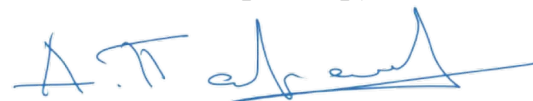


ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Парамонов Алексей Александрович

**Клинико-генетические ассоциации репертуара Т-клеточных
рецепторов при псориазе**

3.1.23. Дерматовенерология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Кочергин Николай Георгиевич

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ПСОРИАЗ: СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ И РОЛИ Т-КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ЛИМФОЦИТОВ КАК МИШЕНИ ЛЕЧЕБНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ.....	15
1.1 Псориаз - общие сведения об эпидемиологии, этиологии и патогенезе заболевания.....	15
1.2 Рецепторы Т-лимфоцитов при псориазе.....	19
1.2.1 Общие сведения о биологической роли рецепторного аппарата Т-лимфоцитов.....	19
1.2.2 Особенности функционирования Т-клеточных рецепторов при псориазе	23
1.2.3 Ключевая роль Th1, Th17 и Th22 -клеток в патогенезе псориаза	25
1.2.4 Роль Th9, Th 21-клеток и патогенных субпопуляций Т-хелперов	28
1.3 Роль рециркуляции Т-клеток в реализации различных клинических проявлений псориаза	29
1.4 Современные направления биологической терапии псориаза	32
1.4.1 Биологическая терапия - общие сведения	32
1.4.2 Ингибиторы фактора некроза опухоли-альфа	34
1.4.3 Возможности применения ингибиторов интерлейкинов 12 и 23 в терапии псориаза	36
1.4.4 Применение ингибиторов интерлейкина-17	38
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	45
2.1 Характеристика пациентов, включенных в исследование.....	45
2.2 Дизайн исследования.....	47
2.3 Генетические исследования	49
2.3.1 Забор биоптатов	49
2.3.2 Выделение РНК и ДНК	49
2.3.3 Специфическая амплификация.....	51
2.3.4 Электрофоретическое разделение фрагментов ДНК в агарозном геле	51

2.3.5 Подготовка библиотеки кДНК к секвенированию	52
2.3.6 Высокопроизводительное секвенирование	53
2.4 Иммунологические методы исследования	53
2.4.1 Определение уровня цитокинов в сыворотке крови	53
2.4.2 Определение субпопуляций Т-лимфоцитов в крови	53
2.5 Статистическая обработка данных.....	54
2.5.1 Клинические методы исследования	54
2.5.2 Генетические методы исследования	54
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	56
3.1 Клиническая характеристика больных	56
3.2 Исходная клиническая картина у больных псориазом	63
3.3 Анализ репертуара Т-клеточных рецепторов в пораженной и непораженной коже у больных псориазом	64
3.4 Иммунный статус больных псориазом до лечения	71
3.5 Динамика клинических проявлений заболевания при разных подходах к лечению.....	74
3.6 Динамика иммунологических показателей больных при различных подходах к лечению.....	77
3.7 Результаты поиска взаимосвязей характеристик субпопуляций Т-лимфоцитов различных рецепторных фенотипов и клинических признаков активности заболевания у больных псориазом.....	80
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	83
ВЫВОДЫ.....	88
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	90
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	91
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	92

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Одной из актуальных задач современной медицины является изучение молекулярных механизмов запуска и развития многофакторных заболеваний, а также обнаружение новых терапевтических мишеней и способов воздействия на них. Среди иммунозависимых заболеваний кожи с этой точки зрения интерес представляет псориаз.

Псориаз – папуло-сквамозный аутовоспалительный дерматоз мультифакториальной природы, в развитии которого большое значение имеют генетические, метаболические, иммунологические и другие провоцирующие факторы. Данное заболевание характеризуется гиперпролиферацией клеток эпидермиса, нарушением кератинизации, воспалительной реакцией в дерме, изменениями в различных органах и системах (коморбидности) [20, 22].

Распространенность псориаза в популяции составляет 2-3% и различается в зависимости от региона и этнической принадлежности пациентов – в Российской Федерации чаще встречается у коренных жителей Крайнего Севера [4, 5].

В настоящее время отмечается тенденция к росту заболеваемости среди лиц трудоспособного возраста, увеличению числа тяжелых и инвалидизирующих форм (псориатический артрит, псориатическая эритродермия, пустулезный псориаз) [20].

Генетическая концепция развития псориаза основана на том, что псориаз встречается у близких родственников пациентов. Еще в 1908 году R. Willan описал семейные случаи псориаза. У монозиготных близнецов конкордантность выше, чем у дизиготных. По данным В. Н. Мордовцева, распространенность псориаза среди родственников пробанда I степени родства составляет 5,66,3%, II степени - 3,1%, III степени - 1,35%, в контрольной группе - 0,75%.

Форма наследования псориаза является сложной и включает в себя взаимодействие нескольких генов и факторов внешней среды (геноэкологический

комплекс). Сегрегационный анализ распределения больных в семьях свидетельствует о мультифакториальном наследовании псориаза, при этом генетический и средовой компоненты составляют 60-70% и 30-40% соответственно [36].

Обнаружено по крайней мере девять хромосомных локусов, определяющих предрасположенность к псориазу (PSORS1-PSORS9). Показана ассоциация с антигенами гистосовместимости. Вульгарный псориаз ассоциирован с HLA-Cw6, HLA-B13, HLA-B17, HLA-B37, артропатический – с B27 [24]. Показано, что антиген HLA-Cw6, который присутствует во всех семейных случаях псориаза, является маркером предрасположенности к раннему началу заболевания [24, 137, 168, 169].

На основании данных анамнеза, клинической картины и прогноза заболевания выделяют два фенотипа псориаза по дебюту. Псориаз первого типа характеризуется ранним началом заболевания (пик регистрируется у девушек в возрасте 16 лет, у юношей — в возрасте 21—22 лет) [4].

Показано, что первый тип псориаза имеет положительную корреляционную связь с антигенами главного комплекса гистосовместимости B13, B57 и Cw6 [4]. Псориаз второго типа характеризуется более поздним началом (пик в возрасте 50-60 лет) и отсутствием связи с данными антигенами HLA. [4, 54, 170].

Остается открытым вопрос о механизме включения антигенов HLA при псориазе. Согласно одной из концепций антигены некоторых микроорганизмов (вирус) имеют сходство со структурными детерминантами HLA, то есть имеет место мимикрия. В результате такого сходства формируется иммунопатологический процесс в организме [33, 40, 116]. Однако данный вирус до сих пор не обнаружен.

Сам иммунопатогенез псориаза имеет ряд стадий, приводящих к изменению иммуноцитов, и включающих различные сигналы, в результате которых возникают псориазные бляшки [31].

T-лимфоциты играют важную роль в приобретенном иммунном ответе, они обеспечивают распознавание и уничтожение субстанций, несущих чужеродные

антигены. Эти клетки развиваются из предшественников – претимоцитов в вилочковой железе (тимусе), где приобретают специальные рецепторы для распознавания антигенов.

Активация Т-лимфоцита происходит при взаимодействии Т-клеточного рецептора с молекулами главного комплекса гистосовместимости (Major Histocompatibility Complex, МНС) и связанным с ней антигеном. Это событие является ключевым при запуске иммунного ответа, а Т-клеточный рецептор (TCR) – ключевой характеристикой Т-лимфоцита.

TCR представляет собой трансмембранный белок и состоит из двух различных цепей ковалентно связанных между собой дисульфидными связями. Для Т-клеток II-типа (Th2) характерны так называемые α и β цепи, для Т-клеток I-типа (Th1) – γ и δ . Каждая цепь α , β , γ и δ имеет по одному наружному переменному V- и константному C-домену за которыми следует трансмембранный домен и короткий цитоплазматический «хвост». Цепи соединены между собой дисульфидной связью, которую образуют их C-домены вблизи клеточной мембраны. V домены отвечают за связывание антигена, презентруемого молекулами главного комплекса гистосовместимости. В составе переменного домена содержится характерный для иммуноглобулинов гиперпеременный участок (CDR).

Интересным и сложным является механизм формирования TCR. В результате ряда процессов образуется огромное их разнообразие (репертуар), который способен распознавать миллиарды чужеродных антигенов.

Сначала гемопоэтические стволовые клетки мигрируют из костного мозга в тимус, где начинается их созревание. У прибывших клеток-предшественников отсутствуют поверхностные маркеры CD4 и CD8, а рекомбинации генов еще не произошло. В процессе созревания клеток начинается рекомбинация генов одновременно для β , γ : δ цепей. Если γ и δ цепи успели сформироваться раньше β цепи, то сформированный γ : δ рецептор передает сигнал в клетку о прекращении реорганизации генов β цепи и образуется γ : δ Т-лимфоцит. Если β цепь формируется раньше комплекса γ : δ , то она соединяется с α цепью и формируется α : β рецептор,

который передает сигнал об остановке дальнейшей рекомбинации генов β , γ и δ цепей и запуску пролиферации. После прохождения пролиферации и приобретения Т-лимфоцитом маркеров CD4, CD8 начинаются их позитивная и негативная селекция. В первом случае – процесс удаления Т-лимфоцитов, неспособных распознавать комплекс собственный пептид – МНС, во втором – удаление Т-лимфоцитов, чрезмерно интенсивно взаимодействующих с ним, то есть удаление потенциального источника аутоиммунных заболеваний. В результате созревания большая часть Т-клеток приобретает $\alpha:\beta$ рецепторы, меньшая – $\gamma:\delta$ [28, 193].

У взрослого человека насчитывается примерно 10^{12} Т-лимфоцитов, а многообразие (репертуар) различных Т-клеточных рецепторов оценивается в примерно 10^7 разных вариабельных участков. Гены TCR состоят из повторяющихся сегментов, принадлежащих к трем классам: V (variable), D (diversity) и J (joining). В процессе V(D)J-перестройки генные сегменты, по одному из каждого класса, соединяются вместе. Объединенная последовательность сегментов V(D)J кодирует вариабельные домены каждой из цепей рецептора. В геноме изначально нет такого количества вариантов для кодирования TCR, а такое разнообразие достигается за счет так называемой соматической рекомбинации вариабельных участков [28, 193].

В будущем, изучение репертуара Т-клеточных рецепторов позволит осуществлять мониторинг течения многих болезней и их развития под действием проводимой терапии.

Помимо этого, анализ репертуара Т-клеточных рецепторов может быть применен для множества иммуновоспалительных (псориаз, экзема, атопический дерматит и др.) и аутоиммунных заболеваний (витилиго, склеродермия и др.), связанных с ошибочным распознаванием белков человека рецепторами Т-клеток.

Учитывая вышеизложенное, можно заключить, что, поскольку на сегодняшний день антиген или иная причина избыточной инфильтрации иммуноцитов в кожу при псориазе не установлены, возможным путем ее выявления является поиск и идентификация специфических комбинаций Т-клеточных рецепторов, ассоциированных с заболеванием. Это позволит выявить

специфический антиген, вызывающий ошибочную реакцию Т-клеток. Лекарственная терапия аутоиммунных и воспалительных заболеваний, направленная на специфические комбинации Т-клеточных рецепторов, ассоциированных с заболеванием, может блокировать aberrantную реакцию Т-клеток на клетки собственного организма, таким образом, предотвращая или ослабляя заболевание. Таким образом, необходимо уже сейчас проводить исследование репертуаров Т-клеточных рецепторов при псориазе [30, 173].

Степень разработанности темы исследования

Анализ отечественной и зарубежной литературы показал низкую степень разработанности темы. Имеются единичные работы, в которых изучалась роль Т-клеточных рецепторов в развитии и поддержании воспаления при псориазе. А также имеются единичные работы, в которых производился поиск взаимосвязей между клиническими параметрами псориаза и особенностями репертуара Т-клеточных рецепторов.

Цель исследования

На основании изучения полученных результатов анализа массивного секвенирования нового поколения репертуара Т-клеточных рецепторов выявить специфические комбинации последовательностей, кодирующих Т-клеточные рецепторы, ассоциированные с псориазом в качестве потенциальной терапевтической мишени.

Задачи исследования

1. Провести сравнительный анализ репертуара Т-клеточных рецепторов с помощью современного метода массивного секвенирования нового поколения у

пациентов с вульгарным псориазом в пораженной и непораженной коже при оценке тяжести кожных проявлений по индексу PASI.

2. Сравнить репертуар Т-клеточных рецепторов у больных вульгарным псориазом и у здоровых индивидуумов с помощью современного метода массивного секвенирования нового поколения.

3. Изучить клинико-иммунологические ассоциации больных среднетяжелым и тяжелым вульгарным псориазом.

4. Изучить сравнительную эффективность УФБ-311 нм в качестве монотерапии и ее комбинации с метотрексатом на основании динамики уровня регуляторных Т-клеток в крови и показателей индекса PASI.

Научная новизна

1. Впервые метод высокопроизводительного секвенирования нового поколения (NGS) применен на достаточной выборке для изучения образцов, полученных из биоптатов кожи пациентов с псориазом.

2. Впервые с использованием метода высокопроизводительного секвенирования нового поколения, на достаточной выборке, установлено более неравномерное распределение клонотипов Т-клеток при вульгарном псориазе по сравнению со здоровыми индивидуумами: выявлено преобладание по количеству одного или нескольких клонотипов Т-клеток при большом количестве клонотипов, присутствующих в незначительном количестве.

3. Впервые методом высокопроизводительного секвенирования нового поколения обнаружен ряд новых, уникальных последовательностей, кодирующих Т-клеточные рецепторы, которые преобладали в пораженной коже при псориазе.

4. Впервые установлен ряд новых, уникальных последовательностей Т-клеточных рецепторов, которые присутствовали в коже у пациентов с вульгарным псориазом и отсутствовали у людей из группы здорового контроля.

5. Впервые при вульгарном псориазе установлена корреляция между соотношением содержания некоторых последовательностей, кодирующих Т-

клеточные рецепторы, в пораженной и видимо неизменной коже и значениями индекса PASI.

6. Впервые на основании анализа динамики уровня регуляторных Т-клеток в крови и показателей индекса PASI проведена клинико-иммунологическая оценка эффективности комбинированной иммуносупрессивной терапии. Впервые установлены последовательности Т-клеточных рецепторов, ассоциированных с псориазом первого фенотипа.

7. Впервые в Московском регионе продемонстрирован характер изменения репертуара Т-клеточных рецепторов у больных псориазом до и после иммуносупрессивной терапии.

8. Впервые метод высокопроизводительного секвенирования применен для анализа структуры репертуара Т-клеточных рецепторов в пораженной и непораженной псориазом коже, что позволило выявить их специфические комбинации в псориазической бляшке.

Личный вклад автора

Автором сформулированы цели и задачи исследования, основные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации. При личном участии автора был проведен анализ и систематизация критериев включения в исследование, дерматологическое обоснование, включающее клинико-anamnestическую оценку, получение биологического материала для последующих иммунологических и генетических исследований, обработка полученных данных с применением математико-статистического анализа, интерпретация полученных результатов анализа массивного секвенирования нового поколения, подготовка материалов диссертации, публикаций и докладов. Весь материал, представленный в диссертации, получен, обработан и проанализирован лично автором.

Теоретическая и практическая значимость работы

Установленные специфические комбинации Т-клеточных рецепторов и характер динамики иммунологических показателей при псориазе могут лечь в основу разработки более эффективных систем диагностики и новых методов терапии псориаза. А выявленные данные о взаимосвязи между клиническими характеристиками распространенности и тяжести псориаза и содержанием регуляторных Т-клеток в периферической крови могут заложить основу для будущих исследований, посвященных использованию уровня данных клеток в качестве прогностического маркера течения псориаза, оценки и корректировки терапии.

Методология и методы исследования

В работе применялись общенаучные и специфические (формальные) методы научного исследования, в их числе - описание, наблюдение в динамике, сопоставление данных, эксперимент, анализ результатов и формулирование выводов. Применялись клиничко-anamnestические, иммунологические и молекулярно-генетические методы исследования, а также проводилась оценка эффективности комбинированной, иммуносупрессивной терапии. Степень достоверности диссертационного исследования, основанная на отображенных результатах апробированного научно-методического подхода, подтверждается аналитическими методами обработки полученных результатов, точными расчетам, статистическим анализом и интерпретацией полученных результатов.

Положения, выносимые на защиту

1. Для ряда комбинаций Т-клеточных рецепторов установлена взаимосвязь между уровнем их содержания в коже и индексом площади поражения и тяжести течения псориаза (PASI).

2. Распределение клонов Т-клеток в коже при псориазе характеризуется большей неравномерностью по сравнению с кожей здоровых людей: при псориазе отмечается преобладание одной или нескольких последовательностей вместе с наличием большого числа последовательностей, присутствующих в малом количестве.
3. Количество уникальных последовательностей, кодирующих Т-клеточные рецепторы, в псориазической бляшке, превышает таковое в видимо неизменной коже у больных псориазом и в коже здоровых людей.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа Парамонова Алексея Александровича «Клинико-генетические ассоциации репертуара Т-клеточных рецепторов при псориазе» соответствует специальности 3.1.23. Дерматовенерология. Область исследований, результаты которых отражены в диссертации, отражены соответствуют п.2 «Этиология и патогенез дерматозов, лимфопролиферативных заболеваний кожи, новообразований кожи и ИППП (изучение причинно-следственных связей между генетическими, патоморфологическими, иммунологическими, биохимическими, функциональными особенностями и клиническими проявлениями заболеваний)» паспорта научной специальности 3.1.23. Дерматовенерология.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным количеством пациентов группы исследования, наличием групп сравнения, применением современных методов исследования (клинических, иммунологических, генетических), соответствовавших целям и поставленным задачам исследования, а также использованием адекватных методов статистической обработки данных (критерий Стьюдента, критерия Хи-квадрат Пирсона, U-критерия Манна-Уитни). Результаты исследования научно

обоснованы. Полученные данные основаны на достаточном количестве исследований: изучены и проанализированы 207 российских и зарубежных источников. Четко сформулированы критерии включения и исключения из исследования. Добровольное участие пациентов в исследовании подтверждалось их письменным согласием. Проверена первичная документация (истории болезни, таблицы первичных данных, протоколы исследований).

Материалы диссертации доложены и обсуждены на XXXVI Научно-практической конференции с международным участием «Рахмановские чтения: Московской дерматологической школе 150 лет: от истоков до современной дерматовенерологии и косметологии» и на заседании Московского общества дерматовенерологов и косметологов имени А. И. Пospelова (март, 2019).

Апробация диссертационной работы состоялась на научно-практической конференции кафедры кожных и венерических болезней имени В.А. Рахманова Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) 25 октября 2023 года.

Внедрение в практику результатов исследования

Работа выполнена на кафедре кожных и венерических болезней имени В.А. Рахманова Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и в лаборатории функциональной геномики на базе ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН. Результаты исследования внедрены в научно-исследовательскую, практическую и педагогическую деятельность кафедры и клиники кожных и венерических болезней имени В.А. Рахманова Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), лаборатории функциональной геномики на базе ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН.

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 5 работ, в том числе научных статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук – 3; иных публикаций по результатам исследования – 2.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, описания собственных исследований, обсуждения результатов, выводов и списка литературы. Работа изложена на 115 страницах машинописного текста, иллюстрирована 16 таблицами и 9 рисунками. Список литературы состоит из 214 источников (40 отечественных и 174 иностранных авторов). Весь материал собран, обработан и проанализирован лично автором.

ГЛАВА 1. ПСОРИАЗ: СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ И РОЛИ Т-КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ЛИМФОЦИТОВ КАК МИШЕНИ ЛЕЧЕБНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

1.1 Псориаз - общие сведения об эпидемиологии, этиологии и патогенезе заболевания

Псориаз — хроническое рецидивирующее аутовоспалительное поражение кожи, которое встречается у примерно у 2% мировой популяции населения [98]. Бляшечный (обыкновенный) псориаз является наиболее распространенной формой, на которую приходится до 90% всех случаев болезни [57, 58, 78, 187].

До конца 1970-х гг. псориаз рассматривали как заболевание, в основе которого первично лежит неправильное функционирование кератиноцитов [138]. В последующем в ряде исследований было показано, что в развитии данного дерматоза важную роль играют иммунные механизмы и, в частности, активация Т-клеток. Была установлена высокая эффективность в лечении псориаза циклоспорина, ингибирующего пролиферацию Т-клеток и выработку ряда цитокинов [50, 67, 73, 74].

К настоящему времени установлено, что в патогенезе псориаза задействованы как врожденный, так и приобретенный компоненты иммунного ответа, участие в нем Т-лимфоцитов, в частности, подтверждено высокой эффективностью биологических препаратов, действие которых направлено на Т-клетки [2, 137]. В реализации сигнального пути ИЛ-23/Th17, играющего важнейшую роль в патогенезе заболевания, задействованы не только различные подсемейства Т-клеток, но также дендритные клетки, макрофаги, нейтрофилы и кератиноциты. Механизм инициации патологического иммунного ответа при псориазе до настоящего времени дискутируется, однако в качестве ключевого триггера заболевания рассматривается сочетание генетической предрасположенности и действия внешних факторов, в частности, травматических

повреждений кожных покровов, стресса, лекарственных средств (ЛС), бактериальных и вирусных инфекций [6, 7, 80, 171, 176].

Патогенез псориаза в классическом понимании подразделяется на 2 фазы: инициации и поддержания. Известно, что некоторые триггеры псориаза приводят к повреждению кератиноцитов эпидермиса, которые, в свою очередь, выделяют собственную дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) и антимикробный пептид LL-37 (кателицидин). Собственная ДНК и ДНК патогенных микроорганизмов, способна образовывать комплексы с LL-37. Полученный комплекс связывается с toll-подобным рецептором-9 плазмоцитоидных дендритных клеток дермы [9, 157, 171]. В свою очередь последние продуцируют интерфероны I типа (ИФН- α и - β), фактор некроза опухоли-(ФНО)- α , интерлейкины (ИЛ)-6 и -1 β , которые стимулируют локальные миелоидные дендритные клетки, заставляя их мигрировать в лимфатические узлы, дренирующие соответствующую область [176]. При контакте с покоящимися, так называемыми, «наивными» Т-клетками миелоидные дендритные клетки секретируют цитокины (ФНО- α , ИЛ-12 и ИЛ-23), индуцирующие дифференцировку Т-клеток в зрелые клетки Th1, Th17 и Th22 [176]. При возвращении в кожу Т-клетки этих специфических подсемейств секретируют ФНО- α , ИФН- γ , ИЛ-17A, ИЛ-17F и ИЛ-22, стимулирующие пролиферацию кератиноцитов с измененной дифференциацией. Вследствие активации ангиогенеза с формированием расширенных извитых сосудов в дермальных сосочках развивается эритема. При этом происходит утолщение кожи вследствие акантоза, очаги покрываются чешуйками из-за ускоренной пролиферации и нарушенной дифференцировки кератиноцитов (паракератоз) [14, 19, 99, 176, 212].

Американские исследователи при пересадке участка кожи от человека, больного псориазом, на здоровую мышиную модель доказали с использованием определенных видов Т-клеток последующее развитие в приживленной ткани воспаления, подобного псориазу. Полученные результаты подтвердили, что развитие псориаза обусловлено способностью иммунцитов индуцировать активацию и рост кератиноцитов и сосудистого эндотелия [211].

Идентифицировано подсемейство Т-клеток, продуцирующих ИЛ-17, названное Th17 [82]. Однако было показано, что ИЛ-17А ассоциирован не только с кластером дифференцировки (CD)4⁺ Т-клеток. CD8⁺Т-клетки, $\gamma\delta$ Т-клетки, натуральные киллеры, тучные клетки и нейтрофилы также могут являться источниками ИЛ-17А [118, 147]. Кроме того, источником ИЛ-17С могут выступать кератиноциты [49, 176].

При стимуляции рецепторов кератиноцитов эти клетки сами продуцируют цитокины (в частности, ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-1 β) и хемокины — хемокиновый (С-Х-С мотив) лиганд (CXCL) 8, CXCL10 и хемокиновый (С-С мотив) лиганд 20 (CCL20). Провоспалительные цитокины усиливают активацию уже существующих зрелых Т-клеток и замыкают петлю хронического воспаления, реализуя таким образом фазу поддержания болезни [18, 176].

Показано, что секретируемые кератиноцитами хемокины рекрутируют нейтрофилы из кровеносного русла. Нейтрофилы проникают в кожу и собираются в характерные для патоморфологической картины псориаза микроабсцессы Мунро в толще эпидермиса. Кроме того, происходит рекрутинг в область воспаления макрофагов, секретирующих ФНО- α [147]. После установления патологический воспалительный цикл может быть активирован в отдаленных областях с участием или без начальных триггерных факторов [3, 25, 53, 84].

Для псориаза характерны следующие гистологические признаки: эпидермальная гиперплазия, лейкоцитарная инфильтрация и увеличение числа извилистых и негерметичных сосудов в дерме. Гистологическая картина при псориазе напоминает таковую при заживлении поврежденной кожи. Некоторые авторы указывают на наличие большого количества лимфоидных агрегатов в дерме вокруг псориатических бляшек по сравнению с нормальной кожей [137].

Примерно в 30% наблюдений помимо кожной формы псориаза развивается также коморбидный псориатический артрит, для которого характерны синовит, энтезит и дактилит. Существуют также подтверждения того, что, помимо воспаления кожи и суставов, заболевание имеет ряд системных проявлений и

коморбидных патологических состояний, в частности сердечно-сосудистые нарушения, метаболический синдром и болезнь Крона [20, 58, 71, 81, 98, 104,154].

В целом в последние десятилетия удалось достичь значительных успехов в изучении патогенеза псориаза, в частности, были открыты субпопуляции Т-клеток, играющие важную роль в развитии воспаления при псориазических поражениях кожи. Т-клетки разных субпопуляций могут играть неодинаковую роль в патогенезе заболевания, что подчеркивает важность различий субпопуляций Т-клеток. Так, отдельные популяции выступают в этом процессе в качестве иницирующих агентов, другие - в качестве регулируемых клеток-эффекторов, усиливающих воспаление в псориазических бляшках и, возможно, опосредующих выраженность клинических проявлений [25].

Аутоиммунный компонент патогенеза псориаза был подтвержден сравнительно недавно, когда было показано, что вышеуказанный кателицидин, антимикробный пептид, полученный из кератиноцитов, может выступать у пациентов с псориазом в роли аутоантигена для аутореактивных Т-клеток как CD8, так и для CD4 [34]. Кроме того, второй антиген, ADAMTS-подобный белок 5 (ADAMTSL5), который продуцируется меланоцитами, также был идентифицирован как аутоантиген, распознаваемый ИЛ-17-продуцирующими CD8-Т-клетками [192].

Эти сообщения наряду с данными ранее проведенных исследований по изучению аутореактивных CD8 Т-клеток подтверждают, что эти клетки можно рассматривать в качестве ключевого звена патогенеза заболевания. CD8 Т-клетки запускают механизмы начальной фазы патологического процесса и выступают в роли носителей специфической иммунологической памяти заболевания [172].

Кроме того, в последние годы была установлена роль различных подсемейств Т-хелперных клеток в качестве ключевого элемента патогенеза псориаза. В частности, было показано, что клетки Th1, которые первоначально считались основным звеном в патогенезе псориаза, оказались более активными на ранних стадиях заболевания, до ИЛ-17-инициированной провоспалительной «регуляторной петли». Результаты исследований генетических связей, данные

исследований с участием человека и с применением лабораторных мышей, а также результаты клинических исследований способствовали смещению фокуса внимания специалистов на ось ИЛ-23/17, контролирующую главным образом провоспалительный механизм, обозначенный выше, как «регуляторная петля» в псориазных бляшках, в которой задействованы кератиноциты, дендритные клетки и Т-клетки. Важно отметить, что $\gamma\delta$ -Т-клетки также играют важную роль в синтезе ИЛ-17 и в поддержании воспаления в псориазных бляшках [14, 21, 23, 49, 66, 118].

