

## Иммунопатологические механизмы псориаза и их коррекция с помощью фототерапии 308 нм эксимерным лазером XTRAC

И.Я. Пинсон, И.В. Верхогляд

Поликлиника №1 Управления делами Президента РФ

Российская медицинская академия последиplomного образования

## Immunopathological mechanisms of psoriasis and correction with phototherapy 308 nm by eximer laser XTRAC

I.Y. Pinson, I.V. Verchoglad

Medical Academy Postgraduated Education of Russia

### Аннотация

Статья посвящена изучению патогенеза псориаза. Проведены морфологические и иммуногистохимические исследования биопатов кожи, позволившие установить, что псориаз характеризуется повышенной пролиферативной активностью эпидермиса и снижению процессов апоптоза. Описан новый метод лечения различных форм псориаза – фототерапия эксимерным лазером (УФБ лучи, 308 нм).

### Ключевые слова

Псориаз, фототерапия лазером

Псориаз - один из самых распространенных хронических дерматозов, которым, по данным разных авторов, страдает от 3 до 6% населения планеты, поэтому легко объяснить интерес ученых всего мира к этому заболеванию. Несмотря на огромное количество научных работ, посвященных лечению псориаза, эта проблема по-прежнему является актуальной.

Причина псориаза остается до конца невыясненной, однако в настоящее время его рассматривают как заболевание мультифакториальной природы с участием генетических, иммунных и средовых факторов. Являясь генетически детерминированным заболеванием, псориаз характеризуется гиперпролиферацией эпидермальных клеток, нарушением дифференцировки кератиноцитов, нарушением иммунной системы с образованием иммунозависимых цитокинов и медиаторов, индуцирующих воспалительную реакцию в дерме. Одним из ос-

### Summary

The article is about pathogenesis of psoriasis. Morphologic and immunologic studies of biopsies showed high proliferative activity and decrease of apoptosis. Describes a new option for treating different forms of psoriasis, namely phototherapy using narrow-spectrum ultraviolet rays (308nm) by means of an eximer laser.

### Keywords

Psoriasis, phototherapy, laser

новых патогенетических звеньев в иммунных изменениях является девиация цитокинового профиля по пути Th1-типа с повышением уровня интерлейкинов 1 $\alpha$ , 2, 4, 6, 8,  $\gamma$ -интерферона и фактора некроза опухоли.

Целью настоящей работы было проведение комплексного исследования клеточного, гуморального иммунитета и уровней сывороточных провоспалительных цитокинов с помощью корреляционного анализа. А также изучение динамики показателей цитокинового статуса больных, клеточного и гуморального иммунитета под влиянием фототерапии 308 нм. Изучить гистологические и иммуногистохимические изменения в коже больных псориазом при фототерапии УФБ лучами 308 нм с использованием эксимерного лазера.

Под нашим наблюдением с 2002 года в клинике дерматовенерологии «Гарвей Ор» при Медицинском центре Управления делами Прези-

дента РФ находилось 350 больных псориазом в возрасте от 16 до 72 лет. Среди них было 195 (55,7%) мужчин и 155 (44,3%) женщин. Давность заболевания на момент первоначального обращения составила от 4 до 30 лет. Наибольшая частота возникновения псориаза приходится на возраст от 14 до 30 лет (77,7%). Вульгарный псориаз диагностирован у 240 (68,6%) больных, экссудативный - у 43 (12,3%), ладонно-подошвенный - у 67 (19,1%) больных.

У всех больных псориазом, находившихся под наблюдением, была диагностирована стационарная стадия. У большинства пациентов (289 - 82,6%) отмечался ограниченный характер. Частой локализацией верхние и нижние конечности, в том числе ладони, подошвы, локти и колени, ягодицы, живот. У остальных 61 (17,4%) пациентов высыпания носили распространенный характер. У 96,3% больных высыпания были представлены бляшками, у остальных 3,7% - папулами и бляшками. Среди сопутствующих заболеваний у 132 (37,7%) больных преобладали заболевания желудочно-кишечного тракта: хронический гастрит, хронический колит, язвенная болезнь желудка, хронический холецистит, желчекаменная болезнь, однако никакой связи с дебютом псориаза или его обострением не выявлялось. На втором месте по частоте стояли инфекционные заболевания (у 64 больных - 18,3%), которые нередко предшествовали первым проявлениям псориаза (хронический тонзиллит, хронический пиелонефрит, хронический гайморит, хронический фронтит).

