

**Жукова Н.В., Зайцева О.В., Жуков В.И., Книгавко В.Г.,**

**Гордиенко Н.А., Бондаренко М.А.**

*Харьковский национальный медицинский университет, Харьков, Украина*

## **Исследование кооперативного взаимодействия клеточного и гуморального иммунитета у больных генерализованной формой псориаза**

В научном мире появились работы, свидетельствующие об аутоиммунной природе псориаза с первичным участием в процессе Т-лимфоцитов и вторичной активацией и пролиферацией кератиноцитов [1-3]. Известно, что активация Т-лимфоцитов индуцирует целый каскад иммунологических реакций и переключение звеньев гуморального иммунитета, в т.ч. активацию макрофагов, синтезирующих широкий спектр противовоспалительных медиаторов – цитокинов, фактора некроза опухолей (ФНО- $\alpha$ ), интерлейкинов и др. [4-7].

**Целью** работы явилось изучение кооперативного взаимодействия клеточного и гуморального иммунитета у больных генерализованной формой псориаза и его патогенетическая коррекция.

**Материалы и методы исследования.** Под наблюдением находилось 37 женщин больных генерализованной формой псориаза в стадии обострения заболевания, в возрасте от 20 до 40 лет. Группа сравнения состояла из 10 практически здоровых женщин аналогичного возраста. Программа исследований предусматривала изучение клеточного и гуморального иммунитета, системы цитокиновой регуляции иммунного гомеостаза и свободнорадикальных процессов.

Определение регуляторных цитокинов, таких как интерлейкины – ИЛ1 $\beta$ , ИЛ2, ИЛ4, ИЛ6 и фактора некроза опухолей ФНО- $\alpha$ , в сыворотке крови осуществлялось с помощью твердофазного иммуноферментного анализа с

использованием диагностической тест-системы фирмы «Протеиновый контур» (С.-Петербург, Россия).

Определение регуляторного цитокина ИЛ8 проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с применением тест-системы фирмы Diaclone, Франция. Исследование общей популяции Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>), субпопуляций Т-лимфоцитов, Т-хелперов (CD4), Т-супрессоров (CD8) и В-лимфоцитов (CD19) осуществлялось с использованием моноклональных антител (CD3<sup>+</sup>, CD4, CD8, CD19) иммунофлуоресцентным методом.

Иммуноглобулины IgA и IgM в сыворотке крови исследовались методом иммуноферментного анализа по прилагаемым инструкциям на иммуноферментном полианализаторе.

Все исследования проводились дважды: при поступлении больных в стационар на стадии обострения заболевания и после проведенной патогенетической терапии. Результаты экспериментов обработаны методами вариационной статистики с оценкой достоверности различий по t-критерию Стьюдента-Фишера.

**Результаты исследования и их обсуждение.** В табл.1 представлены результаты иммунологического статуса больных с генерализованной формой псориаза в период обострения процесса до и после лечения. Как видим, концентрации исследуемых регуляторных цитокинов ИЛ1 $\beta$ , ИЛ2, ИЛ4, ИЛ6, ИЛ8; лимфоцитов CD3<sup>+</sup>, CD4, CD8, CD19 и иммуноглобулинов IgM, IgA в сыворотке крови больных были достоверно выше показателей контрольной группы.

Обращает на себя внимание факт увеличения концентрации ИЛ1 $\beta$  (37,4 $\pm$ 2,56\* пкг/мл) у больных псориазом при поступлении в стационар сравнительно с группой условно-здоровых пациентов (28,9 $\pm$ 1,84 пкг/мл). Известно, что регуляторный цитокин ИЛ1 $\beta$  усиливает регенерацию ткани, продукцию простагландинов и фактора некроза опухолей (ФНО- $\alpha$ ) макрофагами, моноцитами, гистиоцитами, Т-лимфоцитами.

Таблица 1

Иммунологические показатели больных с генерализованной формой псориаза в период обострения процесса до и после лечения сравнительно с контрольной группой (M±m)

Показатели (пкг/мл)	Группа больных псориазом (n=37)		Группа сравнения (n=10)
	До лечения	После лечения	
ФНО-α	625,8±14,7*	243,4±9,8*	56,2±2,17
ИЛ 1β	37,4±2,56*	31,5±2,16*	28,9±1,84
ИЛ 2	43,9±2,75*	36,2±1,75*	22,7±1,6
ИЛ 4	56,2±4,23*	43,7±1,96*	33,5±2,17
ИЛ 6	62,5±3,86*	30,2±2,3*	17,6±1,45
ИЛ 8	54,7±4,12*	42,5±3,2*	34,8±2,56
Ig A	72,6±4,3*	48,7±2,3*	38,3±5,24
Ig M	65,8±6,12*	37,4±2,5*	26,4±3,15
Т-лимфоциты-CD3 <sup>+</sup>	2456,3±54,8*	1287,4±35,2*	870,4±20,3
Т-хелперы-CD4	782,6±18,4*	532,9±24,6*	325,6±17,2
Т-супрессоры-CD8	897,4±23,6*	368,7±16,5*	284,7±18,6
В-лимфоциты-CD19	673,8±27,5*	466,2±14,3*	232,3±20,7

