

УДК 616-056.52:577.17+577.125:616-08

© Аль Касем Амин, 2012.

ЛЕПТИН-ОПОСРЕДОВАННЫЙ СИНТЕЗ КЕРАТИНОЦИТАМИ БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ С ИЗБЫТОЧНОЙ МАССОЙ ТЕЛА ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ЦИТОКИНА TNF- α

Аль Касем Амин*Кафедра кожных и венерических болезней (зав. – проф. О.А. Притуло), Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С. И. Георгиевского», г. Симферополь.*

LEPTIN-MEDIATED SYNTHESIS OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES TNF- α BY KERATINOCYTES IN OVERWEIGHT PSORIASIS PATIENTS

Al Kasem Amin

SUMMARY

The effect of the recombinant human leptin on the level of pro-inflammatory cytokine TNF- α in the culture medium of keratinocytes in psoriasis patients with normal and overweight body mass has been studied. It has been established that hyperleptinemia can be an important mechanism for improving the local level (skin-level) of proinflammatory cytokine TNF- α in patients with psoriasis and obesity.

ЛЕПТИН-ОПОСЕРЕДКОВАНИЙ СИНТЕЗ КЕРАТИНОЦИТІВ ХВОРИХ НА ПСОРИАЗ З НАДМІРНОЮ МАСОЮ ТІЛА ПРОЗАПАЛЬНОГО ЦИТОКІНУ TNF- α

Аль Касем Амін

РЕЗЮМЕ

Вивчено вплив людського рекомбінантного лептину на рівень прозапального цитокіну TNF- α в культуральному середовищі кератиноцитів хворих на псоріазі з нормальною і надлишковою масою тіла. Встановлено, що гіперлептемія може виступати важливим механізмом підвищення місцевого рівня (на рівні шкіри) прозапального цитокіну TNF- α у хворих на псоріазі з ожирінням.

Ключевые слова: лептин, кератиноциты, псориаз, избыточная масса тела, туморнекротический фактор.

Зависимость между ожирением и нарушениями функции кожи, включая физиологию кожи (барьерная функция, функционирование сальных и потовых желез, лимфатических сосудов кожи, структуры коллагена, капиллярное кровообращение, функция подкожной жировой клетчатки, заживление раны), а также повышенным риском развития широкого спектра дерматологических заболеваний (включая псориаз, акантоз nigricans, acrochordons, кератоз pilaris, hyperandrogenism и hirsutism, striae distensae, ожирение dolorosa, lymphedema, хроническую венозную недостаточность, плантарный гиперкератоз, панникулит, инфекционные болезни кожи, hidradenitis suppurativa, подагру и др.) считается убедительно доказанной [20]. При этом развитие негативных системных эффектов ожирения реализуется прежде всего за счёт развития инсулинорезистентности, окислительного напряжения и повышение уровня различных (адипо)цитокінов и воспалительных маркеров [13, 19].

Выявлена не только высокая частота ожирения у больных псориазом (встречается у 46 % больных с умеренным и тяжёлым клиническим течением заболевания [7]), достоверно более высокий риск развития псориаза у больных с избыточной массой тела, но и более тяжёлое течение заболевания у лиц с повышенным индексом массы тела (BMI) [7, 16]. Дока-

зана клиническая эффективность использования для больных псориазом низкокалорийной диеты [18].

Сформулирована научная концепция, согласно которой перспективной стратегией лечения больных псориазом, страдающих ожирением, помимо снижения массы тела, является снижение плазменных уровней маркеров воспаления [6]. Так, в последние годы формирование особой патофизиологически обоснованной стратегии лечения дерматологических заболеваний, ассоциированных с ожирением и инсулино резистентностью, отнесены к важной проблеме клинической дерматологии [7]. Европейская Академия дерматологии (2006) важной задачей современной клинической дерматологии считает изучение терапевтического влияния на течение псориаза различных схем системной терапии больных с ожирением [17]. В развитии этой идеи в докладе междисциплинарной конференции (Родос, Греция, 2006), проводимой под эгидой Европейской Академии дерматологии и венерологии, указывалось, что лечение псориаза у больных с ожирением врач-дерматолог должен проводить при участии врачей других специальностей – кардиологов, гепатологов, эндокринологов, фармакологов и ревматологов, что может способствовать повышению эффективности дифференцированной терапии псориаза [4, 17].

