

На правах рукописи

Зыкова Елена Александровна

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ СОПОСТАВЛЕНИЯ
У ПАЦИЕНТОВ С ВУЛЬГАРНЫМ ПСОРИАЗОМ
НА ФОНЕ ПРОВЕДЕНИЯ ОТДЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ
ТРАДИЦИОННОЙ ТЕРАПИИ**

14.01.10 – кожные и венерические болезни

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2016

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

кандидат медицинских наук, доцент **Правдина Ольга Валерьевна**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, доцент **Дмитрук Вадим Степанович**

(Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, профессор кафедры дерматовенерологии и косметологии)

доктор медицинских наук, доцент **Филимонкова Нина Николаевна**

(Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии, г. Екатеринбург, ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела)

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Иркутск)

Защита диссертации состоится « ____ » _____ 2016 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.06 на базе Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; тел.: (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52; <http://www.ngmu.ru/dissertation/389>)

Автореферат разослан « ____ » _____ 2016 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

Т. Б. Решетникова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Псориаз (чешуйчатый лишай) – воспалительное хроническое кожное заболевание с выраженной генетической основой, для которого характерны комплексные изменения роста и дифференцировки эпидермиса, а также биохимические, иммунологические и сосудистые аномалии (Кубанова А. А., Иванов О. Л. и др., 2012). Высокий удельный вес псориаза среди других болезней кожи составляет 12–15 %, чем обуславливает значительный интерес к этому заболеванию. В течение последних 10–15 лет наблюдаются рост заболеваемости этим дерматозом, «омоложение» контингента больных, учащение случаев тяжелых форм, недостаточная эффективность существующих методов терапии.

В патогенезе вульгарного псориаза ведущее значение имеют нарушения в системе как врожденного, так и приобретенного иммунитета, проявляющиеся в чрезмерной активации клеточного звена. Первой линией защиты организма от патогенов является врожденный иммунитет. Toll-подобные рецепторы (TLR) имеют большое значение в ранней защите организма от патогенных микроорганизмов, на которые ложится реализация специфичности врожденной иммунной системы. В научных работах R. Medzhitov, C. J. Janeway толл-подобные рецепторы рассматриваются как ключевые рецепторы врожденного иммунитета. Изучение TLR выявило взаимосвязь между врожденным и приобретенным иммунитетом.

В настоящее время существует большое количество вариантов традиционной терапии, что затрудняет выбор тактики ведения пациентов для молодых специалистов при первичной постановке диагноза. Несмотря на широкий спектр иммунологических исследований эффективности различных форм терапии псориаза, в современной литературе недостаточно освещен вопрос о влиянии этих препаратов на иммунные механизмы формирования псориазической папулы.

Таким образом, исследование иммунных реакций *in situ* является крайне актуальным, а также разрешает произвести оценку результативности терапии и разработать тактику ведения пациентов с вульгарным псориазом.

Цель исследования. Провести комплексный клинико-морфологический анализ с оценкой состояния толл-подобных рецепторов 2 и 4 типов в динамике под влиянием различных схем лечения у пациентов с вульгарным псориазом для оптимизации выбора терапии.

Задачи исследования

1. Оценить клинико-морфологическую эффективность ПУВА-терапии и комбинации кальципотриола и бетаметазона дипропионата у пациентов с вульгарным псориазом в прогрессирующую стадию заболевания.

2. Выявить характер гистологических изменений в биоптатах элементов сыпи в динамике под влиянием различных схем терапии у пациентов с вульгарным псориазом.

3. Оценить состояние системы антиген-распознающих рецепторов (TLR2, TLR4) в псориатической папуле под влиянием различных вариантов лечения.

4. На основании клинико-морфологических сопоставлений обосновать выбор наиболее эффективной терапии для пациентов с вульгарным псориазом.

Научная новизна. Выявлено снижение количества TLR2-, TLR4-позитивных кератиноцитов в измененной коже пациентов с вульгарным псориазом.

Выявлено, что характер редукции морфологических изменений в псориатической папуле не зависит от выбора метода традиционной терапии.

Практическая значимость. Обоснован выбор эффективных методов лечения для больных с обыкновенной формой псориаза на основании комплексного клинико-морфологического анализа с оценкой состояния толл-подобных рецепторов 2 и 4 типов. Выявлена группа пациентов, у которых после проводимого лечения при гистологическом исследовании сохраняются минимальные признаки прогрессирования процесса при наличии клинически стационарной стадии, что является поводом для быстрого рецидивирования заболевания. Поэтому таким больным дополнительно показано иммуногистохимическое исследование с оценкой состояния толл-подобных рецепторов 2 и 4 типов.

Результаты научного исследования свидетельствуют о высокой клинической эффективности комплекса лечебных мероприятий, включающих применение комбинации кальципотриола/бетаметазона дипропионата в традиционной терапии, отмечается у больных псориазом в возрастной категории до 29 лет, давностью дерматоза до 15 лет, рецидив дерматоза у которых спровоцирован инфекционным фактором, отсутствием в анамнезе системной иммуносупрессивной терапии. ПУВА-терапия более оправдана в качестве основного метода лечения для пациентов с вульгарным псориазом в

возрастной категории до 49 лет, давностью дерматоза до 15 лет и мультифакториальной природой рецидива.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Выбор терапии в комплексном лечении вульгарного псориаза определяется с учетом клинических и гистологических признаков.

2. Регресс иммунного воспаления у больных вульгарным псориазом ассоциирован со снижением TLR2-, TLR4-позитивных кератиноцитов и не зависит от вариантов проводимой терапии.

Апробация работы. Основные положения работы доложены и одобрены на 3-м Всероссийском конгрессе дерматовенерологов (Казань, 2009), на 10-м Всероссийском съезде дерматовенерологов (Екатеринбург, 2010), на научно-практической конференции дерматовенерологов и косметологов Сибирского федерального округа (Омск, 2011), на заседании Омского регионального отделения Общероссийской общественной организации дерматовенерологов и косметологов «Наружная терапия псориаза: проблемы и пути решения» (Омск, 2011, 2012, 2013), на научно-практической конференции дерматовенерологов и косметологов Южного федерального округа «Клинико-морфологическая оценка современной наружной терапии псориаза» (Краснодар, 2011), на заседании Московского общества дерматовенерологов и косметологов А. И. Поспелова «Современные представления о патогенезе псориаза» (Москва, 2012), на 12-м Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов (Москва, 2012), на областной научно-практической конференции «Рациональный подход к наружной терапии псориаза» (Омск, 2012).

