

УДК 616-092.6:616-003.923:616.01/-099

Л.С. Васильева, М.В. Кобец

ВЗАИМОСВЯЗЬ КОМПОЗИЦИИ ГОРМОНОВ, ЦИТОКИНОВ И ЛЕЙКОЦИТОВ В КРОВИ С РЕЗУЛЬТАТОМ ЛАЗЕРНОГО ЛЕЧЕНИЯ КЕЛОИДНЫХ РУБЦОВ

ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Иркутск, Российская Федерация

Резюме. Одним из актуальных аспектов проблемы лечения келоидов является отсутствие сведений о биомаркерах, позволяющих прогнозировать результат лечения этой патологии.

Цель работы — выявление ассоциации измененных уровней гормонов, цитокинов и лейкоцитов в крови с результатом лазерного лечения келоидных рубцов. **Материалы и методы.** Исследованы гормональный, цитокиновый и лейкоцитарный состав крови у 45 женщин: 30 с келоидными рубцами, 15 с нормотрофическими (контроль). Кровь брали до лечения на 5–7 сутки менструального цикла. Келоиды лечили методом множественных лазерных перфораций рубцовой ткани. Клинические характеристики келоидных рубцов оценивали по Ванкуверской шкале перед лечением и через 3 месяца. По результату лечения сформированы две подгруппы: с положительной динамикой келоидов и с отсутствием результата лечения. Анализ данных проведен методами непараметрической статистики, уровень статистической значимости $p < 0,05$. **Результаты и обсуждение.** У всех пациенток с келоидами в крови уровень кортизола снижен, а фактора некроза опухоли-альфа повышен, что способствует пролиферации фибробластов с торможением апоптоза. Кроме того, в подгруппе с положительным результатом лечения увеличено количество сегментоядерных нейтрофилов и повышен уровень противовоспалительного интерлейкина-10. Дискриминантный анализ подтвердил высокую информационную значимость этих показателей. У пациенток с отсутствием результата лечения келоидов семикратно повышен уровень соматотропного гормона, снижена концентрация лютеинизирующего гормона, пролактина, интерлейкина-10, что может приводить к ослаблению противовоспалительных влияний и стимуляции фиброобразования. Дискриминантный анализ выделил высокую информационную значимость кортизола, соматотропного гормона и фактора некроза опухоли-альфа. Регрессионный анализ установил ассоциацию обнаруженных изменений в составе крови с клиническими параметрами келоидов в каждой подгруппе. **Заключение.** Выявленные отличия в составе крови у пациенток с келоидными рубцами ассоциированы с положительным или отрицательным результатом лазерного лечения келоидов.

Ключевые слова: келоидные рубцы, системные факторы, келоидогенез

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Кобец Максим Владимирович

kobetsmv@gmail.com

Дата поступления 05.04.2022 г.

Образец цитирования:

Васильева Л.С., Кобец М.В. Взаимосвязь композиции гормонов, цитокинов и лейкоцитов в крови с результатом лазерного лечения келоидных рубцов. Вестник уральской медицинской академической науки. 2022, Том 19, №2, с. 71–81, DOI: 10.22138/2500-0918-2022-19-2-71-81

Проблема лечения келоидных рубцов сохраняет актуальность, так как результаты их лечения до сих пор нельзя признать удовлетворительными, несмотря на многообразие применяемых способов (хирургическое и лазерное лечение, криодеструкция, гормональная терапия и пр.). Частота рецидивов келоидных рубцов после лечения различными методами варьирует от 40 до 70% [1], причем

нередко рецидивировавший келоид по размерам превышает первоначальный. Выяснение причин разной эффективности лечения келоидов становится вопросом первостепенного значения для решения этой проблемы, и ответ на него, вероятно, следует искать в механизмах патогенеза келоидов.

Современный уровень знаний о патогенезе келоидов раскрывает ряд молекулярных механизмов келоидогенеза [2] и роль в этом процессе групповых генетических особенностей (семейных или этнических) [3, 4], но не объясняет причин различной эффективности лечения келоидов. Авторы считают необходимым дополнить имеющуюся информацию данными об эпигенетических факторах, которые создают определенные условия, способные изменить (в пределах нормы реакции) активность генов, отвечающих за ранозаживляющие свойства фибробластов. Из многообразия этих факторов выделяются гуморальные системные факторы, которые способны управлять реакциями соединительной ткани и механизмами их ауторегуляции [5, 6]. По общему признанию, наиболее сильное влияние на процесс рубцевания оказывают кортикостероиды, подавляя фиброгенез и пролиферацию фибробластов. Еще в 1931 году L.M. Pautrier успешно использовал глюкокортикоиды для лечения келоидных рубцов [7, с. 11]. С середины прошлого века изучались эффекты различных гормонов на процессы воспаления и рубцевания, но их концентрация в плазме крови при келоидных рубцах осталась без внимания. Напротив, роль цитокинов в процессе рубцевания привлекает все большее внимание, появляются сведения, в том числе, и об их сывороточном уровне при келоидных рубцах. В частности, представлены данные об аномально высоком уровне в плазме пациентов с келоидами фактора роста эндотелия сосудов (иммуноферментный метод) и эндотелиальных клеток-предшественников (метод проточной цитометрии) [8], а также о сниженном уровне эндостатина (иммуноферментный метод), ингибитора ангиогенеза [9]. Такое соотношение в плазме крови про- и антиангиогенных факторов согласуется с избыточным и патогенным ангиогенезом в келоидной ткани. Недавно Khattab FM, Samir MA. (2020) показали, что тяжесть келоида обратно коррелирует с сывороточным уровнем IL37, который оказывает иммуносупрессивное действие [10].

