

# ЭКСПРЕССИЯ мРНК ХЕМОКИНОВ И ХЕМОКИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В КОЖЕ БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ

Бельтюкова А.С.<sup>1</sup>, Сысоев К.А.<sup>1</sup>, Ильина Т.Н.<sup>2</sup>,  
Шемеровская Т.Г.<sup>2</sup>, Хобейш М.М.<sup>1</sup>, Монахов К.Н.<sup>1</sup>,  
Тотолян Арег А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

<sup>2</sup> ГУЗ Городская больница № 25 «Городской ревматологический центр», Санкт-Петербург

**Резюме.** В настоящее время остаются малоизученными некоторые вопросы этиологии и патогенеза псориаза (ПС). В связи с этим является актуальным поиск новых потенциальных маркеров для диагностики форм заболевания с неясной клинической картиной. В данном исследовании была предпринята попытка оценить вклад некоторых хемокинов и соответствующих им хемокиновых рецепторов в патогенез ПС. Основную группу составили больные с псориатическим артритом (n = 20) и вульгарным псориазом (n = 9), группу сравнения – больные со склеродермией (n = 4) и контрольную группу – практически здоровые лица (n = 8). Материалом для исследования служили образцы визуально здоровой и пораженной кожи пациентов с ПС, полученные методом punch-биопсии. Была проведена оценка экспрессии следующих хемокинов: CCL3/MIP-1 $\alpha$ , CCL4/MIP-1 $\beta$ , CCL5/RANTES, CCL11/эотаксина, CCL24/эотаксина-2, CXCL8/IL-8 и их рецепторов CCR1, CCR3, CCR5, CXCR1, CXCR2. При индексе PASI до 10 была выявлена повышенная экспрессия генов CCL11/эотаксина (p = 0,03), CXCR1 (p = 0,008), CXCR2 (p = 0,0006) в биоптатах визуально здоровой кожи и пораженной кожи, а также повышенная экспрессия CCL24/эотаксина-2 (p = 0,009), CCL5/RANTES (p = 0,05) в визуально здоровой коже. При индексе PASI от 10 до 20 была выявлена повышенная экспрессия генов CCL11/эотаксина (p = 0,005), CCL24/эотаксина-2 (p = 0,02), CCL5/RANTES (p = 0,01), CXCR1 (p = 0,0009), CXCR2 (p = 0,002) в биоптатах визуально здоровой кожи и пораженной кожи, а также повышенная экспрессия CXCL8 (IL-8) (p = 0,005) в визуально здоровой коже. При индексе PASI более 20 была выявлена повышенная экспрессия генов CCL11/эотаксина (p = 0,001), CCL24/эотаксина-2 (p = 0,001), CCL3/MIP-1 $\alpha$  (p = 0,02), CXCR1 (p = 0,0001), CXCR2 (p = 0,001), в биоптатах визуально здоровой кожи пациентов и пораженной кожи, а также повышенная экспрессия CCL4/MIP-1 $\beta$  (p = 0,03) в пораженной коже пациентов. Выявлена обратная корреляционная зависимость между экспрессией хемокинов: CCL24/эотаксина-2 (r = -0,94, p = 0,005), CCL3/MIP-1 $\alpha$  (r = -0,94, p = 0,005), CCL4/MIP-1 $\beta$  (r = -0,85, p = 0,03) и рецепторов: CCR5 (r = -0,79, p = 0,005) и CXCR2 (r = -0,94, p = 0,005), в визуально здоровой коже пациентов с ПС и индексом PASI меньше 10. Выявлена прямая корреляционная зависимость между экспрессией мРНК CCL11/эотаксина (r = 0,69, p = 0,04) в визуально здоровой коже пациентов с ПС и индексом PASI при его значениях от 10 до 20. Выявлена прямая корреляционная зависимость между уровнем экспрессии CCR1 (r = 0,82, p = 0,02), CCR3 (r = 0,74, p = 0,02) и CCR5 (r = 0,82, p = 0,006) в пораженной коже пациентов с ПС и значениями PASI при его значениях от 10 до 20. В группе больных с индексом PASI более 20 корреляционных зависимостей выявлено не было. Полученные данные позволяют сделать вывод о важном вкладе системы хемокинов в патогенез ПС.

*Ключевые слова:* хемокины, хемокиновые рецепторы, мРНК, псориатический артрит, псориаз.

## Адрес для переписки:

Бельтюкова А.С.  
СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова,  
НМЦ по молекулярной медицине.  
197022, Санкт-Петербург,  
ул. Л. Толстого, 6/8.  
Тел.: (812) 499-71-94.  
Факс: (812) 347-55-60.

*Beltiukova A.S., Syssoev K.A., Il'ina T.N.,  
Shemerovskaya T.G., Hobeish M.M., Monakhov K.N.,  
Totolian Areg A.*

## EXPRESSION OF mRNAs FOR CHEMOKINES AND CHEMOKINE RECEPTORS IN THE SKIN FROM PATIENTS WITH PSORIASIS

**Abstract.** Some issues in etiology and pathogenesis of psoriasis are poorly studied. Therefore, a search

for new potential markers is actual for diagnostics of psoriasis in less clear cases. In this study, an attempt was undertaken to evaluate contribution of some chemokines and appropriate receptors into pathogenesis of psoriasis. The main group consisted of the patients with psoriatic arthritis ( $n = 20$ ) and psoriasis vulgaris ( $n = 9$ ). A group of comparison consisted of patients with sclerodermia ( $n = 4$ ), and a control group was represented by healthy persons ( $n = 9$ ). The specimens were taken from visually normal and affected skin areas from psoriatic patients obtained by punch biopsy. Expression of the following chemokines was performed: CCL3/MIP-1 $\alpha$ , CCL4/MIP-1 $\beta$ , CCL5/RANTES, CCL11/eotaxin, CCL24/eotaxin-2, CXCL8/IL-8 and their receptors (CCR1, CCR3, CCR5, CXCR1, CXCR2). In cases with PASI values  $< 10$ , an increased expression of the following genes was revealed for CCL11/eotaxin ( $p = 0.03$ ), CXCR1 ( $p = 0.008$ ), CXCR2 ( $p = 0.0006$ ) in virtually intact skin and affected skin areas, as well as increased gene expression of CCL24/eotaxin 2 ( $p = 0.009$ ), CCL5/RANTES ( $p = 0.05$ ) in visually normal skin.

