

МОНИТОРИНГ ЭКСПРЕССИИ НЕКОТОРЫХ БЕЛКОВ КОЖИ ПРИ АУТОИММУННЫХ БУЛЛЕЗНЫХ ДЕРМАТОЗАХ

Махнева Н.В., Белецкая Л.В.

ГУ МОНИКИ им. М.Ф.Владимирского,
ГНЦ трансплантологии и искусственных
органов имени акад. В.И.Шумакова,
Москва, Россия

В настоящее время аутоиммунные заболевания относятся к числу основных медицинских проблем, требующих внимания. Современная медицина обладает целым рядом эффективных средств, позволяющих успешно подавлять развитие патологического процесса при аутоиммунных состояниях. Однако, несмотря на клиническую видимую эффективность проводимой терапии, риск развития обострения патологического процесса остается значительным. Данные иммунопатологического исследования показывают, что не всегда удается «подавить» процесс. Наличие специфических фиксированных иммуноглобулинов как в нерастворимой, так и в растворимой формах и ранних компонентов комплемента в тканевых структурах свидетельствует об активно происходящих процессах в организме человека и под действием дополнительных факторов возможно возникновение обострения болезни (аутоиммунного буллезного дерматоза), что требует постоянного приема поддерживающих доз кортикостероидов.

Отсутствие полного подавления патологического процесса с помощью широко используемых известных препаратов и методов, разнообразие клинической картины одного и того же буллезного дерматоза или сходство различных буллезных дерматозов заставляет специалистов продолжать углубленные исследования по изучению патогенеза аутоиммунных буллезных дерматозов с использованием молекулярно-биологических методов.

При использовании препаратов моноклональных или поликлональных антител к антигенам ряда тканевых структур кожи с целью изучения молекулярно-биологических сдвигов в тканях при аутоиммунных буллезных дерматозах были отмечены особенности, характерные для каждого заболевания аутоиммунного происхождения (пузырчатка, буллезный пемфигоид, линейный IgA-зависимый буллезный дерматоз, приобретенный буллезный эпидермолиз).

При определении экспрессии *молекул клеточной адгезии кадгеринового комплекса* с помощью моноклональных антител выявлено, что при аутоиммунных буллезных дерматозах

происходит нарушение экспрессии кадгеринового комплекса вплоть до его исчезновения и проявления в тех структурах эпидермиса, где в норме он отсутствует. Так, извращенная экспрессия кадгеринов в зоне базальной мембраны эпидермиса выявлена в большинстве случаев (72,7%) аутоиммунных буллезных дерматозов с поражением дермо-эпидермального соединения и в ряде случаев (26,1%) разных форм аутоиммунной пузырьчатки, включая формы паранеопластического генеза. Интересно, что при буллезном пемфигоиде и приобретенном буллезном эпидермолизе в месте образования подэпидермального пузыря экспрессия кадгеринового комплекса выявлена как на покрывшке пузыря, так и на его дне. Но выраженная иммуногистохимическая реакция наблюдалась в месте локализации антигена-мишени. Вероятно, под действием патогенетических факторов происходит переключение экспрессии генов одних клеток на гены других (при подавлении одних и активации других). Кроме того, при аутоиммунной пузырьчатке вопреки логическому мышлению выявлено парадоксальное явление усиления экспрессии кадгеринового комплекса в местах формирования внутриэпидермального пузыря. Это связано, по-видимому, с компенсаторным эффектом этих молекул адгезии.

При определении экспрессии *десмосомально-го протеина десмоплакина изоформы I* с помощью моноклональных антител выявлено, что при аутоиммунных буллезных дерматозах наблюдается нарушение экспрессии десмоплакина в виде изменения интенсивности иммуногистохимической реакции в десмосомах вплоть до ее исчезновения и появления извращенной экспрессии данного десмосомального протеина в цитоплазме кератиноцитов и в зоне базальной мембраны эпидермиса, где в норме он отсутствует. Экспрессия данного протеина в зоне базальной мембраны эпидермиса отмечена во всех случаях паранеопластической пузырьчатки и в ряде случаев (16,7%) вульгарной и листовидной пузырьчатки. В случаях аутоиммунных буллезных дерматозов с поражением дермо-эпидермального соединения фиксация антител к десмосомальному протеину выявлялась на дне пузыря (в месте локализации lamina densa). Кроме того, выявлено нарушение экспрессии десмосомального протеина вплоть до его полного исчезновения в базальном и шиповатом слоях эпидермиса с разрывом межклеточных контактов не только в случаях аутоиммунной пузырьчатки, но и в случаях аутоиммунных буллезных дерматозов с поражением дермо-эпидермального соединения, особенно при приобретенном буллезном эпидермолизе. Все это свидетельствует о том, что десмосомальный протеин-десмоплакин I может быть непосредствен-

ной мишенью для аутоантител как в случае пузырчатки или страдать опосредованно как при буллезном пемфигоиде, линейном IgA-зависимом буллезном дерматозе и приобретенном буллезном эпидермолизе с проявлением его извращенной экспрессией в lamina densa базальной мембраны эпидермиса. Подобную картину можно наблюдать и при пузырчатке паранеопластического генеза.

