

Кочергин Н.Г., Парамонов А.А., Каюмова Л.Н.

Характеристика Т-лимфоцитов различных рецепторных фенотипов у больных псориазом в процессе лечения

Кафедра кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, Россия

В инициации и развитии псориазического воспаления участвуют клетки иммунной системы и цитокины. Роль субпопуляций Т-клеток при псориазе до конца не выяснена. В нашей работе представлены результаты исследования по определению уровня, фенотипа и клинической значимости основных субпопуляций Т-клеток в периферической крови больных псориазом при различных видах терапии. Под наблюдением находились 68 больных псориазом (30 мужчин и 38 женщин), которые были разделены на две группы в зависимости от проводимого лечения (селективная фототерапия или комбинация метотрексата с селективной фототерапией). Здоровые добровольцы (10 мужчин и 12 женщин) были включены в качестве контрольной группы. Были определены субпопуляции Т-клеток (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, Treg) методом проточной цитометрии, показатели интерлейкинов (IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF α , IFN γ) изучали с помощью иммуноферментного анализа. Для оценки степени тяжести и распространенности псориаза у пациентов использовали индекс PASI и дерматологический индекс качества жизни (ДИКЖ). Выявлена корреляция умеренной силы между PASI и показателями Treg ($R = -0,38$), CD3⁺ ($R = -0,30$), CD4⁺ ($R = -0,32$), CD8⁺ ($R = 0,42$). Значимая корреляция между ДИКЖ и значениями клеток Treg ($R = -0,38$), CD3⁺ ($R = -0,30$), CD4⁺ ($R = -0,35$), CD8⁺ ($R = 0,35$) свидетельствует о тенденции к восстановлению баланса клеточных субпопуляций лимфоцитов в процессе терапии. Более выражена данная тенденция была в группе, где для лечения псориаза применяли комбинацию метотрексата с селективной фототерапией.

Ключевые слова: псориаз; субпопуляции Т-клеток; интерлейкины.

Для цитирования: Кочергин Н.Г., Парамонов А.А., Каюмова Л.Н. Характеристика Т-лимфоцитов различных рецепторных фенотипов у больных псориазом в процессе лечения. *Российский журнал кожных и венерических болезней*. 2020; 23(1): 35-38. DOI: <https://dx.doi.org/10.17816/dv2020135-38>

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 24.03.2020

Принята в печать 20.04.2020

Kochergin N.G., Paramonov A.A., Kayumova L.N.

Evaluation of subpopulations of T lymphocytes in psoriasis patients during therapy

Department of dermatology and venereology of I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, 119991, Russian Federation

The immune cells and cytokines are involved in the initiation and development of psoriatic inflammation. Nonetheless, the role of T-cell subpopulations in psoriasis is not fully understood. Our work presents the results of a study to determine the level, phenotype, and clinical significance of certain subpopulations of peripheral T cells of patients with psoriasis during therapies. We observed 68 patients with psoriasis (30 men and 36 women) who were divided into two groups depending of the treatment (selective phototherapy and selective phototherapy plus methotrexate). Healthy volunteers (10 men and 12 women) were included as the control group. Subpopulations of T cells (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, Treg) were determined using flow cytometry. Interleukins levels (IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF α , IFN γ) were analyzed using an enzyme-linked immunosorbent assay. Psoriasis Area and Severity Index (PASI) and Dermatology Life Quality Index (DLQI) were used for treatment efficacy assessment. A moderate correlation was observed between PASI and Treg ($R = -0,38$), CD3⁺ ($R = -0,30$), CD4⁺ ($R = -0,32$), and CD8⁺ ($R = 0,42$). A significant correlation was noted between DLQI and Treg ($R = -0,38$), CD3⁺ ($R = -0,30$), CD4⁺ ($R = -0,35$), and CD8⁺ ($R = 0,35$), thereby indicating a tendency to restore the balance of lymphocyte subpopulations during therapy. This tendency was most pronounced in the group treated using methotrexate and selective phototherapy.

Key words: psoriasis; T-cell subpopulations; interleukins.