Современным исследователям предстоит определить, каким образом происходит активация Т-клеток при псориазе. На сегодняшний день причины избыточной инфильтрации иммунных клеток в кожу до конца не установлены. В качестве возможных триггеров стимуляции Т-клеток рассматривают антигены стрептококка [123]. Кроме того, стрептококковый М-протеин имеет сходство по структуре с кератинами 1-го типа. Исходя из этого, предложена теория молекулярной мимикрии об активации клеток посредством взаимодействия Т-клеточных рецепторов (TCR) со специфическим тканевым антигеном-мишенью, подобным антигену стрептококка [59, 101, 123, 124].

1.2 Рецепторы Т-лимфоцитов при псориазе

1.2.1 Общие сведения о биологической роли рецепторного аппарата Т-лимфоцитов

Как известно, кожа защищает организм от постоянного воздействия со стороны факторов окружающей среды. Иммунная система участвует в поддержании барьерной функции кожи. Важную роль в приобретенном иммунном ответе играют Т-лимфоциты - клетки, которые обеспечивают распознавание и уничтожение субстанций, несущих чужеродные антигены [123]. Развиваясь из предшественников, претимоцитов, в вилочковой железе (тимусе), Т-лимфоциты дифференцируются и приобретают специальные рецепторы для распознавания

антигенов [188]. Активация Т-лимфоцита происходит при взаимодействии Т-клеточных рецепторов с молекулами главного комплекса гистосовместимости (Major Histocompatibility Complex, МНС) и связанным с ним антигеном. Т-клетка несет только один вариант рецептора для своего антигена, т.е. каждый лимфоцит способен распознать только одну пространственную конфигурацию чужеродных макромолекул. Это событие является ключевым при запуске иммунного ответа, а TCR – важнейшим фактором функционирования Т-лимфоцита.

TCR - трансмембранные белки-гетеродимеры, которые состоят из двух субъединиц: для Т-клеток первого типа (Th1) характерны γ - и δ -цепи, для Т-клеток 2-го типа (Th2) - α - и β -цепи. Каждая цепь рецептора содержит по одному наружному вариабельному V- и константному C-домену, за которыми следует трансмембранный участок и короткий цитоплазматический хвост. Цепи соединены между собой дисульфидной связью, которую образуют их C-домены вблизи клеточной мембраны. V-домены отвечают за связывание антигена, презентруемого молекулами МНС. В состав вариабельного домена входит характерный для иммуноглобулинов гипервариабельный участок CDR (complementarity determining regions – участок, определяющий комплементарность) [24].

В роли ко-рецепторов TCR выступают трансмембранные гликопротеины CD8 и CD4 (Cluster of Differentiation – кластер дифференцировки). CD8 связывается с молекулой МНС класса I, ответственной за определение тканевых антигенов, а CD4 – с молекулой МНС класса II, которая контролирует ответ к тимусзависимым антигенам. Кроме того, на поверхности Т-лимфоцитов находится мультипротеиновый комплекс CD3, обеспечивающий передачу сигнала в клетку, а также стабилизацию TCR на поверхности мембраны. CD3 содержит отрицательно, а TCR – положительно заряженный аминокислотный остаток, эти структуры объединяются в общий функциональный комплекс TCR за счет электростатических взаимодействий [195].

Механизмы формирования TCR обеспечивают их разнообразие, позволяющее распознавать миллиарды различных антигенов, попадающих в

организм. Гемопоэтические стволовые клетки сначала мигрируют из костного мозга в тимус, где начинается их созревание. Поверхностные маркеры CD4 и CD8 поначалу отсутствуют на этих клетках. В процессе созревания клеток начинается рекомбинация генов, регулирующих синтез β -, γ - и δ -цепей. В тех случаях, когда γ - и δ -цепи успевают синтезироваться раньше, чем β -цепь, то сформированный $\gamma\delta$ -рецептор передает сигнал в клетку о прекращении реорганизации генов β -цепи, при этом образуется $\gamma\delta$ Т-лимфоцит. Если β -цепь формируется раньше комплекса $\gamma\delta$, происходит ее соединение с α -цепью, образуя $\alpha\beta$ -рецептор, который передает сигнал об остановке дальнейшей рекомбинации генов β -, γ - и δ -цепей и запуске пролиферации [28, 112, 155].

После приобретения Т-лимфоцитом детерминант CD4 и CD8 начинается позитивная и негативная селекция клеток. Первая представляет собой процесс удаления Т-лимфоцитов, неспособных распознавать комплекс собственный пептид-МНС, во втором случае активируется апоптоз тимоцитов, взаимодействующих с собственными антигенами, что обеспечивает удаление потенциальных источников аутоиммунных заболеваний. В результате созревания большая часть Т-клеток приобретает $\alpha\beta$ -рецепторы, меньшая – $\gamma\delta$, доля последних составляет менее 10% лимфоцитов в организме человека, они присутствуют не только в крови и лимфоидных тканях, но также и в коже, эпителии кишечника и легких.

В ходе эмбриогенеза $\gamma\delta$ Т-клетки появляются раньше, чем $\alpha\beta$ Т-лимфоциты. У взрослого человека насчитывается примерно 10^{12} Т-лимфоцитов, а репертуар различных TCR оценивается в примерно 10^7 различных переменных участков. В геноме изначально отсутствует такое количество вариантов кодирования TCR, в связи с чем, значительное разнообразие достигается за счет так называемой соматической рекомбинации переменных участков. Гены TCR состоят из повторяющихся сегментов, принадлежащих к трем классам: V (variable – переменный), D (diversity – разнообразный) и J (joining – соединяющий). В процессе V(D)J-перестройки генные сегменты по одному из каждого класса

соединяются вместе. Объединенная последовательность сегментов V(D)J кодирует переменные домены каждой из цепей рецептора [195].

Несмотря на то, что $\alpha\beta$ Т-клетки в коже человека более распространены, чем $\gamma\delta$ Т-клетки, недавно было показано, что $\gamma\delta$ Т-клетки могут играть важную роль в патогенезе псориазического воспаления, поскольку, вероятнее всего, они являются основными продуцентами ИЛ -17, ключевого цитокина в патогенезе псориаза [115, 117, 125].

Касаясь методов оценки репертуара Т-клеточных рецепторов, следует отметить получивший в последние десятилетия метод секвенирования репертуара Т-клеточных рецепторов. Считают, что его применение позволяет выяснить, происходит ли клональное расширение подгруппы Т-клеток под влиянием определенного антигена. Метод применяется для изучения TCR при псориазе [195]. Последние научные достижения, в частности, применение глубокого секвенирования нового поколения, позволили провести количественную выборку значительно большей части репертуара TCR с целью получения более достоверного подтверждения разнообразия репертуара Т-клеток [146].

Исследование Harden J.L. et al. (2015) явилось одним из первых исследований с применением глубокого секвенирования TCR в псориазических очагах и нормальной коже с использованием иммуноферментного анализа. Авторами для глубокого секвенирования β -цепи и γ -цепи использовалась геномная ДНК (гДНК) и комплементарная ДНК (кДНК) кожи здоровых добровольцев, а также интактной и патологически измененной кожи пациентов, страдающих псориазом. В ходе первичного исследования удалось охарактеризовать репертуар TCR для каждого образца и сравнить патологически измененную и интактную кожу. В ходе исследования были использованы последние достижения в секвенировании нового поколения с целью получения подтверждения разнообразия и поликлональности популяций $\alpha\beta$ и $\gamma\delta$ Т-клеток в коже пациентов, страдающих псориазом. Было показано, что в коже пораженных участков содержалось значительно большее количество уникальных последовательностей β - и γ -цепей, чем в интактной коже пациентов, страдающих псориазом, или в коже

здоровых пациентов. При этом, кожа пораженных участков имела высокую поликлональность без доминирующих клонов Т-клеток. Полученные данные, по мнению авторов, подтвердили разнообразный и неспецифический характер поликлонального Т-клеточного инфильтрата в пораженных псориазом участках кожи [76, 175].

1.2.2 Особенности функционирования Т-клеточных рецепторов при псориазе

В настоящее время показано, что при псориазе сохраняется клональная перегруппировка TCR - в очагах поражения длительно присутствуют определенные типы клонов Т-клеток. При этом спектры TCR в пораженной и непораженной коже существенно различаются, что позволяет предположить активацию специфических Т-клеток под воздействием общего антигена либо антигенов, что, возможно, играет важнейшую роль в хронизации процесса при псориазе [10, 29, 203].

Известно, что Th17-клетки участвуют в защите организма от внеклеточных бактерий и грибов [103]. При этом некоторые авторы рассматривают псориаз как аутоиммунное заболевание, в развитии которого важнейшую роль играют Th17-клетки [110]. Однако, как было указано выше, до настоящего времени специфический антиген для TCR, на который реагирует иммунная система при псориазе, не обнаружен. В исследовании, проведенном на трансгенных мышах, было показано, что CD4⁺ Т-клетки способны распознавать эпидермальный гликопротеин (десмоглеин 3), в результате чего происходит развитие кожного воспаления, напоминающего псориаз [1]. Исследователи предположили, что псориаз может развиваться как следствие специфического узнавания эпидермального аутоантигена рецептором Th17-клетки [204].

В другом экспериментальном исследовании, проведенном на мышах, было показано, что отдельные популяции $\gamma\delta$ Т-клеток, обнаруженные преимущественно в дерме, играют важную роль в развитии воспаления кожи, напоминающего псориаз. Эти клетки способны секретировать ИЛ-17 и устойчивы к определенным

патогенам. Возможно, что в коже у людей имеется аналогичная субпопуляция $\gamma\delta$ Т-клеток, вследствие чего секреция цитокинов смещена в сторону ИЛ-17 [164, 165, 187, 210].

Показано, что активированные CD4⁺ Т-клетки в очагах поражения псориазом могут усиливать пролиферацию кератиноцитов посредством секреции ИФН- γ [114, 138]. С помощью методов проточной цитометрии и полимеразной цепной реакции (ПЦР) изучено влияние антител к ФНО- α , в частности инфликсимаба, на изменение уровня и многообразия $\gamma\delta$ Т-клеток в периферической крови 45 мужчин и 10 женщин, страдающих псориазом [102]. У 17 мужчин был выполнен повторный анализ в течение 48 ч после введения инфликсимаба для того, чтобы оценить возможный рост уровня $\gamma\delta$ Т-клеток. В группу контроля были включены 10 больных псориазом, которым никогда не проводилась биологическая терапия, а также 20 здоровых лиц. Спустя 11 мес лечения было обнаружено, что у большинства больных псориазом уровень и клональный паттерн $\gamma\delta$ Т-клеток были стабильны в течение всего периода лечения. У одного пациента неоднократно наблюдалось значительное увеличение уровня $\gamma\delta$ Т-клеток после введения инфликсимаба.

Моноклональный состав $\gamma\delta$ Т-клеток (присутствие определенного типа клонов Т-клеток) на фоне поликлонального встречался чаще у пациентов, получавших анти-ФНО- α препараты по сравнению с группой контроля. Полагают, что биологическая терапия способствует клональной селекции $\gamma\delta$ Т-клеток у больных псориазом [102, 188].

Важнейшими иммунорегуляторными элементами являются инвариантные натуральные Т-киллеры (invariant natural killer, iNK), которые несут на своей поверхности TCR V α 24⁺. Показано, что количество iNK в коже коррелирует с протяженностью гиперплазии сосочков дермы и индексом распространенности и тяжести псориаза (Psoriasis Area and Severity Index, PASI), что позволяет рассматривать iNKТ в качестве возможных будущих терапевтических мишеней при разработке новых персонализированных подходов к лечению больных псориазом [95, 127, 130].

1.2.3 Ключевая роль Th1, Th17 и Th22 -клеток в патогенезе псориаза

Первоначально псориаз рассматривался в качестве Th1-опосредованной патологии, однако в последние годы была показана важнейшая роль в патогенезе заболевания Th17 и других видов клеток, продуцирующих ИЛ-17, в особенности $\gamma\delta$ T- и CD8-T-клеток [24, 30, 65, 110, 114, 194].

Было показано, что цитокины, продуцируемые Th17-клетками, в частности интерлейкин-17A, играют ключевую роль в поддержании воспалительного процесса в псориатической бляшке. Было обнаружено, что количество продуцирующих ИЛ-17 CD4⁺T-клеток значительно выше в псориатических очагах по сравнению со здоровой кожей [30, 125, 134, 167]. Th17 играют решающую роль в секреции интерлейкинов -17A и F, ИЛ-22 и 9, которые способствуют поддержанию участия в воспалительной реакции кератиноцитов, что было подтверждено в исследованиях с культивируемыми кератиноцитами человека [117, 198].

Антимикробные пептиды, цитокины и хемокины, в частности, CCL20 и CXCL1, CXCL3 и CXCL8, являются частью индуцированного ИЛ-17 набора сигнальных молекул кератиноцитов. К настоящему времени установлено, что вышеперечисленные факторы играют решающую роль в усилении иммунного ответа в псориатических бляшках [62, 199]. Таким образом, активированные Th17 способны усиливать воспалительную реакцию кератиноцитов путем создания положительной обратной связи через регуляторную ось ИЛ-23/17 [106].

Ключевая роль данной регуляторной оси в патогенезе псориаза подтверждается наличием связи между вариантами гена ИЛ-23R, 12B и 23A и предрасположенностью к развитию заболевания [108, 113, 149]. Фактические доказательства данной теории были получены в ходе клинических исследований, в рамках которых было показано, что препараты - блокаторы ИЛ-17 позволяли добиться быстрого и выраженного улучшения состояния пациентов с псориазом [156]. В ходе клинических исследований с применением секукинумаба и иксекизумаба, моноклональных антител к ИЛ-17, и бродалумаба, антагониста

рецептора ИЛ-17RA, было показано, что ингибиторы ИЛ-17 более эффективны при лечении псориаза, чем ингибиторы ФНО- α и ИЛ-12/23 [5, 47, 51, 135, 141, 182, 185]. Быстрое и выраженное улучшение состояния больных псориазом на фоне анти-ИЛ-17-терапии подтверждает предположение о том, что ИЛ-17 является важным звеном ключевого эффекторного механизма при псориазе, в том числе определяющего степень выраженности кожных проявлений заболевания [63, 80].

В то же время подтверждение ключевой роли ИЛ-17-продуцирующих клеток, сделала более понятной роль Th1-клеток и ИФН- γ в патогенезе заболевания [34, 35]. У пациентов с псориазом количество Th1 и уровень ИФН- γ значительно увеличены [85, 199]. Kruczek I. et al. (2008) было сделано предположение, что важная роль ИФН- γ в патогенезе псориаза заключается в регуляции патологического каскада ИЛ-17. Согласно этой концепции ИФН- γ , продуцируемый Th1, а также некоторыми другими клетками, программирует миелоидные дендритные клетки, заставляя их синтезировать CCL20 (лиганд CCR6) и секретировать ИЛ-23 [66, 72, 199]. Эти сдвиги, в свою очередь, активируют рекрутинг клеток, продуцирующих ИЛ-17. В псориатических бляшках значимо повышен уровень ИФН- γ -мРНК вместе с активацией транскрипции индуцируемых ИФН- γ генов, в частности CXCL9, CXCL10 и CXCL11 [21]. Все это может указывать на важную роль ИФН- γ в активации дальнейшего рекрутинга CXCR3⁺Th1 и CD8T-клеток в псориатических бляшках. В последних исследованиях был подтвержден факт рекрутинга CCR5⁺ИФН- γ -продуцирующих CD4⁺ T-клеток в псориатических бляшках на поздних стадиях заболевания [46].

С другой стороны, в экспериментальных исследованиях при моделировании аутоиммунных заболеваний на мышах, в частности коллаген-индуцированного артрита (КИА) и экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (ЭАЭ), было показано, что ИФН- γ подавляет продукцию ИЛ-17, а в случае КИА — препятствует развитию заболевания [129, 213]. Кроме того, в пилотном клиническом исследовании было показано, что применение гуманизированных антитела к ИФН- γ оказывает некоторый терапевтический эффект у больных с псориазом [76, 108, 113, 128].

Наличие ряда противоречий по результатам вышеприведенных исследований свидетельствует о сложных взаимодействиях между Th1- и Th17-клетками в патогенезе псориаза. Показана также важная роль Th22-клеток в поддержании гомеостаза кожи и регуляции воспаления. Эти клетки, как и Th17, экспрессируют ИЛ-23R, а также секретируют преимущественно ИЛ-22, но не ИЛ-17 [115, 166]. У человека Th22 локализуются в коже и могут экспрессировать ИЛ-22, ФНО- α и ИЛ-13 [119]. В коже субъединица ИЛ-22R1 рецепторного комплекса ИЛ-22 экспрессируется главным образом негематопоэтическими тканями. В частности, в кератиноцитах была обнаружена экспрессия ИЛ-22R1 под влиянием ИФН- γ [120, 124].

У пациентов с псориазом было показано повышение уровня ИЛ-22 в плазме, коррелирующее с тяжестью заболевания. Роль ИЛ-22 в патогенезе псориаза связана с активацией кератиноцитов и формированием эпидермального акантоза, который является одним из морфологических признаков псориаза [120, 122]. ИЛ-22 регулирует функцию кератиноцитов путем реализации нескольких механизмов. Этот цитокин, в частности, способствует формированию биологического барьера кожи посредством индукции синтеза противомикробных белков в кератиноцитах, ингибирует терминальную дифференцировку кератиноцитов, индуцирует образование матричных металлопротеиназ 1 и 3, активность которых связана с деградацией тканей, и рекрутирует нейтрофилы путем стимуляции продукции хемокинов [120, 122]. Таким образом, ИЛ-22 наряду с другими цитокинами, в частности ФНО- α , ИЛ-17 и 20 участвует в формировании цитокиновой группы, опосредующей и регулирующей прогрессирование различных патологических проявлений псориаза [119].

В одном из исследований было показано, что эпидермальные клетки Th22 в заживших псориазных бляшках по-прежнему функционируют даже после нескольких лет стойкой ремиссии заболевания, что подчеркивает роль локальных Th22 в патогенезе псориаза и в формировании памяти заболевания в пораженных областях [121, 122, 125, 137].

В исследовании на лабораторных мышах с моделированием псориаза с применением имиквимода у ИЛ-22-дефицитных мышей было зарегистрировано выраженное уменьшение псориазоподобных поражений, в частности образования пустул с акантозом. Более того при моделировании псориаза у мышей, которым вводились нейтрализующие ИЛ-22 антитела, было продемонстрировано либо полное отсутствие проявлений, либо незначительные признаки патологии, что свидетельствует о потенциальной возможности ингибирования ИЛ-22 как метода таргетной терапии псориаза [120, 121, 122, 132].

1.2.4 Роль Th9, Th 21-клеток и патогенных субпопуляций Т-хелперов

Th9 лимфоциты - это тропные к коже клетки, которые обнаруживаются как в здоровой, так и в патологически измененной коже [75, 111]. Th9 были обнаружены в очагах поражения не только при псориазе, но и при некоторых других воспалительных заболеваниях кожи, в частности, при атопическом дерматите [111]. При псориазе было обнаружено повышение количества продуцирующих ИЛ-9 клеток по сравнению со здоровой кожей, при этом анализ экспрессии генов свидетельствовал о выраженном увеличении экспрессии ИЛ-9 по сравнению с нормальной кожей здорового пациента [30, 46, 111].

Th9 были обнаружены преимущественно среди популяции тропных к коже Т-клеток CLA⁺. Известно, что активированные CLA⁺ Th9 некоторое время быстро вырабатывают ИЛ-9, который оказывает аутокринный эффект, индуцируя дальнейшую продукцию ИЛ-9 и паракринный эффект, индуцируя продукцию ИФН- γ , интерлейкинов -13 и -17 CLA⁺клетками Th1, Th2, и Th17. Способность Th9 усиливать синтез воспалительных цитокинов другими подтипами Т-клеток и повышать их локальное присутствие в псориазных очагах кожи указывает на то, что Th9 могут участвовать в индукции и поддержании воспаления кожи [111].

Кроме того, предполагается, что в патогенезе псориаза участвует также Th21-клетки, поскольку при поражении кожи уровень экспрессии ИЛ-21 существенно увеличен [54]. Хемокин главным образом продуцируется CD4⁺ Т-клетками и НК-

клетками. Поскольку ИЛ-21R экспрессируется как Т-клетками, так и кератиноцитами, было высказано предположение, что этот цитокин может играть определенную роль в патогенезе заболевания либо путем оказания митогенного эффекта на кератиноциты, действуя синергично с ИЛ-22, либо путем потенцирования других патогенных Т-хелперных субпопуляций. Было обнаружено, что ИЛ-21 также экспрессируется Т-клетками, коэкспрессирующими ИФН- γ или ИЛ-17, что подтверждает концепцию специфических патогенных субпопуляций Т-клеток при псориазе [79, 115].

На сегодняшний день считается, что патогенные Т-хелперы представляют собой субпопуляции Т-клеток, которые развиваются из «классических» субпопуляций Th1/2 и Th17 при определенных условиях. Патологические субпопуляции Th имеют отличный от других цитокиновый профиль и, возможно, играют важную роль в индукции различных заболеваний [109]. При псориатических поражениях кожи была описана субпопуляция клеток, коэкспрессирующих ИЛ-17 и ИФН- γ , которая может быть отнесена к недавно определенной категории «неклассических» Th1-клеток или Th1+-клеток [77, 110, 178, 196]. Эти клетки имеют более агрессивный воспалительный фенотип, и их можно рассматривать как пример индуцирующего патологический процесс субпопуляций Т-хелперов.

1.3 Роль рециркуляции Т-клеток в реализации различных клинических проявлений псориаза

К настоящему времени получены данные о том, что псориаз помимо воспаления кожи и суставов ассоциирован с рядом важных системных проявлений и коморбидных заболеваний, в частности с сердечно-сосудистыми заболеваниями, метаболическим синдромом и болезнью Крона [57, 58, 104, 186]. В качестве объяснения системных проявлений псориатических заболеваний была предложена концепция «марша псориаза», согласно которой псориаз рассматривается как

системное воспалительное состояние, приводящее к поражению различных органов (помимо кожи) через системный кровоток [57, 58, 186].

Было установлено, что в этом процессе принимают участие растворимые медиаторы системного воспаления, в частности сывороточный ФНО- α , фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), ИЛ-12, моноцитарный хемотаксический белок-1 (MCP-1), белок S100A8/A9. При этом особенно выраженное влияние на активность сердечно-сосудистой патологии при псориазе оказывает уровень ИЛ-17А в системном кровотоке [104].

Установлено, что у пациентов со средней тяжести и тяжелым псориазом значительно повышается уровень ИЛ-17А в сыворотке крови [125, 189]. Предполагается, что высокий уровень ИЛ-17А ассоциирован с более высоким риском развития острых состояний сердечно-сосудистых, в частности, инсульта и инфаркта миокарда. При наличии атеросклероза у человека уровень ИЛ-17А/ИЛ-17F увеличивается с каждой последующей стадией развития бляшек, а при выраженном атеросклерозе обнаруживаются также CD4⁺T-клетки, экспрессирующие как ИФН- γ , так и ИЛ-17 [131].

Несмотря на вышеприведенные данные, точные механизмы, в частности, перемещения клеток, за счет которых реализуется патогенетическая связь между кожными проявлениями, системным воспалением и развитием коморбидных заболеваний, по-прежнему в значительной степени остаются невыясненными.

У пациентов с псориазом были описаны дермальные лимфоидные агрегаты, в основном состоящие из CD4⁺ T-клеток и миелоидных дендритных клеток. Было показано, что CD4⁺ T-клетки в составе таких агрегатов экспрессируют CCR7, при этом регуляторная ось CCR7/CCL19 при псориатических поражениях кожи играет решающую роль в патогенезе заболевания и в установлении ремиссии на фоне терапии ингибиторами ФНО [172].

В исследовании с применением трансгенных мышей Kaede было показано, что CD4⁺ T-клетки памяти могут покидать кожу с помощью CCR7-зависимого механизма. Была идентифицирована субпопуляция рециркулирующих CD4⁺ T-клеток памяти в периферической крови с фенотипом CCR7⁺ CD69⁻ CD103^{+/-} CCR4^{+/-}

, способная проникать в системный кровоток и сохранять способность к миграции в неизмененную кожу [172]. Соответственно, можно предположить, что у человека при заболеваниях барьерных тканей, в частности при псориазе, может наблюдаться аналогичный динамический баланс между резидентными Т-клетками памяти и рециркулирующим пулом Т-клеток [68, 200].

Показано, что некоторые субпопуляции Т-клеток памяти участвуют в развитии кожных проявлений псориаза и системного воспаления. В частности, было показано, что существует обратная ассоциация $CCR5^+ CD4^+$ Т-клеток с площадью пораженных кожных покровов, что говорит об участии $CCR5^+ CD4^+$ Т-клеток в формировании псориазической бляшки [46, 207]. При этом обнаружено, что количество $CCR4^+ CD4^+$ Т-клеток с фенотипом T_{EA} и T_{eff} в периферической крови положительно коррелирует с тяжестью кожных проявлений заболевания, однако существенной корреляции с системными воспалительными проявлениями обнаружено не было.

Определена роль $CCR4$ как рецептора тропности к коже, который находится под влиянием регуляции Т-клетками памяти, примированными в лимфатических узлах, в которые осуществляется лимфоотток от кожи. Т-клетки, экспрессирующие $CCR4$, могут таким образом перемещаться в кожу, при этом воспалительные сигналы вызывают экспрессию соответствующего рецептору лиганда $CCL17$ [45, 151]. Полученные данные позволяют предположить, что $CCR4^+ CD4^+$ Т-клетки являются той самой субпопуляцией, способной рециркулировать, покидая кожу, или возвращаясь в нее после повторного появления антигена, либо на фоне экспрессии провоспалительных сигналов [45, 61].

Также было показано, что уровень $CCR4^+ CD8^+ CD103^+ T_{eff}$ в периферическом кровотоке достоверно коррелирует с системным воспалением и с оценкой по критерию PASI у больных псориазом. Возможно, именно эти клетки опосредуют связь между выраженностью кожных проявлений заболевания и активностью системного воспаления [55]. Установлено, что уровень $CCR6^+ CD4^+ T_{EM}$ коррелирует с выраженностью системной воспалительной реакции, определяемой по уровню С-реактивного белка в сыворотке крови, с увеличением уровня ИЛ-17А

в сыворотке крови пациентов с тяжелым псориазом и его ассоциацией с сердечно-сосудистыми заболеваниями [189].

В целом показано, что рециркуляция Т-хелперов может играть важную роль как в усилении кожных проявлений, так и в развитии сопутствующих заболеваний, ассоциированных с псориазом. Безусловно, необходимо проведение дальнейших исследований в этом направлении, в частности, анализ Т-клеточного ответа и репертуара рецепторов Т-лимфоцитов в коже при проведении иммуносупрессивной терапии.

1.4 Современные направления биологической терапии псориаза

1.4.1 Биологическая терапия - общие сведения

Одним из важнейших достижений в лечении псориаза было применение низкомолекулярных препаратов, оказывающих неспецифическое действие на иммунную систему. В частности, частота ответа по критерию PASI-75 при использовании метотрексата - низкомолекулярного ЛС первой линии, применяемого в рутинной клинической практике, - обычно составляет 35,5-41% [50, 94, 214].

