

Показатели клеточного иммунитета и клетки-супрессоры миелоидного происхождения у детей с псориазом

Д.Г. Купцова¹, Т.В. Радыгина¹, Н.Н. Мурашкин^{1,2,3,4}, С.В. Петричук¹

¹ ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

² ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управделами Президента РФ, Москва

³ ФГАУ ВО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России, Москва

⁴ НИИ педиатрии и охраны здоровья детей ФГБУЗ ЦКБ РАН Минобрнауки, Москва

Indicators of cellular immunity and myeloid-derived suppressor cells of myeloid origin in children with psoriasis

D.G. Kuptsova¹, T.V. Radygina¹, N.N. Murashkin^{1,2,3,4}, S.V. Petrichuk¹

¹ Federal State Autonomous Institution "National Medical Research Center for Children's Health" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

² Federal State Budgetary Institution of Continuing Professional Education "Central State Medical Academy" Office of the President of the Russian Federation, Moscow

³ Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

⁴ Federal State-funded budgetary public health facility "Central Clinical Hospital of the Russian Academy of Sciences", Moscow

Аннотация

В работе впервые представлена комплексная оценка основных и малых популяций лимфоцитов, а также содержания клеток-супрессоров миелоидного происхождения (MDSCs) и их субпопуляций у 132 детей с псориазом. Результаты настоящего исследования, полученные с использованием метода проточной цитометрии и анализа данных пациентов, показали, что уровни MDSCs повышаются у детей с псориазом по сравнению с группой сравнения. Получена прямая корреляция между Th17-лимфоцитами и регуляторными T-клетками (Treg), активированными T-хелперами, MDSCs. Также получено, что тяжесть состояния детей с псориазом, оцененная по индексу PASI, напрямую коррелирует с содержанием Th17-лимфоцитов и моноцитарной субпопуляцией MDSCs. У детей с псориазом на терапии метотрексатом снижается количество T-лимфоцитов и B-клеток, однако на терапии ГИБП достоверно увеличено содержание B-клеток, T-хелперов и Treg по сравнению с группой детей на наружной терапии.

Ключевые слова

Th17-лимфоциты, Treg, MDSCs, псориаз, дети

Summary

In this study, we presented a comprehensive assessment of major and small populations of lymphocytes, as well as the content of myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) and their subpopulations in 132 children with psoriasis, for the first time. The results obtained by using flow cytometry and patient data analysis, showed that levels of MDSCs significantly increased in the blood of patients with psoriasis compared to healthy children. We found a direct correlation between Th17-lymphocytes and regulatory T-cells (Treg), activated by T-helper cells, MDSCs. We also found that the severity of the condition in children with psoriasis, estimated by the PASI, directly correlates with the content of Th17-lymphocytes and the M-MDSCs. In children with psoriasis methotrexate therapy decreases the number of T-lymphocytes and B-cells. However, the content of B-cells, T-helpers and Treg significantly increased in the treatment on BTPs compared with the group of children on external therapy.

Keywords

Th17-lymphocytes, Treg, MDSCs, psoriasis, children

Псориаз является распространенным хроническим воспалительным заболеванием кожи, в результате взаимодействия генетических, экологических и иммунологических факторов [1-3]. Известно, что центральную роль в развитии воспаления при псориазе играет синтез провоспалительных цитокинов и активированные Т-лимфоциты. Показано увеличение Th1 и Th17-лимфоцитов в крови и коже пациентов с псориазом [4, 5]. Выявлено, что увеличение количества регуляторных Т-лимфоцитов (Treg) не приводит к подавлению воспалительной реакции из-за их функциональной несостоятельности [6-8].

В последнее время наряду с изучением Treg и Th17-лимфоцитов важная роль в развитии псориазического воспаления отводится клеткам-супрессорам миелоидного происхождения (MDSCs) [9, 10]. Популяция MDSCs представляет собой гетерогенную популяцию незрелых миелоидных клеток, образующихся в результате изменения дифференцировки гемопоэтического пути при различных воспалительных состояниях [11, 12]. Известно, что повышение факторов роста (GM-CSF и VEGF) и цитокинов (TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6 и TGF- β) ускоряет экспансию MDSCs в костном мозге и приводит к накоплению этих клеток на периферии [13, 14]. MDSCs характеризуются высокой пластичностью, способностью подавлять пролиферацию Т-клеток, снижать цитотоксические функции естественных клеток-киллеров (NK-клеток) и индуцировать развитие Treg [15].