For citation: Kochergin N.G., Paramonov A.A., Kayumova L.N. Evaluation of subpopulations of T lymphocytes in psoriasis patients during therapy. *Russian Journal of Skin and Venereal Diseases (Rossiyskii Zhurnal Kozhnykh i Venericheskikh Bolezney)*. 2020; 23(1): 35-38. (in Russian). DOI: <https://dx.doi.org/10.17816/dv2020135-38>

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 24 March 2020

Accepted 20 April 2020

Для корреспонденции:

Парамонов Алексей Александрович, соискатель кафедры кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, Россия. E-mail: paramonov_aleksey@mail.ru

For correspondence:

Alexey A. Paramonov, MD, postgraduate of Department of dermatology and venereology of I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, 119991, Russian Federation. E-mail: paramonov_aleksey@mail.ru

Information about authors: Kochergin N.G., <http://orcid.org/0000-0001-7136-4053>;

Paramonov A.A., <http://orcid.org/0000-0002-0441-314X>; Kayumova L.N., <http://orcid.org/0000-0003-0301-737X>.

Псориаз – хроническое рецидивирующее ауто-воспалительное заболевание кожи, которое встречается примерно у 2% населения [1]. Высокая частота заболеваемости псориазом во всем мире среди лиц трудоспособного возраста обуславливает повышенный интерес исследователей к данной патологии. Тяжелое течение дерматоза (псориазический артрит, псориазическая эритродермия, пустулезный псориаз) нередко лишает возможности заниматься профессиональной деятельностью, приводит к длительной нетрудоспособности, а порой и к инвалидизации, что отрицательным образом сказывается на качестве жизни пациента. Помимо поражения суставов заболевание имеет ряд других коморбидностей (сердечно-сосудистые нарушения, метаболический синдром, болезнь Крона и др.) [2, 3].

В последние десятилетия удалось достичь значительных успехов в понимании сложных механизмов, провоцирующих запуск и поддерживающих течение псориаза: в частности, были открыты субпопуляции Т-клеток, играющие различную роль в развитии воспаления кожного процесса. Отдельные популяции выступают в качестве иницирующих агентов, другие – в качестве регулируемых клеток-эффекторов, усиливающих воспаление и, возможно, опосредующих выраженность клинических проявлений [4, 5].

Актуальной задачей современной медицины является изучение молекулярных механизмов запуска заболевания, обнаружение новых терапевтических мишеней, определение диагностических и прогностических маркеров течения псориаза.

Цель исследования – анализ характера иммунного реагирования на различные виды терапии псориаза на основании результатов изучения основных субпопуляций Т-лимфоцитов, их уровня, рецепторного фенотипа и клинической значимости, а также изменения содержания цитокинов в сыворотке крови больных.

Материал и методы

В исследовании приняли участие 68 больных (30 мужчин и 38 женщин) в возрасте от 18 до 60 лет с верифицированным диагнозом псориаза и наличием прогрессирующей или стационарной стадии. Вульгарной формой псориаза страдали 52, экссудативной – 16 пациентов. У подавляющего большинства испытуемых патологический процесс носил распространенный характер поражения. Средний возраст больных составил $41,2 \pm 16,3$ года, средний возраст начала заболевания – $34,1 \pm 10,5$ года.

В качестве абсолютного контроля была сформирована группа здоровых добровольцев в количестве 22 человек.

Пациенты были проинформированы о целях и задачах исследования, после чего подписывали бланк-форму информированного согласия на участие.

Критериями включения были пациенты с площадью поражения кожного покрова более 50%, не принимающие на момент взятия крови системную иммуносупрессивную терапию в течение 2 мес. К исследованию не допускались больные с наличием тяжелой сопутствующей соматической патологии в стадии декомпенсации; имеющие онкологические заболевания; имеющие инфекционные заболевания (сифилис, ВИЧ, гепатит В и С); с диагнозом туберкулеза; с диагнозом эпилепсии; пациенты, страдающие алкоголизмом, наркоманией и любыми психическими расстройствами; в периоде беременности или лактации. Критериями исключения являлись желание пациента прекратить участие в исследовании или несоблюдение им режима, назначенной схемы обследования и лечения. Всем участникам исследования проводилась стандартная программа клинко-лабораторного контроля для данного заболевания, определяли индекс распространенности и тяжести псориаза (PASI, Psoriasis Area and Severity Index), дерматологический индекс качества жизни (ДИКЖ).

