



## РОЛЬ ЦИТОКИНОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ВИТИЛИГО

*Самандарова Азизабону Уткировна, студентка 5 курса 5Д20 группы  
(BITU) Бухарский университет инновационного образования и  
медицины*

*Министерство высшего образования, науки и инноваций и  
Министерство здравоохранения  
(Узбекистан, г. Бухара)*

*Samandarova Azizabonu Utkirovna, 5th year student, group 5D20 (BITU)  
Bukhara University of innovative Education and Medicine of the  
Ministry of Higher Education, Science and Innovation and Ministry of  
Health  
(Uzbekistan, Bukhara)*

*Приводится подробное описание цитокинов и их роли в патогенезе аутоиммунных заболеваний чело- века.*

*Интерлейкины ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, фактор некроза опухоли в сыворотке крови у пациентов с витилиго, с учетом формы и активности течения заболевания. Проанализирована роль этих цитокинов в патогенезе витилиго. Обсуждаются перспективы антицитокиновой терапии.*

*Ключевые слова: витилиго, цитокины, интерлейкин-1 $\beta$ , интерлейкин-6, интерлейкин-8, фактор некроза опухоли, антицитокиновая терапия*

## ROLE OF CYTOKINES IN THE PATHOGENESIS OF VITILIGO

*Cytokines and their role in the pathogenesis of human autoimmune diseases are discussed. Serum cytokines (interleukins 1-beta, 6, 8, and tumor necrosis factor) were measured in patients with vitiligo with different forms and activity of disease. The contribution of these cytokines to the pathogenesis of vitiligo is analyzed and prospects of anticytokine therapy are discussed.*



*К e y w o r d s: vitiligo, cytokines, interleukin-1-beta, interleukin-6, interleukin-8, tumor necrosis factor, anti cytokine therapy*

Витилиго — приобретенное поражение кожи в виде депигментации, происходящее в результате разрушения меланоцитов эпидермиса. Частота витилиго в мире составляет 0,5—2%. Результаты опубликованных исследований позволяют предположить наличие множества возможных

механизмов развития этого заболевания. Причина витилиго остается неизвестной, тем не

менее предполагаемый аутоиммунный генез заболевания в настоящее время признается одним из наиболее значимых. В пользу иммунной гипотезы служат следующие доказательства: некоторая связь витилиго с аутоиммунными заболеваниями;

выявление органоспецифических и меланоцитспецифических антител; субпопуляционные пропорциональные нарушения Т-клеток. В настоящее время появляется все больше данных, свидетельствующих о том, что в основе аутоиммунной патологии при витилиго лежат

расстройства иммунной регуляции, обусловленные нарушением продукции цитокинов.

Цитокины (небольшие пептидные информационные молекулы), будучи продуктами секреции активированных иммунокомпетентных клеток, являются важнейшими участниками реализации сложного каскада иммунных реакций. Они регулируют межклеточные и межсистемные

взаимодействия, определяют выживаемость клеток, стимуляцию или подавление их роста, дифференциацию, функциональную активность и апоптоз. Цитокины активны в очень малой концентрации. Их биологический эффект на клетки реализуется через взаимодействие со специфическим рецепторным комплексом, локализованным на клеточной цитоплазматической

мембране. Образование и секреция цитокинов происходят кратковременно и строго регулируются. В первую очередь цитокины регулируют развитие местных защитных реакций в тканях с участием

различных типов клеток крови, эндотелия, соединительной ткани и эпителия. Гиперпродукция цитокинов ведет к развитию воспалительной реакции и может стать причиной развития ряда

патологических состояний. В рамках иммунной системы цитокины осуществляют взаимосвязь между специфическими защитными реакциями и специфическим иммунитетом, действуя в

обоих направлениях. На уровне организма цитокины обеспечивают согласованность действия иммунной, эндокринной, нервной, кроветворной и других систем в нормальных условиях и в ответ на патологические воздействия и служат для их вовлечения в

организацию и регуляцию защитных реакций.

