

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА РІВНЯ β -ДЕФЕНЗИНУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ ЕКЗЕМУ РІЗНОЇ ТЯЖКОСТІ

Проф. Л. А. БОЛОТНА, К. І. ЛИСЕНКО

Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна

Подано результати дослідження рівня антимікробного пептиду β -дефензину-2 у пацієнтів із хронічною екземою, проведено порівняльний аналіз змін з урахуванням клінічної форми і ступеня тяжкості дерматозу. Зазначено, що у хворих із істинною екземою вміст β -дефензину-2 суттєво більше, ніж при мікробній її формі. Рівень β -дефензину-2 у сироватці крові пацієнтів із хронічною екземою може бути маркером тяжкості дерматозу.

Ключові слова: хронічна екзема, істинна та мікробна екзема, патогенез, β -дефензин, ступінь тяжкості.

Відповідно до сучасних уявлень екзема є системним поліетіологічним імуніопосередкованим дерматозом, який виникає на тлі полівалентної сенсibilізації і характеризується запальною реакцією, зумовленою серозним запаленням шкіри, появою поліморфної висипки і сильним свербіжем [1–4]. Екзема належить до найбільш поширених алергодерматозів, у структурі дерматологічної захворюваності становить 30–40% і є найчастішою патологією у практиці дерматовенеролога [5, 6]. Актуальність проблеми екземи визначається хронічним варіабельним перебігом дерматозу з частими рецидивами, збільшенням захворюваності, питомої ваги тяжких і резистентних до традиційної терапії форм, що нерідко призводить до інвалідації та порушує соціальну і суспільну адаптацію хворих [1, 7, 8].

Екзема як діагноз означає гетерогенну групу захворювань, які по-різному класифікуються дерматологічними школами (істинна, професійна, себорейна, дитяча, мікробна, мікотична, контактна, сонячна та ін.) [9, 10]. Дерматоз виникає на тлі генетичної схильності, дисфункціонального стану нервової, ендокринної, імунної систем, шлунково-кишкового тракту (ШКТ), порушень епідермального бар'єру тощо [1, 11, 12]. Екзогенними тригерами можуть бути хімічні та фізичні фактори, біологічні агенти, медикаменти, харчові продукти, косметичні засоби та ін. Формування хронічного екзематозного процесу є похідним особливого типу імунних, а саме — імуніопатологічних реакцій [2, 4, 11, 13].

Порушення мікробіоценозу шкірних покривів у хворих не тільки мікробною екземою (МЕ), а й істинною екземою (ІЕ) розглядається як один із ключових моментів патогенезу захворювання [14, 15]. Вирішальна роль належить бактеріальній сенсibilізації при провідній ролі представників роду стафілококів: *S. aureus*, *S. epidermidis*, β -гемолітичного стрептокока, причому частіше визначається асоціація стрептококів і стафілококів. Підвищується кількість дріжджоподібних грибів роду *Candida*, а також умовно-патогенних мікро-

організмів і грамнегативних паличок. Мікробні алергени мають досить виражену антигенну активність, що спричиняє сенсibilізацію організму та зумовлює перебудову імунної відповіді. Мікробна сенсibilізація є пусковим фактором, що підтримує й обтяжує перебіг екземи у хворих [2, 13, 15]. Інфекційний характер процесу при МЕ або часті мікробні ускладнення при ІЕ свідчать про порушення імунної системи, в першу чергу вродженого імунітету, що забезпечує розпізнавання і елімінацію мікроорганізмів у перші години їх вторгнення і продукцію сигналів, які обумовлюють формування адаптивного імунітету [2, 15, 16].

У механізмах вродженого захисту організму найважливішу роль відіграють первинні рецептори для патогенів, система комплементу, фагоцитоз, інтерферони й ендогенні пептиди-антибіотики. Першу лінію захисту організму забезпечують антимікробні пептиди (АМП) — кателіцидини, дефензини, псоріазин, дермцидин та ін. [16, 17, 18]. АМП є неспецифічними факторами гуморального імунітету, мають ендотоксин-нейтралізуючу та імуніомодулюючу активність, а також забезпечують захист проти широкого спектра мікроорганізмів.

