

Yu.S. // Clinical dermatovenerology. – Vol. 2. – M: Geotar-Media, 2009. – P. 120-170.

5. Bieber T. Atopic Dermatitis // N. Eng. J. Med. – 2008. – № 358. – P. 1483-1494.

6. Janssens M., van Smeden J., Gooris G. S., et al. Lamellar lipid and ceramide composition in the stratum corneum of patients with atopic eczema // Nat. Genet. – 2011. – № 44 (2). – P. 207-214.

7. Kligman A.M. Corneobiology and Corneotherapy – a final chapter // Int. J. Cosmet Sci. – 2011. – № 33. – P. 197-209.

8. Van Leent E. J. M., BOS J. M. Atopic dermatitis: European guidance for treatment of dermatovenerologic diseases / ed. by Katsambas A.D, Lotti T. – M.: MEDPress-inform, 2008. – P. 52-59.

Координаты для связи с авторами: Козулин Евгений Евгеньевич – канд. мед. наук, доцент кафедры дерматовенерологии ДВГМУ, тел. 8-(4212)-77-95-72, e-mail: evkozulin70@yandex.ru; Козулин Евгений Александрович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой дерматовенерологии ДВГМУ.



УДК 616.5-002:612.015.1(045)

С.Г. Сапунцова¹, О.А. Лебедько^{1,2}, Г.Г. Обухова¹, Г.П. Березина¹, С.С. Тимошин¹

ВЛИЯНИЕ ГЕПТАПЕПТИДА СЕМАКС НА СОДЕРЖАНИЕ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ-АЛЬФА И БИОГЕНЕЗ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ ПРИ АТОПИЧЕСКОМ ДЕРМАТИТЕ

¹Дальневосточный государственный медицинский университет, 680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8-(4212)-76-13-96, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru;

²Хабаровский филиал ФГБНУ ДНЦ ФПД – НИИ охраны материнства и детства, 680022, ул. Воронежская, 49, корп. 1, тел. 8-(4212)-98-05-91, e-mail: iomid@yandex.ru, г. Хабаровск

Резюме

Изучали содержание фактора некроза опухолей-альфа в сыворотке крови и биогенез свободных радикалов в биоптатах кожи больных атопическим дерматитом. Твердофазный иммуноферментный анализ продемонстрировал, что в сравнении с контролем, уровень фактора некроза опухолей-альфа был повышен. Хемилюминесцентное исследование биогенеза свободных радикалов выявило формирование локального оксидативного стресса. После проведения лечения, включавшего гептапептид семакс в сочетании со стандартной терапией, наблюдали уменьшение содержания фактора некроза опухолей-альфа, повышение антиоксидантной защиты и угнетение продукции свободных радикалов, улучшение клинического течения заболевания, снижение индексов SCORAD и ДИКЖ.

Ключевые слова: семакс, фактор некроза опухолей-альфа, свободные радикалы, атопический дерматит.

S.G. Sapuntsova¹, O.A. Lebed'ko^{1,2}, G.G. Obuchova¹,
G.P. Berezina¹, S.S. Timoshin¹

EFFECT OF HEPTAPEPTIDE SEMAX ON THE LEVEL OF TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA AND BIOGENESIS OF FREE RADICALS IN PATIENTS WITH ATOPIC DERMATITIS

¹Far Eastern State Medical University;

²Facility of Federal State Budgetary Scientific Institution Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration – Scientific research institute of Mother and Child Care, Khabarovsk

Summary

We studied the level of tumor necrosis factor-alpha in serum and biogenesis of free radicals in biopsies of the skin in patients with atopic dermatitis. Enzyme-linked immunosorbent assay showed that the level of tumor necrosis factor-alpha was increased compared to the control. Chemiluminiscent investigation of biogenesis of free radicals registered the formation of local oxidative stress. After the treatment, including heptapeptide semax in combination with a standard therapy, we observed a decrease in the tumor necrosis factor-alpha level, increase in antioxidant protection and inhibition of free radicals production, improvement in the clinical course of the disease, reduction of the index SCORAD and DLQI.

