На правах рукописи

Зубарева
Елена Юрьевна

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ТИМОДЕПРЕССИНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПСОРИАЗА

14.00.15 –патологическая анатомия
14.00.11 – кожные и венерические болезни

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Омск – 2007

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Омская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Научные руководители: доктор медицинских наук, профессор Кононов Алексей Владимирович

доктор медицинских наук, доцент Охлопков Виталий Александрович

Официальные оппоненты: кандидат медицинских наук, доцент Новиков Юрий Александрович (Омский областной клинический кожно-венерологический диспансер)

доктор медицинских наук, профессор Конев Владимир Павлович (Омская государственная медицинская академия)

Ведущая организация: ГОУ ВПО Красноярская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию

Защита диссертации состоится «____» _____2007 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д208.065.04 при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Омская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по адресу: 644099, г. Омск, ул. Ленина, 12.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Омской государственной медицинской академии

Автореферат разослан «___» _____2007 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Е.А.Потрохова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. В патогенезе псориаза большую роль играют иммунные нарушения. Одним из основных патогенетических звеньев является поляризация цитокинового профиля - преобладание Th1-ответа I типа. При этом, наряду с повышением уровня ИЛ-1, 2, 6, 7, 8, ИФ-γ, также происходит увеличение уровня ФНО-α (Victor F.C., 2002; Олисова О.Ю., 2005). Поражение кожи сопровождается притоком активированных Т-лимфоцитов. Повышенный синтез макрофагами и активированными кератиноцитами ИЛ-1 индуцирует Т-клетки к продукции ИЛ-2, который, в свою очередь, является мощным стимулятором как пролиферации Т-лимфоцитов, так и клеток эпидермиса. Избыточная миграция лимфоцитов из периферической крови в кожу сопровождается инфильтрацией эпидермиса этими клетками (Самсонов В.А., 2001; Shear N.H., 2006).

Учитывая современные аспекты патогенеза псориаза, оправдано применение иммуносупрессивных средств и методов лечения этого дерматоза (Joachim J., 2005; Charlesworth E.N., 2006; Новиков А.И., 2006). Появление новых иммуносупрессивных фармакопрепаратов приводит к необоснованному их применению без учета давности заболевания и наличия в анамнезе аналогичной терапии. Остается важной задачей изучение и внедрение в клиническую практику лечения псориаза новых препаратов, лишенных многочисленных побочных эффектов и доступных для различных контингентов больных. Настоящее исследование предпринято для обоснования применения фармакопрепарата Тимодепрессин на основе изучения молекулярно-биологических процессов, происходящих в псориатической папуле, в сопоставлении с клиническими данными, позволяющими учитывать стадии течения псориаза.

Цель исследования. Оценить эффективность применения Тимодепрессина в комбинированной терапии больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза на основании изучения клинических, морфологических и молекулярно-клеточных проявлений болезни.

Задачи исследования:

1. В открытом когортном проспективном контролируемом исследовании изучить влияние препарата Тимодепрессин на

иммунофенотип воспалительного инфильтрата в псориатическом очаге.

2. Оценить влияние препарата Тимодепрессин на популяцию антигенпрезентирующих клеток, способных к экзогенной презентации антигена с помощью иммуногистохимических методов исследования.
3. Выделить группы пациентов, у которых достигнута наибольшая клинико-морфологическая эффективность проводимой комбинированной терапии.

Научная новизна. Определен контингент пациентов, для которых Тимодепрессин является препаратом выбора (больные с давностью заболевания менее 15 лет, без иммуносупрессивной терапии в анамнезе).

Впервые обнаружено отсутствие прямого влияния препарата Тимодепрессин на популяцию профессиональных антигенпрезентирующих клеток, играющих важнейщую роль в хронизации заболевания.

Практическая значимость. Результаты проведенной работы свидетельствуют о достаточной клинической эффективности у больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза включения препарата Тимодепрессин в традиционную терапию. Это позволяет рекомендовать его для широкого использования у данной категории больных.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Тимодепрессин является препаратом выбора в комбинированной терапии среднетяжелых и тяжелых форм псориаза у пациентов с длительностью заболевания менее 15 лет, не имеющих в анамнезе системной иммуносупрессивной терапии.
2. Тимодепрессин обладает селективностью действия; достоверно снижает количество активированных Т-лимфоцитов памяти в псориатической папуле, не оказывая прямого влияния на популяцию антигенпрезентирующих клеток в коже.

Апробация работы. Основные положения работы доложены на конференции «Зиновьевские чтения», посвященной памяти заслуженного деятеля науки РФ, профессора А.С. Зиновьева (Омск 2006), на научно-практической конференции «Актуальные вопросы дерматовенерологии», посвященной 85-летию кафедры кожных и венерических болезней Омской государственной медицинской

академии (Омск, 2006), на XIV Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2007), на II Всероссийском конгрессе дерматовенерологов (Санкт-Петербург, 2007), на IV международной научно-практической конференции республики Казахстан (Алматы, 2007).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, из них 2 статьи в журналах по перечню ВАК Минобрнауки РФ.