Необходимо также подчеркнуть, что причинно-

следственная связь между ожирением и псориазом окончательно не расшифрована; ожирение может возникать как следствие развития псориаза, может выступать фактором риска развития псориаза, может являться фактором отягощения тяжести заболевания, либо быть производным от общей патофизиологии этих патологических состояний [9]. Все это является весомым научным аргументом в пользу продолжения научного поиска по указанной проблематике.

Общей целью исследования явилось научное обоснование целесообразности использования и оценка клинической эффективности применения системной терапии ожирения для коррекции лептин-зависимых механизмов прогрессирования псориаза у больных с гиперлептинемией и избыточной массой тела. В настоящей работе нами исследовалось влияние человеческого рекомбинантного лептина на уровень провоспалительного цитокина TNF- α в культуральной среде культуры кератиноцитов больных псориазом с нормальной и избыточной массой тела.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под нашим наблюдением находились 25 больных женского пола, страдающих кожными формами псориаза и разделенных на три группы. 1-ю группу составили 11 больных псориазом и индексом массы тела (BMI) < 25,0, 2-ю – 14 больных псориазом, у которых BMI \geq 30,0.

Изучалось влияние человеческого рекомбинантного лептина (Leptin_{human}, recombinant, Sigma, USA) на индуцированный эпидермальным фактором роста (EGF) человека, рекомбинантный (Epidermal Growth Factor_{human}, recombinant, Sigma, USA) синтез кератиноцитами больных псориазом провоспалительного цитокина TNF- α в культуральной экспериментальной модели. Клетки инкубировали с 50 нг/мл лептина. Для выделения первичных культур кератиноцитов использовались лоскуты кожи (0,5 мм), взятые в стерильных условиях с использованием дерматома у больных псориазом из очага поражения по методу Rheinwald J.G. (1980) [15], модифицированному Юдинцевой Н.М. и соавт. (1999) [2]. Кусочки кожи в течение ночи инкубировали в растворе диспазы II (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Германия) в концентрации 0,5 % и коллагеназы (ОАО «Технология», Санкт-Петербург) в концентрации 0,2 % при 4°C, после чего можно было механически отделить эпидермис от дермы. Для получения суспензии клеток эпидермис помещали в раствор трипсина в концентрации 0,125 % и версена в концентрации 0,02 % («Биолот», Санкт-Петербург) на 10 мин при 37°C. Действие фермента ингибировали добавлением сыворотки. Полученную суспензию клеток осаждали при 1000 g в течение 35 мин, удаляли супернатант, затем осадок ресуспендировали в смеси сред DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) и F 12 (3:1).

Для определения уровня TNF- α в культуральной

среде были использованы тест-системы ProCon TOO «Протеиновый контур» (Россия). Оптическую плотность конечного продукта ферментативной реакции определяли фотометрически.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что течение псориаза у лиц с избыточной массой тела протекает на фоне существенно более высокого системного уровня (адипо)цитокина лептина [10]. В последнее десятилетие выявлено участие лептина в воспалительном процессе путём прямого паракринного или аутокринного действия, а также определены возможные лептин-ассоциированные механизмы развития хронических дерматозов [3, 11]. Так, в исследовании Takahashi H. и соавт. (2010) доказана возможность лептин-зависимого синтеза кератиноцитами провоспалительных цитокинов непосредственно в коже, а также возможность лептин-зависимого синтеза кератиноцитами эпидермального фактора роста (EGF) и фактора роста кератиноцитов (KGF) [3]. Рецепторы к лептину (Ob-R) обнаружены на кератиноцитах, фибробластах, эндотелиальных клетках и клетках иного гистотипа [8, 12]. Фактически в последние годы гиперлептинемия стала рассматриваться как независимый фактор риска развития и прогрессирования псориаза [14]. Учитывая, что псориаз является иммунопатологическим (ассоциированным преимущественно с Т-клеточным иммунитетом) воспалительным заболеванием кожи, расширение лептин-зависимых иммунопатологических патогенетических механизмов при хронических дерматозах приобретает особую научную значимость [5]. Результаты исследования влияния человеческого рекомбинантного лептина на индуцированный EGF синтез кератиноцитами больных псориазом цитокина TNF- α в культуральной экспериментальной модели представлены в табл. 1.

