

Изменение уровня молекул, опосредующих миграцию лимфоцитов в кожу, у больных псориазом

Р.Н. Белоногов, Т.Г. Рукша

Кафедра патологической физиологии с курсом клинической патофизиологии (зав. — проф. Т.Г. Рукша) ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого

С целью изучения механизмов эмиграции лимфоцитов в кожу при псориазе обследованы 22 больных. Материалом для проведения эксперимента послужили биоптаты кожи больных в стадию прогрессии заболевания и стадию регресса. Срезы подвергали иммуногистохимическому окрашиванию с моноклональными антителами к CD45, CD99, CD162 и матриксной металлопротеиназе-9. В коже больных псориазом в прогрессирующей стадии наблюдали обильную инфильтрацию дермы лимфоцитами, экспрессирующими вышеуказанные маркеры. Локализацию положительно окрашенных клеток отмечали вблизи сосудов, а также в виде скоплений и отдельных клеток в сосочковом и сетчатом слоях, вблизи эпидермиса. В стадию регресса заболевания выявили снижение количества положительно окрашенных клеток.

Ключевые слова: псориаз, CD45, CD99, CD162, матриксная металлопротеиназа-9

CHANGES IN THE LEVELS OF MOLECULES MEDIATING LYMPHOCYTE MIGRATION TO THE SKIN IN PSORIASIS PATIENTS

R.N. Belonogov, T.G. Ruksha

The mechanisms of lymphocyte migration into the skin in psoriasis were studied in 22 patients. The study was carried out on biopsy specimens from patients with disease progress and regression stages. The sections were stained by immunohistochemical methods with monoclonal antibodies to CD45, CD99, CD162, and matrix metalloprotease-9. The derma was profusely infiltrated by lymphocytes expressing these markers during the progressive stage of psoriasis. Positively stained cells were found by the vessels and as groups of cells and individual cells in the papillary and reticular layers and near the epidermis. The number of positively stained cells reduced during the disease regression.

Key words: psoriasis, CD45, CD99, CD162, matrix metalloprotease-9

Псориаз — один из наиболее распространенных и тяжелых дерматозов, имеющих тенденцию не только роста уровня заболеваемости, но и увеличения количества резистентных к лечению форм. Примерно 1,5—2% населения Земного шара страдают этим заболеванием. В России от псориаза страдают не менее 5 млн человек. Отсутствие надежных методов лечения псориаза является серьезной проблемой современной дерматологии. Этиология и патогенез псориаза являются окончательно невыясненными [1, 2]. Под действием патогенных факторов происходят активация Т-киллеров и Т-хелперов, эмиграция их в кожу и высвобождение большого количества провоспалительных цитокинов, которые вызывают воспаление, привлекают в кожу макрофаги и нейтрофилы и провоцируют избыточную пролиферацию клеток кожи, в первую очередь кератиноцитов [1, 2]. Повышение уровня клеточной пролиферации, ангиогенез в псориазных бляшках и инфильтрация кожи лимфоцитами и макрофагами быстро приводят к формированию характерных псориазных поражений — эритематозных бляшек, покрытых белыми чешуйками. Миграция лимфоцитов из перифериче-

ской крови в пораженную кожу рассматривается как основная причина инфильтрации эпидермиса этими клетками [1—4]. Вместе с тем механизмы миграции в дерму лейкоцитов исследованы недостаточно хорошо. В связи с этим, в данном исследовании оценили уровень экспрессии молекул, опосредующих миграцию лейкоцитов в дерму (CD99, CD162) и матриксной металлопротеиназы-9 (ММП-9).

CD99 принимает участие в Т-клеточной адгезии и трансэндотелиальной миграции. CD99 является ко-стимулятором и регулятором продукции цитокинов Т-клетками [5]. CD162 является трансмембранным белком на поверхности лейкоцитов, основным лигандом селектинов. Играет важную роль в процессе роллинга лейкоцитов, мобилизации и миграции лейкоцитов при воспалительной реакции [6]. ММП-9 — принимает участие в процессах воспаления, ремоделирования ткани и репарации, мобилизации матрикссвязанных факторов роста и процессинга цитокинов [3, 7].

Цель работы — исследовать содержание маркеров CD45, CD99, CD162 и ММП-9 в коже у больных псориазом.