Внедрение результатов исследования. Результаты работы используются в учебном процессе на кафедре кожных и венерических болезней и кафедре патологической анатомии с курсом клинической патологии Омской государственной медицинской академии, а также в лечебной работе поликлинического и кожного отделений Омского областного клинического кожно-венерологического диспансера.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, 3 глав, заключения (обсуждения результатов исследования), выводов. В рукописи 131 страница, иллюстрирована 20 таблицами, 41 рисунком. Библиографический указатель содержит 159 работ (65 источников на русском языке и 94 иностранных источника).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследование было проведено в дизайне когортного открытого проспективного рандомизированного контролируемого (рис. 1).

Протокол исследования был одобрен локальным научным этическим комитетом Омской государственной медицинской академии. Каждый пациент получал подробную информацию о проводимом исследовании и давал информированное согласие на участие в исследовании.

Согласно поставленной цели и задачам была сформирована исследуемая выборка больных псориазом соответственно критериям включения и исключения из исследования.

Критерии включения:

- прогрессивная стадия среднетяжелых и тяжелых форм псориаза
- мужской пол
- возраст от 20 до 55 лет
- давность заболевания более 5 лет
- обострения более 2-х раз в год

- информированное согласие на участие в исследовании

Критерии исключения:

-лица, получающие другие виды иммуносупрессивной терапии на момент проведения исследования

- последнее лечение по поводу псориаза менее 6 месяцев назад

Рис. 1. Дизайн исследования

- развитие побочных эффектов на получаемую терапию
- наличие декомпенсированной хронической патологии
- нарушение режима лечения
- осложненный аллергологический анамнез
- алкоголизм, наркомания

Набор клинического материала проводился в дерматологическом отделении Омского областного клинического кожно-венерологического диспансера.

Всего под наблюдением находилось 60 больных среднетяжелыми и

тяжелыми формами псориаза в стадии прогрессирования на момент включения и в стационарной и регрессивной стадиях в течение исследования.

Размер выборки, минимально достаточный для получения достоверных данных, расчитывался по формуле (Lopes-Jimenez F., 1998). За клинически значимый результат нами принималось различие в частоте наступления стационарной или регрессивной стадии, как минимум, на 25%:

$$N = \frac{([p1 \times (100 - p1)] + [p2 \times (100 - p2)]) \times 7{,}9}{(p_2 - p_1)^2}$$

где N - число больных, которое требуется для получения достоверности выводов; p_1 - ожидаемое значение первичной (основной) переменной интереса для одной из сравниваемых групп; p_2 - ожидаемое значение первичной переменной интереса для другой из сравниваемых групп.

В зависимости от схемы лечения все пациенты путем рандомизации были распределены на две группы. Применение метода рандомизации позволило обеспечить равномерное распределение больных по возрасту, длительности и тяжести заболевания.

Основную группу составили 30 больных, комплексное лечение которых было дополнено фармакопрепаратом Тимодепрессин (3 курса по 1 мл в/м ежедневно в течение 5 дней с двухдневным перерывом, на курс 15 инъекций).

В группу сравнения вошли 30 пациентов, лечение которых проводилось с использованием только традиционных методов лечения.

Традиционная терапия включала введение тиосульфата натрия 30%-10,0 внутривенно №10; 5 мл эссенциале внутривенно в аутокрови №10; аскорбиновой кислоты 5%-2,0 внутримышечно №10; гемодеза 400,0 1 раз в 3 дня внутривенно капельно №3; ретинола пальмитата 400 тыс. в сутки; при зуде - прием антигистаминных препаратов. По показаниям назначались витамины группы В (В1, В6, В12) по 1мл внутримышечно №10. Наружно применялись серно-салициловая,

нафталановая, дегтярная, папавериновая мази в соответствующих концентрациях, УФО общее.

Чтобы объективизировать и оценить тяжесть заболевания и его динамику по клиническим признакам до назначения лечения и в его процессе использовали индекс площади и тяжести заболевания (PASI). Результаты терапии оценивались по степени очищения кожи от псориатических высыпаний (PASI-индекс) и длительности лечения.

Значительное клиническое улучшение регистрировалось при снижении индекса PASI на 75%, что соответствует регрессу более 80% высыпаний. Клиническое улучшение отмечалось при снижении индекса PASI на 25%-75%, когда псориатические очаги значительно уменьшались в размерах, разбивались на мелкие папулы, в том числе в области дежурных участков.За незначительное клиническое улучшение принималось снижение индекса PASI менее чем на 25%, когда удавалось лишь остановить прогрессирование псориатического процесса, добиться прекращения патологического шелушения и некоторого уменьшения очагов поражения (Адаскевич В.П., 2004). Лечение считалось безрезультатным в том случае, если больные выписывались в прогрессивной или стационарной стадии псориатического процесса, причем площадь очагов поражения оставалась прежней.

Для оценки эффективности лечения у всех пациентов, с их согласия, была проведена пункционная биопсия кожи с псориатической папулы до и после начала лечения на 21 день. Перед взятием биопсии проводилась местная инфильтрационная анестезия 0,5% раствором новокаина 2-3 мл с помощью тонкой иглы, вводимой в область элемента (Ахтямов С.Н., 2002). После проведения анестезии свободной рукой кожу растягивали параллельно естественным линиям и устанавливали микротом. Чтобы микротом достиг достаточно глубоких слоев кожи, его вводили вращательными движениями. Затем приподнимали биопсированный кусочек пинцетом и основание биоптата подрезали лезвием скальпеля. Образовавшуюся рану сшивали одним швом.