Key words: semax, tumor necrosis factor-alpha, free radical, atopic dermatitis.

Широкая распространенность и трудность лечения делают хронические дерматозы, в том числе атопический дерматит (АД), актуальной медико-социальной проблемой как в России, так и за рубежом [5, 14]. В настоящее время применительно к этой патологии активно разрабатываются синтетические олигопептиды нового поколения, высокая клиническая эффективность которых сопровождается отсутствием побочных эффектов и осложнений, обратимостью воздействия. Выраженное терапевтическое действие при резистентности к лечению при АД оказывает иммуносупрессор олигопептидной природы – тимодепрессин [3]. В ранее проведенных исследованиях нами впервые было определено, что у пациентов с АД тимодепрессин корригирует пролиферативную активность кератиноцитов, локальные проявления оксидативного стресса, системный селеновый статус [7, 16, 17].

В литературе имеются сообщения о высокой эффективности применения другого отечественного синтетического пептида – семакс (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro) в комплексной терапии АД [6]. Однако механизм действия семакса остается недостаточно изученным, а данные о молекулярных мишенях терапевтического воздействия носят единичный характер.

Известно, что в основе развития АД лежит комплекс сложных иммунопатологических механизмов [15]. Особое место в иммунопатогенезе АД играет аномально повышенная секреция фактора некроза опухоли-альфа (tumor necrosis factor α , TNF- α). Основными источниками синтеза TNF- α являются моноциты и тканевые макрофаги, однако В- и Т-лимфоциты, базофилы, эозинофилы, дендритные клетки, нейтрофилы, тучные клетки, кератиноциты, фибробласты и другие также могут продуцировать TNF- α . Под действием TNF- α формируется цитокиновая сеть – синтезируются цитокины IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18 и другие [2, 11, 13].

TNF- α может прямо или опосредованно повышать уровень продукции свободных радикалов. Известно, что TNF- α активирует генерацию свободных радикалов в митохондриях, именно этот процесс лежит в основе индуцируемой TNF- α цитотоксичности. Выявлено также, что TNF- α не только увеличивает экспрессию NAD(P)H-оксидазы, но и непосредственно активирует этот фермент [9].

В то же время продукты свободнорадикального окисления являются одним из пусковых механизмов формирования цитокиновой сети. В качестве мессенджеров межклеточной и внутриклеточной сигнализации, свободные радикалы регулируют экспрессию цитокинов при иммунном и воспалительном ответах [10].

Целью настоящего исследования было изучение влияния препарата Семакс в составе комплексной терапии на содержание TNF- α в сыворотке крови и биогенез свободных радикалов в биоптатах кожи пациентов с атопическим дерматитом.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 11 больных атопическим дерматитом, которые получали препарат Семакс в виде 0,1 % раствора в сочетании с традиционным лечением: антигистаминными, десенсибилизирующими препаратами, топическими глюкокортикостероидами. Семакс вводили эндоназально, по 2 капли в каждый

носовой ход 3 раза в день. Курсовая доза составляла 12 000 мкг за 21 день лечения.

Контроль эффективности лечения оценивался по индексам SCORAD И ДИКЖ.

Перед началом лечения и после его окончания проводили забор сыворотки крови и биоптатов кожи из пораженных участков. Контролем служили сыворотка крови и биоптаты кожи 11 пациентов, подвергнутых плановой хирургической операции по поводу грыж белой линии живота, левой и правой подвздошных областей. На проведение исследования было получено согласие этического комитета ЛПУ, всеми пациентами были подписаны добровольные информированные согласия об участии в исследовании.

Содержание TNF- α в сыворотке крови определяли твердофазным иммуноферментным методом с использованием высокочувствительной тест-системы Human TNF- α ELISA Kit (CSBCSB – E04740h, CUSABIO).