Повреждение «кадгерин-десмоплакинового» комплекса приводит к нарушению процессов пролиферации и дифференцировки кератиноцитов. Этому свидетельствуют изменения локализации **цитокератина 5** в коже больных, страдающих аутоиммунными буллезными дерматозами. Так, при определении синтеза цитокератина 5 клетками базального слоя эпидермиса больных аутоиммунной пузырчаткой и аутоиммунными буллезными дерматозами с поражением дермо-эпидермального соединения с помощью моноклональных антител была выявлена иммуногистохимическая картина дефекта синтеза цитокератина 5 клетками камбиального слоя эпидермиса, выражающегося в одновременном проявлении участков отсутствия экспрессии цитокератина или его истощения (экспрессия остается только в местах соединения полудесмосом кератиноцитов с базальной мембраной) и «возбуждения» синтеза или сохранения ранее синтезируемого белка в цитоплазме не только клеток базального, но и клеток дифференцированных слоев эпидермиса. Последнее явление наиболее выражено в случаях первично диагностируемой вульгарной пузырчатки. Снижение синтеза кератина 5 вплоть до полного его подавления на большем протяжении исследуемого материала наблюдали в случаях паранеопластической пузырчатки и буллезного пемфигоида. Такие дефекты синтеза цитокератина 5 связаны с воздействием на структуры ткани аутоантител и комплемента с последующим вовлечением дополнительных патогенетических факторов (цитокины, ферменты, медиаторы). Последние в норме являются ответственными за процессы размножения (пролиферации) и созревания (дифференцировки) клеточных элементов.

При исследовании антигенов базальной мембраны (коллаген IV типа и белковый комплекс основного вещества lamina densa) кожи больных аутоиммунными буллезными дерматозами с помощью поликлональной сыворотки и моноклональных антител была выявлена разная иммуноморфологическая картина. Так, при исследовании биоптатов кожи относительно состояния **коллагена IV типа** базальной мембраны эпидермиса и сосудов практически во всех исследованных случаях выявлена картина нарушения локализации и синтеза коллагена IV типа базальной мембраны эпителия и сосудов ($p > 0,05$). Практически

во всех случаях аутоиммунной пузырчатки независимо от ее клинических форм проявления на большом протяжении наблюдались разрыхление базальной мембраны с участками отсутствия реакции иммунофлюоресценции в зоне базальной мембраны и явлениями секвестрации коллагена на поверхность кожи. Это можно объяснить токсическим действием иммунных комплексов на различные структуры тканей, в частности базальной мембраны кожи. В результате этого происходит в большей или меньшей степени либо нарушение нормальной продукции коллагена мембраны эпителия, либо нарушение сборки коллагеновых волокон. При этом благодаря естественному пути элиминации белков, не связанных со структурами тканей, выявляется материал, положительно реагирующий с сывороткой к коллагену IV типа в эпителии и на его поверхности. Подобную картину наблюдали и при аутоиммунных буллезных дерматозах с поражением дермо-эпидермального соединения. Однако наиболее интенсивное разрушение базальной мембраны эпидермиса наблюдали при буллезном пемфигоиде, т. к. при данной патологии аутоантитела направлены непосредственно к антигенами полудесмосом и lamina lucida базальной мембраны, прилегающей к коллагеновым волокнам. При этом в месте образования подэпидермального пузыря коллаген IV типа выявлялся на его дне. При приобретенном буллезном эпидермолизе коллаген данного типа выявлялся как на дне, так и на крышке подэпидермальных пузырей одновременно или раздельно.

При исследовании состояния **белкового комплекса lamina densa** во всех исследуемых случаях аутоиммунных буллезных дерматозов выявлено вовлечение в патологический процесс базальной мембраны эпидермиса в виде ее разрыхления или утолщения с участками отсутствия реакции иммунофлюоресценции в зоне базальной мембраны и явлением секвестрации этого белкового материала на поверхность кожи ($p < 0,05$). Это можно объяснить повреждающим действием иммунных комплексов на клетки, синтезирующие основное вещество базальной мембраны, в результате которого нарушается нормальная продукция ее белков. Факт выявления материала, положительно реагирующего с моноклональными антителами, подтверждает наличие выделительной функции кожи. Кроме того, в месте образования подэпидермальных пузырей при буллезном пемфигоиде и приобретенном буллезном эпидермолизе иммуногистохимическая реакция отмечена в большинстве случаев только на дне пузыря, реже одновременно или раздельно на дне и крышке пузыря.