Гистологическое и иммуногистохимическое исследование проводилось на кафедре патологической анатомии с курсом клинической патологии Омской государственной медицинской академии.*

1. Гистологический метод. Кусочки ткани фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина на фосфатном буфере (pH 7,2-7,4) на протяжении 24 ч. Проводку, заливку в парафин и приготовление на протяжении 24 ч. Проводку, заливку в парафин и приготовление па_____

*Автор выражает искреннюю признательность за помощь в проведении иммуногистохимических исследований, статистического анализа и изготовлении иллюстраций доценту кафедры патологической анатомии с курсом клинической патологии Омской государственной медицинской академии Росздрава кандидату медицинских наук Р.В.Городилову.

рафиновых срезов проводили по общепринятой методике (Пирс Э., 1962; Лили Р.,1969; Саркисов Д.С., 1996). Из каждого блока приготавливали 10-12 срезов, помещая их на стекла, обработанные поли-L-лизином (фирма Novocastra, England) с целью повышения адгезивных свойств парафиновых срезов. Часть неокрашенных стекол оставляли в архиве для дальнейшего использования в иммуногистохимических исследованиях. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Приготовление красителей, буферных растворов и технику окраски проводили по прописям, приведенным в соответствующих руководствах (Саркисов Д.С., 1996). Просмотр и фотографирование микропрепаратов осуществляли на фотомикроскопе NIKON Eclipse 400.

2. Иммуногистохимическое исследование. Выполняли на серийных парафиновых срезах с использованием панели антител (табл. 1). Срезы толщиной 5 мм тщательно депарафинировали в 2-х порциях ксилола по 5 минут, с последующим обезвоживанием в батарее спиртов нисходящей концентрации - 95^0, 95^0, 80^0 – по 3 минуты в каждом. Так как наличие остаточного парафина в срезах приводило к увеличению фонового окрашивания, ксилолы и спирты использовали для обработки не более 30 стекол.

Таблица 1

Панель антител

CD45RO	UCHL1 (“DakoCytomation ”, Дания)	Мембранный маркер клеток Т-лимфоцитов памяти
CD68	PG-M1 (“DakoCytomation ”, Дания)	Цитоплазматический маркер клеток моноцитов/макрофагов

После промывания срезов в дистиллированной воде (5 минут) и помещения их в трис-буфер на 5 минут с целью повышения специфичности реакции проводили демаскировку антигенов в СВЧ-печи при режиме мощности 750 Вт в течение 5 минут при использовании реакции с CD68 (Эллиниди В.Н., 2002). Давали срезам остыть до комнатной температуры, помещая их в трис-буфер на 20-25 минут. Для выявления CD45RO-антигенов использовался метод ферментной демаскировки с применением протеиназы К (обработка стекол в течении 30 мин.). С целью уменьшения фона и снижения неспецифического окрашивания осуществляли блокирование эндогенной пероксидазы 3%-ным раствором перекиси водорода в течение 5 минут и обработкой протеин-блоком - 20 минут. В дальнейшем проводили инкубацию с первичными антителами - 60 мин (37^0С), после которой срезы помещали в трис-буфер – 3 порции по 5 мин.

Затем срезы обрабатывали вторыми (биотилинированными) антителами - 20 минут и инкубировали со стрептавидин-биотин-пероксидазным комплексом - 20 минут.

Окраска хромогеном с визуальным контролем в течение 5-30 минут. В качестве докраски использовали гематоксилин Майера.

3. Морфометрические методы. Для количественной оценки результатов иммуногистохимических реакций в срезах при 400-кратном увеличении микроскопа подсчитывали число клеток, в которых выявлялась иммунопероксидазная метка (позитивное окрашивание) в 6 полях зрения, выбранных случайным образом. Полученные данные пересчитывались на 1 $мм^2$ среза.

4. Статистические методы. При статистической обработке материала вычисляли основные дескриптивные статистики: среднее значение вариационного ряда, моду, медиану, дисперсию и стандартное отклонение. При использовании критерия Колмогорова-Смирнова распределение в вариационных рядах отличалось от нормального, поэтому при сравнении исследуемых групп использовались непараметрические методы (непарный критерий Манна-Уитни – U и парный критерий Уилкоксона – W) (Гублер Е.В., 1973, Гланц С., 1998, Власов В.В., 2001). Статистический анализ проводили с использованием компьютерного пакета программ SPSS for Windows 11.15.0 2002.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У всех больных до начала лечения диагностирована прогрессивная стадия заболевания, характеризовавшаяся появлением свежих точечных высыпаний, продолжающимся ростом уже имевшихся мелких папул и бляшек. Окраска папулезных элементов отличалась выраженной яркостью, шелушение особенно заметным было в центральной части элементов, а по периферии имелась гиперемическая кайма – венчик роста (ободок Пильнова). В эту стадию процесса при поскабливании высыпных элементов четко выявлялась патогномичная для псориаза триада симптомов, также была выражена изоморфная реакция (феномен Кебнера). Нередко больных беспокоил кожный зуд различной интенсивности.

