

ВЛИЯНИЕ ИММУНОТЕРАПИИ ПРЕПАРАТАМИ ИММУНОВАК-ВП-4 И КАГОЦЕЛ НА УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ ФИКСИРОВАННОЙ ЭРИТЕМОЙ

Е. В. Сорокина, Н. К. Ахматова, В. Г. Хоменков, Э. А. Ахматов¹

Фиксированная эритема – своеобразная клиническая и гистопатологическая реакция, вызванная чаще медикаментами. Цель исследования – изучение особенностей цитокинового профиля у больных фиксированной эритемой и динамики базальных уровней про- и противовоспалительных цитокинов в ходе иммунотерапии. В начале исследования и после лечения всем 41 больным с фиксированной эритемой было проведено определение уровней провоспалительных, противовоспалительных и регуляторных цитокинов в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем фирмы “Biosource” (Австрия). У больных фиксированной эритемой лечение иммуновак-ВП-4 способствовало достоверному ($p < 0,05$) повышению уровня сывороточного IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-6. В то время как кагоцел приводил к повышению IFN- γ ($p < 0,05$), IL-1 β , IL-6 и снижению TGF- β ($p < 0,05$). У обследованных больных базисная терапия способствовала повышению уровня TGF- β и снижению IL-10. Иммуновак-ВП-4 обладал наиболее высокой эффективностью в индукции IFN- γ . Включение в комплекс терапевтических и профилактических мероприятий у больных фиксированной эритемой иммуномодуляторов способствует активации звеньев врожденного и запускает механизмы адаптивного иммунитета, способствуя тем самым усилению противовирусного ответа.

Ключевые слова: фиксированная эритема; цитокины; иммуновак-ВП-4; кагоцел

ВВЕДЕНИЕ

Кожные лекарственные сыпи наблюдаются у 2 – 3% госпитализированных пациентов и являются распространенными осложнениями лекарственной терапии, которые могут возникать в различных формах и имитировать различные дерматозы. Токсикодермии – токсико-аллергический дерматит, острое воспаление кожных покровов, а иногда и слизистых, развивающееся под действием раздражителя, поступившего через дыхательные пути, желудочно-кишечный тракт, при парентеральном введении [4, 6, 8]. Наиболее частой причиной развития фиксированной эритемы (ФЭ) являются медикаменты. В патогенезе ФЭ не всегда легко определить тип гиперчувствительности, так как одновременно могут участвовать несколько типов реакций. В реакции замедленного типа, реализуемой клеточными иммунными механизмами с участием CD4+, CD8+, сенсibilизированные Т-клетки продуцируют различные цитокины, запускающие воспалительную реакцию [7]. Изменение иммунологической реактивности и повышение сенсibilизации к инфекционным агентам на фоне хронических бактериальных и персистирующих вирусных инфекций, что в свою очередь может повысить сенсibilизацию к лекарственным препаратам [1, 9, 11].

Цель исследования: изучение цитокинового профиля больных с фиксированной эритемой до и после комбинированной терапии.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением находился 41 больной фиксированной эритемой, из них мужчин 18, женщин – 23, в возрасте от 25 до 65 лет. Триггерным фактором для первичной манифестации и рецидивов заболевания являлся прием медикаментов у 37 больных: сульфаниламидные препараты принимали 9 больных, нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) с сульфаниламидами – 3, тетрациклины – 2, пенициллины и аминогликозиды – 2, барбитураты – 1 больной. Обострение герпетической инфекции в виде простого герпеса наблюдалась у 14 больных, опоясывающего герпеса у 3. Терапию ациклическими нуклеозидами при этих заболеваниях получали 12 больных (ацикловир – 8, валацикловир – 4), из них 7 – в комбинации с НПВС (ацетилсалициловая кислота, ибупрофен, кетопрофен), в комбинации с витаминами группы В – 2 больных. Только НПВС принимали 2 больных. Идентификация вирусов семейства *Herpesviridae* отмечена у 33 больных: ВПГ1 был обнаружен у 11 больных, ВПГ2 – у 3, ассоциация ВПГ1 и ВПГ2 у 5, ассоциация ВПГ1 и ВЭБ у 3, ВЭБ у 5, ВГЧ-6 у 4, ассоциация ВЭБ и ВГЧ-6 у 2, аденовирус был идентифицирован у 2, стрептококков у 4 больных. Контрольную группу составили 15 здоровых доноров – 9 мужчин и 6 женщин

¹ ФГБУ “НИИВС им. И. И. Мечникова” РАМН, 105064, Москва, Малый Казенный пер., 5а.

