

## ЦЕРАМИДНЫЙ ОБМЕН ПРИ ВИЧ-АССОЦИИРОВАННОМ ПСОРИАЗЕ, КАК ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АСПЕКТ ОСЛОЖНЁННОГО ТЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ

Пристром И. Ю.

Научный руководитель: доц., канд.биол.наук Барабанова Е. М.

Белорусский государственный медицинский университет,  
кафедра биологической химии, г. Минск

**Ключевые слова:** сфинголипиды, псориаз, ВИЧ, церамиды, дерматоз.

**Резюме.** В данной работе изучены биохимические особенности обмена церамидов у пациентов с ВИЧ-ассоциированным псориазом. В ходе исследования было выявлено, что дебют псориаза нередко совпадал с периодом обнаружения антител к ВИЧ. Особенностью течения псориаза при ВИЧ-инфекции являлось то, что при данном иммунодефиците течение дерматоза имело осложненный характер, что в дальнейшем способно приводит развитию негативных процессов.

**Resume.** In this work, biochemical features of ceramide metabolism in patients with HIV-associated psoriasis have been studied. The study found that the debut of psoriasis often coincided with the period of detection of antibodies to HIV. A feature of the course of psoriasis in HIV infection was that during this immunodeficiency the course of dermatosis acquired a complicated character, which in the long run leads to the development of negative processes.

**Актуальность.** Псориаз – рецидивирующий мультифакториальный дерматоз, характеризующийся хроническим течением и поражающим, по данным ВОЗ, около 2-5% населения. До настоящего времени не установлены точные механизмы возникновения данного дерматоза. Причинами появления псориазических высыпаний служат множество факторов, таких как психо-эмоциональное состояние пациента, нарушение работы систем клеточного и гуморального гомеостаза, инфекции, дисгармонические отклонения в биохимических процессах организма и др. В данной научной работе исследуются процессы, происходящие в организме в целом, так и непосредственно в пораженных псориазом участках эпидермиса, а именно иммунологическая и биохимическая составляющая процесса. В частности изучению подлежит взаимосвязь нарушений клеточного иммунитета человека на примере наличия вторичного иммунодефицита, обусловленного вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), и дисбаланса особых липидных компонентов эпидермиса человека, входящих в подкласс липидов, относящихся к типу сфинголипидов – церамидов. Всего известно порядка 12 типов церамидов, присутствующих в эпидермисе человека: тип №1 - EOS, тип №2 - NS, тип №3 - NP, тип №4 - EOH, тип №5 - AS, тип №6 - AP, тип №7 - AH, тип №8 - NH, тип №9 – EOP, тип №10 – NDS, тип №11 – ADS, а также обобщенный 12-й тип – OS и OH (образуют ковалентные связи). Функции, выполняемые данными соединениями довольно разнообразны, они включают в себя: транскутанную регуляцию водного обмена, влияние на дифференцировку кератиноцитов, участвуя в качестве вторичных мессенджеров, контроль скорости десквамации [1]. Известно, что при псориазе наблюдается дисбаланс данных липидных молекул, что приводит к нарушению пролиферативной активности, снижению защитных свойств кожи и другим патологическим процессам. Причиной количественного изменения церамидов принято считать нарушение в работе кислой и

