

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ  
ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ДЕРМАТОЛОГИИ, ВЕНЕРОЛОГИИ  
И ВИЧ/СПИД ИНФЕКЦИИ**

**СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ**

Посвящен  
90-летию со дня рождения профессора Б.А.Задорожного

Под редакцией проф. А.М.Дашука

Харьков  
2013

ББК 55.83

УДК 616.5+616.97+687.55+614.2

Редакційна колегія: чл.-кор. НАМН України, проф. В.Н.Лесової, проф. Б.Г.Глухенький, проф. А.М.Дашук (отв. редактор), проф. Ю.В.Андрашко, проф. Л.А.Болотная, проф. А.Д.Дюдюк, проф. Л.Д.Калужная, проф. О.Н.Ковалева, проф. В.Г.Кравченко, проф. Я.Ф.Кутасевич, проф. А.И.Литус, проф. В.В.Мясоедов, доц. Н.А.Пустовая (секретарь), проф. В.И.Степаненко, проф. В.П.Федотов

Адрес редакційної колегії: Україна, 61002, Харків, ул.Революції, 15, кафедра дерматології, венерології і СПИДа, тел. (057)700-41-33, e-mail: [kafedraderma@i.ua](mailto:kafedraderma@i.ua)

В збірнику кафедри дерматології, венерології і СПИДа Харківського національного медичного університету освітлена історія створення і становлення кафедри. Згадано внесок професорів І.Ф.Зеленева, Л.А.Соболева, І.С.Попова, Б.А.Задорожного і др. в розвиток дерматовенерології. Розглянуто питання етіопатогенезу, клініки, діагностики і лікування ряду кожвенболізей.

Для наукових працівників, спеціалістів.

Актуальні питання дерматології, венерології, і ВІЛ/СНІД інфекції: Збірник наукових праць. – Х.: видавництво «С.А.М.», 2013. - 402с.

У збірнику наукових праць кафедри дерматовенерології Харківського національного медичного університету висвітлено історію утворення і становлення кафедри. Відзначено внесок професорів І.Ф.Зеленева, Л.А.Соболева, І.С.Попова, Б.А.Задорожного та ін. у розвиток дерматовенерології. Розглянуто питання етіопатогенезу, клініки, діагностики та лікування низки шкірно-венеричних хвороб.

Для науковців, спеціалістів

*Ответственность за содержание, подбор и изложение фактов в статьях несут авторы.*

ISBN

ББК 55.83

© Харківський національний медичний університет, 2013

## **ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОЖИ БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ И КОРРЕКЦИЯ ВЫЯВЛЕННЫХ НАРУШЕНИЙ.**

*Дацук А.М., Пустовая Н.А.*

*Харьковский национальный медицинский университет*

По современному представлению, псориаз - это мультифакторный дерматоз, в основе патогенеза которого лежит много теорий. Поэтому сейчас большое внимание уделяется изучению патогенетических механизмов развития псориаза [1,4,12]. Наибольшее внимание исследователи в последнее время уделяли изучению липидного обмена при псориазе [4]. Было выявлено, что псориаз приводит к увеличению содержания в крови малонового диальдегида, диеновых конъюгатов. Большинство исследователей считают, что чрезмерное накопление продуктов перекисидации является токсичным для нормальных тканей, фагоцитирующих и иммунокомпетентных клеток. Т.П. Коржова считает, что при псориазе происходит увеличение возобновленного и окисленного глутатиона. Анализ результатов исследований свидетельствует, что нарушение интенсивности перекисного окисления липидов и активности антиоксидантной системы является важным звеном патогенеза псориаза [4].

В то же время псориаз характеризуется, как системный аутоиммунный процесс [12], при котором имеются изменения в иммунном статусе:

- подавляется лизоцимная и фагоцитарная активность нейтрофильных реакций;
- повышается комплемент и содержимое лактоферона в крови;
- снижается количество Т-лимфоцитов;
- изменяется титр Т-лимфоцитов, соотношения Т- и В-лимфоцитов и иммунорегуляторного индекса за счет уменьшения Т-хелперов;
- увеличивается количество "нулевых" лимфоцитов.