в возрасте от 17 до 50 лет (критерием исключения являлось наличие сопутствующей патологии).

Всем больным в начале исследования и после лечения было проведено определение уровней провоспалительных, противовоспалительных и регуляторных цитокинов в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем фирмы “Biosource” (Австрия) согласно инструкции производителя. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ Excel (Microsoft Corporation, США) и StatSoft 7.0 (Windows 2007) с применением параметрических и непараметрических методов сравнения. Данные представлены как $M \pm m$. Различия рассматривали как значимые при $p < 0,05$.

Опыт применения бактериальных вакцин в комплексной терапии вирусных инфекций показывает высокую эффективность при герпесвирусной инфекции. Иммунотерапия при использовании в рамках комплексной терапии иммуновак-ВП-4 была эффективной при лечении больных с абсцессом легкого, хроническим бронхитом и бронхиальной астмой, атопическим дерматитом, герпесвирусной инфекцией, заболеваниями мочевыводящих путей. Иммунопрофилактика острых респираторных заболеваний (ОРЗ) в детских дошкольных учреждениях оказывала длительный профилактический эффект (14 месяцев – срок наблюдения) на заболеваемость ОРЗ [3, 5].

В нашем исследовании в комплексной терапии больных фиксированной эритемой на фоне базисной терапии применялась вакцина поликомпонентная из антигенов условно-патогенных микроорганизмов иммуновак-ВП-4, разработанная в НИИВС им. И. И. Мечникова РАМН, разрешена к применению в практике здравоохранения (Приказ МЗ РФ №270 от 17.11.93 г., регистрационное удостоверение №93/270/20). Иммуновак-ВП-4 состоит из антигенов *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus*

vulgaris и *Escherichia coli*. В состав препарата входит ассоциированный с белком наружной мембраны ЛПС грамотрицательных микроорганизмов, а также пептидогликан, тейхоевые кислоты и лабильные белковые антигены *St. aureus*. Вакцину вводили в соответствии с инструкцией по применению методом, включающим три ежедневных введения в нос (по 1 капле в один носовой ход в первый день, по 1 капле в каждый носовой ход на второй день, по 2 капли в каждый носовой ход в третий день) и последующих 8 – 10 подкожных инъекций с интервалом 3 – 4 дня, начиная с дозы 0,05 мл на первую инъекцию, 0,1 мл – на вторую и 0,2 – 0,4 мл при последующих введениях препарата.

Противовирусный препарат кагоцел назначали также на фоне базисной терапии внутрь по следующей схеме: 24 мг 3 раза в сутки в течение 5 дней, далее профилактическая схема, включающая три 7-дневных цикла (по 24 мг 2 дня с последующим перерывом 5 дней).

Базисная терапия включала проведение десенсибилизирующей терапии (внутривенное, внутримышечное введение 5 – 10% раствора кальция глюконата по 5 – 10 мл ежедневно, внутривенное введение 10% раствора кальция хлорида), применение энтеросорбентов, антигистаминных препаратов. Больным с признаками реактивации герпесвирусных инфекций назначали противовирусные препараты (валацикловир по схеме лечения рецидива или профилактической схеме).

Все больные перед началом исследования были рандомизированы на 3 группы: 1 группа – основная, была составлена для проведения комбинированной терапии с применением вакцины иммуновак и включала 15 больных; 2 группа – сравнения, была составлена для проведения комбинированной терапии с применением препарата кагоцел и включала 12 больных. Группа контроля включала 14 больных, которые получали только базисную терапию. Все группы были сравнимы по полу, возрасту и тяжести заболевания.