Примечание: \*-p<0,05 – достоверно относительно группы сравнения

У всех больных в стадии обострения содержание ИЛ 2, потенцирующего цитотоксическую активность Т-клеток, моноцитов и макрофагов (повышающих синтез и секрецию ФНО-α, ИЛ1β, ИЛ6), было повышено почти в 2 раза по сравнению с контролем. Значительное увеличение в сыворотке крови концентрации ИЛ4, ИЛ6 сопровождалось активацией клеточного и гуморального иммунитета. Названные цитокины играют важную роль в пролиферации и дифференцировке Т- и В-лимфоцитов, переключении синтеза

антител с одного класса на другой. Усиление цитокинпродуцирующей способности мононуклеаров подтверждалось существенным ростом концентрации ИЛ1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ6, ИЛ2 и ИЛ8 ( $p < 0,05$ ) и свидетельствует об активации клеточного звена иммунитета и повышении межклеточных медиаторных взаимодействий.

Увеличение уровня ИЛ 4 может быть связано с антигенной стимуляцией активности Т-лимфоцитов, макрофагов, тучных клеток, базофилов, В-лимфоцитов, стромальных клеток, которая особенно наблюдается в период обострения болезни. Этот цитокин индуцирует дифференцировку CD4 Т-лимфоцитов в Т-хелперы второго типа (ТН<sub>2</sub>) и подавляет развитие Т-хелперов первого типа (ТН<sub>1</sub>). Исследования показывают, что у больных генерализованной формой псориаза активируется как гуморальное, так и клеточное звено иммунной системы. Стимулирующее влияние ТН<sub>2</sub> на пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов подтверждалось увеличением содержания В-лимфоцитов (CD19). Анализ обнаружил, что кроме макрофагов, базофилов, В-лимфоцитов, тучных клеток, антигенной стимуляции при псориазе подвергаются также моноциты, фибробласты, клетки эндотелия, гепатоциты, нейроны, астроциты, которые являются продуцентами ИЛ6. Этот цитокин индуцирует дифференцировку клеток-предшественников, стимулирует созревание мегакариоцитов и продукцию тромбоцитов, способствует росту и дифференцировке Т- и В-лимфоцитов, усиливает продукцию острофазных белков гепатоцитами и является эндогенным пирогеном [4, 6].

Исследования обнаружили увеличение в крови больных генерализованной формой псориаза содержания ИЛ6, ИЛ8 сравнительно с группой условно-здоровых пациентов ( $p < 0,05$ ). Цитокины ИЛ6, ИЛ8, продуцируемые мононуклеарными фагоцитами (моноциты периферической крови, тканевые макрофаги соединительной ткани, печени, альвеолярные макрофаги легких, свободные и фиксированные макрофаги селезенки и лимфатических узлов, макрофаги серозных полостей, клетки микроглии ЦНС, остеокласты костной ткани), способны оказывать активирующее действие на Т-

хелперы (CD4), Т-цитотоксические клетки (CD8), В-лимфоциты. Этот механизм индукции, возможно, является одним из основных в активации клеточного и гуморального звена иммунной системы.

Анализ полученных результатов свидетельствует, что у больных с генерализованной формой псориаза наблюдается существенное повышение содержания Т-цитотоксических лимфоцитов (CD8<sup>+</sup>), из которых в ходе развития клеточной иммунной реакции генерируются НК-клетки – большие гранулярные лимфоциты и Т-киллеры, способные оказывать прямое цитотоксическое действие на чужеродные клетки-мишени, измененные свои клетки, а также клетки, инфицированные вирусами, опухолевые клетки. На НК-клетках экспрессированы рецепторы к ИЛ 2, через которые возможна их стимуляция. Повышение уровней ИЛ6, ИЛ8, ФНО- $\alpha$ , ИЛ2, очевидно, связано с тем, что при псориазе возможна высокая активность НК-клеток и Т-киллеров, которые оказывают цитотоксическое действие на клетки-мишени как путем контактного лизиса, так и через факторы, секретируемые либо в виде гранул, либо в свободном состоянии. Эти клетки являются активными продуцентами особого белка – перфорины, который полимеризуется на клетках-мишенях, формируя при этом трансмембранную пору, через которую происходит гипергидратация клетки и разрушение ДНК клеток-мишеней и самой клетки. Можно полагать, что такой механизм имеет место при псориазе и сопровождается ускорением процессов апоптоза, дифференцировки и пролиферации эпителиальных клеток и кератиноцитов.