При этом отмечается также снижение уровня IgG, повышения количества ЦИК. Все эти нарушения наиболее выражены при осложненных формах заболевания, часто при рецидивирующем процессе, особенно - у пациентов с сопутствующей патологией.

Известно, что в основе формирования псориазической бляшки лежит нарушение дифференцирования эпидермиса. Дифференцирование эпидермиса - сложный комплексный и высокорегулируемый биохимический процесс, который характеризуется морфологическими изменениями во всех структурных компонентах эпителиоцитов [15]. Общепринятой является точка зрения, что процессы клеточного возобновления играют ведущую роль в морфогенезе псориазической бляшки, в основе формирования которой лежит гиперпролиферация эпидермиса, к которой приводят нарушения регуляции клеточного цикла. В процессе подготовки клетки к делению и образованию из нее двух новых клеток наблюдается несколько фаз - G1, G2, S, G0. "Мотором" клеточного цикла является активация последовательностей циклин-зависимых киназ(ЦЗК).

Белки p16, p19, p21, p53 ингибируют или активируют разные комплексы ЦЗК, ответственные за нормальный ход всех фаз клеточного цикла. При псориазе развиваются внутриклеточные патологические процессы, которые приводят к нарушению нормального клеточного цикла; при этом увеличиваются комплексы ЦЗК, и экспрессия белков p16, p19, p21, p53, которые их активируют. Одним из центральных компонентов системы, которая обеспечивает удаление из организма патологических клеток, является ген p53. P53 известен, как опухолевый супрессор, активатор апоптоза.

Активация белка p53 вызывается при повреждении клеток сигнальными путями, которые отслеживают состояние клеток. Белок p53 координирует процесс репарации, или индуцирует самоубийство клеток. Потеря гена p53 приводит к неконтрольному нагромождению генетических повреждений, которые приводят к потере контроля со стороны организма, патологическому росту клеток и смерти. Продукт гена p53 - белок, который состоит из 393 аминокислот, имеет электрофоретическую подвижность 53 кД (что и дало название гену и белку). Белки p16, p19, p21 являются членами семейства ЦЗК, представителей негативных регуляторов клеточного цикла, которые отвечают за нормальный ход клеточного цикла в фазе G1, участвуют в системе контроля клеточного цикла, останавливают размножение патологических клеток. Повышенная активность белков p16, p19, p21 обуславливает блокирование входа в S-фазу клеток и преждевременное их старение.

Изучению онкомаркеров при псориазе посвящено небольшое количество работ [7, 12, 14, 17]. Определялись онкомаркеры bcl - 2, ki 67, p21, p53 В прогрессирующей стадии псориаза выявлена высокая экспрессия ki 67, bcl - 2, а также низкий уровень p21 и p53. Достоверное увеличение экспрессии в эпидермисе в стационарной стадии побочно свидетельствует об усилении процессов апоптоза в эпидермисе [11]. Появление экспрессии p21 и p53 в супрабазальных отделах эпидермиса дает основание говорить о раннем начале ороговения клеточных мембран, которые в результате не могут формировать нормальный роговой слой и, вероятно, могут содействовать развитию паракератоза [9].

Псориаз, несмотря на появление в последние годы большого количества работ, посвященных как изучению его патогенеза, так и разработке новых методов лечения, до сих пор остается важной проблемой дерматологии.

**Цель исследования** - установление роли ингибиторов клеточного цикла в патогенезе псориаза и оценка эффективности патогенетических механизмов терапии.