Из представленных данных, несмотря на их немногочисленность, становится очевидной сопряженность системных факторов с келоидогенезом. Это дает основание считать изучение индивидуальных особенностей метаболизма, эндокринного, иммунного, липидного профилей и лейкоцитарного состава крови перспективным подходом для получения дополнительных сведений о патогенезе келоидного рубцевания, а также для выявления биомаркеров, позволяющих прогнозировать результативность того или иного метода лечения этой патологии.

Цель работы заключалась в выявлении ассоциации отличий в составе крови по количеству лейкоцитов, уровням гормонов и цитокинов с положительным или отрицательным результатом лазерного лечения келоидных рубцов. Для этого оценивались количественные характеристики лейкоцитарного звена крови, гормонального и иммунного профилей у женщин с нормотрофическими и келоидными рубцами до лазерного лечения с учетом его эффективности.

Материалы и методы

Исследование проведено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской Декларации. В исследовании участвовали 45 женщин с рубцами кожи, из них 15 — с нормотрофическими рубцами (1 группа, контроль) и 30 пациенток с диагнозом «келоидный рубец» (2 группа, исследуемая), соответствующих критериям отбора. Критерии включения пациентов: информированное согласие на участие в исследовании, женский пол, возраст от 18 до 35 лет, нормотрофические или молодые келоидные рубцы (возраст рубца от 2 до 5 лет), локализованные в зонах с толстой малорастяжимой кожей, испытывающей значительные функциональные нагрузки (грудная клетка, спина, верхние конечности). Критерии исключения: наличие гипертрофического рубца, сахарного диабета, патологии эндокринных органов, инфекционных и онкологических заболеваний. Сформированные группы сопоставимы по возрасту (28 (24; 30) и 25 (22; 26) лет, $p=0,6$) и давности образования рубцов (3 (2; 4) и 4 (3; 4) года, $p=0,1$).

Клинические характеристики рубца регистрировались в баллах по Ванкуверской шкале [11]. Визуально оценивались васкуляризация рубца (окраска нормальная = 0, розовая = 1, красная = 2, пурпурная = 3) и пигментация (нормальная = 0 баллов, слабая = 1, сильная = 2). С помощью пальпации

определялась плотность рубца (нормальная = 0, податливый рубец = 1, упругий = 2, плотный легко перемещаемый = 3, плотный спаянный с тканями = 4). По субъективным ощущениям определяли отсутствие зуда (0) или его наличие (слабый = 1, умеренный = 2, сильный = 3). Высоту рубца ($h_{\text{мм}}$) оценивали в мм по данным объективного контроля (циркуль Кастровехо с ценой деления 0,1 мм), которые переводили в баллы (плоский = 0 мм; до 2 мм = 1; 2–5 мм = 2; более 5 мм = 3). Для интегральной клинической оценки рубца использовали «Общий Показатель Рубца» (ОПР), равный сумме баллов показателей шкалы.

Всем обследуемым назначалось клинико-лабораторное исследование состава крови, взятой на 5–7 сутки менструального цикла (фолликулярная фаза), которое включало определение концентрации 22 показателей гормонального, иммунного профилей и лейкоцитарного состава крови. В гормональном профиле методом твердофазного иммуноферментного анализа оценивали концентрации тиреотропного гормона (ТТГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), свободного тироксина (Т4св), пролактина, соматотропного гормона (СТГ), кортизола, тестостерона, прогестерона, эстрадиола (тест-наборы «Алькорбио», СПб). В иммунном профиле тем же методом оценивали концентрации фактора некроза опухоли (TNF- α), интерлейкинов IL4, IL6, IL10, трансформирующего фактора роста- β (TGF- β) (тест-системы «Вектор-Бест», г. Новосибирск).

В качестве индикатора разной реакции келоидов на лечение использовали малоинвазивный метод (множественные перфорации рубцовой ткани лазером), который точно уменьшал объем келоидной ткани без избыточного повреждения и формировал заново клеточный и медиаторный каскад воспаления, создавая новые условия для рубцевания. Лечение проводили с помощью лазерной системы «Ланцет-2» (Россия) под местной анестезией 2% раствором лидокаина. Перфорации рубцовой ткани производили сфокусированным лазерным лучом ($d=0,5$ мм, $\lambda=10,6$ мкм) в виде единичных импульсов (по 0,05 сек., плотность энергии 50 Дж/см²) на глубину высоты рубца с плотностью 25–36 перфораций на 1 см². Перфорированную поверхность рубца обрабатывали 10% водным раствором повидон-йода 2 раза в день в течение 3–4 дней. Заживление проходило под струпом, осложнения отсутствовали, дополнительного лекарственного сопровождения не требовалось.

Через 3 месяца оценивали клинические характеристики рубца и формировали две исследуемых подгруппы: с положительным (2а) и отрицательным (2б) результатом лазерного лечения. Сформированные подгруппы сопоставимы по численности (по 15 человек), возрасту пациенток ($p=0,6$) и давности образования рубца ($p=0,7$). В исследуемых подгруппах проведен ретроспективный анализ изучаемых показателей крови в сравнении с контрольной группой.