Вульгарная форма псориаза была отмечена у большинства исследуемых – 42 пациента (70,0%). Патологический процесс у больных с этой формой заболевания носил распространенный характер, превышающий 30% поверхности тела и локализовался на участках, характерных для псориаза, то есть на коже волосистой части головы, туловище, разгибательных поверхностях верхних и нижних конечностей. У некоторых больных, помимо этого, псориатические высыпания локализовались на коже лица, ягодиц, крупных складок и сгибательных поверхностей конечностей.

У 2 больных (3,3%) из общего числа обследуемых поверхность элементов местами была эрозирована, с выраженными явлениями экссудации и массивным наслоением чешуйко-корок на папулезных элементах.

Клиническая картина артропатического псориаза (5 пациентов (8,3%)) отличалась наличием выраженной деформации преимущественно межфаланговых суставов кистей и стоп, а также ограничением объема активных и пассивных движений в них.

У 11(18,3%) больных диагностирована псориатическая эритродермия, характеризующаяся генерализованным поражением кожного покрова, местами отмечались участки лихенификации.

Индекс PASI в основной группе пациентов варьировал от 15,3 до 46,2 единиц; в группе сравнения – от 15,8 до 32,1. Среднее значение PASI-индекса составило 25,78±8,07 и 24,66±4,52 соответственно.

Результаты морфологического исследования биоптатов кожи пациентов обеих групп в первой исследовательской точке

характеризовались наличием выраженного или умеренно выраженного акантоза, коррелирующие с удлинением сосочков дермы, приобретавших колбооразную форму, а также увеличения количества фигур митозов, которые встречались не только в базальном слое, но и в супрабазальных слоях эпидермиса. Популяция нейтрофильных лейкоцитов локализовалась преимущественно в субкорнеальном отделе эпидермиса в виде очаговых скоплений (микроабсцессы Мунро). В биоптатах было отмечено увеличение количества сосудов капиллярного типа. Просветы сосудов сосочкового и сетчатого слоев дермы выглядели расширенными, полнокровными, содержали мононуклеарные клетки и нейтрофильные лейкоциты. Выраженная экстравазация форменных элементов крови приводила к формированию достаточно массивного воспалительного инфильтрата, располагавшегося во всех компартментах кожи. Характерным признаком было наличие обильных периваскулярных мононуклеарных инфильтратов сосочкового слоя дермы, а также диапедез лимфоцитов и макрофагов в эпидермис. Периваскулярные инфильтраты, также состоящие из мононуклеарных клеток, располагались и в сетчатом слое дермы.

Обоснование применения Тимодепрессина в лечении среднетяжелых и тяжелых форм псориаза

При анализе клинической эффективности разработанного метода лечения с включением в комплексную терапию Тимодепрессина было отмечено благоприятное влияние препарата на клинические проявления и течение псориаза. Нами был достигнут высокий клинический эффект комбинированной терапии за счет более быстрого разрешения патологического процесса. Клинически уже на 3-5 день лечения у всех больных основной группы отмечалось прекращение появления свежих эффлоресценций, отсутствие периферического роста элементов, снижалась яркость воспалительных явлений и имеющиеся высыпания начинали очищаться от чешуек. Стабилизация патологического процесса у пациентов группы сравнения отмечалась к 6-8 дню лечения. Анализируя полученный во второй исследовательской точке индекс PASI в обеих группах, мы выявили достоверное его снижение у пациентов основной группы ($p=0,001$) в отличие от группы сравнения.

На 21 день терапии значительное клиническое улучшение констатировано у 13 (43,3%) больных основной группы, в то время как в группе сравнения оно отмечено у 1 (3,3%) пациента; клиническое улучшение диагностировано у 16 (53,3%) человек, получавших Тимодепрессин и у 28 (93,3%) больных группы сравнения и незначительное клиническое улучшение отмечалось в одном случае (3,3%) в обеих группах (табл. 2).

При гистологическом исследовании на фоне терапии Тимодепрессином пациентов основной группы отмечалось уменьшение степени пролиферации эпидермальных тяжей, а также снижение интенсивности воспалительной инфильтрации. В биоптатах больных во второй исследовательской точке обнаруживалось отсутствие нейтрофильных лейкоцитов не только интраэпидермально, но и вокруг сосудов сосочкового слоя дермы. Обращало внимание снижение количества мононуклеарных клеток, как в эпителиальном, так и дермальном компартментах.

Таблица 2

Результаты лечебных мероприятий на 21 день терапии

Результат лечебных мероприятий	Основная группа		Группа сравнения	
	Абсолютное число	%	Абсолютное число	%
Значительное улучшение	13	43,3	1	3,3
Улучшение	16	53,3	28	93,3
Незначительное улучшение	1	3,3	1	3,3
Итого:	30	100,0	30	100,0

Гистологическая картина биоптатов пациентов группы сравнения к 21 дню проведения терапии мало чем отличалась от микроскопических изменений, выявленных в основной группе. Воспалительный инфильтрат на фоне лечения приобретал исключительно очаговый характер с локализацией в периваскулярном пространстве.

Таким образом, исходя из субъективных критериев гистологической оценки тяжести воспалительного процесса при псориазе мы не выявили отличий между основной группой, получавших Тимодепрессин и группой сравнения, находившейся на традиционной терапии.