MDSCs проявляют супрессорную активность в отношении клеток врожденного и адаптивного иммунитета, используя разные механизмы иммуносупрессии [16-18]. Активность MDSCs реализуется как при прямом контакте клетка-клетка, так и посредством формирования иммуносупрессорного микроокружения. В частности показано, что MDSCs могут взаимодействовать с Treg через CD40-CD40L. Описана способность MDSCs продуцировать TGF- β и IL-10 для привлечения Treg в микроокружение опухоли и в очаг воспаления [19-21].

Клетки-супрессоры миелоидного происхождения несут на своей поверхности маркеры характерные для миелоидных клеток, но не специфичные для лимфоцитов, дендритных клеток, естественных клеток-киллеров и макрофагов [22]. В настоящее время охарактеризованы две основные субпопуляции MDSCs: моноцитарные (M-MDSCs) и гранулоцитарные (G-MDSCs) [23]. MDSCs экспрессируют маркеры миелоидных клеток CD11b⁺ и CD33⁺, но негативны по

антигенам HLA-DR и линейным специфическим антигенам, таким как CD3, CD19 и CD56. Моноцитарная субпопуляция MDSCs имеет фенотип - CD11b⁺CD33⁺CD14⁺HLA-DR^{-low}, гранулоцитарная - CD11b⁺CD33⁺CD15⁺HLA-DR^{-low} [11, 24, 25].

Впервые MDSCs были изучены у онкологических больных и показано увеличение их количества в микроокружении опухоли и периферической крови [26]. Получено, что у здоровых людей клетки с фенотипом MDSCs составляют около 0,5% от числа мононуклеарных клеток (МНК) [11]. Исследования последних лет показали, что MDSCs также увеличиваются при различных воспалительных состояниях, включая аутоиммунную патологию, трансплантацию органов, инфекции и сепсис [25, 27]. У взрослых пациентов с псориазом выявлено увеличение MDSCs по сравнению со здоровыми людьми [8, 29]. На сегодняшний день количество MDSCs в циркуляции у детей с псориазом не изучено. Актуальность изучения особенностей клеточного иммунитета при псориазе у детей обусловлена ростом первичной заболеваемости, учащением случаев тяжелых форм и развитием резистентности к проводимой терапии.

Цель исследования: оценить количество основных и малых популяций лимфоцитов (Treg, Th17-лимфоцитов), а также клеток-супрессоров миелоидного происхождения у детей с псориазом.

Материалы и методы исследования

В исследование были включены 132 ребенка с разными формами тяжести псориаза в возрасте от 1 года до 18 лет (Med 11.5 [8.4-14.8]). Группу сравнения составили 65 здоровых детей. Всем пациентам провели сбор анамнеза заболевания, включающий данные о длительности заболевания, тяжести состояния и проводимого лечения.

По индексу площади и тяжести псориазических поражений – Psoriasis Area Severity Index (PASI) оценивали степень тяжести псориаза, следующим образом: легкая – <10 баллов, средне-тяжелая 10-19 баллов, тяжелая – PASI>20 баллов. В работе учитывали: возраст пациентов, длительность заболевания, тяжесть патологического процесса и тип терапии. В зависимости от типа терапии, дети с псориазом были разделены на 3 группы: 1 группа (n=57) – дети на базовой и наружной терапии, 2 группа (n=40) – дети на системной терапии метотрексатом, 3 группа (n=35) – дети на терапии генно-инженерными биологическими препаратами (ГИБП). ГИБП включали ингибиторы TNF- α (этанерцепт, адалимумаб) и интерлейкин-12/23 (устекинумаб).

Настоящее исследование было проведено в соответствии с этическими нормами и правилами клинической практики Российской Федерации. При обследовании всех детей было получено информированное согласие родителей.

Для иммунологического исследования проводили забор венозной крови из локтевой вены натошак в пробирки BD Vacutainer® с антикоагулянтом К2ЭДТА.

Показатели клеточного иммунитета и количество MDSCs определяли с помощью проточного цитофлуориметра «Novocyte» (ACEA Biosciences, США) с использованием моноклональных антител (МКАТ) фирм «Beckman Coulter» и «Sony Biotechnology», США.

При исследовании иммунного статуса определяли количество основных и малых популяций лимфоцитов в регионе CD45⁺: CD3⁺ (Т-лимфоциты),

CD3⁺CD4⁺ (Т-хелперы), CD3⁺CD8⁺ (цитотоксические Т-лимфоциты), CD3⁻CD19⁺ (В-лимфоциты), CD3⁺CD16⁺/CD56⁺ (NK-клетки), CD3⁺CD16⁺/CD56⁺ (ТNK-клетки), CD3⁺HLA-DR⁺ (активированные Т-лимфоциты), CD4⁺CD127^{low}CD25^{high} (Treg), CD4⁺CD25⁺CD127^{high} (активированные Т-хелперы-Tact) и CD3⁺CD4⁺CD161⁺ (Th17-лимфоциты).