Если проследить связь клинической формы псориаза и сопутствующих заболеваний, то она отмечалась только у больных экссудативным и ладонно-подошвенным псориазом. Так, у больных экссудативным псориазом чаще встречалась эндокринная и сосудистая патология (сахарный диабет, ожирение, гипертоническая болезнь, ИБС), а при локализации псориаза на ладонях и подошвах часто диагностировались нарушения периферического кровообращения.

Для решения поставленных задач использовали комплекс исследований, включающий, иммунологические, морфологические, морфофункциональные и иммуногистохимические методы.

Для иммунологического исследования использовалась сыворотка крови больных. Забор крови производился двукратно по стандартным методикам 60 пациентам до и после кур-

са лечения. Иммунологическое исследование осуществлялось в лаборатории иммунодиагностики и иммунокоррекции НИИ трансплантологии и искусственных органов (зав. - профессор В.С.Сускова).

*Определение выработки цитокинов (ИЛ 1 $\beta$ , ИЛ 2, ИЛ 4, ИЛ 6, ИЛ 8, ИФН $\gamma$ , ФНО $\alpha$ , G-CSF)* в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с применением пероксидазы хрена в качестве индикаторного фермента с использованием наборов «Цитокины и ProCon» (С.-Петербург). Один тип моноклональных антител иммобилизуется на внутренних поверхностях ячеек планшетов для микротитрования. Другой тип моноклональных антител к независимому эпитопу находится в наборе в виде конъюгата с биотинном. Индикаторным компонентом является конъюгат пероксидазы хрена со стрептавидином, имеющим очень высокое сродство к биотину. После инкубации и промывок в ячейки вносят конъюгат пероксидазы со стрептавидином, вновь инкубируют, промывают, вносят субстрат и измеряют активность связанной пероксидазы с использованием автоматического фотометра для микропланшетов.

*Определение субпопуляций лимфоцитов* осуществляли методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител (МКАТ) к различным маркерам лимфоцитов. Для определения фенотипа иммунокомпетентных клеток лимфоциты выделяли центрифугированием крови в градиенте фиколл-верографина (плотность 1,077 г/мл) и их инкубировали с МКАТ: 1 млн лимфоцитов в объеме 50 мкл и 5 мкл тестируемого флуоресцентно-меченого краской МКАТ (МедБиоспектр, Россия) в течение 30 - 45 минут при температуре +4 $\pm$ С. Осадок отмывали дважды забуференным физиологическим раствором, добавляли МКАТ, меченные второй краской и инкубировали 30 - 40 минут, затем вновь отмывали. После заключительного центрифугирования и удаления супернатанта клетки фиксировались. К остатку клеток добавлялось 50 мкл 1% параформальдегида на PBS или раствор формалина, разведенный 1:40 на PBS. Окрашенные клетки анализировали на проточном цитофлуориметре.

В работе использовали смесь различных комбинаций МКАТ, меченных флуоресцентной краской FITS или PE к различным маркерам лимфоцитов и лейкоцитов: CD3, CD4, CD8.

*Фенотипирование иммунокомпетентных клеток* включало: 1) определение Т-лимфоци-

тов в периферической крови (CD3+ клетки); 2) подсчет и мониторинг популяций Т-хелперов/индукторов (с помощью МКАТ CD4 или в сочетании CD3-FITS + CD-PE в виде CD3+CD4 клеток); 3) подсчет популяций Т-лимфоцитов цитотоксических (с помощью CD8 МКАТ или сочетанием CD3-FITS + CD8-PE МКАТ в виде CD8+ клеток или CD3+CD8+ клеток). Количественная оценка зрелых Т-лимфоцитов двух основных популяций CD4+ и CD8+ основывалась на определении баланса иммунорегуляции - соотношения CD4+/CD8+.

*Гуморальный иммунитет* оценивали по концентрации иммуноглобулинов (IgG, IgA, IgM).

Исследуемые сыворотки, приготовленные центрифугированием в течение 10 мин при 1200 оборотов, разводили в соотношении 1:20 0,9% NaCl. Предварительно производили калибровку: для каждого белка строили калибровочную кривую на основе 6 разведений стандартных сывороток (сыворотки с известным содержанием иммуноглобулинов фирмы Human). В измерительные кюветы вносили исследуемые сыворотки и моноспецифические антисыворотки (antiIgG, antiIgA или antiIgM). Смесь инкубировали в кюветках, проводили измерение уровня иммуноглобулинов в соответствии с калибровочной кривой.