В связи с этим мы использовали иммуногистохимические методы оценки субпопуляций антигенпрезентирующих клеток и лимфоцитов, взаимодействие которых контролируют воспалительный процесс в условиях формирования псориатической папулы. До начала лечения во всех биоптатах вокруг сосудов и интраэпидермально, преимущественно среди клеток базального и супрабазального слоев дермы выявлялись CD45RO-позитивные лимфоциты, с темно коричневым ободком вокруг цитоплазмы. CD68-позитивные клетки характеризовались гранулярным окрашиванием цитоплазмы и локализовались как в пределах воспалительного инфильтрата, так и в пласте эпидермиса.

На 21 день терапии при иммуногистохимическом исследовании как интраэпидермально, так и внутридермально выявлялись CD68-позитивные клетки и сохранялась инфильтрация CD45RO-лимфоцитами вне зависимости от принадлежности к исследуемой группе.

Тем не менее, при проведении морфометрических исследований (табл. 3) во второй исследовательской точке выявлено снижение популяции CD68-макрофагов и CD45RO-лимфоцитов как в основной группе, так и в группе сравнения.

Таблица 3

Степень экспрессии CD68- и CD45RO-молекул в клетках воспалительного инфильтрата биоптатов пациентов (в 1 мм^2 среза) (M±σ)

Маркер	Основная группа		Группа сравнения	
	1-й день исследования	21 день исследования	1-й день исследования	21 день исследования
CD68	92,27± 28,78	67,23± 15,40	89,35± 20,68	70,90± 23,31
CD45RO	394,93±120,05	198,00±88,26	421,33±181,56	220,33±88,53

При использовании попарного критерия Уилкоксона в обеих исследованных группах выявлены статистически достоверные отличия: W_{CD68} в основной группе составил 2,48 (p=0,013), в группе сравнения – 2,1 (p=0,037); W_{CD45RO} – 3,18 (p=0,001) и 2,38 (p=0,017) соответственно. Кроме того, анализируя полученные на 21 день результаты, нами не выявлено статистически достоверных отличий по степени экспрессии маркеров CD68 и CD45RO при сопоставлении основной группы и группы сравнения. Критерий U_{CD68}=93,5 (p=0,9), U_{CD45RO}=57,56 (p=0,41).

Таким образом, в проведенном исследовании продемонстрирована клиническая эффективность препарата тимодепрессин у больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза. Статистически достоверных различий в динамике значений показателей CD 68 и CD45RO нами не установлено.

Известно, что у пациентов, длительное время страдающих псориазом и ранее многократно лечившихся вырабатывается относительная резистентность к различным методам терапии, что в последующемзначительно уменьшает возможности терапевтических воздействий (Хобейш М.М., 1999; Курдина М.И. 2004; Олисова О.Ю. 2005). Нами получены схожие результаты, то есть клиническая эффективность в обеих группах была выше у лиц, страдающих псориазом менее 15 лет, чем у больных с длительностью заболевания более 15 лет.

При сравнительном анализе снижения индекса PASI во второй исследовательской точке мы выявили, что оно достоверно (U=2,276; p=0,023) выше у больных с длительностью заболевания менее 15 лет (n=17 – основная группа и n=17 – группа сравнения), комплексное лечение которых было дополнено Тимодепрессином (табл. 4).

Таблица 4

Снижение индекса PASI к 21 дню комбинированной терапии больных псориазом с включением препарата Тимодепрессин с длительностью заболевания менее 15 лет

Группы пациентов	Число больных (n)	Снижение индекса PASI
Основная группа	17	17,36±6,33
Группа сравнения	17	12,46±3,99

Кроме того, у пациентов основной группы с давностью заболевания менее 15 лет в 44,4% случаев было достигнуто значительное клиническое улучшение, в отличие от группы сравнения, где у 94,1% таких пациентов удалось добиться лишь клинического улучшения.

Анализ результатов иммуногистохимического исследования биоптатов пациентов обеих групп с давностью заболевания менее 15 лет также показал достоверное снижение степени экспрессии маркера CD45RO (U=11,0; p=0,01) к 21 дню терапии у пациентов основной группы. Статистически достоверных различий по степени экспрессии маркера CD68 у этих пациентов во второй исследовательской точке не выявлено (U=24,0; p=0,43).

По данным литературы, отсутствие селективности в иммунносупрессивном механизме действия базисных препаратов значительно изменяет характер течения псориатического процесса, повышая его рефрактерность к другим видам терапии (Хобейш М.М., 1999), что согласуется с результатами нашего исследования. У больных, не имеющих в анамнезе системной иммуносупрессивной терапии (n=19 – основная группа и n=17 – группа сравнения) и традиционное и комбинированное лечение с включением Тимодепрессина оказалось более эффективным. Несмотря на схожие результаты, в группе сравнения статистически достоверных отличий получено не было (U=0,356; p=0,722), в то время как в основной группе снижение индекса PASI к 21 дню терапии было достоверно (U=2,209; p=0,027) выше у пациентов, впервые получающих системную иммуносупрессивную терапию препаратом Тимодепрессин.