Относительное и абсолютное количество MDSCs определяли методом пошагового гейтирования который включал, выделение «лимфоидно-моноцитарного» региона, выделение популяции клеток, не несущих на себе линейные лимфоцитарные маркеры CD3, CD19, CD56 и негативные по HLA-DR, выделение двойной позитивной популяцию по маркерам CD11b и CD33, разделение популяции MDSCs по экспрессии CD14 и CD15 на М-MDSCs и G-MDSCs (Рис. 1).

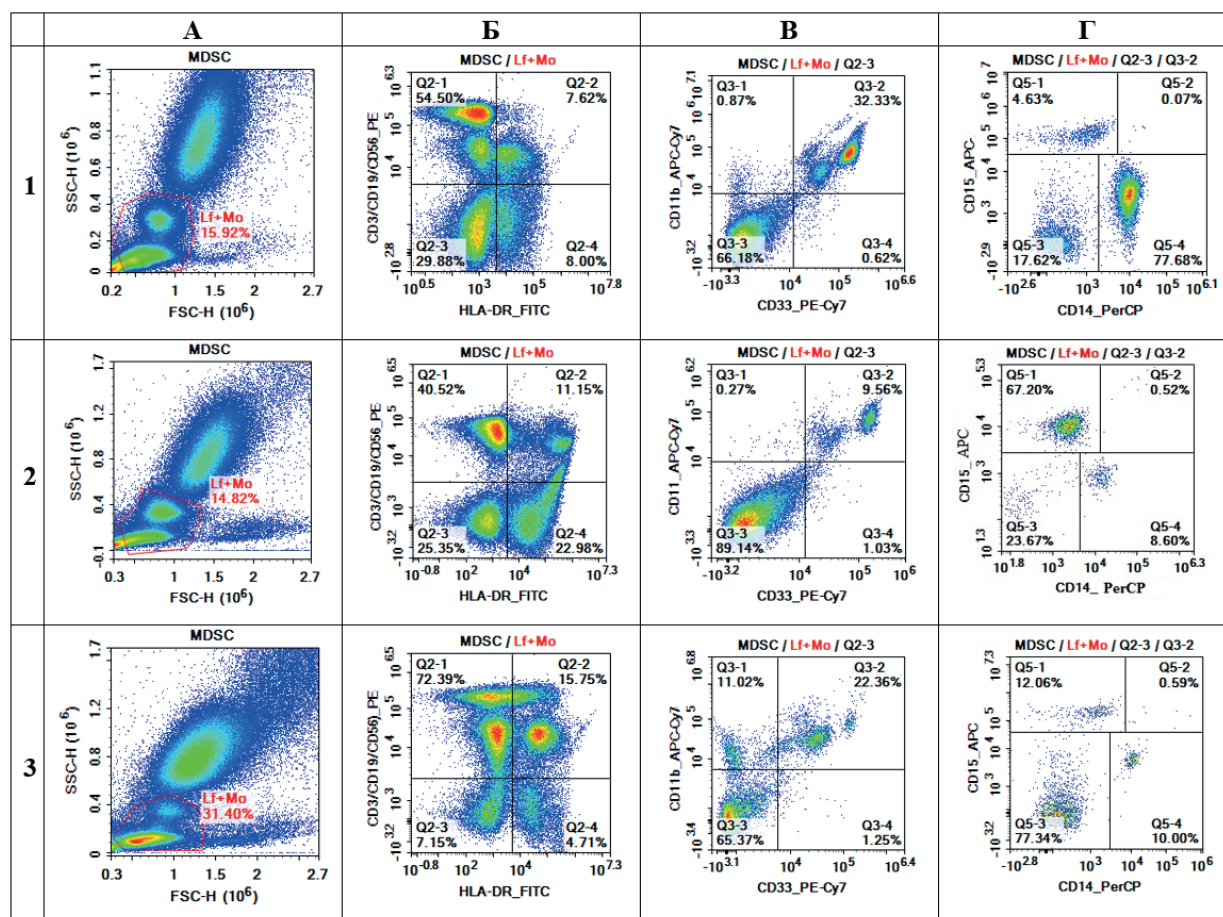


Рис. 1 (А-Г). Алгоритм определения MDSCs, М-MDSCs, G-MDSCs методом пошагового гейтирования с использованием проточной цитометрии