Статистический анализ данных проведен с помощью пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft inc., США, 2010). Соответствие группирования подтверждалось дискриминантным анализом по значению Лямбда-критерия Уилкса (0 — абсолютно точная классификация, 1 — абсолютно ошибочная). Тип распределения вариант оценивался по критерию Шапиро–Уилка. Результаты представлены медианой с интерквартильным размахом Me (25%; 75%). Отличие признаков определялось с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни и считалось статистически значимым при $p<0,05$. Для определения соответствия группирования и выявления наиболее информативных показателей, отличающих исследуемые подгруппы, использовался дискриминантный анализ. Ассоциация признаков выявлялась с помощью регрессионного анализа и оценивалась как высокая при коэффициенте детерминации $R^2>0,7$.

Результаты

Оценка клинических характеристик келоидов через 3 месяца после их лазерного лечения показала положительный и отрицательный результаты лечения, что легло в основу формирования двух исследуемых подгрупп (таблица 1, соответствие группирования 80%, Лямбда Уилкса 0,037, $p<0,001$).

Таблица 1
Клинические параметры нормотрофических и келоидных рубцов

Индикаторы (баллы) / Группы	Контроль 1 группа	Келоидные рубцы (2 группа)					
		Подгруппа 2а (положительный результат лечения)			Подгруппа 2б (отрицательный результат лечения)		
		До лечения	Через 3 мес. после лечения		До лечения	Через 3 мес. после лечения	
Васкуляризация	0 (0;0)	2 (1;2)	2 (2; 2)	$p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,031$	2 (1;2)	3 (3; 3)	$p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,003$
Пигментация	1 (1; 1)	1 (1; 2)	0 (0; 0)	$p_1 = 0,003$ $p_2 < 0,001$	1 (1; 2)	0 (0; 1)	$p_1 = \text{H/c}$ $p_2 = 0,007$
Плотность	1 (1; 1)	3 (2; 4)	2 (2; 2)	$p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	3 (3; 4)	3 (3; 4)	$p_1 < 0,001$ $p_2 = \text{H/c}$
Высота	0 (0; 0)	2 (2; 2)	1 (1; 1)	$p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	2 (2; 2)	2,5 (2; 3)	$p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,01$
Зуд	0 (0, 0)	2 (1; 2)	1 (1; 1)	$p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	2 (1; 2)	2 (2; 3)	$p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,001$
ОПР*	2 (2, 2)	10 (9; 11)	5 (5; 7)	$p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	10 (9;11)	12 (10;13)	$p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,03$
h_{mm}^{**}	0 (0, 0)	3 (2; 4)	1 (1;2)	$p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	3 (3; 4)	4,5 (3; 5)	$p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,03$

* — общий показатель рубца, ** — высота, мм.

Результаты представлены медианой с нижним и верхним квартилями — *Me* (LQ, UQ). *p*-уровень показывает отличие (по критерию Манна–Уитни) изучаемых параметров рубца после лечения в данной подгруппе: p_1 — от контрольной группы, p_2 — от параметров до лечения.

$p = \text{H/c}$ — отсутствие статистической значимости.

Положительный результат лечения (подгруппа 2а) выразался в уменьшении зуда, пигментации, плотности и высоты рубца. Отрицательный результат лечения (подгруппа 2б) характеризовался сохранением всех признаков келоидного рубца и даже увеличением его высоты. Следует отметить, что до лечения клинические параметры келоидных рубцов у пациенток выделенных подгрупп не имели статистически значимых отличий ($p > 0,05$).

Ретроспективный анализ состава крови выявил, что подгруппы 2а и 2б имеют разные кластеры показателей, отличающихся статистически значимо от контрольных значений (таблица 2).

В частности, в подгруппе 2а изменены лишь 4 показателя: снижен уровень кортизола, повышены уровни TNF- α , IL10 и количество сегментоядерных (СЯ) нейтрофилов. В подгруппе 2б изменены 7 показателей: повышены концентрации СТГ и TNF- α , снижен уровень пролактина, ЛГ, кортизола, эстрадиола и IL10.

Парный дискриминантный анализ (таблица 3) установил, что наиболее информативным показателем для обеих подгрупп является сниженный уровень кортизола. Меньшую значимость имеет для подгруппы 2а повышенное количество СЯ-нейтрофилов, для подгруппы 2б — повышенный уровень СТГ и TNF- α .

Таблица 2
Измененные показатели крови у пациенток с положительным и отрицательным результатом лазерного лечения келоидных рубцов