Сведения об авторах:

Белоногов Роман Николаевич — канд. биол. наук, ст. преподаватель кафедры (ro-x@ua.ru); Рукша Татьяна Геннадьевна — д-р мед. наук.

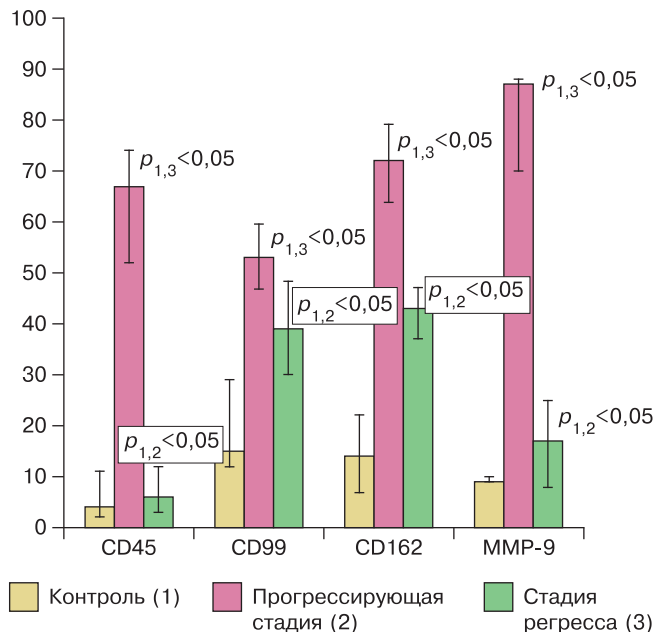


Рис. 1. Изменение количества (в %) положительно окрашенных клеток на маркеры CD45, CD99, CD162, MMP-9 в дерме у больных в стадии прогрессирования и регресса псориаза.

Материалы и методы

На базе Красноярского краевого кожно-венерологического диспансера № 1 обследованы 22 больных распространенной формой псориаза. В качестве контроля были взяты биоптаты у 10 здоровых лиц — добровольцев. Материалом для выполнения эксперимента служили биоптаты кожи больных псориазом в прогрессирующую стадию и стадию регресса заболевания. Ткани фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине. Срезы подвергали иммуногистохимическому окрашиванию по стандартной методике с моноклональными антителами к CD45, CD99, CD162 и MMP-9 [8]. Для визуализации использовали систему детекции Ready-to-Use (Novo-Link Polymer Detection System, Leica Microsystems, Newcastle, Англия). В дальнейшем срезы докрашивали гематоксилином. Подсчет количества положительно окрашенных клеток в пересчете на 100 клеток производили при 400-кратном увеличении с помощью микроскопа Olympus BX-41 и программы для обработки изображений Infinity Analyze. Version 4.6.0 («Lumenera Corporation», Канада)

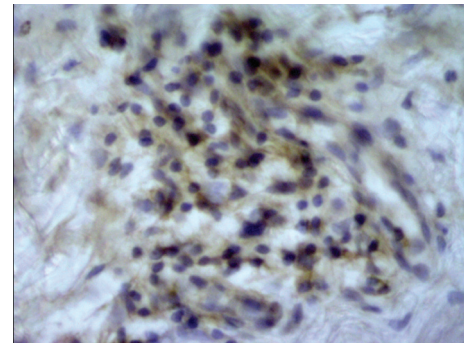


Рис. 3. Инфильтрация лимфоцитами дермы и CD99+-клетки при псориазе в стадию прогрессирования. Ув. 400.

Для всех данных определяли медиану (Me) и интерквартильный разброс в виде подсчета 25- и 75-перцентилей (C_{25} и C_{75}). Статистическую значимость различий между группами оценивали с помощью непараметрического критерия Манна—Уитни. Статистический анализ осуществляли с помощью пакетов прикладных программ Statistica версия 7,0 (StatSoft Inc., 2004).

Результаты и обсуждение

При исследовании концентрации CD45, который использовали в качестве маркера лейкоцитов в биоптатах кожи, полученных от здоровых лиц, экспрессия CD45 в дерме была выражена очень слабо, выявляли единичные положительно окрашенные клетки на эндотелии сосудов и вокруг сосудов. В коже больных с прогрессирующей стадией заболевания положительно окрашенные клетки присутствовали в дерме в виде скоплений вокруг сосудов и инфильтратов, их содержание составило 67 (52; 74) на 100 клеток. В коже больных псориазом в стадии регресса количество положительно окрашенных клеток снижалось до 6 (3; 12) на 100 клеток (рис. 1). Аналогичную тенденцию отметили и в отношении содержания других исследуемых маркеров.

