

На правах рукописи



Гудова Владислава Валерьевна

**Клинико-иммунологическое обоснование применения аутологических регуляторных
Т-клеток при вульгарном псориазе**

3.1.23. Дерматовенерология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук, профессор

Олисова Ольга Юрьевна

Официальные оппоненты:

Корсунская Ирина Марковна – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» Российской академии наук, лаборатория физико-химических и генетических проблем дерматологии, заведующая лабораторией

Матушевская Елена Владиславовна – доктор медицинских наук, профессор, Академия постдипломного образования Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», кафедра дерматовенерологии и косметологии, профессор кафедры

Ведущая организация:

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского»

Защита состоится «20» марта 2023 г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.17 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119435, г. Москва, ул. Большая Пироговская, д. 19

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1) и на сайте организации <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент

Чебышева Светлана Николаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Псориаз – один из наиболее распространенных дерматозов, которым, по данным разных авторов, страдает от 3% до 6% населения Земли (Кубанова А.А. и соавт., 2017; Augustin M. et al. 2010). Несмотря на большое количество научно-исследовательских работ, посвященных этому заболеванию, причина возникновения псориаза остается до конца не изученной; его рассматривают как хроническое воспалительное генетически детерминированное заболевание мультифакторной природы с участием врожденного и адаптивного иммунитета, а также средовых факторов (Кочергин Н.Г., Смирнова Л.М., 2011; Бакулев А.Л., 2016; James W.D., 2015; Mahil S.K., 2015). При псориазе процесс не ограничивается поражением только лишь кожи, вовлекаются ногти, суставы и другие органы.

Помимо высоких показателей распространенности заболевания, в том числе и среди молодого трудоспособного населения, обращает на себя внимание и коморбидность при псориазе, способствующая приросту случаев тяжелого течения псориаза (Olisova O.Yu., Garanyan L.G., 2019). Сердечно-сосудистые заболевания, метаболический синдром, сахарный диабет, депрессии и другие коморбидные состояния значительно укорачивают продолжительность жизни больных псориазом по сравнению с общей популяцией (Salihbegovic E.M. et al., 2015). Наличие коморбидного состояния не только утяжеляет течение псориаза, но и затрудняет подбор терапии с учетом возможных побочных эффектов (Донцова Е.В., 2019).

Еще одним важным аспектом изучения является значительное ухудшение качества жизни больных псориазом. Пациенты часто воспринимают свое заболевание как некую стигматизацию, особенно в тех случаях, когда высыпания локализованы на открытых участках тела. Обильные кожные высыпания, зачастую сопровождающиеся зудом, являются источником постоянного стресса. Все это порой влияет не только на качество жизни пациентов, но зачастую и на финансовое благополучие и социальный статус больных. В ходе одного из исследований была продемонстрирована корреляция между тяжестью клинической картины псориаза и качеством жизни (Нawго T. et al., 2014).

Среди пациентов, страдающих псориазом велик риск появления психических расстройств (отмечаются в 30% случаев) (Chamoun A. et al., 2015), проявляющихся депрессией, тревогой, появлением суицидальных мыслей. Кроме того, было показано, что наличие псориаза способствуют появлению аутоагрессивных тенденций в поведении пациентов, в частности, суицидальных попыток (завершенных и незавершенных) (Singh S. et al., 2019). Таким образом, псориаз является серьезной медико-социальной проблемой современного общества.

Степень разработанности темы исследования

В последние годы большое внимание уделяется изучению роли Т-регуляторных клеток (Трег-клеток, Трег) в развитии псориаза, которые играют ключевую роль в патогенезе этого заболевания. По имеющимся данным, интерлейкин-6, необходимый для дифференцировки клеток, ингибирует активацию и пролиферацию Th17 и способствует нормализации баланса между Трег и Th17 (Deng Y. et al., 2016). Harden J.L. et al. (2015) и Baliwag J. (2015) считают, что псориаз характеризуется дисрегуляцией иммунотолерантности и последующей гиперпролиферацией кератиноцитов. Установлено, что для аутоиммунных заболеваний характерно снижение уровня Трег-клеток, отвечающих за иммунотолерантность. Karamehic J. et al. (2014) продемонстрировали снижение уровня CD4+CD25+Трег в крови пациентов с псориазом, по сравнению с контрольной группой, однако это не коррелировало с тяжестью течения заболевания с учетом индекса PASI. В схожем исследовании Pawlaczyk M. et al. (2010) продемонстрировали статистически значимое снижение уровня Трег при помощи проточной цитометрии у больных псориазом со значением PASI > 12.

Следует отметить, что данные в научных источниках по этому вопросу разнятся. Так, например, Saito C. et al. (2009) и Furuhashi T. et al. (2013) не выявили разницы в процентном соотношении уровня Трег-клеток в крови больных псориазом и здоровых людей. В то же время Zhang J. et al. (2016) и Хайрутдинов В.Р. с соавт. (2011) установили даже более высокий уровень Трег-клеток у пациентов в периферической крови во время обострения псориаза по сравнению с контрольной группой.

На примере таких аутоиммунных заболеваний, как системная красная волчанка, диабет 1-го типа, реакция трансплантат-против хозяина после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, рассеянный склероз была продемонстрирована эффективность применения культивированных аутологичных Трег-клеток. При этом было получено достоверное увеличение количества Трег-клеток в периферической крови этих больных, которое коррелировало с улучшением клинических показателей и не вызывало побочных реакций у больных. Созданная вакцина на основе Трег-клеток, выделенных из периферической крови пациентов с этими аутоиммунными заболеваниями, продемонстрировала высокую эффективность, что находило отражение в улучшении клинической картины и увеличении продолжительности периода ремиссии.

Все вышеизложенное определило актуальность изучения значимости количественного показателя уровня Т-регуляторных клеток для изучения патогенеза вульгарного псориаза с целью совершенствования имеющихся диагностических и терапевтических подходов.

Цель исследования

Обосновать возможность применения Т-регуляторных клеток как маркеров для терапевтических и прогностических оценок при персонифицированном лечении вульгарного псориаза на основе изучения их уровней в зависимости от клинико-anamnestических особенностей больных.

Задачи исследования

1. Изучить клинико-anamnestическую характеристику больных вульгарным псориазом с оценкой уровня Трег-клеток в периферической крови пациентов в сравнении со здоровыми донорами.
2. Оценить уровни Трег-клеток у больных вульгарным псориазом в зависимости от стадии кожного процесса, тяжести клинической картины и давности заболевания.
3. Оценить терапевтическую эффективность УФБ-терапии 311нм у больных вульгарным псориазом по уровню прироста Трег-клеток в периферической крови.
4. Изучить уровень Трег-клеток в периферической крови больных псориазом в отдаленные сроки после УФБ-терапии 311нм.
5. Разработать клинико-иммунологическое обоснование применению аутологичных регуляторных CD4+CD25+FOXP3+ Т-клеток для персонифицированного лечения больных вульгарным псориазом.

Научная новизна

1. Впервые изучена и выявлена прямая взаимосвязь между уровнем циркулирующих регуляторных Т-клеток и стадийностью вульгарного псориаза у больных, вошедших в исследование.
2. Впервые изучена и выявлена обратная взаимосвязь между уровнем циркулирующих Т-регуляторных клеток и тяжестью клинических проявлений вульгарного псориаза у включенных в исследование больных.
3. Впервые установлена зависимость между уровнем циркулирующих Т-регуляторных клеток и давностью заболевания псориазом у наблюдаемых больных.
4. Впервые показано, что путем определения динамики изменения уровня Трег-клеток можно оценить эффективность терапии вульгарного псориаза на примере УФБ-терапии 311 нм и спрогнозировать продолжительность ремиссии.
5. Впервые предложена и клинико-иммунологически обоснована методика применения аутологичных регуляторных Т-клеток для персонифицированного лечения больных вульгарным псориазом.

Теоретическая и практическая значимость исследования

1. Определение уровня регуляторных Т-клеток в периферической крови пациентов с вульгарным псориазом для общей оценки стадийности заболевания и тяжести клинической картины помогает

осуществить подбор адекватной терапии, так как уровень регуляторных Т-клеток объективизирует клиническую оценку стадийности и тяжести и делает более точным и персонафицированным выбор терапии, в том числе и возможное терапевтическое применение их самих.