Оценку биогенеза свободных радикалов в гомогенизированных биоптатах кожи осуществляли методом хемиллюминесценции (ХМЛ). Алгоритм ХМЛ-исследования включал определение следующих параметров [4]: активность генерации свободных радикалов (S_{sp}), в том числе супероксид-анион-радикалов (S_{luc}) и перекисных радикалов (S_{ind-1}), концентрацию гидроперекисей липидов (h), перекисную резистентность субстрата (H), активность антиоксидантной антирадикальной защиты-АОРЗ (S_{ind-2}). Интенсивность ХМЛ, измеренную в милливольтгах, рассчитывали на 1 мг влажной ткани и выражали в относительных единицах.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью t критерия Стьюдента в программе «Statistica 6.0». Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Имуноферментный анализ выявил увеличение в 6,2 раза содержания TNF- α в сыворотке крови пациентов с АД в стадии обострения в сравнении с аналогичным показателем в контроле (группа «АД» – $84,1 \pm 8,1$ пг/мл vs. группа «контроль» $13,5 \pm 1,7$ пг/мл; $p < 0,05$). Полученные нами данные соответствуют литературным об исследовании уровня циркулирующего TNF- α у больных атопическим дерматитом [6].

Результаты хемиллюминесцентного анализа свидетельствуют, что в биоптатах кожи пациентов с АД в стадии обострения имело место достоверное повышение активности процессов свободнорадикального окисления: показатель S_{sp} превышал аналогичный в контроле в 1,6 раза (табл. 1). При этом продукция супероксид-анион радикалов (S_{luc}) возросла, соответственно, в 1,3 раза. Зарегистрирована интенсификация процессов перекисного окисления липидов: концентрация гидроперекисей липидов (h) превышала контрольные значения в 2,1 раза, скорость накопления перекисных радикалов липидной природы (S_{ind-1}) возросла в 1,6 раза. Нарушение процессинга свободных радикалов было обусловлено угнетением систем детоксикации: показатель S_{ind-2} , значение которого обратно активности антиоксидантной антирадикальной системы, возрос в 2,1 раза. Снизилась устойчивость к перекисному окислению, на что указывает повышение показателя H в 2,1 раза. Выявленные изменения свободнорадикаль-

ного статуса свидетельствуют о декомпенсированном накоплении продуктов СРО на фоне угнетения антиоксидантной антирадикальной защиты, т. е. о формировании локального оксидативного стресса у пациентов с АД в стадии обострения.

Таблица 1

Влияние семакса в составе комплексной терапии на содержание TNF- α в сыворотке крови и биогенез свободных радикалов в биоптатах кожи пациентов с атопическим дерматитом (M \pm m)

	Контроль	Атопический дерматит	
		до лечения	после лечения
TNF- α , пг/мл	13,5 \pm 1,7	84,1 \pm 8,1*	32,2 \pm 1,8*,**
S _{sp} , отн. ед.	0,083 \pm 0,005	0,136 \pm 0,009*	0,088 \pm 0,004**
S _{ind-1} , отн. ед.	0,195 \pm 0,007	0,309 \pm 0,010*	0,210 \pm 0,008**
h, отн. ед.	0,071 \pm 0,003	0,150 \pm 0,008*	0,103 \pm 0,005*,**
S _{luc} , отн. ед.	0,067 \pm 0,003	0,090 \pm 0,006*	0,074 \pm 0,003**
S _{ind-2} , отн. ед.	0,135 \pm 0,011	0,286 \pm 0,017*	0,172 \pm 0,008*,**
H, отн. ед.	0,104 \pm 0,005	0,217 \pm 0,011*	0,118 \pm 0,008**

Примечание. * – p<0,05 в сравнении с контролем; ** – p<0,05 в сравнении с группой «до лечения».