А - выделение «лимфоидно-моноцитарного» региона по параметрам прямого (FSC) и бокового (SSC) светорассеяния; Б - выделение популяции клеток, не несущих на себе линейные лимфоцитарные маркеры CD3, CD19, CD56 и негативные по HLA-DR; В - выделение двойной позитивной популяцию по маркерам CD11b и CD33; Г - разделение популяции MDSCs на моноцитарную субпопуляцию MDSCs (М-MDSCs) и гранулоцитарную субпопуляцию (G-MDSCs) по экспрессии CD14 и CD15. Варианты определения MDSCs у обследованных пациентов в случае существенного увеличения популяции М-MDSCs (Г-1), увеличения популяции G-MDSCs (Г-2) и преобладания популяции с фенотипом CD11b⁺CD33⁺HLA-DR^{low}CD14⁺CD15⁻ (М-G)-MDSCs (Г-3).

С использованием программы «Statistica 7.0» проводили статистическую обработку полученных данных. Описательная статистика количественных признаков представлена в формате: медиана (нижний и верхний квартили) – Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$). Непараметрическим критерием Манна-Уитни и критерием Фишера оценивали достоверность различий между группами. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. В работе использовали также корреляционный анализ и метод множественной пошаговой регрессии.

В связи с тем, что в исследование включены дети разного возраста, для оценки изменений в основных и малых популяциях лимфоцитов, рассчитывали отклонения индивидуальных показателей от уровня возрастной нормы по формуле:

$$X_n = (X_{\min} - X) / 0,01 * (X_{\max} - X_{\min})$$

где:

X_n – значение индивидуального показателя, нормированное на возрастную норму;

X – значение изучаемого показателя;

X_{\max} – верхняя граница возрастной нормы;

X_{\min} – нижняя граница возрастной нормы.

Диапазон возрастной нормы принимали за 100%.

Показатели клеточного иммунитета по возрастам были взяты из работы Топтыгиной А.П. и соавторы [30].

Результаты и обсуждение

Анализ основных популяций лимфоцитов у детей с псориазом показал, что наибольшие изменения абсолютного количества клеток выявляются в популяции В-лимфоцитов (снижение в 48% случаев), цитотоксических Т-лимфоцитах (снижение в 42% случаев) и NK-клетках (снижение в 30% случаев). В популяциях Т-лимфоцитов ($CD3^+$) и Т-хелперов ($CD3^+CD4^+$) наблюдается как повышение, так и снижение абсолютных значений (Табл. 1).

При оценке малых популяций лимфоцитов выявлено существенное увеличение абсолютного количества активированных Т-хелперов в 78% случаев и Th17-лимфоцитов в 49% случаев. Анализ количества регуляторных Т-лимфоцитов показал как снижение, так и повышение данного показателя только в 31% случаев.

Определение количества MDSCs у детей с псориазом показало достоверное увеличение данной популяции относительно группы сравнения (Табл. 2). Увеличение MDSCs происходит, в основном, за счет моноцитарной субпопуляции. Кроме того, у детей с псориазом меняются соотношения между популяциями MDSCs:

увеличивается моноцитарная субпопуляция, уменьшается гранулоцитарная субпопуляция и увеличивается относительное количество недифференцированных клеток (M-G-) (Табл. 2).

Зависимость Th17-лимфоцитов, Treg и MDSCs от возраста пациентов

Корреляционный анализ показал достоверное увеличение относительного ($r=0,65$; $p=0,0001$) и абсолютного ($r=0,22$; $p=0,02$) содержания Th17-лимфоцитов от возраста пациентов (Рис. 2). Относительное количество Treg не зависит от возраста, а абсолютное количество данной популяции снижается с увеличением возраста ($r=-0,36$; $p=6*10^{-5}$) и повторяет возрастную динамику общего количества лимфоцитов ($r=-0,47$; $p=1*10^{-7}$). При этом отношение Th17-лимфоцитов к Treg также достоверно увеличивается с возрастом ($r=0,44$; $p=2*10^{-8}$).

Анализ количества MDSCs от возраста показал, что относительное количество MDSCs достоверно увеличивается с возрастом, как у детей с псориазом ($r=0,48$; $p=0,0007$), так и в группе сравнения ($r=0,34$; $p=0,015$). Однако процент увеличения данной популяции в зависимости от возраста существенно меньше, чем разброс показателей внутри возрастных групп 3 (9-11 лет) и 4 (12-18 лет) (Рис. 3).