Все цитокины, а их в настоящее время известно около 200, по структурным особенностям и биологическому действию делятся на несколько групп:

- провоспалительные цитокины, обеспечивающие мобилизацию воспалительного ответа (интерлейкины — ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, фактор некроза опухоли — ФНО, интерферон — ИФН- $\gamma$ );
- противовоспалительные цитокины, ограничивающие развитие воспаления (ИЛ-4, ИЛ-10, трансформирующий ростовой фактор  $\beta$ );
- цитокины — регуляторы клеточного и гуморального иммунитета (естественный или специфический);
- цитокины, обладающие собственными эффекторными функциями (противовирусные, цитотоксические);
- цитокины — ростовые факторы, контролирующие пролиферацию и дифференцировку предшественников функционально активных иммунокомпетентных клеток.

Спектр биологической активности цитокинов в значительной степени перекрывается: один и тот же процесс может стимулироваться в клетке более чем одним цитокином. Многие цитокины



являются плейотропными — проявляют более чем один эффект. Во многих случаях в действиях цитокинов наблюдается синергизм. Цитокины — антигеннеспецифические факторы, поэтому

специфическая диагностика инфекционных, аутоиммунных и аллергических заболеваний с

помощью определения уровня цитокинов невозможна, но определение их концентрации в крови дает информацию о функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток, тяжести воспалительного процесса, его переходе на системный уровень, позволяет сделать прогноз заболевания. Многие цитокины применяют в клинической практике в виде лекарственных препаратов.

В настоящее время существуют убедительные доказательства того, что цитокины имеют немало- важное значение в патогенезе аутоиммунитета. Например, ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО играют

решающую роль при аутоиммунном тиреоидите, инсулинзависимом сахарном диабете.

Трансгенная экспрессия гранулоцитарно-моноцитарного колониестимулирующего фактора в желудке вызывает аутоиммунный гастрит у мышей.

Исследованию уровня цитокинов при витилиго посвящены работы отечественных и зарубежных авторов. Однако в подавляющем большинстве работ различные цитокины изучали у пациентов с витилиго в целом, без учета формы и стадии заболевания, что не позволяет сделать конкретные выводы и наметить пути лечения больных с данной патологией с учетом их цитокинового статуса. Целью нашей работы стало изучение содержания основных провоспалительных цитокинов (ИЛ-

1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО) в сыворотке крови у пациентов с витилиго, с учетом формы и активности процесса.

Материалы и методы



ИЛ-1 включает два белка (ИЛ-1а и ИЛ-1в) молекулярной массой 17,5 кДа, секретируемых фагоцетирующими мононуклеарами различной тканевой локализации. Преобладающей формой ИЛ-1 является ИЛ-1в. Оба цитокина кодируются различными генами, и регуляция их синтеза и секреции кардинально различается, однако они обладают практически одинаковым спектром биологической активности и конкурируют за связывание с одними и теми же рецепторами.

Основным источником ИЛ-1 являются активированные мононуклеарные фагоциты, хотя почти все клетки способны при стимуляции секретировать ИЛ-1а и ИЛ-1в. Важный источник ИЛ-1 — антигенпрезентирующие клетки, включая моноциты и макрофаги, клетки Лангерганса, дендритные клетки, В-лимфоциты, эндотелиальные клетки, Т-клетки, естественные киллеры, астроциты, кератиноциты и фибробласты. ИЛ-1 отличается широким спектром биологического действия. Он играет центральную роль в развитии воспалительного ответа и процессах

репарации тканей. Его мишенями являются моноциты, макрофаги, клетки печени, эндотелия и эпителия, фибробласты, кератиноциты, Т- и В-лимфоциты, остеокласты, клетки нервной системы и другие. В малой концентрации он преимущественно действует как посредник локального