В последние годы появляется все больше сообщений, посвященных связи между клиническими проявлениями псориаза, особенностями иммунопатогенеза заболевания и генетическими факторами в контексте механизма действия новых биологических препаратов. Результаты этих исследований позволят в будущем осуществлять индивидуальный подбор терапии [8, 17, 19, 129]. Новым существенным достижением в системном лечении заболевания стало появление биологических препаратов. Широкую популярность получили препараты моноклональных антител, действие которых направлено на Т-клетки [56, 165, 187, 188]. К настоящему времени разработаны, прошли клинические исследования и одобрены к применению ряд лекарственных средств новых поколений. Однако, значительная часть данных по применению этих ЛС в лечении псориаза получена

в ходе рандомизированных плацебо-контролируемых исследований, однако на сегодня проведено лишь относительно небольшое число прямых сравнительных исследований.

В настоящее время термин «биологическая терапия» применяется чаще всего для обозначения подгруппы крупных сложных молекул для таргетной терапии, в частности моноклональных антител и химерных рецепторных белков. В отличие от низкомолекулярных препаратов, биологические препараты представляют собой белки с высокой молекулярной массой, требующие парентерального введения, поскольку в желудочно-кишечном тракте при пероральном введении препараты данной группы будут разрушаться. Если низкомолекулярные ЛС способны проходить через клеточную мембрану, то биологические препараты действуют в межклеточной среде или на поверхности клеток [15, 136, 150, 152].

Появление биологических ЛС явилось концептуальным подтверждением значительного прогресса, достигнутого в понимании сложного патогенеза псориаза. Специфические мишени биологических препаратов подтверждают важнейшую роль в развитии и прогрессировании изменений кожи при псориазе ряда цитокинов, в частности ФНО- α , ИЛ-23 и 17 [17, 19, 27, 202, 205].

Наиболее старой группой биологических препаратов, мишенью которых являются молекулы, способствующие активации и миграции Т-клеток, относятся алефацепт и эфализумаб [176, 177, 208, 209]. В настоящее время эти препараты не используются для лечения псориаза.

Биологическими ЛС первого поколения, действующими на ФНО- α , являются этанерцепт, инфликсимаб и адалимумаб [176]. Препараты второго поколения появились в 2009 г. и представляют собой антитела к элементам сигнального пути ИЛ-23/Th17. На сегодняшний день американским Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) допущены к применению устекинумаб, секукинумаб, иксекизумаб, бродалумаб и гуселькумаб [16]. Также в настоящее время проходят клинические исследования по оценке применения в лечении псориаза такие препараты, как тильдракизумаб и рисанкизумаб. В Российской Федерации на сегодняшний день зарегистрировано

восемь биологических антипсориаических средств: Адалимумаб, Голимумаб, Инфликсимаб, Иксекизумаб, Нетакимаб, Секукинумаб, Устекинумаб и Этанерсепт.

1.4.2 Ингибиторы фактора некроза опухоли-альфа

Этанерсепт представляет собой рекомбинантный химерный белок-рецептор к ФНО. Молекула препарата состоит из двух внеклеточных доменов человеческого рецептора ФНО, связывающих ФНО- α , как растворимый, так и связанный с мембраной, и Fc-фрагмента человеческого IgG, который стабилизирует молекулу [38]. Как димерная молекула этанерсепт может связывать две молекулы ФНО- α и выступать в роли конкурентного ингибитора эндогенного ФНО- α [41, 48, 176]. ФНО- α продуцируется, в частности, дендритными клетками, Th1, Th22 и Th17-клетками, макрофагами и кератиноцитами, являясь важным элементом патогенеза псориаза, этот цитокин действует на несколько мишеней. Соответственно, ингибиторы ФНО- α считаются препаратами для таргетной терапии, но с более широким спектром действия, по сравнению с препаратами второго поколения [32, 176].

Результаты исследований III фазы показали, что при назначении этанерсепта в дозировке 50 мг 2 раза в неделю достижение PASI75 к 12-й неделе лечения отмечается у 47-49% пациентов (при назначении плацебо — у 3-5%) [26, 41, 100, 105, 142, 144, 145, 191].

Инфликсимаб представляет собой химерные моноклональные антитела класса IgG1 (константные фрагменты человеческих антител и переменные мышинные фрагменты). Препарат связывает ФНО- α , как растворимый, так и связанный с мембраной, и подавляет его активность [12, 39, 206].

В ходе исследований инфликсимаб показал свою высокую эффективность в лечении псориаза. Мета-анализ результатов сравнительной оценки применения ингибиторов ФНО- α и устекинумаба, инфликсимаба и устекинумаба показал, что последние два являются наиболее эффективными препаратами, при этом

эффективность их сопоставима [96, 176]. В двух клинических исследованиях (КИ) фазы III было показано, что инфликсимаб в дозе 5 мг/кг на 0-й, 2-й и 6-й неделях позволял обеспечить PASI75 к 10 неделе с частотой 75,5% и 80% по сравнению с 1,9% и 3,0% на фоне плацебо [44, 176].

Адалимумаб был разрешен к применению FDA в 2005 г. для лечения псориатического артрита, а спустя 3 года был разрешен к применению при лечении псориаза [47, 182, 185]. Это ЛС представляет собой полностью человеческие моноклональные антитела изотипа IgG1, связывающие как растворимый, так и мембранный ФНО- α , также как и инфликсимаб [48, 133].

Результаты исследования фазы III показали, что при назначении адалимумаба в дозе 80 мг при первом приеме, 40 мг на 1-й неделе, а затем по 40 мг каждые 2 недели у 71% пациентов к 16-й неделе наблюдается ответ по критерию PASI75 по сравнению с 7% в группе плацебо [48, 176]. В открытом КИ фазы III у 76% пациентов на 16-й и 33-й неделе был получен ответ как минимум PASI75, при этом данный ответ сохранялся после 160 недель непрерывного лечения [142].

Все препараты-ингибиторы ФНО- α имеет одну и ту же мишень, однако вследствие структурных различий молекул механизмы их действия различаются, что находит отражение в показателях эффективности, а также влияет на частоту и выраженность побочных эффектов [26]. Частота PASI75 на 10-й, 12-й или 16-й неделе лечения, полученная в ходе исследований фазы III, для препаратов из группы ингибиторов ФНО- α , находится в диапазоне от 47% (этанерцепт) до 80% (инфликсимаб) [26, 37]. Эффективность адалимумаба близка к таковой для инфликсимаба [20, 26]. Непосредственное сравнение препаратов и мета-аналитические исследования показали, что применение инфликсимаба сопровождается более выраженным уровнем ответа по PASI, чем использование этанерцепта. Этанерцепт менее эффективен по сравнению с инфликсимабом и адалимумабом [26, 43, 95].

Установлено, что при использовании препаратов из группы ингибиторов ФНО- α отмечались редкие, но достаточно тяжелые побочные эффекты, в частности, тяжелые инфекционные осложнения (сепсис и оппортунистические

инфекции - туберкулез), злокачественные опухоли (лимфома и немеланомные злокачественные опухоли кожи), рассеянный склероз, системная красная волчанка и застойная сердечная недостаточность и даже так называемый «парадоксальный псориаз». При применении этанерцепта и адалимумаба наиболее часто были отмечены местные реакции в области инъекции, инфекции верхних дыхательных путей, синуситы и головная боль [160, 161]. При лечении инфликсимабом чаще всего отмечаются боли в животе, инфузионные реакции, а также инфекции верхних дыхательных путей, синуситы, фарингиты и головная боль [26, 162, 163, 176].

1.4.3 Возможности применения ингибиторов интерлейкинов 12 и 23 в терапии псориаза

Устекинумаб представляет собой человеческие моноклональные антитела класса IgG1 к субъединице белка p40, общей для ИЛ-12 и ИЛ-23 [92]. Препарат ингибирует действие этих двух цитокинов, секретируемых миелоидными дендритными клетками при активации и дифференциации наивных Т-клеток в Th1 и Th17. В отличие от первых биологических препаратов, применение которых было разрешено для лечения псориаза, устекинумаб специфически активен в отношении сигнальных путей, опосредуемых ИЛ-12/Th1 и ИЛ-23/Th17, играющих ключевую роль в патогенезе псориаза [11, 26].

В двух исследованиях III фазы с участием пациентов, страдающих псориазом, было показано, что лечение с помощью устекинумаба в дозе 90 мг на 0-й и 4-й неделе позволяет добиться достижения PASI75 на 12-й неделе у 66,4% и 75,7% больных соответственно против 3,1% и 3,7% в группе плацебо [26, 91, 92, 93]. При непрерывном введении препарата в дозе 90 мг каждые 12 недель аналогичные ответы PASI-75 были получены в 2 исследованиях: 78,5% и 78,6% на 28-й неделе [26].

В трех КИ III фазы, проведенных в Тайване, Южной Корее, Китае и Японии, использование устекинумаба в дозе 45 мг позволяло добиться достижения PASI75 у 59,4 - 82,5% пациентов, тогда как в группе плацебо значение этих показателей

были в диапазоне от 5 до 11,1% [89, 90]. Эти результаты отражают рекомендуемую дозу устекинумаба: для пациентов с массой тела ≤ 100 кг оптимальная доза ЛС составляет 45 мг, при массе тела > 100 кг - 90 мг.

Было показано, что устекинумаб по сравнению с ингибиторами ФНО- α имеет значительно более продолжительный период эффективности [70, 107]. Установлено, что в краткосрочной перспективе (медиана 16 недель) предшествующее лечение ингибитором ФНО- α не влияло на эффективность устекинумаба, однако количество применяемых ранее биологических препаратов влияло на долгосрочный результат лечения [26, 174, 176].

В трех рандомизированных исследованиях III фазы 68,7% и 70% пациентов завершили 5-летний курс лечения устекинумабом. У 72% и 78,6% пациентов был зарегистрирован ответ по критерию PASI75 при приеме устекинумаба в дозе 90 мг каждые 12 недель (при гибком режиме дозирования) [26, 143, 144, 176]. При включении в анализ только пациентов, у которых был получен ответ на начальную терапию устекинумабом, частота достижения ответа по PASI75 составила 80,8% [144].

Представленные выше данные согласуются с результатами ретроспективных исследований по сравнению эффективности ингибиторов ФНО- α и устекинумаба. В рамках этого сопоставления было показано, что при применении устекинумаба отмечался наиболее длительный период эффективного использования ЛС и самая низкая степень снижения эффективности препарата. Из всей выборки, включавшей как пациентов, ранее получавших лечение биологическими препаратами, так и пациентов, не получавших лечения препаратами данной группы, после 4 лет лечения 70 % пациентов продолжали получать устекинумаб [70].

Результаты наблюдений в течение 3-5 лет указывают на более высокую безопасность устекинумаба по сравнению с ингибиторами ФНО- α и отсутствие повышенного риска тяжелых инфекционных осложнений и развития злокачественных новообразований при сравнении устекинумаба с плацебо [70, 145]. Среди значимых осложнений устекинумаба были отмечены инфекции (в частности, туберкулез) и злокачественные опухоли (главным образом,

немеланомные злокачественные опухоли кожи). Наиболее частыми побочными эффектами устекинумаба являются назофарингит, инфекции верхних дыхательных путей, головная боль и повышенная утомляемость [162, 163].

1.4.4 Применение ингибиторов интерлейкина-17

Первым ингибитором ИЛ-17А, одобренным для лечения псориаза в 2015 г., явился секукинумаб. Препарат представляет собой полностью человеческие моноклональные антитела к ИЛ-17А - IgG1, избирательно связывающие и нейтрализующие ИЛ-17А [148]. К семейству ИЛ-17 относится 6 цитокинов: ИЛ-17А, В, С, D, Е и F. ИЛ-17А и ИЛ-17F секретируются Th17, а также некоторыми другими клетками иммунной системы. ИЛ-17А примерно в 10-30 раз активнее ИЛ-17F. Гетеродимер ИЛ-17А/ИЛ-17F имеет промежуточную активность [139].

В исследованиях III фазы доля пациентов, у которых отмечалось достижение PASI-75 на 12-й неделе, составляла от 75,9 до 86,7% при применении секукинумаба в дозе 300 мг 1 раз в неделю в течение 4 недель, начиная с 0-й недели, затем каждые 4 недели и от 0 до 4,9% на фоне плацебо [26, 52, 97, 176, 178, 183]. Апостериорный анализ данных, полученных в японских исследованиях, показал сопоставимые результаты [174].

Прямое сравнение эффективности препаратов показало, что секукинумаб более эффективен при лечении псориаза по сравнению с этанерцептом и устекинумабом [179]. Различия по частоте достижения PASI-75 при сравнении секукинумаба с устекинумабом были минимальными, однако, при оценке частоты ответа \geq PASI-90 различия были более выраженными. При этом после 52 недель лечения частота достижения критерия PASI-90 на фоне лечения секукинумабом и устекинумабом составляла 76% и 61% соответственно, а частота PASI-100 - 46% и 36% соответственно [26]. Уже на 1-й неделе после начала лечения частота достижения PASI-75 при применении секукинумаба была значительно выше, чем при использовании препарата сравнения, а на 4-й неделе доля пациентов с PASI-

75 на фоне лечения секукинумабом составила 50,0%, в то время как в группе устекинумаба данный показатель составил только 20,6% [183, 186].

По сравнению с другими биологическими препаратами, действие секукинумаба начинается быстрее. В целом для этого ЛС характерна более высокая эффективность, что подтверждается более высокими значениями достижения PASI-90 и PASI-100 по сравнению с соответствующими характеристиками при использовании устекинумаба [180].

Совокупные данные по безопасности, полученные на основании результатов 10 исследований II и III фазы показали, что секукинумаб сравним с этанерцептом при использовании в течение года, за исключением более высокой частоты неосложненного кандидоза слизистых и кожи у пациентов [184].

Предложен еще один новый препарат - иксекизумаб, который представляет собой гуманизированные моноклональные антитела к ИЛ-17А класса IgG4. Как и секукинумаб, это ЛС нейтрализует ИЛ-17А. Препарат был разрешен к применению для лечения псориаза в 2016 г. [26, 208, 209].

В ходе двух независимых КИ III фазы по лечению псориаза были получены сопоставимые результаты оценки эффективности этого ЛС. Показано, что частота достижения PASI75 при лечении иксекизумабом в начальной дозе 160 мг и последующими дозами по 80 мг каждые 2 недели, составляла 87,3% и 89,7% на 12 неделе (у некоторых пациентов эффект наблюдался уже на 1-й неделе лечения) [26, 172]. Таким образом, клиническая эффективность препарата была значительно выше, чем в группе плацебо (соответственно 7,3% и 2,4%), а также у больных, которые получали лечение этанерцептом (53,4% и 41,6%). Частота достижения PASI-90 и PASI-100 также была значительно выше по сравнению с соответствующим уровнем в группах плацебо и этанерцепта: частота достижения PASI-90 составила для иксекизумаба — 68,1% и 70,7%, плацебо — 3,1% и 0,6%, этанерцепта — 25,7% и 18,7%. Частота достижения PASI-100 составила: иксекизумаба — 37,1 % и 40,5%, плацебо — 0% и 0,6%, этанерцепта — 7,3% и 5,3% [172].

Долгосрочные результаты двух исследований III фазы (UNCOVER 2 и 3), а также исследования III фазы (UNCOVER 1) были опубликованы в 2016 г. и показали, что более чем в 70% наблюдений отмечается сохранение ответа на терапию (PASI-75 в исследованиях UNCOVER 1 и 2 и PASI-90 в исследовании UNCOVER 3) до 60-й недели при применении иксекизумаба в дозе 80 мг каждые 4 недели [159, 176].

В ходе японского исследования III фазы иксекизумаб показал еще более высокую эффективность. В КИ было включено 78 пациентов с псориазом средней и тяжелой степени, при этом исследование имело открытый дизайн без плацебо-контроля и без препарата сравнения. После 12 недель лечения почти у всех пациентов отмечался ответ PASI-75 (98,7%) и у 83,3% был достигнут PASI-90 [88]. Продолжение наблюдения показало, что на 52-й у 92,3% больных сохранялся исходный ответ PASI-75, у 80,8% — PASI-90 [87].

Дополнительные субаналитические исследования, проведенные на базе предыдущих КИ III фазы также свидетельствовали об эффективности и удобстве применения иксекизумаба. Высокая частота положительного ответа на лечение была отмечена после перехода на иксекизумаб в группе пациентов, у которых не было отмечено ответа на лечение этанерцептом [179, 183, 186]. При локализации патологического процесса в областях, в которых псориаз с трудом поддается лечению (верхняя и нижняя конечность), также отмечалось улучшение на фоне применения иксекизумаба. Кроме того, было показано, что лечение иксекизумабом приводит к субъективному улучшению работоспособности пациента [85].

Данные по безопасности были получены в 7 исследованиях I-III фазы с участием пациентов, получавших иксекизумаб в течение 12-недельного индукционного периода и 60 недель поддерживающей терапии. В течение 12-недельного периода были отмечены приемлемые результаты применения препарата по сравнению с этанерцептом, показатели безопасности были аналогичными. Однако при этом была отмечена более высокая частота неосложненного кандидоза кожи и слизистых. Кроме того, у пациентов, получавших иксекизумаб каждые 2 недели, по сравнению с этанерцептом в области инъекции чаще наблюдались

инфекционные осложнения. В то же время в течение периода поддерживающей терапии нежелательных явлений выявлено не было [191].

Как было отмечено, к семейству рецепторов ИЛ-17 относится 5 молекул: ИЛ-17RA, 17RB, 17RC, 17RD и 17RE. Бродалумаб представляет собой полностью человеческие моноклональные антитела к ИЛ-17RA класса IgG2 [77]. Препарат ингибирует молекулы семейства ИЛ-17, действие которых опосредуется через ИЛ-17RA, в частности, ИЛ-17A, ИЛ-17A/F, ИЛ-17F, ИЛ-17C и ИЛ-17E (ИЛ-25) [134, 201]. Считается, что ИЛ-17F, как и ИЛ-17A, играет провоспалительную роль в патогенезе псориаза, в частности за счет индукции ИЛ-6 и ИЛ-8 кератиноцитов и активации CCL20 и человеческого бета-дефенсина-2 [24, 103, 134]. По сравнению с секукинумабом и иксекизумабом, которые активны только в отношении ИЛ-17A, бродалумаб более эффективен за счет способности подавлять активность более широкого спектра цитокинов ИЛ-17, участвующих в патогенезе псориаза, взаимодействуя с ИЛ-17RA [176].

К настоящему времени завершены 3 исследования III этапа (AMAGINE 1-3), в которых, в частности, было показано, что на 12-й неделе доля пациентов, с ответом PASI-75 на фоне терапии бродалумабом в дозе 210 мг 1 раз в неделю (с введением двух препаратов в первую неделю лечения) в 3 исследованиях была сопоставимой и составила 83-86% против 3-8% в группе плацебо [26, 42, 69, 86, 143, 158, 159, 176]. Эффективность препарата по сравнению с устекинумабом оценивалась с помощью критерия PASI-100 на 12-й неделе, при этом бродалумаб оказался более эффективным (частота достижения PASI100 составила для бродалумаба в исследованиях AMAGINE 2 и 3 - 44% и 37%; для устекинумаба - в исследовании AMAGINE 2 и 3 - 22% и 19% соответственно). Группа пациентов, получавших бродалумаб, была повторно рандомизирована после первых 12 недель и разделена на 4 подгруппы, в каждой из которых был назначен свой режим дозирования (стратификация ответа на лечение была выполнена на 12-й неделе лечения). Пациенты с неудовлетворительным ответом на лечение получали резервную терапию с 16-й недели одновременно с бродалумабом в дозе 210 мг 1 раз в неделю. На фоне лечения с применением максимальной дозы бродалумаба,

210 мг 1 раз в неделю, с 12-й до 52-й недели (включая пациентов из группы плацебо, которые также были переведены на лечение) более чем у 60% пациентов показатель PGA стабильно составлял 0 или 1 (кожа, полностью свободная от псориатических очагов, и кожа с незначительным количеством псориатических очагов) к 54-й неделе исследования (пациенты, данные для которых отсутствовали, а также пациенты с неудовлетворительным ответом рассматривались как пациенты без ответа на лечение) [26, 69, 143, 158]. Существенных различий по частоте побочных эффектов и тяжелых осложнений по сравнению с плацебо и устекинумабом зарегистрировано не было, однако на фоне бродалумаба по сравнению с устекинумабом и плацебо чаще наблюдался кандидоз слизистых и кожи. В рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании фазы II, проведенном в Японии, частота PASI75 на 12-й неделе лечения составила 94,6% [42, 86, 153, 159, 176, 189].

В феврале 2017 г. бродалумаб был разрешен FDA к применению при лечении псориаза. При этом необходимо отметить, что инструкция препарата содержит предупреждение о возможности развития суицидальных идей и поведения [208, 209]. В 2016 г. бродалумаб был разрешен к применению в Японии, а в мае 2017 — рекомендован Европейским медицинским агентством без дополнительных замечаний [141].

В целом следует отметить, что ингибиторы ИЛ-17 при лечении псориаза характеризуются высокой эффективностью и быстрым началом действия, однако на сегодняшний день отсутствуют результаты сравнения трех ингибиторов ИЛ-17, разрешенных к клиническому применению. Прием каждого из препаратов сопровождается повышенным риском инфекционных осложнений, чаще всего средней степени тяжести (в частности, инфекции верхних дыхательных путей и кандидоз). Развитие поддающегося лечению кандидоза кожи и слизистых ассоциировано с применением всех ингибиторов ИЛ-17 [176]. Вероятнее всего, это объясняется ключевой ролью ИЛ-17 в реализации реакций противомикотического иммунитета [64, 197]. Так же, как и при применении ФНО- α и устекинумаба, рекомендуется проводить скрининг пациентов с целью диагностики и лечения

латентного туберкулеза до начала терапии ингибиторами ИЛ-17, хотя данные, подтверждающие связь между применением ингибиторов ИЛ-17 и развитием активного туберкулеза, отсутствуют [176].

Необходимо также учитывать, что у пациентов, получавших ингибиторы ИЛ-17, были отмечены случаи нейтропении [52, 176, 186]. В частности, на фоне приема секукинумаба в течение 52 недель у 77% пациентов вновь возникшая или обострившаяся нейтропения соответствовала I степени. Количество нейтрофилов чаще всего восстанавливалось до нормальных значений и чаще всего не ассоциировалась с одновременным развитием инфекции [184].

Анализ данных литературы последних лет свидетельствует, что в патогенез псориаза ведущую роль играют различные субпопуляции Т-хелперных клеток. Установлено, что эти клетки регулируют продукцию ряда цитокинов и других биологически активных веществ, что, в свою очередь определяет развитие и клиническое течение заболевания. В частности, показана важнейшая роль регуляторной оси ИЛ-23/17 в активации воспаления и реализации кожных проявлений псориаза. В связи с этим актуальной задачей является определение роли каждой субпопуляции лимфоцитов в каскаде патологических процессов и реализации клинических проявлений псориаза.

Появление биологических препаратов позволило добиться значительного прогресса в терапии заболевания, при этом показано, что недавно разрешенные к применению ЛС, активные в отношении ФНО, ИЛ-17 и ИЛ-23, обладают высокой эффективностью и безопасностью. Однако, только результаты продолжительных клинических исследований и контроль применения каждого препарата после начала применения его в рутинной клинической практике позволяют определить истинную эффективность и безопасность новых методов лечения псориаза.

Вышеизложенное свидетельствует о необходимости выработки алгоритма индивидуального подбора наиболее эффективного биологического препарата для каждого отдельного пациента, а также критериев продолжения или отмены терапии у пациентов с положительным эффектом данных ЛС. В связи с этим исследования

особенностей репертуара Т-клеточных рецепторов позволят получить новую информацию [13].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Характеристика пациентов, включенных в исследование

Исследование выполнено на базе клиники кожных и венерических болезней имени В.А. Рахманова Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской Академии Наук.

В соответствии с поставленной целью исследование было проведено в качестве проспективного клинико-лабораторного исследования с генетической диагностикой.

Для работы в исследование было включено 68 пациентов с диагнозом L40.0 Псориаз обыкновенный (30 мужчин и 38 женщин). В контрольную выборку вошли 22 здоровых добровольца (10 мужчин и 12 женщин). Из этой группы для специального генетического обследования дополнительно было отобрано 15 больных, клинически и этнически однородных, а также 7 человека из группы здоровых добровольцев.

Средний возраст больных составил $41,2 \pm 16,3$ года.

Средний возраст начала заболевания составил $34,1 \pm 10,5$ лет, заболевание развилось в возрасте до 30 лет у 37 больных (54,4 %), после 30 лет - у 31 пациента (45,5 %), средняя длительность заболевания - $16,8 \pm 8,5$ лет.

В зависимости от варианта лечения больные были распределены на группы:

- группа 1 (n=32) - 32 пациента, в лечении которых была использована УФБ-311 нм фототерапия;
- группа 2 (n=36) - 36 пациентов, в лечении которых был использован метотрексат совместно с УФБ-311 нм фототерапией;

Перед началом исследования каждый его участник получил подробную информацию о проводимом исследовании и дал информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

Критерии включения в исследование: в исследовании участвовали совершеннолетние, дееспособные больные вульгарным псориазом в прогрессирующей или стационарной стадии, подписавшие информированное добровольное согласие пациента на участие в исследовании, обоего пола, в возрасте от 18 до 55 лет, с площадью поражения менее 50 % кожного покрова, с отсутствием приема иммуносупрессивных препаратов не менее 2 месяцев до начала исследования.

Критерии исключения из исследования: отказ пациента от (дальнейшего) участия в исследовании, площадь поражения более 50 % кожного покрова, прием иммуносупрессивных препаратов в срок менее 2 месяцев до начала исследования, наличие сопутствующей соматической патологии у пациентов в стадии обострения (соматическое состояние оценивалось врачами других специальностей), декомпенсированные формы сердечной и почечной недостаточности, онкологические заболевания, осложненные формы псориаза (пустулезный псориаз, псориагическая эритродермия), нарушение режима лечения, алкоголизм, наркомания, психические расстройства, прием лекарственных препаратов, несовместимых с проводимой терапией, беременность.

Все испытуемые были подвергнуты обследованию по стандартной программе клинко-лабораторного контроля для данного заболевания, проведены клинический и биохимический анализы крови, общий анализ мочи, комплекс серологических реакций на сифилис, HBsAg и anti-HCV и антитела к ВИЧ. Пациенты консультированы профессорами кафедры для определения и уточнения диагноза и тактики терапии. Лица женского пола дополнительно обследованы гинекологом с целью исключения противопоказаний к фототерапии.

Пациентов разделили на группы по полу, возрасту, дебюту, длительности заболевания, провоцирующим факторам, сопутствующим заболеваниям, распространенности кожного процесса.

Пациентам, приглашенным к участию, определяли индекс PASI (*Psoriasis Area and Severity Index*) до начала исследования и после окончания терапии. Для каждой из частей тела (голова, верхние конечности, туловище, нижние конечности

– доля 0,1; 0,2; 0,3 и 0,4 соответственно) определяли параметр «охват». Далее для каждой из частей тела определяли параметры: «зуд», «краснота», «шелушение», «утолщение» по четырехбалльной шкале (0=нет; 1=слабо; 2=умеренно; 3=тяжело; 4=максимально). Затем вычисляли локальный индекс PASI (формула: $PASI = \text{доля} \times \text{охват} \times (\text{зуд} + \text{краснота} + \text{шелушение} + \text{утолщение})$). Наконец, вычисляли итоговый индекс PASI как сумму локальных индексов PASI.

2.2 Дизайн исследования

Распределение по группам лечения (группа 1 (n=32) - использована УФБ-311 нм фототерапия, группа 2 (n=36) - метотрексат совместно с УФБ-311 нм фототерапией) ставит перед собой цель оценить влияние иммуносупрессивной терапии на иммунологические показатели исследуемых пациентов.

