

ДИНАМИКА УРОВНЯ ХЕМОКИНА ENA-78/CXCL5 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И КОЖНОМ ЭКССУДАТЕ У ПАЦИЕНТОВ С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

Кибалина И.В., Цыбиков Н.Н., Фефелова Е.В.

ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ,
г. Чита, Россия

Резюме. В современных научных исследованиях патогенеза атопического дерматита мало данных о динамике БАВ непосредственно в очаге поражения. На поверхности кожного покрова при атопическом дерматите высока персистенция микроорганизмов, однако патофизиологическая роль ENA-78/CXCL5 в развитии атопического дерматита до сих пор не изучена. Известно, что синтез ENA-78/CXCL5 осуществляется эндотелиоцитами, кератиноцитами, эозинофилами, фибробластами для активации миграции нейтрофилов, особенно под влиянием ЛПС микроорганизмов. Цель настоящего исследования заключалась в изучении динамики уровня хемокина ENA-78/CXCL5 в сыворотке крови и в кожном экссудате у пациентов с атопическим дерматитом, а также в определении патофизиологической роли хемокина в патогенезе дерматоза.

Под наблюдением находилось 80 пациентов с ограниченной и распространенной формами атопического дерматита и 15 добровольцев. Изучение динамики уровня хемокина ENA-78/CXCL5 осуществлялось в сыворотке крови и в кожном экссудате. Забор крови для исследования проводился в период обострения и ремиссии. Забор кожного экссудата у пациентов осуществлялся в период обострения с помощью одноразового инсулинового шприца и одноразовой иглы диаметром 20G, у здоровых добровольцев кожный экссудат получали методом «кожного окна» согласно медицинской технологии В.В. Климова и соавторов «Способ оценки минимальной воспалительной активности кожи при атопическом дерматите в стадии ремиссии». Исследование проводилось методом проточной цитофлуориметрии с применением панели The LEGEND plex™ Human Proinflammatory Chemokine Panel (США) в соответствии с протоколом производителя.

У подростков с атопическим дерматитом концентрация хемокина ENA-78/CXCL5 в сыворотке крови превышает показатели здоровых добровольцев, в период ремиссии уровень не достигает показателя в контрольной группе. У взрослых концентрация хемокина ENA-78/CXCL5 как при появлении симптомов, так и при их разрешении ниже уровня в группе контроля. Максимальные концентрации хемокина ENA-78/CXCL5 выявлены в кожном экссудате.

Базируясь на полученные данные динамики уровня хемокина ENA-78/CXCL5, можно предположить, что он является одним из звеньев патогенеза атопического дерматита, обуславливающего миграцию нейтрофилов и моноцитов в очаг поражения. Хемокин ENA-78/CXCL5 может являться маркером микробного звена патогенеза и клеточного повреждения при атопическом дерматите.

Ключевые слова: атопический дерматит, ENA-78/CXCL5, кожный экссудат, патогенез, нейтрофилы, воспаление

Адрес для переписки:

Кибалина Ирина Владимировна
ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ
672000, Россия, Забайкальский край, г. Чита,
ул. Горького, 39а.
Тел.: 8 (924) 375-08-75.
E-mail: vilinia@rambler.ru

Address for correspondence:

Kibalina Irina V.
Chita State Medical Academy
672000, Russian Federation, Zabaikalsky Region,
Gorky str., 39a.
Phone: 7 (924) 375-08-75.
E-mail: vilinia@rambler.ru

Образец цитирования:

И.В. Кибалина, Н.Н. Цыбиков, Е.В. Фефелова
«Динамика уровня хемокина ENA-78/CXCL5
в сыворотке крови и кожном экссудате у пациентов
с атопическим дерматитом» // Медицинская
иммунология, 2022. Т. 24, № 2. С. 401-406.
doi: 10.15789/1563-0625-DOT-2461

© Кибалина И.В. и соавт., 2022

For citation:

I.V. Kibalina, N.N. Tsybikov, E.V. Fefelova
“Dynamics of the chemokine ENA-78/CXCL5 levels in blood serum and skin exudate in patients with atopic dermatitis”, *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2022, Vol. 24, no. 2, pp. 401-406.
doi: 10.15789/1563-0625-DOT-2461

DOI: 10.15789/1563-0625-DOT-2461

DYNAMICS OF THE CHEMOKINE ENA-78/CXCL5 LEVELS IN BLOOD SERUM AND SKIN EXUDATE IN PATIENTS WITH ATOPIC DERMATITIS

Kibalina I.V., Tsybikov N.N., Fefelova E.V.