With PASI values of 10 to 20, an increased gene expression was found for CCL11/eotaxin ( $p = 0.005$ ), CCL24/eotaxin 2 ( $p = 0.02$ ), CCL5/RANTES ( $p = 0.01$ ), CXCR1 ( $p = 0.0009$ ), CXCR2 ( $p = 0.002$ ) in skin biopsies from visually healthy and affected skin, as well as increased expression CXCL8 (IL-8) ( $p = 0.005$ ) in visually normal skin. In cases with PASI  $> 20$ , an increased expression of CCL11/eotaxin ( $p = 0.001$ ), CCL24/eotaxin 2 ( $p = 0.001$ ), CCL3/MIP-1 $\alpha$  ( $p = 0.02$ ), CXCR1 ( $p = 0.0001$ ), CXCR2 ( $p = 0.001$ ) was detected in visually healthy skin samples and affected skin of the patients, as well as higher expression of CCL4/MIP-1 $\beta$  ( $p = 0.03$ ) in affected skin areas. A reverse correlation was revealed between expression of chemokines, i.e., CCL24/eotaxin 2 ( $r = -0,94$ ,  $p = 0.005$ ), CCL3/MIP-1 $\alpha$  ( $r = -0,94$ ,  $p = 0.005$ ), CCL4/MIP-1 $\beta$  ( $r = -0,85$ ,  $p = 0.03$ ) and their receptors: CCR5 ( $r = -0,79$ ,  $p = 0.005$ ) and CXCR2 ( $r = -0,94$ ,  $p = 0.005$ ) in visually normal skin of the patients with psoriasis and PASI values  $< 10$ .

A direct correlation was found between expression of mRNAs for CCL11/eotaxin ( $r = 0.69$ ,  $p = 0.04$ ) in visually healthy skin from psoriatic patients, and CCR5 ( $r = 0.82$ ,  $p = 0.006$ ) in affected skin of the patients with psoriasis and PASI values of 10 to 20. In the group of patients with PASI values over 20, no correlations were detectable. These data allow us of concluding about an important contribution of chemokine system to pathogenesis of psoriasis. (*Med. Immunol.*, vol. 10, N 4-5, pp 337-346)

## Введение

Псориаз (ПС) является одним из самых распространенных хронических заболеваний кожи с возможным поражением ногтей и суставов. Псориаз проявляется мономорфной сыпью, состоящей из плоских папул различных размеров, имеющих тенденцию к слиянию в крупные бляшки розово-красного цвета, характеризующиеся эпидермальной гиперпролиферацией и aberrантной дифференциацией эпидермиса [1].

Распространенность псориаза в популяции составляет 1-3%, а распространенность артрита, по данным разных авторов, среди больных ПС составляет от 13,5% до 47% [2, 3].

Согласно современным представлениям, патогенетическими особенностями ПС являются воспалительная инфильтрация и эпидермальная гиперпролиферация с нарушенной дифференцировкой кератиноцитов. Эти процессы запускаются различными цитокинами и хемокинами, которые высвобождаются измененной популяцией Т-клеток, находящихся в коже [4, 5, 6]. Активированные Th1-клетки продуцируют IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$ , стимулируя кератиноциты к продукции хемокинов, цитокинов и адгезивных молекул, поддерживающих воспаление в измененной ПС коже.

В развитии ПС существенное место принадлежит дисбалансу про- и противовоспалительных

цитокинов [7]. При прогрессировании заболевания наблюдается преобладание провоспалительных цитокинов в биологических средах и тканях организма, в частности, в псориазных бляшках, синовиальной оболочке, энтезах, синовиальной жидкости и крови, причем выявлена прямая корреляционная зависимость между активностью воспалительного процесса и содержанием хемокинов и их рецепторов. Целью работы являлась оценка синтеза некоторых хемокинов и их рецепторов в кожных биоптатах больных ПС.

## Материалы и методы

Всего под наблюдением находилось 29 пациентов: с диагнозом псориазический артрит — 9 женщин и 11 мужчин, и 9 пациентов (1 женщина и 8 мужчин) с диагнозом вульгарный псориаз. Все пациенты с псориазическим артритом получали иммуносупрессивную терапию (10 пациентов получали сульфосалазин, 9 пациентов получали метотрексат, 1 пациент получал циклоспорин А). 9 пациентов с диагнозом вульгарный псориаз не получали иммуносупрессивную терапию. Средний возраст пациентов составил от 18 до 64 лет ( $39,4 \pm 2,3$  лет). В группу сравнения вошли пациенты с диагнозом бляшечная склеродермия — 4 человека ( $29,6 \pm 4,3$  лет). В ка-

честве контрольной группы были обследованы 8 здоровых волонтеров в возрасте от 17 до 21 года ( $18,6 \pm 1,3$  лет). Все пациенты с ПС и склеродермией находились на стационарном лечении в Городской больнице № 25 Санкт-Петербурга и клинике дерматовенерологии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова.

Постановка диагноза осуществлялась на основании клинической картины, рентгенологического исследования суставов, анамнестических данных и выявления в большинстве случаев антигенов HLA B27, а также на основании новых диагностических критериев, разработанных в 2006 году международной группой исследователей CASPAR (Classification Criteria for Psoriatic Arthritis).

Оценка кожных и суставных псориатических поражений у пациентов проводилась по индексам PASI (Psoriasis Area and Severity Index) и VAS (Visual Analog Scale) [3]. В первой группе ( $n = 7$ ) индекс PASI составлял менее 10 баллов, что соответствует легкой степени поражения (среднее значение  $8,6 \pm 1,2$ ). У пациентов наблюдалось поражение ограниченных участков кожи, незначительная гиперемия, инфильтрация и шелушение. Во второй группе ( $n = 11$ ) индекс PASI составлял от 10 до 20 баллов (среднее значение  $17,2 \pm 1,4$ ), а у этих пациентов наблюдались умеренно выраженные гиперемия, инфильтрация и шелушение кожи. В третьей группе ( $n = 11$ ) индекс PASI составлял более 20 баллов, что соответствует тяжелому течению ПС, а у пациентов наблюдалось распространенное поражение кожи с выраженными симптомами гиперемии, инфильтрации и шелушения.

Материалом для исследования служили образцы кожи, полученные методом punch-биопсии от пациентов с ПС из участков визуально неповрежденной кожи и из бляшечных элементов.

Определяли экспрессию мРНК хемокинов CCL5/RANTES, CCL3/MIP-1 $\alpha$ , CCL4/MIP-1 $\beta$ , CCL11/эотаксина, CCL24/эотаксина-2, CXCL8/IL-8 и соответствующих им рецепторов CCR1, CCR3, CCR5, CXCR1, CXCR2. Такой выбор хемокинов и их рецепторов был сделан для оценки системы хемокинов в комплексе.