В работе был использован комплекс клинических обследований, входящий в стандарт обследования пациентов с псориазом, а также комплекс исследований в рамках научно-исследовательской работы, а именно: забор крови и биопсия пораженной и непораженной кожи. До начала терапии одновременно с забором крови для исследований, входящих в стандарт обследования при псориазе, проводился забор дополнительно 3-6 мл крови из вены, а также до начала терапии производилась биопсия двух участков кожи – пораженной и непораженной. Через 3 и 6 месяцев после начала терапии проводился повторный забор крови из вены.

Динамика клинических проявлений псориаза по индексу PASI с оценкой клинической эффективности лечения заболевания, клинически значимая величина $\Delta PASI > 75\%$.

1) Динамика лабораторных показателей:

- Иммунный статус: оценка содержания в периферической крови субпопуляций Т-лимфоцитов: CD 3, 4, 8, (общие, хелперы, супрессоры), Т-reg (регуляторных Т-лимфоцитов) CD 4-25.
- Анализ концентраций ИЛ 1 β , ИЛ 2, ИЛ 6, ФНО- α , ИФН- γ в сыворотке крови.

2) Также до лечения произведено однократное изучение биоптатов пораженной и непораженной кожи (40 проб от больных псориазом и 7 - от здоровых добровольцев).

Биоптаты пораженной и непораженной кожи, кровь были использованы с целью создания банка биоматериала для генетических, транскриптомных, иммунологических и статистических исследований.

Для анализа репертуара TCR из общего числа больных вульгарным псориазом была произведена выборка группы лиц в количестве 20 человек, однородная по следующим критериям: совершеннолетний возраст, длительность заболевания псориазом от 11 до 15 лет, отсутствие других кожных заболеваний, прогрессирующая стадия заболевания, с отсутствием в течение последних 2 месяцев системной или наружной иммуносупрессивной терапии. В данную группу вошли 9 женщин и 11 мужчин в возрасте от 30 до 49 лет.

На заключительном этапе произведен анализ результатов оценки клинических проявлений заболевания и иммунного статуса. Произведено сравнение в группах с разными вариантами лечения, а также сопоставление клинических проявлений и иммунологических показателей (корреляционный анализ для поиска предикторов ответа на терапию из числа характеристик лимфоцитов и уровней цитокинов у больных по исследуемой нозологии).

Статистическая достоверность по результатам обследования крови у 68 человек, биопсий пораженной и непораженной кожи у 20 пациентов, крови 22 здоровых добровольцев, биопсий здоровой кожи у 7 человек группы контроля оценивалась с помощью программ Microsoft Excel 13, SPSS Statistics 17.0, Mann-Whitney U Test Calculator. Полученные в ходе исследования данные подверглись обработке, и результаты работы представлены в общем виде (таблицы и графики).

2.3 Генетические исследования

2.3.1 Забор биоптатов

Забор биоптатов кожи больных псориазом из пораженного и визуально непораженного участков кожи (1 биоптат с пораженной кожи, 1 биоптат - с визуально непораженной кожи) проводили под местной анестезией 2% раствора лидокаина (Dermo-punch, 4 мм, Sterylab, Италия). Образцы забирали из очагов наиболее активного поражения (яркость высыпаний, острота процесса, шелушение) и непораженной кожи на расстоянии 3–4 см от очага поражения. Образцы здоровой кожи брали у здоровых добровольцев без псориаза в анамнезе и признаков поражения кожи.

Далее образцы помещали в али квоты со стабилизирующим реактивом RNA later (LifeTechnologies, США). Затем биоптаты извлекали из стабилизирующего раствора, промывали бидистиллированной водой, измельчали скальпелем на стерильной чашке Петри. Далее образцы переносили в пробирку с ATL буфером (300мкл) и реагентом DX (0,25мкл) (QIAGEN, США). Измельчение биоптата проводили на лабораторном гомогенизаторе Tissue Lyser LT (QIAGEN, США) до полной гомогенизации образца.

2.3.2 Выделение РНК и ДНК

РНК получали с помощью набора RNeasyminikit (QIAGEN, США) в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя. Количественное измерение РНК в образце проводили с помощью флуориметра Qubit с набором RNABRAssayKit (LifeTechnologies, США).

Библиотеки кДНК на основе выделенной РНК получали с помощью метода быстрой амплификации 5'-концов кДНК (5'-RACE) с набором реактивов Mint cDNA synthesis kit (Евроген). В качестве праймеров использовали смесь Reverse

Primer Mix, в состав которой входили три праймера BC1R, DC1R, GC1R.

В ходе исследования использовалась MINT ревертаза, которая является РНК-зависимой ДНК полимеразой и используется для синтеза первой цепи комплементарной ДНК с одноцепочечной РНК матрицы. Для инициации реакции необходим олигодезоксинуклеотид. После завершения синтеза молекулы кДНК MINT ревертаза нематрично присоединяет к 3'-концу первой цепи кДНК несколько дезоксинуклеотидов (преимущественно G или C). Таким образом становится возможным синтезировать полноразмерные библиотеки кДНК и клонировать 5'-концов кДНК (5'-RACE).

К 3'-концу синтезированной цепи кДНК данная ревертаза добавляет олиго-(dC)-последовательность, далее к этой последовательности комплементарно присоединяется адаптер Plug Oligo, который имеет на 3'-конце поли-(dG)-последовательность. Ревертаза воспринимает данный адаптер как продолжение матрицы, как следствие синтез продолжается с него. Таким образом первая цепь кДНК фланкирована с одной стороны 3'-праймером, а с другой – последовательностью, комплементарной Plug Oligo.

Для получения продукта, содержащего CDR3-участок использовали два следующих праймера: универсальный и специфичный к константному участку TCR.

Протокол RACE PCR:

1. Смесь (1 мкг РНК, 1 мкл Reverse Primer Mix, 1 мкл Plug Oligo) инкубировать при 70°C 2 мин.
2. Снизить температуру до 42°C и инкубировать 1-3 мин.
3. Добавить вторую часть реакционной смеси (5x Buffer, DTT, dNTP, Mint).
4. Инкубировать смесь при 42°C 30 мин.
5. Добавить 5 мкл IP смеси и продолжить инкубировать при температуре 42°C 1,5 ч.
6. Поместить пробирки в морозильник.

2.3.3 Специфическая амплификация

Амплификацию проводили в ПЦР-амплификаторе (BioRad, iQ4). Использовали Encyclo-полимеразу и праймеры, специфические для одной из цепей TCR - BC2R, GC2R, Smart, Step Out.

Протокол первого раунда амплификации ПЦР:

- 1) денатурация при температуре 94°C (5 мин),
- 2) денатурация при температуре 94°C (20 с),
- 3) отжиг при температуре 65°C (20 с),
- 4) элонгация при температуре 72°C (50 с).

Этапы 2-4 повторяли в течение 22 циклов.

Протокол второго раунда амплификации ПЦР:

- 1) денатурация при температуре 94°C (5 мин),
- 2) денатурация при температуре 94°C (20 с),
- 3) отжиг при температуре 68°C (20 с),
- 4) элонгация при температуре 72°C (50 с).

Этапы 2-4 повторяли 20 циклов. На втором раунде ПЦР использовали индивидуальные праймеры с баркодами для дальнейшей идентификации каждого образца.

2.3.4 Электрофоретическое разделение фрагментов ДНК в агарозном геле

С целью визуализации продуктов реакции проводили электрофорез фрагментов ДНК, выделенной из биоптатов кожи после каждого раунда ПЦР. Общее количество образцов составило 47. Из них 40 образцов пораженной и непораженной кожи (по 20 образцов соответственно) и 7 образца ДНК, выделенные из кожи здоровых доноров группы контроля.

Состав геля: 1% агарозы (AgoroselowEEO, AppliChem), TAE-буфер (40 мМ Tris-acetate, 1 мМ ЭДТА, рН 7,6), 0,001 мг/мл бромистого этидия (EtBr).

Буфер для нанесения: 0,01% ксилен-цианол, 0,01% бромфеноловый синий,

0,05% SDS, 0,01 М ЭДТА, рН 8.0, 5% глицерин в дистиллированной воде.

Электрофорез проходил в горизонтальной камере с ТАЕ буфером при 130В в течение 20 мин. Размер фрагментов ДНК определяли ДНК-маркер (Evrogen). Гель фотографировали при помощи фотокамеры Nikon coolpix 5400 через оранжевый фильтр.

Далее вырезали из агарозного геля полученный материал и помещали его в пробирку Eppendorf (1,5 мл). Выделение продуктов проходило на колонках наборами Clean up Standard и Clean up Mini (Евроген) в соответствии с протоколами, рекомендованными фирмой-производителем.

2.3.5 Подготовка библиотеки кДНК к секвенированию

Набор Neb Next DNA Library Prep Master Mix Set for Illumina (NEB) применялся для подготовки к секвенированию. Для восстановления концевых фрагментов ДНК 85 мкл смеси всех образцов кДНК в концентрации 20 нг смешали с 10 мкл NEB Next End Repair Buffer (10X), 5 мкл NEB Next End Repair Enzyme Mix и инкубировали 30 мин при температуре 20°C. Далее проведена очистка раствора на колонках Clean up Standard. Элюирование ДНК проводили в 42 мкл буфера с добавлением 5 мкл NEB Next dA-Tailing Reaction Buffer (10X), 3 мкл Klenow Fragment, инкубировали 30 мин при температуре 37 °С, а далее очищали на колонках и элюировали ДНК в 25 мкл буфера.

Проведено легирование адаптера с добавлением 10 мкл Quick Ligation Reaction Buffer (5X), 5 мкл Quick T4 DNA Ligase и 10 мкл 15 μМ Illumina Adaptor mix (смесь адаптеров Index 8 TruSeq и Universal TruSeq), а далее инкубация 15 мин при температуре 20 °С и очищение на колонках. ДНК элюировали в 22 мкл буфера, а затем амплифицировали с параметрами: 98 °С – 10с; 65 °С – 30с; 72 °С – 30с, 8 циклов. Полученный продукт был очищен на колонках набором Clean up Mini (Евроген), далее его элюировали в 27 мкл воды, для дальнейшего анализа на Bioanalyzer использовали аликвоту.

2.3.6 Высокопроизводительное секвенирование

Подготовленная библиотека была секвенирована на аппарате Illumina HiSeq 2000, длина прочтения 100 нуклеотидов. При секвенировании ДНК разделяется на фрагменты, к двухцепочечным фрагментам лигируется адаптер, далее полученные фрагменты подвергаются амплификации. ДНК подвергается денатурации, а одноцепочечные последовательности закрепляются на поверхности дорожки ячейки праймерами. Далее проводится мостиковая амплификация с пришитых к поверхности дорожки праймеров. В данной методике применяются 3' нуклеотиды с флуоресцентными метками. Флуоресценция инициируется импульсами лазера и регистрируется камерой.

2.4 Иммунологические методы исследования

2.4.1 Определение уровня цитокинов в сыворотке крови

Кровь из локтевой вены забирали у 68 пациентов трехкратно (до лечения, через 3 месяца и через 6 месяцев после начала терапии). Забор крови производили утром, натошак из локтевой вены в количестве 3-5 мл в пластиковую пробирку BD Vacutainer (США) с разделительным гелем. Анализ проводили на проточном анализаторе Luminex 200, тест-системы Human Base Kit A (R&D Systems, США) в соответствии с протоколом производителя.

2.4.2 Определение субпопуляций Т-лимфоцитов в крови

Субпопуляции Т-лимфоцитов в крови определяли методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter, США) на проточном цитофлуориметре (Becton Dickinson, США) в соответствии с протоколом производителя.

2.5 Статистическая обработка данных

Всего было исследовано 204 образца крови больных псориазом и 22 образца крови здоровых доноров группы контроля. Проведено исследование 47 биоптатов (20 – пораженной кожи, 20 – видимо непораженной кожи, 7 – кожи здоровых доноров группы контроля).

2.5.1 Клинические методы исследования

Статистический анализ полученных данных проводился на компьютере с использованием программ Microsoft Excel 13 и SPSS Statistics 17.0. Для количественных данных рассчитывались средние значения (M), стандартные отклонения ($M \pm \sigma$), медиана и квартили ($Me [Q25; Q75]$).

2.5.2 Генетические методы исследования

В результате высокопроизводительного секвенирования 47 образцов, взятых у 20 больных и 7 человек из группы контроля было получено $9,7 \cdot 10^7$ прочтений для β - цепей, которые разделили по баркодам. Для этого использовали программу Flexbar (<http://sourceforge.net/projects/flexbar/>). Затем было проведено сравнение представленности последовательностей TCR в пораженной и непораженной коже с использованием программы MIGES для определения количества и качества прочтений, проведения коррекции ошибок ПЦР и секвенирования. Для поиска сегментов производилось выравнивание каждого из прочтений на библиотеку геномных сегментов V, D, и J, (база данных IMGT и GENE-DB) и обнаружение консервативных аминокислот (Cys и Phe) на границах CDR3. Далее определяли набор высоко представленных клонотипов (суперклонов). В результате были получены данные о количестве прочтений, представленности данного клонотипа, о нуклеотидной и аминокислотной последовательности CDR3, список возможных V, D и J сегментов. А далее было проведено сравнение последовательностей TCR

в пораженной и непораженной коже. Статистическая достоверность результатов исследования оценивалась с помощью программы Mann-Whitney U Test Calculator. U-критерий Манна-Уитни используется для оценки различий между двумя независимыми выборками по уровню какого-либо количественного признака. Данный метод позволяет, не делая предположения о стандартном распределении, сравнить две выборки – больных вульгарным псориазом (20 больных) и здоровых испытуемых (7 человек).

Для оценки разнообразия репертуара TCR рассчитывали индекс Шеннона по формуле:

$$H = - \sum_{i=1}^S (P_i * \ln P_i),$$

$$P_i = n_i / N,$$

где H - индекс разнообразия Шеннона,

Σ - сумма клонов от 1 до S ,

S - количество клонов,

P_i - доля определенной последовательности,

\ln - натуральный логарифм,

n_i - численность i -ой последовательности,

N - общая численность последовательностей.

Индекс Шеннона позволяет охарактеризовать численный состав клонов, а также оценить равномерность присутствия данных клонов с учетом их доли.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В исследование были включены 68 пациентов вульгарным псориазом (30 мужчин и 38 женщин) и 22 здоровых добровольца (10 мужчин и 12 женщин). Средний возраст начала заболевания составил $34,1 \pm 10,5$ лет, заболевание развилось в возрасте до 30 лет у 37 больных (54,4 %), после 30 лет - у 31 пациента (45,5 %), средняя длительность заболевания - $16,8 \pm 8,5$ лет.

В зависимости от варианта лечения больные были распределены на группы:

- группа 1 (n=32) - 32 пациента, в лечении которых была использована УФБ-311 нм фототерапия;
- группа 2 (n=36) - 36 пациентов, в лечении которых был использован метотрексат совместно с УФБ-311 нм фототерапией;

Оценку показателей проводили до начала лечения, через 3 и 6 месяцев.

3.1 Клиническая характеристика больных

Определяли распределение больных, включенных в исследование по полу (Таблица 3.1).

Таблица 3.1 – Распределение пациентов по полу

Пол	Группа 1 n=32		Группа 2 n=36	
	абс.	%	абс.	%
Мужчины	14	43,8	16	44,4
Женщины	18	56,2	20	55,6

Всего в выборке больных было 30 мужчин (44,1 %) и 38 женщин (55,9 %).

Анализ распределения по полу в группах показал, что в группе 1 было 14 мужчин (43,8%) и 18 (56,2%) женщин (таблица 3.1), в группе 2 - 16 мужчин (44,4%) и 20 женщин (55,6 %).

Определяли распределение больных, включенных в исследование по возрасту (Таблица 3.2., Рисунок 3.1)

Таблица 3.2 – Распределение пациентов по возрасту в группах исследования

Возраст, лет	Группа 1 n=32		Группа 2 n=36	
	абс.	%	абс.	%
20-29	7	21,9	6	16,7
30-39	10	31,2	12	33,3
40-49	7	21,9	10	27,8
50 и старше	8	25,0	8	22,2

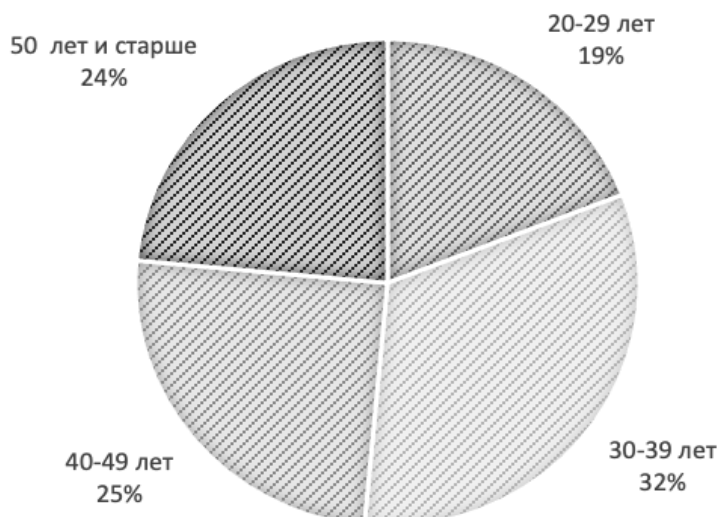


Рисунок 3.1 – Распределение пациентов по возрасту (n=68)

Средний возраст больных псориазом составил $41,2 \pm 16,3$ года, при этом больше всего пациентов было в возрастной группе от 30 до 39 лет - 22 (32,4%) больных (рисунок 3.1). Доля пациентов в возрасте 20-29 лет была минимальной - 19,1 % (13), 17 больных (25 %) было в возрасте от 40 до 49 лет, возраст 16 пациентов (23,5 %) с псориазом превышал 50 лет.

Анализ распределения пациентов по возрасту в группах исследования показал, что в группе 1 - было 7 пациентов (21,9%) в возрасте 20-29 лет, во второй группе доля таких пациентов была несколько ниже, соответственно 16,7 % (6

человек) (таблица 3.2). Доля пациентов возрастной группы 30-39 лет была максимальной, так, в первой группе было 10 больных (31,2%) этого возраста, во второй группе - 12 пациентов (33,3 %). Семь больных (21,9 %) из группы 1 составили возрастную группу 40-49 лет, в этом возрасте были 10 (27,8 %) больных из второй группы. В старшую возрастную группу (возраст 50 лет и старше) вошли 8 больных (25,0 %) из группы 1, 8 больных (22,2%) из группы 2. Статистически значимых межгрупповых различий по возрасту в группах больных псориазом не было. По данным литературы псориаз встречается как у мужчин, так и у женщин примерно с одинаковой частотой. Распределение по полу и возрасту пациентов, включенных в исследование соответствует данным литературы.

На рисунке 3.2 представлено распределение больных псориазом по форме заболевания. Как видно на диаграмме - у 53 пациентов (77,9 %) был бляшечный псориаз. Экссудативная форма заболевания выявлена у 15 больных (22,1 %).

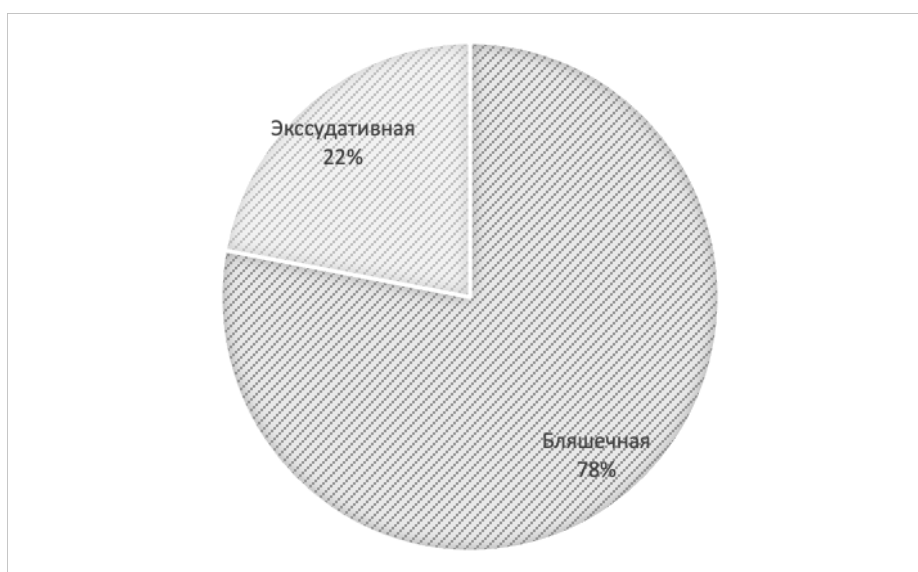


Рисунок 3.2 – Распределение больных псориазом по форме заболевания (n=68)

Анализ распределения пациентов в группах исследования по форме заболевания показал, что бляшечная форма наблюдалась у 25 (78,1 %) больных первой группы, в группе 2 - у 28 больных (77,8 %).

Экссудативная форма была выявлена в 7 случаях в первой группе (21,9 %), у 8 пациентов (22,2 %) из второй группы. При этом значимых межгрупповых отличий по частоте встречаемости различных форм заболевания в группах больных псориазом не было. Распределение по формам псориаза соответствует данным литературы.

Таблица 3.3 – Распределение больных псориазом по форме заболевания в группах заболевания (n=68)

Формы заболевания	Группа 1 n=32		Группа 2 n=36	
	абс.	%	абс.	%
Бляшечный	25	78,1	28	77,8
Экссудативный	7	21,9	8	22,2

На рисунке 3.3 приведены анамнестические факторы, которые способствовали развитию и обострению заболевания у больных, включенных в исследование. Как видно, наиболее часто таковым являлись стресс и психоэмоциональное напряжение - более чем у трети пациентов - 39,7 % (27 случаев). На втором месте в структуре этих факторов было употребление алкоголя - у 14 больных (20,6 %). Стрептококковая инфекция выступала в качестве фактора обострения и развития болезни в 11 (16,2 %) случаях. Прием лекарственных средств - 3 (4,4 %) случая. Не были четко установлены такие факторы у 13 (19,1%) обследованных больных псориазом.

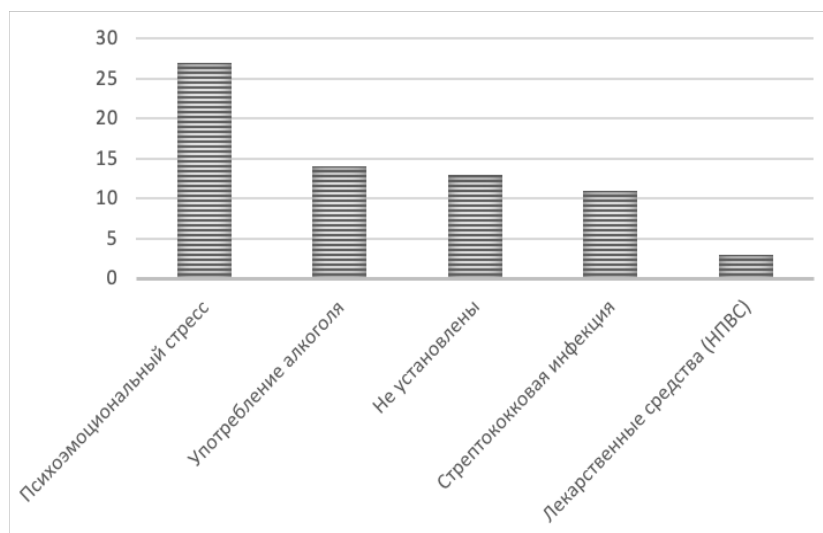


Рисунок 3.3 – Факторы, способствующие обострению псориаза

Результаты анализа частоты выявления факторов, способствующих обострению псориаза отдельно по группам обследованных пациентов, приведены в таблице 3.4. Как видно, стресс и психоэмоциональное напряжение были отмечены у 12 (37,5%) больных группы 1 и в 15 (41,7%) случаях в группе 2.

Стрептококковая инфекция в качестве провоцирующего фактора была идентифицирована у 5 (15,6%) больных первой группы и у 6 (16,7%) пациентов второй группы.

Употребление алкоголя в качестве фактора, провоцирующего развитие и обострение псориаза было определено в группах 1 и 2 у равного количества пациентов - у 7 человек, что составило соответственно 21,9% и 19,4%.

Прием лекарственных средств способствовал обострениям болезни у одного (3,1%) больного первой группы и у 2 пациентов (5,6%) второй группы.

Не установлены факторы, способствовавшие обострению и развитию псориаза у 6 (18,8%) больных группы 1 и у 7 пациентов (19,4 %) группы 2.

В целом значимых различий по частоте выявления различных факторов, провоцирующих обострение и развитие болезни, в группах исследования установлено не было. Распределение по факторам, способствующим обострению псориаза, соответствует данным литературы.

Таблица 3.4 – Факторы, способствующие обострению псориаза

Факторы	Группа 1 n=32		Группа 2 n=36	
	абс.	%	абс.	%
Психоэмоциональный стресс	12	37,5	15	41,7
Стрептококковая инфекция	5	15,6	6	16,7
Употребление алкоголя	7	21,9	7	19,4
Лекарственные средства (НПВС)	1	3,1	2	5,6
Не установлены	6	18,8	7	19,4

На рисунке 3.4 представлена частота выявления коморбидностей и сопутствующих заболеваний у больных псориазом, включенных в исследование. Псориатический артрит выявлен у 14 человек (20,6%), гипертоническая болезнь – у 18 человек (26,5%), сахарный диабет 2 типа – у трех пациентов (4,4%), избыточный вес – у 16 пациентов (23,5%), хронический гастрит – у 4 пациентов (5,9%), хронический холецистит – у 6 пациентов (8,8%), желчнокаменная болезнь – у трех (4,4%), хронический тонзиллит – у 5 человек (7,4%), хронический бронхит – у четырех пациентов (5,9%).

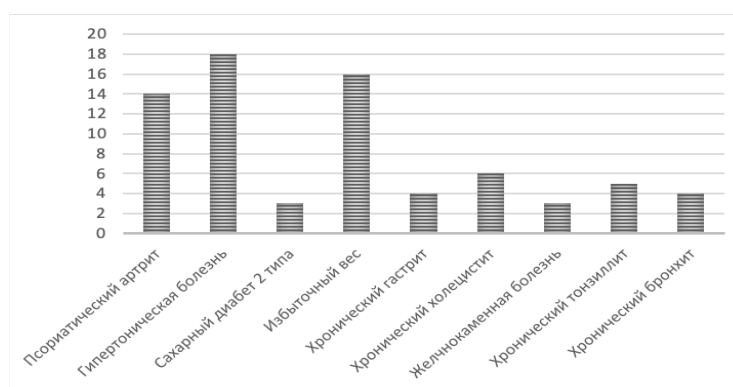


Рисунок 3.4 – Наличие коморбидностей и сопутствующих заболеваний у больных псориазом

Анализ коморбидностей и сопутствующей патологии в группах больных псориазом показал, что значимых межгрупповых отличий по частоте выявления

тех или иных сопутствующих заболеваний отмечено не было. (таблица 3.5). Распределение по сопутствующим заболеваниям и коморбидностям соответствует данным литературы.

Таблица 3.5 – Наличие коморбидностей и сопутствующих заболеваний у больных псориазом

Заболевания	Группа 1 n=32		Группа 2 n=36	
	абс.	%	абс.	%
Псориатический артрит	8	25	6	16,7
Гипертоническая болезнь	10	31,3	8	22,2
Сахарный диабет 2 типа	2	6,3	1	2,8
Избыточный вес	9	28,1	7	19,4
Хронический гастрит	3	9,4	1	2,8
Хронический холецистит	2	6,3	4	11,1
Желчнокаменная болезнь	1	3,1	2	5,6
Хронический тонзилит	8	25	6	16,7
Хронический бронхит	10	31,3	8	22,2

На рисунке 3.5 представлены основные жалобы у пациентов с псориазом, включенных в исследование. Так, на зуд жаловались более половины - 46 больных (55,4 %), на чувство стягивания и сухость кожи - 31 пациент (37,4 %). Отсутствовали жалобы только у 6 пациентов (7,2 %).