Внедрение в клиническую практику. Результаты научного исследования используются на кафедре дерматовенерологии и косметологии и кафедре патологической анатомии Омского государственного медицинского университета, а также в лечебной работе поликлинического и кожного отделений БУЗ ОО «Клинический кожно-венерологический диспансер» (г. Омск).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 6 научных работ, в том числе 4 статьи в журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов для публикаций материалов диссертации.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 137 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырех глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных

обозначений, списка литературы и списка иллюстративного материала. Список литературы представлен 133 источниками, из которых 67 – зарубежных авторов. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 19 таблиц и 56 рисунков.

Личный вклад автора. Автором выполнен объем работ по дифференцировке и ведению пациентов, по обзору отечественных и зарубежных литературных источников, подготовлен дизайн исследования. Выполнена гистологическая обработка биопсийных тканей, подготовлены срезы биоптатов, на которых была изучена иммуногистохимическая реакция. Используя световой микроскоп, получен анализ гистологических и иммуногистохимических препаратов. Проведена документальная фотосъемка патоморфологической картины. Выполнен морфометрический анализ изучаемых показателей. Произведена статистическая обработка данных посредством прикладного программного обеспечения, интерпретированы результаты исследования, сформулированы выводы и практические рекомендации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

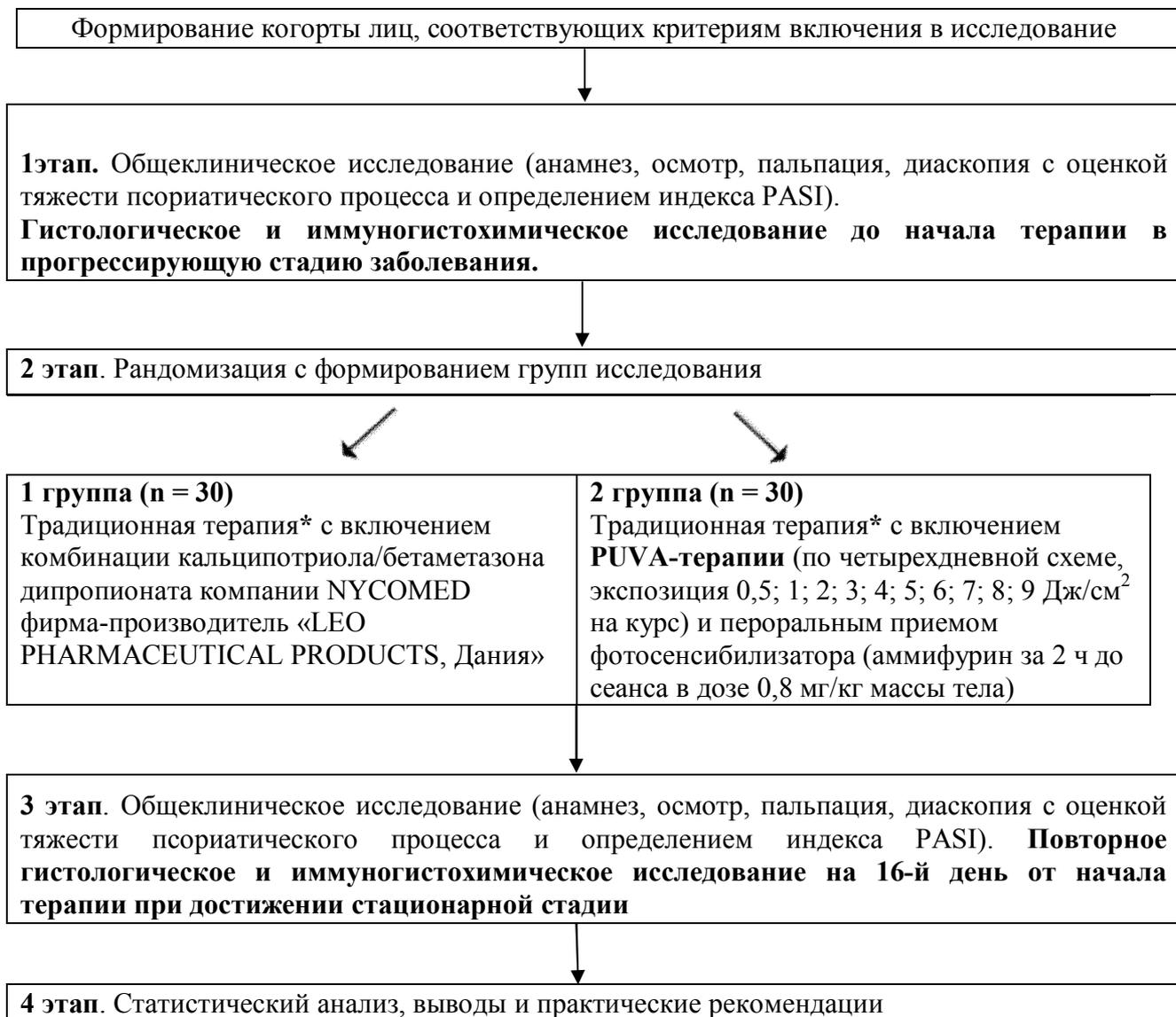
Исследование одобрено локальным этическим комитетом Омского государственного медицинского университета.

Набор клинического материала осуществлялся на кафедре дерматовенерологии и косметологии (зав. кафедрой д-р. мед. наук, проф. В. А. Охлопков) Омского государственного медицинского университета и в отделении дерматологии (зав. отделением канд. мед. наук Т. В. Репина) БУЗ ОО «Клинический кожно-венерологический диспансер» г. Омска. Гистологические и иммуногистохимические исследования были выполнены на кафедре патологической анатомии (зав. кафедрой д-р мед. наук, заслуженный деятель науки РФ, профессор А. В. Кононов) Омского государственного медицинского университета.

Критерии включения: мужчины в возрасте от 18 до 55 лет, страдающие вульгарной формой псориаза более 5 лет в прогрессирующую стадию.