Более того, сравнивая снижение индекса PASI у этой категории больных в обеих группах, мы выявили, что оно достоверно выше в основной группе (U=3,307; p=0,001) (табл. 5).

Таблица 5

Снижение индекса PASI к 21 дню комбинированной терапии больных псориазом с включением препарата Тимодепрессин, впервые получающих системную иммуносупрессивную терапию

Группы пациентов	Число больных (n)	Снижение индекса PASI
Основная группа	17	19,23±6,18
Группа сравнения	17	12,46±3,90

При анализе клинической эффективности в зависимости от наличия иммуносупрессивной терапии в анамнезе, результаты показали высокий процент достижения значительного клинического улучшения у пациентов, впервые получающих системную иммуносупрессивную терапию препаратом Тимодепрессин (68%), в отличие от группы сравнения, где у большинства пациентов, не имеющих в анамнезе системной иммуносупрессивной терапии при традиционном лечении достигнуто лишь клиническое улучшение (94%).

При иммуногистохимическом исследовании количества CD45RO-лимфоцитов в биоптатах пациентов основной группы и группы сравнения, не имеющих в анамнезе иммунносупрессивной терапии, нами выявлено достоверное снижение популяции этих клеток у больных основной группы во второй исследовательской точке (U=6,0; p=0,02). В то время как количественный уровень экспрессии CD68-макрофагов к 21 дню терапии у пациентов без иммуносупрессивной терапии в анамнезе сохранялся на том же уровне как в основной, так и в группе сравнения (U=35,0; p=0,791).

Таким образом, данные нашего исследования свидетельствуют о высокой клинической эффективности применения Тимодепрессина на фоне традиционных терапевтических воздействий. Это подтверждается более быстрым регрессом высыпаний, а также достоверным снижением индекса PASI в основной группе (p=0,001), в отличие от группы сравнения к 21 дню терапии.

Кроме того, полученные результаты показали, что Тимодепрессин является препаратом выбора у лиц, страдающих среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза с длительностью заболевания менее 15 лет, впервые получающих системную иммуносупрессивную терапию, о чем свидетельствуют статистически достоверные различия в снижении индекса PASI к 21 дню лечения, высокий процент достижения значительного клинического улучшения (43,3%), в виде регресса более 80% высыпаний, а также достоверное снижение лимфоцитов памяти при проведении иммуногистохимического исследования биоптатов этих больных.

Редукция воспалительного инфильтрата псориатической папулы в условиях терапии Тимодепрессином

Выявленное нами достоверное снижение маркера Т-клеток памяти (CD45RO) в биоптатах пациентов основной группы во второй

исследовательской точке (U=6,0; p=0,02) (рис. 2, 3), свидетельствует о снижении субпопуляции активированных Т-лимфоцитов в условиях терапии Тимодепрессином. На основании полученных результатов, мы можем предположить, что уменьшение количества Т-хелперов 1 типа в псориатическом очаге при проведении комбинированной терапии с включением Тимодепрессина тем самым приводит к снижению секреции таких провоспалительных медиаторов как ФНО-α, ИЛ-1, ответственных за эти феномены. Полное отсутствие нейтрофильных лейкоцитов во всех компартментах кожи, снижение выраженности воспалительного инфильтрата параллельно с редукцией сосудистого русла, в биоптатах пациентов основной группы во второй исследовательской точке, вероятно, также связано с уменьшением синтеза ФНО-α активированными Т-лимфоцитами, стимулирующего экспрессию молекул адгезии (ICAM-1, VCAM-1) на поверхности эндотелиоцитов и пролиферацию эндотелия, а также ИЛ-8, стимулирующего хемотаксис нейтрофилов и других клеток-эффекторов иммунного ответа.

Известно, что поступающие экзогенным путем антигены, подвергаются процессингу в клетках предшественников миелоидного ряда, обязательным компонентом которых является эндосомальный компартмент, богатый молекулой CD68. Ферментное расщепление фагоцитируемого материала приводит к высвобождению антигенных детерминант, встраиваемых в молекулу главного комплекса гистосовместимости HLA-DR. Образовавшийся комплекс презентируется окружающим наивным Т-лимфоцитам (CD45RA), которые выделяют цитокины, активирующие резидентные антигенпрезентирующие клетки (Linehan S.A., 2005).