Chita State Medical Academy, Chita, Russian Federation

Abstract. Currently, there are only scarce data on dynamics of biologically active substances in the lesions associated with atopic dermatitis. Persistence of microorganisms in atopic dermatitis is high on the skin surface. However, pathophysiological significance of ENA-78/CXCL5 for development of atopic dermatitis was not studied so far. The ENA-78/CXCL5 is known to be produced by endotheliocytes, keratinocytes, eosinophils, fibroblasts to activate neutrophil migration, especially under the influence of LPS-containing microorganisms. The aim of this study was to evaluate the dynamics of ENA-78/CXCL5 chemokine levels in blood serum and skin exudates in the patients with atopic dermatitis, as well as to determine pathophysiological role of the chemokine in pathogenesis of dermatosis.

80 patients with limited and widespread forms of atopic dermatitis and 15 volunteers were under observation. The dynamics of ENA-78/CXCL5 levels was studied in blood sera and skin exudates. Blood samples for the study were drawn at the time periods of exacerbation and remission. Skin exudates were taken from the patients during the exacerbation period using disposable insulin syringes and 20-G disposable needles. In healthy volunteers, the skin exudate was obtained by the "skin window" technique as described by V.V. Klimov and co-authors "A method for assessing minimal inflammatory activity of skin in atopic dermatitis in remission". The cell analysis was conducted by flow cytometry using the LEGEND plex TM Human Proinflammatory Chemokine Panel (USA) according to the manufacturer's protocol.

Serum concentrations of chemokine ENA-78/CXCL5 in adolescents with atopic dermatitis, exceeded the range for healthy volunteers. During remission of dermatitis, the chemokine level did not reach the indices in the control group. In adults, the ENA-78/CXCL5 concentration, both at the onset of symptoms and upon their resolution, was below the control levels. Maximal concentrations of ENA-78/CXCL5 chemokine were detected in the skin exudates.

As based on our data on the dynamics of ENA-78/CXCL5 chemokine levels, it could be assumed that this substance may represent a sufficient link in pathogenesis of atopic dermatitis, by causing migration of neutrophils and monocytes to the affected area. The ENA-78/CXCL5 chemokine may be a marker of microbial pathogenesis and cellular damage in atopic dermatitis.

Keywords: atopic dermatitis, ENA-78/CXCL5, skin exudate, pathogenesis, neutrophils, inflammation

Введение

Атопический дерматит – хронический аллергический генетически детерминированный мультифакторный дерматоз, в основе патогенеза которого лежат иммунные нарушения. Хемокин ENA-78/CXCL5 синтезируется эндотелиоцитами, кератиноцитами, эозинофилами, фибробластами при активации их IL-1 α и TNF α [4]. ENA-78/CXCL5 увеличивает концентрацию свободного кальция и способствует высвобождению эластазы, активируя миграцию нейтрофилов и инициацию синтеза биологически активных веществ [3, 4]. В современных научных исследованиях ENA-78/CXCL5 рассматривается как хемокин, участвующий в воспалительных реакциях и в аутоиммунных процессах [4]. Доказана взаимосвязь экспрессии ENA-78/CXCL5 в сыроворотке крови с антинейронными аутоантителами

у детей, страдающих аутизмом [3, 4]. Известно, что ENA-78/CXCL5 может синтезироваться вместе с IL-8 и фактором роста меланомы под влиянием ЛПС микроорганизмов и провоспалительных цитокинов за очень короткий период времени [3, 4]. Эозинофилы, синтезируя ENA-78/CXCL5, способны активировать миграцию нейтрофилов, имеющих на своей поверхности рецептор CXCR2, а также способствовать реструктуризации соединительной ткани [3, 4]. Однако патофизиологическая роль ENA-78/CXCL5 в развитии атопического дерматита до сих пор неизвестна. В современных научных источниках не представлена информация о роли хемокина ENA-78/CXCL5 в патогенезе атопического дерматита, что привлекло наше внимание для его изучения.