Дефензини — це катіонні амфіпатичні пептиди завдовжки від 30 до 42 амінокислот із тринитковою β -пластинчастою структурою, що містить три дисульфідні зв'язки. Основними продуцентами β -дефензинів людини (Human Beta Defensin — HBD) є різні епітеліальні клітини, в тому числі кератиноцити [18, 19]. Синтез HBD-2 і HBD-3 клітинами епідермісу є індукцйбельним і стимулюється бактеріальними ліпополісахаридами, деякими цитокінами. Пептиди HBD-1, HBD-2, HBD-3 також виробляються моноцитами, макрофагами, дендритними й НК-клітинами. З урахуванням універсального механізму дії, дефензини мають антибактеріальну, противірусну, протигрибкову і протипаразитарну дію [17, 19]. β -дефензини активні проти грамположитивних і грамнегативних бактерій, крім того, виявляють протидріжджову активність [18, 20].

Результати нечисленних досліджень вказують на роль АМП у патогенезі хронічних запальних дерматозів (псоріаз, атопічний дерматит, розацеа, супуративний гідраденіт тощо), проте дані вивчення дефензинів крові пацієнтів із різними формами екземи відсутні.

Мета нашого дослідження — вивчення рівня β -дефензину-2 у сироватці крові хворих на хронічну екзему (ХрЕ), проведення порівняльного аналізу значень показника при ІЕ та МЕ різного ступеня тяжкості.

Проведено клінічне обстеження 46 пацієнтів із ХрЕ у віці 29–53 років, із них чоловіків було 26, жінок — 20. Діагноз вважався верифікованим за наявності характерних для екземи висипів, позитивних симптомів мокріння або прихованого мокріння, еволюційного поліморфізму висипів, результатів бактеріологічного дослідження.

Критерії включення в дослідження: ІЕ, МЕ, вік хворих обох статей від 18 до 60 років, тривалість дерматозу понад 6 міс, відсутність імуносупресивної терапії протягом останнього півріччя, інформована згода на участь у дослідженні. Критерії виключення з дослідження: ІЕ, ускладнена вторинною інфекцією, мікотична екзема, тяжка соматична патологія, супровідні захворювання в стадії загострення.

Для вивчення рівня АПМ залежно від форми ХрЕ пацієнтів було розділено на дві групи: 1 ($n = 21$) — хворі на ІЕ, 2 ($n = 25$) — пацієнти з МЕ. Контрольну групу становили 22 практично здорових особи відповідних статі і віку.

Тяжкість екземи оцінювалася за загальноприйнятим у дерматологічній практиці індексом EASI (Eczema Area Severity Index) [21]. Ураховували симптоми запальної реакції: еритему, інфільтрацію (набряк), ексудацію, екскоріації, ліхеніфікацію. EASI у хворих на ХрЕ варіював від 7,8 до 43,5 бала, у середньому — $18,2 \pm 1,1$ бала.

Кількісне визначення рівня HBD-2 у сироватці крові проведено за допомогою імуноферментного аналізу (Human DEF β 2 ELISA Kit, США) відповідно до інструкції виробника.

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням програми IBM SPSS Statistics, версія 20 (2013), із застосуванням параметричних і непараметричних методів оцінки отриманих результатів. Обчислювали середні арифметичні значення (M), помилки середніх величин (m). Статистичну значущість відмінностей оцінювали за t -критерієм Стьюдента. Відмінності значень вважали статистично значущими при ймовірності понад 95% ($p < 0,05$).