Показатели крови / Группы	Контроль		Подгруппы с положительным и отрицательным результатом лазерного лечения келоидов		p (Манна–Уитни)
	1	2а	2б		
Общий анализ крови					
СЯ-нейтрофилы*, $\times 10^9$ /л	2,9 (2,3; 3,3)	3,5 (2,9; 3,8)	3,4 (2,9; 3,9)		$p_{1-2a} = 0,04$ $p_{1-2б} = \text{H/c}$
Гормональный профиль					
Пролактин, мМЕ/мл	392,4 (260,6; 476)	338,4 (268,1; 426,3)	290,3 (230,2; 361)		$p_{1-2a} = \text{H/c}$ $p_{1-2б} = 0,04$
ЛГ, мМЕ/мл	4,7 (3,1; 6,03)	3,6 (2,4; 3,8)	2,6 (2,2; 3,4)		$p_{1-2a} = \text{H/c}$ $p_{1-2б} = 0,002$
СТГ, нг/мл	0,8 (0,4; 1,4)	0,8 (0,2; 1,65)	5,8 (1,5; 8,1)		$p_{1-2a} = \text{H/c}$ $p_{1-2б} < 0,001$
Кортизол, нмоль/л	543,8 (433; 661,1)	340 (254,9; 390)	287,3 (222,5; 367,4)		$p_{1-2a} = 0,003$ $p_{1-2б} < 0,001$
Эстрадиол нмоль/л	0,33 (0,26; 0,47)	0,34 (0,24; 0,41)	0,26 (0,20; 0,29)		$p_{1-2a} = \text{H/c}$ $p_{1-2б} = 0,05$
Иммунологический профиль					
TNF- α , пг/мл	2,3 (1,5; 2,6)	3 (2,8; 3,5)	3,6 (3; 4,1)		$p_{1-2a} = 0,02$ $p_{1-2б} = 0,002$
IL10, пг/мл	4,4 (0,01; 7,1)	8,7 (5,9; 10,3)	0,01 (0,01; 0,7)		$p_{1-2a} = 0,03$ $p_{1-2б} = 0,04$

* СЯ-нейтрофилы — сегментоядерные нейтрофилы.

Результаты представлены медианой с нижним и верхним квартилями — Me (LQ, UQ).

p-уровень показывает отличие изучаемых показателей крови у пациентов исследуемых подгрупп (2а и 2б) до лечения рубцов от контрольной группы (1). p=H/c — отсутствие статистической значимости.

Таблица 3
Результат дискриминантного анализа между контрольной группой и исследуемыми подгруппами

Группы 1 и 2а (Лямбда Уилкса 0,6, $p < 0,001$; соответствие группирования 80%)			Группы 1 и 2б (Лямбда Уилкса 0,36, $p < 0,00$, соответствие группирования 93,3%)		
Показатели крови	F-критерий Фишера	p-уровень	Показатели крови	F-критерий Фишера	p-уровень
Кортизол	12,4	0,002	Кортизол	13,5	0,001
СЯ-нейтрофилы	4,8	0,04	СТГ	6,9	0,014
			TNF- α	3,9	0,05

Регрессионный анализ выявил ассоциацию между клинической характеристикой рубцов до их лазерного лечения и показателями крови, которая отражена в уравнениях множественной регрессии для каждой исследуемой подгруппы:

(1.1) ОПР (2а) = +3,1 СЯ нейтрофилы – 0,009 Кортизол ($R^2 = 0,78$, $p < 0,001$).

(1.2) h_{mm} (2а) = +0,8 TNF- α + 0,1IL10 – 0,003 Кортизол ($R^2 = 0,74$, $p < 0,001$).

(2.1) ОПР (2б) = +1,3 TNF- α + 0,4 СТГ ($R^2 = 0,82$, $p < 0,001$).

(2.2) h_{mm} (2б) = +0,2 СТГ + 0,3 TNF- α ($R^2 = 0,76$, $p < 0,001$)

Согласно этим уравнениям, в подгруппе 2а оба зависимых показателя — высота рубца в мм (h_{mm})

и ОНР — сопряжены обратной корреляцией с концентрацией в крови кортизола, но при этом ОНР проявляет прямую зависимость от количества в крови СЯ-нейтрофилов (уравнение 1.1), а h_{mm} — от концентрации TNF- α и IL10 (уравнение 1.2). В подгруппе 2б ОНР и h_{mm} обнаружили прямую корреляцию с концентрацией TNF- α и СТГ.

Полученные результаты демонстрируют различия в составе кластеров измененных показателей крови при келоидных рубцах, которые ассоциированы с разной эффективностью лазерного лечения этих рубцов.

Обсуждение

Анализ литературы дает основание полагать, что выявленные изменения в составе крови, которые отличаются при положительном или отрицательном результате лазерного лечения келоидных рубцов, являются эпигенетическими факторами келоидогенеза. Обсуждая с этих позиций выявленные у пациенток обеих исследуемых подгрупп, но более выраженные в подгруппе 2б, снижение кортизола и повышение TNF- α , следует учесть их известные эффекты. Кортизол обеспечивает адаптационные возможности организма, подавляет воспаление, пролиферацию клеток и фиброз [12, 13], следовательно, его низкая концентрация в крови может проявиться ослаблением этих эффектов, что создает условия для келоидогенеза. Дискриминантный анализ подтвердил важнейшее значение снижения уровня кортизола у всех пациенток с келоидами (таблица 3). Вместе с тем, ассоциация уровня кортизола с клиническими показателями рубца (обратная взаимосвязь — уравнения регрессии 1.1, 1.2) найдена только в подгруппе 2а. Возможно, положительный результат лазерного лечения келоидов в этой подгруппе связан с тем, что организм сохраняет способность отвечать на множественные лазерные перфорации рубца адекватной адаптационной реакцией. В подгруппе 2б уровень кортизола снижен в большей степени и сочетается со сниженным уровнем пролактина (таблица 2), который также участвует в реакции адаптации, противодействуя иммуносупрессивным эффектам TGF- β , TNF- α и глюкокортикоидов [14]. Тем не менее, регрессионный анализ не выявил в этой подгруппе взаимосвязи клинических показателей рубца с уровнем кортизола, что говорит о наличии других факторов, способствующих келоидогенезу и препятствующих успешному лазерному лечению келоидов.

