

В. М. Козин, Г. П. Адаменко, Л. И. Богданович, Е. В. Якиревич

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ИНТЕРЛЕЙКИНОВ ПРИ ПСОРИАЗЕ

Кафедра дерматовенерологии (зав.— проф. Л. И. Богданович) Витебского медицинского института

Псориаз — заболевание, в патогенезе которого участвует иммунная система организма. Обнаружены изменения различных ее звеньев при исследовании периферической крови [4, 8], изучены иммунные реакции, протекающие в коже больных псориазом [1, 3]. Известно, что система интерлейкинов (ИЛ) — один из основных регуляторов процессов пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток. Выявлены нарушения ее при различных патологических состояниях [2, 6, 7].

Цель настоящей работы — исследование интерлейкинов (ИЛ-1 и ИЛ-2) у больных псориазом, изучение синтеза этих медиаторов моноцитами и лимфоцитами периферической крови обследуемых и рецепции ИЛ-1 и ИЛ-2 иммунокомпетентными клетками.

Под наблюдением находилось 18 здоровых лиц и 23 больных папулезно-бляшечным псориазом в стационарной стадии заболевания в возрасте от 20 до 45 лет. Давность заболевания дерматозом составляла от 3 до 8 лет. Кожный процесс носил распространенный характер.

Материалом для исследования служила гепаринизированная венозная кровь, полученная у больных при поступлении в стационар. Функциональные свойства (синтез и рецепцию) ИЛ изучали согласно ранее описанному методическому подходу [2]. Мононуклеары периферической крови получали общепринятым способом [9]. Часть клеток суспендировали в культуральной среде (КС), состоящей из среды RPMI с 2 мМ глутамина, 5 мМ NEPES, 10 % инактивированной АВ (IV) сыворотки крови, пенициллина (100 ЕД/мл), до концентрации $2 \cdot 10^6$ клеток в 1 мл и ставили реакцию бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) для определения спонтанной и митогениндуцированной пролиферации лимфоцитов. Для этого в лунки микропланшет ("Nunc") вносили по

0,2 мл суспензии мононуклеаров, часть из которых стимулировали ФГА ("Difco", 10 мкг/мл). Через 72 ч определяли пролиферативную активность клеток, используя морфологическую оценку реакции.

Оставшиеся после выделения мононуклеары разделяли на прилипающие и неприлипающие путем инкубации в течение 1 ч в пластиковых чашках Петри. Морфологическая оценка выделенных популяций показала, что среди прилипающих клеток 93 % моноцитов, во фракции неприлипающих — клеток (НПК) 92 % лимфоцитов при их жизнеспособности 95 % (окраска 0,1 % трипановым синим). Для получения ИЛ-1 моноциты суспендировали в КС до концентрации $2 \cdot 10^5$ в 1 мл и культивировали по 0,2 мл в лунках микропланшет в течение 72 ч при 37°C и 5 % CO_2 . Затем культуры клеток центрифугировали при 500g в течение 15 мин, собранные супернатанты хранили при -20°C до тестирования. НПК (лимфоциты) служили источником получения ИЛ-2. Для этого клетки ($2 \cdot 10^6$ в 1 мл) помещали в лунки микропланшет и активировали ФГА (1 мкг/мл) импульсным методом, который заключался в замене КС свежей через 24 ч культивирования. Через 72 ч получали супернатанты после центрифугирования клеток при 500g в течение 15 мин, которые хранили при -20°C до использования.

Для оценки ИЛ-1 и ИЛ-2 применяли неочищенные супернатанты, что, по данным литературы, является приемлемым [2, 10]. НПК доноров и пациентов ($2 \cdot 10^6$ в 1 мл) в КС помещали по 0,1 мл в лунки микропланшет. В часть лунок добавляли по 0,1 мл супернатантов, содержащих ИЛ-1 или ИЛ-2. При этом к донорским НПК добавляли супернатанты (ИЛ-1 или ИЛ-2) больных псориазом, а к НПК больных — супернатанты доноров. В те же лунки добавляли также по 0,02 мл

(2 мкг) ФГА. В часть лунки (контроль № 1) с НПК больных и доноров вносили 0,1 мл КС и митоген. Вторые контрольные пробы содержали НПК и КС. В последующем планшеты помещали на 72 ч в термостат при 37 °С и 5 % CO₂. По окончании культивирования реакцию оценивали морфологическим методом. РБТЛ клеток доноров и больных псориазом оценивали по индексу активации (ИА) — отношению процента бластных клеток в пробах с митогеном (ФГА) к проценту таких клеток в пробах без ФГА. О продукции и рецепции ИЛ-1 и ИЛ-2, как и другие авторы [2], судили по индексу восстановления реакции бласттрансформации (ИВРБ):

$$\text{ИВРБ} = \frac{\text{ИА}(\text{НПК} + \text{ИЛ}) - \text{ИА}(\text{НПК})}{\text{ИА}(\text{МНК}) - \text{ИА}(\text{НПК})},$$

где ИЛ — супернатанты, содержащие ИЛ-1 или ИЛ-2, МНК — моноклеарные клетки.

Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием критерия Стьюдента.

Моноклеары крови больных псориазом функционально были значительно менее активны, чем аналогичные клетки здоровых лиц. Это проявлялось достоверным снижением пролиферативной активности клеток в ответ на стимуляцию ФГА. ИА моноклеаров больных был в пределах $16,3 \pm \pm 1,9$, в то время как ИА моноклеаров здоровых лиц составлял $24,2 \pm \pm 2,3$ (см. таблицу).

Далее исследовали способность выделенных моноцитов и лимфоцитов синтезировать соответственно ИЛ-1 и ИЛ-2. Обнаружено увеличение выработки ИЛ-1 моноцитами крови больных псориазом по сравнению с клетками здоровых лиц (см. таблицу). Так, супернатанты моноцитов последних восста-

навливали ответ на митоген НПК доноров до уровня митогениндуцированной пролиферации моноклеаров (ИВРБ составлял $0,95 \pm 0,15$). Супернатанты моноцитов крови больных псориазом более выражено действовали на пролиферативный ответ НПК, и ИВРБ составлял $1,42 \pm 0,25$. Последующие полученные результаты показали, что ИЛ-1, продуцируемый моноцитами здоровых лиц, менее активно действовал на пролиферацию лимфоцитов больных псориазом (см. таблицу). В этих случаях его влияние на НПК больных было менее выражено и ИВРБ равнялся $0,73 \pm 0,1$. Данные, представленные в таблице, указывают также на сниженную чувствительность лимфоцитов крови больных псориазом к ИЛ-1 моноцитов обследуемых больных (ИВРБ = $0,75 \pm 0,15$).

Анализ полученных данных указывает, во-первых, на гиперпродукцию ИЛ-1 моноцитами крови больных псориазом, во-вторых, свидетельствует о сниженной чувствительности к этому регулятору иммунокомпетентных клеток больных псориазом. Это позволяет предположить наличие дискоординации в системе ИЛ-1 при псориазе, что проявляется, с одной стороны, повышенной продукцией его, с другой — неполноценностью взаимодействия с иммунокомпетентными клетками (лимфоцитами). Учитывая противовоспалительные свойства ИЛ-1 [5], не исключено участие его в регуляции нарушенной пролиферации и дифференцировки эпидермиса кожи при псориазе.

Далее нами были исследованы функциональные характеристики (синтез и рецепция) ИЛ-2. Обнаружена неизменная его продукция иммунокомпетентными клетками крови здоровых лиц, что согласуется с результатами, полученными другими авторами [2, 6]. Супернатанты митогенактивированных

Пролиферация моноклеаров, синтез и рецепция ИЛ при псориазе

Группа обследуемых	Продукция (ИВРБ)		Рецепция (ИВРБ)				РБТЛ (ИА)
	ИЛ-1	ИЛ-2	ИЛ-1		ИЛ-2		
			доноры	больные	доноры	больные	
Здоровые (n=18)	0,95±0,15	1,05±0,15	0,95±0,15	0,73±0,1	1,05±0,2	0,9±0,2	24,2±2,3
Больные псориазом (n=23)	1,42±0,25*	0,63±0,2*	1,42±0,25*	0,75±0,15*	0,63±0,2*	0,54±0,15*	16,3±1,9*

Примечание. Звездочка — достоверность различия с показателями у здоровых ($p < 0,05$).

лимфоцитов в этих случаях восстанавливали пролиферативный ответ НПК доноров и больных псориазом до исходных уровней РБТЛ мононуклеаров (см. таблицу). Мы выявили значительное снижение синтеза ИЛ-2 лимфоцитами крови больных псориазом. Здесь исследуемые супернатанты были менее активны в РБТЛ с тест-клетками (НПК) как здоровых лиц, так и больных. ИВРБ в первом случае составлял $0,63 \pm 0,2$, во втором — $0,54 \pm 0,15$. Результаты этой серии исследований свидетельствуют о сниженной продукции ИЛ-2 иммунокомпетентными клетками крови больных псориазом при их активации митогеном. Однако популяция лимфоцитов, связывающая его, сохраняла эту функциональную способность.