В пластиковую пробирку типа «Эппендорф» емкостью 1,5 мл, содержащую 300 мкл лизирующего раствора D, вносили фрагмент ( $\sim 0,005$  г) биоптата. Затем помещали пробирку в ультразвуковую мойку FinnSonic ( $65^\circ\text{C}$ ) на 30 мин. По окончании лизиса добавляли 400 мкл изопропанола и перемешивали пробу на вортексе в течение 3–5 с. Пробирки центрифугировали при 14 000 об/мин в центрифуге Eppendorf (модель 5415 R) при  $4^\circ\text{C}$  в течение 5 мин, удаляли надосадочную жидкость, добавляли к осадку

500 мкл 70% раствора этанола и 3–5 раз аккуратно переворачивали пробирку, центрифугировали пробирку при 14 000 об/мин ( $4^\circ\text{C}$ ) в течение 5 мин, удаляли надосадочную жидкость, добавляли к осадку 500 мкл ацетона и 3–5 раз аккуратно переворачивали пробирку, центрифугировали ее при 14 000 об/мин в течение 5 мин и удаляли надосадочную жидкость. Осадок высушивали при  $65^\circ\text{C}$  в течение 5 мин и растворяли его в 50 мкл ДЭПК-Н<sub>2</sub>O при  $65^\circ\text{C}$  в течение 10 мин. Обратную транскрипцию проводили с использованием набора «Реверта» («Амплиценс», Москва, Россия) согласно инструкции производителя. Следующим этапом являлась постановка ПЦР со специфическими праймерами (табл. 1). Режим ПЦР: денатурация ДНК при  $95^\circ\text{C}$  – 4 мин, 30 циклов амплификации ( $95^\circ\text{C}$  – 30 с,  $60^\circ\text{C}$  – 30 с,  $72^\circ\text{C}$  – 30 с), элонгация  $72^\circ\text{C}$  – 7 мин. В качестве референс-гена использовали  $\beta$ -актин. Визуализацию полученных ПЦР-продуктов осуществляли в 1,5% агарозном геле, окрашенным бромистым этидием, при УФ освещении на трансиллюминаторе «Волна» (Россия). Полуколичественную оценку проводили с помощью программы Gel-Pro, принимая за 100% интенсивность флюоресценции  $\beta$ -актина. Статистическая обработка осуществлялась с помощью пакета SPSS (Версия 13.0). Использовали следующие статистические методы: непараметрический анализ двух переменных (критерий Манна–Уилкоксона–Уитни), корреляционный анализ (критерий Спирмена), графическое представление данных (гистограммы). Достоверными считались различия между группами при  $p \leq 0,05$ .

## Результаты

В ходе исследования было показано, что в коже здоровых добровольцев экспрессируются гены хемокинов CCL3/MIP-1 $\alpha$ , CCL4/MIP-1 $\beta$ , CCL5/RANTES, CXCL8/IL-8 и гены рецепторов CCR1, CCR3 и CCR5 для CC семейства хемокинов, однако экспрессии рецепторов для семейства CXС хемокинов нет (табл. 2).

При сравнении результатов экспрессии хемокинов и их рецепторов в коже пациентов с ПС и пациентов с бляшечной склеродермией была выявлена повышенная экспрессия CCL11/эотаксина ( $p = 0,01$ ), CCL24/эотаксина-2 ( $p = 0,02$ ), CCL3/MIP-1 $\alpha$  ( $p = 0,009$ ), CCL4/MIP-1 $\beta$  ( $p = 0,02$ ) как в визуально здоровой, так и в пораженной коже пациентов с ПС (рис. 1, А и Б).

По распространенности ПС пациенты были разделены на три группы: с PASI меньше 10, с PASI от 10 до 20 и с PASI более 20.

В первой группе пациентов была выявлена достоверно повышенная экспрессия генов CCL11/эотаксина ( $p = 0,03$ ), CCL24/эотаксина-2 ( $p = 0,009$ ),

ТАБЛИЦА 1. ДАННЫЕ ОБ ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ПРАЙМЕРАХ

Определяемый ген	Прямой праймер	Обратный праймер	Длина ампликона, п.н.	Tm°C
β-актин	CCAAGGCCAACC GGAGAAGATGAC	AGGGTACATGGTG GTGCCGCCAGAC	587	60
MIP-1α/CCL3	GCCCGGTGTCATC TTCTAACCAAGC	AGGGGACAGGGGA ACTCTCAGAGCAA	353	60
MIP-1β/CCL4	TGCTGCTTTTCTTA CACCGCGAGGAA	AGAAGGGACAGGA ACTGCGGAGAGGA	291	60
Эотаксин/CCL11	ACC ACCTCTCA CGCCAAAGCTCACAC	CGGCACAGATAT CCTTGCCAGTTTG	263	60
Эотаксин-2/CCL24	CACATCATC CCTACGGGCTCT	GGTTGCCAGGAT ATCTCTGGACAGGG	288	60
IL-8/CXCL8	GTGGCTCTCTTGGA GCCTTCCTGAT	TCTCCACAACCCT CTGCACCCAGTTT	253	60
RANTES/CCL5	CCCCGTGCCACA TCAAGGAGTATTT	CGTCCAGCCTGGG GAAGTTTTTGTA	316	60
CCR1	CAACTCCGTGCCA GAAGGTGAA	GCCAGGGCCC AAATGATGAT	421	60
CCR3	GAGCCCGGACTGT CACTTTTG	CAGATGCTTGC TCCGCTCACAG	410	60
CCR5	CTGGCCATCTCTGA CCTGTTTTTC	CAGCCCTGTGCC TCTTCTCTCAT	487	60
CXCR1	GGCTGCTGGGGA CTGTCTATGAAT	GCCCGGCCG ATGTTGTTG	383	60
CXCR2	CCGCCCATG TGAACCAGAA	AGGGCCAGGA GCAAGGACAGAC	427	60

CCL5/RANTES ( $p = 0,05$ ), CXCR1 ( $p = 0,008$ ), CXCR2 ( $p = 0,0006$ ) в биоптатах визуально здоровой кожи. Экспрессия генов CCL11/эотаксина ( $p = 0,04$ ), CXCR1 ( $p = 0,0006$ ), CXCR2 ( $p = 0,0006$ ) в биоптатах пораженной кожи пациентов была достоверно увеличенная (рис. 2, А и Б; рис. 3, А и Б).

Во второй группе была выявлена достоверно повышенная экспрессия генов CCL11/эотаксина ( $p = 0,005$ ), CCL24/эотаксина-2 ( $p = 0,02$ ), CCL5/

ТАБЛИЦА 2. ЗНАЧЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ХЕМОКИНОВ И ИХ РЕЦЕПТОРОВ В КОЖЕ ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ЛИЦ

Показатель	Значение мРНК	
	M±δD	Min-max
CCL3/MIP-1α	4,6±1,6	2,1-5,3
CCL4/MIP-1β	8,2±2,1	7,5-9,9
CCL11/eotaxin	0	0
CCL24/eotaxin-2	0	0
CXCL8/IL-8	3,5±1,2	3,5-5,4
CCL5/RANTES	9,8±2,3	6,6-11,3
CCR1	31,3±1,8	31,2-37,5
CCR3	20,1±3,6	15,3-27,2
CCR5	13,4±2,6	10,4-14,7
CXCR1	0	0
CXCR2	0	0

RANTES ( $p = 0,01$ ), CXCR1 ( $p = 0,0009$ ), CXCR2 ( $p = 0,002$ ), CXCL8 (IL-8) ( $p = 0,005$ ) в биоптатах визуально здоровой кожи. Также выявлена достоверно повышенная экспрессия генов CCL11/эотаксина ( $p = 0,05$ ), CCL24/эотаксина-2 ( $p = 0,05$ ), CCL5/RANTES ( $p = 0,03$ ), CXCR1 ( $p = 0,0009$ ), CXCR2 ( $p = 0,0009$ ) в биоптатах пораженной кожи пациентов (рис. 2, А и Б; рис. 3, А и Б).