За результатами вивчення клініко-анамнестичних ознак у хворих на ХрЕ встановлено, що середній вік пацієнтів із ІЕ становив $30,8 \pm 2,4$ року, переважали особи жіночої статі (61,9%). Середній вік хворих на МЕ — $28,2 \pm 2,1$ року, серед пацієнтів переважали чоловіки (64%). При ІЕ більшість хворих вважали провокуючими факторами стрес, побутові подразники, порушення дієти, загострен-

ня супровідної патології (шлунково-кишкового тракту (ШКТ) й печінки, репродуктивної системи, ЛОР-органів), при МЕ — нагноєння навколо ран або саден, які тривало не загоювалися, післяопераційних рубців, остеосинтез, рідше — стрес, хронічні захворювання ШКТ (хронічний гастрит, хронічний коліт, дисбактеріоз кишечника). При обох формах ХрЕ найбільш численною виявилася група з тривалістю захворювання понад 5 років (при ІЕ — 52,4%, при МЕ — 60,0% хворих) із частотою рецидивів кілька разів на рік.

У всіх хворих дерматоз мав хронічний рецидивуючий перебіг, у фазі ремісії перебувало 10 пацієнтів, загострення — 36 хворих (16 осіб з ІЕ і 20 — з МЕ). Індекс EASI у хворих на ІЕ становив у середньому $19,1 \pm 1,0$ бала, МЕ — $17,7 \pm 0,8$ бала ($p > 0,05$). Більшість пацієнтів з ІЕ (50,0%) мали захворювання середнього ступеня тяжкості, легкого і тяжкого — 31,2 і 18,8% відповідно. При МЕ також переважали хворі із середнім ступенем тяжкості (45,0%), із легким і тяжким — відповідно 30,0 і 25,0% випадків.

Усі хворі відзначали виражений свербіж не тільки в осередку ураження, а й на прилеглих, вільних від висипів ділянках шкіри. При ІЕ шкірний процес у всіх пацієнтів характеризувався розвитком еритеми та інфільтрації з нечіткими межами, на тлі якої з'являлися папули (100%), мікроепукули (серозні колодязі) з розвитком рясного мокріння (85,7%), серозні кірочки. У хворих на МЕ в одиничних або множинних асиметричних осередках із чіткими межами на тлі еритеми та інфільтрації переважали пустули (70,0%) і жовтувато-геморагічні кірочки (85,0%), патологічний процес супроводжувався мокрінням у 30,0% пацієнтів, ліхеніфікацією, сухістю і тріщинами — у 70,0%, збільшення периферичних лімфовузлів спостерігалось у 35,0% хворих.

Визначення HBD-2 у сироватці крові хворих на ХрЕ у фазі загострення виявило достовірне збільшення вмісту АМП ($2,57 \pm 0,26$ нг/мл) порівняно з аналогічним показником у практично здорових осіб ($0,16 \pm 0,06$ нг/мл, $p < 0,01$), причому у хворих рівень АМП варіював від 0,12 до 14,34 нг/мл, в осіб контрольної групи — від 0,11 до 0,26 нг/мл. У хворих на ХрЕ незалежно від клінічної форми дерматозу вміст HBD-2 достовірно перевищував значення показника в контрольній групі (табл. 1).

Динаміку рівня HBD-2 у пацієнтів із різними клінічними проявами дерматозу подано у табл. 2. Низький рівень HBD-2 визначено у фазі ремісії ХрЕ, але при ІЕ показник був вищим у 2,5 рази, ніж при МЕ ($p < 0,05$). Посилення тяжкості дерматозу супроводжувалося збільшенням вмісту HBD-2 у крові пацієнтів із обома формами ХрЕ. У хворих на ІЕ рівень АМП виявився підвищеним як у фазу ремісії ($p > 0,05$), так і загострення ($p < 0,05$) щодо аналогічного параметра в осіб контрольної групи. У пацієнтів із МЕ незалежно від ступеня тяжкості вміст HBD-2 достовірно пе-

ревищував такий у контролі, але незначно збільшувався порівняно зі ступенем підвищення АМП при ІЕ. Привертає увагу факт істотного збільшення (у 5,5 і 9,1 разу) вмісту НВД-2 у хворих із помірним і тяжким ступенем ІЕ щодо відповідного показника у пацієнтів із МЕ.