Зависимость Th17-лимфоцитов, Treg и MDSCs от длительности заболевания

У детей с псориазом длительность заболевания варьировала от месяца до 16 лет, медиана по группе составила 3 года (2-7). Выявлена зависимость относительного ($r=0,37$; $p=4*10^{-5}$) и абсолютного ($r=0,29$; $p=0,002$) количества Th17-лимфоцитов от длительности заболевания: чем дольше болеет ребенок, тем больше Th17-лимфоцитов выявляется в циркуляции. Зависимости количества Treg от длительности заболевания не выявлено.

Зависимости общего количества MDSCs от длительности заболевания не выявлено, однако получено, что при увеличении длительности заболевания меняется соотношение между субпопуляциями MDSCs: увеличивается гранулоцитарная субпопуляция MDSCs (Рис. 4) и снижается относительное количество недифференцированных клеток (Рис. 5).

Тяжесть псориаза (PASI) в зависимости от иммунологических показателей

У детей с псориазом анализировали зависимость индекса PASI от количества Th17-лимфоцитов, регуляторных Т-лимфоцитов и клеток-супрессоров миелоидного происхождения. Методом множе-

Таблица 1. Отклонения показателей клеточного иммунитета от возрастной нормы у детей с псориазом (% случаев)

Показатель		Меньше нормы	Возрастная норма	Больше нормы
Т-лимфоциты	%	10	57	33
	кл/мкл	24	42	34
Т-хелперы	%	21	37	42
	кл/мкл	21	50	29
Цитотоксические Т-лимфоциты	%	35	47	18
	кл/мкл	42	32	26
В-лимфоциты	%	43	51	5
	кл/мкл	48	38	14
NK-клетки	%	43	50	7
	кл/мкл	30	63	7
Регуляторные Т-клетки	%	33	43	24
	% CD4	35	43	22
	кл/мкл	31	38	31
Активированные Т-хелперы	%	1	19	80
	% CD4	1	12	88
	кл/мкл	1	21	78
Th17-лимфоциты	%	11	48	41
	% CD4	13	38	49
	кл/мкл	23	29	49

Таблица 2. Количество MDSCs у детей с псориазом и в группе сравнения (относительные и абсолютные показатели, Me, Q_{0,25}-Q_{0,75})

Фенотип		Группа сравнения (n = 65)	Дети с псориазом (n = 133)	p
MDSCs	кл/мкл	43,4(25,4-56,1)	56,8(39,7-84,2)	0,00001
	% МНК	1,4(0,9-1,8)	1,9(1,3-2,9)	0,00004
M-MDSCs	кл/мкл	2,9(1,3-7,5)	4,6(2,0-10,7)	0,015
	% МНК	9,5(4,9-16,1)	8,6(3,4-17,2)	0,822
G-MDSCs	кл/мкл	8,5(4,2-16,2)	9,2(4,3-20,0)	0,643
	% МНК	25,6(12,6-45,0)	16,7(9,3-28,8)	0,006
MDSCs (M-G-)	кл/мкл	66,1 (42,0-77,2)	66,0 (51,4-76,5)	0,260
	% МНК	20,6 (9,7-35,0)	34,7 (23,8-53,7)	0,00002

Примечание. p – достоверность различий между группами, критерий Манна-Уитни. МНК – мононуклеарные клетки периферической крови.

ственной пошаговой регрессии получено, что при увеличении количества Th17-лимфоцитов и моноцитарной субпопуляции MDSCs увеличивается тяжесть патологического процесса (Табл. 3).

Показатели клеточного иммунитета и MDSCs в зависимости от типа проводимой терапии

У детей с псориазом, находящихся на разных типах терапии, выявлено, что при увеличении абсолютного количества Th17-лимфоцитов уве-

личивается абсолютное количество Treg (r=0,42; p<0,001; Рис. 6), Tact (r=0,74; p<0,001), MDSCs (r=0,29; p<0,001), M-MDSCs (r=0,23; p=0,002) и G-MDSCs (r=0,20; p=0,008).