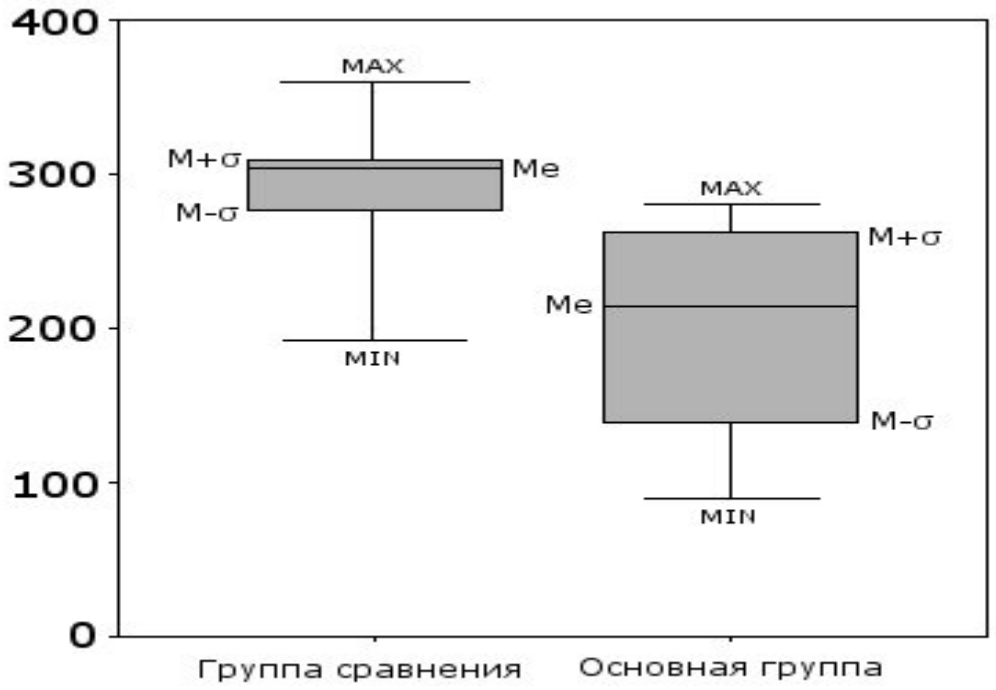

Рис. 2. Количество CD45RO-лимфоцитов воспалительного инфильтрата псориатической папулы на 21день исследования у пациентов, не имеющих иммуносупрессивную терапию в анамнезе

Оценивая влияние Тимодепрессина на популяцию антигенпрезентирующих клеток, способных к экзогенной презентации антигена, мы не выявили статистически достоверных отличий по количеству CD68-позитивных клеток в биоптатах, взятых на 21 день лечения при сопоставлении основной группы и группы сравнения (U=35,0; p=0,791).

Полученный результат говорит о том, что препарат не оказывает прямого влияния на субпопуляцию антигенпрезентирующих клеток миелоидного происхождения, а значит, обладает селективным иммуносупрессивным действием.

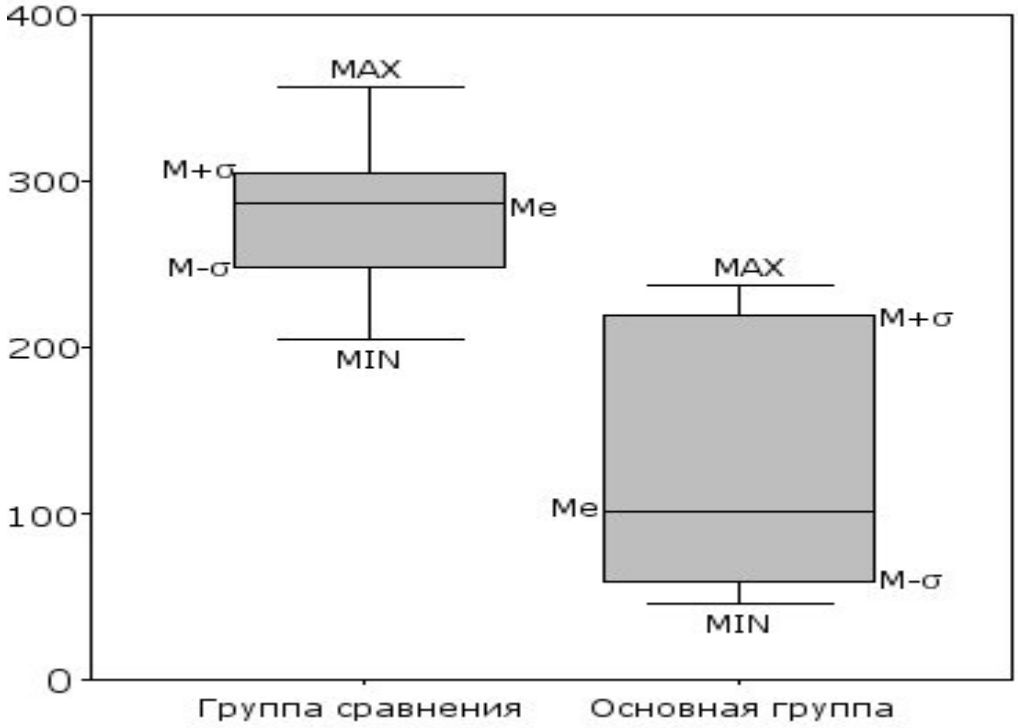

Рис. 3. Количество CD45RO-лимфоцитов воспалительного инфильтрата псориатической папулы на 21 день исследования у пациентов, с давностью заболевания менее 15 лет

Однако, мы можем предположить, что полученное в нашем исследовании уменьшение популяции макрофагов в биоптатах пациентов основной группы, вероятно, объясняется косвенным влиянием Тимодепрессина, поскольку достоверное уменьшение количества активированных Т-лимфоцитов (CD45RO) влечет за собой снижение синтеза ИФ-γ, инициирующего миграцию макрофагов в очаг воспаления, что сопровождается разрывом порочного круга патогенеза, реализующегося через механизм иммунного синапса (Nikoloff B.J., 2004).