Одним из перспективных препаратов, по нашему мнению, является Глутоксим. Глутоксим представляет новый класс лекарственных веществ - тиопозтинов, имеет уникальные биологические эффекты, благодаря влиянию которых действует на внутриклеточном уровне тиолового обмена и играет важную роль в регуляции метаболических процессов в клетках и тканях. Под воздействием Глутоксима происходит стимуляция пролиферации и дифференцирование нормальных клеток и активация процессов генетически запрограммированной клеточной гибели (апоптоз) трансформируемых клеток. Действие препарата реализуется через увеличение полупериода жизни белка p53 и с помощью влияния на каскад фосфопротеинкиназ Ras- сигнального пути. Таким образом, Глутоксим нормализует метаболизм клеток и имеет цитопротекторное действие. Именно поэтому он привлек наше внимание при изучении терапии больных псориазом. Позитивный эффект заключается в повышении эффективности лечения больных псориазом, обусловленным тем, что Глутоксим дополнительно повышает реактивность организма [10, 14].

**Материалы и методы.** В исследование было включено 126 больных псориазом, распределенных на две группы:

- в основную группу вошли 100 пациенты, среди которых:
  - 1) у 53 больных была стационарная стадия псориаза;
  - 2) у 47 - прогрессирующая стадия заболевания;
- в контрольной группе были 26 пациентов с таким же диагнозом.

Клиническая картина тяжести заболевания оценивалась по индексу площади и тяжести течения псориазического процесса (PASI), которое в среднем колебалось от 15 до 20 единиц.

У больных псориазом основной (24 больных) и контрольной групп (15 больных) было проведено гистологическое исследование кожи до и после комплексного лечения. Биопсия проводилась под местной анестезией 0,5-процентным раствором новокаина. Материал фиксировался в забуференном 10-процентном водянном растворе нейтрального формалина и жидкости Карнуа, поддавался целоидин-парафиновой проводке. Готовились серийные срезы толщиной 5-6 мк. Во всех наблюдениях использовалось окрашивание гематоксилином-эозином и по Ван-Гизону.

При морфологическом исследовании подсчитывали объемную плотность инфильтрата на 1 мм<sup>2</sup> и оценивали степень акантоза на основании визуально-аналоговой шкалы:

- 1-я - слабая степень акантоза расценивается, как незначительное утолщение эпидермиса; акантолитические тяжи распространяются вглубь дермы на протяжении до 2/3 поля зрения (x 210, суммарная площадь зрения - 0,4 мм<sup>2</sup>);
- 2-я - умеренная степень акантоза характеризуется удлинением акантолитических тяжей и распространением их в дерму; но до края поля зрения при вышеуказанном увеличении;
- 3-й - выраженная степень акантоза проявляется увеличением числа и распространением акантолитических тяжей за поле зрения и крайним утончением надсосочковых слоев эпидермиса.

Для изучения иммуногистохимических характеристик гиперпролиферативных процессов на уровне ингибиторов клеточного цикла в коже у больных со стационарной и прогрессирующей стадией псориаза до и после лечения была проведена биопсия кожи псориазических бляшек. Иммуногистохимическое исследования проводилось на парафиновых срезах толщиной 5мкм, которые депарафинировали по стандартной методике. Срезы инкубировали с моноклональными антителами p-53 Protein DO - 7, Cyclin Dependent Kinase Inhibitor(p19 ink4d),p16 Protein("Novocastra", UK), p21(клоны 2G12) (BDPharMingen). Для иммунного окрашивания использовали авидин-биотиновый пероксидазный метод(ABC- метод) (Novostain Universal Quik Kit(ncl - RTu - Qu), UK). Во всех случаях проводили доокрашивание ядер гематоксилином.

До лечения у больных PASI в среднем равнялся:

- при стационарной стадии псориаза - 15,2;
- при прогрессирующей стадии псориаза - 18,3.