Критерии исключения: лица с декомпенсацией хронических заболеваний, осложненными формами псориаза, страдающие алкоголизмом и наркоманией, отягощенным аллергологическим анамнезом. Пациенты, получившие курс терапии менее 6 месяцев назад, нарушившие режим лечения и принимающие медикаменты, которые могут оказывать влияние на течение основного заболевания.

Согласно установленной цели и задачам, исследование проводилось в дизайне открытого проспективного контролируемого рандомизированного (рисунок 1).



*Традиционная терапия включает: аевит по 1 капсуле 3 раза в день в течение 16 дней, цетиризин по 10 мг вечером в течение 7 дней, тиосульфат натрия 30 % – 10,0 внутривенно в течение 10 дней, эссенциале 5,0 внутривенно в аутокрови в течение 10 дней, пентоксифиллин 5,0 + физиологический раствор 200,0 внутривенно капельно в течение 10 дней, аскорбиновая кислота 5 % – 2,0 внутримышечно в течение 10 дней, наружно: вазелин.

Рисунок 1 – Дизайн исследования

В исследовании приняло участие 60 пациентов (мужчин) в возрастной категории от 18 до 55 лет, с давностью дерматоза от 5 до 30 лет в

прогрессирующую стадию заболевания на момент включения в исследование и в стационарную и регрессирующую стадии в течение исследования.

Для стадии прогрессирования заболевания характерны следующие признаки: рост мелких папул и бляшек по периферии (венчик роста Пильнова), появление новых высыпаний багрово-красного цвета с выраженным рыхлым серебристо-белым шелушением в центральной части элементов, наличие анемичной зоны вокруг высыпаний из-за нарушения микроциркуляции. Патогмонична триада симптомов: «стеаринового пятна», «терминальной пленки» и «точечного кровотечения». Эта триада выявляется путем поскабливания поверхности псориатической бляшки. Патологический процесс носит распространенный характер и локализуется на разгибателях верхних и нижних конечностей, в частности в области коленных и локтевых суставов, в зоне роста длинных волос на голове («псориатическая корона»), на крестцовом отделе позвоночника, боковых поверхностях туловища. Определяется изоморфная реакция (феномен Кебнера) – возникновение новых очагов на местах травматизации кожи.

Для стационарной стадии характерно отсутствие свежих эффоресценций, периферического роста папулезных элементов и бляшек, регресса папул и бляшек в центральной зоне и по периферии в виде «псевдоатрофического» ободка Воронова. Чешуйки занимают всю поверхность папул или бляшек, они бледнеют и уплощаются за счёт уменьшения инфильтрата.

Клиническая картина в регрессирующую стадию дерматоза характеризуется уплощением папулезных элементов, прекращением шелушения. В последующем на месте бывших очагов поражения кожи формируются гиперпигментированные участки или участки вторичной («ложной») лейкодермы. Феномен Кебнера не воспроизводится.

В клиническом исследовании применялся индекс площади и тяжести заболевания (PASI) для определения степени тяжести дерматоза и эффективности проводимой терапии до начала терапии и в течение процесса терапии. Результаты терапии в первой и второй группах определялись по степени очищения кожи от псориатических элементов (PASI-индекс) и средней продолжительности терапии. Индекс PASI у пациентов первой группы составил от 10,2 до 14,26 баллов; во второй группе – от 10,4 до 14,28 баллов. Среднее значение PASI-индекса составило $12,18 \pm 0,71$ и $12,34 \pm 0,75$ соответственно.

Регресс высыпаний до пигментированных и депигментированных пятен на месте псориатических элементов можно оценить как клиническое выздоровление. Уменьшение индекса PASI на 75 % и выше определяется как значительное клиническое улучшение (регресс 80 % высыпаний). Уменьшение индекса PASI на 25–75 %, размера псориатического очага до мелких папул расценивалось как клиническое улучшение. Уменьшение индекса PASI менее чем на 25 % в случае прекращения прогрессирования патологического процесса, уменьшения очагов псориатического поражения принимается за незначительное клиническое улучшение (Адаскевич В. П., 2004).

С согласия пациентов и для определения эффективности терапии проводилась punch-биопсийное исследование кожи до и после начала лечения на 16-й день терапии. В стадию прогрессирования дерматоза с краевой зоны бляшки выполняли биопсию, с захватом зоны роста и инфильтрации, не задевая здоровую кожу. Биопсия периферической зоны высыпаний с включением «псевдоатрофического» ободка Воронова и зоны незначительной инфильтрации проводилась в стационарную стадию. В регрессирующую стадию процесса биопсии подвергали зону пигментированных очагов на месте разрешившихся папул.

Гистологический метод. Фиксацию кусочков кожи производили в 10 % растворе формалина на фосфатном буфере (рН 7,2–7,4) в течение 24 часов. Согласно протоколу исследования, выполняли проводку, заливку в парафин и приготовление парафиновых срезов (Пирс Э., 1962; Лили Р., 1969; Саркисов Д. С., 1996). Окраску срезов производили гематоксилином и эозином. Изготовление буферных растворов, красителей и технику окрашивания выполняли по прописям, приведенным в соответствующих руководствах (Саркисов Д. С., 1996). На фотомикроскопе NIKON Eclipse 400 проводили фотографирование и просмотр микропрепаратов.

Иммуногистохимическое исследование. Иммуногистохимическое исследование выполняли для определения характера экспрессии толл-подобных рецепторов 2 и 4 типов в биоптатах кожи с псориатической бляшки. Проводили на серийных парафиновых срезах с использованием мышинных поликлональных антител к TLR2 и TLR4 производства фирмы Epitomics (USA, catalog TO337 и catalog TO342), разведение 1 : 100. Иммуногистохимическую реакцию проводили согласно протоколу, который был приложен к коммерческому набору реагентов.

Морфометрические методы исследования. Для объективной оценки степени акантоза измерялась толщина эпидермиса в 5 полях зрения (от базальной мембраны до рогового слоя). При этом в каждом поле зрения был выбран самый длинный акантотический тяж и участок наиболее истонченного эпидермиса. В дальнейшем полученные 10 показателей суммировались и вычислялось среднее арифметическое значение, выраженное в микрометрах. Оценка экспрессии паттерн-распознающих рецепторов в эпидермальном пласте производилась путем расчета позитивных клеток на 1 000 кератиноцитов, вычисляя индекс экспрессии.