2. Измерение уровня регуляторных Т-клеток можно использовать в качестве маркера эффективности терапии вульгарного псориаза для каждого пациента и спрогнозировать продолжительность наступившей ремиссии.

Методология и методы исследования

При выполнении диссертационной работы учитывались принципы доказательной медицины. В ходе исследования применялись как клинические, так и лабораторные методы. Объектом изучения стали 60 больных вульгарным псориазом и 42 здоровых донора, в качестве контрольной группы. У всех участников исследования определяли уровень регуляторных Т-клеток при помощи метода проточной цитометрии. В дальнейшем проводилось сопоставление уровня Трег с тяжестью клинической картины больных псориазом, продолжительностью заболевания, а также стадией течения заболевания. Дополнительно было изучено изменение уровня Трег у 12 пациентов до и после курса фототерапии УФБ-311 нм, состоящего из 15–20 процедур. На протяжении последующих двух лет после завершения курса фототерапии за пациентами проводилось наблюдение с установлением продолжительности ремиссии.

При проведении исследования использовалось современное лабораторное оборудование. Все вычисления проводились с применением современных методов статистической обработки данных. Результаты лабораторных исследований наглядно демонстрируют достоверность проведенного исследования.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Уровень Т-регуляторных клеток в периферической крови пациентов с вульгарным псориазом при каждом обострении нарастает по мере перехода из прогрессирующей стадии в стационарную и регрессирующую.
2. Чем ниже уровень CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺CD127^{low} Т-клеток в крови больных вульгарным псориазом, тем тяжелее клиническая картина и продолжительней давность заболевания.
3. На примере УФБ-терапии 311 нм показано, что чем больше прирост уровня Т-регуляторных клеток после лечения, тем продолжительнее будет ремиссия.
4. Полученные результаты оценок уровней Т-регуляторных клеток у больных вульгарным псориазом в разных стадиях заболевания, при разной тяжести клинических проявлений и результатах терапии являются основанием для разработки персонафицированных терапевтических подходов на основе аутологичных Т-регуляторных клеток.

Степень достоверности и апробация полученных результатов

Достоверность проведенного исследования определяется данными подтверждаются точностью регистрации первичной документации, в которой полностью отражен объем анамнестических, клинических, лабораторных, инструментальных исследований, проведена статистическая обработка данных.

Материалы диссертации доложены и обсуждены на Научно-практической конференции кафедры и клиники кожных и венерических болезней Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Москва, февраль 2017 г.); Международной научно-практической конференции «Инновации в науке и практике» (Барнаул, апрель 2018 г.); Научно-практической конференции «Актуальные вопросы дерматовенерологии, дерматоонкологии и косметологии» (Москва, май 2018 г.).

Апробация диссертационной работы проведена на заседании кафедры 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) (протокол №6 от 8 ноября 2022 года).

Внедрение результатов исследования

Работа выполнена на кафедре и в клинике 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). Результаты исследования внедрены в научную, учебную и лечебную деятельность кафедры 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).

Личный вклад автора

Автор подготовил обзор отечественных и зарубежных источников литературы по теме исследования, сформулировал цель и задачи диссертационной работы. Автор принимал участие в выборе направления исследования, анализе и обобщении полученных результатов. Автором составлена компьютерная база данных пациентов, проведена аналитическая и статистическая обработки, даны и обобщены полученные результаты, сформулированы выводы и даны практические рекомендации.

Автор непосредственно принимал участие на всех этапах исследования: от постановки задач, их практической и клинико-лабораторной реализации до обсуждения результатов в научных публикациях и докладах и их внедрения в практику.

Публикации

По результатам исследования автором опубликовано 7 печатных 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; статьи в иных изданиях – 2; публикации в сборниках материалов международных научных конференций – 2.

Соответствие диссертации паспорту научных специальностей

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.1.23. Дерматовенерология, отрасли наук: медицинские науки, а также областям исследования согласно пунктам 2, 3 и 5 паспорта научной специальности.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 99 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, который включает 217 источников, в том числе 87 отечественных и 130 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 2 таблицами и 24 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена на базе кафедры 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 отдела клеточных технологий и регенеративной медицины ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России в период с 2017 по 2019 гг.

Общая характеристика больных вульгарным псориазом

В исследование были включены 60 пациентов с диагнозом «Вульгарный псориаз» (женщин – 35 (58,3%), мужчин – 25 (41,7%) в возрасте 18–55 лет (средний возраст 36,0±9,6 лет), наблюдавшихся в Клинике кожных и венерических болезней имени В.А. Рахманова Университетской клинической больницы № 2 ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Обследование пациентов, согласно Российским клиническим рекомендациям по диагностике и терапии псориаза (2015), заключалось в изучении:

- 1) жалоб (зуд, жжение, сухость кожных покровов, шелушение);
- 2) анамнеза (возраст, пол, длительность заболевания, предшествующая терапия и ее эффективность, наследственный анамнез);

3) клинической картины с определением стадии заболевания (прогрессирующая, стационарная, регрессирующая), сезонности обострений (осенне-зимняя, летняя, смешанная форма) и степени тяжести (легкая, средняя, тяжелая);

4) результатов лабораторных методов исследования (общий и биохимический анализ крови, общий анализ мочи, ИФА крови на ВИЧ-инфекцию, HBsAg, HCV, сифилис).

При установлении продолжительности заболевания отсчет производился с момента появления первых симптомов вульгарного псориаза (ВП).

С целью исключения сопутствующей патологии пациенты были консультированы терапевтом, эндокринологом; по показаниям им были назначены инструментальные методы диагностики (УЗИ органов брюшной полости, щитовидной железы, почек, органов малого таза, ЭКГ, ФГ органов грудной клетки). Особое внимание уделяли наличию коморбидных заболеваний (сердечно-сосудистая патология, сахарный диабет, нарушение толерантности к глюкозе, метаболический синдром).

Критериями включения пациентов в настоящее исследование являлись:

- 1) возраст от 18 до 55 лет;
- 2) пол: мужской и женский;
- 3) диагноз: вульгарный псориаз;
- 4) наличие письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании.

Критерии невключения:

- 1) активные системные бактериальные, вирусные или грибковые инфекции; СПИД, гепатит В, гепатит С или положительные результаты тестов на антитела к ВИЧ, поверхностный антиген вируса гепатита В и антитела к вирусу гепатита С;
- 2) лечение системными кортикостероидами, синтетическими ретиноидами в течение 1 месяца до исходного уровня;
- 3) лечение иммуносупрессивными препаратами (метотрексат, циклоспорин А) и иммуноглобулинами и/или моноклональными антителами в анамнезе;
- 4) наличие какого-либо аутоиммунного заболевания;
- 5) псориазическая эритродермия, псориазический артрит, псориазическая ониходистрофия;
- 6) злокачественные новообразования;
- 7) уровень печеночных ферментов в 2,5 раза и выше верхней границы нормы;
- 8) тяжелые или острые сердечно-сосудистые и легочные заболевания;
- 9) почечная недостаточность (клиренс креатинина $[eGFR] < 60 \text{ mL}/\text{min}/1.73 \text{ m}^2$);
- 10) туберкулез;
- 11) неконтролируемый сахарный диабет (уровень гликемии более 8,5 ммоль/л);
- 12) выраженная депрессия или попытки суицида;

13) беременные или лактирующие женщины.

Пациенты были исключены из исследования при изъявлении желания прекратить участие в нем, а также при несоблюдении режима, назначенной схемы обследования и лечения.

Оценка степени тяжести кожного процесса

Для оценки распространенности и степени выраженности кожных проявлений использовали индекса PASI (Psoriasis Area Severity Index).

При определении PASI учитывается выраженность поражения кожи отдельно в каждой из анатомических областей тела — головы, верхних конечностей, туловища, нижних конечностей, так что общее значение PASI представляет собой сумму PASI этих четырех областей кожного покрова. Степень выраженности псориазных изменений: эритемы, инфильтрации, шелушения — оценивается по шкале от 0 до 4, где 0 — отсутствие изменений, 1 — незначительно выраженные, 2 — умеренно выраженные, 3 — выраженные, 4 — очень выраженные изменения. Минимальное значение PASI составляет 0, максимальное — 72. псориаз считается легким, если значение PASI составляет менее 10, средней степени тяжести — при значении PASI от 10 до 20 и тяжелым при значении PASI более 20.