Для *патоморфологической оценки* изменений в коже под местной анестезией 0,5% раствора новокаина брались биопсии из края очагов поражения до и после лечения. Всего было взято 30 биопсий (15 до лечения и 15 после у больных вульгарным и экссудативным псориазом в стационарной стадии). Контролем служили 5 биопсий клинически неизменной кожи больных, прооперированных по поводу аппендицита.

Материал биоптатов фиксировался в 10% забуференном нейтральном формалине pH 7,2-7,4, обрабатывался по стандартной методике (обезвоживание, заключение в парафин), после чего готовились парафиновые срезы толщиной 4-5 мкм, которые окрашивались гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизон.

На полученных гистологических препаратах проводилось *морфометрическое исследование*, включающее измерение с помощью окуляр-микрометра толщины различных отделов и слоев эпидермиса, высоты сосочков, подсчет количества клеток воспалительного инфильтрата (в поле зрения при увеличении x200), количества капиллярных петель в сосочках.

*Иммуногистохимические исследования* биоптатов для более детального изучения клеточного состава инфильтрата и уровня апоптоза в лимфоцитах выполнялись на серийных парафиновых срезах кожи иммунопероксидазным методом с использованием в качестве хромогена диаминобензидина (K3466, DakoCytomation, Швеция). Для усиления антигенных свойств депарафинированные срезы нагревались в СВЧ-печи мощностью 750 Вт в течение 5 минут. Нагревание проводилось в пластиковом контейнере, содержащем 200 мл раствора для восстановления антигенных свойств с pH 6,0 (S1700, DakoCytomation, Швеция). Чтобы блокировать эндогенную пероксидазу, препараты инкубировали с 3% раствором перекиси водорода (S2001, DakoCytomation) в течение 5 минут. В качестве первичных антител использовались следующие моноклональные антитела фирмы DakoCytomation: CD3, CD8, CD45RO, CD20, CD68, bcl-2, Ki-67. Для визуализации использовалась проявочная система LSAB 2 (Dako-Cytomation, Швеция) на основе стрептовидин-биотинового взаимодействия. Срезы докрашивались раствором гематоксилина и заключались в канадский бальзам. В месте локализации антигена визуализировался продукт реакции коричневого цвета. Результаты оценивались полуколичественным методом.

Патоморфологические и иммуногистохимические исследования проводились в патологоанатомическом отделении Российского научного центра рентгенорадиологии МЗ РФ (руководитель - профессор Г.А. Галил-Оглы).

Данные исследований были подвергнуты статистической обработке с вычислением средней арифметической (M), средней ошибки (m), среднего квадратичного отклонения (G), коэффициента достоверности (P) по таблице Стьюдента (t).

Все больные получали лечение методом фототерапии УФБ-лучами с использованием *ксенон-хлоридного эксимерного лазера* («XTRC», США) с длиной волны 308 нм., генерирующий высокоинтенсивное излучение до 2100 мДж/см<sup>2</sup>, что является необходимым условием для эффекта гибели патологических клеток, но не их стимуляции.

Длина импульса составляет 30 наносекунд, что способствует процессу vaporизации и отсутствию термических эффектов. Частота импульсов достигает 143 Гц. Система доставки излучения представлена оптоволоконным кабелем длиной 2 м и насадкой со сменными накопниками. Площадь светового пятна - 3,2 см<sup>2</sup>.

В зависимости от клинической формы псориаза больные, которым были проведены иммунологические исследования, были разделены на 3 группы: 1 - вульгарный псориаз (n=20), 2 - экссудативный псориаз (n=20), 3 - ладонно-подошвенный псориаз (n=20).

Проведенные исследования показали, что при разных формах псориаза отмечается аутоиммунный тип нарушений иммунорегляторного звена, характеризующийся достоверным повышением иммунорегляторного индекса (соотношение CD4/CD8) в 1,5 - 2 раза за счет преобладания Т-хелперов (CD4+) и снижения или нормального уровня CD8+цитотоксических Т-лимфоцитов, сдерживающих иммунный ответ, на фоне снижения общего числа Т-лимфоцитов.

При этом при вульгарной форме псориаза отмечается достоверное снижение Т-лимфоцитов и, особенно, уровня CD8+клеток. Дисбаланс иммунорегуляции при этой форме определяется как повышенным уровнем Т-хелперов, так и иммуносупрессией за счет снижения CD8+клеток.

При экссудативной форме псориаза дисбаланс иммунорегуляции обусловлен, главным образом, повышенным уровнем Т-хелперов (CD4+кл.), определяющих воспалительную реакцию.

У больных ладонно-подошвенным псориазом дисбаланс иммунорегуляции также связан с достоверным повышением Т-хелперов (CD4+кл.) с относительно более высоким уровнем Т-лимфоцитов и CD8+клеток, что, возможно, определяется преобладанием активации локального (местного) иммунитета.