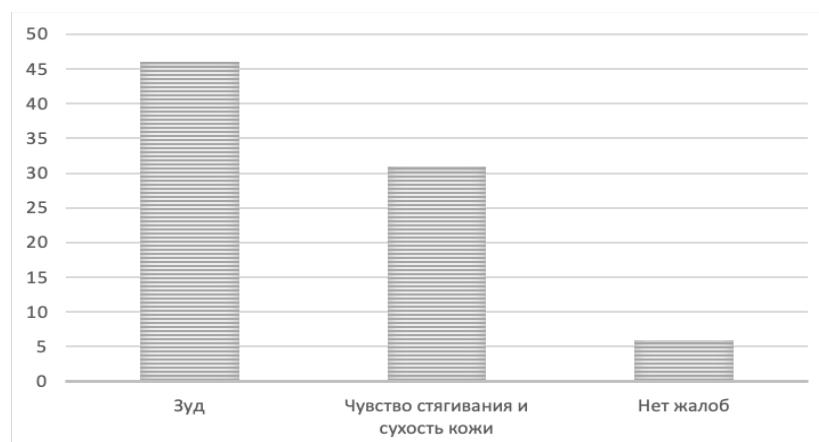


Рисунок 3.5 – Частота жалоб у пациентов

Сравнение частоты предъявления жалоб пациентами разных групп показал, в группе 1 на зуд жаловались 17 (53,1%) больных, во второй группе 20 (55,5%) человек (таблица 3.6).

О чувстве стягивания и сухости кожи сообщили 11 (34,4%) больных первой группы и 14 пациентов (38,9 %) второй группы.

Жалобы отсутствовали у 4 (12,5%) пациентов группы 1, у 2 больных (5,6 %) группы 2.

Таблица 3.6 – Частота жалоб у пациентов

Жалобы	Группа 1 n=32		Группа 2 n=36	
	абс.	%	абс.	%
Зуд	17	53,1	20	55,5
Чувство стягивания и сухость кожи	11	34,4	14	38,9
Нет жалоб	4	12,5	2	5,6

Таким образом, выявленные в группах клинико-анамнестические параметры говорят о том, что значимых различий в группах исследования установлено не было и значимых межгрупповых отличий не было.

3.2 Исходная клиническая картина у больных псориазом

Таблица 3.7 – Уровни показателей PASI и ДИКЖ в группах больных до начала лечения, $M \pm m$

Показатели	Группа 1 n=32	Группа 2 n=36
PASI	19,4±2,4	23,7±5,7
ДИКЖ	14,0±3,3	14,5±2,4

Оценка уровня показателя PASI в группах больных показала, что группа 1 значение показателя составило 19,4±2,4 балла, во второй группе значение было

несколько выше - $23,7 \pm 5,7$ балла (таблица 3.7). Таким образом, оценка по индексу PASI свидетельствовала, что у всех больных, включенных в исследование, был псориаз средней и тяжелой степени. При этом значимых межгрупповых различий выявлено не было.

Оценка показателя дерматологического индекса качества (ДИКЖ) жизни у больных, включенных в исследование, свидетельствовала о том, что в группе 1 значение его составило $14,0 \pm 3,3$ баллов, у больных группы 2 - $18,5 \pm 2,4$ баллов. Достоверных межгрупповых различий по данному показателю отмечено не было. Таким образом, у наблюдаемых больных псориазом качество жизни было существенно снижено.

3.3 Анализ репертуара Т-клеточных рецепторов в пораженной и непораженной коже у больных псориазом

На следующем этапе исследования был проведен анализ результатов секвенирования 40 образцов, полученных из биопсий пораженной (ПК) и непораженной кожи (НК) пациентов с псориазом (20 человек). Количество прочтений составило $9,7 * 10^7$ прочтений CDR3 последовательностей для β -цепи. Таким образом, были получены данные, достаточные для характеристики репертуара TCR.

Анализ представленности уникальных клонотипов Т-клеток показал, что больше всего уникальных клонотипов содержится именно в очагах пораженной кожи пациентов с псориазом (ПК) по сравнению с видимо неизменной кожей пациентов с псориазом (НК) и кожей здоровых добровольцев (З).

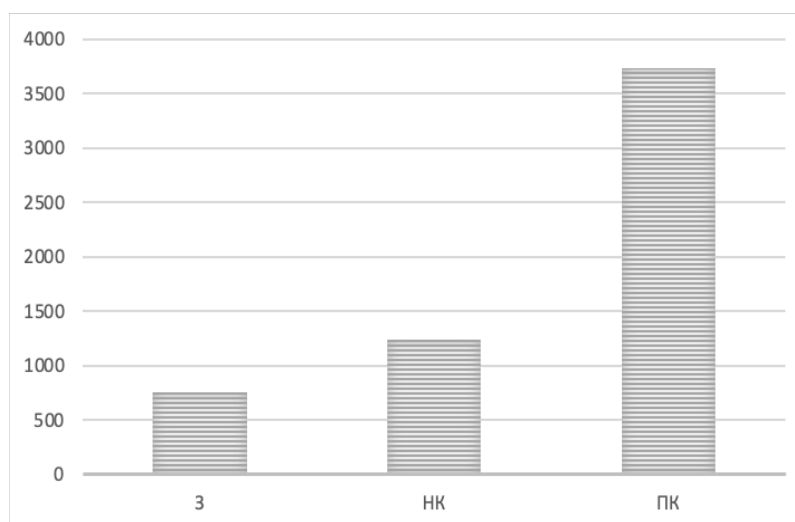


Рисунок 3.6 – Количество уникальных клонотипов Т-клеток в коже здоровых добровольцев (З), непораженной (НК) и пораженной (ПК) коже пациентов с псориазом, определяемых по β -цепи

Данное наблюдение наводит нас на мысль о том, что в пораженную кожу мигрируют определенные клоны Т-клеток, несущие конкретные TCR и отвечающие за распознавание определенного антигена или нескольких антигенов.

Индекс разнообразия Шеннона (H), который был рассчитан для Т-клеточных рецепторов по фрагменту CDR3 для β -цепи в группе пациентов, болеющих псориазом был выше, чем таковой у здоровых добровольцев. Значения данного показателя для больных псориазом и для здоровых индивидуумов составили $2,3 \pm 0,2$ и $1,5 \pm 0,1$ соответственно ($p < 0,05$).

Данное наблюдение говорит о том, что для кожи пациентов с псориазом характерно присутствие одного или нескольких клонотипов Т-клеток, которые сильно выдаются по количеству среди всех других. Вместе с этим в коже при псориазе имеется большое количество клонотипов Т-клеток, присутствующих в малом количестве. Таким образом, распределение клонотипов Т-клеток в коже при псориазе неравномерное. Данный факт дополнительно свидетельствует о том, что в пораженную кожу мигрируют определенные клонотипы Т-клеток, реагирующие на один или несколько антигенов.

Сравнительное изучение относительной представленности клонотипов Т-клеток у пациентов с псориазом в пораженной и непораженной коже, несущих

определенные TCR, а также в коже здоровых добровольцев, показало наличие ряда общих клонтипов, которые обнаруживались у большинства пациентов из выборки.

Был выявлен ряд последовательностей, кодирующих Т-клеточные рецепторы, соответствующий определенным критериям: 1) присутствие у больных псориазом и отсутствие у здоровых добровольцев, 2) преобладание в пораженной коже у больных псориазом по сравнению с непораженной.

При этом определенные последовательности обнаруживались практически у всех пациентов из выборки (до 90%, 18 из 20 человек). Нуклеотидные структуры обнаруженных последовательностей, соответствующих данным критериям представлены в таблице 3.8.

Таблица 3.8 – Нуклеотидные последовательности CDR3-участков для β -цепи TCR представленность которых в пораженной коже была выше, чем в непораженной коже при псориазе и которые отсутствовали в коже здоровых добровольцев

Количество пациентов, чел, (%)	Нуклеотидная последовательность
18 (90,0)	TGTGCCAGCAGATCCGGGACAGGGAGCAATCAG
18 (90,0)	TGTGCTAGTGGCCCCGAGACAGGGATCTATGGCTACACCTTC
18 (90,0)	TGTGCCAGCAGC TTCAAGGTTATACCCAGTAC
17 (85,0)	TGTGCCAGCAGCCTTAGCGGTCAAGTTATTATAGAC
17 (85,0)	TGTGCCAGCAGTTCGGGCCTGCTTGATCAGCCCCAGCATTTT
14 (70,0)	TGTGCCAGCAGCTCCSTTTACTCTAGACGGAACACTGAAGCTTTC
12 (60,0)	TGTGCCAGCAGTACCCCAACGGGACTATCAGACACAGATACGCAG
11 (55,0)	TGTGCCAGCAGCGTAGGACAGGGTCTCGACGAGCAG
9 (45,0)	TGTGCCAGCAGCGTTGTTTACGGATCTATTTCGACAGATCG
9 (45,0)	TGTGCCAGCAGCTACCCAGAAGGACAGGGAGCCTACGAG
9 (45,0)	TGTGCCAGCAGTTACTCCCCGGGGGAACACTGAAGCTTTCTTT
9 (45,0)	TGTGCCAGCTGGGACGCGATTGTTGGTTCAAGATATTT

Существование нуклеотидных последовательностей CDR3-участков для β -цепи TCR, преобладающих в пораженной псориазом коже и отсутствующих у здоровых индивидов позволяет предположить наличие патогенетической связи данных последовательностей с развитием воспаления при псориазе. Данное наблюдение требует дальнейшего изучения и сопоставления полученных данных с клиническими параметрами. Кроме того, была определена аминокислотная

структура для описанных последовательностей. Аминокислотные последовательности, соответствующие наиболее представленным нуклеотидным последовательностям CDR3-участков для β -цепи TCR, представленность которых в пораженной коже была значительно выше, чем в непораженной коже и которые отсутствовали в коже здоровых добровольцев представлены в таблице 3.9.

Таблица 3.9 – Аминокислотная структура обнаруженных нуклеотидных последовательностей

Нуклеотидная последовательность	Аминокислотная последовательность
TGTGCCAGCAGATCCGGGACAGGGAGCAATCAG	CASRSGTGSNQ
TGTGCTAGTGGCCCCGAGACAGGGATCTATGGCTACACCTTC	CASGPETGIYGYTF
TGTGCCAGCAGC TTTCAAGGTTATACCCAGTAC	CASSFQGYTQY
TGTGCCAGCAGCCTTAGCGGTCAAGTTATTATAGAC	CASSLSGQVIID
TGTGCCAGCAGTTCGGGCCTGCTTGATCAGCCCCAGCATTTT	CASSSGLLDQPQHF
TGTGCCAGCAGCTCCCTTTACTCTAGACGGAACACTGAAGCTTTC	CASSSLYSRRNTEAF
TGTGCCAGCAGTACCCCAACGGGACTATCAGACACAGATACGCAG	CASSTPTGLSDTDTQ
TGTGCCAGCAGCGTAGGACAGGGTCTCGACGAGCAG	CASSVGQQLDEQ
TGTGCCAGCAGCGTTGTTTACGGATCTATTCGCAGATCG	CASSVYGSIRRS
TGTGCCAGCAGCTACCCAGAAGGACAGGGAGCCTACGAG	CASSYPEGQGAYE
TGTGCCAGCAGTTACTCCCCGGGGGAACACTGAAGCTTTCTTT	CASSYSPGGNTEAFF
TGTGCCAGCTGGGACGCGATTGTTGGTTCAAGATATTT	CASWDAIVGSRY

Таким образом, была определена аминокислотная структура наиболее представленных CDR3-участков для β -цепи TCR, представленность которых в пораженной коже была значительно выше, чем в непораженной коже и которые отсутствовали в коже здоровых добровольцев. Знание аминокислотной структуры, определяющей пространственную конфигурацию CDR3-участков, приближает нас к пониманию природы антигенов, на которые реагируют Т-клетки при псориазе.

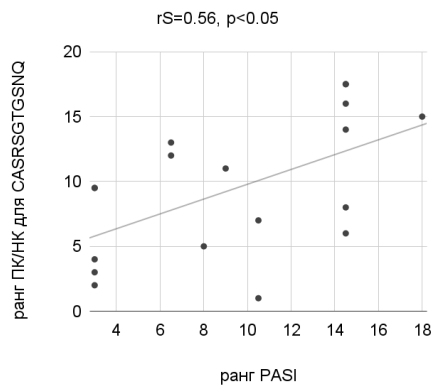
Таблица 3.10 – Доли наиболее представленных нуклеотидных последовательностей CDR3-участков для β -цепи TCR представленность которых в пораженной коже была значительно выше, чем в непораженной коже и которые отсутствовали в коже здоровых добровольцев (Me [Q25; Q75])

Доля в образце		Отношение ПК/НК	Аминокислотная последовательность
Пораженная кожа (ПК)	Непораженная кожа (НК)		
0,00782 [0,00212; 0,01378]	6,98E-05 [1,21E-05; 2,32E-04]	112	CASRSGTGSNQ
0,00757 [0,00652; 0,01371]	1,22E-06 [8,34E-07; 4,21E-05]	6204	CASGPETGIYGYTF
0,00738 [0,00323; 0,0137]	9,89E-07 [1,35E-07; 4,43E-05]	7462	CASSFQGYTQY
0,00522 [0,00147; 0,08324]	7,69E-06 [2,47E-08; 7,11E-04]	678	CASSLSGQVIID
0,005 [0,00376; 0,09478]	3,95E-07 [1,34E-08; 3,56E-06]	12658	CASSSGLLDQPQHF
0,00486 [0,00156; 0,08341]	1,67E-06 [8,34E-07; 4,21E-05]	2910	CASSSLYSRRNTEAF
0,0046 [0,00223; 0,009348]	8,38E-07 [8,34E-07; 4,21E-05]	5489	CASSTPTGLSDTDTQ
0,00283 [0,00067; 0,01328]	4,45E-06 [2,54E-07; 8,54E-04]	635	CASSVGQGLDEQ
0,00211 [0,002; 0,0137]	3,84E-06 [8,34E-07; 4,21E-05]	549	CASSVVGYSIRRS
0,00198 [0,00094; 0,0137]	8,55E-07 [7,33E-07; 5,87E-06]	2310	CASSYPEGQGAYE
0,00123 [0,00032; 0,01084]	6,67E-07 [1,31E-07; 8,13E-05]	1844	CASSYSPGGNTEAFF
0,00110 [0,00047; 0,00561]	3,35E-07 [8,65E-08; 5,88E-06]	3283	CASWDAIVGSR Y

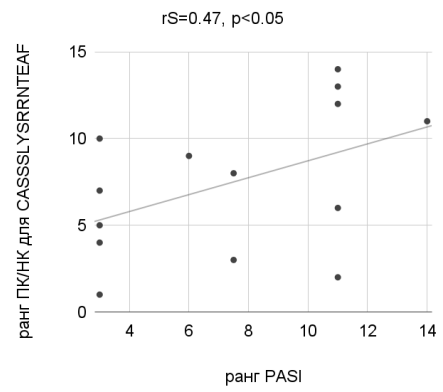
В таблице 3.10 представлены доли содержания обнаруженных последовательностей в пораженной (ПК) и непораженной коже (НК) у больных псориазом. Для некоторых последовательностей превышение их содержания в пораженной коже (ПК/НК) доходило до нескольких тысяч раз.

На следующем этапе была предпринята попытка поиска взаимосвязей между уровнем содержания обнаруженных нуклеотидных последовательностей, кодирующих Т-клеточные рецепторы, количество которых было повышено в пораженной коже и клинической картиной данного заболевания по индексу PASI. Результаты представлены на Рисунке 3.7 (А-М).

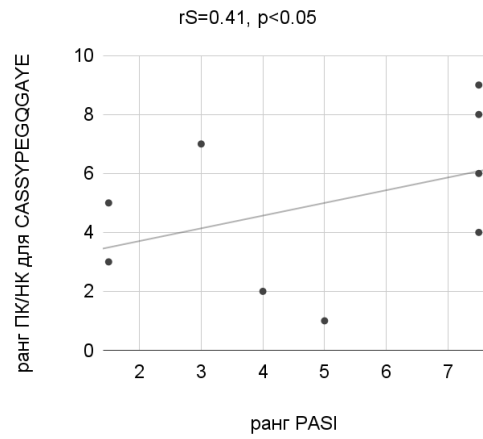
А)



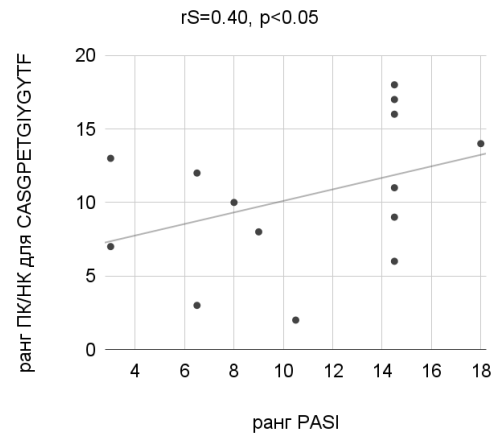
Б)



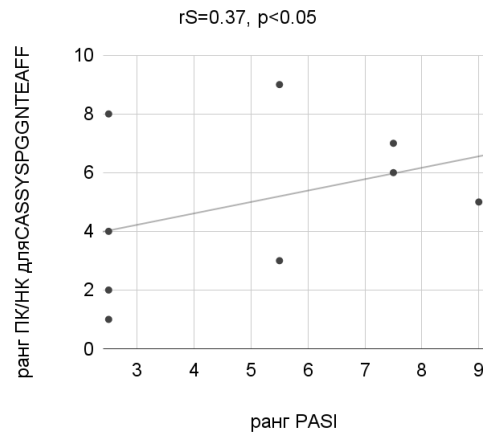
В)



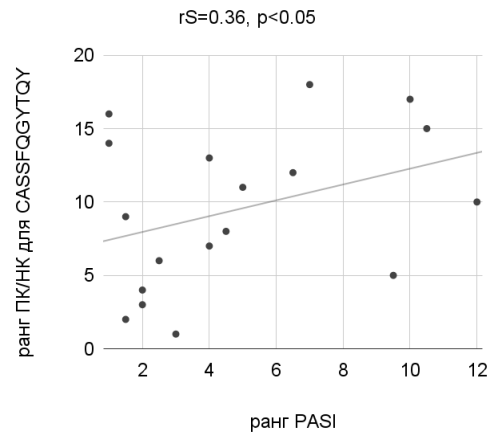
Г)



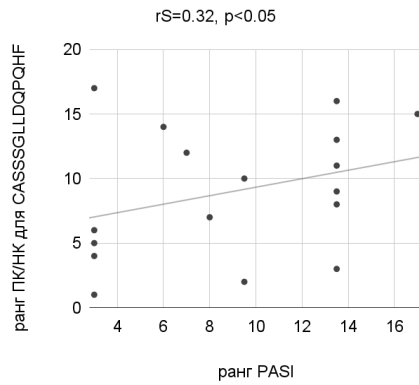
Д)



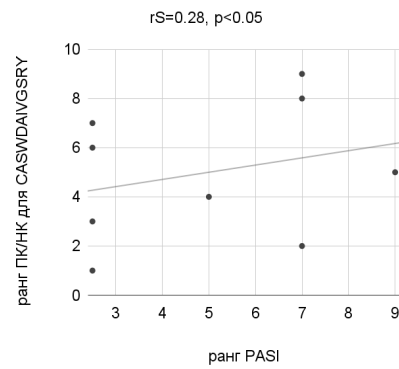
Е)



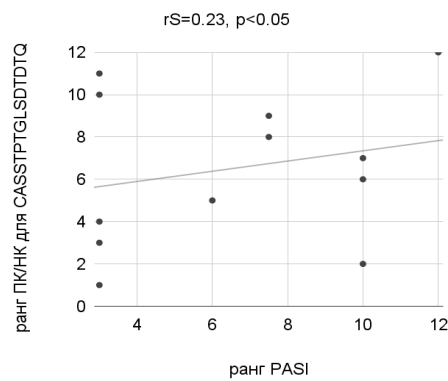
Ж)



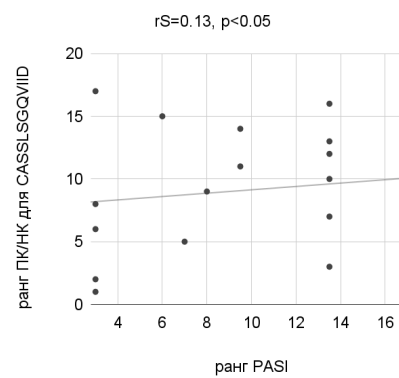
З)



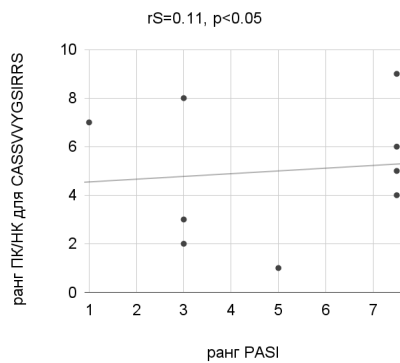
И)



К)



Л)



М)

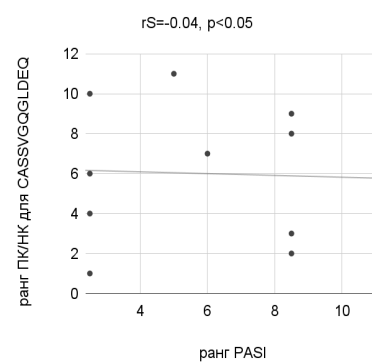


Рисунок 3.7 – Результаты поиска взаимосвязей между превышением содержания нуклеотидных последовательностей в пораженной коже (ПК/НК) и значением индекса PASI (представлены значимые ($p<0,05$) коэффициенты корреляции Спирмена для обнаруженных последовательностей А) CASRS GTGSNQ, Б) CASSLYSRRNTEAF, В) CASSYPEGQGAYE, Г) CASGPETGIYGYTF, Д) CASSYSPGGNTEAFF, Е) CASSFQGYTQY, Ж) CASSGLLDQPQHF, З) CASWDAIVGSRY, И) CASSTPTGLSDTDTQ, К) CASSLSGQVIID, Л) CASSVYGSIRRS, М) CASSVGQGLDEQ

В результате были обнаружены корреляции для некоторых последовательностей с индексом PASI: чем выше было превышение доли содержания нуклеотидной последовательности в пораженной коже по сравнению с непораженной, тем выше было значение индекса PASI. Данные наблюдения дополнительно подтверждают связь обнаруженных последовательностей с развитием и поддержанием воспаления при псориазе.

3.4 Иммунный статус больных псориазом до лечения

Далее было проведено изучение иммунного статуса больных псориазом ($n=68$) и группы здоровых добровольцев ($n=22$). Изучение иммунного статуса наблюдаемых больных псориазом показало ряд изменений, характеризующихся дисбалансом содержания основных субпопуляций лимфоцитов в периферической крови (таблица 3.11). Оценка процентного содержания CD3-клеток (общих Т-лимфоцитов) не выявила существенных межгрупповых различий (в контрольной группе - $74,2\pm 8,5\%$, в группе больных псориазом - $78,7\pm 6,2\%$). Абсолютное количество клеток с этим рецепторным фенотипом у больных псориазом составило $1,34\pm 0,16$ ($\times 10^3$) /мкл и было несколько выше такового в группе контроля - $1,21\pm 0,22$ ($\times 10^3$) /мкл, хотя при этом значимых различий выявлено не было.

Оценка процентного содержания CD4+ (Т-хелперов) показала, что уровни этого показателя существенно не различались: $47,2\pm 2,9\%$ в контроле и $45,6\pm 6,2\%$ у обследуемых пациентов. При сопоставлении абсолютного количества этих клеток в периферической крови было установлено, что у больных псориазом значение данного параметра составило $0,90\pm 0,11$ ($\times 10^3$) /мкл, что было несколько выше контрольного значения - $0,78\pm 0,06$ ($\times 10^3$) /мкл, хотя при этом достоверных межгрупповых различий выявлено не было.

Оценка относительного количества CD8-цитотоксических Т-лимфоцитов выявила, что значение этого показателя у больных псориазом составило $34,0\pm 2,8\%$ и было статистически достоверно ($p<0,05$) выше, чем у здоровых обследуемых - $24,9\pm 3,2\%$. Уровень абсолютного содержания CD8-клеток не показал повышения

у больных псориазом по сравнению с таковым в контрольной группе, значения показателя составили соответственно: $0,50 \pm 0,05$ и $0,40 \pm 0,05$ ($\times 10^3$) /мкл.

Анализ уровней Т-регуляторных лимфоцитов (CD4+CD25+) в периферической крови больных псориазом выявил, что их относительное количество у больных псориазом было почти в 2 раза ниже ($p < 0,05$), чем у здоровых обследуемых, составив соответственно $3,80 \pm 0,46$ и $6,79 \pm 1,15$ %.

Абсолютный уровень Т-регуляторных лимфоцитов у пациентов с псориазом также был значимо ниже ($p < 0,05$), чем в контрольной группе, составив соответственно $0,062 \pm 0,008$ ($\times 10^3$) /мкл и $0,111 \pm 0,019$ ($\times 10^3$) /мкл.

Таблица 3.11 – Иммунологические показатели больных псориазом до лечения (M±m)

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

Примечание – Для данных показателей (*) различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении с группой здоровых доноров

Изучение состояния гуморального иммунитета у больных псориазом также выявило наличие ряда сдвигов показателей по сравнению с соответствующими значениями у здоровых лиц.

Результаты оценки уровней основных провоспалительных цитокинов у больных псориазом приведены в таблице 3.12. У этих пациентов группы концентрация ИЛ-1 β составила 19,3 \pm 2,0 пг/мл, что было значимо выше ($p < 0,001$) соответствующего уровня этого показателя у здоровых лиц - 5,7 \pm 1,2 пг/мл. Уровень ИЛ-2 составил 41,4 \pm 6,1 пг/мл и достоверно превышал ($p < 0,001$) таковой в контрольной группе - 16,8 \pm 3,4 пг/мл. Концентрация ИЛ-6 у обследуемых больных псориазом также была значимо выше ($p < 0,05$) таковой в контрольной группы, значения этого показателя составили соответственно 37,4 \pm 7,5 и 19,5 \pm 4,1 пг/мл.

Концентрация ФНО- α у больных псориазом существенно (в 3,2 раза, $p < 0,001$) превышала ее уровень в контрольной группе, значения данного показателя составили соответственно 21,3 \pm 2,7 и 6,8 \pm 1,9 пг/мл.

Таблица 3.12. – Уровни цитокинов больных псориазом, М \pm m

Показатели	Здоровые доноры (контрольная группа) (n=22)	Больные псориазом (n=68)
ИЛ-1 β , пг/мл	5,7 \pm 1,2	19,3 \pm 2,0*
ИЛ-2, пг/мл	16,8 \pm 3,4	41,4 \pm 6,1*
ИЛ-6, пг/мл	19,5 \pm 4,1	37,4 \pm 7,5*
ФНО- α , пг/мл	6,8 \pm 1,9	21,3 \pm 2,7*
ИФН- γ , пг/мл	56,8 \pm 7,3	29,7 \pm 4,4*

Примечание – Для данных показателей (*) различия достоверны (при $p < 0,05$) относительно соответствующих значений контрольной группы.

Уровни интерферона-гамма также значительно различались - у пациентов с псориазом значение данного параметра он составил $29,7 \pm 4,4$ пг/мл и был почти в 2 раза ниже ($p < 0,05$) такового у здоровых доноров - $56,8 \pm 7,3$ пг/мл.