Иммуногистохимическое исследования биоптатов кожи было проведено у 30 пациентов до и после лечения. При гистологическом изучении псориазических элементов до лечения отмечается выраженный в разной степени гиперкератоз, очаговый паракератоз с отсутствием зернистого слоя под ним, акантоз, папилломатоз. Кое-где в роговом слое эпидермиса встречались микроабсцессы Мунро. При псориазе наиболее выражены гистоморфологические и метаболические изменения, которые происходят в соединительной ткани сосочкового слоя и верхней трети сетчатого слоя дермы, в которой определяются:

- резкий отек;
- взрыхление, разволокнение;
- очаговая фрагментация;
- лизис коллагеновых волокон;
- мукоидный и фибриноидный отек;
- некроз и склероз.

У 30 пациентов до лечения иммуногистохимически была определена высокая экспрессия белков p16, p19, p21, p53. У больных псориазом в стационарной стадии экспрессия белков была немного ниже, чем при прогрессирующей стадии. Проведенные исследования позволяют утверждать, что при псориазе

увеличивается экспрессия ингибиторов клеточного цикла, что мы и учли при проведении комплексной терапии пациентам основной группы.

Пациенты группы контроля (26 больных) получали стандартную терапию, которая включает:

- внутримышечные инъекции 10-процентного раствора глюконата кальция;
- антигистаминные препараты;
- витамины В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub> - внутримышечно через день, № 20;
- наружно - 2-процентную салициловую мазь.

Основная группа пациентов (100 больных) на фоне стандартной терапии (см. выше) получала препарат Глутоксим в виде внутримышечных инъекций 1-процентного раствора по 1 мл, № 10.

**Результаты.** Оценка темпов обратного развития заболевания проводилась по таким показателям:

- инфильтрация;
- эритема;
- отечность;
- шелушение;
- зуд;
- экскориации.

У всех пациентов основной группы на фоне лечения значительно уменьшился зуд, у больных отмечалось снижение эритемы и инфильтрации кожи в очагах поражения уже на пятый день терапии, а на пятнадцатый день комплексной терапии инфильтрация и эритема почти полностью регрессировали. По окончании терапии в очагах оставалась вторичная пигментация. Индекс площади и тяжести течения псориазического процесса (PASI) после лечения представлял:

- у больных со стационарной стадией псориаза - 2,4;
- при прогрессирующей стадии - 4,8.

Гистологическое исследование показало:

- слабо выражен роговой слой, местами - с умеренным гиперкератозом; участки паракератоза и микроабсцессы Мунро не определялись;

- зернистый слой был непрерывным и состоял из 1-2 рядов горизонтально расположенных клеток с большим количеством кератогиалина в цитоплазме;

- межсосочковые участки мальпигиевого слоя были представлены 8-12 рядами клеток, надсосочковые участки - 5-6 рядами;

- шиповидный слой был значительно тоньше, по сравнению с препаратами до лечения; он состоял из 5-10 рядов клеток с базофильной цитоплазмой, в которой местами определялась эозинофильная зернистость и вакуолизация (1-2 степень акантоза);

- базальный слой эпидермиса состоял из одного ряда цилиндрических клеток, среди которых встречался меланоциты;

- базальная мембрана эпидермо-дермального соединения после лечения - непрерывная, равномерной толщины;

- полностью исчезли или значительно уменьшились явления отека, разрыхления и разволокнения стенок мелких сосудов и базальных мембран капилляров сосочкового слоя.

Иммуногистохимические показатели больных псориазом после лечения:

- в стационарной стадии у больных псориазом экспрессия белков p16, p19, p21, p53 медленно снижалась с 27-32 до 12 %, что свидетельствует об изменении темпов апоптоза в коже у больных со стационарной стадией псориаза;

- в прогрессирующей стадии псориаза иммуногистохимически определялась слабая и умеренная экспрессия белков, p19, p21, p53 от 7 до 27 % в клетках базального и шиповидного слоя.