Анализ представленного в таблице цифрового материала показывает, что наличие ожирения (BMI \geq 30,0) у больных псориазом характеризуется статистически значимо большим синтезом провоспалительного цитокина TNF- α культурой кератиноцитов (на 69,0 %, $p_1 < 0,001$, эксперимент 1), что формирует условия для хронизации воспалительного процесса в коже и, возможно, резистентности к проводимой противовоспалительной терапии.

Установлено также, что под влиянием преинкубации кератиноцитов с 50 нг/мл лептина (с последующей постановкой культурального эксперимента) уровень TNF- α в супернатанте культуры клеток существенно возрастает: на 79,3 % ($p < 0,001$) у больных псориазом с BMI < 25,0 (1-я группа) и на 72,8 % ($p < 0,001$) у больных псориазом с BMI \geq 30,0 (2-я группа). Таким образом, моделируемая в условиях витального культурального эксперимента гиперлептинемия способствует повышенному синтезу кератиноцитами больных псориазом провоспалительного цитокина TNF- α .

Таблица 1

Влияние человеческого рекомбинантного лептина на уровень провоспалительного цитокина TNF- α в культуральной среде культуры кератиноцитов (индуцированных человеческим рекомбинантным эпидермальным фактором роста человека) больных псориазом с BMI < 25,0 (1-я группа) и с BMI \geq 30,0 (2-я группа) в эксперименте *in vitro* при поступлении в стационар, пг/мл

Группы	Этапы эксперимента	Статистический показатель	Уровень TNF- α
Больные псориазом с BMI < 25,0 (1-я группа)	Эксперимент 1	M \pm m n p	19,23 \pm 0,85 11 –
	Эксперимент 2 (+ лептин)	M \pm m n p	34,47 \pm 1,02 11 < 0,001
Больные псориазом с BMI \geq 30,0 (2-я группа)	Эксперимент 1	M \pm m n p p ₁	32,50 \pm 1,13 14 – < 0,001
	Эксперимент 2 (+ лептин)	M \pm m n p p ₁	56,17 \pm 1,85 14 < 0,001 < 0,001

Примечание: p – достоверность различий в сравнении с показателем в эксперименте 1 в той же группе; p₁ – достоверность различий в сравнении с показателем в соответствующем эксперименте у больных 1-й группы.

При осмыслении этих фактов нужно учитывать, что такие «непрофессиональные» антигенпрезентирующие клетки кожи, как кератиноциты, фибробласты и эндотелиоциты кожных капилляров, ранее считавшиеся «молчаливым большинством», сегодня признаны активными участниками иммунных реакций, происходящих в коже. Под влиянием цитокинов активированных дендритных клеток, макрофагов и Т-лимфоцитов указанные клетки приобретают некоторые новые свойства, в частности способность осуществлять эндоцитоз и переваривание патогенов, экспрессировать адгезионные молекулы, структуры HLA II и CD1, производить антигенную презентацию и продуцировать целый ряд цитокинов и хемокинов, тесно вовлекаясь в осуществление иммунного ответа [1]. Таким образом, выявленные биологические эффекты лептина в отношении кератиноцитов, по нашему мнению, можно отнести к научным фактам, углубляющим понимание ключевых патогенетических механизмов развития псориаза.

Указанные научные факты позволяют утверждать, что важным механизмом повышения местного (на уровне кожи) цитокинового потенциала (уровень провоспалительного цитокина TNF- α) у больных псориазом с ожирением может являться гиперлептинемия. Можно также утверждать, что использование для больных псориазом (прежде всего – с ожирением и повышением BMI \geq 30,0) терапевтических стратегий, направленных на снижение уровня лептина в сыворотке крови, патофизиологически обосновано.

ВЫВОДЫ

1. Гиперлептинемия может выступать важным механизмом повышения местного (на уровне кожи)

цитокинового потенциала (уровень провоспалительного цитокина TNF- α) у больных псориазом с ожирением.

2. Использование у больных псориазом (прежде всего – с ожирением и повышением BMI \geq 30,0) терапевтических стратегий, направленных на снижение уровня лептина в сыворотке крови патофизиологически обосновано.