Таким образом, особенностью нарушений Т-клеточного звена при псориазе является снижение общего числа Т-лимфоцитов и сдвиг относительного числа Т-хелперов в сторону повышения, что в основном и приводит к дисбалансу иммунорегуляции.

В периферической крови всех групп больных среди Т-хелперов выявляются как субпопуляции, продуцирующие ИЛ 4, определяющие Тх 2 тип (гуморальный) иммунного ответа, так и субпопуляции Т-хелперов (CD4+ кл.), продуцирующих медиаторы ИФН $\gamma$  и ИЛ 2, опосредующие Тх 1 (клеточный) тип иммунного ответа.

При изучении гуморального звена иммунитета отмечалась дисглобулинемия при всех клинических формах псориаза. В зависимости от формы заболевания дисглобулинемия проявлялась повышением уровня Ig A при экссудатив-

ном псориазе, повышением Ig M - при ладонно-подошвенном, повышением Ig A и Ig G - при вульгарном ( $p < 0,05$ ), что характерно для хронического течения с локальными проявлениями. Наибольшая выраженность Тх 2 типа иммунного ответа (продукции ИЛ 4) сочеталась с повышенной продукцией Ig M при ладонно-подошвенной форме, характеризующей острофазный воспалительный ответ.

Таким образом, отмечалась сопряженность между повышением Т-хелперопосредованной продукцией антител разных классов с повышенной продукцией ИЛ 4 субпопуляцией Тх 2 типа. Основным патогенетическим механизмом являлся дисбаланс иммунорегуляции за счет повышения уровня Т-хелперно-клеточного звена иммунитета, а также их Тх 2-субфракций, обуславливающих дисглобулинемию в зависимости от формы заболевания.

Исследование уровня ИЛ 1 $\beta$  у больных независимо от формы псориаза выявило статистически достоверное повышение его в 4-6 раз по сравнению с показателями контрольной группы, что согласуется с данными других исследователей о стимуляции активности Т-хелперов ИЛ 1 $\beta$ .

Содержание ИЛ 1 $\beta$  в сыворотке крови имело прямую корреляцию с числом клеток, имеющих на своей поверхности маркер CD3+ (Т-лимфоциты), CD4+ (Т-хелперы) и CD8+ (цитотоксические Т-лимфоциты) во всех группах. У больных экссудативным псориазом содержание ИЛ 1 $\beta$  в сыворотке достоверно коррелировало только с сывороточным уровнем IgA, у больных ладонно-подошвенной формой слабая корреляция отмечалась с уровнем IgM, отражая степень выраженности местной воспалительной реакции. При вульгарном псориазе содержание ИЛ 1 $\beta$  прямо коррелировало с сывороточными уровнями IgG и IgA.

Избирательная зависимость между продукцией центрального провоспалительного медиатора ИЛ 1 $\beta$  и сывороточным уровнем основных классов иммуноглобулинов при разных формах псориаза может быть использована при прогнозе течения заболевания и подборе терапии.

Уровни провоспалительных ИЛ 6 в отличие от ИЛ 1 $\beta$  достоверно не отличались от контроля при всех формах заболевания. В то же время у больных экссудативным и вульгарным псориазом сывороточные концентрации имели тенденцию к повышению и были выше как контрольных значений, так и уровней при других формах, что сопровождалось повышением IgA и IgG.

Изучение взаимоотношений уровней сывороточных ИЛ 1 $\beta$  и ИЛ 6 показало наличие сильной обратной корреляции между исследуемыми показателями ( $\tau=0,38$ ;  $p<0,01$ ).

Анализ содержания ФНО $\alpha$  в периферической крови у больных псориазом выявил его достоверное повышение во всех изучаемых группах. Нами не было установлено существенных различий ( $p>0,1$ ) содержания ФНО $\alpha$  в зависимости от пола и возраста, но имелась прямая зависимость от клинической формы заболевания. Средний сывороточный уровень ФНО $\alpha$  у больных псориазом был выше у больных экссудативным псориазом, что может служить критерием тяжести кожного процесса. Изучение взаимосвязи содержания в сыворотке крови больных псориазом ФНО $\alpha$  выявило прямую корреляцию с уровнем ИЛ 1 $\beta$  ( $\tau=0,32$ ;  $p<0,05$ ).