Таблиця 1

Вміст β-дефензину-2 у хворих на хронічну екзему у фазі загострення (M±m)

Групи	НВД-2, нг/мл	ρ
1, n = 16	4,57±0,64	< 0,01
2, n = 20	0,92±0,15	< 0,01
Контрольна, n = 22	0,16±0,06	—

Примітка: ρ — рівень достовірності відмінностей між показником у хворих та осіб контрольної групи. Те саме в табл. 2.

Таблиця 2

Вміст β-дефензину-2 у хворих із різним ступенем тяжкості хронічної екземи (M±m)

Групи	Ступінь тяжкості	НВД-2, нг/мл	ρ
1, n = 21	Ремісія, n = 5	0,40±0,11	> 0,05
	Легкий, n = 5	1,53±0,17	< 0,05
	Помірний, n = 8	5,81±0,59	< 0,01
	Тяжкий, n = 3	13,72±1,46	< 0,01
2, n = 25	Ремісія, n = 5	0,19±0,07	> 0,05
	Легкий, n = 6	0,48±0,12	< 0,05
	Помірний, n = 9	1,06±0,17	< 0,01
	Тяжкий, n = 5	1,51±0,23	< 0,01
Контрольна, n = 22	—	0,16±0,06	

Порушення епідермального бар'єру при хронічних запальних дерматозах, у тому числі при екземі [12], призводить до високої колонізації та/або вторгнення мікробних агентів, при цьому НВД-2 відіграє роль місцевого фактора раннього захисту, є антимікробним та імуномодуючим пептидом вродженого імунітету, функціонує як хемотаксичний агент для нейтрофілів, моноцитів і Т-клітин.

Продукція АМП підродини НВД і регуляція їх функцій здійснюються запальними та інфекційними стимулами: фактором некрозу пухлини (TNF) α, інтерлейкіном (ІЛ) 1, бактеріальним ліпополісахаридом або бактеріями, у тому числі шкірним коменсалом *S. epidermidis*. Установлено

безліч додаткових чинників, що підсилюють або змінюють дію основних індукторів синтезу НВД. Наприклад, стимулюючий ефект TNFα значно посилюється в комбінації з ІЛ-17 або ІЛ-22, які виступають кофакторами дії основного цитокіну. ІЛ-4, ІЛ-13 та інтерферон γ здатні опосередковано порушувати протимікробний захист кератиноцитів проти *S. aureus* шляхом зменшення продукції ІЛ-17 і порушення стимулюючого ефекту НВД-2 щодо секреції ІЛ-17 Т-лімфоцитами хворих на atopічний дерматит [18–20, 22].

Важливим елементом механізмів індукції синтезу НВД епітеліальними клітинами є взаємодія поверхневих структур бактеріальних клітин з Toll-подібними рецепторами (TLR) на поверхні епітеліоцитів. Установлено, що внутрішньоклітинні сигнальні шляхи активації гена НВД виявилися спільними із сигнальними шляхами реалізації ефектів TNFα і ІЛ-6 та передбачають активацію ядерного фактора NF-κB. Зазначено, що дисфункція TLR-2-сигналів є причиною стафілококової персистенції у пацієнтів із алергодерматозами у результаті порушення індукції АМП (НВД-2) [18, 23]. При atopічному дерматиті знижується експресія НВД-2 кератиноцитами, що лежить в основі персистенції інфекції, зумовленої *S. aureus*, *Candida spp.*, *Malassezia spp.* Псоріаз, навпаки, характеризується надмірною експресією НВД-2, який, як вважають, поєднує ефекторні й дисрегуляторні функції [22, 24].

Незначне підвищення рівня НВД-2 у крові хворих при загостренні МЕ порівняно з показником при ІЕ може бути однією з причин підвищеної сприйнятливості до бактеріальних, грибкових інфекцій і свідчить про дефект вродженої системи імунітету. Можливо, опосередковане дефіцитом АМП, у тому числі НВД-2, зниження антистафілококової активності є одним із механізмів колонізації шкіри *S. aureus* при алергічному запаленні шкіри. Недостатня продукція АМП при МЕ може бути зумовлена Th2-спрямованістю цитокінової відповіді й порушенням імунних механізмів індукції НВД.