Анализ количества клеток между группами детей получавших наружную, системную и биологическую терапию выявил достоверное увеличение количества В-лимфоцитов, Т-хелперов, регуляторных Т-лимфоцитов и активированных Т-хелперов в группе детей, находившихся на ГИБП, по сравнению с группой детей, полу-

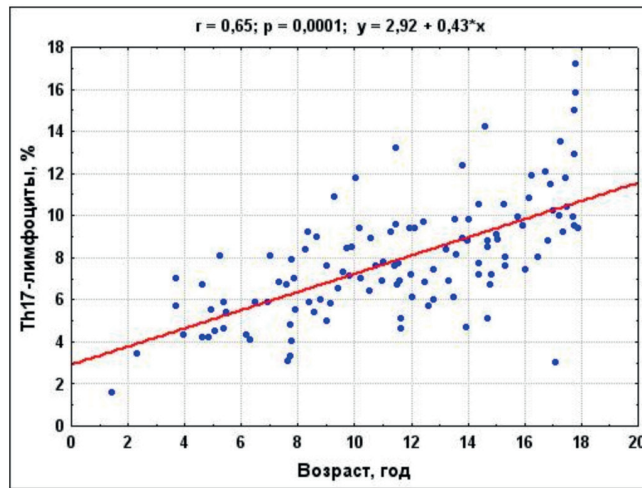


Рис. 2. Зависимость относительного количества Th17-лимфоцитов от возраста пациентов

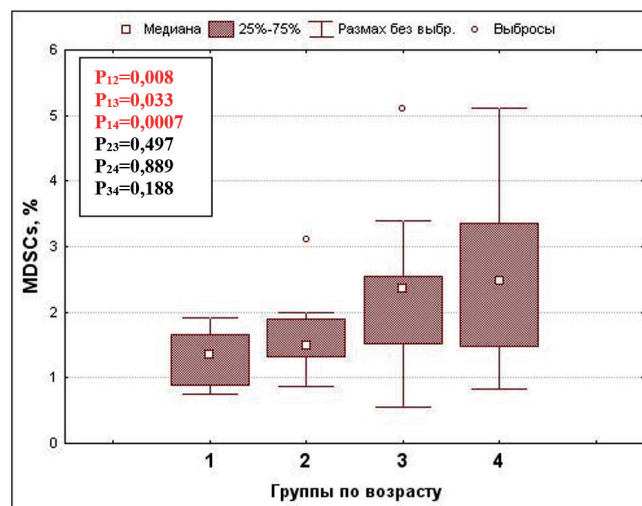


Рис. 3. Зависимость относительного количества MDSCs от возраста пациентов

Группа 1 – возраст детей до 6 лет; группа 2 – 6-9 лет; группа 3 – от 9-11 лет; группа 4 – 12-18 лет. Критерий Фишера между 1 и 4 группами $F_{41}=7,7$; $p<0,01$.

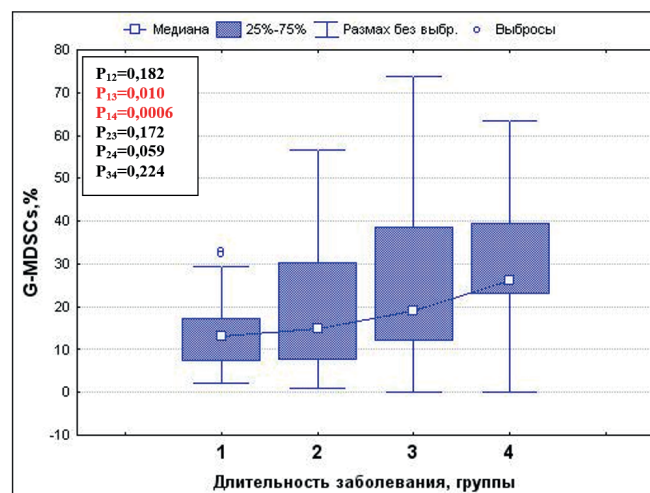


Рис. 4. Зависимость относительного количества G-MDSCs от длительности заболевания

Группа 1 – до года; группа 2 – от 1-6 лет; группа 3 – 6-11 лет; группа 4 – >12 лет. Приведен уровень достоверности различий между группами

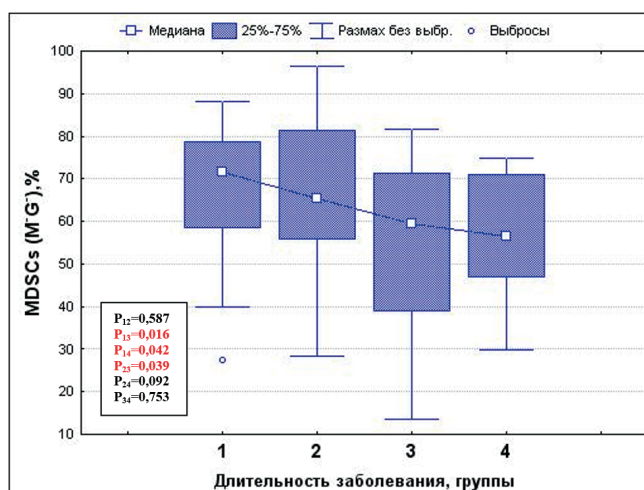


Рис. 5. Зависимость относительного количества (M-G)-MDSCs от длительности заболевания. Обозначения см. рис. 4