Статистические методы исследования. Для обработки полученных результатов использовали альтернативный анализ, метод вариационной статистики: вычисление средней арифметической (M) и ее ошибки (m), среднеквадратичного отклонения (σ), определяли достоверность различий средних величин и показателей, использовали парный t -тест для средних величин, непараметрический критерий Уилкоксона – Манна – Уитни. Проверка нормальности распределения производилась с использованием критерия Шапиро – Уилки (Петри А., 2003). Средние выборочные значения количественных признаков приведены в тексте в виде $M \pm SE$, где M – среднее выборочное, SE – стандартная ошибка среднего (Лапач С. Н., Голева О. П., 2001). Минимально-допустимый уровень вероятности (95 %) применялся с целью статистической оценки результатов исследования.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В исследовании приняло участие 60 пациентов (мужчин) в возрастной категории от 18 до 55 лет, с давностью дерматоза от 5 до 30 лет в прогрессирующую стадию заболевания до начала терапии.

Средний возраст больных составил ($36,3 \pm 10,53$) года, 90 % пациентов первой и второй групп были лица наиболее трудоспособного возраста (от 20 до 50 лет). Высокий удельный вес в первой группе занимали пациенты в возрасте 20–29 (36,7 %) и 30–39 (26,7 %) лет, а во второй группе – пациенты в возрасте 20–29 лет (26,7 %) и 40–49 лет (33,3 %).

Первые клинические признаки псориаза у пациентов чаще всего наблюдались в возрасте 10–30 лет. Появление заболевания в этой возрастной категории обусловлены психоэмоциональным перенапряжением и гормональным дисбалансом в молодом организме. Первоначальные симптомы заболевания почти не наблюдались у лиц старше 50 лет. Существенное

количество больных страдало вульгарным псориазом длительный период времени. Давность дерматоза у пациентов двух групп (56,7 %) составляет от 5 до 15 лет. В среднем уровень продолжительности заболевания варьирует ($14,83 \pm 9,01$) лет и ($12,27 \pm 7,50$) лет.

Возникновение псориаза определено наследственными и средовыми факторами (Родионов А. Н., 2003). Исследование еще раз подтвердило доказательность этого утверждения, так как генетическая предрасположенность к дерматозу чаще всего наблюдалась по мужской линии. Психоэмоциональный фактор – 13 (21,3 %) и прием алкоголя – 9 (15,0 %) – частые триггерные факторы, провоцирующие вульгарный псориаз.

У 4 пациентов (6,7 %) обострение дерматоза было связано с физической травматизацией кожи. Переохлаждение как фактор, послуживший «толчком» для обострения заболевания, выявлено у 2 (3,3 %) пациентов. У 32 больных (53,3 %) триггерный фактор не установлен.

Частота рецидивов дерматоза – это важный критерий оценки степени тяжести течения заболевания. Высокую долю пациентов, находящихся на стационарном лечении, составляют лица, у которых рецидив болезни приходится на осенне-зимний период времени – 52 (86,7 %). Однако у восьми пациентов отсутствовала связь обострения дерматоза со временем года. Проведение или отсутствие фотохимиотерапии в прошлом отображалось в индивидуальных регистрационных картах больных. Среди пациентов, включенных в исследование, 11 (36,7 %) больных первой группы и 13 (43,3 %) пациентов второй группы получали ранее фотохимиотерапию (ПУВА-терапия).

В первой группе пациентов с вульгарным псориазом ($n = 30$) на фоне традиционного лечения в качестве препарата наружной терапии назначалась комбинация кальципотриола/бетаметазона дипропионата, обладающая иммуносупрессивным, антипролиферативным, противовоспалительным действием. У всех пациентов первой группы на 3–4-й день лечения наблюдалось прекращение возникновения новых высыпаний, отсутствовал рост очагов по периферии, уменьшалась острота воспалительных явлений и очищение элементов от патологического шелушения. Феномен Кебнера не воспроизводился, была характерна слабая выраженность симптомов псориатической триады. В процессе терапии отмечался плавный регресс папул и бляшек в центральной зоне и по периферии в виде «псевдоатрофического» ободка Воронова. Регресс элементов сыпи отмечался на 10–12-е сутки лечения.

У больных второй группы регресс элементов сыпи наблюдался длительно. Показатель PASI у больных первой группы на 16-е сутки терапии составил 4,63 балла, в отличие от пациентов 2 группы, где показатель PASI составил 8,92 балла. При статистическом исследовании выявлено достоверное снижение этого показателя ($p = 0,0001$). У 16 больных (53,3 %) первой группы отмечено значительное клиническое улучшение и у 13 пациентов (43,3 %) – клиническое улучшение, а во второй группе основная доля пациентов составляла 93,3 %, что свидетельствовало о клиническом улучшении.

Первичное проявление псориаза подразумевает связь с микробной инфекцией, например, с тонзиллитами, вызванными β -гемолитическими стрептококками группы А. Установлено, что бактериальные токсины *S. aureus*, действуют как суперантигены. Эти антигены приводят к нарушению контроля активации Т-лимфоцитов и запускают клоны Т-лимфоцитов, что ведет к выраженной активации Т-клеток и освобождению цитокинов (Prinz J. C., 2009).

У пациентов первой группы значительное клиническое улучшение зарегистрировано у 19 (63,3 %) человек и клиническое улучшение – у 10 (33,3) человек, обострение у которых ассоциировано инфекционным агентом, в отличие от пациентов второй группы, где у основной доли пациентов (25 человек, 83,3 %) отмечалось клиническое улучшение.

Наиболее эффективным оказалось лечение в возрасте до 29 лет. Однако наиболее устойчивыми к проводимой терапии оказались больные первой и второй групп старше 50 лет.

Очевидно, что клиническая эффективность комплексной терапии в зависимости от длительности заболевания высока у лиц, страдающих псориазом менее 15 лет. Эти результаты согласуются с результатами данных второй группы. У восьми пациентов первой группы (44,4 %) отмечалось значительное улучшение и у пяти пациентов (41,7 %) только клиническое улучшение. У одного пациента (3,3 %) второй группы отмечается значительное клиническое улучшение и у четырнадцати пациентов (46,7 %) – клиническое улучшение. Установлено, чем больше длительность дерматоза, тем ниже процент благоприятной динамики.

