

DOI: <https://doi.org/10.17816/dv636920>

Оригинальное исследование



# Оценка эффективности комбинированной терапии плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином больных стероидрезистентной формой пузырчатки на основании исследования цитокинового и хемокинового профиля

А.А. Лепехова

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

## АННОТАЦИЯ

**Обоснование.** Акантолитическая пузырчатка представляет собой тяжёлое жизнеугрожающее заболевание, в основе которого лежит формирование аутоантител класса IgG к мембранам клеток шиповатого слоя с последующим формированием интраэпидермальных пузырей.

**Цель исследования** — оценить эффективность комбинированной терапии человеческим иммуноглобулином и плазмаферезом стероидрезистентной акантолитической пузырчатки на основании исследования цитокинового и хемокинового профиля, а также уровня гранулизины в сыворотке.

**Материалы и методы.** В контрольной группе (группа 1;  $n=26$ ) пациенты с вульгарной пузырчаткой получали монотерапию системными глюкокортикоидами, в группе стероидрезистентных больных (группа 2; основная;  $n=15$ ) — комбинированную терапию системными глюкокортикоидами, человеческим иммуноглобулином (IVIg) и плазмаферезом. Наличие стероидной резистентности оценивали с помощью критериев Murrell. Все больные пузырчаткой получали начальную дозу системных глюкокортикоидов 80–100 мг/сут с последующим медленным снижением, согласно клиническими рекомендациям. Протокол лечения комбинированной терапии включал четыре сеанса дискретного плазмафереза в неделю через день. Сразу по завершении цикла плазмафереза к проводимому лечению добавлялся человеческий иммуноглобулин, общая доза которого составляла 2 г/кг за цикл. Концентрация IL-4, IL-10, IL-15, TNF- $\alpha$ , хемокинов CXCL8, CCL11 и гранулизины оценивалась с помощью метода иммуноферментного анализа.

**Результаты.** У пациентов основной группы (комбинированная терапия) наблюдалось статистически значимое снижение уровня цитокинов IL-4, IL-15, TNF- $\alpha$  по сравнению с профилем контрольной группы ( $p < 0,01$ ). Следует также отметить, что уровень CCL11 в сыворотке стероидрезистентных больных до начала лечения человеческим иммуноглобулином и плазмаферезом был статистически значимо выше ( $Me=51$  пг/мл), чем у пациентов группы монотерапии системными глюкокортикоидами ( $Me=10$  пг/мл;  $p < 0,01$ ). Уровень гранулизины после лечения в основной группе ( $Me=0$  нг/мл) был также статистически значимо ниже по сравнению с группой контроля ( $Me=2700$  нг/мл;  $p < 0,01$ ).

**Заключение.** Обнаружена тенденция к более высокой концентрации IL-4, IL-15 и CCL11 в сыворотке стероидрезистентных больных акантолитической пузырчаткой, получавших комбинированную терапию, по сравнению с группой контроля, что подтверждает иммуномодулирующее действие человеческого иммуноглобулина. Кроме того, данные цитокины можно рассматривать с точки зрения потенциальных биомаркеров более рефрактерного течения акантолитической пузырчатки, а также их использования в качестве терапевтической мишени в будущем. Следует отметить и достижение более длительной ремиссии этими пациентами, которая составила в среднем 2,5 года.

**Ключевые слова:** цитокиновый профиль; хемокины; гранулизин; пузырчатка; стероидная резистентность; внутривенный иммуноглобулин; плазмаферез.

## Как цитировать:

Лепехова А.А. Оценка эффективности комбинированной терапии плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином больных стероидрезистентной формой пузырчатки на основании исследования цитокинового и хемокинового профиля // Российский журнал кожных и венерических болезней. 2024. Т. 27, № 6. С. 673–686. DOI: <https://doi.org/10.17816/dv636920>

DOI: <https://doi.org/10.17816/dv636920>

Original study article

# Evaluation of the effectiveness of combined therapy with intravenous immunoglobulin and plasmapheresis in patients with steroid-resistant form of pemphigus based on the cytokine and chemokine profiles assessment

Anfisa A. Lepekhova,

<sup>1</sup> The First Sechenov Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** Pemphigus is a serious life-threatening disease characterized by the formation of IgG autoantibodies against the cell membranes, leading to the formation of intraepidermal blisters.

**AIM:** To evaluate the effectiveness of combined therapy with intravenous immunoglobulin and plasma exchange for steroid-resistant patients with pemphigus based on the cytokine, chemokine and granulysin profiles investigation.

**MATERIALS AND METHODS:** The group of patients receiving systemic glucocorticoid monotherapy (Group 1; control group) consisted of 26 patients with pemphigus vulgaris. The group of steroid-resistant patients (Group 2; main group) who received combined therapy with systemic glucocorticoid, intravenous immunoglobulin (IVIg), and plasmapheresis included 15 people. The presence of steroid resistance was assessed by Murrell consensus (2008). All pemphigus patients received the initial dose of systemic glucocorticoids of 80–100 mg/day with subsequent slow tapering, according to guidelines. The treatment protocol for combined therapy included four sessions of discrete plasma exchange per week every other day. Immediately after completion of the plasma exchange cycle, IVIg was added to the ongoing treatment, with a total dose of 2 g/kg per cycle. The levels of IL-4, IL-10, IL-15, TNF- $\alpha$ , chemokines CXCL8, CCL11, and granulysin were assessed via ELISA method.

**RESULTS:** We observed some discrepancies in cytokine profiles in both groups of patients. In patients who received combined therapy, there was a statistically significant decrease in the levels of IL-4, IL-15, TNF- $\alpha$  compared to those in patients on systemic glucocorticoid monotherapy — IL-4, IL-15 TNF- $\alpha$  ( $p < 0.01$ ). Notably, that the level of CCL11 in serum of steroid-resistant patients before the IVIg therapy was significantly higher (Me=51 pg/ml) compared to systemic glucocorticoid monotherapy group (Me=10 pg/ml;  $p < 0.01$ ). The level of granulysin after the treatment with IVIg and plasma exchange in group 2 was also significantly lower (Me=0 ng/ml) compared to the group of control (Me=2700 ng/ml respectively;  $p < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** We found a trend towards higher serum levels of IL-4, IL-15, and CCL11 in steroid-resistant pemphigus patients who received combined therapy with IVIg and plasma exchange compared to the control group. Moreover, these cytokines can be considered as the potential biomarkers for refractory disease course, and might be used as therapeutic targets in the future. It should be also noted that the prolonged remission of patients receiving combined therapy with systemic glucocorticoid, IVIg, and plasma exchange, was on average two years.

**Keywords:** cytokine profile; chemokines; granulysin; pemphigus; steroid resistance; intravenous immunoglobulin; plasmapheresis.

## To cite this article:

Lepekhova AA. Evaluation of the effectiveness of combined therapy with intravenous immunoglobulin and plasmapheresis in patients with steroid-resistant form of pemphigus based on the cytokine and chemokine profiles assessment. *Russian journal of skin and venereal diseases*. 2024;27(6):673–686. DOI: <https://doi.org/10.17816/dv636920>

Submitted: 11.10.2024

Accepted: 26.10.2024

Published online: 10.12.2024

## ОБОСНОВАНИЕ

Акантолитическая пузырчатка (АП) представляет собой тяжёлое жизнеугрожающее заболевание кожи и слизистых оболочек, в основе которого лежит формирование аутоантител класса иммуноглобулина G (IgG) к межклеточной субстанции шиповатого и зернистого слоёв эпидермиса, что в дальнейшем ведёт к образованию интраэпидермальных пузырей. Активация В-клеточного иммунитета при пузырчатке инициируется генетическими факторами, в частности ассоциацией с HLA-антигенами гистосовместимости I и II классов [1].

Системные глюкокортикоиды (сГКС) являются препаратами первой линии для лечения АП. Их применение с 1950-х годов XX века позволило снизить смертность в среднем до 30%, достигавшую в «достероидную эру» 75%. Средняя ремиссия у таких пациентов, по результатам недавних сообщений, составляет около 6 лет. К сожалению, у некоторых больных АП отмечается низкая чувствительность к терапии высокими дозами сГКС, что проявляется отсутствием у них выраженного положительного терапевтического эффекта, частыми рецидивами и осложнениями, в связи с чем в научной литературе появился термин «стероидная резистентность» [2].

В 2008 году D.F. Murrell и соавт. [3] представили клинические критерии неответа больных пузырчаткой на терапию сГКС, к которым относятся:

- 1) появление новых высыпаний, увеличение старых элементов;
- 2) отсутствие заживления уже существующих высыпаний, несмотря на трёхнедельное лечение сГКС в дозе 1,5 мг/кг в день в монотерапии или в комбинации с адьювантными препаратами.

В комбинации с сГКС для повышения эффективности лечения используют адьювантные препараты, в частности иммуносупрессивные ритуксимаб, циклофосфамид, азатиоприн, циклоспорин, метотрексат, микофенолата мофетил, а также плазмаферез и т.д., которые снижают потребность в применении высоких суточных доз сГКС, уменьшая тем самым их побочные эффекты, позволяют более активно проводить снижение доз сГКС [1, 4].