В зависимости от варианта лечения больные были распределены на две группы: в первой группе (32 больных) проводили селективную фототерапию, во второй (36 больных) – лечение метотрексатом совместно с селективной фототерапией. До лечения, через 3 и 6 мес от его начала анализировали следующие параметры: содержание в периферической крови субпопуляций Т-лимфоцитов ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$) и Treg (регуляторных Т-лимфоцитов) с помощью метода проточной цитометрии с использованием моноклональных антител, концентрации интерлейкинов (IL-1 β , IL-2, IL-6), фактора некроза опухоли альфа (tumor necrosis factor, TNF α), интерферона гамма (IFN γ) в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа. Статистическую значимость различий результатов исследования оценивали с помощью программ Microsoft Excel 13, SPSS Statistics 17.0, Mann–Whitney U Test Calculator.

Результаты и обсуждение

Оценка тяжести и распространенности по индексу PASI до начала терапии свидетельствовала, что у всех больных, включенных в исследование, был псориаз средней и тяжелой степени. При этом значимых межгрупповых различий не выявлено. Определение значения ДИКЖ до начала лечения значимых межгрупповых различий также не показало, однако качество жизни у данных больных было существенно снижено. Показатели PASI и ДИКЖ в группах до начала лечения представлены в **табл. 1**.

Изучение иммунного статуса больных псориазом до лечения по сравнению с группой контроля выявило ряд изменений: повышение абсолютного и относительного содержания CD8-цитотоксических Т-лимфоцитов (**табл. 2**).

CLINICAL PICTURE, DIAGNOSIS, AND THERAPY OF DERMATOSES

Таблица 1

Показатели PASI и ДИКЖ в группах больных до начала лечения ($M \pm m$)

Показатель	1-я группа, $n = 32$	2-я группа, $n = 36$
PASI	$19,4 \pm 2,4$	$25,7 \pm 3,7$
ДИКЖ	$14,0 \pm 3,3$	$18,5 \pm 2,4$

Примечание. PASI (от Psoriasis Area and Severity Index) – индекс распространенности и тяжести псориаза; ДИКЖ – дерматологический индекс качества жизни.

Таблица 2

Иммунологические показатели больных псориазом до лечения ($M \pm m$)

Показатель	Здоровые доноры, $n = 22$	Больные псориазом, $n = 68$
CD3+, % Т-лимфоциты	$74,2 \pm 8,5$	$78,7 \pm 6,2$
CD3+, абс., $\cdot 10^3/\text{мкл}$	$1,21 \pm 0,22$	$1,34 \pm 0,16$
CD4+, % Т-лимфоциты	$47,2 \pm 2,9$	$45,6 \pm 6,2$
CD4+, абс., $\cdot 10^3/\text{мкл}$	$0,78 \pm 0,06$	$0,90 \pm 0,11$
CD8+, % цитотоксические Т-лимфоциты	$24,9 \pm 3,2$	$34,0 \pm 2,8^*$
CD8+, абс., $\cdot 10^3/\text{мкл}$	$0,40 \pm 0,05$	$0,50 \pm 0,05$
Treg, %	$6,79 \pm 1,15$	$3,80 \pm 0,46^*$
Treg, абс., $\cdot 10^3/\text{мкл}$	$0,111 \pm 0,019$	$0,062 \pm 0,008^*$

Примечание. Здесь и в табл. 3, 4: * – $p < 0,05$ – различия статистически значимы при сравнении с группой здоровых доноров (контрольной группой).

Изучение уровня цитокинов до лечения у больных псориазом по сравнению с группой контроля выявило повышение концентрации IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF α и снижение показателей IFN γ (табл. 3).

Анализ динамики показателя PASI в процессе лечения в группах больных псориазом показал, что если до начала терапии различий не отмечено, то спустя 6, 12 и 24 нед более выраженное уменьшение данного параметра было у больных второй группы (рис. 1). Динамика показателя ДИКЖ также показала более выраженное снижение именно во второй группе (рис. 2).