ЛИТЕРАТУРА

1. Казмирчук В.Е. Иммунная система кожи и клинические кожные «маски» иммунодефицитных заболеваний / В.Е. Казмирчук, Д.В. Мальцев // Клини. иммунол. Аллергол. Инфектол. – 2009. – №1. – С. 45-49.
2. Трансплантация аллогенных эпителиальных пластов на ожоговые раны / Н. М. Юдинцева, Ю.В. Горелик, И. А. Дьяконов [с соавт.] // Цитология. – 1999. – Т. 41. – С.328.
3. Adiponectin and leptin modulate cell proliferation and cytokine secretion of normal human keratinocytes and T lymphocytes / H. Takahashi [et al.] // J. Dermatol. Sci. – 2010. – Vol. 123, N. 8. – P. 234 – 246.
4. Biomarkers in Psoriasis and Psoriatic Arthritis: GRAPPA 2008 / C.T. Ritchlin, A.A. Qureshi, K. de Vlam [et al.] // J. Rheumatol. – 2010. – Vol. 37. – P. 462-467.
5. Christophers E. Psoriasis – epidemiology and clinical spectrum / E. Christophers // Clin. Exp. Dermatol. – 2001. – Vol. 26. – P. 314-320.
6. Chronic inflammation in psoriasis and obesity: implications for therapy / E.A. Hamminga, A.J. van der Lely, H.A. Neumann, H.B. Thio // Med. Hypotheses. – 2006. – Vol. 67, N. 4. – P. 768-773.
7. Cigarette smoking, body mass index, and stressful life events as risk factors for psoriasis: results from an

- Italian case-control study / L. Naldi, L. Chatenoud, D. Linder [et al.] // *J. Invest. Dermatol.* – 2005. – Vol. 125. – P. 61-67.
8. Goren I. Determination of leptin signaling pathways in human and murine keratinocytes / I. Goren, J. Pfeilschifter, S. Frank // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2003. – Vol. 303. – P. 1080-1085.
9. Impact of obesity and smoking on psoriasis presentation and management / M.D. Herron, M. Hinckley, M.S. Hoffman [et al.] // *Arch. Dermatol.* – 2005. – Vol. 141. – P. 1527-1534.
10. Kanda N. Leptin enhances human beta-defensin-2 production in human keratinocytes / N. Kanda, S. Watanabe // *Endocrinology.* – 2008. – Vol. 149, N. 10. – P. 5189-5198.
11. Leptin surge precedes onset of autoimmune encephalomyelitis and correlates with development of pathogenic T cell responses / V. Sanna, A. Di Giacomo, A. La Cava [et al.] // *J Clin Invest.* – 2003. – Vol. 111, N. 2. – P. 241-250.
12. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions / S. Margetic, C. Gazzola, G.G. Pegg, R.A. Hill // *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* – 2002. – Vol. 26. – P. 1407–1433.
13. Obesity in adulthood and its consequences for life expectancy: a life-table analysis / A. Peeters, J.J. Barendregt, F. Willekens [et al.] // *Ann. Intern. Med.* – 2003. – Vol. 138. – P. 24-32.
14. Psoriasis independently associated with hyperleptinemia contributing to metabolic syndrome / Y.J. Chen, C.Y. Wu, J.L. Shen [et al.] // *Arch. Dermatol.* – 2008. – Vol. 144, N. 12. – P. 1571-1575.
15. Rheinwald J.G. Serial cultivation of normal epidermal keratinocytes / J.G. Rheinwald // *Meth. Cell. Biol.* – 1980. – Vol. 21. – P. 229-254.
16. Risk factors for psoriasis: a retrospective study on 501 out patients clinical records / M.G. Marino, I. Carboni, C. De Felice [et al.] // *Ann. Ig.* – 2004. – Vol. 16. – P. 753-758.
17. Sterry W. International Psoriasis Council. Obesity in psoriasis: the metabolic, clinical and therapeutic implications: report of an interdisciplinary conference and review / W. Sterry, B.E. Strober, A. Menter // *Br. J. Dermatol.* – 2007. – Vol. 157, N. 4. – P. 649-655.
18. The role of the low energy diet in psoriasis vulgaris treatment / I. Rucevic, A. Perl, V. Barisic-Drusko [et al.] // *Coll. Antropol.* – 2003. – Vol. 27. – P. 41-48.
19. Van Gaal L.F. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease / L.F. Van Gaal, I.L. Mertens, C.E. De Block // *Nature.* – 2006. – Vol. 444. – P. 875-880.
20. Yosipovitch G. Obesity and the skin: skin physiology and skin manifestations of obesity / Yosipovitch G., DeVore A., Dawn A. // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2007. – Vol. 56, N. 6. – P. 901-916.