Результативность терапии в зависимости от присутствия в анамнезе системной иммуносупрессивной терапии выше у пациентов двух групп, не получавших ранее тот или иной вид системной иммуносупрессивной терапии. Однако у тринадцати пациентов (68,4 %) из двадцати первой группы отмечено

значительное клиническое улучшение (регресс более 80 % высыпаний). У значительного количества пациентов второй группы регистрировалось клиническое улучшение.

Проведенный анализ данных индекса PASI к 16-му дню терапии в обеих группах однозначно показал уменьшение данного показателя у пациентов первой группы с давностью болезни менее 15 лет ($U = 0,002$; $p = 0,003$), что свидетельствует об эффективности применения комбинации кальципотриола/бетаметазона дипропионата.

Таким образом, применение комбинации кальципотриола/бетаметазона дипропионата в комплексной терапии пациентов первой группы, страдающих вульгарным псориазом, обладает высокой клинической эффективностью, что делает ее препаратом выбора для пациентов в возрастной категории до 29 лет, с давностью дерматоза до 15 лет, рецидив у которых ассоциирован с инфекционным фактором и отсутствием в анамнезе системной иммуносупрессивной терапии.

Пациентам второй группы ($n = 30$) назначалась ПУВА-терапия.

На 7–8-е сутки от момента начала терапии отмечалась стабилизация патологического процесса, которая выражалась отсутствием появления новых высыпаний, снижением остроты воспалительных явлений, уменьшением выраженности зуда. Затем отмечался плавный регресс папул и бляшек в области центра и по периферической зоне в виде «псевдоатрофического» ободка Воронова. Феномен Кебнера не воспроизводился, были слабо выражены симптомы псориатической триады. Регресс элементов сыпи отмечался на 14–16-й день терапии. Показатель PASI у больных второй группы на 16-й день терапии составил 8,92 балла (рисунок 2).

У одного пациента (3,3 %) второй группы отмечалось значительное клиническое улучшение, у двадцати восьми больных (93,3 %) – клиническое улучшение и у одного пациента (3,3 %) – незначительное клиническое улучшение. Данные клинической эффективности в зависимости от возраста демонстрируют, что максимальный эффект отмечался в возрасте до 49 лет.

Наиболее устойчивыми к проведенному лечению являются лица в возрасте более 50 лет.

Патологический процесс разрешался быстрее у пациентов с вульгарным псориазом с давностью дерматоза до 15 лет. При длительности заболевания более 15 лет клиническая эффективность снижается.

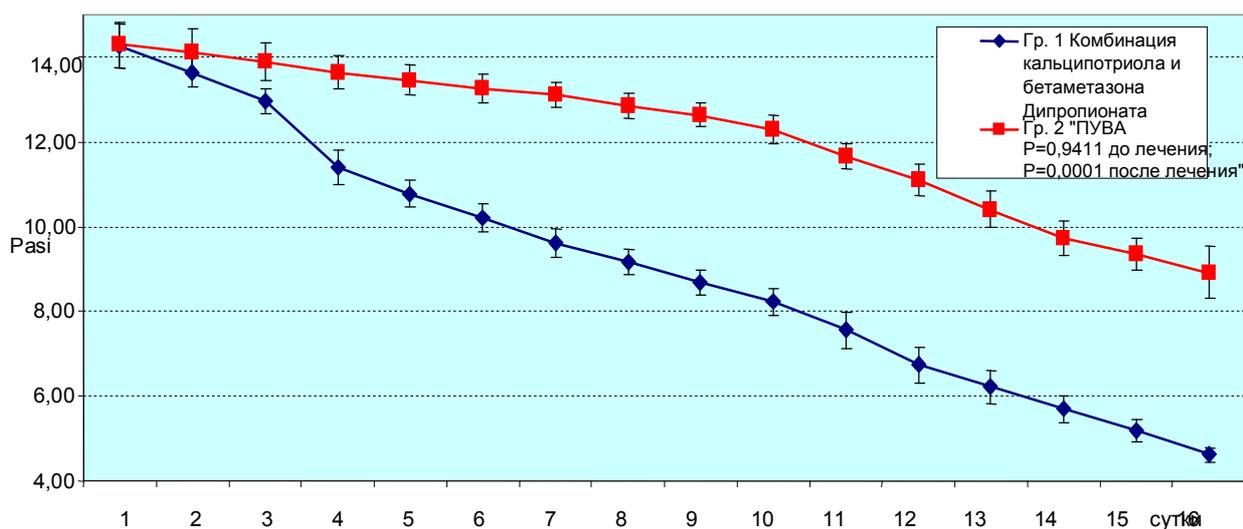


Рисунок 2 – Динамика индекса PASI в группах исследования на 1-е и 16-е сутки от момента начала терапии

Анализ полученных данных выявил высокую эффективность терапии у лиц, не получавших ранее системную иммуносупрессивную терапии. К 16-му дню лечения из семнадцати (56,7 %) пациентов у шестнадцати (94,1 %) зарегистрировано клиническое улучшение и у одного (5,9 %) пациента – значительное клиническое улучшение.

Для последующего анализа клинической эффективности традиционной терапии нужно было оценить характер уменьшения показателя PASI к 16-му дню терапии в зависимости от давности болезни и присутствия в анамнезе системной иммуносупрессивной терапии. Следовательно, необходимо было распределить больных обеих групп на подгруппы. У пациентов второй группы к завершению терапии отмечалось яркое уменьшение показателя PASI, а именно у лиц, страдающих псориазом до 15 лет, но статистически достоверной разницы не выявлено ($U = 0,009$; $p = 0,005$).

Итак, у пациентов второй группы к моменту окончания терапии отсутствуют статистически значимые различия при анализе уменьшения индекса PASI. Эффективность терапии с использованием традиционных методов лечения в комплексе с ПУВА-терапией наблюдалась у всех пациентов с вульгарным псориазом вне зависимости от давности болезни и наличия иммуносупрессивной терапии в анамнезе.