Цель настоящего исследования заключалась в изучении динамики уровня хемокина ENA-78/

CXCL5 в сыворотке крови и в кожном экссудате у пациентов с atopическим дерматитом, а также в определении патофизиологической роли хемокина в патогенезе дерматоза.

Материалы и методы

Обследование и терапия пациентов, забор биологического материала проводились на базе ГУЗ «Краевой кожно-венерологический диспансер» Минздрава Забайкальского края, г. Чита. Лабораторные исследования были выполнены в НИИ Медицинской экологии, лаборатории экспериментальной и клинической биохимии и иммунологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России. Исследование одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России.

Все пациенты, включенные в исследование, были полностью информированы о ходе его проведения, что отражено в добровольном информированном согласии, которое каждый пациент подписал перед включением его в группу исследования. Критериями включения пациентов в исследование являлись: наличие диагноза atopический дерматит, стаж заболевания более 2 лет, наличие подписанного добровольного информированного согласия, отсутствие сопутствующих заболеваний, в том числе хронических в стадию ремиссии. К критериям исключения относили сопутствующие хронические заболевания в анамнезе, проведение лекарственной терапии (НПВС, H1-блокаторы, системные и топические глюкокортикостероиды, циклоспорины, ингибиторы кальциневрина) и/или общей узкополосной средневолновой ультрафиолетовой терапии в течение 2 месяцев до включения пациента в исследование, беременность и лактация, клинические признаки вторичного инфицирования кожи, длительность ремиссии заболевания менее 2 месяцев после купирования обострения заболевания в рамках исследования [2].

Под наблюдением находились 80 пациентов в возрасте от 13 до 44 лет. Из них 39 пациентов (48,75%) женского пола и 41 пациент (51,25%) мужского пола. Было сформировано 2 группы исследования: подростки – от 13 до 18 лет ($n = 40$) и взрослые от 18 до 44 лет ($n = 40$). Каждая группа была разделена на 2 подгруппы: пациенты с ограниченной ($n = 20$) и с распространенной формой ($n = 20$) atopического дерматита. Диагностику заболевания проводили, базирясь на критерии Hanifin и Rajka и шкалу SCORAD [5, 6].

Контрольные группы подростков и взрослых составили 30 здоровых добровольцев, которые на момент осмотра были клинически здоровы, не

имели сенсibilизации к аллергенам, хронических заболеваний, в том числе в стадию ремиссии, кожных морфологических элементов, отягощенного наследственного аллергологического анамнеза и в течение одного месяца до включения в исследование не применяли лекарственные препараты системного и топического действия.

Забор крови для исследования осуществлялся из локтевой вены в одноразовые пробирки для забора крови Vacutainer с цитратом натрия утром натощак как у пациентов, так и у здоровых добровольцев. Центрифугирование проводилось при 3000 об/мин в течение 15 минут, полученную плазму хранили при -70°C до исследования. Забор кожного экссудата у пациентов с atopическим дерматитом осуществлялся с помощью одноразового инсулинового шприца и одноразовой иглы диаметром 20G из экссудативных морфологических элементов с последующим перемещением в одноразовые микропробирки емкостью 0,5 мл. Полученный кожный экссудат хранился при -70°C до исследования. У здоровых добровольцев кожный экссудат получали методом «кожного окна» согласно медицинской технологии В.В. Климова, А.А. Денисова, Е.К. Фирсовой и др. «Способ оценки минимальной воспалительной активности кожи при atopическом дерматите в стадии ремиссии» ФС № 2010/217 от 10.06.2010 [1]. Для осуществления данной технологии кожу на передней поверхности предплечья двукратно обрабатывали одноразовой спиртовой салфеткой, затем при помощи стерильного скальпеля осуществляли десквамацию верхних слоев эпидермиса до появления специфического блеска на участке кожи диаметром 0,5 см, при этом нетронутыми оставались слои базальных и шиповатых клеток [1]. На этот участок кожи плотно прикреплялась емкость объемом 2 мл, предварительно заполненная 1 мл 0,9%-ного раствора натрия хлорида, затем плотно фиксировалась гипоаллергенным пластырем и стерильным бинтом. Через 6 часов камеру снимали и одноразовым инсулиновым шприцем перемещали содержимое емкости в одноразовые микропробирки емкостью 1,5 мл с закрывающейся крышкой и хранили до исследования при -70°C [1].