Лабораторные методы исследования

Исследование крови 60 больных ВП до лечения проводилось с использованием метода проточной цитометрии на базе отдела клеточных технологий и регенеративной медицины ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России.

В контрольную группу вошли 42 здоровых донора, соответствующих больным ВП по возрастному и половому составу.

Для проведения данного метода периферическую кровь (5–10 мл) больных ВП и здоровых доноров набирали в пробирки с антикоагулянтом КЗЭДТА. Для оценки количества клеток CD4+CD25+Foxp3CD127^{low}T-клеток, клеточную суспензию окрашивали с использованием набора реагентов для иммунофенотипирования 7-Color Immunophenotyping Kit, human компании Miltenyi Biotec, Германия. Цитометрический анализ T-регуляторных лимфоцитов CD4+CD25+Foxp3+CD127^{low} проводили на проточном цитометре MACSQuant (Miltenyi Biotec, Германия). Результатом анализа является процентное содержание позитивных по специфическим маркерам клеток субпопуляции T-лимфоцитов.

Также при помощи изучения уровня Treg в периферической крови нами была определена оценка эффективности фототерапии у больных ВП. Для этого было проведено сравнение показателя численности Treg в периферической крови до и после проведенного курса УФБ 311 нм, состоящего из 15–20 процедур, у 20 пациентов в прогрессирующей и стационарной стадии ВП. На основании полученных результатов проводился анализ прироста субпопуляции исследуемых T-лимфоцитов.

Методы лечения больных вульгарным псориазом, вошедших в исследование

Пациентам с легкой степенью тяжести амбулаторно назначалась топическая терапия (кортикостероидные кремы, аналоги витамина Д).

После взятия крови для определения уровня Т-регуляторных клеток в периферической крови больным со средней и тяжелой степенью была назначена топическая и системная терапия: инъекции метотрексата (n=10; 16,7%), ПУВА-терапия (n=13; 21,7%), ПУВА+неотигазон (Ре-ПУВА) (n=7; 11,7%), УФБ-311 нм (n=20; 33,3%).

Метотрексат пациенты получали в дозе 25 мг/нед внутримышечно в комбинации с фолиевой кислотой в дозе 10 мг (по 1 таблетке 2 раза в день), кроме дней инъекций метотрексата. Неотигазон назначался в зависимости от массы тела (0,3–0,5 мг на кг) 20–25 мг один раз в сутки в комбинации с ПУВА-терапией. После выписки больные ВП продолжили терапию метотрексатом и неотигазоном по определенной схеме.

Проводился мониторинг клинического и биохимического анализа крови до лечения и в дальнейшем каждые 2 недели.

Методика проведения УФБ 311 нм и ПУВА-терапии

Процедуры проводились в кабине для общего облучения («Waldmann UV7002», Germany) с люминисцентными лампами (Phillips TL 100w\10R), позволяющей выполнять как УФБ-терапию 311 нм, так и ПУВА-терапию.

Фототерапию УФБ-лучами 311 нм больным вульгарным псориазом проводили 4 раза в неделю (понедельник, вторник, четверг, пятница). Для определения начальных доз облучения устанавливали тип кожи по проф. Владимирову В.В.: I – покраснение на ультрафиолетовое облучение без последующего загара; II – покраснение и загар; III – загар без предварительного покраснения. Больных с первым типом на фототерапию не брали. У больных со II типом начальная доза составляла 0,1 Дж/см², с III типом – 0,2 Дж/см².

С каждой последующей процедурой разовую дозу увеличивали на 0,1 Дж/см² с целью снижения риска побочных реакций и сохранения эффективности лечения. Отмечалась легкая эритема через 5—8 ч после процедуры, которая самостоятельно разрешалась на протяжении суток. В случае достижения клинического эффекта (высыпания бледнели и уплощались) дозу излучения оставляли без изменений вплоть до окончания курса терапии. В случае пропуска сеанса фототерапии разовую дозу оставляли на том же уровне, что и на предыдущей процедуре. При развитии фотодерматита проведение сеансов прекращали до разрешения эритемы; возобновляли – со сниженной на 0,1 Дж/см² дозы излучения.

Фотохимиотерапию (ПУВА-терапия) проводили по методике 4-разового облучения в неделю. В качестве фотосенсибилизатора для ПУВА-терапии использовали 8-метоксипсорален из расчета 1 мг/кг за 2 часа до процедуры. Лечение начинали с дозы УФА 0,5–1 Дж/см² и

повышали разовую дозу облучения на 1 Дж/см² каждые 2 процедуры.

При комбинации ПУВА-терапии и неотигозона проводили Ре-ПУВА по той же методике 4-разового облучения в неделю.

До проведения фототерапии пациенты были тщательно обследованы для исключения возможных противопоказаний: злокачественные новообразования кожи и/или внутренних органов в анамнезе или в момент обследования, заболевания, связанные с повышенной чувствительностью к действию света, катаракта, декомпенсированный сахарный диабет, узловые образования молочной, щитовидной, предстательной железы, матки, гемобластозы, декомпенсированные заболевания сердечно-сосудистой системы, печени и почек, беременность, период лактации.

Оценка эффективности УФБ 311 нм

Клиническая эффективность курса фототерапии 311 нм также оценивалась с помощью индекса PASI, а именно по величине снижения значения PASI в процентах, которая рассчитывалась по формуле:

$$\frac{\text{PASI до лечения} - \text{PASI после лечения}}{\text{PASI до лечения}} \times 100\%$$

Редукция показателя PASI интерпретировалась следующим образом (Marks R. et al., 1989; Carlin C.S. et al., 2004):

- 1) PASI 100–90 – полная или частичная клиническая ремиссия;
- 2) PASI 89–75 – значительное улучшение;
- 3) PASI 74–50 – незначительное улучшение;
- 4) PASI < 49 – без эффекта.

Для оценки клинического результата были сделаны фотографии пациентов с ВП до и после проведенной терапии. Также проводилось проспективное наблюдение за больными ВП на протяжении 2 лет (104 недели) после терапии.

Кроме того, эффективность курса фототерапии УФБ 311 нм оценивалась на основании изменения численного показателя уровня Трег-клеток периферической крови.

Метод статистической обработки данных

Статистический анализ полученных данных проводился на компьютере с использованием стандартных программ Microsoft Excel и Statsoft Statistica 8.0.

Для количественных данных рассчитывались средние значения (M), стандартные отклонения (M±σ), медиана и квартили: нижний – LQ25 и верхний – UQ75. Взаимосвязь двух признаков анализировалась при помощи корреляционного анализа по Спирмену, с вычислением коэффициента корреляции r.

Для сравнения количественных переменных при нормальном распределении признака применяли t-критерий Стьюдента, а в случае отличия распределения от нормального – T-критерий Уилкоксона. Для сравнения качественных переменных применяли точный критерий Фишера.

Порог статистической значимости (p) был установлен на уровне 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинико-anamnestическая характеристика больных вульгарным псориазом

Под нашим наблюдением с 2017 по 2019 год находилось 60 пациентов с ВП, из них 35 (58,3%) женщин и 25 (41,7%) мужчин в возрасте от 18 до 55 лет (средний возраст $36,0 \pm 9,6$). Соотношение женщин и мужчин составило 1,4:1.

В контрольную группу вошли 42 здоровых донора, соответствующих больным по возрастному и половому составу. Среди здоровых лиц также преобладали женщины – 1,3:1, возраст находился в пределах от 18 до 55 лет и в среднем составил $35,3 \pm 8,5$ лет.

В ходе сбора семейного анамнеза было установлено, что у 22/60 (37%) больных псориаз был диагностирован у одного из родственников.

При опросе 25 (41,7%) пациентов не смогли связать начало заболевания с каким-либо провоцирующим фактором. Среди оставшихся 35 (58,3%) пациентов наиболее частым триггером являлся стресс ($n=23$; 38,3%). Также были отмечены такие провоцирующие факторы, как инфекции ($n=6$; 10%), обострение имевшихся хронических заболевания ($n=4$; 6,7%), эпизодическое злоупотребление алкоголем ($n=2$; 3,3%).