Человеческий иммуноглобулин (intravenous immunoglobulin, IVIg), согласно исследованиям и клиническим рекомендациям, также может быть использован в качестве адьювантной терапии больных АП, особенно резистентной формой. Известно также, что IVIg обладает и стероидсберегающим действием. Механизм действия IVIg сложный и включает в себя регуляцию Fc-рецепторов, цитокинового взаимодействия, а также дифференцировку и функцию T- и В-клеток. Так, например, D.B. Keskin и соавт. [5] в своём исследовании оценивали уровни интерлейкинов (IL) 1b, 6, 8, 4, 10 и IFN- $\gamma$  в сыворотке крови на фоне лечения IVIg. Было показано, что уровень цитокинов снижался быстрее у больных при комбинированной терапии сГКС и IVIg по сравнению с монотерапией сГКС.

Однако влияние комбинированной терапии плазмаферезом и IVIg на цитокиновый и хемокиновый профиль, а также уровень гранулизины в сыворотке крови больных, чувствительных к сГКС, ещё не исследовался.

**Цель исследования** — оценить цитокиновый и хемокиновый профиль у больных акантолитической пузырчаткой, получавших комбинированную терапию IVIg и плазмаферезом.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Дизайн исследования

Проспективное когортное.

Первичная конечная точка — выявление различий по уровням цитокинов IL-4, IL-10, IL-15, TNF- $\alpha$ , хемокинов CXCL8, CCL11 и гранулизины у больных АП, получавших монотерапию сГКС, и у пациентов, получавших комбинированную терапию IVIg, плазмаферезом и сГКС.

Промежуточные конечные точки — оценка уровня поражения кожных покровов (Pemphigus Disease Area Index, PDAI) до, на фоне и после комбинированной терапии IVIg и плазмаферезом.

### Критерии соответствия

*Критерии включения:* подтверждённый гистологически и иммуногистохимически диагноз пузырчатки (рис. 1); возраст больных от 18 лет и старше.

*Критерии исключения:* отказ пациента от участия в исследовании.

### Условия проведения

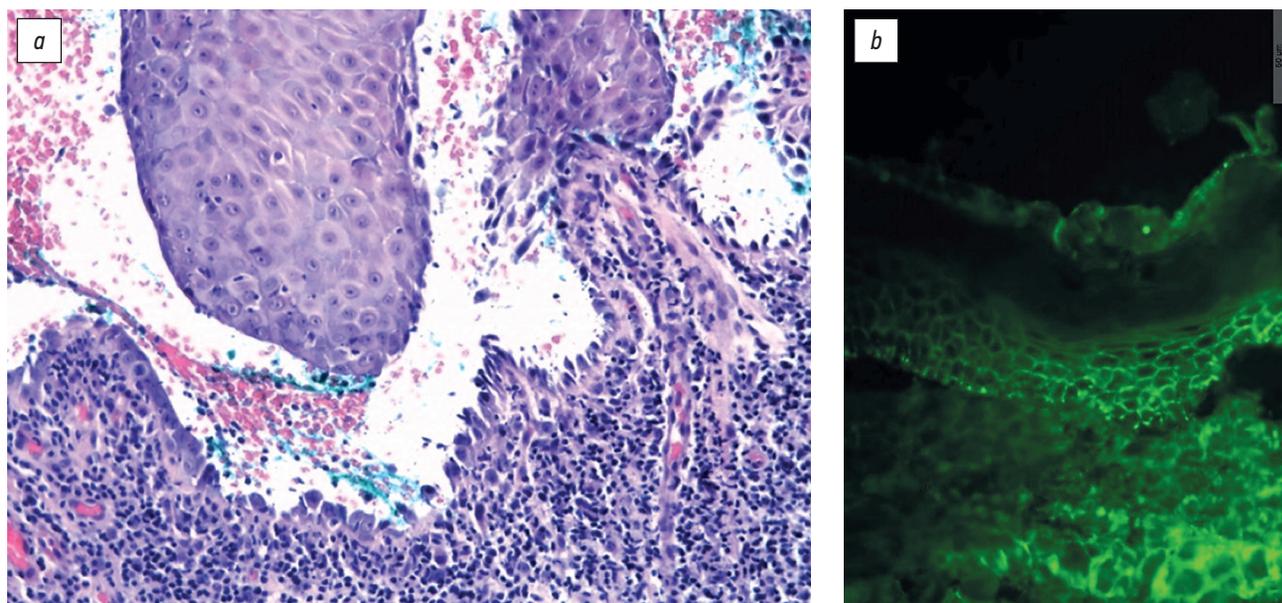
Кафедра кожных и венерических болезней имени В.А. Рахманова ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет); кафедра молекулярной фармакологии и радиобиологии имени академика П.В. Сергеева ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Центр крови ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России.

### Продолжительность исследования

Исследование выполнено в период с 2019 по 2023 год.

### Описание медицинского вмешательства

Все больные пузырчаткой получали начальную дозу сГКС 80–100 мг/сут с последующим медленным снижением, согласно клиническим рекомендациям. Протокол лечения включал четыре сеанса дискретного плазмафереза в неделю через день. Сразу по завершении цикла плазмафереза к проводимому лечению добавлялся IVIg, общая доза которого составляла 2 г/кг за цикл. Эту дозировку



**Рис. 1.** Надбазальный акантолиз при вульгарной пузырчатке (а) и фиксация IgG в шиповатом слое эпидермиса (b).  
**Fig. 1.** Suprabasal acantholysis in pemphigus vulgaris (a) and IgG fixation in stratum spinosum (b).

делили на пять равных доз и вводили внутривенно, медленно, пять дней подряд.

### Исходы исследования

*Основной исход исследования.* Летальных исходов, а также тяжёлых осложнений у больных пузырчаткой в нашем исследовании не наблюдалось. Основным исходом исследования было выявление различий по уровням IL-4, IL-10, IL-15, TNF- $\alpha$ , CXCL8, CCL11 и гранулизына в сыворотке больных АП, получавших монотерапию сГКС и комбинированную терапию сГКС, IVIg и плазмаферезом. Анализ конечных точек проводился на основании консенсуса D.F. Murrell и соавт. (2008) [3].

Поздними конечными точками активности заболевания являлись:

- 1) полная ремиссия: отсутствие новых высыпаний и роста старых при отсутствии системной терапии сГКС как минимум в течение 2 месяцев;
- 2) полная ремиссия на фоне терапии минимальными дозами сГКС ( $\leq 10$  мг/сут): отсутствие новых высыпаний в течение как минимум 2 месяцев;
- 3) частичная ремиссия после полного прекращения приёма сГКС в течение как минимум 2 месяцев: наличие перманентных «старых» высыпаний, которые заживали в течение 1 недели;
- 4) частичная ремиссия на фоне минимальной терапии сГКС ( $\leq 10$  мг/сут) и топическими стероидами: наличие перманентных, а также появление новых высыпаний, которые заживали в течение одной недели [3].

### Анализ в подгруппах

Группа пациентов, получавших монотерапию сГКС, состояла из 26 больных вульгарной пузырчаткой. (группа 1; контрольная; мужчин — 4, женщин — 22; средний

возраст 53 года). В группу стероидрезистентных больных, получавших комбинированную терапию сГКС, IVIg и плазмаферезом, входило 15 человек (группа 2; основная; мужчин — 3, женщин — 12; средний возраст 52 года). Группа здоровых доноров состояла из 43 человек (мужчин — 19, женщин — 24; средний возраст 51 год). Таким образом по возрасту и полу группы были сопоставимы. Наличие стероидной резистентности оценивалось с помощью критериев консенсуса D.F. Murrell и соавт. (2008) [3].

У 4 (26,7%) пациентов основной группы проведено по три цикла IVIg и плазмафереза, у 11 (73,3%) — по 5. Средняя доза сГКС составила 85 мг/сут.

### Методы регистрации исходов

У всех больных был получен образец крови, который помещался в пробирку с ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота). Уровни цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-15, IL-10, гранулизына, а также хемокинов CXCL8 и CCL11 оценивали с помощью метода на основе проточной цитометрии CBA (cytometric bead array) и иммуноферментного анализа ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay).

Цитокины анализировали с использованием системы анализа, состоящей из наборов и панелей для иммуноанализа (Millipore MILLIPLEX Human Cytokine Panel 1 Premixed 7 Plex, HCYTOMAG60K07). Образцы сыворотки инкубировали с гранулами, покрытыми антителами, при температуре 4°C. Далее их инкубировали вместе с мечеными биотином антителами, направленными на цитокины человека, с последующей их инкубацией со стрептавидином и фикоэритрином. Образцы считывали на приборе Luminescence 200 (США) с программным обеспечением xPOTENT. Для перевода единиц флуоресценции в концентрации (пг/мл) использовали стандартные кривые концентраций рекомбинантных цитокинов человека.

Для расчёта концентрации цитокинов в образцах сыворотки использовался 5-параметрический логистический метод, или метод аппроксимации сплайновой кривой.

### Этическая экспертиза

Исследование одобрено этическим комитетом Сеченовского Университета (протокол № 03-22 от 03.02.2022).