Для исследования хемокина ENA-78/CXCL5 в сыворотке крови и кожном экссудате методом проточной цитофлуориметрии применяли панели The LEGEND plex™ Human Proinflammatory Chemokine Panel (США) в соответствии с протоколом производителя.

Статистическую обработку полученных лабораторных данных проводили с применением пакетов статистического анализа STATISTICA 6.1 для Windows. Для проверки на нормальность распределения количественных показателей ис-

пользовали критерий Шапиро–Уилка. Для статистической обработки данных, не подчиняющихся закону нормального распределения, использовали непараметрические методы. Для сравнения независимых выборок применяли U-критерий Манна–Уитни и Вилкоксона для парных признаков, а для проверки статистических гипотез при сравнении независимых выборок использовали непараметрический дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса и медианный тест. Критический показатель уровня значимости и достоверности различий считался $p < 0,05$ (p_1 – статистически значимая разница при сравнении с контрольной группой; p_2 – статистически значимая разница при сравнении между обострением и ремиссией в одной возрастной группе; p_3 – статистически значимая разница между стадиями атопического дерматита в разных возрастных группах; p_4 – статистически значимая разница при сравнении между ограниченной и распространенной формами заболевания в кожном эксудате). Описательная статистика исследуемых показателей представлена медианой и межквартильными интервалами $Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$.

Результаты и обсуждение

У подростков контрольной группы концентрация ENA-78/CXCL5 в сыворотке крови составляет 916,72 (788,91-1002,37) пг/мл, у взрослых – 928,69 (896,32-961,06) пг/мл. У подростков с ограниченной формой атопического дермати-

та в период обострения показатель увеличен до 1390,29 (1275,15-1532,17) пг/мл ($p_1 = 0,00001$), что на 51,6% превышает уровень в контроле, что связано с формированием патологического очага при атопическом дерматите. В ремиссии при разрешении клинических симптомов у подростков концентрация ENA-78/CXCL5 достоверно уменьшается в 2,4 раза, составляя 569,09 (506,31-625,37) пг/мл ($p_1 = 0,0001$; $p_2 = 0,00089$) (рис. 1).

У взрослых с ограниченными проявлениями в период обострения показатель равен 812,49 (703,95-975,17) пг/мл ($p_1 = 0,05$; $p_3 < 0,000010$), что на 13% меньше контрольных значений. В ремиссии концентрация ENA-78/CXCL5 в сыворотке крови снижается до 734,21 (580,4-821,23) пг/мл ($p_1 = 0,00015$; $p_2 = 0,056$; $p_3 = 0,004$).

Как у подростков, так и у взрослых с распространенной формой дерматоза в период обострения концентрация ENA-78/CXCL5 меньше, чем при ограниченной форме заболевания, так у подростков составляет 1117,41 (860,3-1695,55) пг/мл ($p_1 = 0,0014$), что превышает контрольное значение на 22%, у взрослых – 743,16 (591,65-845,79) пг/мл ($p_1 = 0,00017$; $p_3 = 0,00013$), что меньше контроля на 20%. В ремиссии атопического дерматита при распространенном процессе концентрация ENA-78/CXCL5 уменьшается у подростков и взрослых в 1,8 раза до 599,82 (499,17-840,64) пг/мл ($p_1 = 0,0007$; $p_2 = 0,002$) и 399,88 (300,06-574,24) пг/мл ($p_1 < 0,00001$; $p_2 = 0,0025$; $p_3 = 0,00013$) (рис. 2).