Повышенный уровень провоспалительного цитокина TNF- α также может оказывать на процесс рубцевания патогенное влияние. Известно, что он активирует в фибробластах сигнальный путь NF- κ B (ядерный фактор транскрипции) и его гены-мишени, особенно антиапоптотические гены, провоцирующие дисплазию рубцовой ткани [15].

У пациенток подгруппы 2а повышение уровня TNF- α , по-видимому, не имеет решающего значения для келоидогенеза, так как дискриминантный анализ не выявил информационной значимости этого показателя, а регрессионный анализ определил его прямую корреляцию лишь с высотой рубца (уравнение 1.2). Кроме того, особенностью крови пациенток подгруппы 2а является повышенная концентрация IL10, которая прямо коррелирует с h_{mm} рубца (уравнение 1.2). По данным литературы [16], этот цитокин участвует в подавлении пролиферации фибробластов и синтеза коллагена, а также в индукции ферментов, разрушающих коллаген. Вероятно, IL10 можно считать антагонистом TNF- α , так как этот цитокин способен ингибировать ключевой регулятор воспаления и стимуляции апоптоза — сигнальный путь NF- κ B в фибробластах [17]. Следовательно, повышенную концентрацию в крови IL10 можно рассматривать как компенсаторную реакцию организма, направленную на ограничение патогенного влияния TNF- α . Особого внимания заслуживает увеличенное количество СЯ-нейтрофилов в крови пациенток подгруппы 2а. Информативное значение этого показателя выделено дискриминантным анализом, а регрессионный анализ выявил его прямую корреляцию с ОНР (уравнение 1.1). Увеличенное количество в крови этих клеток является указанием на сохранение активности лейкоцитарного звена воспаления, что может замедлять созревание рубцовой ткани [16] и таким образом способствовать келоидогенезу. С другой стороны, при лазерном лечении с помощью перфораций рубцовой ткани увеличенное количество СЯ-нейтрофилов в крови способно обеспечить, по-видимому, оптимальный медиаторный каскад воспаления в рубце, что, в конечном итоге, ведет к улучшению клинических характеристик рубца. Из сказанного следует, что увеличенное количество в крови СЯ-нейтрофилов и высокий уровень IL-10 можно трактовать как сохранение механизмов реактивности организма, которые способны

оптимизировать воспалительный процесс, вызванный лазерными перфорациями рубцовой ткани, что может обеспечивать успешный исход лечения келоида.

При отрицательном результате лазерного лечения келоидов (подгруппа 2б) регрессионный анализ не обнаружил взаимосвязи клинических характеристик рубца с низкой концентрацией кортизола в крови (уравнения 1.1 и 1.2), несмотря на высокое информативное значение уровня этого гормона для лиц с келоидами (таблица 3). Можно предположить, что в этой подгруппе отсутствие реакции на множественные лазерные перфорации рубцовой ткани обусловлено не только снижением адаптационной способности организма (о чем свидетельствует низкий системный уровень кортизола), но и влиянием других системных факторов, препятствующих изменению характера воспаления и способствующих стабилизации келоидогенеза. Так, в подгруппе 2б (в отличие от подгруппы 2а) дискриминантный анализ выделил информационную значимость повышенных концентраций в крови TNF- α и СТГ (таблица 3), а регрессионный анализ (уравнения 2.1 и 2.2) обнаружил прямую ассоциацию этих показателей с клиническими характеристиками келоидных рубцов (ОПР и h_{mm}).

Обсуждая патогенное влияние на рубцевание провоспалительного цитокина TNF- α , необходимо учесть, что его концентрация в подгруппе 2б в 1,5 раза превышала контрольное значение. Следовательно, активирующее влияние TNF- α на сигнальный путь NF- κ B [15] может быть существенно усилено при отсутствии (или ослаблении) антагонистического действия противовоспалительного цитокина IL10 [17, 18], дефицит которого выявлен нами у пациенток подгруппы 2б (таблица 2).

Роль СТГ в патологическом рубцевании тоже не вызывает сомнений, так как известно, что действие СТГ опосредуется инсулиноподобным фактором роста и проявляется активацией коллагеногенеза и пролиферации фибробластов [19]. Концентрация СТГ в крови пациенток подгруппы 2б повышена семикратно, что не может остаться без ответной компенсаторной реакции эндокринной системы. В качестве такой реакции, на наш взгляд, можно рассматривать низкое содержание в крови эстрадиола (в фолликулярную фазу!), обнаруженное нами в этой подгруппе. Известно, что эстрогены ускоряют заживление ран с помощью перекрестного взаимодействия с инсулиноподобным фактором роста и стимуляции производства факторов роста в фибробластах (фактор роста фибробластов и трансформирующий фактор роста), макрофагах (фактор роста нервов) и кератиноцитах (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор) [20]. Логично полагать, что при низкой концентрации эстрогенов в крови перечисленные эффекты ослабляются, что может способствовать сдерживанию избыточных эффектов СТГ.

И наконец, у пациенток подгруппы 2б почти вдвое снижена концентрация ЛГ ($p=0,02$). Этот гормон не фигурирует в результатах дискриминантного и регрессионного анализа, но снижение его уровня тоже может способствовать формированию келоидных рубцов. Известно, что ЛГ стимулирует продукцию эйкозаноидов, простагландинов, матриксных металлопротеаз [21], повышающих проницаемость сосудов, активность протеолиза и разрыхление соединительной ткани. Следовательно, ослабление этих эффектов при низкой концентрации ЛГ в крови может привести к обезвоживанию и уплотнению рубцовой ткани, что характерно для келоидов.