Наличие коморбидных состояний утяжеляло течение ВП у 20 (33,3%) исследуемых больных. Было отмечено наличие:

- 1) ожирения I и II степени ($n=7$; 11,7% и $n=5$; 8,3% соответственно),
- 2) артериальной гипертензии I–II степени ($n=10$; 16,7% и $n=6$; 10%),
- 3) нарушения толерантности к глюкозе ($n=7$; 11,7%),
- 4) компенсированного сахарного диабета II типа ($n=5$; 8,3%),
- 5) метаболического синдрома ($n=12$; 20%).

Среди сопутствующих заболеваний у больных ВП были диагностированы: заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) (хронический гастрит, хронический панкреатит, дискинезия желчевыводящих путей (ДЖВП) ($n=25$; 41,7%), очаги хронической инфекции в ротовой полости (кариес, пародонтоз) ($n=19$; 31,7%), заболевания органов зрения (миопия, гиперметропия) ($n=18$; 30%), Лор-патология (хронический тонзиллит, гайморит) ($n=7$; 11,7%), заболевания мочеполовой системы (эрозия шейки матки, хронический простатит) ($n=5$; 8,3%).

Кожный процесс носил ограниченный (n=10; 16,7%) или распространенный (n=50; 83,3%) характер в виде инфильтрированных бляшек (n=38; 63,3%), папул и бляшек (n=22; 36,7%), выраженного средне- и крупнопластинчатого шелушения с вовлечением кожи туловища (n=49; 81,7%), конечностей (n=46; 76,6%), волосистой части головы и лица (n=25; 41,7%) и ладоней (n=8; 13,3%).

В соответствии с поставленными задачами, больные ВП были разделены на группы по трем клинико-anamнестическим параметрам: стадиям, степени тяжести и длительности заболевания. У 28 (46,7%) из 60 больных была выявлена прогрессирующая, у 19 (31,7%) – стационарная, у 13 (21,7%) – регрессирующая стадия ВП (Рисунок 1).

С учетом сезонности обострений пациенты были разделены на три группы: у 41 (51,7%) пациента отмечалась зимняя форма, у 8 (13,3%) – летняя, у 11 (35%) – смешанная (Рисунок 2).

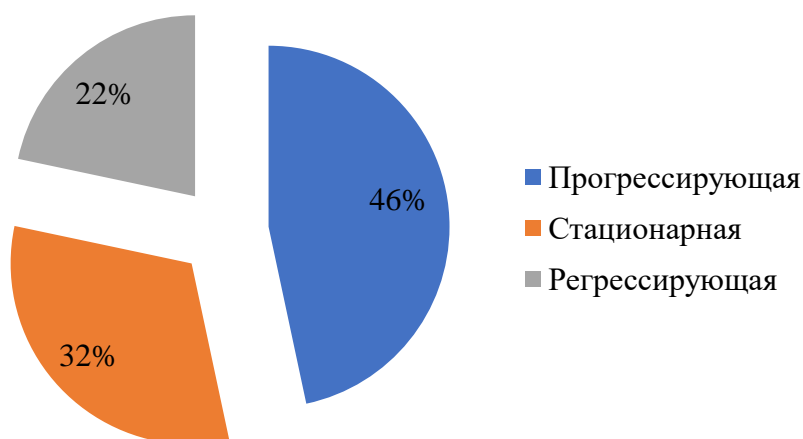


Рисунок 1 – Распределение больных вульгарным псориазом по стадиям

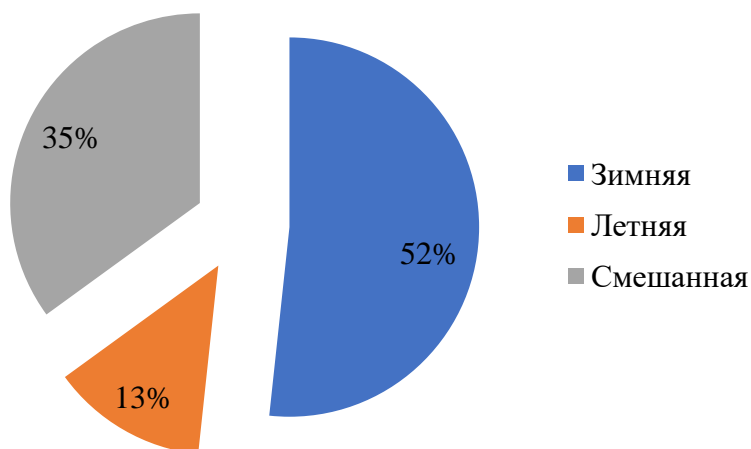


Рисунок 2 – Распределение больных с учетом сезонности обострений

Давность заболевания у исследуемых пациентов варьировала от 4 до 396 месяцев (в среднем составила $127 \pm 86,85$ месяцев). Таким образом, были сформированы две группы больных по длительности течения ВП. Первую группу составили 42 (70%) больных, страдающих ВП менее 20 лет (240 месяцев), вторую – 18 (30%) больных, страдающих ВП 20 лет и более (Рисунок 3).

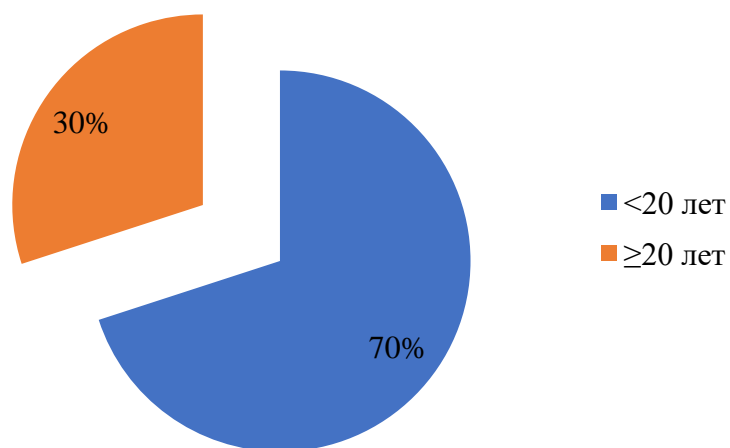


Рисунок 3 – Распределение больных вульгарным псориазом по продолжительности заболевания

Для каждого пациента с ВП был рассчитан индекс PASI (в среднем – $18,1 \pm 4,41$), с помощью которого в дальнейшем участники исследования были разделены на три группы по степени тяжести кожного процесса. У 10 (16,7%) больных индекс PASI составил $7,57 \pm 2,32$, что соответствовало лёгкой степени тяжести; у 22 (36,7%) пациентов индекс был равен $16,42 \pm 2,73$, что свидетельствовало средней степени тяжести; у 28 (46,7%) больного он составлял $27,41 \pm 6,11$, что указывало на тяжелое течение ВП (Рисунок 4).