### Статистическая обработка

Для анализа использованы современные универсальные непараметрические (рандомизационно-перестановочные) алгоритмы построения доверительных интервалов (ДИ) и статистических сравнений на основе методов бутстрэп (от англ. bootstrap) и Монте-Карло.

Для ДИ использована компактная форма записи, при которой нижняя и верхняя границы интервала указывались в виде подстрочных индексов слева и справа от точечной оценки.

Для статистического описания количественных показателей оценивали средние и медианные значения с 95% ДИ, проверяли согласие распределения с нормальным законом. Рассчитывали также показатели вариации вокруг среднего значения — стандартное отклонение и коэффициент вариации.

Сравнение двух групп по количественным признакам выполнено с помощью параметрического t-критерия Стьюдента для независимых выборок и непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Для t-критерия Стьюдента нулевая гипотеза для каждого признака: средние значения соответствующего признака в группах 1 и 2 не различались; альтернативная гипотеза: средние значения различны. Для U-критерия Манна–Уитни нулевая гипотеза: распределения соответствующего признака (и, значит, медианные значения) в группах с наличием/отсутствием определённого категориального признака

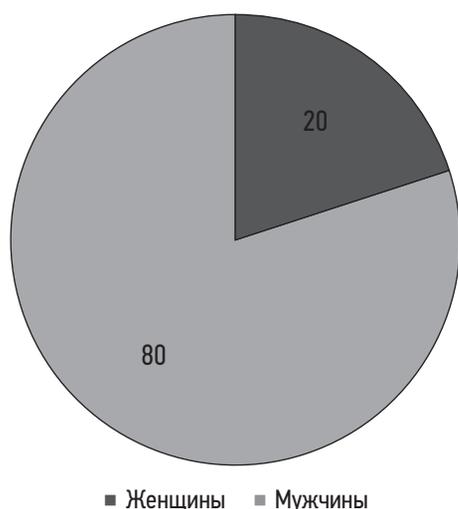
не различались. Альтернативная гипотеза: распределения признака (и медианные значения) были различны. Если нулевая гипотеза отклонялась, то можно было сделать вывод, что имеется взаимосвязь между данным количественным фактором и бинарным показателем (наличием/отсутствием данного признака). Для параметрического критерия показана разность средних с 95% ДИ, для непараметрического — разность медиан Ходжеса–Лемана с 95% ДИ. По результатам сравнения двух групп рассчитывался стандартизированный эффект различий по Коэну или Ходжесу (для групп с численностью менее 16) или бисериальный коэффициент корреляции. Наблюдаемое *p*-значение зависело от размера выборки, стандартизированный эффект — не зависел. Интерпретация эффекта выполнялась по нижней границе ДИ.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

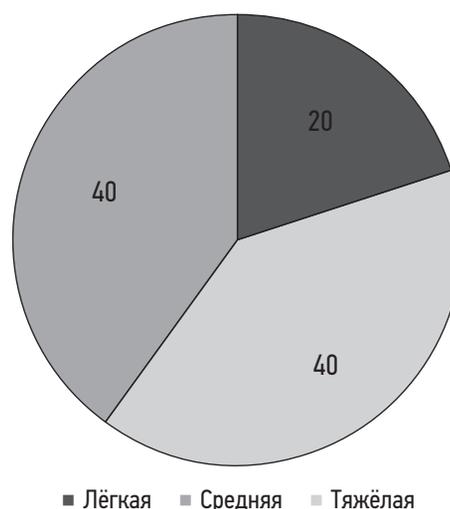
### Объекты (участники) исследования

В исследовании приняли участие пациенты с АП (*n*=41), средний возраст которых составил 52 года, из них 26 получали монотерапию сГКС, 15 стероидрезистентных больных — сГКС, человеческий IVIg и плазмаферез. Женщин было 80%, мужчин — 20% (рис. 2). АП лёгкой степени тяжести страдали 20% больных, средней и тяжёлой степени — по 40% (рис. 3). Длительность заболевания варьировала от 1 года до 13 лет.

В группе 2 (основная) предшествующая адьювантная терапия состояла из азатиоприна (у 53%), метотрексата и ритуксимаба (по 7%); 33% больных не получали дополнительной терапии (рис. 4). У 20% больных наблюдалось одно обострение АП в год, 40% пациентов имели по два и 40% — по три обострения в год (рис. 5, 6). По три цикла



**Рис. 2.** Соотношение участников исследования по полу, %.  
**Fig. 2.** Distribution of patients by gender (%).



**Рис. 3.** Распределение больных по степени тяжести акантолитической пузырчатки, %.  
**Fig. 3.** Distribution of patients according to the disease severity (%).

комбинированной терапии IVIg и дискретным плазмаферезом получили 4 пациента, по пять циклов — 11 (рис. 7).

Группа здоровых доноров состояла из 43 человек, из них 19 мужчин, 24 женщины.

На фоне проводимой терапии у больных наблюдалось статистически значимое снижение индекса PDAI (площадь поражения при пузырчатке) на 98% ( $p < 0,001$ ) (рис. 8).

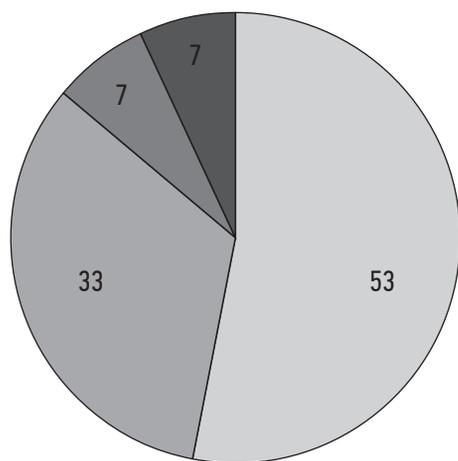
Средняя доза сГКС после пятого цикла составила 11,6 мг/сут.

### Основные результаты исследования

На фоне проводимой терапии у больных обеих групп наблюдались некоторые различия в цитокиновом профиле. Так, у больных, получавших комбинированную

терапию, наблюдалось статистически значимое снижение уровня цитокинов IL-4 (Me=4 пг/мл), IL-15 (Me=3 пг/мл), TNF- $\alpha$  (Me=3 пг/мл) по сравнению с таковыми в группе монотерапии сГКС — IL-4 (Me=13 пг/мл), IL-15 (Me=14 пг/мл), TNF- $\alpha$  (Me=10 пг/мл) ( $p < 0,01$ ) (рис. 9). Следует отметить, что уровень IL-10 был на достоверно высоком уровне у больных АП в обеих группах по сравнению со здоровыми донорами, однако различий по IL-10 в группах 1 и 2 не было ( $p > 0,01$ ).

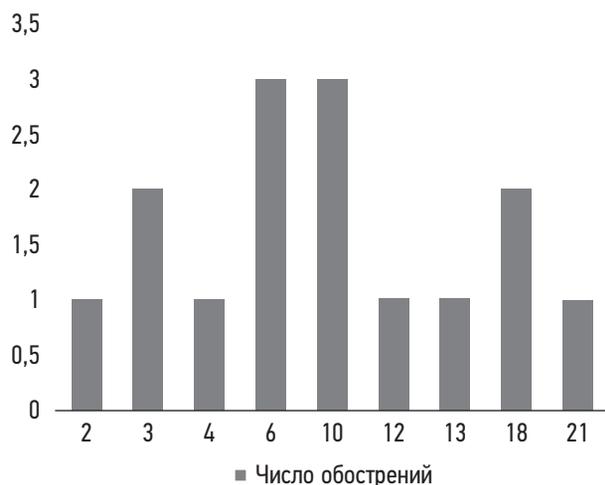
По уровню CXCL8 в сыворотке больных в обеих группах также статистически значимых результатов не наблюдалось (рис. 10). В группе 2 (основная) отмечалось достоверное снижение уровня CCL11 в сыворотке (Me=3 пг/мл) по сравнению с группой контроля



■ Азатиоприн ■ Нет ■ Ритуксимаб ■ Метотрексат

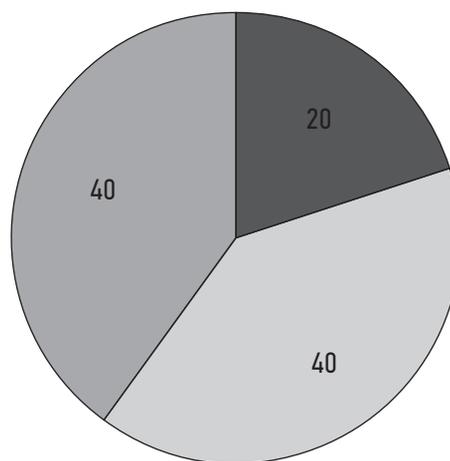
**Рис. 4.** Предыдущая адъювантная терапия в группе пациентов, получавших системные глюкокортикоиды, внутривенный иммуноглобулин и плазмаферез, %.