После проведения курса лечения семаксом у больных наблюдалось существенное улучшение клинической картины заболевания. Индекс SCORAD снизился в 5,6 раз. Индекс ДИКЖ уменьшился в 2,5 раза (табл. 2). Уменьшение интенсивности зуда отмечалось через 2-3 дня после начала лечения. Уже на 3-4 день терапии наблюдалась четкая тенденция к регрессу эритемы и папул. Из 11 человек к концу 3-х недельного курса терапии у 6 пациентов наступило клиническое выздоровление, у 4 – значительное улучшение, и у 1 – улучшение. Каких-либо побочных эффектов и аллергических реакций не наблюдалось.

Применение семакса в сочетании со стандартным лечением атопического дерматита оказало выраженное корригирующее действие на содержание TNF- α в сыворотке крови, снизив исходно высокий уровень цитокина в 2,6 раза (группа «АД – до лечения» – 84,1 \pm 8,1 пг/мл vs. группа «АД – после лечения» 32,2 \pm 1,8 пг/мл; p<0,05). Известно, что степень увеличения TNF- α сопряжена с тяжестью течения атопического дерматита [1]. Поэтому данный эффект Семакса имеет важное патогенетическое значение и может во многом определять характер и степень клинических изменений в данной группе больных.

Улучшению клинического течения сопутствовала и частичная нормализация процессов биогенеза свободных радикалов в биоптатах кожи пациентов с АД: большинство показателей (S_{sp}, S_{luc}, S_{ind-1} и H) достигла контрольных

уровней. Прочие ХМЛ-параметры (S_{ind-2}, h) свободнорадикального статуса биоптатов кожи, хотя и сохраняли статистически значимые отличия от контрольных, но достоверно снижались в сравнении с аналогичными показателями в группе «до лечения» (табл. 2).

Таблица 2

Влияние Семакса в составе комплексной терапии на индексы ДИКЖ и SCORAD у больных атопическим дерматитом (в баллах, M \pm m)

Показатель	ДИКЖ		SCORAD	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Атопический дерматит	17,0 \pm 2,04	6,75 \pm 0,12*	42,25 \pm 4,52	7,50 \pm 1,65*

Примечание. * – p<0,005-0,001 в сравнении с показателями до лечения.

Для гистологической картины АД характерна интенсивная инфильтрация дермы лимфоцитами, моноцитами и эозинофилами. Эти клетки генерируют свободные радикалы, которые, в свою очередь, активируют NF- κ B (nuclear factor κ B), контролирующий транскрипцию генов цитокинов, в том числе TNF- α [12]. Ранее нами было показано, что для АД характерна гиперрегенераторная реакция эпителия на фоне гиперпродукции свободных радикалов. Ускорение клеточного цикла в условиях локального оксидативного стресса сопровождалось нарушением процессов дифференцировки, подтверждением чему служило расширение зоны регенерации при АД [16, 17]. В исследованиях [8] на культуре кератиноцитов установлено участие TNF- α в процессах тканевой репарации, перестройки цитоскелета, эпидермальной дифференцировки, регуляции клеточного цикла и апоптоза. Резюмируя вышеизложенное можно предположить, что одним из механизмов терапевтического эффекта Семакса при АД является коррекция содержания TNF- α не только на системном (в сыворотке крови), но и на локальном (в коже) уровне – через нормализацию биогенеза свободных радикалов и редокс-регуляции процессинга этого провоспалительного цитокина.

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют, что применение семакса в составе комплексной терапии при атопическом дерматите уменьшает уровень циркулирующего TNF- α , повышает антиоксидантную антирадикальную защиту и корригирует нарушения генерации свободных радикалов в коже, улучшает клиническое течение заболевания, снижает индексы SCORAD и ДИКЖ.