Таблица 3

Показатели цитокинов больных псориазом ($M \pm m$)

Показатель	Здоровые доноры, $n = 22$	Больные псориазом, $n = 68$
IL-1 β , пг/мл	$5,7 \pm 1,2$	$19,3 \pm 2,0^*$
IL-2, пг/мл	$16,8 \pm 3,4$	$41,4 \pm 6,1^*$
IL-6, пг/мл	$19,5 \pm 4,1$	$37,4 \pm 7,5^*$
TNF α , пг/мл	$6,8 \pm 1,9$	$21,3 \pm 2,7^*$
IFN γ , пг/мл	$56,8 \pm 7,3$	$29,7 \pm 4,4^*$

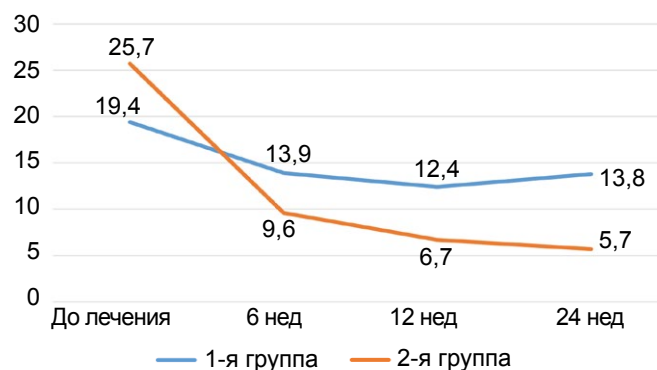


Рис. 1. Динамика показателя PASI в процессе лечения больных псориазом.

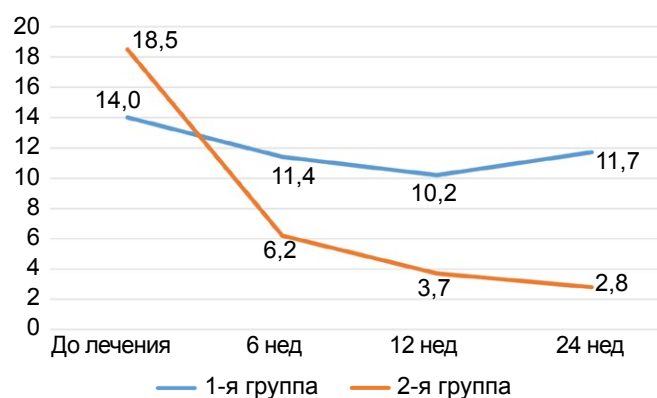


Рис. 2. Динамика показателя ДИКЖ в процессе лечения больных псориазом.

В ходе проводимой терапии через 24 нед после начала лечения наблюдалась следующая динамика иммунологических показателей (табл. 4):

- в 1-й группе больных относительное содержание регуляторных Т-лимфоцитов оставалось сниженным, в то время как у пациентов 2-й группы значения данного показателя повысились и значимо не отличались от контрольных величин;
- содержание CD3-лимфоцитов в периферической крови существенно не различалось в 1-й, 2-й группах и группе контроля;
- уровень CD4-лимфоцитов (Т-хелперов) во всех группах больных псориазом был несколько ниже, чем в контрольной группе, но значимых различий при этом не выявлено;

Таблица 4

Субпопуляции иммунокомпетентных клеток у больных псориазом через 24 нед после от начала лечения ($M \pm m$)

Показатель	Группа контроля, $n = 22$	1-я группа, $n = 32$	2-я группа, $n = 36$
Treg, %	$6,79 \pm 1,15$	$3,42 \pm 0,28^*$	$5,06 \pm 1,14$
CD3+, %	$74,2 \pm 8,5$	$75,2 \pm 4,4$	$76,4 \pm 4,1$
CD4+, %	$47,2 \pm 2,9$	$43,1 \pm 4,4$	$42,7 \pm 4,8$
CD8+, %	$24,9 \pm 3,2$	$32,5 \pm 1,6^*$	$25,2 \pm 4,7$

Таблица 5

Взаимосвязь между иммунологическими показателями и клиническими проявлениями тяжести псориаза (коэффициенты корреляции Спирмена, R^*)

Параметр	PASI	ДИКЖ
Treg, %	-0,35	-0,38
CD3+, %	-0,30	–
CD4+, % Т-хелперы	-0,32	-0,35
CD8+, % цитотоксические Т-лимфоциты	0,42	0,35
IL-1 β , пг/мл	0,45	–
IL-2, пг/мл	0,52	0,44
IL-6, пг/мл	0,37	–
TNF α , пг/мл	0,57	0,32
IFN γ	-0,46	–

Примечание: * $p < 0,05$ – представлены только значимые коэффициенты корреляции.