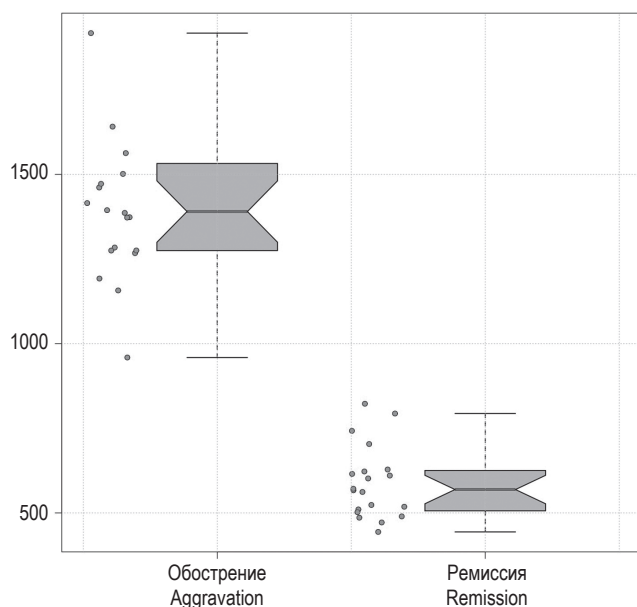


Рисунок 1. Концентрация ENA-78/CXCL5 в сыворотке крови (пг/мл) у подростков с ограниченной формой атопического дерматита

Figure 1. Concentration of ENA-78/CXCL5 in blood serum (pg/ml) in adolescents with a limited form of atopic dermatitis

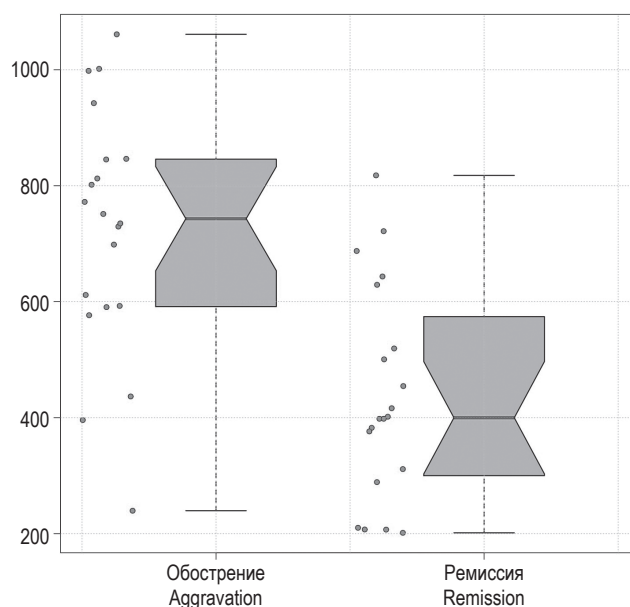


Рисунок 2. Концентрация ENA-78/CXCL5 в сыворотке крови у взрослых с распространенной формой атопического дерматита

Figure 2. Concentration of ENA-78/CXCL5 in the blood serum of adults with a common form of atopic dermatitis