В третьей группе была выявлена достоверно повышенная экспрессия генов CCL11/эотаксина ( $p = 0,001$ ), CCL24/эотаксина-2 ( $p = 0,001$ ), CCL3/MIP-1α ( $p = 0,02$ ), CXCR1 ( $p = 0,0001$ ), CXCR2 ( $p = 0,001$ ), в биоптатах визуально здоровой кожи пациентов. Выявлено достоверно повышенная экспрессия генов CCL11/эотаксина ( $p = 0,001$ ), CCL24/эотаксина-2 ( $p = 0,01$ ), CCL3/MIP-1α ( $p = 0,03$ ), CCL4/MIP-1β ( $p = 0,03$ ), CXCR1 ( $p = 0,0001$ ), CXCR2 ( $p = 0,0001$ ), в биоптатах пораженной кожи пациентов (рис 2, А и Б, рис 3, А и Б).

Корреляционный анализ клинических показателей и уровня мРНК хемокинов выявил дополнительные взаимосвязи. Так, установлена обратная корреляционная зависимость между индексом PASI и экспрессией хемокинов: CCL24/эотаксина-2 ( $r = -0,94$ ,  $p = 0,005$ ), CCL3/MIP-1α ( $r = -0,94$ ,  $p = 0,005$ ), CCL4/MIP-1β ( $r = -0,85$ ,  $p = 0,03$ ) и рецепторов: CCR5 ( $r = -0,79$ ,  $p = 0,005$ ) и CXCR2 ( $r = -0,94$ ,  $p = 0,005$ ), в визуально здо-

ровой коже пациентов с ПС при значениях PASI менее 10 (табл. 3). Иными словами, тяжесть патологического процесса при ПС отражается в сниженной способности патологически измененной ткани продуцировать CCL24/эотаксин-2, CCL3/MIP-1 $\alpha$  и CCL4/MIP-1 $\beta$ , а также сниженной экспрессии некоторых рецепторов хемокинов. Таким образом, при индексе PASI менее 10 эти молекулы работают как «протективные».

Увеличение индекса PASI имеет важное значение с точки зрения клинического течения и прогноза ПС. Так, выявлена прямая корреляционная зависимость между экспрессией мРНК CCL11/эотаксина ( $r = 0,69, p = 0,04$ ) в визуально здоровой

коже пациентов с ПС и индексом PASI при его значениях от 10 до 20. Выявлена прямая корреляционная зависимость между уровнем экспрессии CCR1 ( $r = 0,82, p = 0,02$ ), CCR3 ( $r = 0,74, p = 0,02$ ) и CCR5 ( $r = 0,82, p = 0,006$ ) в пораженной коже пациентов с ПС и значениями PASI при его значениях от 10 до 20. Таким образом, при прогрессировании кожного поражения усложняются взаимодействия в структуре цитокин-рецептор в визуально здоровой и пораженной коже. С увеличением распространенности процесса в коже воспаление создает фон для проявления дефектов хемокиновой регуляции. Корреляционных зависимостей в третьей группе выявлено не было. Данный факт можно

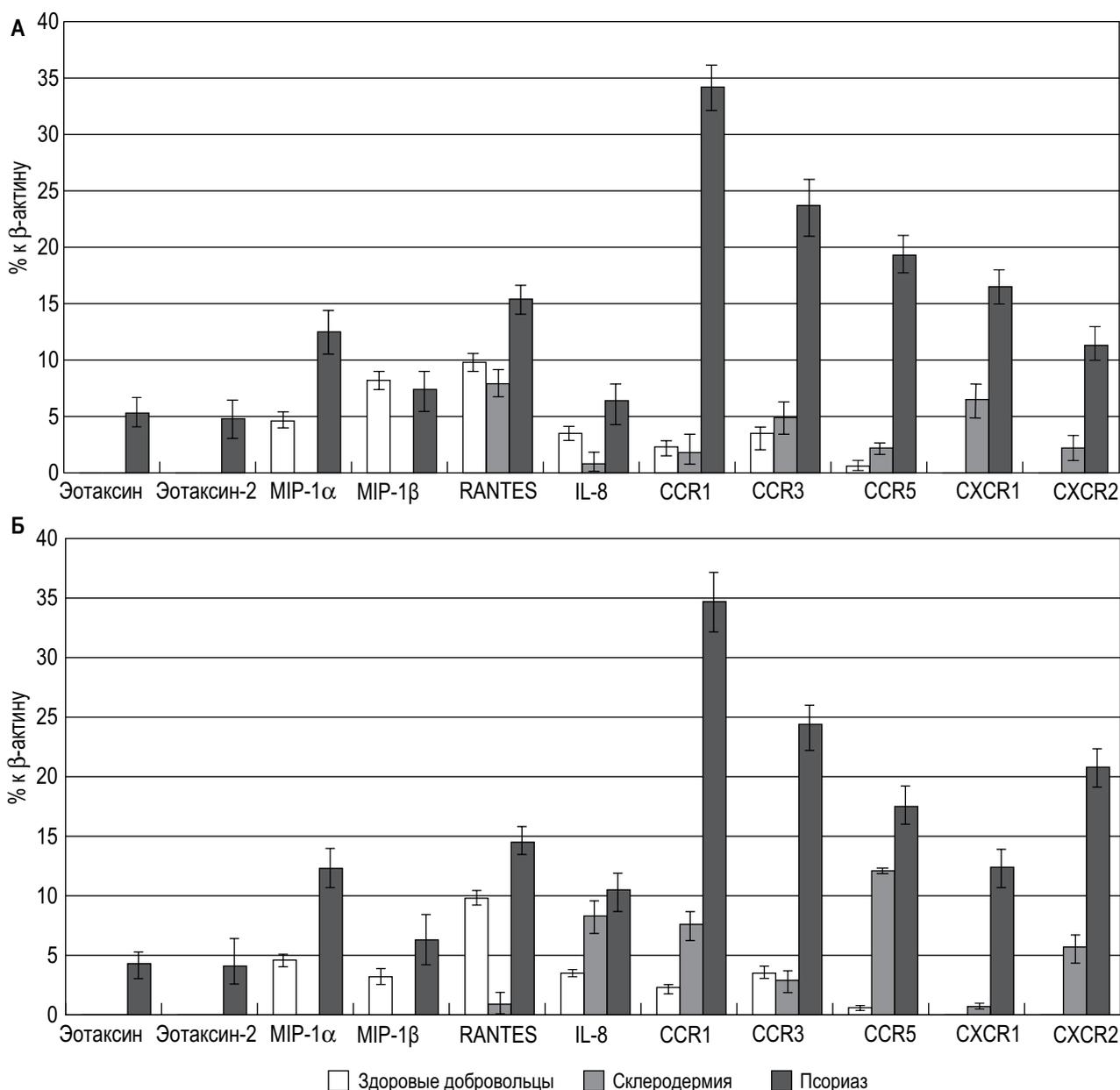


Рисунок 1. Показатели экспрессии мРНК хемокинов в визуально здоровой (А) и пораженной (Б) коже больных псориазом и склеродермией

объяснить тяжелыми иммунологическими нарушениями, происходящими как в визуально неповрежденной коже, так и в пораженной коже.