**Fig. 4.** Previous adjuvant therapy in steroid-resistant group of patients (%).



**Рис. 6.** Распределение стероидрезистентных больных по частоте ежегодных обострений от дебюта заболевания.

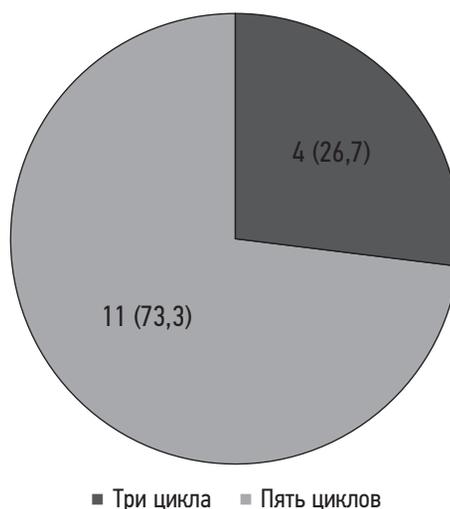
**Fig. 6.** Distribution of steroid-resistant patients by frequency of annual exacerbations from disease onset.



■ Одно ■ Два ■ Три

**Рис. 5.** Распределение стероидрезистентных больных по кратности ежегодных обострений, %.

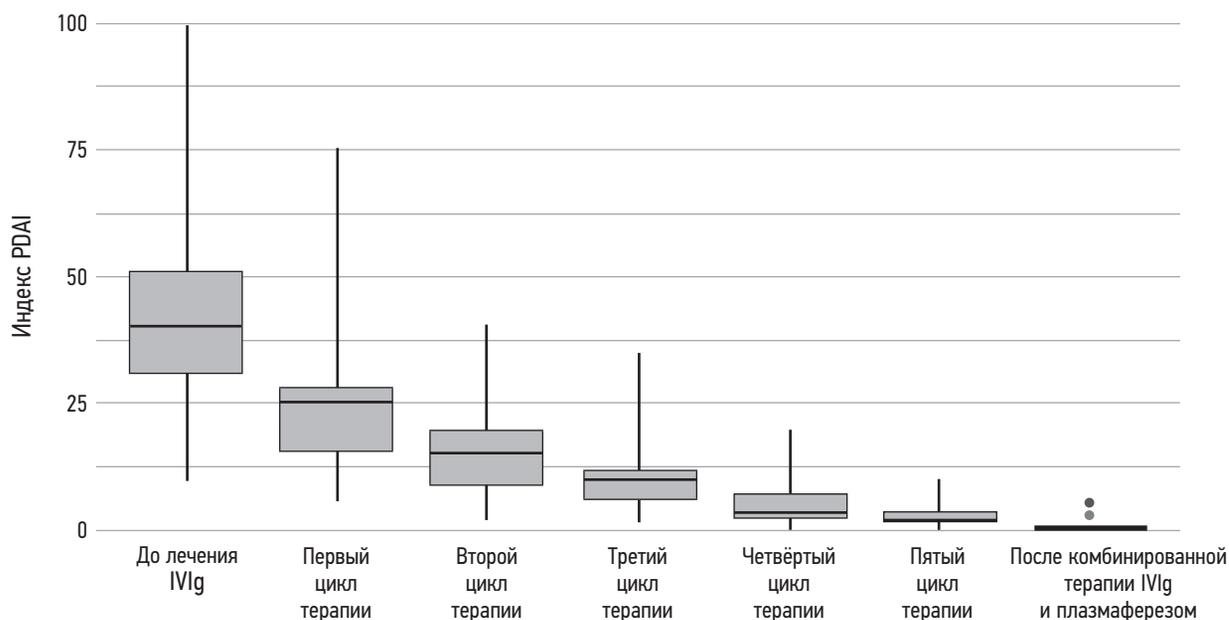
**Fig. 5.** Distribution of steroid-resistant patients according to the frequency of annual exacerbations (%).



■ Три цикла ■ Пять циклов

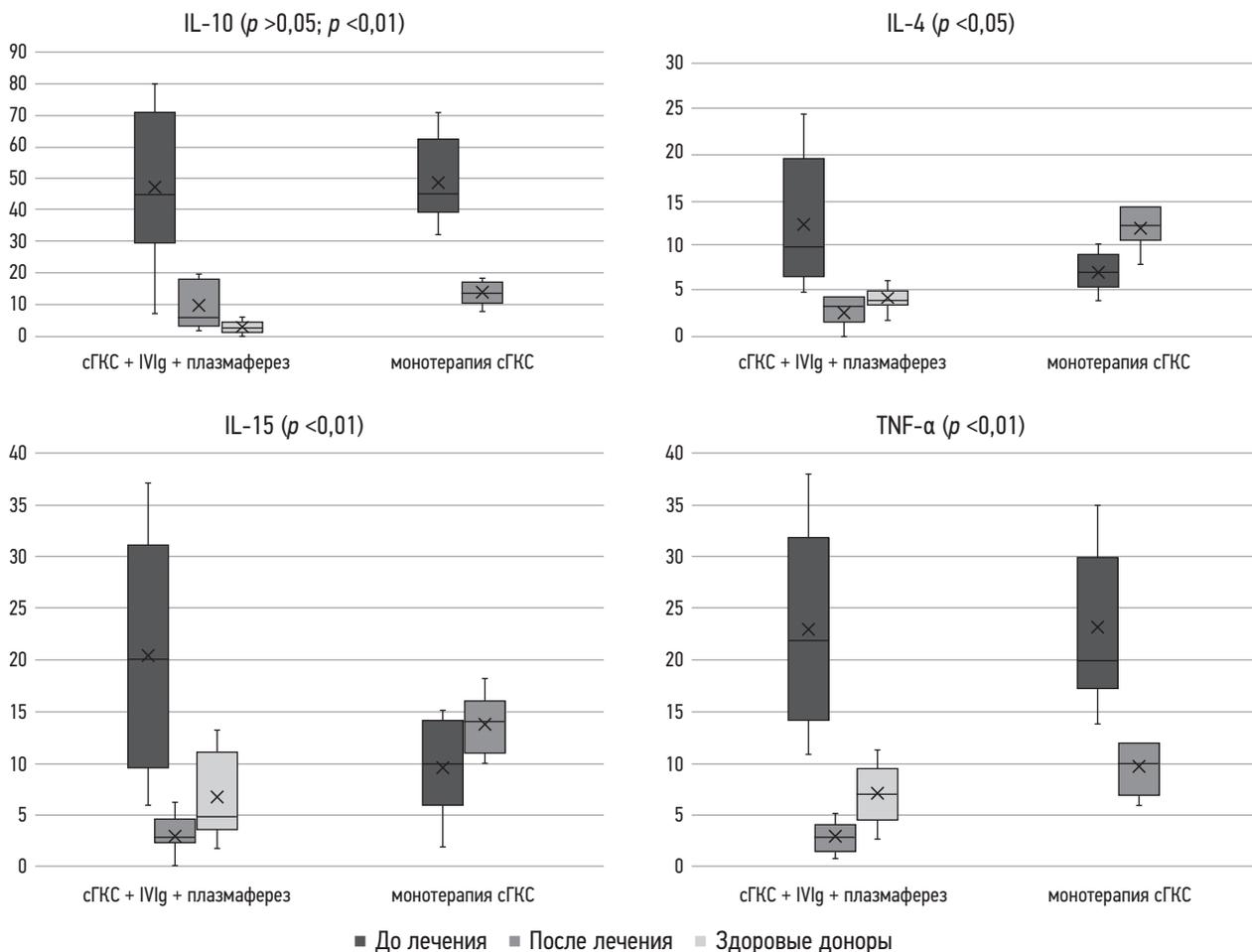
**Рис. 7.** Число циклов внутривенного иммуноглобулина и плазмафереза, %.

**Fig. 7.** Number of cycles of intravenous immunoglobulin and plasmapheresis (%).



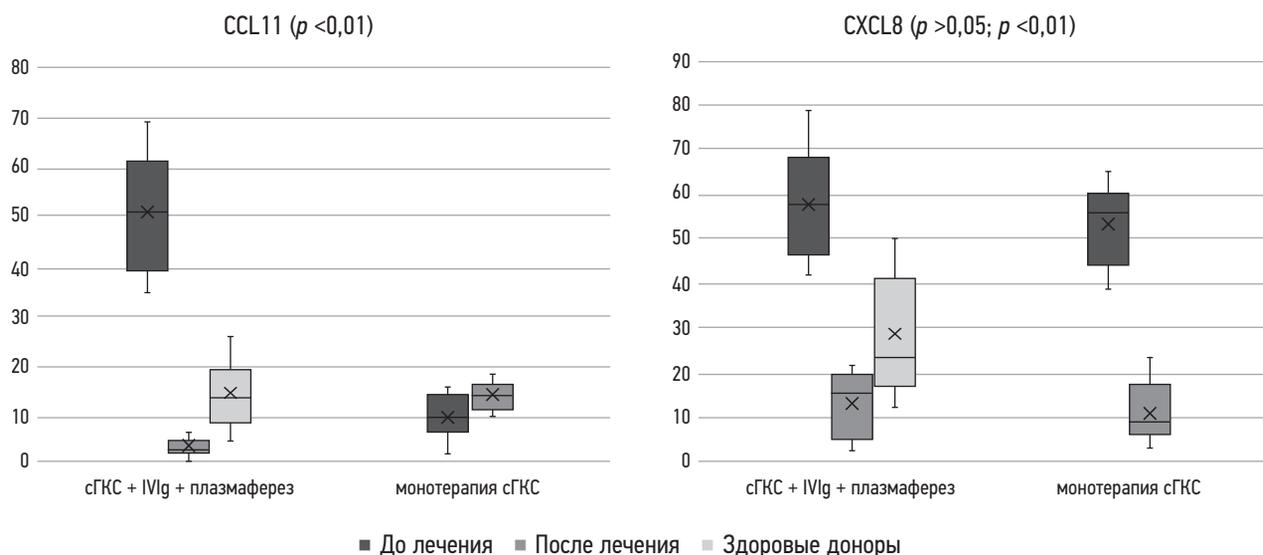
**Рис. 8.** Изменение индекса PDAI на фоне комбинированной терапии системными глюкокортикоидами, человеческим иммуноглобулином и плазмаферезом.