Эти показатели говорят об изменении процессов пролиферации клеток (акантоз, паракератоз, гиперкератоз), а увеличение содержания клеток, которые делятся, подтверждает снижение темпов апоптоза;

В регрессирующей стадии после проведенного лечения с применением Глутоксима наблюдалось уменьшение акантоза, гипо- и гиперкератоза (1-2 стадии). Отмечалась очень слабая экспрессия белка p16, p21 и умеренная - p19 (до 28 %) и снижение экспрессии белка p53, что свидетельствует об усилении апоптической активности кератиноцита и снижения пролиферативной активности в эпидермисе.

Пребывание в стационаре составило:

- контрольной группы пациентов -  $25 \pm 0,2$  койко-дня;

- основной группы пациентов, в курс лечения которых был включен Глутоксим, -  $20 \pm 0,2$  койко-дня.

#### **Обсуждение результатов.**

У больных псориазом после проведенного комплексного лечения Глутоксимом отмечалось отсутствие экспрессии в шиповидном и базальном слое белков p16 и p19, а экспрессия p21 и p53 была слабой (3-5 %), что свидетельствует о повышении апоптической активности клеток эпидермиса и снижения пролиферации.

При гистологическом исследовании наблюдались:

- преимущественно слабо выражен роговой слой, местами - с умеренным гиперкератозом;
- позитивная динамика в состоянии других слоев эпидермиса и микроциркуляторного русла дермы;
- ускорение регресса псориазических высыпаний;
- сокращение длительности пребывания больных в стационаре

Использование Глутоксима, в связи с легкостью его применения и высокой эффективностью при лечении любых форм псориаза, может быть рекомендованное как в стационаре, так и в амбулаторных условиях.

#### **Литература**

1. Дашук А.М. Псориаз как коллагеновая болезнь (клинико-морфологические исследования). - Харьков: Изд-во Харьковск. ун-та, 1993.- 166 с.
2. Димант Л. Э. Терапия больных псориазом с учетом иммуноморфологических маркеров воспаления и пролиферативной активности кератиноцитов кожи: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. - 2001. - 32 с.
3. Довжанский С.И. Псориаз или псориагическая болезнь. - В 2-х ч. — Саратов: Изд-во Саратовск. ун-та, 1992. - Т. 1. - 260 с.
4. Коржова Т.П. Терапія псориазу з урахуванням особливостей клінічного перебігу дерматозу, процесів ліпопероксидації та при наявності ентеровірусної інфекції в організмі: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.20 / Укр. нац. мед. ун-т ім. О.О. Богомольця. -К., 2002. - 20 с.
5. Короткий Н.Г. Перший досвід застосування анти-Фно- $\alpha$  (ремикеїд) при важкому перебігу псориазу // Вісник дерматології й венерології. - 2001. - № 4. - С. 36-36.
6. Короткий Н.Г., Уджуху В.Ю., Абдуллаева АЗ, и др. Комплексная иммуномодулирующая терапия больных псориазом // Рос. журнал кожных и венерических болезней. - 2001. -№ 1. - С 14-16.
7. Лифшиц Е.Г., Федотов В.П. Иммунопатоморфологические аспекты псориагической болезни // Дерматовенерология. Косметология. Сексопатология. - 2005. - № 1-2 (8). -С. 148-154.
8. Новиков А.И., Кононов А.В., Охлопков В.А., Правдина О.В., Братухина Г.Д., Городилов Р.В. Иммунохимические исследования при псориазе // Вестник дерматологии и венерологии. - 2003.-№ 3. - С. 26-28.
9. Новиков А.И., Кононов А.В., Охлопков В.А., Правдина О.В., Братухина Г.Д., Городилов Р.В., Чермошенцев А.А. Эффективность глутоксима в комплексной терапии больных каплевидной формой псориаза // Российский журнал кожных и венерических болезней. -2003.-№1.-С. 38-41.
10. Суханова Н.М., Самсонов В.А., Смольяникова В.А. Дайвонекс (кальципотриол) в комплексной терапии больных псориазом с учетом иммуногистохимических показателей кожи // Вестник дерматологии и венерологии. - 2003. - № 4. - С. 26-29.
11. W.Batinac T., Zamolo C, Jonjic N., Gruber K, Petrovecki M. p53 protein expression and cell proliferation in non-neoplastic and neoplastic proliferative skin diseases // Tumori. - 2004. -Vol. 90, No 1.-P. 120-127.
12. Bos J.D., De Rie M.A. The pathogenesis of psoriasis: immunological facts and speculations // Immunol. Today. - 1999. - Vol. 1. - P. 40-45.
13. Chaturvedi V., Cesnjaj M., Bacon P., Panella J., Choubey D., Diaz M.O., Nickoloff B.J. Role of INK4a/Arf locus-encoded senescent checkpoints activated in normal and psoriatic kera-tyncytes // Am. J. Pathol. - 2003. - Vol. 162, No 1. - P. 161-170.
14. Krueger G. Clinical response to alefacept: results of a phase 3 study of intravenous administration of alefacept in patients with chronic placjue psoriasis // JEADV. - 2003. - Vol. 17. - Suppl. 2. - P. 17-24.
15. Laporte M., GalandP., Fokan D. et al. Apoptosis in Established and Healing Psoriasis // Der-matol.-2000. - Vol. 200.- Suppl. 4. - P. 314-316.
16. Lee E., Jeon S.H., Yi J.T. et al. Calci potriol inhibits autocrine phosphorylation of EGF receptor in a calcium-dependent manner, a possible mechanism for its inhibition of cell proliferation and stimulation of cell differentiation // Biochem. Biophys. Res. Commun. - 2001. -Vol. 284. - Suppl. 2. - P. 419-425.
17. Mease P. J., Goffe B.S., MetzJ. et al. Etanercept in treatment of psoriatic arthritis and psoriasis: a randomized trial // Lancet. - 2000. - Vol. 356. -P. 383-390.