Полученные результаты, в совокупности с представленными данными литературы, дают основание предположить, что повышенная концентрация в крови TNF- α и СТГ в сочетании с низким уровнем IL10, кортизола, пролактина и ЛГ способствует келоидогенезу и объясняет стабильность келоидного рубца после лазерного лечения.

Следует отметить, что представленные данные не дают основания для утверждения об универсальности выявленных изменений в реактивности организма, так как исследование ограничено пациентами только женского пола, условиями лишь одного способа лечения и малым размером выборки. Тем не менее, результаты исследования свидетельствуют, что у пациенток с келоидами сформированы разные кластеры измененных гуморальных системных факторов, которые могут либо способствовать, либо препятствовать успешности лазерного лечения келоидных рубцов. Выявление подобных кластеров системных факторов для каждого конкретного метода лечения келоидов открывает возможность обнаружения биомаркеров, позволяющих прогнозировать для каждого пациента положительный или отрицательный результат данного способа лечения. По сути, результаты проведенного исследования демонстрируют один из возможных подходов к разработке таргетной терапии келоидов.

Заключение

С учетом важности проблемы лечения келоидных рубцов нами получены данные, свидетельствующие о том, что у лиц с келоидами изменения сывороточных уровней системных факторов неодинаковы, обеспечиваются различным содержанием в крови гормонов, цитокинов и лейкоцитов и ассоциированы с разной эффективностью лазерного лечения келоидных рубцов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gauglitz G.G., Korting H.C., Pavicic T., Ruzicka T., Jeschke M.G. Hypertrophic scarring and keloids: pathomechanisms and current and emerging treatment strategies. *Mol. Med.* 2011; 17 (1-2): 113–125. Doi: 10.2119/molmed.2009.00153
2. Shih B., Garside E., Mc Grouther D.A., Bayat A. Molecular dissection of abnormal wound healing processes resulting in keloid disease. *Wound Repair Regen.* 2010; 18 (2): 139-153. Doi: 10.1111/j.1524-475X.2009.00553.x.
3. Tsai C-H., Ogawa R. Keloid research: current status and future directions. *Scars. Burn. Heal.* 2019; 5: art. 2059513119868659. Doi: 10.1177/2059513119868659
4. Glass D.A. Current Understanding of the Genetic Causes of Keloid Formation? *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* 2017; 18(2): 50-53. Doi: 10.1016/j.jisp.2016.10.024.
5. Messias de Lima C.F., de Araújo Vieira L.F., de Carvalho Wanderley L.A., de Souza Ferro J.N., Smaniotto S. Topical Growth Hormone Accelerates Wound Healing in Mice. *Wounds.* 2017; 29(12): 387-392.
6. Xue X., Falcon D.M. The Role of Immune Cells and Cytokines in Intestinal Wound Healing. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 320(23): 6097. Doi: 10.3390/ijms20236097.
7. Шафранов В.В., Борхунова Е.Н., Таганов А.В., Короткий Н.Г., Виссарионов В.А., Стенько А.Г./ Келоидные рубцы: этиология, клиническая, морфологическая, физикальная диагностика и лечение СВЧ – криогенным методом: Руководство для врачей – М., 2003, с. 192.
8. Zhang G.Y., Wu L.C., Liao T., et al. Altered circulating endothelial progenitor cells in patients with keloid. *Clin Exp Dermatol.* 2016; 41: 152-155. Doi: 10.1111/ced.12695.
9. Mogili N.S., Krishnaswamy V.R., Jayaraman M., Rajaram R., Venkatraman A., Korrapati P.S. Altered angiogenic balance in keloids: a key to therapeutic intervention. *Transl Res.* 2012; 159: 182-189. Doi: 10.1016/j.trsl.2011.10.002.
10. Khattab F.M, Samir M.A. Correlation between serum IL 37 levels with keloid severity. *J Cosmet Dermatol.* 2020; 19(9): 2428-2431. Doi: 10.1111/jocd.13290.
11. Шафранов В.В., Таганов А.В., Бархунова Е.Н., Гераськин А.В. Использование Ванкуверской шкалы для оценки эффективности лечения пациентов с келоидными рубцами методом СВЧ-деструкции // *Детская хирургия.* 2009; 5: 29–32
12. Cruz-Topete D., Cidlowski J.A. One hormone, two actions: anti- and pro-inflammatory effects of glucocorticoids. *Neuroimmunomodulation.* 2015; 22(1–2): 20–32. Doi: 10.1159/000362724
13. Slominski A.T., Zmijewski M.A. Glucocorticoids Inhibit Wound Healing: Novel Mechanism of Action. *J. Invest. Dermatol.* 2017; 137(5): 1012-1014. Doi: 10.1016/j.jid.2017.01.024.
14. Levine S., Muneuyirci-Delale O. Stress-Induced Hyperprolactinemia: Pathophysiology and Clinical Approach. *Obstet Gynecol Int.* 2018; art. 9253083. Doi: 10.1155/2018/9253083.
15. Li Q, Cheng F, Zhou K, Fang L, Wu J, Xia Q, Cen Y, Chen J, Qing Y. Increased sensitivity to TNF-alpha promotes keloid fibroblast hyperproliferation by activating the NF-kappa B, JNK and p38 MAPK pathways. *Exp. Ther. Med.* 2021; 21(5): 502. Doi:10.3892/etm.2021.9933.
16. Wang P.H., Huang B.S., Horng H.C., Yeh C.C., Chen Y. J. Wound healing. *J. Chin. Med. Assoc.* 2018; 81: 94–101. Doi:10.1016/j.jcma.2017.11.002.
17. Shi C-K., Zhao Y-P., Ge P., Huang G-B. Therapeutic effect of interleukin-10 in keloid fibroblasts by suppression of TGF-β/Smad pathway. *Eur Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2019; 23(20): 9085-9092. Doi: 10.26355/eurrev 201910 19311.
18. Ghazawi F.M., Zargham R., Gilardino M. S., Sasseville D., Jafarian F. Insights into the Pathophysiology of Hypertrophic Scars and Keloids: How Do They Differ? *Advances in Skin & Wound Care.* 2018; 31(1): 582-595. Doi: 10.1097/01.ASW.0000527576.27489.
19. Hu Z.C., Tang B., Guo D., Zhang J., Liang Y.Y., Ma D., Zhu J.Y. Expression of insulin-like growth