Таблица 3. Зависимость индекса PASI от иммунологических показателей (регрессионные коэффициенты и уровень достоверности). $R_{\text{мн}}=0,485$

Зависимая переменная – индекс PASI

Параметр	Регрессионный коэффициент	Стандартная ошибка	t-критерий	P
Свободный член	20,562	2,924	7,032	0,000
M-MDSCs, %	0,139	0,030	2,22	0,031
Возраст, года	-0,539	0,063	-2,37	0,021
Th17- лимфоциты, % отклонения от нормы	0,030	0,012	2,44	0,018

чавших наружную терапию. Однако, в группе детей на системной терапии метотрексатом получено существенное снижение количества Т- и В-лимфоцитов по сравнению с группой 1, а также снижение регуляторных Т-лимфоцитов, Th17-лимфоцитов и активированных Т-хелперов по сравнению с группой 3 (Табл. 4).

Анализ количества клеток-супрессоров миелоидного происхождения в группах детей с псориазом показал достоверное увеличение абсолютного и относительного количества MDSCs на фоне проводимого лечения в каждой группе, однако наибольшее увеличение отмечено в группе детей, находящихся на ГИБП (Табл. 5; Рис. 7).

Заключение

В результате проведенного исследования показателей клеточного иммунитета у 132 детей с псориазом выявлены нарушения соотношения основных популяций лимфоцитов. Почти у половины пациентов выявлено снижение В-лимфоцитов, в 42% случаев – снижение количества цитоток-

сических Т-лимфоцитов, в 30% случаев – НК-клеток. При этом изменены также субпопуляции Т-хелперов: выявлено увеличение активированных Т-хелперов и Th17-лимфоцитов. Что касается количества Treg, то 30% пациентов имели повышенные значения, а 30% – пониженные. Это наблюдение согласуется с данными по взрослым пациентам с псориазом: некоторые авторы наблюдали большее количество Treg в крови пациентов, в то время как другие не обнаруживали различий, либо даже выявляли снижение показателей [6].

В нашем исследовании было показано, что у детей с псориазом при увеличении Th17-лимфоцитов – ключевых эффекторных клеток псориазического воспаления – количество Treg в циркуляции также увеличивается. Считается, что таким образом иммунная система пытается подавить продолжающееся воспаление за счет присутствия большего количества Treg, однако данные клетки не способны эффективно ингибировать заболевание из-за снижения их функциональности [8, 31].

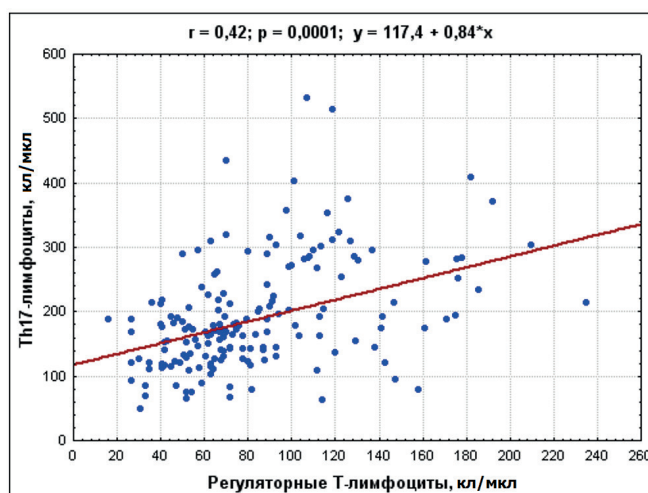


Рис. 6. Зависимость абсолютного количества Th17-лимфоцитов от количества регуляторных Т-лимфоцитов у детей с псориазом