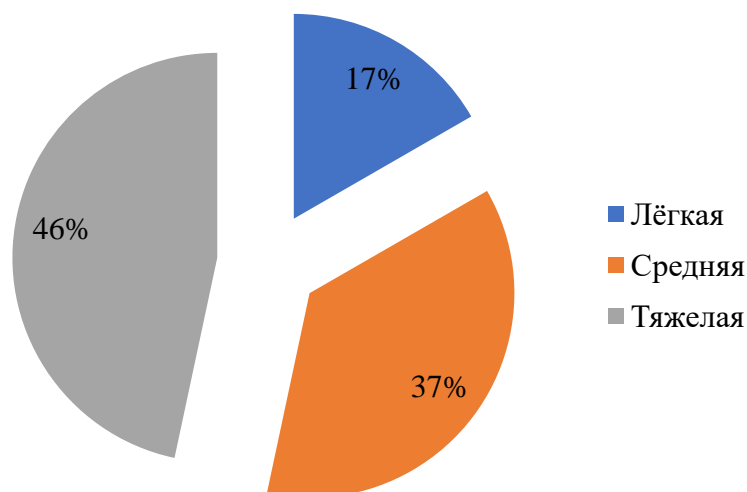


Рисунок 4 – Распределение больных вульгарным псориазом по степени тяжести

Был проведен анализ предшествовавшего лечения исследуемых пациентов на протяжении всего периода заболевания. Среди наружных методов лечения всем пациентам (n=60; 100%) назначались ГКС, в том числе и комбинированные препараты, содержащие кератолитические компоненты, а также аналоги витамина D₃ (кальцитриол). Большинство больных (n=52; 74,3%) на момент участия в исследовании уже имели опыт применения фототерапии в виде курсов УФБ-311нм и ПУВА-терапии. Стоит отметить, что при наличии более тяжелого кожного процесса с инфильтрированными толстыми бляшками, выраженным шелушением предпочтение отдавалось ПУВА-терапии. У нескольких (n=4; 6,7%) пациентов с тяжелым течением ВП был опыт лечения с помощью синтетических ретиноидов (неотигазона), однако последнее применение их датировалась более чем за год до начала участия в исследовании. Пациенты, когда-либо получавшие метотрексат, циклоспорин А или биологические препараты, в исследование не включались. Только лишь после взятия крови для определения уровня Т-регуляторных клеток в периферической крови пациентам со средним и тяжелым течением ВП была назначена системная и/или фототерапия: инъекции метотрексата (n=10; 16,7%), ПУВА-терапия (n=13; 21,7%), ПУВА+неотигазон (Ре-ПУВА) (n=7; 11,7%), УФБ-311 нм (n=20; 33,3%).

Оценка уровня CD4+CD25+Foxp3CD127^{low}T-клеток (Трег) в периферической крови больных вульгарным псориазом

Следующим этапом нашей работы явилось определение субпопуляции регуляторных CD4+CD25+Foxp3CD127^{low}T-клеток, характерными маркерами которых являются постоянная экспрессия на мембране клетки альфа-цепи рецептора IL-2 - CD25+ и экспрессия продукта гена Foxp3, который кодирует дифференцировку и функциональную активность этих клеток.

У пациентов с ВП относительное количество Трег в периферической крови составило $2,84 \pm 1,00\%$, в то время как у здоровых доноров – $4,02 \pm 0,73\%$. При сопоставлении уровня Трег у больных ВП на разных стадиях отмечалось, что минимальное количество указанной субпопуляции Т-лимфоцитов отмечается в прогрессирующей стадии ($2,59 \pm 0,68\%$), затем начинает нарастать в стационарной ($2,82 \pm 1,55\%$) и значительно повышается к моменту наступления регрессирующей стадии ($3,68 \pm 1,62\%$) ($p < 0,05$). Таким образом, в результате проведенного исследования было выявлено, что у пациентов с ВП уровень Трег в периферической крови ниже, чем у здоровых доноров. Изменение уровня Трег на разных стадиях ВП отражено на Рисунке 5.

Кроме того, нами была изучена зависимость уровня Трег в периферической крови больных ВП от тяжести течения заболевания, исходя из индекса PASI. В результате была выявлена обратная корреляция ($r = -0,39$) между уровнем Трег и индексом PASI (Рисунок 6).

Таким образом, было установлено, что чем ниже уровень регуляторных клеток, тем тяжелее протекает заболевание.

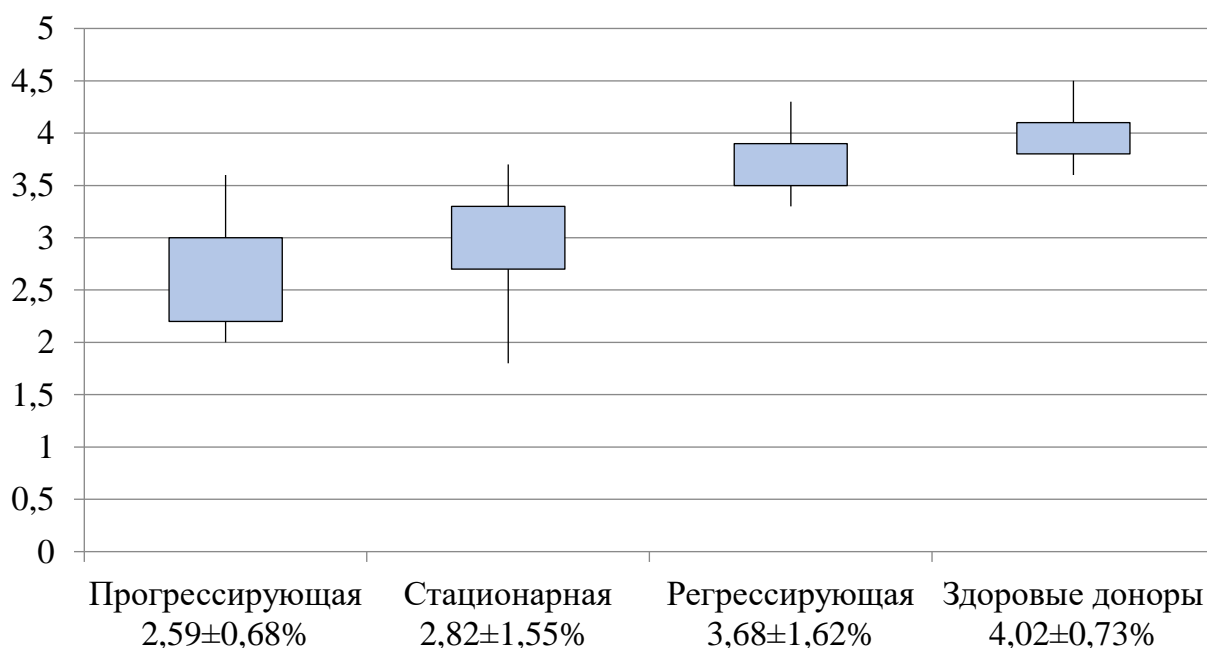


Рисунок 5 – Изменение уровня Трег на разных стадиях вульгарного псориаза и у здоровых доноров

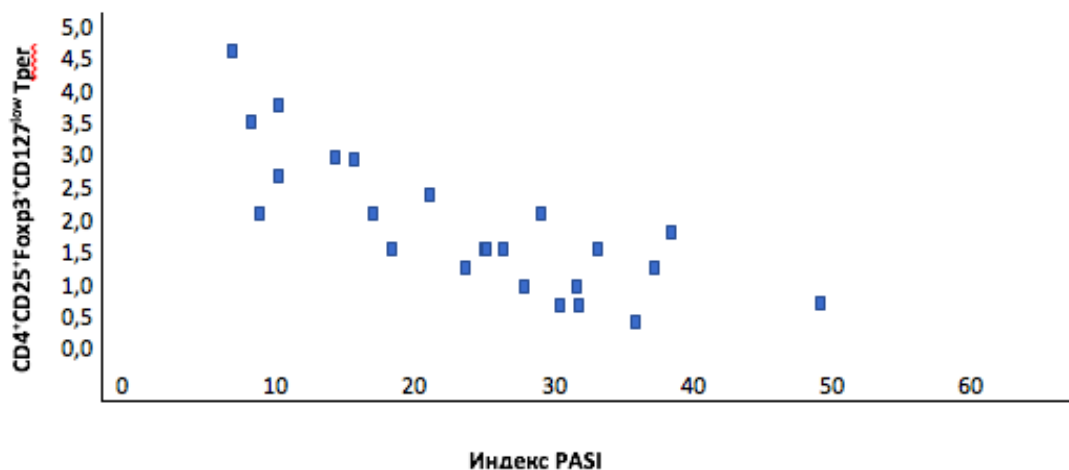


Рисунок 6 – Корреляция уровня CD4+CD25+FOXP3+CD127low Treg с тяжестью течения вульгарного псориаза

Нами также был изучен уровень исследуемой субпопуляции Т-клеток у пациентов с ВП в зависимости от длительности заболевания. Пациенты были разделены на две группы: к первой группе относились страдающие ВП менее 20 лет; ко второй – 20 лет и более. Было обнаружено, что в группе с меньшей продолжительностью заболевания уровень Трег выше, чем у больных с длительно протекающим ВП ($3,42 \pm 1,11\%$ и $2,31 \pm 0,62\%$, соответственно) (Рисунок 7).