Литература

1. Волкова Е.Н., Морозов С.Г., Тарасова М.В. и др. Исследование уровня циркулирующих цитокинов у больных атопическим дерматитом // Вестник дерматологии и венерологии. – 2014. – № 2. – С. 26-30.
2. Знаменская Л.Ф., Егорова Ю.Ю., Зитнер С.В. Механизм реализации биологического действия фактора некроза опухоли-альфа при псориазе // Вестник дерматологии и венерологии. – 2011. – № 2. – С. 13-17.
3. Кунгуров Н.В. Иммунотропная терапия больных атопическим дерматитом: методические рекомендации. – Екатеринбург, 2013. – 28 с.
4. Лебедько О.А., Рыжавский Б.Я., Задворная О.В. Свободнорадикальный статус неокортекса белых крыс и его модификация экзогенными производными тестостерона // Дальневосточный медицинский журнал. – 2011. – № 4. – С. 95-99.
5. Овсянникова О.Б. Атопические дерматиты в амбулаторной практике // Медицинский совет. – 2012. – № 3. – С. 96-101.
6. Переверзева И.В. Влияние семакса на эффективность лечения больных атопическим дерматитом и состояние регуляторных систем: автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Курск, 2009. – 23 с.

7. Сапунцова С.Г., Лебедько О.А., Ковальский Ю.Г. и др. Биогенез свободных радикалов и селеновый статус у больных atopическим дерматитом и красным плоским лишаем // *Дальневосточный медицинский журнал*. – 2010. – № 4. – С. 92-95.

8. Banno T., Gazel A., Blumenberg M. Effects of tumor necrosis factor-alpha (TNF alpha) in epidermal keratinocytes revealed using global transcriptional profiling // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279, № 31. – P. 32633-32642.

9. Chen X., Andresen B.T., Hill M., et al. Role of reactive oxygen species in tumor necrosis factor-alpha induced endothelial dysfunction // *Curr. Hypertens. Rev.* – 2008. – Vol. 4, № 4. – P. 245-255.

10. Corsini E., Galbiati V., Nikitovic D., et al. Role of oxidative stress in chemical allergens induced skin cells activation // *Food Chem. Toxicol.* – 2013. – Vol. 61. – P. 74-81.

11. Croft M., Duan W., Choi H., et al. TNF superfamily in inflammatory disease: translating basic insights // *Trends Immunol.* – 2012. – Vol. 33, № 3. – P. 144-152.

12. Fuchs J., Zollner T.M., Kaufmann R., et al. Redox modulated pathways in inflammatory skin diseases // *Free Radic. Biol. Med.* – 2001. – Vol. 30. – P. 337-353.

13. Juhasz K., Buzas K., Duda E. Importance of reverse signaling of the TNF superfamily in immune regulation // *Expert. Rev. Clin. Immunol.* – 2013. – Vol. 9, № 4. – P. 335-348.

14. Madhok V., Futamura M., Thomas K.S., et al. What's new in atop eczema? An analysis of systematic reviews published in 2012 and 2013. Part 1. Epidemiology, mechanisms of disease and methodological issues // *Clin. Exp. Dermatol.* – 2015. – Vol. 40, № 3. – P. 238-242.

15. Peng W., Novak N. Pathogenesis of atop dermatitis // *Clin. Exp. Allergy.* – 2015. – Vol. 45, № 3. – P. 566-574.

16. Sapuntsova S.G., Lebed'ko O.A., Shchetkina M.V., et al. Status of free-radical oxidation and proliferation processes in patients with atop dermatitis and lichen planus // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* – 2011. – Vol. 150, № 6. – P. 690-692.

17. Sapuntsova S.G., Mel'nikova N.P., Deigin V.I., et al. Proliferative processes in the epidermis of patients with atop dermatitis treated with thymodepressin // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* – 2002. – Vol. 133, № 5. – P. 488-490.

Literature

1. Volkova E.N., Morozov S.G., Tarasova M.V., et al. Study the level of circulating cytokines in patients with atop dermatitis // *Journal of Dermatology and venerology.* – 2014. – № 2. – P. 26-30.

2. Znamenskaya L.F., Egorova Y.Y., Zitner S.V. Mechanism for the implementation of the biological action of tumor necrosis factor-alpha in psoriasis // *Journal of Dermatology and venerology.* – 2011. – № 2. – P. 13-17.

3. Kungurov N.V. Immunotropic therapy in patients with atop dermatitis. Methodical recommendations. – Ekaterinburg, 2013. – 28 p.