При определении экспрессии **антигенов главного комплекса гистосовместимости**

класса I с помощью моноклональных антител при аутоиммунных буллезных дерматозах, включая аутоиммунную пузырчатку, буллезный пемфигоид, линейный IgA-зависимый буллезный дерматоз и приобретенный буллезный эпидермолиз была выявлена разная степень экспрессии HLA I класса на поверхности кератиноцитов и эндотелия сосудов вплоть до полного ее угнетения. Нарушение экспрессии этих антигенов происходит не только под влиянием иммуносупрессивных препаратов, но и под влиянием цитотоксического действия аутоантител с вовлечением их в патологический процесс, сопровождающийся повреждением поверхности кератиноцитов, секвестрацией HLA I положительного материала на поверхность кожи и появлением антигена в локализациях, где в норме он отсутствует. Так, при приобретенном буллезном эпидермолизе выявлена экспрессия HLA I класса в зоне базальной мембраны эпидермиса. Кроме того, в случаях аутоиммунных буллезных дерматозов паранеопластического генеза выявлено полное отсутствие экспрессии данных антигенов на поверхности кератиноцитов, что может быть связано с выработкой при опухолевом процессе аутоантител, направленных к ряду тканевых антигенов, в том числе и к антигенам HLA I класса.

При исследовании экспрессии **антигенов главного комплекса гистосовместимости класса II (HLA-DR)** с помощью моноклональных антител у больных, страдающих аутоиммунным процессом отмечена экспрессия HLA-DR антигенов на эндотелиальных клетках сосудов дермы и клетках Лангерганса. При этом клетки Лангерганса выявлялись в разной степени активности с их неравномерным распределением по эпидермису и нередко в дермо-эпидермальном соединении, особенно в очагах поражения и в месте образования пузырей. В большинстве случаев экспрессия HLA-DR антигенов выявлялась на цитоплазматической мембране кератиноцитов и на поверхности кожи, что связано с выраженным нарушением механизмов регуляции экспрессии и в результате – изменением локализации белков данного класса гистосовместимости. В ряде случаев у пациентов с впервые выявленным аутоиммунным процессом обнаружено угнетение или полное подавление экспрессии HLA-DR антигенов на эндотелии сосудов верхнего отдела дермы и клетках Лангерганса. Это позволяет предположить, что последние могут выступать в качестве мишени для аутореактивных Т-лимфоцитов и аутоантител. Нарушение регуляции экспрессии генов HLA II класса и их белковых продуктов является одним из важных механизмов, лежащих в основе развития аутоиммунных процессов и иммунологической недостаточности. Подобную картину угнетения или подавления экспрессии

HLA-DR антигенов можно наблюдать и при наличии неопластического процесса, и при длительном приеме иммуносупрессивных препаратов.

Таким образом, результаты приведенного исследования свидетельствуют о том, что аутоиммунные буллезные дерматозы представляют собой гетерогенную группу заболеваний с вовлечением в общий иммунопатологический процесс различных структур тканей кожи, в частности ее клеточных элементов. Вовлечение одновременно разных антигенов-мишеней приводит к широкому спектру их клинических проявлений. Некоторые исследователи высказывают мысль о существовании смешанных аутоиммунных буллезных дерматозов. Такое разнообразие проявлений болезни, даже у одного и того же больного требует постановки точного диагноза с использованием современных молекулярно-биологических методов исследования, включая методы меченых антител. Все это подводит к созданию базы по изучению состояния молекулярных соединений кожи с целью разработки методов дифференциальной диагностики и осуществления контроля за качеством лечения и подбора лекарственных средств. Эффективность проводимой терапии можно контролировать выявлением и оценкой экспрессии различных белковых компонентов в структурах тканей. Приближаясь к генетическому уровню (выявление и оценки экспрессии генов), задачей современной медицины является вмешательство в геном с целью исправления синтеза того или иного вещества. Но эта проблема будущего.

СИСТЕМНАЯ ОЦЕНКА КРОВООБРАЩЕНИЯ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ПРОГНОЗА БОЛЬНЫХ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Медведев Н.В., Горшунова Н.К.,
Бец А.Н., Лебедев А.Ю.

*Государственный медицинский
университет, Курск, Россия*

С целью оценки внутрисистемных связей показателей, определяющих эффективность функционирования системы кровообращения у лиц пожилого возраста, страдающих артериальной гипертензией с различной выраженностью ее недостаточности обследованы 227 пациентов пожилого возраста, 167 женщин и 60 мужчин (средний возраст – $68,7 \pm 2,8$ года), страдающих АГ II стадии (основную группу) и 35 лиц аналогичного возраста без сердечно-сосудистой патологии