Таким чином, проведено дослідження рівня НВД-2 у сироватці крові хворих на ХрЕ визначило достовірне збільшення значення показника (в 15,9 разу) порівняно з аналогічним у контрольній групі. Вміст НВД-2 у хворих на ІЕ підвищувався в 28,5 разу, МЕ — в 5,7 разу порівняно зі вмістом АМП у практично здорових осіб. Рівень НВД-2 у сироватці крові хворих на ХрЕ може використовуватися як маркер тяжкості дерматозу.

Список літератури

1. Айзятлов Р. Ф. Патогенетические аспекты и комплексная терапия различных клинических форм экземы // Клін. імунол., алергол., інфектол. 2015. № 8 (87). С. 14–20.
2. Клинико-иммунологические характеристики нуммулярной экземы / В. Ю. Уджуху и др. // Вестн. РГМУ. 2018. № 1. С. 56–59.
3. Хроническая истинная экзема. Поиск терапии

- тяжелых форм / В. В. Старостенко, О. А. Сидоренко, Л. П. Сизякина, Е. Е. Сидоренко // Мед. вестн. Юга России. 2019. № 10 (1). С. 72–78.
4. *Silvestre J. F.* About the Need and the Future of Eczema Units // *Actas Dermosifiliogr.* 2018. Vol. 109, № 6. P. 465–467. doi: 10.1016/j.ad.2018.06.001
 5. *Бардова Е. А.* Экзема в практике семейного врача: клинические формы, дифференциальная диагностика, лечение // *Клін. імунол., алергол., інфектол.* 2013. № 1. С. 112–116.
 6. *Fu T.* Eczema and sensitization to common allergens in the United States: a multiethnic, population-based study // *Pediatr. Dermatol.* 2014. Vol. 31, № 1. P. 21–26.
 7. Cost and quality of life in patients with severe chronic hand eczema refractory to standard therapy with topical potent corticosteroids / P. A. Cortesi et al. // *Contact Dermatit.* 2014. Vol. 3, № 70. P. 158–168. doi: <https://doi.org/10.1111/cod.12130>
 8. Современные особенности клиники, диагностики и терапии больных экземой / Л. А. Юсупова и др. // *Леч. врач.* 2018. № 6. С. 85–87.
 9. *Śpięwak R., Kordus K.* The classification and definitions of diseases from the spectrum of eczema // *Int. Rev. Allergol. Clin. Immunol. Family Med.* 2012. Vol. 18, № 4. P. 210–221.
 10. *Александрук О. Д., Ткач В. Є.* Дискусійні питання класифікації екзема у сучасній дерматології // *Дерматовенерология. Косметология. Сексопатология.* 2013. № 1–4. С. 214–219.
 11. *Денисова Я. Е.* Современные представления о молекулярно-генетических механизмах возникновения истинной экземы // *Научные ведомости: серия «Медицина. Фармация».* 2013. № 18 (161). С. 5–10.
 12. Иммунологическая концепция развития микробной экземы / Н. А. Абдрахимова и др. // *Мед. вестн. Башкортостана.* 2014. № 9 (1). С. 109–118.
 13. *Касихина Е. И., Глазко И. И., Рябчикова М. Д.* Проблемы микст-инфекции: пути решения и особенности патогенеза // *Клин. дерматол. венерол.* 2014. № 12 (4). С. 56–60.
 14. Colonization and infection of the skin by *S. aureus*: immune system evasion and the response to cationic antimicrobial peptides / S. Ryu et al. // *Int. J. Mol. Sci.* 2014. Vol. 15. P. 8753–8772. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms15058753>
 15. Диагностическое значение нарушений в системе врожденного иммунитета при микробной экземе / Е. Л. Чалая и др. // *Рос. журн. кожн. вен. болезн.* 2016. № 19 (2). С. 122–123.
 16. Friends or foes? Host defense (antimicrobial) peptides and proteins in human skin diseases / F. Niyonsaba, C. Kiatsurayanon, P. Chieosilapatham, H. Ogawa // *Exp. Dermatol.* 2017. Vol. 26. P. 989–998. doi: 10.1111/exd.13314
 17. Expression and function of host defense peptides at inflammation sites / S. V. Prasad et al. // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. Vol. 21, № 104. doi: 10.3390/ijms2101010436-24
 18. Антимикробные пептиды в норме и при патологиях (обзор) / М. В. Коновалова, А. А. Зубарева, Г. В. Луценко, Е. В. Свирщевская // *Прикл. биохим. микробиол.* 2018. № 3. С. 236–240. doi: <https://doi.org/10.7868/s0555109918030029>
 19. *Fruitwala S., El-Naccache D. W., Chang T. E.* Multifaceted immune functions of human defensins and underlying mechanisms // *Semin. Cell. Dev. Biol.* 2019. Vol. 88. P. 163–172. doi: <https://doi.org/10.1016/j.semdb.2018.02.023>
 20. *Cherill R., Graeber M., Hanifin J.* Eczema area and severity index (EASI): a new tool to evaluate atopic dermatitis // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 1998. Vol. 11 (suppl. 2). P. 48–54. doi: [https://doi.org/10.1016/s0926-9959\(98\)95291-6](https://doi.org/10.1016/s0926-9959(98)95291-6)
 21. *Каракаева А. В., Умц С. Р.* Роль нарушений эпидермального барьера в патогенезе экземы (обзор) // *Саратовск. научн.-мед. журн.* 2014. № 10 (3). С. 525–530.
 22. *Takahashi T., Gallo R. L.* The critical and multifunctional roles of antimicrobial peptides in dermatology // *Dermatol. Clin.* 2017. Vol. 35. P. 39–50. doi: 10.1016/j.det.2016.07.006
 23. *Sun L., Liu W., Zhang L. -J.* The role of Toll-like receptors in skin host defense, psoriasis, and atopic dermatitis // *Hindawi J. of Immunology Research.* 2019. Article ID 1824624, 13 p. doi: [org/10.1155/2019/1824624](https://doi.org/10.1155/2019/1824624)
 24. *Marcinkiewicz M., Majewski S.* The role of antimicrobial peptides in chronic inflammatory skin diseases // *Adv. Dermatol. Allergol.* 2016. Vol. XXXIII. P. 6–12. doi: 10.5114/pdia.2015.48066