**Fig. 8.** The changes of PDAI score during the combined therapy with systemic glucocorticoids, intravenous immunoglobulin and plasmapheresis.



**Рис. 9.** Уровень цитокинов в сыворотке больных, получавших монотерапию системными глюкокортикоидами и комбинированную терапию системными глюкокортикоидами, внутривенным иммуноглобулином и плазмаферезом.

**Fig. 9.** Cytokine levels in serum of steroid-resistant and steroid-sensitive patients.



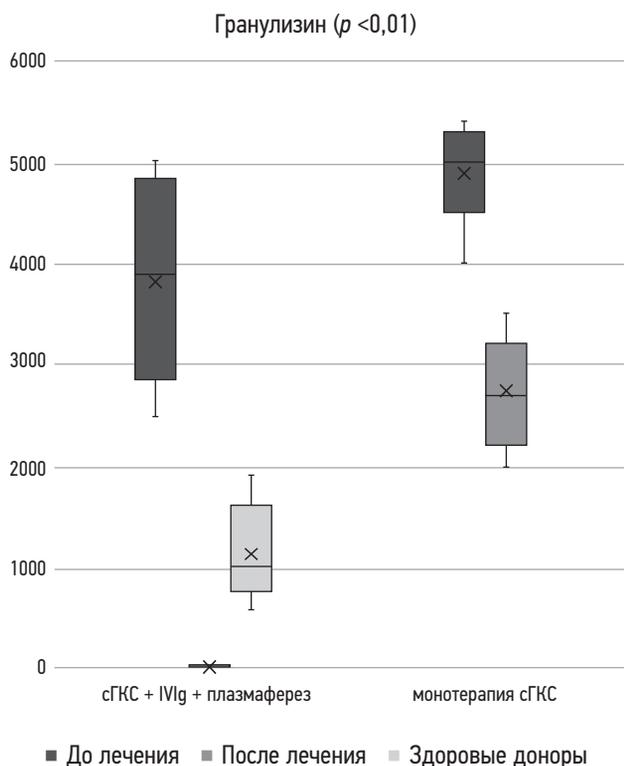
**Рис. 10.** Уровень хемокинов в сыворотке больных, получавших монотерапию системными глюкокортикоидами и комбинированную терапию системными глюкокортикоидами, внутривенным иммуноглобулином и плазмаферезом.

**Fig. 10.** Chemokine levels in serum of steroid-resistant and steroid-sensitive patients.

(Me=15 пг/мл). Следует также отметить, что уровень CCL11 в сыворотке стероидрезистентных больных до начала лечения IVIg и плазмаферезом был статистически значимо выше (Me=51 пг/мл) по сравнению с пациентами,

получавшими монотерапию cГКС (Me=10 пг/мл;  $p < 0,01$ ). Интересно, что уровень гранулизина в сыворотке крови больных АП после лечения комбинированной терапией IVIg и плазмаферезом был статистически значимо ниже (Me=0 нг/мл) по сравнению с пациентами, получавшими монотерапию cГКС (Me=2700 нг/мл). Следует также отметить, что в группе здоровых доноров [(IL10 (Me=3 пг/мл), IL15 (Me=5 пг/мл), IL4 (Me=4 пг/мл), TNF- $\alpha$  (Me=7 пг/мл), CCL11 (Me=13 пг/мл), CXCL8 (Me=22 пг/мл), гранулизин (Me=1000 нг/мл)] все показатели также были ниже, чем в обеих группах пациентов до начала лечения ( $p < 0,01$ ) (рис. 11).

На фоне проводимой терапии IVIg и плазмаферезом полная ремиссия после полной отмены cГКС наблюдалась у одного пациента, полная ремиссия на фоне минимальной дозы cГКС — у 12 (рис. 12), частичная ремиссия на фоне минимальной дозы cГКС (10 мг/сут) — у двух (рис. 13, 14). У 5 (33,3%) пациентов ремиссия составила два года, у 4 (26,7%) — три, у 3 (20%) — один год (рис. 15), по одному пациенту (6,7%) имели периоды ремиссии 0,5, 1,5 и 4 года (см. рис. 13).



**Рис. 11.** Уровень гранулизина в сыворотке больных, получавших монотерапию системными глюкокортикоидами и комбинированную терапию системными глюкокортикоидами, внутривенным иммуноглобулином и плазмаферезом.

**Fig. 11.** Granulysin level in serum of steroid-resistant and steroid-sensitive patients.

## ОБСУЖДЕНИЕ

По данным ряда исследований, IVIg может регулировать цитокиновый профиль в сыворотке крови больных аутоиммунными дерматозами. Так, в нашем исследовании мы получили статистически значимое снижение уровней провоспалительных цитокинов IL-4, IL-10, IL-15, TNF- $\alpha$ , хемокина CCL11 и гранулизина у больных, получавших комбинированную терапию cГКС, IVIg и плазмаферезом, по сравнению с группой контроля. После проведения комбинированной терапии наблюдалось также статистически значимое снижение уровня TNF- $\alpha$  в сыворотке



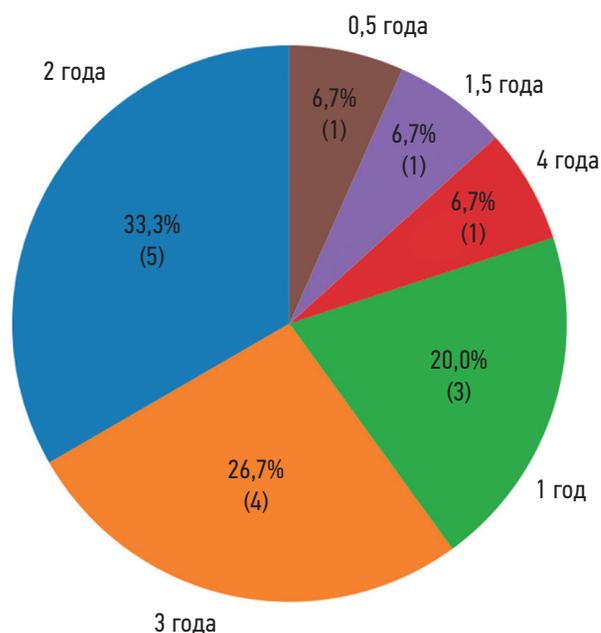
**Рис. 12.** Больной N., 59 лет, диагноз листовидной пузырчатки: до (a), на фоне (b) и после (c) комбинированной терапии системными глюкокортикоидами, плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином (ремиссия 2 года).

**Fig. 12.** Patient N., 59 years old, diagnosis of pemphigus foliaceus: before (a), against the background of (b) and after (c) treatment with systemic glucocorticoids, intravenous immunoglobulin and plasmapheresis (remission 2 years).

пациентов, что позволяет предположить, что IVIg может влиять на эффекторные функции иммунных клеток [5].

### Роль хемокинов в патогенезе акантолитической пузырчатки

Известно, что некоторые хемокины могут влиять на усиление иммунного ответа при пузырчатке. Авторы показали, что IL-4 мог индуцировать выработку хемокина CCL11 фибробластами. Этот хемокин принадлежит к субсемейству эотаксинов CC-хемокинов, состоящих из эотаксина (CCL11), эотаксина-2 (CCL24) и эотаксина-3 (CCL26). CCL11 непосредственно принимает участие в индукции хемотаксиса



**Рис. 13.** Оценка длительности ремиссии у пациентов, получавших комбинированную терапию внутривенным иммуноглобулином и плазмаферезом.

**Fig. 13.** Evaluation of remission duration in patients receiving combined therapy with intravenous immunoglobulin and plasmapheresis.



**Рис. 14.** Больная N., 63 года, диагноз вульгарной пузырчатки: до (a) и после (b) комбинированной терапии системными глюкокортикоидами, человеческим иммуноглобулином и плазмаферезом (ремиссия 2 года).

**Fig. 14.** Patient N., 63 years old, diagnosis pemphigus vulgaris, before (a) and after (b) the treatment with systemic glucocorticoids, intravenous immunoglobulin and plasmapheresis (remission 2 years).