нейтральной сфингомиелиназ. По проведенным ранее исследованиям, имеются следующие данные, подтверждающие о количественном изменении керамидного состава пораженных участков кожи при псориазе: относительное содержание керамидов 1(EOS), 3(NP) и 6(AP) было снижено на 40, 65 и 55%, а вот содержание керамидов 2(NS) и 5(AS) наоборот было повышено на 33 и 65%, что в свою очередь объясняет некоторые процессы, усугубляющие течение данного дерматоза [2]. Однако в основе патогенеза заболевания также неоспоримо значительную роль играет иммунная система организма. В результате действия триггерных факторов в уязвимых областях происходит процессинг аутоантигенов клетками Лангерганса, которые в дальнейшем мигрируя, передают «псориатический» антиген «наивным» Т-хелперам(Th0) и активизируют их через ГКГС. Далее, активированные антигенпрезентирующие клетки (Th17) стимулируют пролиферацию Т-киллеров(Tc17) и Т-хелперов 1го типа(Th1), которые способны секретировать вещества, участвующие в передаче определенных сигналов: IL-17, IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  – усиление воспаления, IL-22 – повышение пролиферативной способности и нарушение процессов созревания и дифференцировки кератиноцитов. Воздействуя на кератиноциты запускается каскад реакций, приводящих к состоянию «порочного круга»: клетки эпидермиса реагируя на цитокины, выделяемые дендритными и Т-клетками начинают выделять IL-1, IL-6, ФНО- $\alpha$ , только повышая процесс размножения других кератиноцитов, гибнущие незрелые клетки эпидермиса в результате апоптоза высвобождают ДНК, которая является дополнительным антигенным стимулом, что в свою очередь усиливает воспаление [3]. Таким образом болезнь приобретает хроническое течение и имеет формы, довольно тяжело поддающиеся лечению. Интерес в данной работе представляет механизм, основанный на парадоксальном течении псориаза у больных ВИЧ-инфекцией. При лечении псориатической болезни одним из направлений является иммуносупрессивная терапия, которая направлена на снижение количества клеток Т-ряда или их активности для облегчения течения, а как известно, снижение клеток Т-ряда наблюдается при ВИЧ. Но парадоксальным является тот факт, что с усилением вирусной нагрузки и уменьшения количества циркулирующих Т-клеток(CD4+), псориаз у больных ВИЧ/СПИД обостряется и принимает агрессивное течение. По принятой в настоящее время гипотезе, причиной ухудшения течения данного дерматоза у пациентов с ВИЧ/СПИД является гиперактивация CD8+ Т-киллеров, обусловленная патологическим снижением уровня и измененная активность Т-хелперов(CD4+), что и приводит к усилению обострения псориаза [4]. Одним из факторов усиления воспалительного процесса и гиперпролиферации кератиноцитов у пациентов с ВИЧ-инфекцией возможно также служит дисбаланс керамидов в очаге поражения. Известно, что вирус иммунодефицита увеличивает экспрессию рецептора апоптоза(CD95+) на клетках иммунного ответа, данный рецептор относится к типу Fas-рецепторов, лигандом которого выступают керамиды 2 типа, повышение уровня которого возможно является причиной еще большего снижения количества Т-хелперов (CD4+) в пораженном участке. В дополнение к данному процессу известно, что AP-керамид также является индуктором апоптоза: оказывая дефосфорилирующее действие на Akt в комплексе PKB/Akt, он переформирует передаваемый сигнал на белки mTOR и тем самым изменяет пролиферативную активность эпителиальных клеток на апототическую[5]. Однако как известно, при псориазе его количество значительно снижается, что может приводить к

активации процесса, обратного апоптозу, так как РКВ/Акт не дефосфорилируется, что приводит к инактивации каспаз-8,9, активации **NF-κB** фактора, фосфорилированию проапоптотического белка Bad и тд.. Таким образом наблюдается параллель между изменением уровня церамидов и нарушением деятельности CD4+-клеток и их влиянию на патологические процессы, происходящие при псориазе.

**Цель:** Изучить особенности обмена сфинголипидов у пациентов с ВИЧ-ассоциированным псориазом, а также выявить причину осложнения процессов течения данного дерматоза у пациентов с вирусным иммунодефицитом.