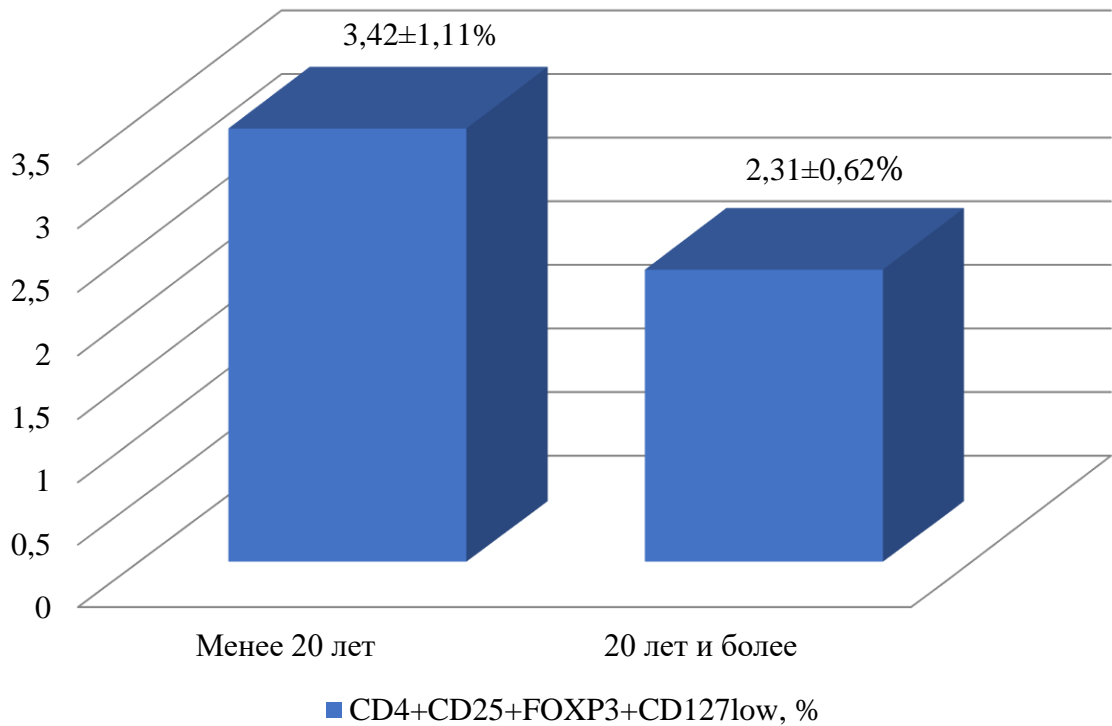


Рисунок 7 – Уровень Трег у пациентов с вульгарным псориазом в зависимости от длительности заболевания

Установлено, что уровень CD4+CD25+FOXP3+CD127^{low}Трег находится в обратной корреляционной связи с продолжительностью заболевания ($r = -0,46$) (Рисунок 8).

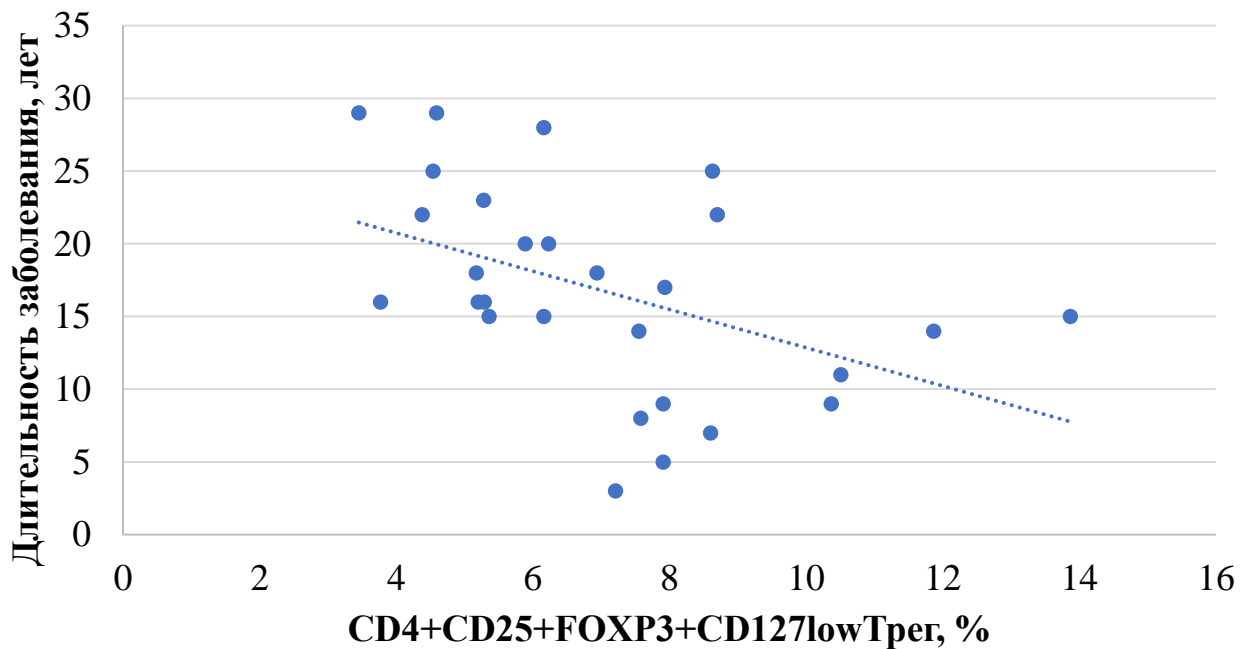


Рисунок 8 – Обратная корреляционная связь ($r = -0,46$) между длительностью вульгарного псориаза и уровнем CD4+CD25+FOXP3+CD127^{low}Т-клеток

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о снижении уровня Трег-клеток в периферической крови больных ВП на разных стадиях заболевания по сравнению со здоровыми донорами, а также о связи уровня Трег с длительностью и тяжестью заболевания.

Определение уровня Трег-клеток у больных вульгарным псориазом до и после курса фототерапии УФБ-311нм

Одной из наших задач было обосновать возможность использования анализа уровня Трег-клеток для оценки эффективности лечения ВП на примере фототерапии УФБ-311 нм. Для этого у 20 (33,3%) больных ВП, которым был показан курс фототерапии, дважды определялся уровень Трег в периферической крови: до начала и после лечения.

Среди исследуемых было 14 (70%) женщин и 6 (30%) мужчин в возрасте 39 (31–48) лет. Прогрессирующая стадия заболевания диагностирована у 13 (65%) больных, стационарная – у 7 (35%), средняя степень тяжести – у 20 (100%) больных. У 9 (45%) больных второй группы наблюдался II фототип, у 11 (55%) – III фототип (по В.В. Владимирову). Средний показатель индекса PASI у пациентов, получавших УФБ-311 нм, составил $15,9 \pm 4,8$.

Начальная доза УФБ-311 нм составляла $0,05-0,1$ Дж/см², суммарная – $19,5$ Дж/см² (от $14,5$ до 24 Дж/см²). Количество процедур на курс составляло 15–20, длительность терапии – 4–5 недель в зависимости от степени тяжести ВП. Максимальная разовая доза варьировала от $1,1$ до $1,4$ Дж/см² (в среднем $1,2$ Дж/см²).

Анализируя эффект УФБ-311 нм пациентов, к 4-5-й неделе отмечалось уменьшение среднего значения показателя индекса PASI с $15,9 \pm 4,8$ до $2,1 \pm 1,7$ ($p < 0,01$).

При изучении клинической эффективности было отмечено, что 7/20 (35%) больных ВП достигли снижения PASI на 75%, 9/20 (45%) – снижение PASI на 90%, 4/20 (20%) испытуемых – снижение PASI на 100% (Рисунок 9).

По окончании курса фототерапии УФБ-311 нм был отмечен достоверно значимый прирост уровня CD4+CD25+Foxp3CD127^{low}T-клеток ($3,43 \pm 1,02\%$, $p \leq 0,05$) в сравнении с таковым до начала лечения ($2,11 \pm 0,61\%$) (Рисунок 10).