При анализе взаимосвязи экспрессии цитокинов в визуально здоровой коже и количества болезненных суставов нами была выявлена прямая корреляционная зависимость между экспрессией CCL24/эотаксина-2 ( $r = 0,54$ ,  $p = 0,03$ ) и количеством болезненных суставов, а также обратная корреляционная зависимость между CCL3/MIP-1 $\alpha$  ( $r = -0,64$ ,  $p = 0,007$ ) и количеством болезненных суставов.

При изучении показателей экспрессии мРНК хемокинов в зависимости от числа воспаленных суставов была показана обратная корреляционная взаимосвязь с экспрессией CCL3/MIP-1 $\alpha$  в визуально здоровой коже ( $r = -0,53$ ,  $p = 0,03$ ).

Сопоставив данные экспрессии мРНК в биоптатах от пациентов с ПС, мы выявили обратную корреляционную взаимосвязь между экспрессией мРНК CCR5 рецептора в визуально здоровой коже ( $r = -0,57$ ,  $p = 0,02$ ) и болью по VAS. По результатам исследования была выявлена прямая корреляция между индексом PASI и числом болезненных суставов ( $r = 0,55$ ,  $p = 0,03$ ).

## Обсуждение

Псориаз — заболевание, отличающееся длительным течением и разнообразием клинических проявлений. Очевидно, что состояние местных регуляторных взаимодействий, в том числе эффектов хемокинов, имеет большое клинико-диагностическое значение. Хемокины являются

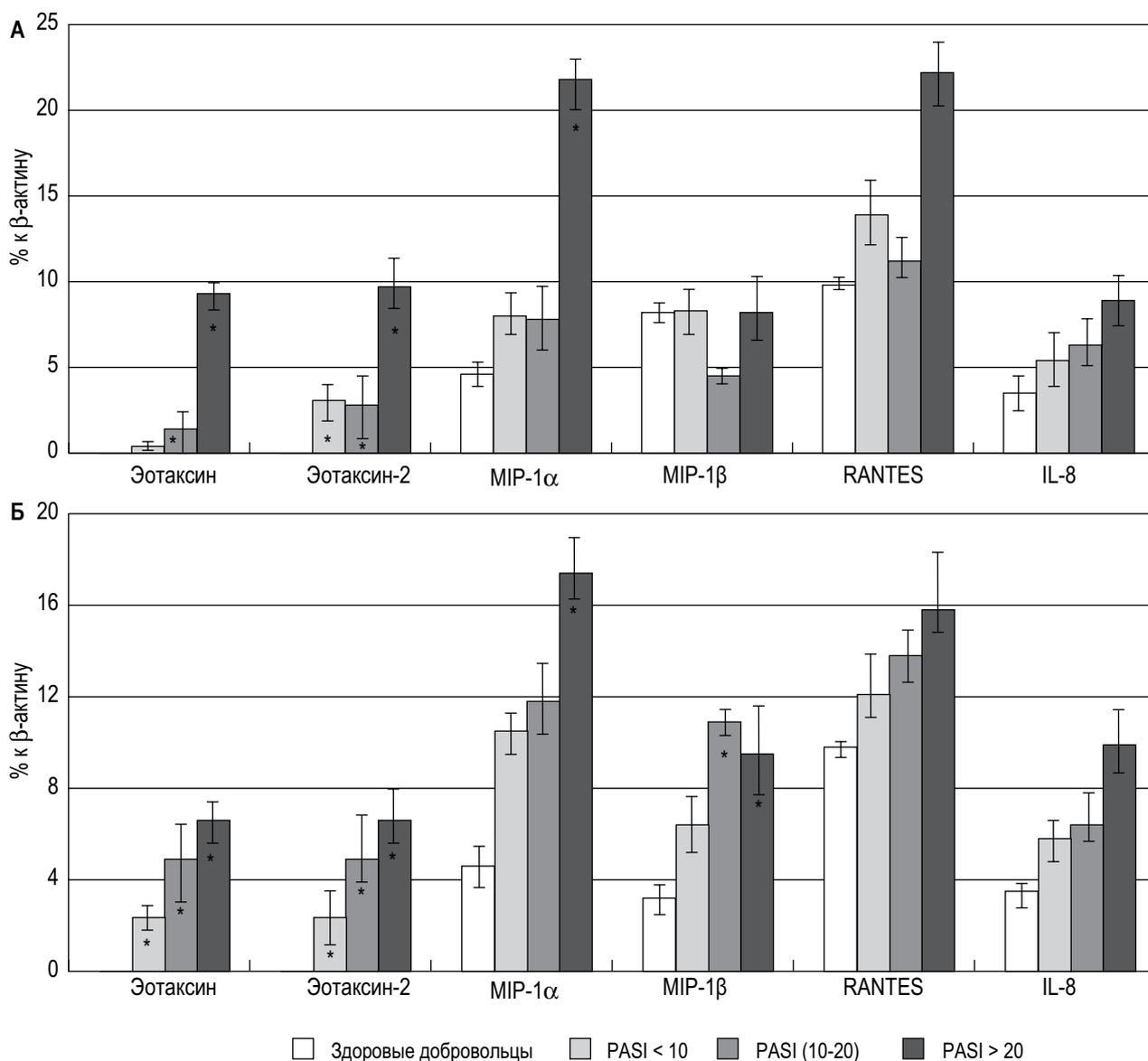


Рисунок 2. Показатели экспрессии мРНК хемокинов в визуально здоровой (А) и пораженной (Б) коже больных с легким (PASI < 10), средним (PASI 10-20) и тяжелым (PASI > 20) течением псориаза

представительным многофункциональным семейством цитокинов, активизирующих направленную миграцию клеток к участкам воспаления. Хемокины индуцируют клеточный ответ, не связанный с лейкоцитарной миграцией. Очевидно, что в качестве пусковых механизмов развития ПС следует рассматривать дисбаланс местных межклеточных регуляторных структур [8, 9], частью которых являются хемокины.