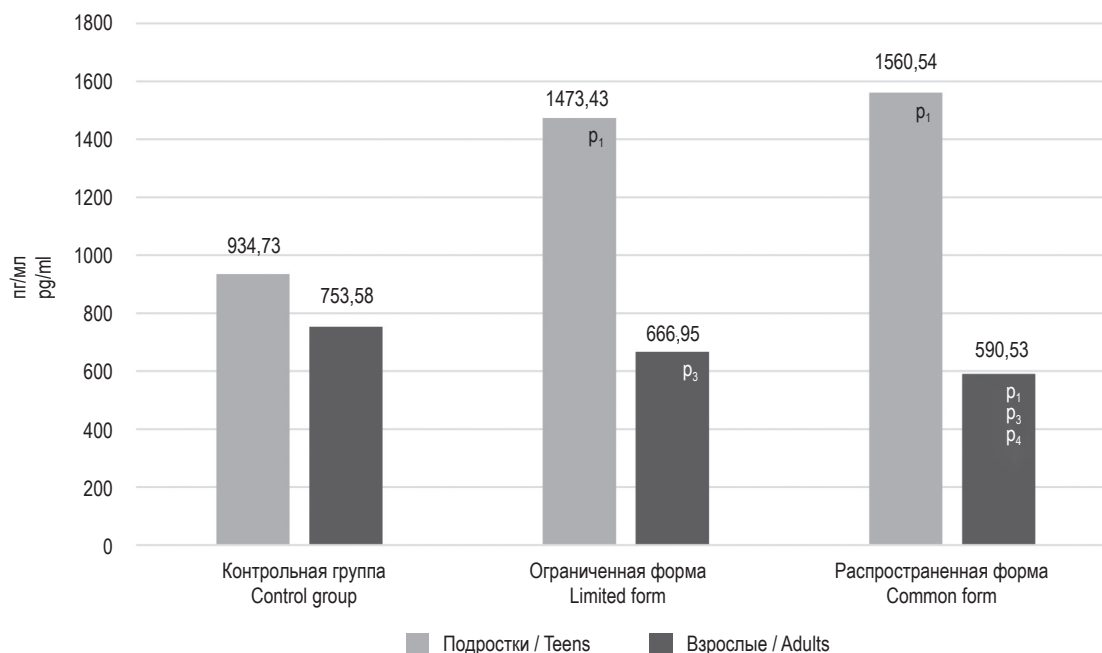


Рисунок 3. Концентрация ENA-78/CXCL5 в кожном экссудате в период обострения у пациентов с atopическим дерматитом

Figure 3. Concentration of ENA-78/CXCL5 in skin exudate during exacerbation in patients with atopic dermatitis

Концентрация ENA-78/CXCL5 в кожном экссудате, полученном методом «кожного окна», в контрольной группе подростков составляет 934,73 (888,14; 981,32) пг/мл, у взрослых – 753,58 (712,52-794,64) пг/мл. При ограниченной форме atopического дерматита у подростков в кожном экссудате уровень ENA-78/CXCL5 равен 1473,43 (1247,31-1836,23) пг/мл ($p_1 < 0,0001$), что при сравнении с контролем больше в 1,5 раза. У взрослых с аналогичной формой заболевания концентрация ENA-78/CXCL5 в кожном экссудате равна 666,95 (635,45-703,37) пг/мл ($p_1 < 0,0001$; $p_3 = 0,0000001$), что меньше показателя в контроле на 12% (рис. 3).

При распространенном кожном процессе в кожном экссудате у подростков уровень ENA-78/CXCL5 равен 1560,54 (993,87-2000,78) пг/мл ($p_1 = 0,002$; $p_4 = 0,25$), что на 67% больше контрольного значения и на 6% превосходит показатель при ограниченной форме дерматоза. У взрослых при распространенном процессе концентрация ENA-78/CXCL5 составляет 590,53 (394,26-693,38) пг/мл ($p_1 < 0,0001$; $p_3 = 0,000061$; $p_4 = 0,000018$), что достоверно меньше контроля на 21,6% и на 12% больше, чем при ограниченном дерматозе (рис. 3). Данная динамика уровня хемокина у подростков и взрослых может быть связана с разными клиническими проявлениями и особенностями локализации atopического дерматита.

Нами впервые изучена динамика уровня ENA-78/CXCL5 в сыворотке крови и кожном экссудате при atopическом дерматите. Выявлено, что у подростков и взрослых в период обострения atopического дерматита концентрация хемокина ENA-78/CXCL5 превышает показатель контрольной группы, что связано не только с формированием патологического кожного очага, но и с миграцией клеток, синтезирующих данный хемокин. Мы предполагаем, что уменьшение концентрации хемокина при распространенном кожном процессе связано не только с быстрым его связыванием с тропными рецепторами, но и с затратами хемокина для участия в активации миграции моноцитов и нейтрофилов в очаг поражения. Пул иммунных клеток, синтезирующих хемокин ENA-78/CXCL5, сконцентрирован в патологически измененной коже, однако по градиенту концентрации молекулы хемокина должны попасть в системный кровоток. Однако хемокин, проходя через гематодермальный барьер, разрушается лизосомальными ферментами путем неспецифического гидролиза и пептидазами.