воспаления, которое обуславливает каскадный синтез активированных хемокинов мононуклеарными фагоцитами и эндотелиальными клетками. Это, в свою очередь, провоцирует активацию адгезии лейкоцитов и эндотелиальных клеток, индуцирует пролиферацию Т-хелперов (CD4<sup>+</sup>) и рост и дифференциацию В-лимфоцитов. При высокой концентрации ИЛ-1 поступает в циркуляцию и воздействует как эндокринный гормон на печень, мозг, надпочечники и другие органы. По своим эффектам ИЛ-1 во многом подобен ФНО. ИЛ-1 проявляет нейроэндокринную активность, стимулируя продукцию адренокортикотропного гормона, обладает выраженной

гемопоэтической активностью, стимулируя пролиферацию и дифференцировку ранних клеток предшественников миелоидного ряда. ИЛ-6



— гликопротеид молекулярной массой 19—24 кДа, относится к наиболее известным и до последнего времени, как считалось, хорошо изученным

воспалительным цитокинам. Источником его продукции являются макрофаги, активированные Т- и В-лимфоциты, а также клетки, не имеющие прямого отношения к иммунной системе (фибробласты, кератиноциты, хондроциты, клетки стромы эндометрия, фолликулярно-звездчатые клетки гипофиза, эндотелиальные клетки и др.). По многообразию клеточных источников продукции и мишеней биологического действия ИЛ-6 является одним из наиболее активных цитокинов, участвующих в реализации иммунного ответа и воспалительной реакции.

Биологическая роль ИЛ-6 в первую очередь заключается в индукции восстановительных механизмов и активации иммунной защиты (активация и дифференцировка Т-клеток, созревание В-клеток, синтез С-реактивного белка в печени, усиление гемопоэза). Он оказывает существенное влияние на многие органы и системы организма. Под влиянием ИЛ-6 повышается экспрессия молекул адгезии на эндотелиальных клетках, что активирует их взаимодействие с лимфоцитами.

ИЛ-8 — небольшой гликопротеин молекулярной массой 8,8 кДа, вырабатываемый макрофагами, лимфоцитами, эпителиальными клетками, фибробластами, клетками эпидермиса.

ИЛ-8 является мощным медиатором воспаления, относящимся к группе хемокинов, основное свойство которых обеспечивать хемотаксис в зону воспаления различных типов клеток: нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов, Т-клеток. ИЛ-8 обладает выраженными провоспалительными свойствами, вызывая экспрессию молекул межклеточной адгезии и усиливая прилипание нейтрофилов к эндотелиальным клеткам и субэндотелиальным матричным белкам.

Свойства ИЛ-8 вызывать миграцию клеток и способность их адгезии определяют его как активного участника острой воспалительной реакции в



местах проникновения патогена. Повышенный уровень ИЛ-8 ассоциируется с острым и хроническим воспалительными состояниями.

ФНО — гликопротеин молекулярной массой 17 400 кДа. Основной и наиболее изученный провоспалительный цитокин. В современной терминологии ФНО называют белок, ранее называвшийся ФНО- $\alpha$ . Продуцируется ФНО преимущественно активированными моноцитами крови и/или макрофагами, в меньшей степени другими типами клеток. Спектр биологического действия ФНО очень широк. Он является медиатором специфического и неспецифического ответа организма на патогены, служит важным звеном связи между воспалительными и иммунными реакциями. Многие функции ФНО аналогичны функциям ИЛ-1, но для проявления биологического эффекта необходима концентрация ФНО, в 100 раз превышающая таковую ИЛ-1. Биологический эффект ФНО зависит от его концентрации. При низкой концентрации он действует локально как паракринный и аутокринный регулятор иммуновоспалительных реакций. ФНО способен вызывать гибель опухолевых клеток вследствие апоптоза или некроза. Он стимулирует синтез цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6), дает противовирусный эффект. Многие проявления ФНО усиливает ИФН- $\gamma$ . При средней концентрации ФНО действует как эндокринный гормон, проявляя системные эффекты: вызывает повышение температуры, стимулирует секрецию мононуклеарными фагоцитами и эндотелием ИЛ-1 и ИЛ-6 с поступлением их в общую циркуляцию, активирует систему свертывания, подавляет деление стволовых клеток костного мозга и т.д. Высокая концентрация ФНО может быть, например при септическом шоке, опасной для жизни. Роль ФНО в патогенезе различных заболеваний интенсивно изучается. Он является важным медиатором некоторых аутоиммунных заболеваний, в том числе сахарного диабета 1-го типа, ревматоидного артрита, бронхиальной астмы. Уровень цитокинов в сыворотке крови был измерен у 50 больных витилиго (19 мужчин и 31 женщина в возрасте от 18 до 65 лет, средний возраст 24,4 года). Всех пациентов разделили в зависимости от формы и стадии