Известно, что в основе развития воспалительной реакции в коже и в суставах при ПС лежит гиперчувствительность замедленного типа, основными участниками которой являются Th1-клетки и макрофаги [10]. Вероятно, эта форма клеточного иммунного ответа у пациентов с ПС до назначения базисной противовоспалительной

терапии является преобладающей, что можно объяснить высокой концентрацией в сыворотке IL-12 и IFN $\gamma$  у больных с более активной формой ПС. IL-12 секретируется активированными клетками (моноциты, дендритные клетки), представляющими антигенный пептид Т-хелперам. IL-12 является фактором, направляющим дифференцировку Т-хелперов в сторону Th1. В свою очередь, Th1 при активации выделяют ряд провоспалительных цитокинов, в том числе и хемокинов [11].

Вместе с тем, в литературе описаны эффекты хемокинов, таких как эотаксин, CCL5/RANTES, MCP-3 и CXCL8/IL-8 на формирование папулезных элементов кожной сыпи [12], а также их участие в воспалительном поражении суставов [13].

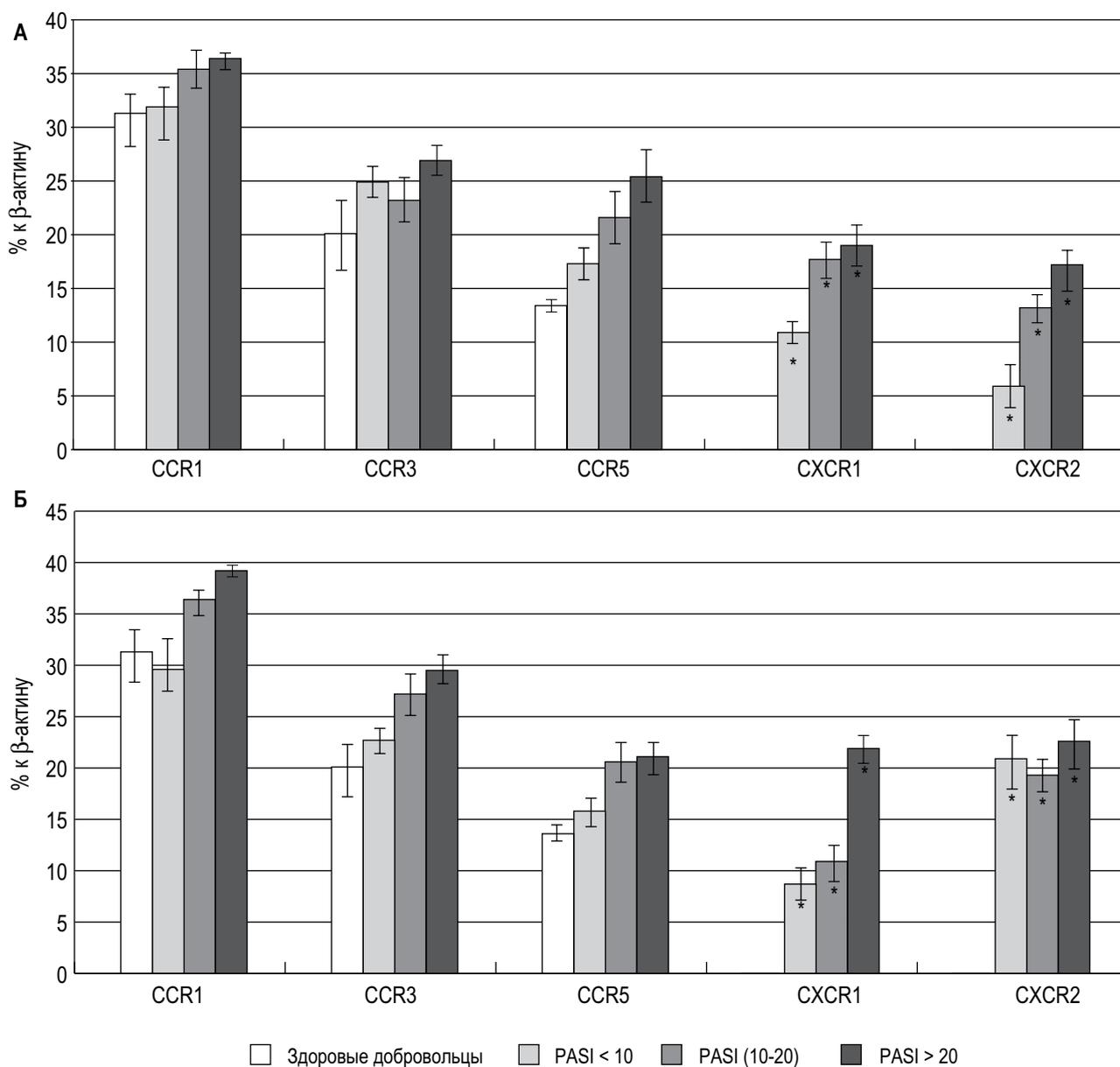


Рисунок 3. Показатели экспрессии мРНК хемокиновых рецепторов в визуально здоровой (А) и пораженной (Б) коже больных с легким (PASI < 10), средним (PASI 10-20) и тяжелым (PASI > 20) течением псориаза

ТАБЛИЦА 3. КОЭФФИЦИЕНТЫ КОРРЕЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ мРНК ХЕМОКИНОВ И ИХ РЕЦЕПТОРОВ С ИНДЕКСОМ PASI