Уровень цитокинов в сыворотке крови больных фиксированной эритемой до и после терапии (в пкг/мл, $M \pm m$)

Цитокины, пкг/мл	Группа 0	Группа 1	Группа 2, (основная)	Группа 3, (сравнения)	Группа 4, (контрольная)	Различия между группами достоверны ($p < 0,05$)
	Здоровые $n = 15$	До терапии $n = 41$	ВП-4	Кагоцел	Базисная	
IL-1 β	12,0 \pm 3,1	11,2 \pm 1,0	21,1 \pm 3,6	9,9 \pm 0,7	10,6 \pm 0,5	2 и 1,3,4
IL-2	23,5 \pm 5,2	11,5 \pm 1,9	17,2 \pm 8,5	10,1 \pm 3,0	10,3 \pm 0,2	0 и 1,1 и 2
IL-4	11,0 \pm 4,3	12,9 \pm 1,7	14,6 \pm 3,1	15,0 \pm 3,3	9,3 \pm 1,3	
IL-5	14,0 \pm 2,3	16,8 \pm 0,9	19,7 \pm 5,9	15,4 \pm 2,8	15,2 \pm 2,2	
IL-6	23,0 \pm 5	11,7 \pm 0,9	21,1 \pm 0,5	15,2 \pm 0,3	10,3 \pm 1,0	2 и 1,3,4
IL-10	18,0 \pm 7,2	21,2 \pm 2,3	20,2 \pm 7	17,8 \pm 3,3	15,3 \pm 2,3	1 и 4
IL-12	7,0 \pm 1,4	6,3 \pm 0,6	11,4 \pm 2,7	7,0 \pm 1,4	6,3 \pm 0,4	2 и 1,3,4
IL-17	16,3 \pm 3,5	18,0 \pm 2	19,6 \pm 2,4	17,6 \pm 2,7	18,6 \pm 1,6	
IFN- γ	28,0 \pm 1,5	17,0 \pm 1,3	34,0 \pm 2,9	25,4 \pm 3,5	17,0 \pm 3	0 и 1,2 и 1,3,4; 3 и 1,2,4
TGF- β	43,0 \pm 5,4	44,0 \pm 3,4	42,6 \pm 12,4	23,3 \pm 6	52,5 \pm 3,6	3 и 1,2,4; 4 и 1,2,3

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение цитокинового профиля у больных ФЭ выявило исходно низкие уровни продукции провоспалительных цитокинов IL-2, IFN- γ и IL-6 на фоне нормальных уровней продукции остальных цитокинов по сравнению с группой здоровых лиц (таблица). Как видно из таблицы, после курса иммунотерапии иммуновак-ВП-4 отмечено повышение уровня следующих цитокинов: IL-1 β (с $11,2 \pm 1,0$ до $21,1 \pm 3,6$ пкг/мл), IL-6 (с $11,7 \pm 0,9$ до $21,1 \pm 0,5$ пкг/мл), IL-12 (с $6,3 \pm 0,6$ до $11,4 \pm 2,7$ пкг/мл) и IFN- γ (с $17,0 \pm 1,3$ до $34,0 \pm 2,9$ пкг/мл). Кагоцел способствовал повышению уровня IFN- γ (до $25,4 \pm 3,5$ пкг/мл), IL-6 (до $15,2 \pm 0,3$ пкг/мл) и снижению TGF- β (с $44,0 \pm 3,4$ до $23,3 \pm 6$ пкг/мл). Иммуновак-ВП-4 более выражено повышал концентрацию IFN- γ (в 1,8 раз) и IL-6 (в 1,4 раз) по сравнению с препаратом кагоцел (в 1,4 и 1,2 раза соответственно). IFN- γ обладает сильным иммунорегуляторным действием и занимает одно из центральных мест в регуляции адаптивного ответа. Основные мишени действия IFN- γ - моноциты и макрофаги. При помощи IFN- γ Th1-клетки активируют макрофаги, это приводит к активации экспрессии макрофагами ферментов, в том числе ответственных за формирование активных форм кислорода, и что особенно важно, за экспрессию индуцибельной NO-синтазы и образование NO. Важное проявление активности IFN- γ – усиление экспрессии молекул МНС-I и особенно МНС-II на поверхности дендритных клеток, макрофагов и других антиген-презентирующих клеток, а также стимуляция процессинга антигенов путем индукции иммуопротексом, что особенно важно для эффективной презентации антигена-пускового события адаптивного иммунного ответа. При нокауте гена IFN- γ или его рецептора наблюдали снижение резистентности организма к некоторым вирусным инфекциям. IFN- γ , являясь самым сильным активатором макрофагов, активирует также НК, индуцирует экспрессию на клетках белков МНС-I и МНС-II, тем самым способствует представлению антигенов (в том числе и вирусных) для Т-лимфоцитов, способствует развитию противовирусного иммунного ответа. Таким образом, IFN- γ можно рассматривать как фактор, действующий на стыке врожденного и адаптивного иммунитета. Стимуляция интерфероногенеза в ходе терапии иммуновак-ВП-4 у обследованных больных способствует прогрессивному развитию противовирусного иммунного ответа и, тем самым, способствует профилактике рецидивов герпетической инфекции. В ходе терапии иммуновак-ВП-4 происходило повышение IL-1 β в крови больных ФЭ. Базисная терапия в отличие от иммунотерапии препаратом кагоцел способствовала повышению TGF- β . Иммуновак-ВП-4 не оказал влияния на уровень секреции TGF- β . При действии TGF- β на иммунную систему преобладают ингибирующие эффекты. TGF- β регули-