заболевания. У 27 пациентов диагностировали генерализованную форму витилиго, у 23 — локализованную (по классификации Т. Fitzpatrick). У 22 больных наблюдали появление новых очагов депигментации и/или увеличение в размере уже имеющихся за предыдущих 3 мес, таким образом, у них диагностировали прогрессирующую стадию заболевания, у остальных 28 — стационарную. Сопутствующих аутоиммунных заболеваний у наблюдаемых нами больных витилиго (тироидит Хашимото, сахарный диабет, злокачественная анемия и др.), а также воспалительных заболеваний кожи (псориз, атопический дерматит и др.) не отмечено. В течение последних 2 мес обследуемые больные витилиго не получали какой либо терапии. Контрольную группу составили 20 здоровых лиц, схожих по полу и возрасту с обследованными больными.

Содержание данных цитокинов в сыворотке крови у пациентов с витилиго проводили методом иммуноферментного анализа с использованием соответствующих моноклональных антител, иммобилизованных на поверхности лунок полистеролового планшета из наборов тест- систем "ИФА-БЕСТ". Анализ включал три этапа. На первом этапе контрольные и исследуемые образцы инкубировали в лунках с иммобилизованными антителами (АТ). Связавшиеся с АТ рецепторные антагонисты к исследованным цитокинам выявляли при инкубации с конъюгантом АТ человека и пероксидазы хрена. Количество связавшегося конъюганта определяли цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы хрена и хромогена тетраметилбездина. После остановки реакции серной кислотой, измеряли оптическую плотность растворов в лунках планшета при длине волны 450 нм. Концентрацию рецепторных антагонистов исследуемых цитокинов (в пг/мл) определяли по калибровочному графику, составленному согласно инструкции к наборам. Результаты представляли в качестве среднего значения. Для анализа статистических различий использовали t-критерий Стьюдента.

Различие  $p < 0,05$  считалось статистически значимым.



## Результаты и обсуждение

В результате проведенных иммунологических исследований мы не выявили каких-либо статистически значимых различий в уровне ИЛ-1 $\beta$  у больных витилиго по сравнению с таковыми у здоровых лиц, а также выраженных отличий при различных формах и стадиях заболевания (см. таблицу). Полученные нами результаты согласуются с данными Т. Сяи-Хя и соавт. .

Правда, в некоторых работах обнаружено статистически значимое повышение его содержания у пациентов с витилиго. Таким образом, влияние этого цитокина на патогенез витилиго все еще остается неясным.

Содержание ИЛ-6 в сыворотке крови у пациентов с витилиго статистически значимо превышало таковое у здоровых лиц ( $3,5 \pm 1,4$  против  $1,9 \pm 0,8$  пг/мл;  $p < 0,05$ ). Причем наиболее значимым этот показатель был у больных с генерализованной формой и прогрессирующей стадией заболевания ( $p < 0,001$ ). Эти данные согласуются с результатами большинства исследований, проведенных ранее. Считается, что ИЛ-6 может вызывать экспрессию фактора межклеточной адгезии 1 на меланоциты, что запускает соединение лейкоцитов и меланоцитов и приводит к иммунологической цитотоксичности [19], а также поликлональной активации В-клеток, увеличивая выработку АТ и вызывая повреждение меланоцитов при витилиго.