Показатель		Значение индекса PASI		
		< 10	10-20	> 20
CCL11/эотаксин	здоровая кожа	$r = -0,37$ ( $p = 0,46$ )	<b><math>r = 0,69</math> (<math>p = 0,037</math>)</b>	$r = 0,1$ ( $p = 0,81$ )
	пораженная кожа	$r = -0,53$ ( $p = 0,39$ )	$r = 0,38$ ( $p = 0,3$ )	$r = -0,48$ ( $p = 0,28$ )
CCL24/эотаксин-2	здоровая кожа	<b><math>r = -0,94</math> (<math>p = 0,05</math>)</b>	$r = 0,48$ ( $p = 0,18$ )	$r = 0,09$ ( $p = 0,82$ )
	пораженная кожа	$r = -0,42$ ( $p = 0,39$ )	$r = 0,52$ ( $p = 0,14$ )	$r = -0,42$ ( $p = 0,29$ )
CCL3/MIP-1 $\alpha$	здоровая кожа	<b><math>r = -0,93</math> (<math>p = 0,05</math>)</b>	$r = 0,5$ ( $p = 0,17$ )	$r = -0,11$ ( $p = 0,79$ )
	пораженная кожа	$r = 0,31$ ( $p = 0,6$ )	$r = -0,09$ ( $p = 0,81$ )	$r = -0,26$ ( $p = 0,52$ )
CCL4/MIP-1 $\beta$	здоровая кожа	<b><math>r = -0,85</math> (<math>p = 0,03</math>)</b>	$r = 0,16$ ( $p = 0,66$ )	$r = 0,23$ ( $p = 0,57$ )
	пораженная кожа	$r = -0,17$ ( $p = 0,74$ )	$r = 0,25$ ( $p = 0,49$ )	$r = 0,07$ ( $p = 0,86$ )
CXCL8/IL-8	здоровая кожа	$r = -0,15$ ( $p = 0,79$ )	$r = 0,42$ ( $p = 0,25$ )	$r = 0,49$ ( $p = 0,21$ )
	пораженная кожа	$r = 0,46$ ( $p = 0,35$ )	$r = 0,42$ ( $p = 0,21$ )	$r = 0,37$ ( $p = 0,37$ )
CCL5/RANTES	здоровая кожа	$r = -0,08$ ( $p = 0,87$ )	$r = 0,08$ ( $p = 0,83$ )	$r = 0,44$ ( $p = 0,27$ )
	пораженная кожа	$r = -0,74$ ( $p = 0,9$ )	$r = -0,42$ ( $p = 0,25$ )	$r = -0,13$ ( $p = 0,75$ )
CCR1	здоровая кожа	$r = 0,16$ ( $p = 0,7$ )	$r = 0,03$ ( $p = 0,93$ )	$r = 0,45$ ( $p = 0,25$ )
	пораженная кожа	$r = -0,15$ ( $p = 0,79$ )	<b><math>r = 0,82</math> (<math>p = 0,01</math>)</b>	$r = -0,1$ ( $p = 0,79$ )
CCR3	здоровая кожа	$r = 0,16$ ( $p = 0,35$ )	$r = 0,34$ ( $p = 0,51$ )	$r = 0,57$ ( $p = 0,13$ )
	пораженная кожа	$r = -0,74$ ( $p = 0,09$ )	<b><math>r = 0,74</math> (<math>p = 0,02</math>)</b>	$r = -0,2$ ( $p = 0,58$ )
CCR5	здоровая кожа	$r = -0,79$ ( $p = 0,06$ )	$r = -0,18$ ( $p = 0,64$ )	$r = 0,14$ ( $p = 0,73$ )
	пораженная кожа	$r = -0,67$ ( $p = 0,13$ )	<b><math>r = 0,82</math> (<math>p = 0,006</math>)</b>	$r = 0,39$ ( $p = 0,32$ )
CXCR1	здоровая кожа	$r = -0,08$ ( $p = 0,86$ )	$r = -0,13$ ( $p = 0,72$ )	$r = 0,07$ ( $p = 0,86$ )
	пораженная кожа	$r = -0,52$ ( $p = 0,28$ )	$r = 0,56$ ( $p = 0,11$ )	$r = 0,49$ ( $p = 0,21$ )
CXCR2	здоровая кожа	<b><math>r = -0,94</math> (<math>p = 0,005</math>)</b>	$r = 0,08$ ( $p = 0,82$ )	$r = 0,37$ ( $p = 0,37$ )
	пораженная кожа	$r = 0,33$ ( $p = 0,51$ )	$r = 0,21$ ( $p = 0,28$ )	$r = 0,44$ ( $p = 0,27$ )

Примечательно, что цитокины и, в частности, хемокины обладают свойством вызывать гиперпролиферацию эпителиальных клеток. Это патологическое явление имеет ключевое значение при ПС, поэтому обнаружение его пусковых механизмов является основополагающим моментом в изучении патогенеза и разработке методов терапии заболевания.

В экспериментальных работах было установлено, что базовый уровень экспрессии CCL5/RANTES влияет на эффективность проведения дальнейшей терапии [14]. Взаимосвязь экспрессии хемокинов и эффекта проводимой терапии отражает сложные процессы взаимодействия в системе цитокин-рецептор. Szodoray P., Alex P. et al. показали, что IL-10, IL-13, IFN $\alpha$ , эпидермальный фактор роста (EGF), CCL3/MIP-1 $\alpha$ , CCL4/MIP-1 $\beta$  и CCL11/эотаксин значительно повышены у пациентов с ПС и с псориатическим артритом. Эти факторы модулируют патологию ПС и вовлечение суставов в синергической манере [15]. Таким образом, возможным объяснением возникновения ПС может быть изначально измененный уровень экспрессии

хемокинов и рецепторов в коже, что при дополнительных провоцирующих факторах приводит к неконтролируемой пролиферации эпидермоцитов.

Прежде всего, нами было показано, что в коже здоровых волонтеров не экспрессируются эотаксин, эотаксин-2, однако наблюдается экспрессия генов рецепторов для семейства CC хемокинов. В коже здоровых добровольцев экспрессируются гены CCL3/MIP-1 $\alpha$ , CCL4/MIP-1 $\beta$ , CCL5/RANTES, CXCL8/IL-8, однако экспрессия рецепторов для семейства CXC хемокинов не выявлена. Наличие экспрессии хемокинов и рецепторов к ним в коже здоровых волонтеров можно объяснить постоянной, но умеренной антигенной стимуляцией, которой подвергается кожа, как барьерный орган.

У больных ПС независимо от индекса PASI была выявлена достоверно увеличенная экспрессия CCL11/эотаксина, CCL24/эотаксина-2 в биоптатах визуально здоровой и пораженной кожи пациентов по сравнению с кожей здоровых волонтеров. Отмеченные в наших исследованиях закономерности характеризуют возможную

протективную роль эозинофилов в клинической картине кожного поражения.

Была выявлена увеличенная экспрессия CCL3/MIP-1 $\alpha$  в визуально здоровой коже и пораженной коже пациентов с ПС (с индексом PASI более 20) по сравнению с кожей здоровых волонтеров. Экспрессия CCL4/MIP-1 $\beta$  достоверно увеличена в пораженной коже пациентов с ПС (с индексом PASI от 10 до 20 и более 20) по сравнению с кожей здоровых волонтеров. Экспрессия CCL5/RANTES достоверно увеличена в визуально здоровой коже пациентов с ПС (с индексом PASI до 10 и от 10 до 20) по сравнению с кожей здоровых волонтеров. Экспрессия CCL5/RANTES достоверно увеличена в пораженной коже пациентов с ПС (с индексом PASI от 10 до 20) по сравнению с кожей здоровых волонтеров. Показано достоверное увеличение экспрессии (в трех группах по индексу PASI) рецепторов CXCR1, CXCR2 в пораженной коже пациентов и визуально здоровой по сравнению с кожей здоровых волонтеров. Таким образом, с нарастанием индекса PASI происходит увеличение экспрессии мРНК CCL3/MIP-1 $\alpha$  и CCL4/MIP-1 $\beta$ , CCL11/эотаксина, CCL24/эотаксина-2 и рецепторов CXCR1 и CXCR2 в коже пациентов с ПС. Указанный факт можно трактовать как нарушение продукции регуляторных факторов (хемокинов и рецепторов) в патологически измененной ткани, возможно, вследствие нарушения регуляторных взаимодействий.