4. Lebed'ko O.A., Ryzhavsii B.Ya., Zadvornova O.V. Free radical status of neocortex of albino rats and its modification by exogenous testosterone's derivatives // *Far Eastern Medical Journal.* – 2011. – № 4. – P. 95-99.

5. Ovsyannikova O.B. Atop dermatitis in ambulatory practice // *Medical Council.* – 2012. – № 3. – P. 96-101.

6. Pereversev I.V. Semax effect on the effectiveness of treatment in patients with atop dermatitis and state regulatory systems: doctor of medical sciences thesis. – Kursk, 2009. – 23 p.

7. Sapuntsova S.G., Lebed'ko O.A., Kowalski Y.G., et al. Biogenesis of free radicals and selenium status in patients with atop dermatitis and lichen planus // *Far Eastern Medical Journal.* – 2010. – № 4. – P. 92-95.

8. Banno T., Gazel A., Blumenberg M. Effects of tumor necrosis factor-alpha (TNF alpha) in epidermal keratinocytes revealed using global transcriptional profiling // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279, № 31. – P. 32633-32642.

9. Chen X., Andresen B.T., Hill M., et al. Role of reactive oxygen species in tumor necrosis factor-alpha

induced endothelial dysfunction // *Curr. Hypertens. Rev.* – 2008. – Vol. 4, № 4. – P. 245-255.

10. Corsini E., Galbiati V., Nikitovic D., et al. Role of oxidative stress in chemical allergens induced skin cells activation // *Food Chem. Toxicol.* – 2013. – Vol. 61. – P. 74-81.

11. Croft M., Duan W., Choi H., et al. TNF superfamily in inflammatory disease: translating basic insights // *Trends Immunol.* – 2012. – Vol. 33, № 3. – P. 144-152.

12. Fuchs J., Zollner T.M., Kaufmann R., et al. Redox modulated pathways in inflammatory skin diseases // *Free Radic. Biol. Med.* – 2001. – Vol. 30. – P. 337-353.

13. Juhasz K., Buzas K., Duda E. Importance of reverse signaling of the TNF superfamily in immune regulation // *Expert. Rev. Clin. Immunol.* – 2013. – Vol. 9, № 4. – P. 335-348.

14. Madhok V., Futamura M., Thomas K.S., et al. What's new in atop eczema? An analysis of systematic reviews published in 2012 and 2013. Part 1. Epidemiology, mechanisms of disease and methodological issues // *Clin. Exp. Dermatol.* – 2015. – Vol. 40, № 3. – P. 238-242.

15. Peng W., Novak N. Pathogenesis of atop dermatitis // *Clin. Exp. Allergy.* – 2015. – Vol. 45, № 3. – P. 566-574.

16. Sapuntsova S.G., Lebed'ko O.A., Shchetkina M.V., et al. Status of free-radical oxidation and proliferation processes in patients with atop dermatitis and lichen planus // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* – 2011. – Vol. 150, № 6. – P. 690-692.

17. Sapuntsova S.G., Mel'nikova N.P., Deigin V.I., et al. Proliferative processes in the epidermis of patients with atop dermatitis treated with thymodepressin // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* – 2002. – Vol. 133, № 5. – P. 488-490.

Координаты для связи с авторами: Сапунцова Светлана Геннадьевна – канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник ЦНИЛ ДВГМУ, e-mail: ssapuntsova@mail.ru; Лебедько Ольга Антоновна – д-р мед. наук, зав. лабораторией комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии ХФ ФГБНУ ДНЦ ФПДНИИ ОМИД, ведущий научный сотрудник ЦНИЛ ДВГМУ; Обухова Галина Григорьевна – канд. мед. наук, старший научный сотрудник ЦНИЛ ДВГМУ; Березина Галина Петровна – научный сотрудник ЦНИЛ ДВГМУ; Тимошин Сергей Серафимович – д-р мед. наук, профессор, заведующий ЦНИЛ ДВГМУ.