Кроме того, был достигнут эффект от лечения больных ВП с помощью ПУВА, Ре-ПУВА и метотрексата (Рисунок 11). После выписки терапия была продолжена по определенной схеме вплоть до достижения полной клинической ремиссии.

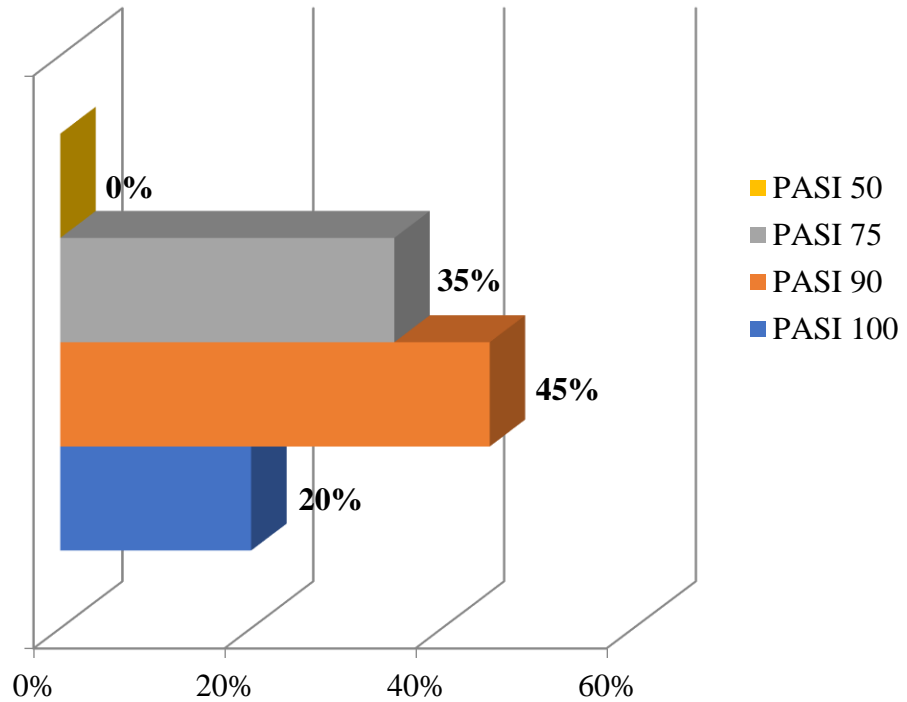


Рисунок 9 – Результаты клинической эффективности фототерапии больных вульгарным псориазом (%) с использованием индекса PASI на 4–5-й неделе

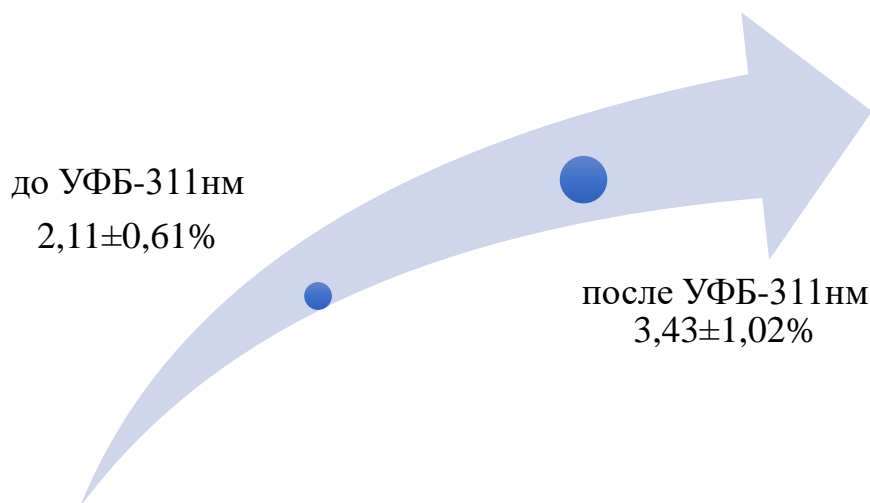


Рисунок 10 – Уровень Трег в периферической крови до и после курса УФБ-311 нм

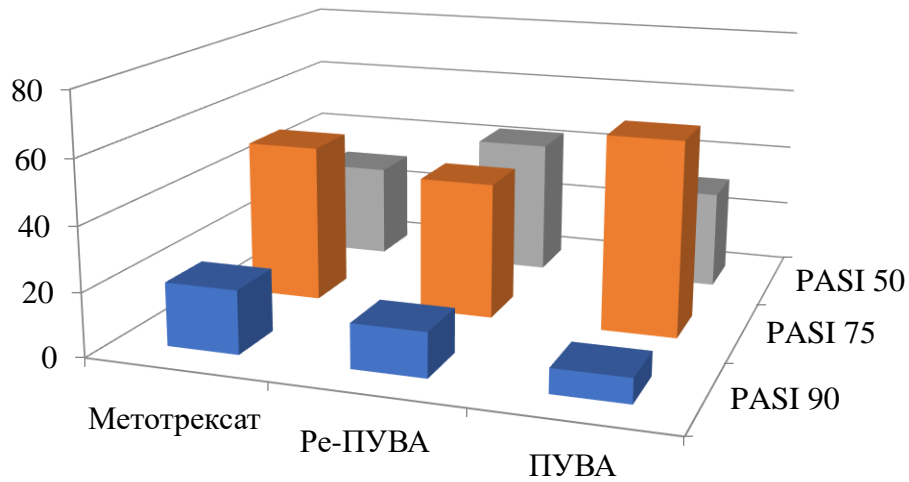


Рисунок 11 – Результаты клинической эффективности терапии больных вульгарным псориазом (%) с использованием индекса PASI через 4 недели

Оценка эффективности фототерапии УФБ 311 нм больных вульгарным псориазом по определению уровня Трег-клеток в периферической крови

Проводилось наблюдение за пациентами с ВП на протяжении двух лет после окончания курса фототерапии УФБ-311 нм для оценки длительности ремиссии и влияния на частоту возникновения рецидивов.

У 4 (20%) пациентов обострение наступило менее чем через 6 месяцев после окончания фототерапии. У 7 (35%) человек обострение возникло через 6–12 месяцев. У 5 (25%) пациентов ремиссия продолжалась более 12, но менее 18 месяцев. У 3 (15%) пациента обострение возникло спустя 19–20 месяцев ремиссии. На протяжении 24 месяцев после окончания курса фототерапии обострения не отмечалось только у 1 (5%) пациента (Рисунок 12).

В дальнейшем была изучена связь прироста уровня Трег-клеток у пациентов до начала и по окончании курса фототерапии с продолжительностью ремиссии у данной группы больных ВП. По результатам была выявлена прямая корреляция ($r=0,94$) между вышеуказанными показателями (Рисунок 13). Было установлено, чем больше прирост уровня $CD4+CD25+FOXP3+CD127^{low}$ Т-клеток, тем более продолжительная ремиссия отмечалась у пациентов с ВП.

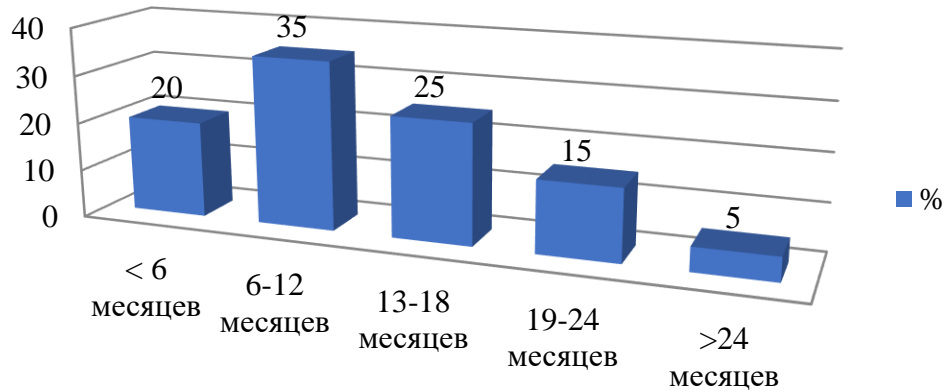


Рисунок 12 – Распределение больных вульгарным псориазом, получавших фототерапию УФБ 311 нм, по продолжительности ремиссии