factor-1 receptor in keloid and hypertrophic scar. Clin. Exp. Dermatol. 2014; 39(7): 822–828. Doi: 10.1111/ced.12407.

20. Kanda N., Watanabe S. Regulatory roles of sex hormones in cutaneous biology and immunology. J. Dermatol. Sci. 2005; 38(1): 1-7. Doi: 10.1016/j.jdermsci.2004.10.011.

21. Duffy D. M., Ko C.M., Jo M., Brannstrom M., Curry T. E. Ovulation: Parallels With Inflammatory Processes. Endocr. Rev. 2019; 40(2): 369–416. Doi: 10.1210/er.2018-00075.

Авторы

Васильева Людмила Сергеевна

Доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, цитологии, эмбриологии.

lsvirk@mail.ru

ORCID 0000-0003-3495-1560

Кобец Максим Владимирович

Аспирант кафедры патологической физиологии

kobetsmv@gmail.com

ORCID 0000-0002-7759-1078

ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России
664003 Российская Федерация, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1

L.S. Vasilieva, M.V. Kobets

ASSOCIATION OF BLOOD COMPOSITION OF HORMONES, CYTOKINES AND LEUKOCYTES WITH LASER TREATMENT OUTCOMES OF KELOID SCARS

Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. One of the topical aspects of the problem of keloid treatment is the lack information about biomarkers that can predict the success of the treatment of this pathology. *The aim* of the work is to identify the association of changed levels of hormones, cytokines and the number of leukocytes in the blood with the laser treatment result of keloid scars. *Materials and methods.* Hormonal, cytokine and leukocyte blood composition was studied in 45 women: 30 with keloid scars, 15 with normotrophic scars (control). Blood was taken before treatment on the 5th–7th day of the menstrual cycle. Keloids were treated with multiple laser perforations of the scar tissue. Clinical characteristics of keloid scars were assessed using the Vancouver scale before treatment and after 3 months. According to the result of treatment, two subgroups were formed: with positive dynamics of keloids and with no result of treatment. Data analysis was carried out using non-parametric statistics, the level of statistical significance was $p < 0.05$. *Results and discussion.* In all patients with keloids, the blood level of cortisol is reduced, and tumor necrosis factor-alpha is increased, which promotes to the proliferation of fibroblasts with inhibition of apoptosis. In addition, in the subgroup with a positive result of treatment, the number of segmented neutrophils and the level of anti-inflammatory interleukin-10 were increased. Discriminant analysis confirmed the high informational significance of these indicators. In patients with no result of keloid treatment, the level of a growth hormone is sevenfold increased, the concentration of luteinizing hormone, prolactin, interleukin-10 are reduced. That can lead to a weakening of anti-inflammatory effects and stimulation of fibrosis. Discriminant analysis highlighted the high informational significance of cortisol, growth hormone and tumor necrosis factor-alpha. Regression analysis established the association of detected changes in blood composition with clinical parameters of keloids in each subgroup. *Conclusion.* The revealed differences in the blood composition in patients with keloid scars are associated with a positive or negative result of laser treatment of keloids.

Keywords: keloid scars, systemic factors, keloidogenesis

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Maksim V. Kobets

kobetsmv@gmail.com

Received 05.04.2022

For citation:

Vasilieva L.S., Kobets M.V. Association of blood composition of hormones, cytokines and leukocytes with laser treatment outcomes of keloid scars. *Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science*. 2022, Vol. 19, no. 2, pp. 71–81. DOI: 10.22138/2500-0918-2022-19-2-71-81 (In Russ)

