерматоза. При анализе дополнительных показателей было выявлено, что минимальные значения экспрессии гена *TLR2* наблюдались в случаях хронических форм микробной экземы с высокой степенью тяжести.

Определение α -дефенсинов HNP1-3 и лактоферрина в сыворотке периферической крови показало снижение концентрации антимикробных пептидов у больных микробной экземой ($20,11 \pm 2,81$) нг/мл и ($52,7 \pm 5,01$) нг/мл по сравнению с группой здоровых доноров ($43,14 \pm 2,98$) и ($208,5 \pm 12,4$) нг/мл соответственно, что указывает на недостаточную активацию гуморальных компонентов врожденного иммунитета на системном уровне при микробной экземе.

Выявленная высокая обратная корреляционная зависимость между длительностью заболевания и уровнями антимикробных пептидов в сыворотке крови, а также между тяжестью течения экзематозного процесса и сывороточными уровнями антимикробных пептидов позволяет указать на прогностическую роль снижения уровней антимикробных пептидов у больных микробной экземой.

Важнейшими факторами клеточного взаимодействия являются цитокины, участвующие в регуляции защитных реакций организма. Изучение цитокинового профиля у больных микробной экземой выявило повышенную продукцию провоспалительного IL-1 β ($21,3 \pm 4,4$) пг/мл, противовоспалительного IL-4 ($19,8 \pm 2,6$) пг/мл на фоне сниженных значений IL-10 ($8,6 \pm 4,2$) пг/мл по сравнению с группой здоровых лиц ($12 \pm 3,1$; $11 \pm 4,3$; $16,1 \pm 2,8$) пг/мл соответственно.

В результате проведения корреляционного анализа выявили высокую прямую связь между тяжестью микробной экземы и уровнем IL-4 в сыворотке крови ($r = 0,672$; $p < 0,05$). Анализ полученных данных о повышении уровня противовоспалительного IL-4 позволяет предполагать у больных микробной экземой активацию T-лимфоцитов по Th-2 пути.

Повышенное содержание IL-1 β , вероятно объясняется наличием бактериальной контаминации

у больных микробной экземой, что можно также рассматривать в качестве факторов, способствующих либерации гистамина из тучных клеток и базофилов.

Результаты определения экспрессии генов отдельных цитокинов в клетках кожи в очагах микробной экземы показали значительное снижение экспрессии генов *GM-CSF2* ($0,0007 \pm 0,0005$) усл.ед. и TNF α ($0,001 \pm 0,001$) усл.ед. по сравнению с группой здоровых лиц ($0,002 \pm 0,002$ усл.ед. и $0,014 \pm 0,04$ усл.ед. соответственно) в 2,8 и 14 раз соответственно. GM-CSF оказывает иммуномодулирующий эффект, включающий активацию и усиление множества функций нейтрофилов, моноцитов, макрофагов и ДК, индуцирует клеточный и гуморальный иммунный ответ с усилением защитных механизмов хозяина против широкого спектра микроорганизмов. Исходя из вышесказанного, снижение экспрессии гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) у больных микробной экземой отражает снижение активации защитных механизмов хозяина против широкого спектра патогенов.

Таким образом, возможно, с одной стороны, в процессе хронизации кожного процесса при микробной экземе происходит нарушение распознавания компонентов микробных клеток PRRs, что приводит к формированию тяжелых рецидивирующих форм. С другой стороны, нарушение врожденного распознавания TLRs различных лигандов способствует прогрессированию инфекционного процесса и формированию хронических затяжных форм микробной экземы. Низкие уровни экспрессии TLR2, TLR4 и TLR9 не включают защитные механизмы врожденного иммунитета, такие как выработка противомикробных пептидов, провоспалительных цитокинов и другие, что может способствовать развитию тяжелого патологического процесса.

Заключение. Развитие микробной экземы происходит на фоне выраженных нарушений функционирования врожденного иммунитета. С целью прогнозирования характера течения микробной экземы целесообразно определение уровней экспрессии TLR2, TLR4, TLR7, TLR8, TLR9 на МЛПК и клетках кожи в очагах, изучение уровней антимикробных пептидов и цитокинового профиля. Учитывая выявленные у больных микробной экземой нарушения иммунного ответа на фоне бактериальной колонизации, разработка эффективных лечебно-профилактических мероприятий с учетом особенностей функционирования иммунной системы наряду с санацией хронических очагов инфекции и снижением сенсibilизации является актуальной задачей повышения качества оказания медицинской помощи больным микробной экземой и решения вопроса снижения заболеваемости этим дерматозом.