эозинофилов *in vivo* и *in vitro* [6]. С. Günther и соавт. [6] исследовали уровень CCL11 у больных буллёзным пемфигоидом в коже, пузырьной жидкости и сыворотке крови с целью изучения его роли в рекрутинге эозинофилов при этом заболевании и выявили его более высокую концентрацию в сыворотке крови у больных БП по сравнению с группой контроля и больными АП. Кроме того, данный показатель коррелировал с распространённостью высыпаний у больных БП [6]. Интересно, что наиболее высокие уровни CCL11 отмечались пациентов с тяжёлой разновидностью БП [6]. Так, например, CCL11 способствовал миграции эозинофилов к месту воспаления посредством связывания с рецептором CCR3, экспрессируемым на поверхности эозинофилов. В исследованиях также было показано, что данный хемокин индуцировал хемотаксис эозинофилов *in vitro* и *in vivo* у больных БП [7]. Высокий уровень CCL11 выявлялся в коже и пузырьной жидкости больных БП и другими авторами. Интересно также, что CCL11 выделялся не только эозинофилами, но и кератиноцитами, фибробластами и макрофагами [8].

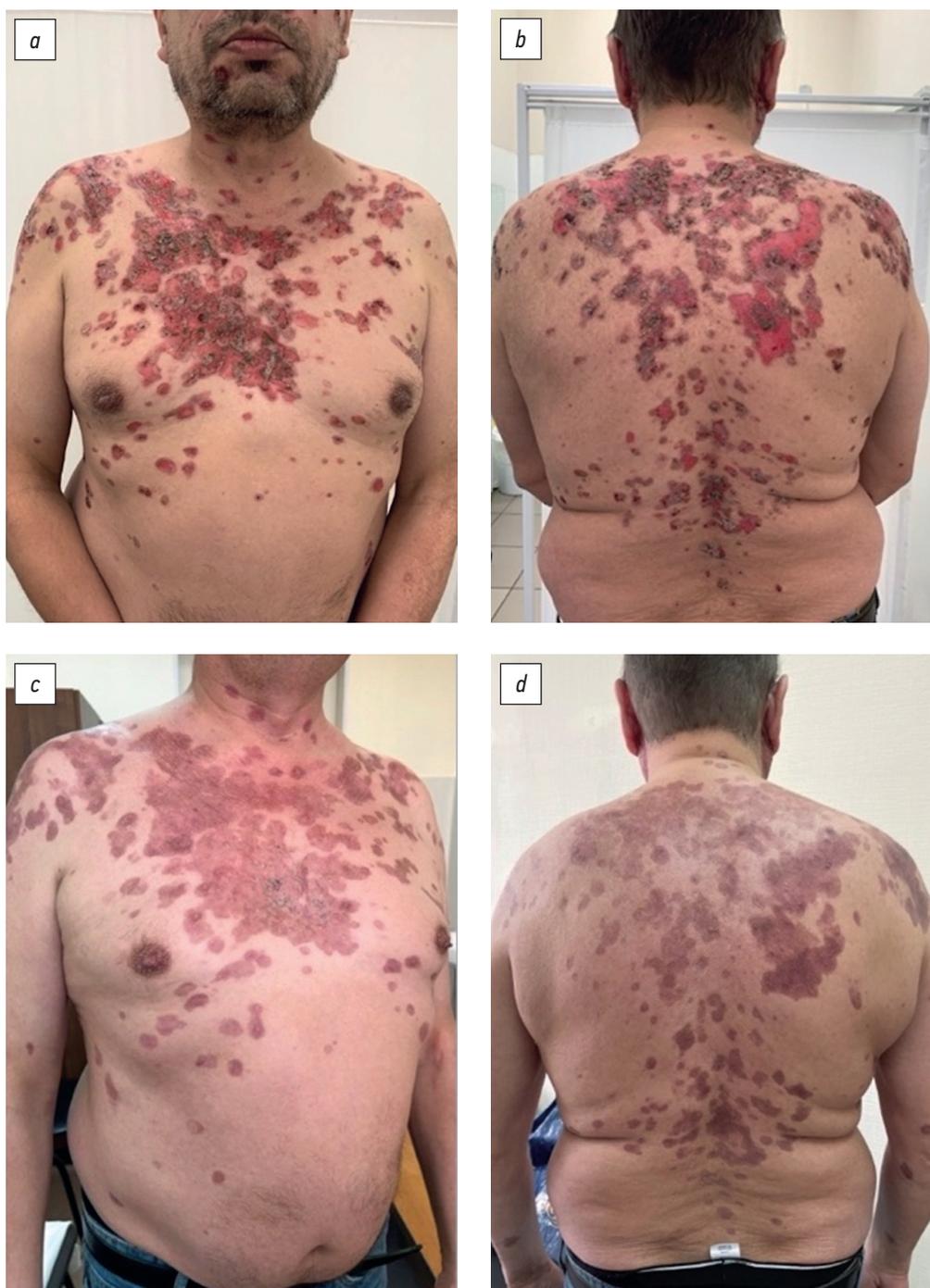
Хемокины исследовались также при АП. Так, R.P. Timoteo и соавт. [9] при оценке уровня хемокина CXCL8 у больных пузырчаткой в коже обнаружили его более высокую экспрессию в ней, что также коррелировало с тяжестью и активностью заболевания. Этот хемокин был связан и с Th17-клеточным ответом, который играет непосредственную роль в формировании акантолиза. Интересно, что экспрессия других хемокинов, таких как CXCL10, была на достоверно низком уровне у этих же больных [9].

В нашем исследовании продемонстрировано влияние человеческого IVIg на уровень хемокинов CCL11 и CXCL8

в сыворотке больных АП до и после лечения. Было обнаружено, что уровень CCL11 статистически значимо чаще наблюдался именно у стероидрезистентных больных, получавших комбинированную терапию сГКС, IVIg и плазмаферезом, по сравнению с группой контроля (монотерапия сГКС). Это указывает на то, что CCL11 мог бы рассматриваться с точки зрения биомаркера стероидной резистентности (см. рис. 10).

### Роль цитокинов в патогенезе акантолитической пузырчатки и механизм действия IVIg

Фактор некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ) играет важную роль в формировании акантолиза у больных АП [10]. Так, S.H. Lee и соавт. [11] в 1999 году при исследовании уровня TNF- $\alpha$  у больных пузырчаткой обнаружили его достоверное увеличение как в пузырьной жидкости, так и в сыворотке, подтверждая тем самым его «локальную» роль в формировании пузыря. Кроме того, данный механизм был показан и у больных токсическим эпидермальным некролизом (ТЭН). E. De Araujo и соавт. [12] при исследовании факторов, способствующих гибели кератиноцитов в пузырьной жидкости у больных ТЭН, обнаружили уже одновременное достоверное увеличение TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  и TRIAL в пузырьной жидкости по сравнению с сывороткой этих пациентов и группой контроля. Авторы пришли к выводу, что данный синергизм индуцировал апоптоз и гибель кератиноцитов у этих пациентов. Наши данные также подтверждают повышение уровня TNF- $\alpha$  в сыворотке больных АП (Me=23 пг/мл и Me=20 пг/мл в группах моно- и комбинированной терапии соответственно)



**Рис. 15.** Больной N., 53 года, диагноз вульгарной пузырчатки: до (a, b) и в процессе (c, d) комбинированной терапии системными глюкокортикоидами, человеческим иммуноглобулином и плазмаферезом (ремиссия 1 год).

**Fig. 15.** Patient N., 53 years old, diagnosis pemphigus vulgaris: before (a, b) and on ongoing therapy (c, d) with systemic glucocorticoids, intravenous immunoglobulin and plasmapheresis (remission 1 year).

по сравнению со здоровыми донорами ( $Me=7$  пг/мл;  $p < 0,01$ ). Кроме того, в группе больных, получавших комбинированную терапию сГКС, IVIg и плазмаферезом, уровень TNF- $\alpha$  после лечения был статистически значимо ниже по сравнению с таковым в группе контроля, подтверждая эффективность и иммуномодулирующее действие IVIg у рефрактерных к сГКС больных АП [5].

Сообщалось также, что помимо связывания с разными подтипами иммуноглобулинов, IVIg реагирует с рядом

мембранных молекул Т-, В-клеток и моноцитов, которые имеют отношение к контролю аутореактивности и индукции ауто толерантности. IVIg содержит также антитела к вариабельным и константным участкам рецептора Т-клеток человека, рецепторам цитокинов, CD5, CD4, молекулам HLA класса, хемокиновым рецепторам CCR5, CD40 и Fas-лиганду. Данная разнообразная тропность к множеству молекул лимфоцитов лишь подтверждает иммуномодулирующее действие IVIg. Интересно также,

что дендритные клетки, согласно некоторым исследованиям, являются одной из мишеней воздействия IVIg [13]. Он ингибирует дифференцировку и созревание дендритных клеток *in vitro* и устраняет способность зрелых дендритных клеток секретировать IL-12 во время их активации, усиливая одновременно выработку IL-10. IVIg мог также снижать регуляцию костимулирующих молекул, связанных с модуляцией секреции цитокинов. Этот механизм привел к ингибированию пролиферации Т-клеток [13].