Заключение

Выявлено, что у подростков концентрация хемокина ENA-78/CXCL5 больше, чем у взрослых с atopическим дерматитом как на системном уровне, так и в местном кожном процессе, что может обуславливать возрастные клинические особен-

ности дерматоза. Мы предполагаем, что хемокин ENA-78/CXCL5 в патологическом кожном очаге при atopическом дерматите способствует миграции нейтрофилов и моноцитов, активируя синтез соответствующих цитокинов и усиливая их фагоцитарную активность. Таким образом, хемокин ENA-78/CXCL5 при atopическом дерматите может являться маркером микробного звена патоген-

еза дерматоза и клеточного повреждения в очаге поражения.

Благодарности

Коллектив авторов благодарит руководство ГУЗ «Краевой кожно-венерологический диспансер» Минздрава Забайкальского края в г. Чита за активное сотрудничество в проведении исследования.

Список литературы / References

1. Ермаков Е.А., Климов В.В. Анализ содержания цитокинов при atopическом дерматите в экссудате, полученном методом «кожного окна» // Успехи современного естествознания, 2013. № 9. С. 31-33. [Ermakov E.A., Klimov V.V. Analysis of the cytokine content in atopic dermatitis in the exudate obtained by the "skin window" method. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya = Successes of Modern Natural Science*, 2013, no. 9, pp. 31-33. (In Russ.)]
2. Кибалина И.В., Цыбиков Н.Н. Роль эндотелина-1 и аутоантител к нему в патогенезе atopического дерматита: исследование случай-контроль // Вестник дерматологии и венерологии, 2021. Т. 97, № 1. С. 34-40. [Kibalina I.V., Tsybikov N.N. The role of endothelin-1 and its autoantibodies in the pathogenesis of atopic dermatitis: a case-control study. *Vestnik dermatologii i venerologii = Bulletin of Dermatology and Venereology*, 2021, Vol. 97, no. 1, pp. 34-40. (In Russ.)]
3. Лазарева Н.М., О.П. Баранова О.П., Кудрявцев И.В., Арсентьева Н.А., Любимова Н.Е., Сесь Т.П., Илькович М.М., Тотолян Арег А. Лиганды хемокинового рецептора CXCR3 при саркоидозе // Медицинская иммунология, 2021. Т. 23, № 1. С. 73-86. [Lazareva N.M., Baranova O.P., Kudryavtsev I.V., Arsentieva N.A., Lyubimova N.E., Ses' T.P., Ilkovich M.M., Totolian Areg A. CXCR3 chemokine receptor ligands in sarcoidosis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2021, Vol. 23, no. 1, pp. 73-86. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-CCR-2181.
4. Mostafa G.A., AL-Ayadhi L.Y. The possible link between elevated serum levels of epithelial cell-derived neutrophil-activating peptide-78 (ENA-78/CXCL5) and autoimmunity in autistic children. *Behav. Brain Funct.*, 2015, Vol. 11, 11. doi.org/10.1186/s12993-015-0056-x.
5. Tsybikov N.N., Petrisheva I.V., Fefelova E.V., Kuznik B.I., Magen E. Plasma a-defensins are elevated during exacerbation of atopic dermatitis. *Clin. Exp. Dermatol.*, 2016, Vol. 41, no. 3, pp. 253-259.
6. Wollenberg A., Barbarot S., Bieber T. Consensus-based European guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) in adults and children: part I. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2018, Vol. 32, no. 5, pp. 657-682.

Авторы:

Кибалина И.В. — к.м.н., доцент кафедры дерматовенерологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Чита, Россия
Цыбиков Н.Н. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Чита, Россия
Фефелова Е.В. — д.м.н., доцент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Чита, Россия

Authors:

Kibalina I.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Dermatovenereology, Chita State Medical Academy, Chita, Russian Federation
Tsybikov N.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Pathological Physiology, Chita State Medical Academy, Chita, Russian Federation
Fefelova E.V., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Department of Pathological Physiology, Chita State Medical Academy, Chita, Russian Federation

Поступила 22.12.2021
Принята к печати 05.01.2022

Received 22.12.2021
Accepted 05.01.2022