Таким образом, изменения общего иммунного статуса у больных псориазом характеризуются нарушениями в клеточном звене иммунитета, что проявляется дисбалансом основных субпопуляций лимфоцитов в периферической крови, в том числе лимфоцитов, несущих TCR. Наблюдаются также сдвиги значений показателей гуморального звена иммунитета со значительным возрастанием концентраций провоспалительных цитокинов - ИЛ-1 β , 2, 6 и ФНО- α и снижением уровня интерферона-гамма.

3.5 Динамика клинических проявлений заболевания при разных подходах к лечению

Анализ динамики показателя PASI в процессе лечения в группах больных псориазом показал, что если до начала терапии различий отмечено не было, то спустя 6 недель в группе 1 - его уровень несколько снизился и составил $13,9 \pm 1,3$ балла, в группе 2 снижение было более выраженным - до $9,6 \pm 1,5$ балла. Значение этого показателя во 2 группе было статистически значимо ниже ($p < 0,05$), чем в первой группе.

Спустя 12 недель у больных первой группы PASI составил $12,4 \pm 2,2$ балла, тогда как во второй группе был достоверно ниже ($p < 0,05$) - $6,7 \pm 1,7$ балла.

Через 24 недели от начала лечения значение показателя активности заболевания в группе 1 практически не изменилось относительно предыдущего срока, составив соответственно $13,8 \pm 1,6$, в группе 2 - $5,7 \pm 1,3$ балла. При этом последнее значение было достоверно ниже ($p < 0,05$), чем в 1 группе.

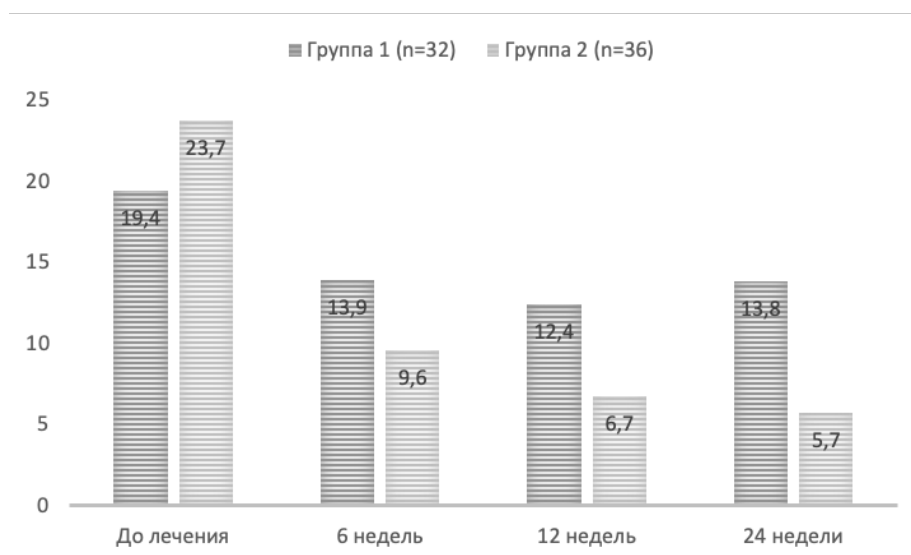


Рисунок 3.8 – Динамика показателя PASI в процессе лечения больных псориазом

Оценка уровня показателя ДИКЖ в группах больных показала, что, как и было показано выше, до лечения уровень качества жизни у пациентов с псориазом был существенно снижен, при этом значимых межгрупповых различий выявлено не было.

Через 6 недель от начала лечения значение этого показателя снизилось у больных всех групп, в частности, в группе 1 уровень ДИКЖ был оценен на $11,4 \pm 1,2$ балла, у больных второй группы был ниже достоверно ниже ($p < 0,05$), чем в группе 1 и составлял $6,2 \pm 1,4$ балла (рисунок 3.9).

Спустя 12 недель уровень ДИКЖ в группе 1 снизился соответственно до $10,2 \pm 2,4$, а в группе 2 составил $3,7 \pm 0,7$ балла и был значимо ниже такового ($p < 0,05$) в первой группе.

Через 24 недели у обследуемых первой группы значение данного параметра оставалось на том же уровне, тогда как у больных группы 2 наблюдалось дальнейшее снижение показателя ДИКЖ. В группе 1 его уровень составил $11,7 \pm 1,9$ балла, тогда как в группе 2 уровень его оценки составил $2,8 \pm 0,5$ балла, что было достоверно ниже ($p < 0,05$), чем в группе 1.

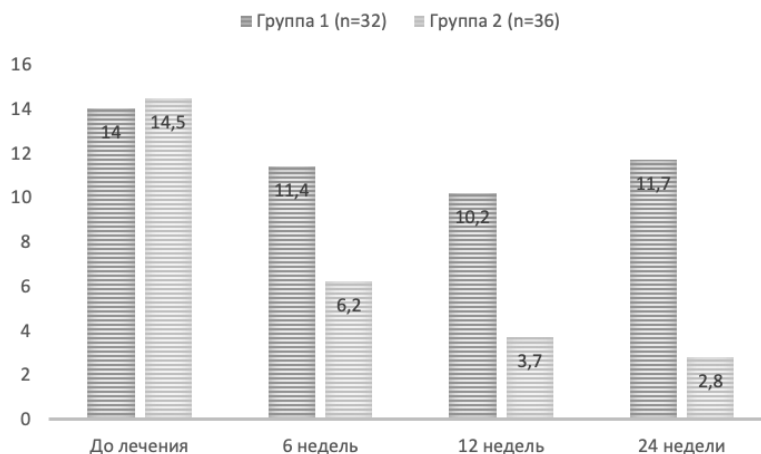


Рисунок 3.9 – Динамика показателя ДИКЖ в процессе лечения больных псориазом

Достижением цели в терапии псориаза принято считать положительную динамику индекса PASI на 75% и более. Снижение клинического критерия PASI на 90% и более расценивалось как клиническое выздоровление, значительное улучшение обозначено как уменьшение индекса PASI на 75%, улучшение - на 50%, незначительное улучшение - на 30%.

Анализ результатов лечения показал, что клиническое выздоровление наблюдалось у 28 пациентов (41,2 %), значительное улучшение - в 16 случаях (23,5 %). Улучшение после проведенного лечения было отмечено у 13 больных (19,1 %) псориазом, незначительное улучшение - в 11 случаях (16,2 %).

В таблице 3.13 приведены результаты лечения в группах больных псориазом.

Как видно, клиническое выздоровление в первой группе наблюдалось менее чем у трети пациентов - в 10 случаях (31,2 %). В группе 2 этот результат был отмечен у половины больных (50 %) - в 18 случаях. Последнее значение было статистически достоверно выше ($p < 0,05$) соответствующего уровня в первой группе.

Значительное улучшение наблюдалось в группе 1 - у 7 больных 21,9 %, в группе 2 - в 9 случаях (25,0 %).

Результат лечения был квалифицирован как улучшение у 8 (25,0 %) больных из группы 1, в 5 случаях (13,9%) среди пациентов из группы 2.

Незначительное улучшение после проведенного лечения отмечено у 7 пациентов (21,9%) группы 1 и в 4 случаях (11,1 %) во второй группе.

Таблица 3.13 – Результаты лечения больных псориазом в зависимости от использованного метода лечения

Результат лечения	Группа 1 n=32		Группа 2 n=36	
	абс.	%	абс.	%
Клиническое выздоровление	10	31,2	18	50,0
Значительное улучшение	7	21,9	9	25,0
Улучшение	8	25,0	5	13,9
Незначительное улучшение	7	21,9	4	11,1

Примечание – Для данных показателей (*) различия достоверны (при $p < 0,05$) по критерию χ^2

Таким образом, применение сочетания УФБ-311 нм фототерапии и метотрексата приводит к более выраженным клиническим улучшениям по сравнению с применением только УФБ-311 нм фототерапии.

3.6 Динамика иммунологических показателей больных при различных подходах к лечению

В процессе лечения также определяли иммунологические показатели. В таблице 3.14 представлены уровни относительного содержания различных субпопуляций иммунокомпетентных клеток у больных псориазом через 24 недели после начала лечения.

Таблица 3.14 – Субпопуляции иммунокомпетентных клеток у больных псориазом через 24 недели после начала лечения ($M \pm m$)

Показатели	Здоровые доноры (контрольная группа) (n=22)	Группа 1 n=32	Группа 2 n=36
Treg, %	6,79±1,15	3,42±0,28*	5,06±1,14
CD3+, %	74,2±8,5	75,2±4,4	76,4±4,1
CD4+, % Т-хелперы	47,2±2,9	43,1±4,4	42,7±4,8
CD8+, % цитотоксические- Т-лимфоциты	24,9±3,2	32,5±1,6*	25,2±4,7

Примечание – Для данных показателей (*) различия достоверны ($p < 0,05$) относительно контрольной группы

Процентное содержание Treg составило в контрольной группе - 6,79±1,15 %, у больных из группы 1, оставалось значимо ($p < 0,05$) сниженным - 3,42±0,28 %, у пациентов второй группы уровень данного показателя увеличился до 5,06±1,14 % и достоверно не отличался от контрольного значения.

Содержание CD3-лимфоцитов в периферической крови обследуемых составило в контроле - 74,2±8,5 %, у больных групп 1 и 2 существенно не отличалось, составив, соответственно 75,2±4,4 % и 76,4±4,1 %.

Уровень CD4-лимфоцитов (Т-хелперов) в обеих группах больных псориазом был несколько ниже, чем контрольной группе, но значимых отличий при этом выявлено не было. Значения показателя составили: в контрольной группе - 47,2±2,9%, в группе 1 - 43,1±4,4 %, у больных группы 2 - 42,7±4,8%.

Относительное количество CD8-клеток (цитотоксических-Т-лимфоцитов) составило в контрольной группе - 24,9±3,2%, в то время как в группе 1 оставалось статистически значимо ($p < 0,05$) повышенным и составило соответственно 32,5±1,6 %. В то же время у больных группы 2 - процентное содержание этих клеток снизилось после проведенного лечения до 25,2±4,7% и при этом достоверно не отличалось от уровня контроля.

Таким образом, изменения иммунного статуса у больных псориазом характеризуются нарушениями в клеточном звене иммунитета, что проявляется дисбалансом основных субпопуляций лимфоцитов в периферической крови.

Так было показано более быстрое повышение уровня регуляторных Т-клеток, которые отвечают за предотвращение избыточной активации иммунного ответа, в группе пациентов, получавших метотрексат совместно с УФБ-311 нм фототерапией (n=36), по сравнению с группой пациентов, получавших только УФБ-311 нм фототерапию (n=32).

Таблица 3.15 – Уровни цитокинов у больных псориазом через 24 недели после начала лечения ($M \pm m$)

Показатели	Здоровые доноры (контрольная группа) (n=22)	Группа 1 n=32	Группа 2 n=36
ИЛ-1 β , пг/мл	5,7 \pm 1,2	12,3 \pm 1,3*	9,4 \pm 2,6*
ИЛ-2, пг/мл	16,8 \pm 3,4	31,5 \pm 4,0*	21,1 \pm 4,2
ИЛ-6, пг/мл	19,5 \pm 4,1	25,6 \pm 5,9	17,9 \pm 3,0
ФНО- α , пг/мл	6,8 \pm 1,9	18,8 \pm 3,3*	9,2 \pm 2,4
ИФН- γ	56,8 \pm 7,3	39,6 \pm 6,8*	49,4 \pm 5,6

Примечание – Для данных показателей (*) различия достоверны ($p < 0,05$) относительно контрольной группы

Данный факт наводит нас на мысль о том, что комбинация УФБ-311 нм фототерапии и метотрексата приводит к более быстрой нормализации баланса Т-клеток и, как следствие, более значимому подавлению воспаления при псориазе и уменьшению клинических проявлений.

Сравнение уровней провоспалительных цитокинов в группах больных с псориазом после проведенного лечения показало, что концентрация ИЛ-1 β в контрольной группе составила - 5,7 \pm 1,2 пг/мл, в остальных группах была достоверно выше ($p < 0,05$), составив у больных псориазом первой и второй групп соответственно 12,3 \pm 1,3 пг/мл, 9,4 \pm 2,6 пг/мл (таблица 3.15).

Уровень ИЛ-2 у пациентов группы 1 составил $31,5 \pm 4,0$ пг/мл, что было значимо выше ($p < 0,05$) соответствующего уровня в контроле, у больных группы 2 это снижение было более выраженным, значения данного показателя достоверно не отличались от контрольного уровня, составив $21,1 \pm 4,2$ пг/мл.

Концентрация ИЛ-6 у здоровых лиц контрольной группы была на уровне $19,5 \pm 4,1$ пг/мл. В группе 1 значение данного показателя было выше - $25,6 \pm 5,9$ пг/мл, хотя при этом значимых отличий выявлено не было. Концентрация данного цитокина у пациентов группы 2 практически не отличалась от контрольного уровня, составив $17,9 \pm 3,0$ пг/мл.

Сравнение концентраций ФНО- α показало, что у пациентов группы 1 значение данного показателя составило $18,8 \pm 3,3$ пг/мл, в группе 2 - $9,2 \pm 2,4$ пг/мл и достоверно не отличался от соответствующего значения у здоровых обследуемых.

Оценка концентраций интерферона- γ показала тенденцию к повышению его уровня у больных первых двух групп - до $39,6 \pm 6,8$ пг/мл у больных первой группы и до $49,4 \pm 5,6$ пг/мл и значимо не отличалось от контрольного уровня - $56,8 \pm 7,3$ пг/мл.

Изучение цитокинового статуса показало, что в ходе терапии снижается количество провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF- α), что сопровождается улучшением клинической картины заболевания. При этом снижается и количество эффекторных клеток (CD8 $^{+}$), что наводит на мысль о том, что иммуносупрессивная терапия метотрексатом влияет не только на подавление функциональной активности эффекторных клеток, но и влияет на экспрессию поверхностных маркеров этих клеток.

3.7 Результаты поиска взаимосвязей характеристик субпопуляций Т-лимфоцитов различных рецепторных фенотипов и клинических признаков активности заболевания у больных псориазом

Результаты проведенного анализа свидетельствовали также 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. В таблице 3.16 представлены коэффициенты корреляции Спирмена умеренной силы между уровнем активности заболевания по показателю PASI, с одной стороны, и следующими иммунологическими параметрами: относительным количеством Т-регуляторных лимфоцитов ($R = -0,38$), уровнем CD3+ в периферической крови ($R = -0,30$), уровнями CD4+ (Т-хелперы) ($R = -0,32$), CD8+ цитотоксических-Т-лимфоцитов ($R = 0,42$). Также выявлено наличие ряда корреляций между уровнем активности псориаза (PASI) и концентрациями всех изученных цитокинов у обследованных больных: ИЛ-1 β ($R = -0,45$), ИЛ-2 ($R = 0,52$), ИЛ-6 ($R = 0,37$), ФНО- α ($R = 0,57$), а также ИФН- γ ($R = -0,46$).

Таблица 3.16 – Результаты поиска взаимосвязей между иммунологическими показателями и клиническими проявлениями тяжести псориаза (коэффициенты корреляции Спирмена, R*)

Параметры	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
ИЛ-1 β , пг/мл	0,45	
ИЛ-2, пг/мл	0,52	0,44
ИЛ-6, пг/мл	0,37	
ФНО- α , пг/мл	0,57	0,32
ИФН- γ	-0,46	

Примечание – Представлены только значимые ($p < 0,05$) коэффициенты корреляции $> 0,30$ ($< - 0,30$)

Также расчеты показали наличие ряда значимых корреляционных связей между уровнями показателя качества жизни (ДИКЖ) и иммунологическими характеристиками: процентом Т-reg клеток ($R = -0,38$), уровнем CD3-лимфоцитов ($R = -0,30$) и относительным содержанием CD8 - цитотоксических-Т-лимфоцитов ($R = 0,35$).

Кроме того, обнаружено наличие значимых отрицательных корреляций между показателям качества жизни больных псориазом и уровнями ИЛ-2 ($R = 0,44$), а также ФНО- α ($R = - 0,32$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вульгарный псориаз представляет собой иммунозависимое заболевание кожи, а изучение его молекулярных механизмов запуска и развития, поиск новых терапевтических мишеней и способов воздействия на них является актуальной задачей современной медицины.

В 2016 году Всемирная организация здравоохранения подчеркнула, что псориаз - это заболевания пожизненного характера и обратила внимание на необходимость разработки препаратов, доступных для лечения пациентов. Для осуществления данной концепции необходимо проводить исследования, направленные на поиск новых молекулярных мишеней данного заболевания.

Для решения поставленных задач под нашим наблюдением находилось 68 пациентов с диагнозом псориаз обыкновенный (30 мужчин и 38 женщин). В контрольную выборку вошли 22 здоровых добровольца (10 мужчин и 12 женщин). Средний возраст больных составил $41,2 \pm 16,3$ года.

У пациентов был выявлен ряд факторов, способствующих обострению псориаза. Наиболее часто выявлялись стресс и психоэмоциональное напряжение - более чем у трети пациентов - 39,7 % (27 случаев). На втором месте в структуре этих факторов было употребление алкоголя - у 14 больных (20,6 %). Стрептококковая инфекция выступала в качестве фактора обострения и развития болезни в 11 (16,2 %) случаях. Прием лекарственных средств - 3 (4,4 %) случая. Не были четко установлены такие факторы у 15 (18,1%) обследованных. Большинство пациентов, находящихся под нашим наблюдением имели коморбидности и сопутствующие заболевания: псориазический артрит у 14 человек (20,6%), гипертоническая болезнь - у 18 человек (26,5%), сахарный диабет 2 типа - у 3 пациентов (4,4%), избыточный вес - у 16 пациентов (23,5%), хронический гастрит - у 4 пациентов (5,9%), хронический холецистит - у 6 пациентов (8,8%), желчнокаменная болезнь - у трех (4,4%), хронический тонзилит - у 5 человек (7,4%), хронический бронхит - у четырех пациентов (5,9%). У большинства пациентов наблюдалась бляшечная форма псориаза - 53 пациента (77,8 %).

Экссудативная форма заболевания выявлена у 15 больных (22,2 %). Данные по частоте встречаемости коморбидностей при псориазе согласуются таковыми, приводимыми в литературе.

В соответствии с поставленными задачами исследования для анализа репертуара Т-клеточных рецепторов из общей группы было отобрано 15 больных, клинически и этнически однородных, а также 7 человека из группы здоровых добровольцев.

На первом этапе исследования был проведен анализ результатов секвенирования 37 образцов биопсий пораженной и непораженной кожи пациентов с псориазом и здоровых доноров. При сравнении репертуара TCR пораженной и непораженной кожи больных псориазом наблюдается преобладание одной или нескольких последовательностей как в пораженной, так и в непораженной коже. Причем данная картина выражена сильнее именно в пораженной коже, где наблюдается явное доминирование одного или нескольких клонов. Это наводит на мысль о том, что преобладающие в пораженной коже рецепторы имеют связь с развитием псориаза.

А при сравнении репертуара TCR непораженной кожи больных псориазом и кожи здоровых людей обнаружено, что у здоровых людей в коже не наблюдается преобладания отдельных клонов, их распределение равномерное, в то время как в непораженной коже больных псориазом имеется ряд преобладающих последовательностей, что также наводит на мысль о связи данных преобладающих в видимо непораженной коже клонов с развитием псориаза. В то же время в инфильтрате псориазической бляшки присутствует огромное количество неспецифических Т-клеток.

На втором этапе при изучении иммунного статуса испытуемых больных псориазом (CD 3, 4, 8, T-reg, ИЛ 1 β , ИЛ 2, ИЛ 6, ФНО- α , ИФН- γ) был выявлен ряд изменений, характеризующихся дисбалансом содержания основных субпопуляций лимфоцитов в периферической крови. Обнаруженные изменения общего иммунного статуса у больных псориазом характеризуются нарушениями в клеточном звене иммунитета, что проявляется дисбалансом основных

субпопуляций лимфоцитов в периферической крови, в том числе лимфоцитов, несущих TCR, что свидетельствует о их патогенетической роли в развитии заболевания. Так было показано более быстрое повышение уровня регуляторных Т-клеток (CD4+CD25+), которые отвечают за предотвращение избыточной активации иммунного ответа, в группе пациентов, получавших метотрексат совместно с УФБ-311 нм фототерапией (n=32), по сравнению с группой пациентов, получавших только УФБ-311 нм фототерапию (n=36). Данный факт наводит нас на мысль о том, что комбинация УФБ-311 нм фототерапии и метотрексата приводит к более быстрой нормализации клонального баланса Т-клеток и как следствие более значимому подавлению воспаления при псориазе и уменьшению клинических проявлений.

Наблюдаются также сдвиги значений показателей гуморального звена иммунитета: повышение концентраций провоспалительных цитокинов - ИЛ-1 β , 2, 6 и ФНО- α и снижением уровня интерферона-гамма. Изучение цитокинового статуса показало, что в ходе терапии снижается количество провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF- α), что сопровождается улучшением клинической картины заболевания. При этом снижается и количество эффекторных клеток (CD8+), что наводит нас на мысль о том, что в ходе иммуносупрессивной терапии метотрексатом сопровождается не только подавлением функциональной активности эффекторных клеток, но и влияет на экспрессию поверхностных маркеров этих клеток.

Результаты проведенного анализа свидетельствовали также 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. Что также наводит нас на мысль о том, что в ходе иммуносупрессивной терапии метотрексатом наблюдается не только подавление функциональной активности эффекторных клеток, но и влияние на экспрессию поверхностных маркеров этих клеток.

На заключительном этапе выполнен анализ результатов оценки клинических проявлений заболевания и иммунного статуса — сравнение в группах с разными

вариантами лечения — сопоставление клинических проявлений и иммунологических показателей (корреляционный анализ для поиска предикторов ответа на терапию из числа характеристик лимфоцитов и уровней цитокинов у больных). На основании показателей иммунного статуса проводилась оценка проводимой терапии, что в условиях наличия контрольной группы позволило оценить эффект от лечения в динамике.

В данной части исследования проведена количественная оценка динамики некоторых Т-клеточных рецепторов методом проточной цитометрии на фоне иммуносупрессивной терапии. В ходе наблюдения выявлена тенденция к восстановлению вышеописанных нарушений функции иммунной системы у этих пациентов, которая проявляется через 3-6 месяцев от начала лечения: нормализацией баланса клеточных субпопуляций лимфоцитов, в частности, Т-лимфоцитов, а также снижением ранее повышенных уровней цитокинов.

В ходе исследования выявлены некоторые взаимосвязи характеристик субпопуляций Т-лимфоцитов и клиническими признаками активности заболевания у больных псориазом. Так, например, выявлены зависимости умеренной силы между уровнем активности заболевания по показателю PASI, с одной стороны, и следующими иммунологическими параметрами: относительным количеством Т-регуляторных лимфоцитов ($R = -0,38$), уровнем CD3⁺ в периферической крови ($R = -0,30$), процентным содержанием CD19⁺ (В-лимфоцитов) ($R = 0,34$), уровнями CD4⁺ (Т-хелперов) ($R = -0,32$), CD8⁺ цитотоксических-Т-лимфоцитов ($R = 0,42$). Также выявлено наличие ряда корреляций между уровнем активности псориаза (PASI) и концентрациями всех изученных цитокинов у обследованных больных: ИЛ-1 β ($R = -0,45$), ИЛ-2 ($R = 0,52$), ИЛ-6 ($R = 0,37$), ФНО- α ($R = 0,57$), а также ИФН- γ ($R = -0,46$).

Также расчеты показали наличие ряда значимых корреляционных связей между уровнями показателя качества жизни (ДИКЖ) и иммунологическими характеристиками: процентом Т-reg клеток ($R = -0,38$), уровнем CD3-лимфоцитов ($R = -0,30$), CD4-Т-хелперов ($R = -0,35$), относительным содержанием CD8 - цитотоксических-Т-лимфоцитов ($R = 0,35$).

Кроме того, обнаружено наличие значимых отрицательных корреляций между показателями качества жизни больных псориазом и уровнями ИЛ-2 ($R=0,44$), а также ФНО- α ($R= - 0,32$).

Таким образом, при псориазе в коже пациентов выявлен ряд комбинаций Т-клеточных рецепторов, связанных с развитием данного заболевания, что приближает нас к пониманию природы антигенов, на которые реагируют клетки иммунной системы при псориазе.

ВЫВОДЫ

1. Выявлены отдельные последовательности Т-клеточных рецепторов, представленность которых в пораженной коже значимо выше ($p < 0,05$), чем в непораженной коже, при корреляции умеренной силы ($r_s = 0,56$, $r_s = 0,47$) с показателями индекса PASI: чем больше превышение представленности данных последовательностей в пораженной коже по сравнению с непораженной, тем выше тяжесть кожных проявлений заболевания, оцениваемая по индексу PASI, что свидетельствует об ассоциации данных последовательностей с псориазом.
2. Репертуар Т-клеточных рецепторов больных вульгарным псориазом характеризуется большим разнообразием по сравнению с таковым у здоровых добровольцев ($p < 0,05$): обнаруженное количество уникальных клонов в пораженной коже у пациентов с псориазом достигло 3725, в то время как у здоровых добровольцев оно не превышало 765, что свидетельствует о тенденции к формированию поликлонального воспалительного инфильтрата при псориазе.
3. У наблюдаемых больных среднетяжелым и тяжелым псориазом (PASI $23,2 \pm 6,2$) установлено значительное возрастание концентраций провоспалительных цитокинов - ИЛ-1 β , 2, 6 и ФНО- α (19,3 \pm 2,0 пг/мл, 16,8 \pm 3,4 пг/мл, 19,5 \pm 4,1 пг/мл, 6,8 \pm 1,9 пг/мл соответственно) и снижение уровня ИФН- γ до 29,7 \pm 4,4 пг/мл в ассоциации со сниженным показателем регуляторных Т-клеток до уровня $0,062 \pm 0,008 \times 10^3$ /мкл по сравнению с группой контроля ($0,111 \pm 0,019 \times 10^3$ /мкл). Выявлена выраженная прямая взаимосвязь между уровнем ИЛ 2 ($R = 0,52$), ФНО- α ($R = 0,57$) и индексом PASI: чем выше показатель корреляции, тем больше влияние уровней выработки цитокинов на значение индекса PASI. Установлены также обратные корреляции умеренной силы между уровнем регуляторных Т-клеток ($R = -0,35$), уровнем ИФН- γ ($R = -0,46$) и индексом PASI: чем ниже уровень регуляторных Т-клеток и экспрессия ИФН- γ , тем выше тяжесть кожных проявлений заболевания, оцениваемая по индексу PASI, что в целом отражает фенотипичность патофизиологии тяжелого псориаза.