В патогенезе аутоиммунных заболеваний играют роль молекулы HLA и костимулирующие сигналы, передаваемые CD80 и CD86 клетками [14]. Именно эти клетки участвуют в оптимальной презентации антигена и активации Т-клеток. Таким образом, исследование подавления экспрессии данных молекул внутривенным IVIg, а также его влияния на память В-клеток могло бы выявить дополнительные эффекты данного препарата [5].

Экспериментально было показано, что IL-10 также является ключевым участником нарушения клеточно-опосредованной регуляции. IL-10 индуцирует пролиферацию В-клеток, а также дифференцировку и секрецию иммуноглобулинов [15]. Этот механизм является неотъемлемой частью формирования иммунного ответа при таких заболеваниях, как АП и БП. IL-10 участвует также в даун-регуляции (понижающая регуляция) выработки цитокинов антигенпрезентирующими клетками [16]. Однако отмечалось, что IL-10 играет роль в даун-регуляции воспаления локально в коже. Уровень IL-10 исследовался в сыворотке крови и blisterной жидкости у больных АП и БП [9, 15, 17–20]. В нашем исследовании уровень IL-10 был достоверно выше в сыворотке больных АП в группах (моно- и комбинированной терапии  $M_e=45$  пг/мл и  $M_e=43$  пг/мл соответственно) по сравнению со здоровыми донорами ( $M_e=3$  пг/мл;  $p < 0,01$ ). Следует отметить, что в обеих группах больных АП уровень IL-10 не различался. Можно сделать вывод, что с наличием стероидной резистентности данный интерлейкин не связан (см. рис. 9).

### Роль гранулизина в патогенезе акантолитической пузырчатки и других буллёзных дерматозов

Гранулизин представляет собой белок, синтезируемый цитотоксическими Т-лимфоцитами (cytotoxic T-lymphocytes, CTLs), а также NK-клетками и непосредственно отвечающий за диссеминированную гибель кератиноцитов при ТЭН [21]. Авторы выявили с помощью иммуногистохимического метода более интенсивное окрашивание гранулизина в области зоны некроза в эпидермисе у больных ТЭН по сравнению с группой контроля [21]. Было обнаружено, что гранулизин экспрессировался преимущественно на CD8+ и CD56+ клетках (CTLs и NK-клетки) в пузырной жидкости [21]. Введение гранулизина

(15-kDa) мышам вызывало у них отторжение эпидермиса, характерное для ТЭН [21]. W.H. Chung и соавт. [21] выявили также корреляцию между уровнем гранулизина в пузырной жидкости и клинической тяжестью синдрома Стивенса–Джонсона, перекрёстного синдрома (синдром Стивенса–Джонсона и ТЭН).

Таким образом, гранулизин можно рассматривать с точки зрения потенциального биомаркера тяжести течения других буллёзных дерматозов. Однако следует отметить, что уровень гранулизина в крови, пузырной жидкости и коже при АП не изучен. В нашем исследовании мы оценивали уровень гранулизина в сыворотке больных АП в обеих группах, а также у здоровых доноров. Интересно, что на фоне комбинированной терапии сГКС, IVIg и плазмаферезом наблюдалось статистически значимое снижение уровня гранулизина по сравнению с группой контроля (см. рис. 11). Можно предположить, что IVIg регулирует цитотоксические Т-лимфоциты и NK-клетки при АП. Для подтверждения этой концепции необходимы дальнейшие проспективные исследования на более крупной выборке больных.

### Ограничения исследования

В связи с редкостью представляемых дерматозов в наше исследование удалось рекрутировать относительно небольшое количество больных, что могло послужить причиной возникновения систематической ошибки отбора (selection bias). Таким образом, в перспективе для устранения потенциальных ошибок необходимо проведение мультицентровых исследований на большой выборке больных (от 1000 человек и более) с целью подтверждения полученных нами результатов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В исследовании проводилась оценка эффективности комбинированной терапии человеческим иммуноглобулином и плазмаферезом у стероидрезистентных больных АП на основании исследования цитокинового, хемокинового профиля, а также уровня гранулизина в сыворотке крови. Была обнаружена тенденция к более высокой концентрации IL-4, IL-15 и CCL11 в сыворотке стероидрезистентных больных АП, получавших комбинированную терапию IVIg и плазмаферезом, по сравнению с группой контроля. Данные цитокины можно рассматривать с точки зрения потенциальных биомаркеров более рефрактерного течения АП, а также их использования в качестве терапевтических мишеней в будущем.

Следует обратить внимание и на потенциальную роль IVIg в регуляции работы цитотоксических лимфоцитов и NK-клеток у больных АП. Как известно, эти клетки синтезируют белок гранулизин, который отвечает за диссеминированную гибель кератиноцитов, чаще всего у больных ТЭН. Это подтверждается нашими результатами, которые показали значительное снижение

уровня гранулизины в сыворотке больных АП после лечения комбинированной терапией IVIg и плазмаферезом по сравнению с контрольной группой. Следует также отметить влияние комбинированной терапии на цитокиновый профиль больных АП. Так, у стероидрезистентных пациентов на фоне комбинированной терапии наблюдалось статистически значимое снижение уровней IL-4, IL-15 и TNF- $\alpha$  по сравнению с группой контроля. Полученные данные подтверждают иммуномодулирующее действие IVIg. Кроме того, повышение уровней сразу нескольких цитокинов, хемокинов и гранулизины у наших пациентов, вероятно, могло бы быть связано с активацией различных типов иммунных клеток с точки зрения патогенеза АП.

Таким образом, в проведённом исследовании удалось продемонстрировать более высокую эффективность комбинированной терапии сГКС, IVIg и плазмаферезом у больных стероидрезистентной формой АП не только на основании снижения уровней IL-4, IL-15, TNF- $\alpha$ , хемокина CCL11 и гранулизины, но и достаточно длительной ремиссии у этих тяжёлых пациентов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Balachandran C. Treatment of pemphigus // *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2003. Vol. 69, N 1. P. 3–5.
2. Sibaud V., Beylot-Barry M., Doutre M.S., Beylot C. [Successful treatment of corticoid-resistant pemphigus with high-dose intravenous immunoglobulins. (In French)] // *Ann Dermatol Venereol.* 2000. Vol. 127, N 4. P. 408–410.
3. Murrell D.F., Dick S., Ahmed A.R., et al. Consensus statement on definitions of disease, end points, and therapeutic response for pemphigus // *J Am Acad Dermatol.* 2008. Vol. 58, N 6. P. 1043–1046. doi: 10.1016/j.jaad.2008.01.012
4. Joly P., Horvath B., Patsatsi A., et al. Updated S2K guidelines on the management of pemphigus vulgaris and foliaceus initiated by the European Academy of Dermatology and Venereology (EADV) // *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2020. Vol. 34, N 9. P. 1900–1913. doi: 10.1111/jdv.16752
5. Keskin D.B., Stern J.N., Fridkis-Hareli M., Razzaque A.A. Cytokine profiles in pemphigus vulgaris patients treated with intravenous immunoglobulins as compared to conventional immunosuppressive therapy // *Cytokine.* 2008. Vol. 41, N 3. P. 315–321. [Erratum in: *Cytokine.* 2008 Aug;43(2):229] doi: 10.1016/j.cyto.2007.12.007
6. Günther C., Zimmermann N., Berndt N., et al. Up-regulation of the chemokine CCL18 by macrophages is a potential immunomodulatory pathway in cutaneous T-cell lymphoma // *Am J Pathol.* 2011. Vol. 179, N 3. P. 1434–1442. doi: 10.1016/j.ajpath.2011.05.040
7. Gounni A.S., Wellemans V., Agouli M., et al. Increased expression of Th2-associated chemokines in bullous pemphigoid disease. Role of eosinophils in the production and release of these chemokines // *Clin Immunol.* 2006. Vol. 120, N 2. P. 220–231. doi: 10.1016/j.clim.2006.03.014
8. Amerio P., Frezzolini A., Feliciani C., et al. Eotaxins and CCR3 receptor in inflammatory and allergic skin diseases: Therapeutical implications // *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 2003. Vol. 2, N 1. P. 81–94. doi: 10.2174/1568010033344480
9. Timoteo R.P., da Silva M.V., Miguel C.B., et al. Th1/Th17-related cytokines and chemokines and their implications in the pathogenesis

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Источник финансирования.** Автор заявляет об отсутствии внешнего финансирования при подготовке рукописи.

**Конфликт интересов.** Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** Автор подтверждает соответствие своего авторства международным критериям ICMJ.