Содержание противовоспалительного ИЛ 4, который относится к супрессорным цитокинам, независимо от формы псориаза было повышенным и коррелировало с уровнем Т-лимфоцитов (CD3) и Т-хелперов (CD4+кл.). Отрицательная коррелятивная связь ИЛ 4 выявлена с уровнем CD8+кл. ( $\tau=-0,32$ ;  $p=0,0045$ ). Повышение продукции ИЛ 4, по видимому, отражает попытку переключения иммунного ответа на Th 2 тип у больных псориазом, который характерен для формирования аутоиммунного процесса.

В патогенезе псориаза уделяется также внимание хемокинам - белкам плазмы с плейотропной функциональной активностью (Hvas J. et al., 1997; Mahad G. et al., 2003), к которым относится ИЛ 8, обеспечивающий хемотаксис нейтрофилов в очаг воспаления. При анализе содержания в сыворотке крови ИЛ 8 установлено его достоверное повышение ( $p<0,05$ ) у больных при всех формах псориаза, что свидетельствует о формировании местной воспалительной реакции, направленной на перемещение нейтрофилов в очаг воспаления. В то же время повышение уровня гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF), стимулятора лейкоцитов, отмечалось у больных экссудативной формой псориаза с выраженной воспалительной реакцией, что коррелировало с тяжестью течения псориаза и могло бы использоваться в качестве критерия тяжести кожного процесса.

Таким образом, выявленная у больных псориазом взаимосвязь, в том числе в зависимости от клинической формы заболевания, подтверждает вовлеченность иммунной системы в регу-

ляцию патологических процессов при этом дерматозе и важную роль изучаемых противовоспалительных цитокинов в его патогенезе. Полученные данные, свидетельствующие об активации клеточного и гуморального звена и цитокинового статуса, служат патогенетическим обоснованием для лечения этих больных фототерапией эксимерным лазером.

После проведенного лечения фототерапией УФБ лучами эксимерным лазером отмечена тенденция к нормализации показателей иммунорегуляторного звена клеточного иммунитета у больных псориазом. Так, иммунорегуляторный индекс (CD4/CD8) приближался к норме во всех группах больных из-за снижения уровня Т-хелперов и повышения цитотоксических Т-лимфоцитов.

Фототерапия эксимерным лазером способствовала также статистически достоверному снижению содержания повышенных иммуноглобулинов в сыворотке крови и привела к нормализации Ig G у больных вульгарным псориазом и IgM - у больных ладонно-подошвенным псориазом, а также Ig A - у больных вульгарным и экссудативным псориазом, однако нормальных уровней Ig A не достиг.

В результате лечения у больных вульгарным псориазом отмечалось снижение уровней всех цитокинов, многие из которых (ИЛ 2, ИЛ 4, ИЛ 6, ИЛ 8, ИНФ $\gamma$ , ФНО $\alpha$ ) статистически достоверно не отличались от нормы ( $p>0,05$ ) (рис. 1). При контрольном исследовании сывороточных цитокинов в крови у больных экссудативным псориазом также было выявлено статистически достоверное снижение ИЛ 2, ИЛ 4, ИЛ 6, ИНФ $\gamma$  ( $p>0,05$ ). Уровень остальных цитокинов значительно снижался, но не достигал нормальных показателей (рис. 2).

Такое же снижение уровней всех цитокинов отмечалось и у больных ладонно-подошвенным псориазом в результате фототерапии эксимерным лазером (рис. 3).

При сопоставлении показателей уровней цитокинов при разных формах псориаза можно отметить, что у всех больных, независимо от клинической формы, снижались до нормальных уровней ИЛ 2, ИЛ 4, ИЛ 6 и ИНФ $\gamma$ . Больше всех показателей, приближающихся к норме, было выявлено у больных вульгарным псориазом. Однако наиболее значимые изменения произошли с уровнями ИЛ 1 $\beta$  у всех больных и фактором роста G-CSF у больных экссудативным псориазом, несмотря на то, что эти показатели не достигали нормы.

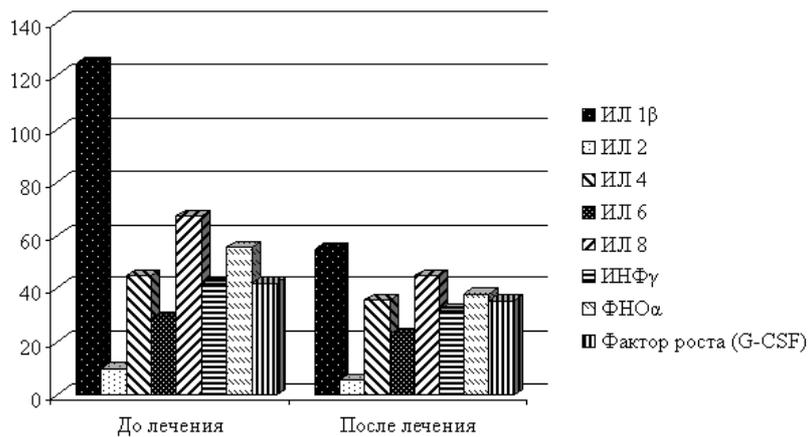


Рис. 1. Динамика показателей цитокинового статуса у больных вульгарным псориазом после лечения