В исследовании были изучены 60 биоптатов кожи с псориазической папулы, взятых у пациентов с их согласия до лечения. До начала проведения

терапии у всех пациентов наблюдалась прогрессирующая стадия заболевания. У 60 пациентов в биоптатах кожи морфологически была выявлена стадия прогрессирования патологического процесса. Гистологические проявления патологического процесса у пациентов первой и второй групп в прогрессирующей стадии заболевания носят патогномоничный характер. Полиморфно-клеточный воспалительный инфильтрат лежит в основе псориатической папулы и расположен в границах дермы и в эпителиальном компартменте. Клетки базального слоя локализовались на базальной мембране, имели овальную форму и нечеткие границы. В базальном и супрабазальных слоях эпидермиса встречалось большое количество фигур митозов. Кератиноциты шиповатого слоя имели полигональную форму с выраженной цитоплазмой и многочисленными шипиками. Для ядер клеток шиповатого слоя характерна была гипохромия с наличием 2-4 ядрышек. Зернистый слой в биоптатах отсутствовал. Роговой слой представлен клетками с вытянутыми ядрами и имел слоистое строение.

Значимым диагностическим маркером прогрессирующей стадии вульгарного псориаза являются очаговые скопления нейтрофильных лейкоцитов в субкорнеальном отделе эпидермиса (микроабсцессы Мунро-Сабуро-Копытовского). В новообразованных сосудах сосочкового слоя дермы обнаружены явления полнокровия. Феномен краевого стояния лимфоцитов обнаруживался в просветах капилляров мелкого калибра. Мононуклеарный воспалительный инфильтрат в сетчатом слое дермы создавал плотные муфты вокруг сосудов. В эпидермисе определялись характерные для псориаза структурные изменения с гиперплазией зернистого слоя и признаками паракератоза и гиперкератоза. Акантоз имел регулярный характер с яркой пролиферацией гребешков эпидермиса внутрь дермального пласта.

У 30 больных первой группы, комплексная терапия которых включала комбинацию кальципотриола/бетаметазона дипропионата, к 16-му дню лечения определены разные стадии течения патологического процесса.

У 28 пациентов после проведенной комплексной терапии получилось достичь перехода патологического процесса в стационарную и регрессирующую стадии дерматоза. В регрессирующую стадию в очагах гиперкератоза воспалительный инфильтрат не наблюдался.

При сравнительной характеристике биоптатов пациентов в первой и второй исследовательских точках наблюдались качественные и количественные

изменения в воспалительном инфильтрате. В любом компартменте кожи полностью отсутствовали нейтрофильные лейкоциты. Выраженность акантоза изменялась от слабой до умеренно выраженной. В эпителиальном пласте явления дистрофии вакуолей не выявлялись. В пределах эпидермиса наблюдались немногочисленные лимфоциты. Уменьшалась область инфильтрата воспаления, в состав которой входили лимфоциты и макрофаги, обнаруженные вокруг сосудов.

В биопсийном материале двух больных первой группы обнаружены признаки минимального прогрессирования дерматоза.

Гиперкератоз носил умеренный характер. Клетки рогового слоя эпидермиса имели палочковидные ядра. Паракератоз слабо выражен, по сравнению с больными в стадию прогрессирования дерматоза. В биоптатах пациентов этой группы отсутствовали субкорнеальные микроабсцессы. Интраэпидермально локализовались единичные лимфоциты. Полнокровные сосуды располагались в сетчатом слое дермы, вокруг них находились инфильтраты, состоящие из лимфоцитов и макрофагов.

Во второй группе пациентов с вульгарным псориазом (27 человек) наблюдалось угасание воспалительного процесса до стационарной стадии. Уменьшалась интенсивность акантоза, разрешалась инфильтрация нейтрофильными лейкоцитами, сокращалось число макрофагов и лимфоцитов. В биоптатах трех пациентов отмечалась частичная редукция морфологических изменений прогрессирования вульгарного псориаза, которая не позволяет отнести эту группу биоптатов к стационарной стадии воспалительного процесса. Отмечались явления дистрофии в очагах эпидермальных клеток, слабо выраженная пролиферация эпидермальных тяжей. Значительное число лимфоцитов располагалось интраэпителиально.

На основании вышеизложенного можно сделать вывод, что степень выраженности гистологических изменений в биопсийном материале больных первой и второй групп не зависит от схемы терапии.

На основании субъективной гистологической оценки тяжести процесса воспаления вульгарного псориаза не было выявлено отличий между первой группой пациентов, получавших комплексное лечение с включением кальципотриола/бетаметазона дипропионата, и второй группой пациентов, находившихся на традиционной терапии (с включением ПУВА).

Морфометрическое исследование было проведено у 60 пациентов,

страдающих вульгарным псориазом. Для объективной оценки степени акантоза проводилось измерение толщины эпидермиса в 5 полях зрения (от базальной мембраны до рогового слоя). При этом в каждом поле зрения был выбран самый длинный акантотический тяж и участок наиболее истонченного эпидермиса. У пациентов 1-й группы с включением в традиционную терапию комбинации кальципотриола/бетаметазона дипропионата и у больных 2-й группы с включением ПУВА-терапии во второй точке исследования отмечается статистически достоверное уменьшение толщины эпидермиса ($p < 0,001$). В исследовании при сравнительной оценке результативности проведенного лечения у пациентов 1-й и 2-й групп в первой точке исследования показано, что толщина эпидермиса в обеих группах была одинаковой ($p = 0,584$). Во второй точке исследования у больных в обеих группах статистически достоверных различий толщины эпидермиса не выявлено ($p = 0,723$).

Таким образом, традиционная терапия с включением комбинации кальципотриола/бетаметазона дипропионата и ПУВА-терапия оказывают одинаковое влияние на регресс акантоза в коже пациентов вульгарным псориазом.

В связи с этим, можно сделать вывод об эффективности использованных вариантов традиционной терапии. Включение комбинации кальципотриола/бетаметазона дипропионата и ПУВА-терапии в лечении больных вульгарным псориазом приводит в конечном итоге к достижению как клинического, так гистологического эффекта. Благоприятное действие комбинации кальципотриола/бетаметазона дипропионата на клиническую симптоматику и течение дерматоза выявило высокую эффективность созданного метода терапии. В проведенном исследовании показан значительный клинический эффект традиционной терапии с включением комбинации кальципотриола/бетаметазона дипропионата за счёт динамичного разрешения воспалительного процесса по сравнению с ПУВА-терапией.

ПУВА-терапия пациентов с вульгарным псориазом направлена на устранение одного из патогенетических механизмов образования папулы при вульгарном псориазе: на стабилизацию механизмов обновления клеток и усиление темпов апоптоза кератиноцитов путем непосредственного УФ-облучения. Таким образом, становится понятным обнаруженное статистически достоверное снижение количества TLR2 и TLR4 в эпидермисе. Нормализация процессов клеточного обновления под действием

ПУВА-терапии приводит к уменьшению объемной плотности эпидермиса, его истончению и уменьшению количества кератиноцитов, что соответственно сказывается на снижении количества экспрессируемых антиген-распознающих рецепторов.