## ADDITIONAL INFORMATION

**Funding source.** This study was not supported by any external sources of funding.

**Competing interests.** The author declares no competing interests.

**Author contribution.** Author made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

of pemphigus vulgaris // *Mediators Inflamm.* 2017. Vol. 2017. P. 7151285. doi: 10.1155/2017/7151285

10. Nassif A., Bensussan A., Boumsell L., et al. Toxic epidermal necrolysis: Effector cells are drug-specific cytotoxic T cells // *J Allergy Clin Immunol.* 2004. Vol. 114, N 5. P. 1209–1215. doi: 10.1016/j.jaci.2004.07.047

11. Lee S.H., Hong W.J., Kim S.C. Analysis of serum cytokine profile in pemphigus // *Ann Dermatol.* 2017. Vol. 29, N 4. P. 438–445. doi: 10.5021/ad.2017.29.4.438

12. De Araujo E., Dessirier V., Lapr e G., et al. Death ligand TRAIL, secreted by CD1a+ and CD14+ cells in blister fluids, is involved in killing keratinocytes in toxic epidermal necrolysis // *Exp Dermatol.* 2011. Vol. 20, N 2. P. 107–112. doi: 10.1111/j.1600-0625.2010.01176.x

13. Bayary J., Dasgupta S., Misra N., et al. Intravenous immunoglobulin in autoimmune disorders: An insight into the immunoregulatory mechanisms // *Int Immunopharmacol.* 2006. Vol. 6, N 4. P. 528–534. doi: 10.1016/j.intimp.2005.11.013

14. Kaveri S., Vassilev T., Hurez V., et al. Antibodies to a conserved region of HLA class I molecules, capable of modulating CD8 T cell-mediated function, are present in pooled normal immunoglobulin for therapeutic use // *J Clin Invest.* 1996. Vol. 97, N 3. P. 865–869. doi: 10.1172/JCI118488

15. Bhol K.C., Rojas A.I., Khan I.U., Ahmed A.R. Presence of interleukin 10 in the serum and blister fluid of patients with pemphigus vulgaris and pemphigoid // *Cytokine.* 2000. Vol. 12, N 7. P. 1076–1083. doi: 10.1006/cyto.1999.0642

16. De Vries J.E. Immunosuppressive and anti-inflammatory properties of interleukin 10 // *Ann Med.* 1995. Vol. 27, N 5. P. 537–541. doi: 10.3109/07853899509002465

17. Iyer S.S., Cheng G. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease // *Crit Rev Immunol.* 2012. Vol. 32, N 1. P. 23–63. doi: 10.1615/critrevimmunol.v32i1.30

18. Sun C.C., Wu J., Wong T.T., et al. High levels of interleukin-8, soluble CD4 and soluble CD8 in bullous pemphigoid blister fluid.

The relationship between local cytokine production and lesional T-cell activities // *Br J Dermatol*. 2000. Vol. 143, N 6. P. 1235–1240. doi: 10.1046/j.1365-2133.2000.03894.x

19. Khozeimeh F., Savabi O., Esnaashari M. Evaluation of interleukin-1 $\alpha$ , interleukin-10, tumor necrosis factor- $\alpha$  and transforming growth factor- $\beta$  in the serum of patients with pemphigus vulgaris // *J Contemp Dent Pract*. 2014. Vol. 15, N 6. P. 746–749. doi: 10.5005/jp-journals-10024-1610

## REFERENCES

- Balachandran C. Treatment of pemphigus. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2003;69(1):3–5.
- Sibaud V, Beylot-Barry M, Doutre MS, Beylot C. Successful treatment of corticoid-resistant pemphigus with high-dose intravenous immunoglobulins. (In French). *Ann Dermatol Venereol*. 2000;127(4):408–410.
- Murrell DF, Dick S, Ahmed AR, et al. Consensus statement on definitions of disease, end points, and therapeutic response for pemphigus. *J Am Acad Dermatol*. 2008;58(6):1043–1046. doi: 10.1016/j.jaad.2008.01.012
- Joly P, Horvath B, Patsatsi A, et al. Updated S2K guidelines on the management of pemphigus vulgaris and foliaceus initiated by the European Academy of Dermatology and Venereology (EADV). *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2020;34(9):1900–1913. doi: 10.1111/jdv.16752
- Keskin DB, Stern JN, Fridkis-Hareli M, Razzaque AA. Cytokine profiles in pemphigus vulgaris patients treated with intravenous immunoglobulins as compared to conventional immunosuppressive therapy. *Cytokine*. 2008;41(3):315–321. [Erratum in: *Cytokine*. 2008 Aug;43(2):229] doi: 10.1016/j.cyto.2007.12.007
- Günther C, Zimmermann N, Berndt N, et al. Up-regulation of the chemokine CCL18 by macrophages is a potential immunomodulatory pathway in cutaneous T-cell lymphoma. *Am J Pathol*. 2011;179(3):1434–1442. doi: 10.1016/j.ajpath.2011.05.040
- Gounni AS, Wellemans V, Agouli M, et al. Increased expression of Th2-associated chemokines in bullous pemphigoid disease. Role of eosinophils in the production and release of these chemokines. *Clin Immunol*. 2006;120(2):220–231. doi: 10.1016/j.clim.2006.03.014
- Amerio P, Frezzolini A, Feliciani C, et al. Eotaxins and CCR3 receptor in inflammatory and allergic skin diseases: Therapeutical implications. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*. 2003;2(1):81–94. doi: 10.2174/1568010033344480
- Timoteo RP, da Silva MV, Miguel CB, et al. Th1/Th17-related cytokines and chemokines and their implications in the pathogenesis of pemphigus vulgaris. *Mediators Inflamm*. 2017;2017:7151285. doi: 10.1155/2017/7151285
- Nassif A, Bensussan A, Boumsell L, et al. Toxic epidermal necrolysis: Effector cells are drug-specific cytotoxic T cells. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;114(5):1209–1215. doi: 10.1016/j.jaci.2004.07.047
- Lee SH, Hong WJ, Kim SC. Analysis of serum cytokine profile in pemphigus. *Ann Dermatol*. 2017;29(4):438–445. doi: 10.5021/ad.2017.29.4.438

20. D'Auria L., Mussi A., Bonifati C., et al. Increased serum IL-6, TNF-alpha and IL-10 levels in patients with bullous pemphigoid: Relationships with disease activity // *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 1999. Vol. 12, N 1. P. 11–15.

21. Chung W.H., Hung S.I., Yang J.Y., et al. Granulysin is a key mediator for disseminated keratinocyte death in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis // *Nat Med*. 2008. Vol. 14, N 12. P. 1343–1350. doi: 10.1038/nm.1884

12. De Araujo E, Dessirier V, Laprée G, et al. Death ligand TRAIL, secreted by CD1a+ and CD14+ cells in blister fluids, is involved in killing keratinocytes in toxic epidermal necrolysis. *Exp Dermatol*. 2011;20(2):107–112. doi: 10.1111/j.1600-0625.2010.01176.x

13. Bayary J, Dasgupta S, Misra N, et al. Intravenous immunoglobulin in autoimmune disorders: An insight into the immunoregulatory mechanisms. *Int Immunopharmacol*. 2006;6(4):528–534. doi: 10.1016/j.intimp.2005.11.013

14. Kaveri S, Vassilev T, Hurez V, et al. Antibodies to a conserved region of HLA class I molecules, capable of modulating CD8 T cell-mediated function, are present in pooled normal immunoglobulin for therapeutic use. *J Clin Invest*. 1996;97(3):865–869. doi: 10.1172/JCI118488

15. Bhol KC, Rojas AI, Khan IU, Ahmed AR. Presence of interleukin 10 in the serum and blister fluid of patients with pemphigus vulgaris and pemphigoid. *Cytokine*. 2000;12(7):1076–1083. doi: 10.1006/cyto.1999.0642

16. De Vries JE. Immunosuppressive and anti-inflammatory properties of interleukin 10. *Ann Med*. 1995;27(5):537–541. doi: 10.3109/07853899509002465

17. Iyer SS, Cheng G. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. *Crit Rev Immunol*. 2012;32(1):23–63. doi: 10.1615/critrevimmunol.v32.i1.30

18. Sun CC, Wu J, Wong TT, et al. High levels of interleukin-8, soluble CD4 and soluble CD8 in bullous pemphigoid blister fluid. The relationship between local cytokine production and lesional T-cell activities. *Br J Dermatol*. 2000;143(6):1235–1240. doi: 10.1046/j.1365-2133.2000.03894.x

19. Khozeimeh F, Savabi O, Esnaashari M. Evaluation of interleukin-1 $\alpha$ , interleukin-10, tumor necrosis factor- $\alpha$  and transforming growth factor- $\beta$  in the serum of patients with pemphigus vulgaris. *J Contemp Dent Pract*. 2014;15(6):746–749. doi: 10.5005/jp-journals-10024-1610

20. D'Auria L, Mussi A, Bonifati C, et al. Increased serum IL-6, TNF-alpha and IL-10 levels in patients with bullous pemphigoid: Relationships with disease activity. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 1999;12(1):11–15.

21. Chung WH, Hung SI, Yang JY, et al. Granulysin is a key mediator for disseminated keratinocyte death in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Nat Med*. 2008;14(12):1343–1350. doi: 10.1038/nm.1884

## ОБ АВТОРЕ

\* **Лепехова Анфиса Александровна**, канд. мед. наук, доцент;  
адрес: Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2;  
ORCID: 0000-0002-4365-3090;  
eLibrary SPIN: 3261-3520;  
e-mail: anfisa.lepehova@yandex.ru

## AUTHORS' INFO

\* **Anfisa A. Lepekhova**, MD, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor;  
address: 8/2 Trubetskaya street, 119991 Moscow, Russia;  
ORCID: 0000-0002-4365-3090;  
eLibrary SPIN: 3261-3520;  
e-mail: anfisa.lepehova@yandex.ru