рует ангиогенез, хемотаксис, пролиферацию фибробластов и деградацию матричных белков (например, коллаген и фибронектин) [9]. Многие типы клеток продуцируют TGF- β : макрофаги, Т- и В-лимфоциты, эритроциты и фибробласты. Важно, что TGF- β также продуцируется регуляторными Т-клетками. TGF- β ингибирует функцию Т- и В-клеток через снижение продукции TNF- α и IL-1 моноцитами периферической крови и непосредственно тормозит созревание дендритных клеток.

Таким образом, у больных фиксированной эритемой в цитокиновом профиле отмечен перевес противовоспалительных цитокинов за счет снижения уровней продукции ряда провоспалительных цитокинов. Исходно у больных ФЭ наблюдали снижение продукции провоспалительного цитокина IL-2. Основным биологическим эффектом сигнала IL-2 является стимуляция пролиферации Т- и NK-клеток. Действуя в комбинации с супрессорным цитокином TGF- β , IL-2 стимулирует развитие иммунорегуляторных Т-клеток (CD4+, CD25+, TREG). Поэтому можно предположить, что у больных ФЭ нарушена пролиферация Т- и NK-клеток, что ведет к снижению эффективности противовирусного и антибактериального ответа. Также у больных ФЭ наблюдается снижение IFN- γ , что может указывать на угнетение интерфероногенеза и соответственно нарушение кооперации клеток в ходе противовирусного ответа. Вследствие снижения IL-6 в сыворотке больных ФЭ по сравнению с группой здоровых лиц может происходить нарушение конечного этапа дифференцировки В-клеток и макрофагов и продукции антител у больных ФЭ.

После иммунотерапии отмечали повышение в сыворотке пациентов обеих групп (2 и 3) IFN- γ . Наиболее выраженная динамика в ходе иммунотерапии отмечается в отношении IFN- γ , что согласуется с данными, полученными ранее в экспериментальных исследованиях [2]. Повышение IFN- γ после иммунотерапии иммуновак-ВП-4 и усиление противовирусной защиты указывает на этиопатогенетическое действие лекарственного препарата. Незначительное повышение IL-6 отмечается после иммунотерапии отмечено в группах 2 и 3. При этом различия уровня цитокинов в зависимости от вида иммуномодулирующей терапии наблюдали в отношении IL-1 β , IL-2, IL-5, IL-12: после терапии иммуновак-ВП-4 происходило повышение уровня этих цитокинов, в то время как кагоцел и базисная терапия не влияли на эти показатели. Повышение уровня IL-1 β после терапии иммуновак-ВП-4 может быть связано с наличием в составе препарата патоген-ассоциированных молекулярных структур: ассоциированного с белком наружной мембраны липополисахарида грамотрицательных микроорганизмов, а также пептидогликана, тейхоевых кислот и лабильных белковых антигенов *S. aureus*. Наряду с другими эффектами IL-1 β увеличивает на Т-клетках экс-

прессию рецептора IL-2 и выработку ими IL-2, что оказывает благоприятное воздействие на процесс выздоровления. Полученные данные свидетельствуют о том, что иммуновак-ВП-4 способствует поддержанию гомеостаза нейтрофилов, запуская механизмы врожденного иммунитета и тем самым, способствует формированию адаптивного иммунитета. Терапия иммуновак-ВП-4 не влияла на уровни IL-10, в то время как базисная терапия способствовала снижению этого показателя.