Наряду с повышением содержания ИЛ-6 у больных витилиго отметили статистически значимое увеличение количества ИЛ-8 ( $67,8 \pm 18,3$  против  $36,4 \pm 11,2$  пг/мл;  $p < 0,05$  во всей популяции в целом). Мы не выявили каких-либо статистически значимых различий в зависимости этого показателя от формы или стадии заболевания, хотя можно говорить о статистически незначимом более высоком уровне ИЛ-8 у пациентов с генерализованной формой заболевания. Возможно, увеличенное производство ИЛ-8 активными моноцитами при витилиго притягивает полиморфно-ядерные нейтрофилы и Т-лимфоциты, способствуя меланоцитарной цитотоксичности. При анализе уровня ФНО обнаружили его достоверное повышение в сыворотке крови у



больных витилиго по сравнению с аналогичным показателем у здоровых лиц ( $14,4 \pm 4,2$  против  $8,7 \pm 3,1$  пг/мл;  $p < 0,001$ ). Причем выявили четкую корреляцию этого показателя в зависимости от формы и остроты процесса ( $p < 0,001$ ;). Считаем, что данный показатель может стать лабораторным маркером степени прогрессирования (тяжести) витилиго. Впрочем, необходимо отметить, что данные по уровню ФНО при витилиго весьма противоречивы.

Так, в работе Е.В. Дворянковой и соавт. также отмечено повышение содержания ФНО в сыворотке крови у пациентов с витилиго, в то время как Т. Cai Xia и соавт. не обнаружили каких-либо отличий в значении этого показателя по сравнению с таковым у здоровых лиц, а Н. Yu и соавт, наоборот, выявили его снижение при витилиго. ФНО — важный медиатор воспаления и при чрезмерной экспрессии может вызывать хронические воспалительные и аутоиммунные заболевания. За последние несколько лет были получены доказательства, позволяющие сделать вывод о том, что ФНО играет важную роль в апоптозе путем активации рецепторопосредованного пути апоптоза в клетках многих типов, а также является паракринным ингибитором стволовых клеток. Доказано влияние ФНО на патогенез многих аутоиммунных заболеваний, ассоциированных с витилиго. Аутореактивные Т-клетки, распознающие антигены пигментных клеток, выявлены у значительно большей части больных витилиго, чем у здоровых лиц. Более того, в некоторых исследованиях получены доказательства того, что в коже, пораженной витилиго, выражена значительно больше экспрессия ФНО, нежели в коже вокруг очагов поражения, вне очагов поражения и коже здоровых лиц. Таким образом, можно предположить, что ФНО играет важную роль в развитии витилиго: с одной стороны, разрушая меланоциты путем индукции различных механизмов апоптоза, с другой — угнетая дифференцировку стволовых клеток в меланоциты.

Полученные нами результаты и данные других исследований делают возможным использование антицитокиновой терапии в лечении витилиго. Антицитокиновую терапию с успехом используют в лечении многих