Подводя итог вышеизложенному, мы можем заключить, что Тимодепрессин избирательно подавляет CD45RO-Т-лимфоциты, снижает секрецию провоспалительных медиаторов, что препятствует миграции клеток в очаг воспаления. Возможно, что иммуносупрессивный эффект Тимодепрессина косвенно вызывает уменьшение количества антигенпрезентирующих клеток в очагах поражения, не обладая прямым фармакодинамическим действием на антигенпрезентирующий компартмент иммунного синапса, что в конечном итоге должно способствовать разрыву порочного круга иммунопатологических реакций.

Однако, частичное подавление клеточного иммунитета фармакопрепаратом Тимодепрессин реализуется в сохранении популяции CD68-макрофагов в псориатических очагах после проведения терапии, являющейся предпосылкой для адекватного процессинга антигена с последующим формированием иммунного синапса, что является условием для возникновения очередного рецидива. Возникающая межклеточная кооперация стимулирует миграцию наивных CD45RO-Т-лимфоцитов, с последующей их активацией, с формированием воспалительного инфильтрата псориатической папулы.

ВЫВОДЫ

1. Проведение комбинированной терапии (с включением препарата Тимодепрессин) больным со среднетяжелым и тяжелым течением псориаза приводит в сравнении с традиционной терапией к более быстрому и полному разрешению кожных проявлений.
2. Клиническая эффективность препарата Тимодепрессин находится в прямой зависимости от длительности заболевания и наличия в анамнезе системной иммуносупрессивной терапии.
3. Установлено, что Тимодепрессин является препаратом выбора в комплексном лечении больных среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза у лиц с давностью заболевания менее 15 лет, впервые нуждающихся в проведении системной иммуносупрессивной терапии, о чем свидетельствует достоверное снижение индекса PASI во второй исследовательской точке у пациентов этих подгрупп.
4. С помощью иммуногистохимических методов исследования обнаружено, достоверное снижение количества CD45RO-лимфоцитов в биоптатах пациентов, получавших комбинированную терапию (с включением препарата Тимодепрессин), не имевших в анамнезе системной иммуносупрессивной терапии ($U=6,0$; $p=0,02$) с давностью заболевания менее 15 лет ($U=11,0$; $p=0,01$).
5. Отсутствие у Тимодепрессина эффектов в отношении субпопуляций антигенпрезентирующих клеток и избирательное подавление исключительно активированных Т-лимфоцитов делает его препаратом селективного иммуносупрессивного действия.

6. Сохранение после проведения терапии популяции CD68-макрофагов в псориатических очагах является предпосылкой для возникновения рецидива дерматоза.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Комбинированная терапия с включением препарата Тимодепрессин рекомендуется при лечении среднетяжелых и тяжелых форм псориаза у лиц, не имеющих в анамнезе системной иммуносупрессивной терапии с давностью заболевания менее 15 лет с целью более быстрого и полного регресса высыпаний.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ

1. Тимодепрессин при лечении среднетяжелых и тяжелых форм псориаза / А.И. Новиков, В.А. Охлопков, О.В. Правдина, Е.Ю. Зубарева, Е.К. Медведчиков // Материалы научно-практической конференции, посвященной 85-летию кафедры дерматовенерологии Омской государственной медицинской академии. –Омск, 2006. –С. 45-47.
2. Новиков А.И. Динамика клинико-иммуноморфологических показателей псориатического процесса в условиях терапии Тимодепрессином / А.И. Новиков, Е.Ю. Зубарева, В.А. Охлопков, Р.В. Городилов, А.В. Кононов // Омский научный вестник, 2006. –№3. -С. 38-41.
3. Новиков А.И. Состояние популяции мононуклеарных фагоцитов (CD68) в псориатической папуле под влиянием Тимодепрессина / А.И. Новиков, В.А. Охлопков, Р.В. Городилов, О.В. Правдина, Е.Ю. Зубарева, Е.К. Медведчиков // Клиническая дерматология и венерология, 2006. -№3. –С.30-32.
4. Новиков А.И. Влияние Тимодепрессина на параметры клеточного обновления и популяцию антигенпрезентирующих клеток в псориатической папуле / А.И. Новиков, В.А. Охлопков, О.В. Правдина, Р.В. Городилов, Е.Ю. Зубарева, А.В. Кононов //Человек и лекарство: Материалы 14-го национального конгресса. –Москва, 2007. –С.168-169.
5. Новиков А.И. Влияние фармакопрепарата Тимодепрессин на популяции клеток иммунного синапса в псориатической папуле 8 А.И. Новиков, Р.В. Городилов, Е.Ю. Зубарева, В.А. Охлопков,

О.В. Правдина. Е.К. Медведчиков, А.В. Кононов // Омский научный вестник, 2007. -№3. –С. 300-364.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ИФ-γ интерферон-гамма
ИЛ интерлейкин
ФНО-α фактор некроза опухоли-альфа
ICAM молекула межклеточной адгезии
Th1 Т-хелперы 1 типа
VCAM сосудисто-клеточная молекула адгезии

на правах рукописи

Зубарева
Елена Юрьевна

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ТИМОДЕПРЕССИНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПСОРИАЗА

14.00.15 – патологическая анатомия
14.00.11 – кожные и венерические болезни

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Омск – 2007