#### **ІМУНОГІСТОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ШКІРИ ХВОРИХ НА ПСОРІАЗ ТА КОРЕКЦІЯ ВИЯВЛЕНИХ ПОРУШЕНЬ.**

*Дашук А.М., Пустова Н.О.*

Обговорюються результати вивчення імуногістохімічних характеристик гіперпроліферативних процесів на рівні інгібіторів клітинного циклу у хворих псориазом і оцінки патогенетичних механізмів сучасних методів терапії. Виявлено збільшення експресії білків p16, p19, p21, p53 в шкірі хворих псориазом. Розроблені нові імуногістохімічні тести для вибору терапії і оцінки прогнозу перебігу псориазу. Якщо в процесі проведення комплексної терапії експресія білків p16, p19, p21, p53 не знижується, то це свідчить про неефективність проведеної терапії, а також говорить про несприятливий перебіг псориагического процесу. Якщо в міжрецидивний період до появи нових висипань на шкірі спостерігається збільшення експресії білків p16, p19, p21, p53, це свідчить про початок рецидиву і вимагає призначення протирецидивного курсу терапії. Для цього використовувався глутоксим - по 1,0 г внутрішньом'язово, щодня, 10 днів.

#### **IMMUNE AND HYSTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF SKIN OF PATIENTS WITH PSORIASIS AND CORRECTION OF THE REVEALED**

*Daschuk A.M., Pystova N.O.*

The purpose of the research is determination of role of inhibitors of cellular cycle in pathogenesis of psoriasis and efficacy evaluation for pathogenetic mechanisms of therapy. For the purposes of study of cytological characteristic of hyperproliferative processes at the inhibitors of cellular cycle level in skin of diseased patients with psoriasis at steady state and progressive state a biopsy of the plaque skin was performed. On the basis of this

research evaluation of pathogenetic mechanisms during psoriasis at the inhibitors of cellular cycle level was realized, proteins (p16, p19, p21, p53) expression in psoriatic patient's skin before and after therapy was evaluated. The administration of Glutoksim - in standard schemes of treatment was grounded; that medicine normalizes metabolic processes in cells, accelerates reverse evolution of psoriasis and reduces terms of hospital treatment