В биоптатах 60 пациентов было проведено иммуногистохимическое исследование для определения характера экспрессии толл-подобных рецепторов 2 и 4 типов в биоптатах кожи с псориатической папулы (первая группа – 30 наблюдений, вторая группа – 30 наблюдений). Выполнялось на серийных парафиновых срезах с использованием мышинных поликлональных антител к TLR2 и TLR4 производства фирмы Epitomics (USA, catalog TO337 и catalog TO342), разведение 1 : 100.

Экспрессия толл-подобных рецепторов 2 и 4 типов в биопсийном материале при иммуногистохимическом методе исследования отмечалась только в эпидермисе. Следует отметить, что окрашиванию подвергались клетки базального и супрабазального слоев. Экспрессия толл-подобных рецепторов 2 и 4 типов не отмечалась: в зонах рогового слоя, паракератоза, на эндотелиальных клетках сосудов, в очагах микроабсцессов Мунро-Сабуро-Копытовского, на клетках воспалительного инфильтрата. Отмечено, что антитела к толл-подобным рецепторам 2 и 4 типов находились на поверхности клеточной мембраны, но цитоплазма имела фоновое неспецифическое окрашивание. Итак, это доказывает суждение многих учёных о нахождении данных рецепторов на мембранной поверхности клеток. Очевидно, что проникновение комплекса толл-подобный рецептор 2 типа-патоген и толл-подобный рецептор 4 типа-патоген в цитоплазматическую мембрану клетки не наблюдается. Отмечалось ярко выраженное уменьшение показателя метки в областях вакуольной дистрофии эпидермальных клеток. После проведенного статистического анализа методом рандомизации не было выявлено достоверных отличий индекса метки толл-подобных рецепторов 2 и 4 типов (рисунок 3), что говорит о равноправии 2-х изучаемых групп (TLR2, $p = 0,4795$; TLR4, $p = 0,9062$).

Анализируя экспрессию толл-подобных рецепторов 2 и 4 типов, во второй точке исследования у больных первой и второй групп с включением в традиционную терапию комбинации кальципотриола/бетаметазона дипропионата качественных изменений экспрессии данных рецепторов не выявлено. Наблюдалось статистически наиболее выраженное уменьшение индекса метки (рисунок 3) по отношению к показателям в первой точке

исследования (TLR2, 1-я группа, $p = 0,0010$; TLR4, 1 группа, $p = 0,0010$; TLR2, 2-я группа, $p = 0,0061$; TLR4, 2-я группа, $p = 0,0071$).

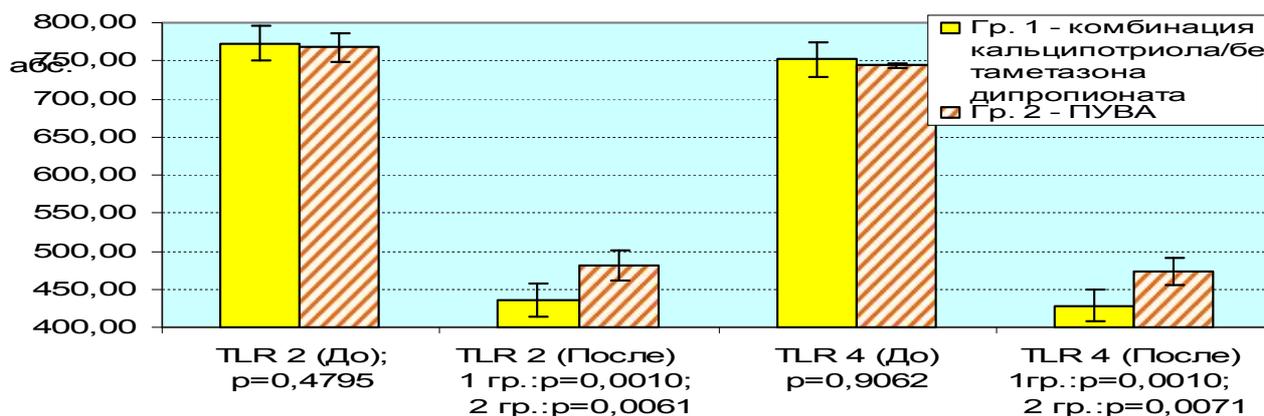


Рисунок 3 – Анализ выраженности экспрессии толл-подобных рецепторов 2 и 4 типов у больных первой и второй групп до начала терапии

Таким образом, у больных первой группы на момент завершения курса традиционной терапии отмечено ярко выраженное уменьшение числа TLR2-, TLR4-позитивных кератиноцитов, в сравнении с больными второй группы. Это свидетельствует о результативности проведенного лечения.

Влияние комбинации кальципотриола/бетаметазона дипропионата на процессы врожденного иммунитета в очагах поражения кожи. Значительное воздействие на механизмы приобретенного иммунитета, принимающие участие в образовании папулы при вульгарном псориазе, проявляет комбинация кальципотриола/бетаметазона дипропионата. Если рассматривать вульгарный псориаз как генетический дерматоз, то можно предположить его прямое участие в патогенезе реакций врожденного иммунитета. В запуске процесса воспаления при вульгарном псориазе главную роль играют механизмы связывания патогенов. Установлено, что паттерн-распознающие рецепторы выполняют основную роль во врожденном иммунитете. Данные научных исследований о расположении толл-подобных рецепторов в коже и их значение в инициации воспалительного процесса при обыкновенном псориазе недостаточны. В работах В. Baker описана значительная экспрессия TLR2 вверху шиповатого слоя эпидермиса в измененной коже пациентов с вульгарным псориазом. В научных трудах В. А. Beutler, G. K. Hansson (2005) показана значительная экспрессия паттерн-распознающих рецепторов 2 и 4 типов в области ядер клеток

эпидермиса, на эндотелиальных клетках кровеносных сосудов и гистиоцитах, макрофагах, находящихся в инфильтрате воспаления. В проведенной работе выявлена экспрессия толл-подобных рецепторов 2 и 4 типов только на кератиноцитах. Экспрессия толл-подобных рецепторов 2 и 4 типов не отмечалась на нейтрофильных клетках и на гистиоцитах воспалительного инфильтрата. Научных исследований, отражающих анализ показателей врожденного иммунитета на фоне патоморфоза терапии высыпаний при обыкновенном псориазе, крайне мало. В работах О. Р. Катуниной (2011) показана ведущая роль паттерн-распознающих рецепторов в инициации иммунного воспаления в коже больных псориазом. Это говорит о важном значении толл-подобных рецепторов в образовании процесса воспаления в коже пациентов с участием клеток адаптивного иммунитета.