Следует отметить, что концентрация ИЛ6 у больных псориазом была повышена более чем в 3,5 раза ( $62,5 \pm 3,86^*$ ) по сравнению с контрольной группой наблюдения ( $17,6 \pm 1,45$ ). Поскольку цитокин ИЛ6 представляет собой митоген для Т-лимфоцитов и кератиноцитов, возможно, что именно он играет ведущую роль в запуске цитокинового каскада в псориазически измененном кератиноците.

Обострение воспалительной реакции псориазического процесса сопряжено с повышением уровня ИЛ8, который выполняет роль индуктора острой

воспалительной реакции, стимулирует адгезивные свойства нейтрофилов, хемотаксис Т-лимфоцитов и др. Его содержание у больных было повышено в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой наблюдения. Это увеличение можно рассматривать как результат действия ИЛ1 на кератиноциты, которые синтезируют ИЛ8.

Концентрация такого регуляторного цитокина, как ФНО- $\alpha$ , в стадии обострения заболевания была значительно повышена по сравнению с группой условно здоровых пациентов.

Учитывая, что ИЛ2, ИЛ4 и ИЛ6 обеспечивают клеточную составляющую адаптивного иммунитета, нами были проанализированы некоторые показатели гуморального иммунитета.

Результаты наблюдения обнаружили, что на фоне значительной активации цитокинов, Т- и В-лимфоцитов отмечалось достоверное изменение содержания в сыворотке крови иммуноглобулинов – IgA и IgM. Так, у больных были существенно повышены концентрации в сыворотке крови IgA и IgM, что может быть связано с увеличением количества В-клеток и их функциональной активности. Следует полагать, что гуморальный иммунный ответ организма у больных существенно активирован и сопровождается повышением содержания IgM, IgA, а возможно, и других изотопов иммуноглобулинов – IgG, IgE, IgD.

**Выводы.** Полученные данные позволяют судить, что одним из ведущих патогенетических механизмов формирования псориаза является активация цитокинового звена иммунной системы, повреждение структурно-функционального состояния клеточных мембран и нарушение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования. Посредством этого, очевидно, происходит изменение кооперативного взаимодействия процессов дифференцировки и пролиферации кератиноцитов эпидермиса, играющих ключевую роль в развитии морфологических нарушений псориазического процесса. Из этого логически вытекает, что внедрение в клиническую практику биологических модуляторов цитокиновой регуляции иммунологического

гомеостаза является одним из приоритетных направлений современной фундаментальной и клинической медицины.

### Список литературы

1. Вавилов А.М., Самсонов В.А., Димант Л.Е. и др. Иммунологические исследования Т-лимфоцитов в коже больных псориазом. Вестн. дерматол. 2000; 4: 4-5.

2. Olaniram A.K., Baker B.S., Paige D.G., et al. Cytokine expression in psoriatic skin lesions during PUVA therapy. Arch.Dermatol.Res.1996;288.8 :421-25.

3. Uyemura K., Yamamura M., Fivenson D.F., et al. The cytokine network in lesional and lesion-free psoriatic skin is characterized by a T-helper type 1 cell-mediated response. J. Invest. Dermatol. 1993; 101.5 : 701-05.

4. Austin L.M., Ozawa M., Kikuchi T., et al. The majority of epidermal T cell in Psoriasis vulgaris lesion can produce type 1 cytokines, interferon-gamma, interleukin-2, and tumor necrosis factor-alpha, defining TC1 (cytotoxic T lymphocyte) and TH1 effector population: a type 1 differentiation bias is also measured in circulating blood T cells in psoriatic patients. J. Invest. Dermatol. 1999; 113.5 : 752-59.

5. Bonifati C., Carducci M., Cordiali Fei P., et al. Correlated increases of tumour necrosis factor-alpha, interleukin-6 granulocyte monocyte-colony stimulating factor levels in suction blister fluids and sera of psoriatic patients-relationships with disease severity. Clin. Exp. Dermatol. 1994; 19.5 : 383-87.

6. Danning C.L., Illei G.G., Hitchon C., et al. Macrophage-derived cytokine and nuclear factor kappa B p65 expression in synovial membrane and skin of patients with psoriatic arthritis. Arthritis Rheum. 2000; 43.6 : 1244-56.

7. Ettehadi P., Greaves M.W., Willach D., et al. Elevated tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) biological activity in psoriatic skin lesions. Clin. Exp. Immunol. 1994; 96.1 : 146-51.