ВЫВОДЫ

1. Выявлены низкие уровни IL-2, IFN- γ в крови пациентов с фиксированной эритемой (ФЭ), которые могут быть причиной нарушения механизмов реализации противовирусного ответа у больных и являться следствием длительной персистенции вирусов в организме.

2. Включение в комплексную терапию больных ФЭ иммуномодулирующих препаратов иммуновак-ВП-4 и кагоцел привело к повышению уровней продукции IFN- γ и IL-6, что отражает усиление противовирусной защиты у обследованных больных.

3. Повышение уровня IL-12 и IL-6 в сыворотке крови после терапии иммуновак-ВП-4 указывает на нормализацию кооперации клеток в ходе противовирусно-

го ответа и конечного этапа дифференцировки В-клеток и макрофагов, продукции антител.

4. Иммуноterapia препаратами иммуновак-ВП-4 и кагоцел практически не оказывает влияния на исходно нормальные значения уровней цитокинов.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. П. Адаскевич, *Неотложная дерматология*, “Триада-Фарм”, Москва (2001).
2. Н. К. Ахматова, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 3, 25 – 29 (2006).
3. Н. Б. Егорова, В. Н. Ефремова, Е. А. Курбатова, Л. А. Кузьмина, *ЖМЭИ*, № 6, 96 – 101(1997).
4. А. А. Кубанова, *Дерматовенерология. Клинические рекомендации*, Москва (2010).
5. Б. Ф. Семенов, Н. Б. Егорова, И. Б. Семенова, Е. А. Курбатова, *Рос. мед. вести*, № 3, 26 – 32 (2000).
6. Ю. К. Скрипкин, А. А. Кубанова, В. Г. Акимов, *Кожные и венерические болезни*, Москва (2007).
7. Р. М. Хаитов, *Иммунология*, Москва (2009).
8. Т. П. Хэбиф, *Кожные болезни: Диагностика и лечение*, Москва (2007).
9. P. González-Delgado, M. Blanes, et al., *Allergol Immunopathol.*, 34(2), 76 – 8 (2006).
10. R. Govinden, K. D. Bhoola, *Pharmacol. Ther.*, 98, 257 – 265(2003).
11. T. Shiohara, Y. Kano, *Clin Rev Allergy Immunol.*, 33(1 – 2), 124 – 33(2007).

Поступила 05.11.12

IMMUNOTHERAPY INFLUENCE BY IMMUNOVAK-VP-4 AND KAGOCEL IN LEVEL CYTOKINE AT PATIENTS OF THE FIXED ERYTEMA

E. V. Sorokina, N. K. Akhmatova, V. G. Khomenkov, and É. A. Akhmatov

Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, 105064, Russia

Fixed erythema – a kind of clinical and histopathologic reaction, fixed drug eruption. The purpose of the study – the study of characteristics of the cytokine profile in patients with erythema and the dynamics of the basal levels of proinflammatory and antiinflammatory cytokines during immunotherapy. All 41 patients with fixed erythema at baseline and after treatment was carried out determination of levels of pro-, anti-inflammatory and regulatory cytokines in the serum by ELISA using test systems “Biosource” (Austria). In patients with fixed erythema Immunovac treatment increased serum IFN- γ ($p < 0,05$), IL-1 β ($p > 0,05$), IL-6. While Kagocel led to an increase in IFN- γ ($p < 0,05$), IL-1 β , IL-6 and reduction of TGF- β ($p < 0,05$). At the same time in patients with fixed erythema basic therapy contributed to the significant increase in TGF- β and decrease in IL-10. Immunovac-VP-4 had the highest activity for the induction of IFN- γ . Inclusion in the range of therapeutic and prophylactic measures in patients with fixed erythema immunomodulators promotes activation links innate and adaptive immunity triggers mechanisms, thus increasing the antiviral response in patients with erythema.

Key words: fixed erythema; cytokines; immunovac-VP-4; kagocel.