- относительное количество CD8-клеток (цитотоксических Т-лимфоцитов) в 1-й группе оставалось статистически значимо повышенным, в то время как у больных 2-й группы после проведенного лечения оно снизилось и значимо не отличалось от контроля.

В табл. 5 представлены коэффициенты корреляции Спирмена умеренной силы между уровнем активности заболевания по показателю PASI и следующими иммунологическими параметрами: относительным количеством Т-регуляторных лимфоцитов ($R = -0,38$), показателями CD3⁺ в периферической крови ($R = -0,30$), CD4⁺ (Т-хелперов) ($R = -0,32$), CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов ($R = 0,42$). Также выявлено наличие ряда корреляций между значениями активности псориаза (PASI) и концентрациями всех изученных цитокинов у обследованных больных: IL-1 β ($R = -0,45$), IL-2 ($R = 0,52$), IL-6 ($R = 0,37$), TNF α ($R = 0,57$), а также IFN γ ($R = -0,46$).

Также расчеты показали наличие ряда значимых корреляционных связей между показателем качества жизни (ДИКЖ) и иммунологическими характеристиками: содержанием Treg клеток ($R = -0,38$), показателями CD3-лимфоцитов ($R = -0,30$), содержанием в периферической крови CD4 Т-хелперов ($R = -0,35$), относительным содержанием CD8-цитотоксических Т-лимфоцитов ($R = 0,35$).

Обнаружено наличие значимых отрицательных корреляций между показателями качества жизни больных псориазом и содержанием IL-2 ($R = 0,44$), а также TNF α ($R = -0,32$).

Результаты проведенного анализа свидетельствуют о наличии ряда значимых корреляционных связей умеренной силы между показателями активности процесса у больных псориазом, с одной стороны, и иммунологическими характеристиками (в частности, показателями содержания различных субпопуляций Т-лимфоцитов в периферической крови) больных псориазом – с другой.

Таким образом, выявленная динамика показателей иммунного статуса в процессе лечения больных псориазом свидетельствует о тенденции к восстановлению нарушенных функций иммунной системы у пациентов, которая проявляется через 3–6 мес от начала лечения нормализацией баланса клеточных субпопуляций лимфоцитов, в частности Т-лимфоцитов. При этом наиболее эффективным оказалось комбинированное применение селективной фототерапии и метотрексата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dogra S., Mahajan R. Psoriasis: Epidemiology, clinical features, co-morbidities, and clinical scoring. *Indian Dermatol. Online J.* 2016; 7(6): 471–80.
2. Elyoussfi S., Thomas B.J., Ciurtin C. Tailored treatment options for patients with psoriatic arthritis and psoriasis: review of established and new biologic and small molecule therapies. *Rheumatol. Int.* 2016; 36(5): 603–12.
3. Siegel D., Devaraj S., Mitra A., Raychaudhuri S.P., Raychaudhuri S.K., Jialal I. Inflammation, atherosclerosis, and psoriasis. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2013; 44(2): 194–204.
4. Притауло О.А., Рычкова И.В. Современные представления о патогенезе псориаза. *Таврический медико-биологический вестник.* 2017; 20(1): 141–53.
5. Lowes M.A., Suarez-Farinas M., Krueger J.G. Immunology of psoriasis. *Annu Rev. Immunol.* 2014; 32: 227–55.

REFERENCES

1. Dogra S., Mahajan R. Psoriasis: Epidemiology, clinical features, co-morbidities, and clinical scoring. *Indian Dermatol. Online J.* 2016; 7(6): 471–80.
2. Elyoussfi S., Thomas B.J., Ciurtin C. Tailored treatment options for patients with psoriatic arthritis and psoriasis: review of established and new biologic and small molecule therapies. *Rheumatol. Int.* 2016; 36(5): 603–12.
3. Siegel D., Devaraj S., Mitra A., Raychaudhuri S.P., Raychaudhuri S.K., Jialal I. Inflammation, atherosclerosis, and psoriasis. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2013; 44(2): 194–204.
4. Pritulo O.A., Rychkova I.V. Modern views on the pathogenesis of psoriasis. *Tauride Medical and Biological Bulletin. Russian Journal (Tavricheskii Medico-Biologicheskii Vestnik).* 2017; 20(1): 141–53.
5. Lowes M.A., Suarez-Farinas M., Krueger J.G. Immunology of psoriasis. *Annu Rev. Immunol.* 2014; 32: 227–55.