**Материалы и методы.** Были исследованы данные историй болезни 6 пациентов, находящихся на стационарном и амбулаторном лечении ГИКБ г.Минска с диагнозом «ВИЧ-инфекция» и наличием осложнения в виде псориаза. В качестве контрольной группы в исследовании участвовало 6 ВИЧ-отрицательных пациентов с псориазом. Исследования иммунного статуса проводились путем анализа количества Т-лимфоцитов, «вирусной нагрузки» и иммунорегуляторного индекса. Так как лимфоциты играют значимую роль в патогенезе псориаза, с помощью проточной цитометрии (FACSCalibur (Becton Dickinson Co., USA)) был определен процент лимфоцитов в соскобах эпидермиса исследуемых больных. Процент определяли по гейту, соответствующему лимфоцитам на каналах FSC/SSC. Предварительно клетки окрашивали моноклональными антителами (CD3 – к Т-лимфоцитам, CD19 – к В-лимфоцитам) для подтверждения локализации лимфоцитов в данном гейте. С целью определения лимфоцитов (CD4+ CD95+) в периферической крови был использован метод прямого двухпараметрического иммунофлюоресцентного окрашивания. Против CD4+-клеток были использованы FITC-меченные МКА (анти CD4FITC, IgG2a), против CD95+-меченные PE антитела (CD95PE, IgG1), далее осуществляли цитофлюориметрию. Полученные данные анализировали с помощью программы CellQuest. Статистическая обработка проводилась с помощью программного софта IBM SPSS Statistics.

**Результаты и их обсуждение.** Исследуемая группа людей состояла из 4-х мужчин и 2-х женщин, группа контроля состояла из 3-х мужчин и 3-х женщин в возрасте от 23 до 46 лет (ср. возраст составил 34,5 года). На момент исследования среди ВИЧ-инфицированных у 4-х (66,5%) была 3 клиническая стадия ВИЧ (протокол ВОЗ по лечению и предупреждению ВИЧ/СПИД, 2006 г.), 2 пациента имели 2 (16,75%) и 4 (16,75%) стадии соответственно. ВИЧ-инфекция у пациентов длилась от 2-х месяцев до 6-ти лет. Давность появления первых псориазических поражений среди всех пациентов (исследуемых и контроль) составила от 4-х недель до 18 лет. Среди ВИЧ-инфицированных дебют псориаза с момента обнаружения в крови антител к ВИЧ был отмечен у 3-х человек, у остальных же данный дерматоз присутствовал ранее. Наличие отягощенного наследственного анамнеза по псориазу подтвердили 4 человека. В исследуемой группе у 4-х пациентов псориаз находился в прогрессирующей форме, остальные имели стационарную форму дерматоза. Среди контрольной группы 5 пациентов имели стационарную и стационарно-регрессирующую форму заболевания, 1 пациент – прогрессирующую. При исследовании иммунного статуса пациентов с ВИЧ были изучены показатели количества Т-лимфоцитов (CD4+ и CD8+), которые составили 15-534 кл/мкл по CD4+ (при норме 470-1300 кл/мкл) и 78-1760 кл/мкл по CD8+ (при норме 208-796 кл/мкл). Иммунорегуляторный индекс у всех лиц исследуемой группы был ниже

нормы в 1,6-2 раза. Вирусная нагрузка среди пациентов с ВИЧ была довольно высокой и составила 80 000 до 3 000 000 копий/мл, у всех наблюдалась активная репликация вируса и выраженный иммунодефицит по Т-клеточному звену. При исследовании иммунного статуса пациентов контрольной группы бы получены следующие показатели: количество CD4-лимфоцитов составило 870-1180 кл/мкл, а CD8-лимфоцитов – 340-508 кл/мкл. Иммунорегуляторный индекс составил  $2,0 \pm 0,02$ .

Далее, с целью установления роли Т-лимфоцитов в патологических процессах, происходящих непосредственно в очагах поражения в методом проточной цитометрии (FACSCalibur (Becton Dickinson Co., USA)) был определен процент содержания Т-клеток в обеих группах. Был получен следующий результат: процент содержания Т-лимфоцитов в контрольной группе составил  $3,98 \pm 0,07\%$ , в группе ВИЧ-инфицированных -  $2,91 \pm 0,11\%$ , при норме  $2,67 \pm 0,02\%$ , что подтверждает снижение количество Т-хелперов у пациентов с вирусом.