У пациентов с индексом PASI менее 10 выявлена обратная корреляционная зависимость между экспрессией генов CCL24/эотаксина-2, CCL3/MIP-1 $\alpha$ , CCL4/MIP-1 $\beta$  и рецепторов CCR5 и CXCR2, в визуально здоровой коже. Показана прямая корреляционная зависимость между экспрессией гена CCL11/эотаксина в визуально неповрежденной коже и экспрессией рецепторов CCR1, CCR3 и CCR5 в пораженной коже при индексе PASI от 10 до 20, что отражает изменение протективной роли этих молекул. Указанный факт можно трактовать как нарушение продукции регуляторных факторов (хемокинов и рецепторов) как в патологически измененной ткани, так и в визуально неповрежденной коже.

Корреляционных зависимостей в группе с PASI более 20 не было выявлено. Возможно, это объясняется тяжелыми иммунологическими нарушениями, происходящими как в визуально неповрежденной коже, так и в пораженной коже.

Патогенетическое значение экспрессии CCL3/MIP-1 $\alpha$  в развитии псориатического артрита подтверждается при сопоставлении экспрессии мРНК хемокина с количеством болезненных суставов и числом воспаленных суставов. Установленная обратная зависимость между содержа-

ем мРНК CCL3/MIP-1 $\alpha$  в коже и количеством болезненных суставов и числом воспаленных суставов иллюстрирует уменьшение способности синовия к синтезу хемокина по мере развития заболевания.

Закономерности, обнаруженные при сопоставлении параметра боли по VAS и содержания мРНК с экспрессией CCR5 рецептора в визуально здоровой коже (обратная взаимосвязь между увеличением боли и содержанием мРНК), возможно, характеризуют компенсаторное уменьшение синтеза указанного хемокинового рецептора в ответ на прогрессирование псориатического артрита. Обратная зависимость между синтезом CCL3/MIP-1 $\alpha$  в визуально здоровой коже и числом воспаленных суставов отражает вероятную роль этого хемокина в качестве сдерживающего фактора в развитии патологического процесса.

По результатам исследования была выявлена прямая корреляция между индексом PASI и числом болезненных суставов, что отражает активность и тяжесть течения процесса.

Таким образом, в данной работе впервые выявлены закономерности содержания мРНК хемокинов и соответствующих рецепторов в зависимости от распространенности и тяжести течения псориаза, выявлена зависимость и корреляция с индексами прогрессии данной патологии, индексами VAS и PASI. Полученные результаты указывают на возможную взаимосвязь тяжести течения процесса и синтеза отдельных хемокинов, а также взаимодействия в системе хемокин-рецептор, что позволяет говорить о существенной роли этого класса молекул в развитии псориаза и псориатического артрита. Повышенная экспрессия некоторых хемокинов и хемокиновых рецепторов в биоптатах визуально здоровой кожи больных ПС позволяет рассматривать эти молекулы в качестве потенциальных биомаркеров заболевания, что особенно важно при дебюте ПС с суставных проявлений.

## Список литературы

1. Коган К.М. Спектр клинических проявлений псориатического артрита: Метод. рекомендации. — М., 2006.
2. Федосеев Г.Б., Игнатов Ю.Д. Синдромальная диагностика и базисная фармакотерапия заболеваний внутренних органов. Т. 1. — СПб: «Нордмедиздат», 2004. — С. 74-75.
3. Wewers M.E., Lowe N.K. A critical review of visual analogue scales in the measurement of clinical phenomena // Res. Nurs. Health. — 1990. — Vol. 13. — P. 227-236.
4. de Groot M., Teunissen M.B., Ortonne J.P., Lambert J.R., Naeyaert J.M., Picavet D.I., Arreaza M.G., Simon J.S., Kraan M., Bos J.D., de Rie M.A.

Expression of the chemokine receptor CCR5 in psoriasis and results of a randomized placebo controlled trial with a CCR5 inhibitor // Arch. Dermatol. Res. – 2007. – Vol. 299, N 7. – P. 305-313.

5. Kang S., Voorhees J.J. Immunopathogenesis // Textbook of psoriasis / Ed. by Van de Kerkhof P. – Oxford: Blackwell Science, 1999. – P. 106-118.

6. Nickoloff B.J. The immunologic and genetic basis of psoriasis // Arch. Dermatol. – 1999. – Vol. 135. – P. 1104-1110.

7. Nomura I., Goleva E., Howell M.D., Hamid Q.A., Ong P.Y., Hall C.F., Darst M.A., Gao B., Boguniewicz M., Travers J.B., Leung D.Y. Cytokine milieu of atopic dermatitis, as compared to psoriasis, skin prevents induction of innate immune response genes // J. Immunol. – 2003. – Vol. 171, N 6. – P. 3262-3269.

8. Godi A. New approaches to psoriasis treatment // Acta Dermatoven. – 2004. – Vol 13, N2. – P. 50-57.

9. Prinz J.C. Psoriasis vulgaris, a sterile antibacterial skin reaction, mediated by cross-reactive T-cells. An immunological view on the pathophysiology of psoriasis // Clin. Exp. Dermatol. – 2001. – Vol. 26. – P. 326-332.

10. Schlaak J.F., Buslau M., Jochum W., Hermann E., Girndt M., Gallati H., Meyer zum Büschelfelde K.H., Fleischer B. T cells involved in psoriasis vulgaris belong to the Th1 subset // J. Invest. Dermatol. – 1994. – Vol. 102, N 2. – P. 145-149.

11. Turka L.A., Goodman R.E., Rutkowski J.L., Sima A.A., Merry A., Mitra R.S., Wrono-Smith T., Toews G., Strieter R.M., Nickoloff B.J. Interleukin 12: a potential link between nerve cells and the immune response in inflammatory disorders // Mol. Med. – 1995. – Vol. 1, N 6. – P. 690-699.

12. Yawalkar N., Shrikhande M., Hari Y., Nievergelt H., Braathen L.R., Pichler W.J. Evidence for a role for IL-5 and eotaxin in activating and recruiting eosinophils in drug-induced cutaneous eruptions // J. Allergy Clin. Immunol. – 2000. – Vol. 106, N 6. – P. 1171-1176.

13. Ghoreschi K., Weigert C., Röcken M. Immunopathogenesis and role of T cells in psoriasis // Clin. Dermatol. – 2007. – Vol. 25, N 6. – P. 574-580.

14. Macchioni P., Boiardi L., Meliconi R., Pulsatelli L., Maldini M.C., Ruggeri R., Facchini A., Salvarani C. Serum chemokines in patients with psoriatic arthritis treated with cyclosporin A // J. Rheumatol. – 1998. – Vol. 25, N 2. – P. 320-325.

15. Szodoray P., Alex P., Chappell-Woodward C.M., Madland T.M., Knowlton N., Dozmorev I., Zeher M., Jarvis J.N., Nakken B., Brun J.G., Centola M. Circulating cytokines in Norwegian patients with psoriatic arthritis determined by a multiplex cytokine array system // Rheumatology (Oxford). – 2007. – Vol. 46, N 3. – P. 417-425.

*поступила в редакцию 12.01.2008  
принята к печати 27.05.2008*