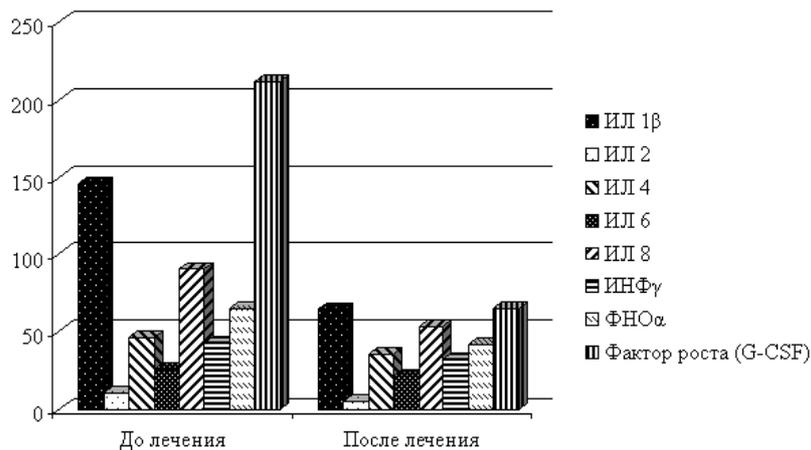


Рис. 2. Динамика показателей цитокинового статуса у больных экссудативным псориазом после лечения

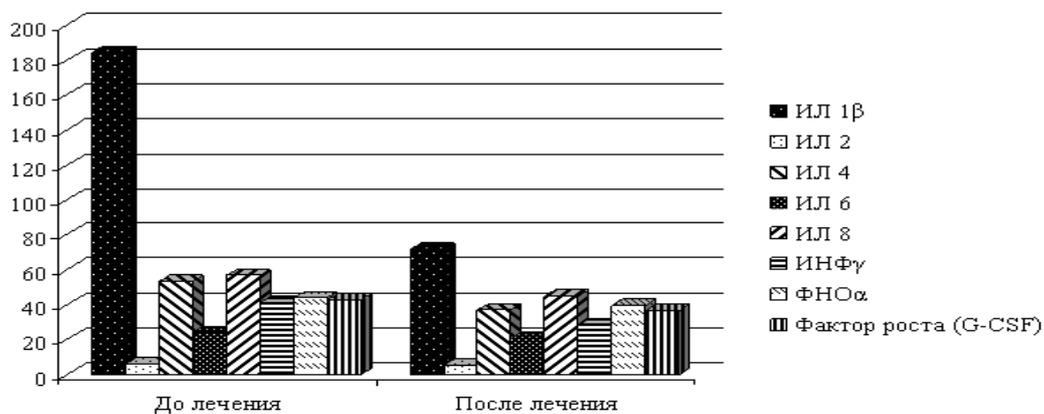


Рис. 3. Динамика показателей цитокинового статуса у больных ладонно-подошвенным псориазом после лечения

Таким образом, контрольные исследования уровней сывороточных цитокинов после проведенного лечения обнаружили снижение повышенных показателей при всех клинических формах, в большинстве приближающихся к норме. Снижение уровней сывороточных цитокинов коррелировало с улучшением в кожном статусе. Нормализация иммунологических показателей оказалась важным критерием эффективности фототерапии эксимерным лазером у больных псориазом.

Гистологическое и морфометрическое и исследование биоптатов кожи у больных различными формами псориаза показало наличие тяжелых структурных изменений в эпидермисе и дерме. Выявлены некоторые различия тканевой реакции при вульгарном и экссудативном псориазе: при первом более отчетливо было повышение проницаемости капиллярной стенки, при втором – макрофагально-нейтрофильная реакция.

При иммуногистохимическом исследовании биоптатов вульгарного и экссудативного псориаза клетки инфильтрата были представлены в основном CD3- и CD45RO-положительными Т-лимфоцитами. Примерно треть клеток инфильтрата составили CD68+ макрофаги. Примесь CD20-положительных В-лимфоцитов была незначительной. Соотношение CD4/CD8 составило 3-4/1, что согласуется с литературными данными.