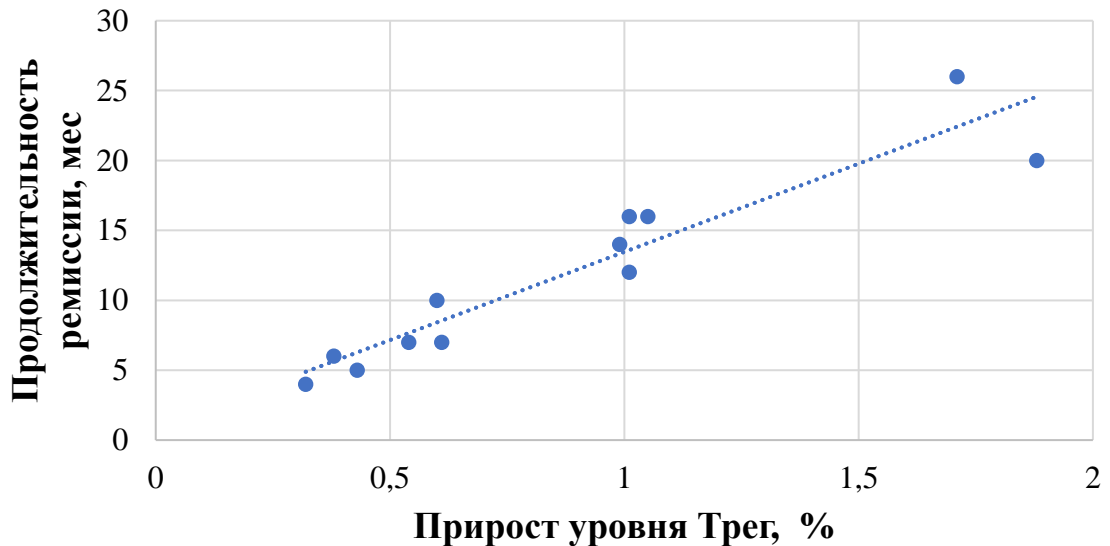


Рисунок 13 – Прямая корреляционная связь ($r=0,94$) между приростом уровня $CD4+CD25+FOXP3+CD127^{low}$ Т-клеток после фототерапии УФБ 311 нм и продолжительностью ремиссии у больных вульгарным псориазом

Таким образом, на примере фототерапии УФБ-311 нм показано, как анализ прироста уровня Трег-клеток может быть использован для оценки эффективности терапии больных ВП, а также в качестве прогностического критерия для определения продолжительности ремиссии ВП.

ВЫВОДЫ

1. В ходе исследования установлено, что среди 60 больных вульгарным псориазом было 25 (41,7%) мужчин и 35 (58,3%) женщин от 18 до 55 лет (средний возраст $36,0 \pm 9,6$). Средний показатель индекса PASI составил $27,1 \pm 4,41$, что соответствовало легкой (16,7%), средней (36,7%) и тяжелой (46,7%) степени тяжести. Среднегрупповой показатель относительного

количества Трег-клеток в периферической крови ($2,84 \pm 1,00\%$) значительно ниже по сравнению с группой контроля здоровых доноров ($4,02 \pm 0,73\%$).

2. Результаты проведенного исследования показывают, что уровни Трег-клеток при обострении вульгарного псориаза последовательно повышаются от прогрессирующей ($2,59 \pm 0,68\%$), стационарной ($2,82 \pm 1,55\%$) и до регрессирующей стадии ($3,68 \pm 1,62\%$); у больных легкой степени тяжести уровни Трег-клеток выше, чем средней и, в большей степени, тяжелой ($41,41 \pm 8,11\%$, $26,42 \pm 2,73\%$ и $13,57 \pm 4,32\%$ соответственно); при давности заболевания менее 20 лет уровень Трег был выше ($3,42 \pm 1,11\%$), чем у болеющих более 20 лет ($2,31 \pm 0,62\%$).

Более высокие уровни Трег-клеток у больных вульгарным псориазом в целом больше ассоциируются с благоприятными клинико-anamnestическими характеристиками больного, нежели низкие показатели.

3. После проведенной фототерапии УФБ-311 нм было достигнуто снижение PASI на 75% у 35%, снижение PASI на 90% – у 45%, снижение PASI на 100% – у 20% больных вульгарным псориазом, что сопровождалось статистически значимым приростом уровня Трег ($2,11 \pm 0,61$ – до начала и $3,43 \pm 1,02$ – после курса терапии, $p < 0,05$).

4. При наблюдении в отдаленные сроки больных после курса УФБ-311 нм выявлена прямая зависимость между приростом уровня Трег-клеток и продолжительностью ремиссии ($r=0,88$), что позволяет рассматривать уровни Трег-клеток как терапевтические и прогностические маркеры.

5. Результаты проведенного исследования с оценкой динамики уровня Трег-клеток у больных вульгарным псориазом в зависимости от стадийности и степени тяжести процесса являются основанием для разработки персонализированных терапевтических подходов при псориазе на основе аутологичных регуляторных Т-клеток.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется проводить определение уровня регуляторных Т-клеток в периферической крови пациентов с вульгарным псориазом для общей оценки стадийности заболевания и тяжести клинической картины с целью подбора адекватной терапии.

2. Измерение уровня регуляторных Т-клеток можно использовать в качестве маркера эффективности терапии вульгарного псориаза для каждого пациента и прогнозировать продолжительность наступившей ремиссии.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Олисова, О.Ю. Терапевтический потенциал регуляторных Т-клеток при вульгарном псориазе / О.Ю. Олисова, С.Н. Быковская, **В.В. Гудова** // Материалы Межрегиональной научно-

практической конференции «Актуальные вопросы дерматовенерологии, дерматоонкологии и косметологии». – Москва, 23–24 мая 2018 г. – С. 72–74.

2. Олисова, О.Ю. Возможности применения аутологичных регуляторных Т-клеток при вульгарном псориазе / О.Ю. Олисова, С.Н. Быковская, **В.В. Гудова** // Сборник статей по материалам VII международной научно-практической конференции «Инновации в науке и практике». Часть 4. – Барнаул, 28 апреля 2018 г. – С. 171–176.

3. Олисова, О.Ю. Роль регуляторных Т-клеток в развитии аутоиммунной воспалительной реакции при псориазе / О.Ю. Олисова, **В.В. Гудова**, С.Н. Быковская // Медицинский алфавит. – 2019. – Т. 1. – № 7 (382). – С. 10–14.

4. Олисова, О.Ю. Случай псориазической эритродермии и тяжелого коморбидного псориазического артрита / О.Ю. Олисова, Н.Г. Кочергин, Т.А. Белоусова, В.О. Никурадзе, **В.В. Гудова** // **Российский журнал кожных и венерических болезней**. – 2019. – Т. 22. – № 1–2. – С. 15–23.

5. Олисова, О.Ю. Регуляторные Т-клетки CD4+CD25+Foxp3+CD127^{low} у больных вульгарным псориазом / О.Ю. Олисова, С.Н. Быковская, **В.В. Гудова** // **Российский журнал кожных и венерических болезней**. – 2020. – Т. 23. – № 1. – С. 29–34.

6. Oliyova, O.Yu. CD4+CD25+FoxP3+CD127^{LOW} regulatory T cells in patients with vulgar psoriasis / O.Yu. Oliyova, S.N. Bykovskaya, V.V. Gudova // *Archives of Pharmacy Practice*. – 2020. – № 11(2). – P. 37–41.

7. Олисова, О.Ю. Анализ уровня регуляторных Т-клеток периферической крови как критерий оценки эффективности терапии и прогностический маркер продолжительности ремиссии псориаза / О.Ю. Олисова, **В.В. Гудова** // **Вестник дерматологии и венерологии**. – 2022. – Т. 98. – № 3. – С. 34–42.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВП – вульгарный псориаз

ПУВА (Psoralen + UltraViolet A) – псорален-ультрафиолет А

Трег – Т-регуляторные клетки

Тэфф – Т-эффекторные клетки

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

CD (кластер дифференцировки) – маркер лимфоцитов

FOXP – Forkhead Box Protein

HLA – человеческий лейкоцитарный антиген

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