Проведя анализ двух методик терапии, можно сделать заключение о непрямом воздействии на механизмы врожденного иммунитета. В данных исследования больных 1-й группы, которые получали традиционную терапию в сочетании с комбинацией кальципотриола/бетаметазона дипропионата, было установлено достоверное уменьшение экспрессии толл-подобных рецепторов 2 и 4 типов в эпидермальном пласте в отличие от больных 2-й группы, получавших ПУВА-терапию. Очевидно, это косвенный эффект препарата.

В научной работе выявлено, что уменьшение объемной плотности эпидермиса связано с абсолютным уменьшением числа толл-подобных рецепторов в коже. Однако снижение числа толл-подобных рецепторов может утверждать о наступлении «иммунологической ремиссии» обыкновенного псориаза.

ВЫВОДЫ

1. На основании клинико-морфологических методов исследования доказано, что включение в традиционную терапию больных с вульгарным псориазом комбинации кальципотриола/бетаметазона дипропионата ведет к наиболее ранней стабилизации патологического процесса на 3–4-й день терапии, достоверному уменьшению показателя PASI к 16-м суткам лечения (составляет 4,63 балла), высокому проценту наступления значительного клинического улучшения (53,3 %), скорому и полноценному регрессу элементов сыпи и уменьшению времени терапии.

2. На основании клинико-морфологических методов исследования доказано, что у пациентов с вульгарным псориазом, получающих

ПУВА-терапию, стабилизация патологического процесса отмечена на 7–8-й день терапии, уменьшение показателя PASI к 16-м суткам лечения (составил 8,92 баллов), у 3,3 % больных отмечено значительное клиническое улучшение.

3. Характер гистологических изменений в биоптатах элементов сыпи у обследуемых пациентов не зависит от схемы терапии.

4. Регресс воспалительного процесса обыкновенного псориаза характеризуется снижением выраженности воспалительного инфильтрата, состоящего из лимфоцитов и макрофагов, в псориатической папуле, а также уменьшением числа эпителиальных клеток, которые экспрессируют паттерн-распознающие рецепторы независимо от толщины эпителиального пласта.

5. Используя иммуногистохимические методы исследования, выявлена локализация толл-подобных рецепторов 2 и 4 типов на мембране кератиноцитов.

6. Применение комбинации кальципотриола/бетаметазона дипропионата в комплексной терапии пациентов, страдающих вульгарным псориазом, обладает высокой клинической эффективностью, что делает ее препаратом выбора для пациентов в возрастной категории до 29 лет, с давностью дерматоза до 15 лет, рецидив у которых ассоциирован инфекционным фактором, отсутствием в анамнезе системной иммуносупрессивной терапии, а применение ПУВА-терапии, в качестве базисного метода терапии, рекомендовано для пациентов с вульгарным псориазом в возрастной группе до 49 лет, давностью дерматоза до 15 лет и мультифакториальной природой обострения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Исследования с оценкой состояния толл-подобных рецепторов 2 и 4 типов показаны пациентам с минимальными признаками прогрессирования в псориатической папуле по окончании проводимой терапии.

2. Комплексная терапия с включением комбинации кальципотриола/бетаметазона дипропионата является высокоэффективным и относительно безопасным методом лечения пациентов вульгарным псориазом, преимущественно до 29 лет, с давностью дерматоза до 15 лет, рецидив у которых ассоциирован инфекционным фактором, отсутствием в анамнезе системной иммуносупрессивной терапии.

3. Применение ПУВА-терапии в качестве одного из основных и

эффективных методов терапии у пациентов, страдающих вульгарным псориазом, оправдано в возрастной категории до 49 лет, давностью дерматоза до 15 лет и мультифакториальной природой обострения.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Оценка экспрессии толл-подобных рецепторов 2-го и 4-го типов в коже больных вульгарным псориазом / В. А. Охлопков, О. В. Правдина, Р. В. Городилов, **Е. А. Зыкова** // **Омский научный вестник. Серия: Ресурсы Земли. Человек.** – 2012. – № 1 (108). – С. 49–52.

2. Морфологическое обоснование использования нисходящей наружной терапии у пациентов с вульгарным псориазом / В. А. Охлопков, О. В. Правдина, Р. В. Городилов, **Е. А. Зыкова** // **Современные проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии.** – 2012. – № 3 (22). – С. 7–13.

3. Характер экспрессии TLR-2 и TLR-4 в псориатической папуле у пациентов на фоне проводимой терапии комбинацией кальципотриола и бетаметазона дипропионата / В. А. Охлопков, О. В. Правдина, Р. В. Городилов, **Е. А. Зыкова** // **Современные проблемы науки и образования.** – 2012. – № 6. – С. 1–9.

4. Особенности течения иммунного воспаления в псориатической папуле на фоне проведения отдельных вариантов традиционной терапии / А. И. Новиков, В. А. Охлопков, О. В. Правдина, **Е. А. Зыкова** // **Практическая медицина.** – 2013. – № 1–4 (73). – С. 66–69.

5. Опыт лечения больных среднетяжелым вульгарным псориазом препаратом Дайвобет / В. А. Охлопков, О. В. Правдина, Р. В. Городилов, **Е. А. Зыкова** // **Эффективная фармакотерапия. Дерматовенерология и дерматокосметология.** – 2012. – № 2. – С. 18–22.

6. Анализ экспрессии толл-подобных рецепторов 2-го и 4-го типов при различных вариантах традиционной терапии у пациентов с вульгарным псориазом/ В. А. Охлопков, О. В. Правдина, Р. В. Городилов, **Е. А. Зыкова** // 12-й Всероссийского съезда дерматовенерологов и косметологов: сб. тезисов. – Москва, 2012. – С. 45.