Проведенное иммуногистохимическое исследование подтвердило наличие повышенной пролиферативной активности эпидермиса при всех формах псориаза до начала лечения. В качестве маркера пролиферации был использован ядерный белок Ki-67, который выявляется во всех активных фазах клеточного цикла ( $G_1$ , S,  $G_2$  и M) и отсутствует в покоящихся ( $G_0$ ) клетках. Количество клеток базального слоя с ядерной экспрессией Ki-67 колебалось в различных биоптатах от 60 до 80%.

Одновременно выявлена ядерная экспрессия Ki-67 в 30-40% лимфоцитов дермального инфильтрата. Экспрессия Ki-67 наблюдалась также в ядрах отдельных рассеянных в эпидермисе лимфоцитов. Это подтверждает литературные данные об интрадермальной пролиферации лимфоцитов у больных псориазом.

Для изучения антиапоптозных свойств лимфоцитов использовались антитела к белку bcl-2. Положительная ядерная экспрессия bcl-2 была различной во всех биоптатах из псориазных бляшек и колебалась от 0 до 80% клеток

инфильтрата. Полученные результаты свидетельствуют в пользу гипотезы о том, что не подвергающиеся апоптозу лимфоциты могут быть ответственны за рецидивный и хронический характер течения псориаза.

Клетки эпидермиса в наших наблюдениях не экспрессировали белок bcl-2, что, по-видимому, связано с низкой экспрессией этого белка в клетках нормального эпидермиса, а также с высокой пролиферативной активностью и, соответственно, с повышенным уровнем апоптоза кератиноцитов при псориазе в целом.

В результате воздействия фототерапии снижалась интенсивность лимфоцитарной инфильтрации, уменьшалось количество макрофагов и нейтрофилов в дерме, менялось соотношение CD4/CD8 субпопуляций Т-лимфоцитов в сторону увеличения цитотоксического звена, приближаясь к норме.

Отмечалось значительное повышение числа CD8-положительных лимфоцитов в клеточных инфильтратах, местами они образовывали очаговые скопления. В то же время снижалась активность хелперного звена, стимулирующего пролиферацию клеток эпидермиса, в результате чего происходило ослабление пролиферативной активности в эпидермисе и восстановление зернистого и рогового слоев.

О снижении пролиферативной активности говорила положительная экспрессия маркера пролиферации Ki-67, которая была выявлена только в 15-20% клеток, что соответствует норме. Существенная динамика наблюдалась со стороны микроциркуляторного русла.

Тем не менее, при морфологическом исследовании даже клинически полностью регрессировавшей псориазной бляшки обнаруживались значительные остаточные структурные изменения в коже. Хотя отмечалось уменьшение толщины эпидермального слоя, количества капиллярных петель, выраженности экссудативных изменений и клеточной инфильтрации, величина показателей этих структурных изменений оставалась, по-прежнему, значительно выше, чем в контроле.

Кроме того, фототерапия эксимерным лазером приводила к увеличению количества меланоцитов в базальных слоях эпидермиса и меланофагов в дерме. Иммуногистохимическое исследование выявило в процессе лечения снижение экспрессии антиапоптозного белка bcl-2 лимфоцитами клеточных инфильтратов. Это снижение коррелировало с положительной кожной динамикой. Экспрессия bcl-2 в клетках

эпидермиса во всех наблюдениях была низкой, что соответствует уровню этого белка в нормальных кератиноцитах и снижает вероятность развития неоплазий.

Таким образом, убедительно показано иммуносупрессивное действие этого вида фототерапии на основании полученных данных иммуногистохимического изучения кожи по снижению экспрессии антиапоптозного белка bcl-2 лимфоцитами клеточных инфильтратов, которое коррелировало с положительной кожной динамикой и ослаблением пролиферативной активности в эпидермисе, о чем свидетельствовали восстановление цитотоксического звена иммунитета с нормализацией соотношения CD4/CD8 и положительная экспрессия маркера пролиферации Ki-67, которая была выявлена только в 15-20% клеток, что соответствует норме.

Обобщая данные, полученные в результате комплексного исследования, нами установлено, что при псориазе основными патогенетическими механизмами являются нарушения пролиферации и апоптоза, регулирующих клеточный гомеостаз.

Значительное влияние на регулирование клеточного апоптоза оказывают иммунологические процессы в организме в целом и в коже, в частности, так как кожа является иммунным органом, а именно, дисбаланс иммунорегуляции за счет повышения уровня Т-хелперно-клеточного звена иммунитета, а также их Тх 2-субфракций, обуславливающих дисглобулинемию в зависимости от формы заболевания и активация цитокинового статуса.