REFERENCES

1. Gauglitz G.G., Korting H.C., Pavicic T., Ruzicka T., Jeschke M.G. Hypertrophic scarring and keloids: pathomechanisms and current and emerging treatment strategies. *Mol. Med.* 2011; 17 (1-2): 113–125. Doi: 10.2119/molmed.2009.00153
2. Shih B., Garside E., Mc Grouther D.A., Bayat A. Molecular dissection of abnormal wound healing processes resulting in keloid disease. *Wound Repair Regen.* 2010; 18 (2): 139-153. Doi: 10.1111/j.1524-475X.2009.00553.x.
3. Tsai C-H., Ogawa R. Keloid research: current status and future directions. *Scars. Burn. Heal.* 2019; 5: art. 2059513119868659. Doi: 10.1177/2059513119868659
4. Glass D.A. Current Understanding of the Genetic Causes of Keloid Formation? *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* 2017; 18(2): 50-53. Doi: 10.1016/j.jisp.2016.10.024.
5. Messias de Lima C.F., de Araújo Vieira L.F., de Carvalho Wanderley L.A., de Souza Ferro J.N., Smaniotto S. Topical Growth Hormone Accelerates Wound Healing in Mice. *Wounds.* 2017; 29(12): 387-392.
6. Xue X., Falcon D.M. The Role of Immune Cells and Cytokines in Intestinal Wound Healing. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 320(23): 6097. Doi: 10.3390/ijms20236097.
7. Shafranov V.V., Borkhunova E.N., Taganov A.V., Korotkiy N.G., Vissarionov V.A., Stenko A.G. Keloid scars: etiology, clinical, morphological, physical diagnosis and microwave treatment - cryogenic method. Moscow: 2003. (in Russian)
8. Zhang G.Y, Wu L.C, Liao T, et al. Altered circulating endothelial progenitor cells in patients with keloid. *Clin Exp Dermatol.* 2016; 41: 152-155. Doi: 10.1111/ced.12695.
9. Mogili N.S., Krishnaswamy V.R., Jayaraman M., Rajaram R., Venkatraman A., Korrapati P.S. Altered angiogenic balance in keloids: a key to therapeutic intervention. *Transl Res.* 2012; 159: 182-189. Doi: 10.1016/j.trsl.2011.10.002.
10. Khattab F.M., Samir M.A. Correlation between serum IL 37 levels with keloid severity. *J Cosmet Dermatol.* 2020; 19(9): 2428-2431. Doi: 10.1111/jocd.13290.
11. Shafranov V.V., Taganov A.V., Barkhunova E.N., Geraskin A.V. The use of the Vancouver scale for assessing the effectiveness of treatment of patients with keloid scars by microwave destruction. *Russian Journal of Pediatric Surgery.* 2009; 5: 29–32 (in Russian).
12. Cruz-Topete D., Cidlowski J.A. One hormone, two actions: anti- and pro-inflammatory effects of glucocorticoids. *Neuroimmunomodulation.* 2015; 22(1–2): 20–32. Doi: 10.1159/000362724.
13. Slominski A.T., Zmijewski M.A. Glucocorticoids Inhibit Wound Healing: Novel Mechanism of Action. *J. Invest. Dermatol.* 2017; 137(5): 1012-1014. Doi: 10.1016/j.jid.2017.01.024.
14. Levine S., Muneyyirci-Delale O. Stress-Induced Hyperprolactinemia: Pathophysiology and Clinical Approach. *Obstet Gynecol Int.* 2018; art. 9253083. Doi: 10.1155/2018/9253083.
15. Li Q., Cheng F., Zhou K., Fang L., Wu J., Xia Q., Cen Y., Chen J., Qing Y. Increased sensitivity to TNF-alpha promotes keloid fibroblast hyperproliferation by activating the NF-kappa B, JNK and p38 MAPK pathways. *Exp. Ther. Med.* 2021; 21(5): 502. Doi:10.3892/etm.2021.9933.
16. Wang P.H., Huang B.S., Horng H.C., Yeh C.C., Chen Y. J. Wound healing. *J. Chin. Med. Assoc.* 2018; 81: 94–101. Doi:10.1016/j.jcma.2017.11.002.
17. Shi C-K., Zhao Y-P., Ge P., Huang G-B. Therapeutic effect of interleukin-10 in keloid fibroblasts

by suppression of TGF- β /Smad pathway. *Eur Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2019; 23(20): 9085-9092. Doi: 10.26355/eurrev 201910 19311.

18. Ghazawi F. M., Zargham R., Gilardino M. S., Sasseville D., Jafarian F. Insights into the Pathophysiology of Hypertrophic Scars and Keloids: How Do They Differ? *Advances in Skin & Wound Care.* 2018; 31(1): 582-595. Doi: 10.1097/01.ASW.0000527576.27489

19. Hu Z.C., Tang B., Guo D., Zhang J., Liang Y.Y., Ma D., Zhu J.Y. Expression of insulin-like growth factor-1 receptor in keloid and hypertrophic scar. *Clin. Exp. Dermatol.* 2014; 39(7): 822–828. Doi: 10.1111/ced.12407.

20. Kanda N., Watanabe S. Regulatory roles of sex hormones in cutaneous biology and immunology. *J. Dermatol. Sci.* 2005; 38(1): 1-7. Doi: 10.1016/j.jdermsci.2004.10.011

21. Duffy D. M., Ko C.M., Jo M., Brannstrom M., Curry T. E. Ovulation: Parallels With Inflammatory Processes. *Endocr. Rev.* 2019; 40(2): 369–416. Doi: 10.1210/er.2018-00075.

Authors

Lyudmila S. Vasilieva

DB, Professor, Head Department of Histology, Embryology, Cytology

lsvirk@mail.ru

ORCID 0000-0003-3495-1560

Maksim V. Kobets

Graduate student of the Department of Pathological Physiology

kobetsmv@gmail.com

ORCID 0000-0002-7759 1078

Irkutsk State Medical University

1 Krasnogo Vosstaniya st., Irkutsk, 664003, Russian Federation