аутоиммунных заболеваний. Так, ингибитор ФНО инфликсимаб, с успехом применяемый при ревматоидном артрите, псориазе. J. Simon, R. Burgos Vargas описали пациента с анкилозирующим спондилитом в сочетании с витилиго, который получил лечение инфликсимабом, что привело к постепенной репигментации очагов витилиго. Аналогичные данные получены А. Campanati и соавт. при лечении псориаза в сочетании с витилиго этанерцептом. В зарубежной литературе имеются единичные данные об успешном использовании при витилиго такого антагониста ФНО, как такролимус. Поскольку в отношении антагонистов ФНО при витилиго имеется мало данных, необходимо проведение дальнейших экспериментальных и клинических исследований для оценки эффективности их действия при этом заболевании.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Данеелян Э.Е., Кцоян К.А., Адилханян А.Ю. // Вестн. Дерма-Тол. И венерол. — 2007. — № 7. — С. 14—18.
2. Дворянкова Е.В., Ткаченко С.Б., Корсунская И.М. // Экспер. И.Клин. Дерматокосметол. — 2006. — № 2. — С. 9—11.
3. Инвитро диагностика / Под ред. Е.А. Кондрашевой, А.Ю. Островского — М.: Медиздат; 2009.
4. Прошутинская Д.В. // Вестн. Дерматол. И венерол. — 2006. — № 5. — С. 66—68.
5. Симбирцев А.С. // Цитокины и воспаление. — 2004. — С. 14-18
6. Al-Fouzan A., Al-Arbash M., Fouad F. Et al. // Eur. J. Immunogenet. — 1995. — Vol. 22, N 2. — P. 209—213.
7. Atzeni F., Turiel M., Capsoni F. Et al. // Ann. N.Y. Acad. Sci. — 2005. — Vol. 1051. — P. 559—569.



8. Betterle C., Caretto A., De Zio A. Et al. // *Dermatologica*. — 1985. — Vol. 171, N 6. — P. 419— 423.
9. Biondo M., Nasa Z., Marshall A. Et al. // *J. Immunol.* — 2001. — Vol. 166, N 3. — P. 2090— 2099.
10. Birol A., Kisa U., Kurtipek G.S. et al. // *Int. J. Dermatol.* — 2006. — Vol. 45, N 8. — P. 992— 993.
11. Tu C.X., Gu J.S., Lin X.R. // *J. Dermatol. Sci.* — 2003. — Vol. 31, N 1. — P. 73—78.
12. Campanati A., Giuliadori K., Ganzetti G. // *Am. J. Clin. Dermatol.* — 2010. — Vol. 11, suppl. 1. — P. 46—48.
13. Dell'anna M.L., Picardo M. // *Pigment Cell Res.* — 2006. — Vol. 19, N 5. — P. 406—411.
14. Feldmann M., Brennan F., Maini R. // *Int. Rev. Immunol.* — 1998. — Vol. 17, N 1—4. — P. 217—228.
15. Grimes P.E., Morris R., Avannis-Aghajani E. Et al. // *J. Am. Acad. Dermatol.* — 2004. — Vol. 51, N 1. — P. 52—61.
16. Gupta S., Gollapudi S. // *Autoimmun. Rev.* — 2006. — Vol. 5, N 4. — P. 264—268.
17. Handa S., Kaur I. // *J. Dermatol.* — 1999. — Vol. 26, N 10. — P. 653—657.
18. Kemp E.H., Waterman E.A., Weetman A.P. // *Expert. Rev. Mol. Med.* — 2001. — Vol. 3, N 20. — P. 1—22.
19. Morelli J.G., Norris D.A. // *J. Invest. Dermatol.* — 1993. — Vol. 100, N 2, suppl. — P. 191S — 195S.
20. Naughton G.K., Eisinger M., Bystryrn J.C. // *J. Exp. Med.* — 1983. — Vol. 158, N 1. — P. 246— 251.



21. Ongenae K., Van Geel N., Naeyaert J. // Pigment. Cell Res. — 2003. — Vol. 16, N 2. — P. 90— 100.
22. Rezaei N., Gavalas N.G., Weetman A.P., Kemp E.H. // J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. — 2007. — Vol. 21, N 7. — P. 865—876.
23. Simon J.A., Burgos-Vargas R. // Dermatology. — 2008. — Vol. 216, N 3. — P. 234—235.
24. Yu H.S., Chang K.L., Yu C.L. et al. // J. Invest. Dermatol. — 1997. — Vol. 108, N 4. — P. 527—529.