Обсуждая полученные данные, следует учитывать сведения литературы [11, 12, 14] о том, что моноциты в крови находятся непродолжительное время и после проникновения в ткани превращаются в макрофаги, участвующие в различных регуляторных процессах. По-видимому, при псориазе моноциты уже в крови обладают значительной функциональной активностью, что, по нашим данным, проявляется усиленным синтезом ИЛ-1. В последующем, при поступлении в кожный очаг поражения, эти клетки могут участвовать в регуляции пролиферации и дифференцировки эпидермиса и тем самым в течении патологического процесса. С другой стороны, наши данные указывают на сниженную чувствительность лимфоцитов больных псориазом к ИЛ-1 и ИЛ-2, что осложняет их пролиферацию и дифференцировку, которые являются определяющими в ряде функциональных свойств иммунокомпетентных клеток. Следствием этого при псориазе становится изменение активности Т-хелперов — клеток, реагирующих на ИЛ, которые участвуют в созревании и функционировании клеток кожи [3, 13]. Сниженную чувствительность при псориазе иммунокомпетентных клеток к ИЛ-2 можно объяснить наличием в крови больных значительного количества клеток, выполняющих эффекторные иммунные функции, что было показано в предыдущих исследованиях [1]. Такие клетки функционируют независимо от

процессов пролиферации, и поэтому, по-видимому, на их поверхности снижена экспрессия рецепторов к ИЛ-2. Это в нашей работе показано уменьшением рецепции ИЛ-2 у доноров иммунокомпетентными клетками больных псориазом.

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о значительных изменениях в системе ИЛ при псориазе. Это проявляется увеличенным синтезом моноцитами ИЛ-1 при одновременном снижении его рецепции иммунокомпетентными клетками больных псориазом. Продукция ИЛ-2, наоборот, снижена у больных, однако ИЛ-2-чувствительные клетки сохраняли у них связь связывающую способность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богданович Л. И., Козин В. М., Адаменко Г. П. // Вести дерматол. — 1984. — № 8. — С. 8—10.
2. Ковальчук Л. В., Константинов А. А., Павлюк А. С. // Иммунология. — 1986. — № 4. — С. 52—55.
3. Кожа (строение, функция, общая патология и терапия) / Под ред. А. М. Чернуха, Е. П. Фролова. — М., 1982. — С. 272—285.
4. Козин В. М., Адаменко Г. П., Богданович Л. И., Стельмаченко Г. Э. // Вести дерматол. — 1987. — № 7. — С. 36—39.
5. Козлов В. А., Громыкина Н. Ю. // Иммунология. — 1987. — № 4. — С. 24—30.
6. Кузьмина Е. Г., Ярилин А. А., Блохина М. Е. и др. // Иммунология. — 1986. — № 4. — С. 47—51.
7. Петроз Р. В., Павлюк А. С., Ковальчук Л. В. и др. // Иммунология. — 1987. — № 4. — С. 20—24.
8. Рубин А. Я., Мерсон А. Г., Гинз Н. М. // Вести дерматол. — 1984. — № 10. — С. 11—12.
9. Терриго М. С. Последние достижения в клинической иммунологии / Под ред. Р. А. Томсона. — М., 1983. — С. 375—398.
10. Boyne S. // J. Immunol. Meth. — 1968. — Vol. 23. — P. 1441—1448.
11. Gillis S., Watson J. // Immunol. Rev. — 1981. — Vol. 54. — P. 81—95.
12. Meuret G. // Monocytopenie beim Menschen. — Munich, 1974.
13. Meuret G., Hoffman G. // Brit. J. Hematol. — 1973. — Vol. 24. — P. 275—285.
14. Patterson J. A., Edelson R. L. // Brit. J. Dermatol. — 1982. — Vol. 107. — P. 117—120.

Поступила 09.03.88

V. M. Kozin, G. P. Adamenko, L. I. Bogdanovich, E. V. Yakirevich — FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF INTERLEUKINS IN PSORIASIS

Summary — IL-1 and IL-2 interleukins have been studied in patients with diffuse psoriasis in papules et plaques in the stationary stage.

The results evidence increased production of IL-1 and its reduced reception by the immunocompetent cells. The lymphocytes have been characte-

rized by a reduced IL-2 synthesis and its lower binding with IL-2-sensitive cells.