В дерме у здоровых лиц экспрессию CD99 выявили в отдельных клетках эндотелия кровеносных сосудов и единичных клетках, располагающихся

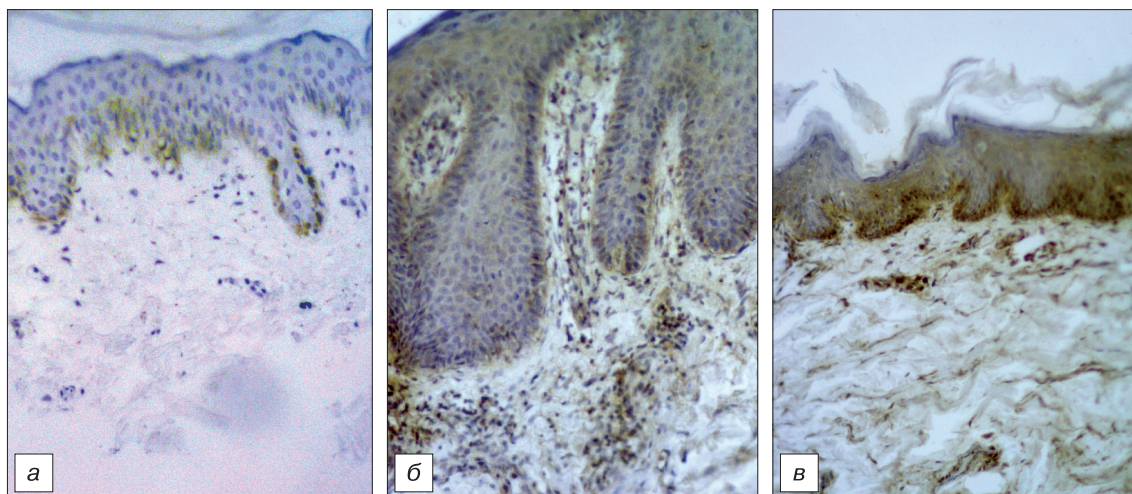


Рис. 2. Изменение количества CD99-положительных клеток в коже у больных псориазом. Ув. 100.
а — контроль; б — образец кожи больного в стадию прогрессирования заболевания, в — в стадию регресса.

вокруг сосудов сосочкового слоя дермы. В образцах кожи у больных псориазом в прогрессирующую стадию наблюдали обильную инфильтрацию дермы CD99⁺-лимфоцитами, главным образом в дерме вблизи сосудов, а также в виде скоплений и отдельных клеток, в сосочковом и сетчатом слоях. Положительно окрашку отметили в 53 (46; 59) из 100 клеток. В стадию регресса количество CD99⁺-клеток в дерме составило 39 (31; 49) на 100 (рис. 2, 3).

При исследовании уровня CD162 в биоптатах кожи, полученных от здоровых лиц, экспрессию обнаружили в единичных клетках в дерме. В коже у больных псориазом количество положительно окрашенных клеток составило 72 (64; 79) на 100 клеток. В стадию регресса количество положительно окрашенных клеток снизилось до 43 (38; 47) на 100 клеток. Аналогичную картину наблюдали и при исследовании экспрессии ММП-9. Содержание положительно окрашенных клеток в стадию прогрессирования составило 87 (70; 88) на 100 клеток, в стадию регресса — 17 (8; 25).

Таким образом, у больных псориазом в прогрессирующую стадию отметили усиление лимфоцитарной инфильтрации с повышением содержания исследуемых маркеров. Снижение экспрессии данных молекул может быть одним из факторов, приводящих к уменьшению активности иммунокомпетентных клеток и регрессу заболевания. Снижение уровня CD45 является прямым свидетельством снижения количества лимфоцитов в коже больных псориазом. Кроме того, уменьшение его экспрессии на поверхности лимфоцитов может приводить к нарушению передачи сигнала через Т-клеточный рецептор, а также потенцировать Fas-зависимый апоптоз [9]. Снижение экспрессии CD99 вызывает уменьшение в первую очередь трансэндотелиальной миграции в дерму, в частности лимфоцитов. А в связи с тем, что CD99 опосредует механизмы Т-клеточной адгезии, миграции и активации, продукции цитокинов, экспрессии адгезивных молекул, в частности ELAM-1, VCAM-1 и ICAM-1, мобилизацию этих молекул из аппарата Гольджи на плазматическую мембрану Т-клеточного рецептора, молекул МНС I и II класса, следует предположить снижение выраженности вышеуказанных процессов [5]. Снижение уровня CD162 приводит к нарушению связывания лейкоцитов с Р-селектином 1 и, как следствие, угнетению роллинга лейкоцитов, начального этапа связывания, мобилизации и трансмиграции лейкоцитов [6].