Для подтверждения роли апоптоза Т-хелперов в патогенезе псориаза было определено количество CD4+ CD95+ в периферической крови. Процентное содержание CD4+-лимфоцитов, экспрессирующих Fas-рецептор в исследуемой группе было выше, что обусловлено наличием ВИЧ, несмотря на общее снижение количества Т-хелперов(CD4+).(таблица 2) При статистическом анализе полученных данных была получена умеренная корреляционная зависимость между уровнем экспрессии CD4+CD95+ и степенью тяжести течения псориаза по индексу PASI ( $r = 0,51$ ,  $p \leq 0,05$ ).

Исходя из полученных нами данных, а также данных изученной научной литературы о количественном изменении церамидов в составе кожных покровов у пациентов с псориазом возможно предположить, что изменения в экспрессии CD95+-рецепторов у пациентов с ВИЧ-инфекцией является одним из факторов, способствующих осложнению течения псориаза, так как повышение данного типа рецепторов ведёт к усиленному апоптозу CD4+-лимфоцитов и изменению их активности, что служит запуском процесса гиперактивации CD8+ Т-киллеров в очаге поражения. Так по данным литературы известно об изменении количества церамида 2-го типа (повышение на 33%) – данный церамид является лигандом к рецепторам апоптоза и повышение его содержания в очагах поражения может приводить к ещё большему усилению апоптотических процессов Т-хелперов. Также известно, что при псориазе снижается количество церамида 6-го типа, снижение данного типа на 55% также может служить триггерным фактором в обострении псориазического процесса, так как нарушается работа РКВ/Акт эпителиоцитов, что может приводить к потере контроля клетки над процессами пролиферации и апоптоза и вести к ухудшению течения болезни. Нарушения содержания остальных же типов церамидов приводит к сбоям в работе защитной функции кожи, а так же систем транскутанного водного обмена (церамиды 1, 3, 5-го типов). Таким образом повышение экспрессии рецептора апоптоза у ВИЧ-инфицированных, а также изменение количества церамидов NS и AP возможно служит патологическим механизмом, являющимся причиной нарушения нормальной пролиферативной активности кератиноцитов и ведёт к обострению течения псориаза у пациентов с вирусом.

### **Выводы:**



4) В ходе исследования были получены результаты, свидетельствующие о роли клеток иммунной системы, а также сфинголипидов кожи в патогенезе псориаза у пациентов с ВИЧ и без него;

5) Разработана гипотеза, о причине осложнения течения псориаза при ВИЧ, обусловленная изменением содержания керамидов, в частности 2 и 6 типов и их влиянии на деятельность Т-клеток и кератиноцитов;

6) Полученные данные свидетельствуют об необходимости дальнейших исследований патогенеза, течения и лечения псориаза у пациентов с ВИЧ и без вируса, с целью разработки методов оптимального лечения дерматоза.

### Литература

6. Nakomori S.I. Structure and function of glycosphingolipids and sphingolipids: recollections and future trends // *Biochim. Biophys. Acta.* 2008. Vol. 1780(3). P. 325–346.

7. Motta S., Monti M., Sesana S., Caputo R., Carelli S., Ghidoni R. Ceramide composition of the psoriatic scale // *Biochim. Biophys. Acta.* 1993. Vol. 1182(2). P. 147–151.

8. Austin, L.M. The majority of epidermal T cells in psoriasis vulgaris lesions can produce type 1 cytokines, interferon-gamma, interleukin-2, and tumor necrosis factor- $\alpha$ , defining TC1 (cytotoxic T lymphocyte) and TH1 effector populations: a type 1 differentiation bias is also measured in circulating blood T cells in psoriatic patients / L.M. Austin [et al.] // *J. invest. dermatol.* – 1999. – Vol. 113. – No 5. P. 752–759.

9. Головизнин М.В. Ретровирусная трансформация процессов Т-клеточной селекции как причина прогрессирования синдрома приобретенного иммунодефицита // *Иммунология.* 1996. №5. С. 13–18

10. Zhu Q., Wang Z., Ji C. et al. C6 -ceramide synergistically potentiates the anti-tumor effects of histone deacetylase inhibitors via AKT dephosphorylation and  $\alpha$ -tubulin hyperacetylation both in vitro and in vivo // *Cell. Death Dis.* — 2011. — Vol. 2, №1. — P. e117.