Наше исследование показало, что фототерапия эксимерным лазером является патогенетически обоснованным методом лечения, подавляющим процессы пролиферации и запускаящим апоптоз. Полученные результаты свидетельствуют о том, что действие фототерапии эксимерным лазером не ограничивается угнетением продукции ФНО $\alpha$ , ИНФ $\gamma$ , фактора роста G-CSF, ИЛ 1 $\beta$ , ИЛ 2, ИЛ 4, ИЛ 8, а оказывает также иммуномодулирующее влияние на клеточный и гуморальный иммунитет, восстанавливая их баланс.

Основное преимущество фототерапии УФБ лучами 308 нм эксимерным лазером перед другими методами фототерапии заключается в том, что лазер монохроматичен и высокоинтенсивен, действует очень целенаправленно на определенные очаги поражения, исключая воздействие на здоровые кожные покровы,

что было показано при изучении побочных эффектов, которые были минимальными и неопасными для здоровья.

Возможность получения быстрых результатов (иногда после однократного облучения высокими дозами) с минимальной суммарной дозой облучения, хорошая переносимость, селективное воздействие, безопасная методика - все это слагающие нового высокоэффективного метода, дающего терапевтический эффект у 100% наблюдаемых больных.

Метод фототерапии УФБ лучами 308 нм особенно рекомендован для больных бляшечным псориазом, устойчивым к различным другим методам лечения или локализацией на анатомически неудобных местах, ладонно-подошвенным псориазом, особенно резистентным к лечению.

Проведенное комплексное исследование клеточного и гуморального иммунитета и уровней сывороточных провоспалительных цитокинов с помощью корреляционного анализа показал, что основным патогенетическим механизмом является дисбаланс иммунорегуляции за счет повышения уровня Т-хелперно-клеточного звена иммунитета и их Тх 2-субфракций, обуславливающих дисглобулинемию в зависимости от формы заболевания, а также выраженный дисбаланс продукции цитокинов, проявляющийся повышенным уровнем ФНО $\alpha$ , ИНФ $\gamma$ , ИЛ 1 $\beta$ , ИЛ 2, ИЛ 4, ИЛ 8, фактора роста G-CSF и отличие корреляционных отношений при псориазе по сравнению со здоровыми лицами.

Впервые исследованные в динамике показатели цитокинового статуса больных и клеточного и гуморального иммунитета под влиянием фототерапии эксимерным лазером свидетельствуют о том, что действие фототерапии эксимерным лазером не ограничивается угнетением продукции ФНО $\alpha$ , ИНФ $\gamma$ , ИЛ 1 $\beta$ , ИЛ 2, ИЛ 4, ИЛ 8, а оказывает также иммуномодулирующее влияние на клеточный и гуморальный иммунитет, восстанавливая их баланс.

Проведенные исследования показали, что фототерапия эксимерным лазером запускает апоптоз на основании полученных данных иммуногистохимического изучения кожи по снижению экспрессии антиапоптозного белка bcl-2 лимфоцитами клеточных инфильтратов, коррелировавшего с положительной кожной динамикой. Экспрессия bcl-2 в клетках эпидермиса во всех наблюдениях была низкой и соответствовала уровню этого белка в нормальных кератиноцитах.

### **Заключение**

Полученные данные доказывают, что фототерапия эксимерным лазером приводит к подавлению иммунопатологического процесса в коже в виде ослабления пролиферативной активности в эпидермисе, о чем свидетельствует отсутствие экспрессии маркера пролиферации Ki-67 после фототерапии, и восстановления цитотоксического звена иммунитета с нормализацией соотношения CD4/CD8. Кроме того, фототерапия эксимерным лазером запускает апоптоз на основании полученных данных иммуногистохимического изучения кожи по снижению экспрессии антиапоптозного белка bcl-2 лимфоцитами

клеточных инфильтратов, коррелировавшего с положительной кожной динамикой. Экспрессия bcl-2 в клетках эпидермиса во всех наблюдениях была низкой и соответствовала уровню этого белка в нормальных кератиноцитах. Фототерапия эксимерным лазером также приводила к ослаблению пролиферативной активности в эпидермисе и восстановлению зернистого и рогового слоев, о чем свидетельствовали восстановление цитотоксического звена иммунитета с нормализацией соотношения CD4/CD8 и положительная экспрессия маркера пролиферации Ki-67, которая была выявлена только в 15-20% клеток, что соответствует норме.