4. Эффективность комбинированного лечения оказалась выше по сравнению с монотерапией УФБ-311 нм (PASI 75 у 75% больных против PASI 75 у 53,1% соответственно), а повышение уровня регуляторных Т-клеток при комбинированном лечении составило $5,06\% \pm 1,14$ против $3,42\% \pm 0,28$ при монотерапии УФБ-311 нм, что свидетельствует о более высокой эффективности комбинированной терапии как в клиническом, так и в иммунологическом аспекте с восстановлением иммунного паттерна в виде увеличения количества регуляторных Т-клеток.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Созданный банк биопсийного материала пораженной и непораженной кожи больных псориазом может быть использован для дальнейших молекулярно-генетических исследований.
2. Определение особенностей репертуара Т-клеточных рецепторов может стать основой для разработки новых стратегий терапии и персонализированного подхода к лечению больных.
3. Метод секвенирования нового поколения может быть применен при молекулярно-генетических исследованиях других дерматозов.
4. Схема комбинированного лечения при среднетяжелом и тяжелом псориазе эффективна как в клиническом, так и в иммунологическом аспекте и может быть рекомендована в клинической практике.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ДИКЖ (Dermatology Life Quality Index, DLQI) - дерматологический индекс качества жизни

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИЛ (IL) – интерлейкин

ИФН (IFN) – интерферон

РНК – рибонуклеиновая кислота

УФБ 311 нм – узкополосное ультрафиолетовое излучение диапазона Б спектра 311 нм

ФНО- α – фактор некроза опухоли- α

CD (кластер дифференцировки) – маркер лимфоцитов

CDR (complementarity determining region) - гипервариабельный участок

CDR3 - гипервариабельный участок 3, формирующий поверхность, распознающую эпитоп

HLA – человеческий лейкоцитарный антиген

MHC (Major Histocompatibility Complex) - главный комплекс гистосовместимости

NGS (next generation sequencing) - секвенирование нового поколения

NK – натуральный киллер

PASI (Psoriasis Area and Severity Index) - индекс определения площади поражения и оценки тяжести течения псориаза

TCR (T-cell receptor) - T-клеточный рецептор

Th (T_H) – Т-хелпер

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анализ Т-регуляторных клеток CD4+CD25+FOXP3+ при аутоиммунных заболеваниях / С.Н. Быковская, А.В. Карасев, А.В. Лохонина, Е.Б. Клейменова // Молекулярная медицина. – 2013. – № 3. – С. 20-28.
2. Белова, О.В. Иммунологические нарушения при псориазе / О.В. Белова // Российский иммунологический журнал. – 2009. – Т. 3, № 2 (12). – С. 121-138.
3. Бурхонов, А.У. Особенности иммунного статуса и лечение больных псориазом пожилого и старческого возраста / А.У. Бурхонов // Украинский журнал дерматологии, венерологии, косметологии. – 2014. – №1 (52). – С. 71-77.
4. Генетические аспекты псориаза / Л.Ф. Знаменская, Н.Л. Каганова, Н.В. Фриго, А.А. Кубанов // Вестник дерматологии и венерологии. — 2009. — №4. — С. 20–26.
5. Знаменская, Л.Ф. Механизм реализации биологического действия фактора некроза опухоли-альфа при псориазе / Л.Ф. Знаменская, Ю.Ю. Егорова, С.В. Зитнер // Вестник дерматологии и венерологии. – 2011. – № 2. – С. 13-17.
6. Иммунологическая функция кожи в свете новых данных. Часть 1. Лимфоциты кожи / О.В. Белова, И.В. Зимина, Т.И. Торховская [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2014. – Т. 8, № 2 (17). – С. 143-151.
7. Иммунологическая функция кожи в свете новых данных. Часть 2. Дендритные клетки кожи и кератиноциты / О.В. Белова, И.В. Зимина, Т.И. Торховская [и др.] ; // Российский иммунологический журнал. – 2015. – Т. 9, № 1 (18). – С. 14-26.
8. Каратеев, Д.Е. Таргетная терапия в ревматологической и дерматологической практике / Д.Е. Каратеев // Эффективная фармакотерапия. – 2016. – № 32. – С. 40-43.
9. Катунина, О.Р. Функции TOLL-подобных рецепторов как компонента врожденного иммунитета и их участие в патогенезе дерматозов различной этиологии Вестник дерматологии и венерологии / О.Р. Катунина // – 2011. – № 2. – С. 18-25.

10. Клинико-генетические ассоциации репертуара Т-клеточных рецепторов при псориазе / О.Ю. Олисова, Н.Г. Кочергин, А.А. Парамонов, В.И. Логинов, А.М. Бурденный, Л.Н. Каюмова // Патогенез. – 2023. – №2. – С. 47-54.
11. Коротаева, Т.В. Иммунопатогенетические механизмы действия устекинумаба – нового лекарственного средства для лечения псориазического артрита и псориаза / Т.В. Коротаева, Е.Ю. Логинова // Современная ревматология. – 2015. – Т. 9, № 2. – С. 51-56.
12. Кочергин, Н.Г. Инфликсимаб — новые биотехнологии в терапии псориаза / Н.Г. Кочергин, Г.В. Кондратов, Е.Е. Румянцева // Клиническая дерматология и венерология. – 2003. – № 3. – С.65-68.
13. Кочергин, Н.Г. Особенности репертуара Т-клеточных рецепторов при псориазе / Н.Г. Кочергин, А.А. Парамонов // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2017. – №2. – С. 97.
14. Кочергин, Н.Г. Характеристика Т-лимфоцитов различных рецепторных фенотипов у больных псориазом в процессе лечения / Н.Г. Кочергин, А.А. Парамонов, Л.Н. Каюмова // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2020. – №2. – С. 35-38.
15. Кошукова, Г.Н. Возможности и перспективы применения иммуно-биологической терапии в ревматологии / Г.Н. Кошукова // Крымский терапевтический журнал. – 2012. – № 2 (19). – С. 5-11.
16. Ма, Ц. Наружные антимикробные пептиды в комбинированной терапии вульгарных угрей : 14.01.10 «Кожные и венерические болезни» диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Ма Цзыюань ; ФГАОУ ВО "Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)". - Москва, 2022. - 111 с.
17. Междисциплинарный подход к таргетной биологической терапии псориазического артрита и псориаза / А.М. Лиля, В.Р. Хайрутдинов, Д.Е. Каратеев [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2017. – № 27. – С. 30-39.

18. Мишина, О.С. Обоснование необходимости междисциплинарного подхода в ведении больных псориазом и псориазическим артритом / О.С. Мишина // Справочник врача общей практики. – 2016. – № 7. – С. 18-26.
19. Насонов, Е.Л. Достижения ревматологии в XXI в. / Е.Л. Насонов // Научно-практическая ревматология. – 2014. – Т. 52. – № 2. – С. 133-140.
20. Наш первый опыт применения адалимумаба при псориазе / Н.Г. Кочергин, Н.Н. Потекаев, Л.М. Смирнова [и др.] // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2012. – № 5. – С. 37-41.
21. Общие механизмы и медиаторы воспаления в развитии атеросклероза и псориаза / В.В. Соболев, М.Е. Саутин, А.Л. Пирузян [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2017. – № 15. – С. 16-19.
22. Олисова, О.Ю. Коморбидности при псориазе / О.Ю. Олисова, Л.Г. Гаранян // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2016. – №6. – С. 346-348.
23. Парамонов, А.А. Генетические маркеры терапевтического ответа при псориазе / А.А. Парамонов, Н.Г. Кочергин // Национальное здоровье. – 2018. – №3. – С. 76-78.
24. Пинегин, В.Б. Иммунопатогенетическое обоснование различных методов фототерапии больных псориазом : специальность: 14.01.10 «Кожные и венерические болезни» диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Пинегин Владимир Борисович ; ГБОУ ВПО "Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова". - Москва, 2015. - 125 с.
25. Притуло, О.А. Современные представления о патогенезе псориаза / О.А. Притуло, И.В. Рычкова // Таврический медико-биологический вестник. – 2017. – Т. 20. – № 1. – С. 141-153.
26. Притуло, О.А. Эволюция методов иммунотерапии псориаза и псориазического артрита: от тотальной иммуносупрессии к избирательному воздействию на терапевтические мишени / О.А. Притуло, А.А. Петров, А.В. Петров // Медицинский алфавит. - 2020. - №. 15. - С. 15-21.

27. Разработки отечественных оригинальных генно-инженерных биологических препаратов для лечения иммуновоспалительных ревматических заболеваний / Е.Л. Насонов, В.И. Мазуров, Ю.В. Усачева [и др.] // Научно-практическая ревматология. – 2017. – Т. 55. – № 2. – С. 201-210.
28. Репертуар Т-клеточных рецепторов при некоторых иммунозависимых дерматозах / А.А. Парамонов, Л.Н. Каюмова, С.А. Брускин, Н.Г. Кочергин, О.Ю. Олисова, М.Н. Острцова // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2015. – № 4. – С. 34-41.
29. Роль регуляторных Т-клеток в патогенезе псориаза: обзор литературы / К. Маттоцци., М. Салви, С. ДЭпиро [и др.] // РМЖ. – 2016. – Т. 24. – № 10. – С. 642-650.
30. Свистунова, Д.А. Эффективность комбинированной терапии среднетяжелого и тяжелого псориаза с учетом цитокинового профиля и патоморфологических изменений в коже : 14.01.10 «Кожные и венерические болезни» диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Свистунова Дарья Андреевна ; ФГАОУ ВО "Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)". - Москва, 2020. - 158 с.
31. Серов, Д.Н. Воздействие интерференционного тока на динамику патологического процесса у больных ограниченными формами псориаза : 14.00.11 «Кожные и венерические болезни» диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Серов Дмитрий Николаевич ; ГОУ ВПО "Московская медицинская академия". - Москва, 2009. - 115 с.
32. Сикорская, Т.А. Современные представления о патогенезе и медикаментозной терапии псориаза (литературные и собственные данные) / Т.А. Сикорская, А.П. Музыченко, М.В. Качук // Медицинский журнал. – 2017. – № 2. – С. 42-52.
33. Скрипкин, Ю.К. Псориаз: лечение и профилактика рецидивов / Ю.К. Скрипкин // Терапевтический архив. – 1993. – № 1.

34. Смирнова, С.В. Иммунопатогенез псориаза и псориатического артрита / С.В. Смирнова, М.В. Смольникова // Медицинская иммунология. – 2014. – Т. 16. – № 2. – С. 127-138.
35. Смирнова, С.В. Клинико-anamнестические критерии прогрессирования псориаза / С.В. Смирнова, М.В. Смольникова, А.А. Барило // Клиническая дерматология и венерология. – 2016. – Т. 15. – № 2. – С. 9-15.
36. Современные концепции по патогенезу псориаза / В.Н. Мордовцев, А.Ю. Прохоров, И.В. Старков [и др.] // Вестник дерматологии. – 1987. – Т. 7. – С. 28-33.
37. Современные представления о фармакотерапии псориатического артрита / Г.Г. Тарадин, Н.Т. Ватутин, Д.В. Антоненко, А.С. Смирнова // Современная ревматология. – 2015. – Т. 9. – № 4. – С. 83-91.
38. Стешенко, И.Г. Возможности терапии распространённого псориаза кожи и псориатического артрита с использованием блокатора ФНО- α (голимумаба) / И.Г. Стешенко, А.Н. Калягин // Современные проблемы ревматологии. – 2014. – Т. 6. – № 6. – С. 57-61.
39. Чикин, В.В. Патогенетические аспекты лечения больных псориазом / В.В. Чикин, Л.Ф. Знаменская, А.А. Минеева // Вестник дерматологии и венерологии. – 2014. – № 5. – С. 86-90.
40. Шилов, В.Н. Псориаз. Решение проблемы. / В.Н. Шилов. - Москва : [б. и.], 2001. - 303 с.: ил. - ISBN 5-901503-01-05. – Текст : непосредственный.
41. A global phase III randomized controlled trial of etanercept in psoriasis: Safety, efficacy, and effect of dose reduction / K. A. Papp, S. Tying, M. Lahfa [et al.] // British Journal of Dermatology. – 2005. – Vol. 152. – № 6. – P. 1304-1312.
42. A prospective phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled study of brodalumab in patients with moderate-to-severe plaque psoriasis / K. A. Papp, K. Reich, C. Paul [et al.] // British Journal of Dermatology. – 2016. – Vol. 175. – № 2. - P. 1304–1312.
43. A prospective randomized controlled trial comparing infliximab and etanercept in patients with moderate-to-severe chronic plaque-type psoriasis: the Psoriasis Infliximab vs. Etanercept Comparison Evaluation (PIECE) study / A. C. Q. de Vries, H. B. Thio, W.

- J. A. de Kort [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2017. – Vol. 176. – № 3. - P.624–633.
44. A randomized comparison of continuous vs. intermittent infliximab maintenance regimens over 1 year in the treatment of moderate-to-severe plaque psoriasis / A. Menter, S. R. Feldman, G. D. Weinstein [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2007. – Vol. 56. – № 1. - P. 31–44.
45. A role for CCR4 in development of mature circulating cutaneous T helper memory cell populations / E. S. Baekkevold, M. A. Wurbel, P. Kivisäkk [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. – 2005. – Vol.201 (7). - P.1045–1051.
46. A role for CCR5+CD4 T cells in cutaneous psoriasis and for CD103+ CCR4+ CD8 Teff cells in the associated systemic inflammation / F. Sgambelluri, M. Diani, A. Altomare [et al.] // *Journal of Autoimmunity*. – 2016. – Vol. 70. - P.80–90.
47. Adalimumab for the treatment of patients with moderately to severely active psoriatic arthritis: Results of a double-blind, randomized, placebo-controlled trial / P. J. Mease, D. D. Gladman, C. T. Ritchlin [et al.] // *Arthritis and Rheumatism*. – 2005. – Vol. 52. – № 10. - P.3279–3289.
48. Adalimumab therapy for moderate to severe psoriasis: A randomized, controlled phase III trial / A. Menter, S. K. Tying, K. Gordon [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2008. – Vol. 58. – № 1. - P.106–115.
49. Advances in the pathogenesis of psoriasis: from keratinocyte perspective / X. Zhou, Y. Chen, L. Cui [et al.] // *Cell Death & Disease*. – 2022. – Vol. 13. – P. 1-13.
50. An intensified dosing schedule of subcutaneous methotrexate in patients with moderate to severe plaque-type psoriasis (METOP): a 52 week, multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial / R. B. Warren, U. Mrowietz, R. von Kiedrowski [et al.] // *The Lancet*. – 2017. – Vol. 389. – № 10068. - P. 528–537.
51. Anti-IL-17 Medications Used in the Treatment of Plaque Psoriasis and Psoriatic Arthritis: A Comprehensive Review / T. N. Canavan, C. A. Elmets, W. L. Cantrell [et al.] // *American journal of clinical dermatology*. – 2016. – Vol. 17. – P. 33-47.
52. Apremilast, an oral phosphodiesterase 4 inhibitor, in patients with nail, scalp, and palmoplantar psoriasis: 52-week results from the ESTEEM 2 study / T.F. Tsai, A.

- Blauvelt, Y.K. Gong [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2015. – Vol. 72. – № 5. – P. 134-142.
53. Armstrong, A. W. Outcomes research in psoriasis and psoriatic arthritis using large databases and research networks: A report from the GRAPPA 2013 annual meeting / A. W. Armstrong, J. M. Gelfand, A. Garg // *Journal of Rheumatology*. – 2014. – Vol. 41. – P. 1233–1236.
54. Association of HLA Alleles and HLA Haplotypes with Psoriasis, Psoriatic Arthritis and Disease Severity in a Miscegenated Population / F. de F. Cassia, J. F. Cardoso, L. C. Porto [et al.] // *Psoriasis: Targets and Therapy*. – 2021. – Vol.8. – P. 41-51. doi: 10.2147/PTT.S258050. PMID: 34007822; PMCID: PMC8121669.
55. Association of psoriasis and/or psoriatic arthritis with autoimmune diseases: The experience of two Italian integrated Dermatology/Rheumatology outpatient clinics / F. Carubbi, M. S. Chimenti, G. Blasetti [et al.] // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2015. – Vol. 29 (11). – P. 2160-2168.
56. Blockade of T lymphocyte costimulation with cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4-immunoglobulin (CTLA4Ig) reverses the cellular pathology of psoriatic plaques, including the activation of keratinocytes, dendritic cells, and endothelial cells / J. R. Abrams, S. L. Kelley, E. Hayes [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. – 2000. – Vol. 192. – № 5.
57. Boehncke, W. H. Cardiovascular comorbidities in psoriasis and psoriatic arthritis: Pathogenesis, consequences for patient management, and future research agenda: A report from the GRAPPA 2009 annual meeting / W. H. Boehncke, D. D. Gladman, V. Chandran // *Journal of Rheumatology*. – 2011. – Vol. 38. – P. 567-571.
58. Boehncke, W. H. Psoriasis. / W. H. Boehncke, M. P. Schön. // *Lancet*. – 2015. – Vol. 386. – P. 983-994.
59. Büchau, A. S. Innate immunity and antimicrobial defense systems in psoriasis. / A. S. Büchau, R. L. Gallo. // *Clinics in dermatology*. – 2007. – Vol. 25. – P. – 616-624.
60. Caruso, R. Pathogenic role of interleukin-21 in psoriasis. Vol. 8 / R. Caruso, A. Costanzo, G. Monteleone. // *Cell cycle*. – 2009. - Vol.8 (22).- P.3629– 3630.

61. CCR4 versus CCR10 in human cutaneous TH lymphocyte trafficking / D. Soler, T. L. Humphreys, S. M. Spinola, J. J. Campbell // *Blood*. – 2003. – Vol. 101. – № 5. – P.1677–1682.
62. CD56brightCD16- NK cells accumulate in psoriatic skin in response to CXCL10 and CCL5 and exacerbate skin inflammation / C. Ottaviani, F. Nasorri, C. Bedini [et al.] // *European Journal of Immunology*. – 2006. – Vol. 36. – № 1. – P.118–128.
63. Cho, J. H. Heterogeneity of autoimmune diseases: Pathophysiologic insights from genetics and implications for new therapies / J. H. Cho, M. Feldman. // *Nature medicine*. – 2015. – Vol.21 (7).- P.730–738.
64. Chronic mucocutaneous candidiasis in humans with inborn errors of interleukin-17 immunity / A. Puel, S. Cypowyj, J. Bustamante [et al.] // *Science*. – 2011. – Vol. 332. – № 6025. – P. 65–68.
65. Circulating Th17, Th22, and Th1 cells are increased in psoriasis / S. Kagami, H. L. Rizzo, J. J. Lee [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2010. – Vol. 130. – № 5. – P. 1373–1383.
66. Clinical improvement in psoriasis with specific targeting of interleukin-23 / T. Kopp, E. Riedl, C. Bangert [et al.] // *Nature*. – 2015. – Vol. 521. – № 7551. – P. 222–226.
67. Clinical, quality of life, patient adherence, and safety outcomes of short-course (12 Weeks) treatment with cyclosporine in patients with severe psoriasis (the practice study) / S. Swimberghe, P. D. Ghislain, E. Daci [et al.] // *Annals of Dermatology*. – 2013. – Vol. 25. – № 1. – P. 28–35.
68. Coates, L. C. Therapy strategies in psoriatic arthritis / L. C. Coates // *Clinical and Experimental Rheumatology*. – 2015. – Vol. 33. – P. 70-72.
69. Comparison of ixekizumab with etanercept or placebo in moderate-to-severe psoriasis (UNCOVER-2 and UNCOVER-3): Results from two phase 3 randomised trials / C. E. M. Griffiths, K. Reich, M. Lebwohl [et al.] // *The Lancet*. – 2015. – Vol. 386. – № 9993. – P. 541-551.
70. Comparison of long-term drug survival and safety of biologic agents in patients with psoriasis vulgaris / R. Gniadecki, B. Bang, L. E. Bryld [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2015. – Vol. 172. – № 1. – P.244–252.

71. Correction to: Inflammation, Atherosclerosis, and Psoriasis / D. Siegel, S. Devaraj, A. Mitra [et al.] // *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. – 2013. - Vol. 54 – P. 194-204.
72. Cutting Edge: IFN- γ Enables APC to Promote Memory Th17 and Abate Th1 Cell Development / I. Kryczek, S. Wei, W. Gong [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2008. – Vol. 181. – № 9. - P. 5842–5846.
73. Cyclosporine as maintenance therapy in patients with severe psoriasis / J. Shupack, E. Abel, E. Bauer [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 1997. – Vol. 36. – № 3. – P. 423-432.
74. D’Orazi, G. p53 Function and Dysfunction in Human Health and Diseases / G. D’Orazi. // *Biomolecules*. – 2023. Vol. 13. – P. 1-9.
75. Dardalhon, V. Physical attraction of Th9 cells is skin deep / V. Dardalhon, M. Collins, V. K. Kuchroo. // *Annals of translational medicine*.– 2015. - Vol. 3. – P. 1-3.
76. Deep Sequencing of the T-cell Receptor Repertoire Demonstrates Polyclonal T-cell Infiltrates in Psoriasis / J. L. Harden, D. Hamm, N. Gulati [et al.] // *F1000Research*. – 2015. – Vol. 4. – P. 1-11.
77. Demethylation of the RORC2 and IL17A in Human CD4+ T Lymphocytes Defines Th17 Origin of Nonclassic Th1 Cells / A. Mazzoni, V. Santarlasci, L. Maggi [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2015. – Vol. 194. – № 7. - P.3116–3126.
78. Diani, M. T cell responses in psoriasis and psoriatic arthritis. / M. Diani, G. Altomare, E. Reali. – 2015. Vol. – 14. – P. 286-292.
79. Diani, M. T Helper Cell Subsets in Clinical Manifestations of Psoriasis. / M. Diani, G. Altomare, E. Reali // *Journal of Immunology Research*. – 2016. – 2016:7692024. Epub 2016 Aug 10.
80. Diet and psoriasis / A. Pona, W. Haidari, S. S. Kolli, S. R. Feldman // *Dermatology Online Journal*. – 2019. – Vol. 25. – № 2. – P. 1-25.
81. Differential expression of interleukin-17 family cytokines in intact and complicated human atherosclerotic plaques / O. J. De Boer, J. J. Van Der Meer, P. Teeling [et al.] // *Journal of Pathology*. – 2010. – Vol. 220. – № 4. - P.499–508.

82. Dong, C. Defining the TH17 cell lineage. / C. Dong // *Nature Reviews Immunology*. – 2021. – Vol. 21. – P.1-3.
83. Early relapse of psoriasis after stopping brodalumab: a retrospective cohort study in 77 patients / M. Masson Regnault, M. P. Konstantinou, A. Khemis [et al.] // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2017. – Vol. 31. – № 9.
84. Effect of ixekizumab treatment on work productivity for patients with moderate-to-severe plaque psoriasis: Analysis of results from 3 randomized phase 3 clinical trials / A. W. Armstrong, C. W. Lynde, S. R. McBride [et al.] // *JAMA Dermatology*. – 2016. – Vol. 152. - P. 661–669.
85. Effective treatment of psoriasis with etanercept is linked to suppression of IL-17 signaling, not immediate response TNF genes / L. C. Zaba, M. Suárez-Fariñas, J. Fuentes-Duculan [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2009. – Vol. 124. – № 5. - P. 1022–1030.
86. Efficacy and safety of ixekizumab in psoriasis patients who failed to reach PASI 75 on etanercept: Subanalysis of UNCOVER-3 / A. Blauvelt, K. Papp, L. Puig [et al.] // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2016. – Vol. 30.
87. Efficacy and safety of ixekizumab treatment for Japanese patients with moderate to severe plaque psoriasis, erythrodermic psoriasis and generalized pustular psoriasis: Results from a 52-week, open-label, phase 3 study (UNCOVER-J) / H. Saeki, H. Nakagawa, K. Nakajo [et al.] // *Journal of Dermatology*. – 2017. – Vol. 44. – № 4. - P. 355–362.
88. Efficacy and safety of open-label ixekizumab treatment in Japanese patients with moderate-to-severe plaque psoriasis, erythrodermic psoriasis and generalized pustular psoriasis / H. Saeki, H. Nakagawa, T. Ishii [et al.] // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2015. – Vol. 29. – № 6. - P. 1148–1155.
89. Efficacy and safety of ustekinumab for the treatment of moderate-to-severe psoriasis: A phase III, randomized, placebo-controlled trial in Taiwanese and Korean patients (PEARL) / T. F. Tsai, J. C. Ho, M. Song [et al.] // *Journal of Dermatological Science*. – 2011. – Vol. 63. – № 3. - P. 154–163.

90. Efficacy and safety of ustekinumab in Chinese patients with moderate to severe plaque-type psoriasis: Results from a phase 3 clinical trial (LOTUS) / X. Zhu, M. Zheng, M. Song [et al.] // *Journal of Drugs in Dermatology*. – 2013. – Vol. 12. – № 2. – P. 166–174.
91. Efficacy and safety of ustekinumab in Japanese patients with moderate-to-severe plaque-type psoriasis: Long-term results from a phase 2/3 clinical trial / A. Igarashi, T. Kato, M. Kato [et al.] // *Journal of Dermatology*. – 2012. – Vol. 39. – № 3. - P. 242–252.
92. Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 76-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 1) / C. L. Leonardi, A. B. Kimball, K. A. Papp [et al.] // *The Lancet*. – 2008. – Vol. 371. – № 9625. - P.1665–1674.
93. Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 52-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 2) / K. A. Papp, R. G. Langley, M. Lebwohl [et al.] // *The Lancet*. – 2008. – Vol. 371. – № 9625. - P. 1675–1684.
94. Efficacy and safety results from the randomized controlled comparative study of adalimumab vs. methotrexate vs. placebo in patients with psoriasis (CHAMPION) / J. H. Saurat, G. Stingl, L. Dubertret [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2008. – Vol. 158. – № 3. - P. 558–566.
95. Efficacy and tolerability of biologic and nonbiologic systemic treatments for moderate-to-severe psoriasis: Meta-analysis of randomized controlled trials. Vol. 159 / J. Schmitt, Z. Zhang, G. Wozel [et al.]. – 2008. - P. 513–526.
96. Efficacy of systemic therapies for moderate-to-severe psoriasis: A systematic review and meta-analysis of long-term treatment / T. C. Lucka, D. Pathirana, A. Sammain [et al.]. // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*. – 2012. - Vol. 26. - P. 1331–1344.
97. Efficacy, safety and usability of secukinumab administration by autoinjector/pen in psoriasis: A randomized, controlled trial (JUNCTURE) / C. Paul, J. P. Lacour, L. Tedremets [et al.] // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2015. – Vol. 29. – № 6. - P. 1082–1090.

98. Epidemiology of Psoriasis and Comorbid Diseases: A Narrative Review / J. Bu, R. Ding, L. Zhou [et al.]. // *Frontiers in immunology*. - 2022. - Vol. 13. - P. 1-19.
99. Epidermal Th22 and Tc17 Cells Form a Localized Disease Memory in Clinically Healed Psoriasis / S. Cheuk, M. Wikén, L. Blomqvist [et al.] // *The Journal of Immunology*. - 2014. - Vol. 192 (7). - P.3111–3120.
100. Etanercept and clinical outcomes, fatigue, and depression in psoriasis: Double-blind placebo-controlled randomised phase III trial / S. Tyring, A. Gottlieb, K. Papp [et al.] // *Lancet*. - 2006. - Vol. 367. - № 9504. - P. 29–35.
101. Evidence for a streptococcal superantigen-driven process in acute Guttate psoriasis / D. Y. M. Leung, J. B. Travers, R. Giorno [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. - 1995. - Vol. 96. - № 5. - P.2106–2012.
102. Frequency and clonality of peripheral $\gamma\delta$ T cells in psoriasis patients receiving anti-tumour necrosis factor- α therapy / J. Kelsen, A. Dige, M. Christensen [et al.] // *Clinical and Experimental Immunology*. - 2014. - Vol. 177. - № 1. - P.142–148.
103. Functional characterization of IL-17F as a selective neutrophil attractant in psoriasis / H. Watanabe, M. Kawaguchi, S. Fujishima [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. - 2009. - Vol. 129. - № 3. - P. 650–656.
104. Golden, J. B. IL-17 in psoriasis: Implications for therapy and cardiovascular comorbidities / J. B. Golden, T. S. McCormick, N. L. Ward. // *Cytokine*. - 2013. - Vol. 62. - P. 195-201.
105. Gooderham, M. Apremilast in the treatment of psoriasis and psoriatic arthritis / M. Gooderham, K. Papp. // *Skin therapy letter*. - 2015. - Vol. 20. - P.195–201.
106. Gudjonsson, J. E. Novel systemic drugs under investigation for the treatment of psoriasis / J. E. Gudjonsson, A. Johnston, C. N. Ellis. // *Journal of the American Academy of Dermatology*. - 2012. - Vol. 67. - P. 139–147.
107. Happy drug survival of adalimumab, etanercept and ustekinumab in psoriasis in daily practice care: Results from the BioCAPTURE network / J. M. P. A. Van Den Reek, J. Zweegers, W. Kievit [et al.] // *British Journal of Dermatology*. - 2014. - Vol. 171. - № 5. - P. 1189–1196.