Уменьшение продукции ММП-9 может вызвать снижение интенсивности ремоделирования ткани и репарации, мобилизации матрикссвязанных факторов роста и процессинга цитокинов. Важной функцией ММП-9 является регуляция ангиогенеза как непосредственно в результате ремоделирования экстрацеллюлярного матрикса, так и в связи с высвобождением и активацией фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), связанного с экстрацеллюлярным матриксом и высвобождаемого посредством

протеолиза. ММП-9 также принимает участие в эмиграции лейкоцитов благодаря регуляции адгезии лейкоцитов вследствие взаимодействия между ММП-9, гликопротеиновыми и интегриновыми рецепторами и регуляции проникновения лейкоцитов через эндотелиальный барьер из-за VEGF-опосредованного разрушения эндотелия или изменения его проницаемости [3, 4, 7, 10,]. Следовательно, снижение продукции ММП-9 препятствует процессам лейкоцитарной инфильтрации псориатической бляшки, а также приводит к торможению роста новых сосудов.

Таким образом, молекулы CD99 и CD162 опосредуют миграцию лимфоцитов в кожу у больных псориазом. Уровень вышеуказанных молекул изменяется однонаправленно с уровнем ММП-9 в стадии прогрессирования и регресса заболевания, что может являться отражением характера воспалительного процесса в коже при данной патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адашкевич В.П., Базеко Н.П. Псориаз. М.: Медицинская литература; 2007: 40—77.
2. Griffiths C.E., Barker J.N. Pathogenesis and clinical features of psoriasis. *Lancet*. 2007; 370(9583): 263—71.
3. Lee S. E., Lew W. The increased expression of matrix metalloproteinase-9 messenger RNA in the non-lesional skin of patients with large plaque psoriasis vulgaris. *Ann. Dermatol.* 2009; 21(1): 27—34.
4. Стародубцева Н.Л., Соболев В.В., Соболева А.Г., Николаев А.А., Брускин С.А. Экспрессия генов металлопротеаз (ММП-1, ММП-2, ММП-9, ММП-12) при псориазе. *Генетика*. 2011; 47(9): 1254—61.
5. Pata S., Otáhal P., Brdička T., Laopajon W., Mahasongkram K., Kasinrerak W. Association of CD99 short and long forms with MHC class I, MHC class II and tetraspanin CD81 and recruitment into immunological synapses. *BMC Res. Notes*. 2011; 4: 293.
6. Wimazal F., Ghannadan M., Müller M.R., End A., Willheim M., Meidlinger P., et al. Expression of homing receptors and related molecules on human mast cells and basophils: a comparative analysis using multi-color flow cytometry and toluidine blue/immunofluorescence staining techniques. *Tissue Antigens*. 1999; 54(5): 499—507.
7. Cordiali-Fei P., Trento E., D'Agosto G., Bordinon V., Mussi A., Ardigo M., et al. Decreased levels of metalloproteinase-9 and angiogenic factors in skin lesions of patients with psoriatic arthritis after therapy with anti-TNF-alpha. *J. Autoimmune Dis.* 2006; 3: 5.
8. Аникьева Н.В., Максимова Н.А., Эллинди В.Н. Практическая иммуногистохимия. СПб.: ВЦЭРМ МЧС России; 2002.
9. Latinis K.M., Koretzky G.A. Fas ligation induces apoptosis and Jun kinase activation independently of CD45 and Lck in human T cells. *Blood*. 1996; 87(3): 871—5.
10. Fraser A., Fearon U., Reece R., Emery P., Veale D.J. Matrix metalloproteinase 9, apoptosis, and vascular morphology in early arthritis. *Arthritis Rheum.* 2001; 44(9): 2024—8.

Поступила 06.09.12