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА УРОВНЯ β-ДЕФЕНЗИНА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭКЗЕМОЙ РАЗНОЙ ТЯЖЕСТИ

Л. А. БОЛОТНАЯ, Е. И. ЛЫСЕНКО

Представлены результаты исследования уровня антимикробного пептида β-дефензина-2 у пациентов с хронической экземой, проведен сравнительный анализ изменений с учетом клинической формы и степени тяжести дерматоза. Отмечено, что у больных истинной экземой содержание β-дефензина-2 существенно больше, чем при ее микробной форме. Уровень β-дефензина-2 в сыворотке крови пациентов с хронической экземой может быть маркером тяжести дерматоза.

Ключевые слова: хроническая экзема, истинная и микробная экзема, патогенез, β-дефензин, степень тяжести.

**COMPARATIVE ASSESSMENT OF β -DEFENSIN LEVELS IN PATIENTS
WITH CHRONIC ECZEMA OF VARYING SEVERITY**

L. A. BOLOTNA, K. I. LYSENKO

The research results on the level of the antimicrobial peptide β -defensin-2 in the patients with chronic eczema have been presented, and taking into account the clinical form and severity of dermatosis the changes were comparatively analyzed. It has been noted that in the patients with true eczema, the content of β -defensin-2 was significantly higher than in its microbial form. Serum β -defensin-2 levels in the patients with chronic eczema may be a marker of the dermatosis severity.

Key words: chronic eczema, true and microbial eczema, pathogenesis, β -defensin, severity.

Надійшла 13.06.2020