108. Harden, J. L. The immunogenetics of Psoriasis: A comprehensive review / J. L. Harden, J. G. Krueger, A. M. Bowcock. // *Journal of autoimmunity*. – 2015. – Vol. 64. – 66-73.
109. Hirahara, K. CD4⁺ T-cell subsets in inflammatory diseases: Beyond the Th1/Th2 paradigm / K. Hirahara, T. Nakayama. // *International immunology*. – 2016. – Vol. 28. – P.163–171.
110. Human interleukin 17-producing cells originate from a CD161⁺CD4⁺ T cell precursor / L. Cosmi, R. De Palma, V. Santarlasci [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. – 2008. – Vol. 205. – № 8. - P.1903– 1916.
111. Human TH9 cells are skin-tropic and have autocrine and paracrine proinflammatory capacity / C. Schlapbach, A. Gehad, C. Yang [et al.] // *Science Translational Medicine*. – 2014. – Vol. 6. – № 219.
112. Human $\alpha\beta$ and $\gamma\delta$ T cells in skin immunity and disease. Vol. 9 / M. S. Cruz, A. Diamond, A. Russell, J. M. Jameson. // *Frontiers in immunology*. – 2018. - Vol. 9. – P. 1304. doi: 10.3389/fimmu.2018.01304. PMID: 29928283; PMCID: PMC5997830.
113. Humanized anti-IFN- γ (HuZAF) in the treatment of psoriasis / J. L. Harden, L. M. Johnson-Huang, M. F. Chamian [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2015. – Vol. 135. – № 2. - P.553–556.
114. Identification and quantitation of interferon- γ producing T cells in psoriatic lesions: Localization to both CD4⁺ and CD8⁺ subsets / S. K. Szabo, C. Hammerberg, Y. Yoshida [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 1998. – Vol. 111. – № 6. - P. 1072–1078.
115. Identification of a human helper T cell population that has abundant production of interleukin 22 and is distinct from TH-17, TH1 and TH2 cells / S. Trifari, C. D. Kaplan, E. H. Tran [et al.] // *Nature Immunology*. – 2009. – Vol. 10. – № 8. - P. 864– 871.
116. Identification of autoantigens in psoriatic plaques using expression cloning / D. A. Jones, N. Yawalkar, K. Y. Suh [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2004. – Vol. 123. – № 1. - P.93-100.

117. IL-17 induces an expanded range of downstream genes in reconstituted human epidermis model / A. Chiricozzi, K. E. Nogralles, L. M. Johnson-Huang [et al.] // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9 (2). - ArticleIDe90284.
118. IL-17 Pathway Members as Potential Biomarkers of Effective Systemic Treatment and Cardiovascular Disease in Patients with Moderate-to-Severe Psoriasis / X. Wang, H. Kaiser, A. Kvist-Hansen [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – Vol. 23. – № 1. – P. 1-15.
119. IL-22 and TNF- α represent a key cytokine combination for epidermal integrity during infection with *Candida albicans* / S. Eyerich, J. Wagener, V. Wenzel [et al.] // European Journal of Immunology. – 2011. – Vol. 41. – № 7. – P. 27-34.
120. IL-22 increases the innate immunity of tissues / K. Wolk, S. Kunz, E. Witte [et al.] // Immunity. – 2004. – Vol. 21. – № 2. - P. 241–254.
121. IL-22 Is Required for Imiquimod-Induced Psoriasiform Skin Inflammation in Mice / A. B. Van Belle, M. de Heusch, M. M. Lemaire [et al.] // The Journal of Immunology. – 2012. – Vol. 188. – № 1. - P. 462–469.
122. IL-22 regulates the expression of genes responsible for antimicrobial defense, cellular differentiation, and mobility in keratinocytes: A potential role in psoriasis / K. Wolk, E. Witte, E. Wallace [et al.] // European Journal of Immunology. – 2006. – Vol. 36. – № 5. - P. 1309–1323.
123. Improvement of Psoriasis Using Oral Probiotic *Streptococcus salivarius* K-12: a Case–Control 24-Month Longitudinal Study / A. Zangrilli, L. Diluvio, A. Di Stadio, S. Di Girolamo // Probiotics and Antimicrobial Proteins. – 2022. – Vol. 14. – № 3. – P. 573-578.
124. In Vitro Disease Models for Understanding Psoriasis and Atopic Dermatitis. / R. Sarama, P. K. Matharu, Y. Abduldaiem [et al.]. // Frontiers in bioengineering and biotechnology. – 2022. - Vol. 10. – P. 1-8.
125. Increased Th17 cells are accompanied by FoxP3⁺ Treg cell accumulation and correlated with psoriasis disease severity / L. Zhang, X. Q. Yang, J. Cheng [et al.] // Clinical Immunology. – 2010. – Vol. 135. – № 1. - P. 108–117.

126. Induction of IL-17+ T Cell Trafficking and Development by IFN- γ : Mechanism and Pathological Relevance in Psoriasis / I. Kryczek, A. T. Bruce, J. E. Gudjonsson [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2008. – Vol. 181. – № 7. - P.4733–4741.
127. Infliximab in the treatment of plaque type psoriasis / R. Saraceno, A. Saggini, L. Pietroleonardo, S. Chimenti // *Clinical, cosmetic and investigational dermatology*. – 2009. - Vol. 2. – P. 27-37.
128. Insights into gene modulation by therapeutic TNF and IFN γ antibodies: TNF regulates IFN γ production by T cells and TNF-regulated genes linked to psoriasis transcriptome / A. S. Haider, J. Cohen, J. Fei [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2008. – Vol. 128. – № 3. – P.655–666.
129. Interferon- γ regulates susceptibility to collagen-induced arthritis through suppression of interleukin-17 / C. Q. Chu, D. Swart, D. Alcorn [et al.] // *Arthritis and Rheumatism*. – 2007. – Vol. 56. – № 4. – P.1145–1151.
130. Interferon- γ /CCR5 expression in invariant natural killer T cells and CCL5 expression in capillary veins of dermal papillae correlate with development of psoriasis vulgaris / F. Kono, T. Honda, W. Aini [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2014. – Vol. 170. – № 5. - P. 1048–1055.
131. Interleukin-17 and interferon- γ Are produced concomitantly by human coronary artery-infiltrating T cells and act synergistically on vascular smooth muscle cells / R. E. Eid, D. A. Rao, J. Zhou [et al.] // *Circulation*. – 2009. – Vol. 119. – № 10. - P.1424–1432.
132. Interleukin-36–Receptor Antagonist Deficiency and Generalized Pustular Psoriasis / S. Marrakchi, P. Guigue, B. R. Renshaw [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2011. – Vol. 365. – № 7. - P.620–628.
133. Investigation of Enthesopathy with Ultrasonography and Comparison with Skin Findings in Asymptomatic Psoriatic Patients / I. D. Oğuz, Ü. Gül, S. S. Koparal [et al.] // *Dermatology*. – 2016. – Vol. 232. – № 3. – P. 312-318.
134. Involvement of IL-17F via the induction of IL-6 in psoriasis / S. Fujishima, H. Watanabe, M. Kawaguchi [et al.] // *Archives of Dermatological Research*. – 2010. – Vol. 302. – № 7. – P. 11-19.

135. Jinna, S. Anti-interleukin-17 treatment of psoriasis / S. Jinna, B. Strober. // *The Journal of dermatological treatment*. – 2016. Vol. 27. - P. 311–315.
136. Keating, G. M. Apremilast: A Review in Psoriasis and Psoriatic Arthritis / G. M. Keating // *Drugs*. – 2017. – Vol. 77. – № 4. – P. 459-472.
137. Kim, J. The imbalance between Type 17 T-cells and regulatory immune cell subsets in psoriasis vulgaris / J. Kim, A. Moreno, J. G. Krueger. // *Frontiers in immunology*. 2022. –Vol. 13. – P. 1-8.
138. Kinetics and regulation of human keratinocyte stem cell growth in short-term primary ex vivo culture: Cooperative growth factors from psoriatic lesional T lymphocytes stimulate proliferation among psoriatic uninvolved, but not normal, stem keratinocytes / Z. Bata-Csorgo, C. Hammerberg, J. J. Voorhees, K. D. Cooper // *Journal of Clinical Investigation*. – 1995. – Vol. 95(1).- P.317–327.
139. Kirkham, B. W. Interleukin-17A: A unique pathway in immune-mediated diseases: Psoriasis, psoriatic arthritis and rheumatoid arthritis / B. W. Kirkham, A. Kavanaugh, K. Reich. // *Immunology*. – 2014. Vol. 141. - P.133–142.
140. Kyowa Kirin. Lumicef® Approved in Japan, 2017, Япония: база данных. Данные в формате PDF. URL: <http://www.webcitation.org/6rGEdu4hs> (дата обращения: 16.06.2017). Режим доступа: для зарегистрир. пользователей.
141. Long-term effects of secukinumab on MRI findings in relation to clinical efficacy in subjects with active ankylosing spondylitis: An observational study / X. Baraliakos, B. Borah, J. Braun [et al.] // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2016. – Vol.75 (2). - P.408–412.
142. Long-term efficacy and safety of adalimumab in patients with moderate to severe psoriasis treated continuously over 3 years: Results from an open-label extension study for patients from REVEAL / K. Gordon, K. Papp, Y. Poulin [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2012. – Vol. 66. – № 2. - P.742–751.
143. Long-term efficacy and safety of ustekinumab, with and without dosing adjustment, in patients with moderate-to-severe psoriasis: Results from the PHOENIX 2 study through 5 years of follow-up / R. G. Langley, M. Lebwohl, G. G. Krueger [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2015. – Vol. 172. – № 5. - P.1371–1383.

144. Long-term efficacy of ustekinumab in patients with moderate-to-severe psoriasis treated for up to 5 years in the PHOENIX 1 study / A. B. Kimball, K. A. Papp, Y. Wasfi [et al.] // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2013. – Vol. 27. – № 12. - P. 1535–1545.
145. Long-term safety experience of ustekinumab in patients with moderate to severe psoriasis (Part II of II): Results from analyses of infections and malignancy from pooled phase II and III clinical trials / K. B. Gordon, K. A. Papp, R. G. Langley [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2012. – Vol. 66. – № 5. - P.241–251.
146. Machine Learning Approaches to TCR Repertoire Analysis / Y. Katayama, R. Yokota, T. Akiyama, T. J. Kobayashi // *Frontiers in immunology*. – 2022. – Vol. 13.
147. Mahil, S. K. Update on psoriasis immunopathogenesis and targeted immunotherapy / S. K. Mahil, F. Capon, J. N. Barker. // *Seminars in immunopathology*. – 2016. - Vol. 38. - P. 11–27.
148. Malakouti, M. Treatment challenges in the management of moderate-to-severe plaque psoriasis – Role of secukinumab. / M. Malakouti, S. E. Jacob, N. J. Anderson. // *Clinical, cosmetic and investigational dermatology*. – 2016. – Vol. 9 – P. 347-355.
149. Management of psoriatic arthritis among cutaneous psoriasis patients: From pathogenesis to therapy / P. Hoelt, C. Confavreux, D. Jullien, A. P. Villani. // *Giornale italiano di dermatologia e venereologia : organo ufficiale, Società italiana di dermatologia e sifilografia*. – 2017. – Vol. 152. - P. 458-473.
150. McCormick Howard, L. National Psoriasis Foundation: a patient-centric approach to improve access to psoriatic disease treatment / L. McCormick Howard // *The American journal of managed care*. – 2016. – Vol. 22. – № 4. – P. 104-107.
151. Memory T cell subsets, migration patterns, and tissue residence / S. N. Mueller, T. Gebhardt, F. R. Carbone, W. R. Heath. // *Annual review of immunology*. – 2013. - Vol. 31. - P.137–161.
152. Morrow, T. Defining the difference: What Makes Biologics Unique. / T. Morrow, L. H. Felcone // *Biotechnology healthcare*. – 2004. – Vol. 1. – № 4. - P. 24–29.
153. Nakagawa, H. Brodalumab, a human anti-interleukin-17-receptor antibody in the treatment of Japanese patients with moderate-to-severe plaque psoriasis: Efficacy and

- safety results from a phase II randomized controlled study / H. Nakagawa, H. Niino, K. Ootaki // *Journal of Dermatological Science*. – 2016. – Vol. 81. – № 1. - P. 44–52.
154. New insight into the pathogenesis of nail psoriasis and overview of treatment strategies. / A. Ventura, M. Mazzeo, R. Gaziano [et al.] // *Drug design, development and therapy*. – 2017. - Vol. 11. – P. 2527-2535.
155. Nomura, T. The panoply of $\alpha\beta$ T cells in the skin. / T. Nomura, K. Kabashima, Y. Miyachi. // *Journal of Dermatological Science*. – 2014. Vol. 76. – P. 3-9.
156. Perera, G.K. Psoriasis / G.K. Perera , P. Di Meglio , F.O. Nestle // *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. - 2012.- Vol. 7. - P.385–422. - P.385–422.
157. Perforin expression is upregulated in the epidermis of psoriatic lesions / M. Kaštelan, L. P. Massari, F. Gruber [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2004. – Vol. 151. – № 4. - P.831–836.
158. Phase 3 Studies Comparing Brodalumab with Ustekinumab in Psoriasis / M. Lebwohl, B. Strober, A. Menter [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2015. – Vol. 373. – № 14. - P.1318–1328.
159. Phase 3 Trials of Ixekizumab in Moderate-to-Severe Plaque Psoriasis / K. B. Gordon, A. Blauvelt, K. A. Papp [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2016. – Vol. 375. – № 4. – P.345–356.
160. Prescribing Information, Enbrel (Etanercept). , 2017, США: база данных. Данные в формате PDF. URL: <http://www.webcitation.org/6rGCfL3tR> (дата обращения: 16.06.2017). Режим доступа: для зарегистрир. пользователей.
161. Prescribing Information, Humira (Adalimumab). , 2017, США: база данных. Данные в формате PDF. URL: <http://www.webcitation.org/6rGCyzYce> (дата обращения: 16.06.2017). Режим доступа: для зарегистрир. пользователей.
162. Prescribing Information, Remicade (Infliximab). , 2017, США: база данных. Данные в формате PDF. URL: <http://www.webcitation.org/6rGDV99FL> (дата обращения: 16.06.2017). Режим доступа: для зарегистрир. пользователей.
163. Prescribing Information, Stelara (Ustekinumab), 2017, США: база данных. Данные в формате PDF. URL: <http://www.webcitation.org/6rKr49YYM> (дата обращения: 16.06.2017). Режим доступа: для зарегистрир. пользователей.

164. Prinz, J. C. Disease mimicry - A pathogenetic concept for T cell-mediated autoimmune disorders triggered by molecular mimicry? / J. C. Prinz. // *Clinical and experimental dermatology*. – 2004. - Vol. 3. - P.10–15.
165. Prinz, J. C. Psoriasis vulgaris - A sterile antibacterial skin reaction mediated by cross-reactive T cells? An immunological view of the pathophysiology of psoriasis / J. C. Prinz. // *Clinical and experimental dermatology*. – 2001. – Vol. 26. – P.326–332.
166. Production of interleukin 22 but not interleukin 17 by a subset of human skin-homing memory T cells / T. Duhon, R. Geiger, D. Jarrossay [et al.] // *Nature Immunology*. – 2009. – Vol. 10. – № 8. – P.857–863.
167. Prostaglandin E2 synergistically with interleukin-23 favors human Th17 expansion / C. Chizzolini, R. Chicheportiche, M. Alvarez [et al.] // *Blood*. – 2008. – Vol. 112 (9). - P.3696–3703.
168. Psoriasis and genetics. / N. Dand, S. K. Mahil, F. Capon [et al.]. // *Acta dermatovenereologica*. – 2020. – Vol. 100. – P. 54-64.
169. Psoriasis Patients with Specific HLA-Cw Alleles and Lower Plasma IL-17 Level Show Improved Response to Topical Lindioil Treatment / Y. K. Lin, C. Y. Wang, Y. H. Huang [et al.] // *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*. – 2022. – Vol. 15. – P. 515-524.
170. PSORS2 is due to mutations in CARD14 / C. T. Jordan, L. Cao, E. D. O. Roberson [et al.] // *American Journal of Human Genetics*. – 2012. – Vol. 90. – № 5. - P. 784–795.
171. Real-world effectiveness of guselkumab in patients with psoriasis: Health-related quality of life and efficacy data from the noninterventional, prospective, German multicenter PERSIST trial / S. Gerdes, B. Bräu, M. Hoffmann [et al.] // *Journal of Dermatology*. – 2021. – Vol. 48. – № 12. – P. 1854-1862.
172. Recirculating Memory T Cells Are a Unique Subset of CD4+ T Cells with a Distinct Phenotype and Migratory Pattern / S. K. Bromley, S. Yan, M. Tomura [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2013. – Vol.190 (3). - P.970–976.
173. Research gaps in psoriasis: Opportunities for future studies / C. Ryan, N. J. Korman, J. M. Gelfand [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2014. – Vol. 70. – № 1. – P. 146–167.

174. Responses to ustekinumab in the anti-TNF agent-naïve vs. anti-TNF agent-exposed patients with psoriasis vulgaris / A. Clemmensen, M. Spon, L. Skov [et al.] // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2011. – Vol. 25. – № 9. - P. 1037–1040.
175. Robins, H. Immunosequencing: applications of immune repertoire deep sequencing / H. Robins. // *Current opinion in immunology*. – 2013. - Vol. 25. - P. 646–652.
176. Rønholt, K. Old and New Biological Therapies for Psoriasis / K. Rønholt, L. Iversen // *International Journal of Molecular Sciences*. - 2017. - Vol. 1. - №18. - P. 1-23.
177. Safety and efficacy of alefacept, efalizumab, etanercept and infliximab in treating moderate to severe plaque psoriasis: A meta-analysis of randomized controlled trials / A. K. Brimhall, L. N. King, J. C. Licciardone [et al.]. // *British journal of dermatology*. – 2008. - Vol. 159. – P. 274-285.
178. Sallusto, F. Heterogeneity of Human CD4+ T Cells Against Microbes / F. Sallusto. // *Annual review of immunology*. – 2016. - Vol. 34. - P.317– 334.
179. Secukinumab administration by pre-filled syringe: Efficacy, safety and usability results from a randomized controlled trial in psoriasis (FEATURE) / A. Blauvelt, J. C. Prinz, A. B. Gottlieb [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2015. – Vol. 172. – № 2.
180. Secukinumab improves hand, foot and nail lesions in moderate-to-severe plaque psoriasis: Subanalysis of a randomized, double-blind, placebo-controlled, regimen-finding phase 2 trial / C. Paul, K. Reich, A. B. Gottlieb [et al.] // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2014. – Vol. 28. – № 12. – P. 1670–1675.
181. Secukinumab in Plaque Psoriasis — Results of Two Phase 3 Trials / R. G. Langley, B. E. Elewski, M. Lebwohl [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2014. – Vol. 371. – № 4. - P. 326–338.
182. Secukinumab Inhibition of Interleukin-17A in Patients with Psoriatic Arthritis / P. J. Mease, I. B. McInnes, B. Kirkham [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2015. – Vol. 373. – № 14. - P.1329– 1339.

183. Secukinumab is superior to ustekinumab in clearing skin of subjects with moderate to severe plaque psoriasis: CLEAR, a randomized controlled trial / D. Thaçi, A. Blauvelt, K. Reich [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2015. – Vol. 73. – № 3. - P. 400–409.
184. Secukinumab long-term safety experience: A pooled analysis of 10 phase II and III clinical studies in patients with moderate to severe plaque psoriasis / P. C. M. Van De Kerkhof, C. E. M. Griffiths, K. Reich [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2016. – Vol. 75. – № 1. - P. 83–98.
185. Secukinumab safety and tolerability in patients with active psoriatic arthritis and psoriasis: Results from a pooled safety analysis / P. Mease, I. B. McInnes, A. B. Gottlieb [et al.] // *Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology*. – 2016. – Vol. 9. – № 5. - P.1137–1146.
186. Secukinumab treatment shows no evidence for reactivation of previous or latent TB infection in subjects with psoriasis: A pooled phase 3 safety analysis / T.F. Tsai, A. Blauvelt, Y.K. Gong [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2015. – Vol. 72. – № 5. – P. AB251.
187. Selection of conserved TCR VDJ rearrangements in chronic psoriatic plaques indicates a common antigen in psoriasis vulgaris / J. C. Prinz, S. Vollmer, W. H. Boehncke [et al.] // *European Journal of Immunology*. – 1999. – Vol. 29. – № 10. – P. 326-332.
188. Sensitivity of the GEPARD Patient Questionnaire to Identify Psoriatic Arthritis in Patients with Psoriasis in Daily Practice: The GEPARD-Life Study / P. Härle, K. Letschert, B. Wittig, U. Mrowietz // *Dermatology*. – 2017. – Vol. 232. – № 5. – P. 597-605.
189. Serum C-reactive protein levels in Japanese patients with psoriasis and psoriatic arthritis: Long-term differential effects of biologics / A. Asahina, Y. Umezawa, K. Yanaba, H. Nakagawa // *Journal of Dermatology*. – 2016. – Vol. 43 (7). – P. 779-784.
190. Serum levels of IL-17 and IL-22 are reduced by etanercept, but not by acitretin, in patients with psoriasis: A randomized-controlled trial / M. Caproni, E. Antiga, L. Melani [et al.] // *Journal of Clinical Immunology*. – 2009. – Vol.29 (2). - P.210–214.

191. Short- and long-term safety outcomes with ixekizumab from 7 clinical trials in psoriasis: Etanercept comparisons and integrated data / B. Strober, C. Leonardi, K. A. Papp [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2017. – Vol. 76. - P. 432–440.
192. Single-cell RNA sequencing of psoriatic skin identifies pathogenic Tc17 cell subsets and reveals distinctions between CD8⁺ T cells in autoimmunity and cancer / J. Liu, H. W. Chang, Z. M. Huang [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2021. – Vol. 147. – № 6. – P. 2370-2380.
193. T cell receptor (TCR) signaling in health and disease / K. Shah, A. Al-Haidari, J. Sun, J. U. Kazi. // *Signal transduction and targeted therapy*. – 2021. - Vol. 6. – P. 1-26.
194. T cells involved in psoriasis vulgaris belong to the Th1 subset / J. F. Schlaak, M. Buslau, W. Jochum [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 1994. – Vol. 102. – № 2. - P.145–149.
195. T-cell receptor sequencing specifies psoriasis as a systemic and atopic dermatitis as a skin-focused, allergen-driven disease / L. M. Roesner, A. K. Farag, R. Pospich [et al.] // *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2022. – Vol. 77. – № 9. – P. 2737-2747.
196. Th17 and non-classic Th1 cells in chronic inflammatory disorders: Two sides of the same coin. / L. Cosmi, F. Liotta, E. Maggi [et al.]. // *International archives of allergy and immunology*. – 2014. – Vol. 164. – P. 171-177.
197. Th17 cells and IL-17 receptor signaling are essential for mucosal host defense against oral candidiasis / H. R. Conti, F. Shen, N. Nayyar [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. – 2009. – Vol. 206. – № 2. - P.299–311.
198. Th17 Cells Carrying TCR Recognizing Epidermal Autoantigen Induce Psoriasis-like Skin Inflammation / S. Nishimoto, H. Kotani, S. Tsuruta [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2013. – Vol. 191. – № 6. - P. 3065–3072.
199. Th17 cytokines interleukin (IL)-17 and IL-22 modulate distinct inflammatory and keratinocyte-response pathways / K. E. Nogales, L. C. Zaba, E. Guttman-Yassky [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2008. – Vol. 159. – № 5. - P.1092–1102.

200. The developmental pathway for CD103⁺ CD8⁺ tissue-resident memory T cells of skin / L. K. MacKay, A. Rahimpour, J. Z. Ma [et al.] // *Nature Immunology*. – 2013. – Vol. 14. – № 12. – P.1294–1301.
201. The emerging role of IL-17 in the pathogenesis of psoriasis: Preclinical and clinical findings / D. A. Martin, J. E. Towne, G. Kricorian [et al.]. // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2013. – Vol. 133. – P.17–26.
202. The IL-17/IL-23 Axis and Its Genetic Contribution to Psoriatic Arthritis. / M. Vecellio, V. X. Hake, C. Davidson [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2021. – Vol. 11. – P. 1-10.
203. The immunoregulatory effects of natural products on psoriasis via its action on Th17 cells versus regulatory T cells balance / L. Zhong, N. Luo, X. Zhong [et al.] // *International Immunopharmacology*. – 2022. – Vol. 110. – P. 1-9.
204. The Role of Helper T Cells in Psoriasis / P. Hu, M. Wang, H. Gao [et al.]. // *Frontiers in immunology*. – 2021. – Vol. 12. – P. 1-10.
205. The role of Th17 cells in psoriasis / B. Li, L. Huang, P. Lv [et al.]. // *Immunologic research*. – 2020. – Vol. 68. – P. 296-309.
206. TNF- α in a molecularly targeted therapy of psoriasis and psoriatic arthritis. Vol. 92 / D. Wcisło-Dziadecka, M. Zbiciak-Nylec, L. Brzezińska-Wcisło, U. Mazurek. – 2016.
207. Two types of human TCR differentially regulate reactivity to self and non-self antigens / A. Trofimov, P. Brouillard, J. D. Larouche [et al.] // *iScience*. – 2022. – Vol. 25. – № 9. – P. 1-23.
208. U.S. Food and Drug Administration. FDA Approves New Psoriasis Drug Taltz, 2017, США: база данных. Данные в формате PDF. URL: <http://www.webcitation.org/6rGDjK5VG> (дата обращения: 16.06.2017). Режим доступа: для зарегистрир. Пользователей.
209. U.S. Food and Drug Administration. FDA Statement on the Voluntary Withdrawal of Raptiva from the U.S. Market , 2017, США: база данных. Данные в формате PDF. URL: <http://www.webcitation.org/6rGBTfcbt> (дата обращения: 16.06.2017). Режим доступа: для зарегистрир. пользователей.

210. Vollmer, S. Dominant lesional T cell receptor rearrangements persist in relapsing psoriasis but are absent from nonlesional skin / S. Vollmer, A. Menssen, J. C. Prinz // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2001. – Vol. 117. – № 5. - P. 1296–1301.
211. Wrone-Smith, T. Dermal injection of immunocytes induces psoriasis / T. Wrone-Smith, B. J. Nickoloff // *Journal of Clinical Investigation*. – 1996. – Vol. 98. – № 8. – P. 1878-1887.
212. Yamanaka, K. Pathophysiology of psoriasis: A review / K. Yamanaka, O. Yamamoto, T. Honda. // *The Journal of dermatology*. – 2021. - Vol. 48. – P. 722-731.
213. Yeh, W. I. IFN γ inhibits Th17 differentiation and function via Tbet-dependent and Tbet-independent mechanisms / W. I. Yeh, I. L. McWilliams, L. E. Harrington // *Journal of Neuroimmunology*. – 2014. – Vol. 267. – № 1-2. - P. 20–27.
214. Yiu, Z. Z. N. Novel Oral Therapies for Psoriasis and Psoriatic Arthritis. Vol. 17 / Z. Z. N. Yiu, R. B. Warren. – 2016. – P. 191-200.