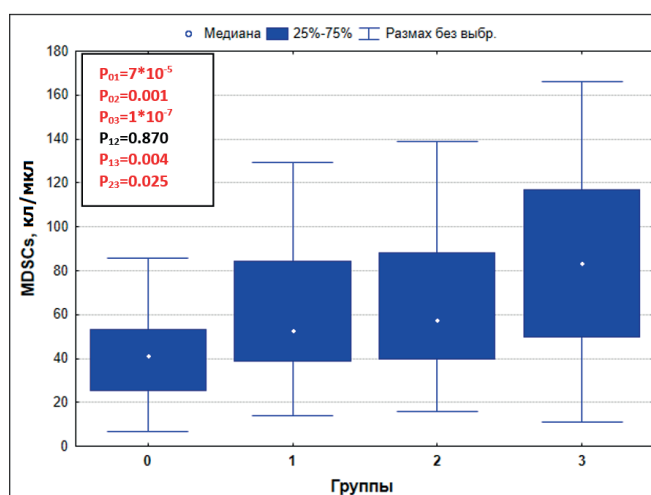


Рис. 7. Зависимость абсолютного количества MDSCs у детей с псориазом на разных типах терапии

0 группа – группа сравнения; 1 группа – дети, находившиеся на базовой и наружной терапии; 2 группа – дети на фоне системной терапии; 3 группа – дети получавшие ГИБП

Анализ возрастной динамики количества лимфоцитов у детей с псориазом показал снижение общего количества Т-лимфоцитов и абсолютного количества Treg при увеличении возраста. Содержание Th17-лимфоцитов повышалось с возрастом и с длительностью заболевания.

Миелоидные супрессорные клетки представляют гетерогенную популяцию незрелых миелоидных клеток, обладающих способностью подавлять иммунную систему. Впервые эти клетки были найдены в микроокружении опухоли и было обнаружено, что они играют важную роль в росте опухоли, подавляя противоопухолевые

иммунные ответы [26]. В последнее время MDSCs широко изучаются при различных патологических состояниях, включая инфекции и аутоиммунные заболевания. Показано увеличение содержания MDSCs и их субпопуляций при ревматоидном артрите, системной красной волчанке, сахарном диабете I типа, воспалительных заболеваниях кишечника, рассеянном склерозе и др. Пролиферация MDSCs и их подмножеств связана с активностью заболевания или с его прогрессированием [32]. Примененный в нашей работе алгоритм пошагового гейтирования позволил оценить содержание MDSCs и их субпопуляций у здоровых

Таблица 4. Показатели клеточного иммунитета у детей с псориазом, находящихся на разных типах терапии

Показатель		Группа 1 (n=57)	Группа 2 (n=40)	Группа 3 (n=35)
Т-лимфоциты	%	72,4(68;79)	74,5(71;78)	75,4(67;78)
	кл/мкл	1803(1358;2362)	1573(1313;1985)	2156(1601;2532)
		$p_{23}=0,001$		
Т-хелперы	%	37,0(33;42)	43,2(35;46)	40,4(35;45)
	кл/мкл	947 (744;1144)	882 (710;1044)	1163 (830;1423)
		$p_{12}=0,02$ $p_{23}=0,002$ $p_{13}=0,016$		
Т-цитотоксические	%	29,9(27;35)	28,3(25;32)	28,2(24;34)
	кл/мкл	722 (532;1061)	586 (498;825)	757 (583;978)
		$p_{12}=0,04$ $p_{23}=0,02$		
В-лимфоциты	%	13,9 (10;17)	13,5 (10;16)	15,9 (12;20)
	кл/мкл	338 (253;467)	285 (180;421)	448 (272;571)
		$p_{12}=0,04$ $p_{23}=0,0003$ $p_{13}=0,03$		
NK-клетки	%	11,9(8;16)	11,6(8;17)	8,9(6;15)
	кл/мкл	275 (178;397)	255(174;363)	256(162;366)
Регуляторные Т-лимфоциты	%	3,0 (2,3;3,6)	2,9 (2,7;3,4)	3,1 (2,8;3,8)
	кл/мкл	69(52;91)	66(50;81)	100(69;122)
		$p_{13}=0,04$ $p_{23}=0,0003$ $p_{13}=0,005$		
Th17-лимфоциты	%	7,0(5,4;8,8)	7,5(6,6;9,1)	8,2(6,1;9,8)
	кл/мкл	170(125;214)	162(135;188)	224(172;303)
		$p_{23}=0,0004$		
Активированные Т-хелперы	%	6,9(6,3;9,3)	8,1(6,3;10,2)	6,7(5,5;9,8)
	кл/мкл	183(137;245)	162(129;209)	189(138;275)
		$p_{23}=0,011$ $p_{23}=0,001$		

Примечание. 1 группа – дети, находившиеся на базовой и наружной терапии; 2 группа – дети на фоне системной терапии; 3 группа – дети получавшие ГИБП. р – статистически значимые различия между группами.

Таблица 5. Количество MDSCs у детей с псориазом, находящихся на разных типах терапии (относительные и абсолютные показатели, Me, Q0.25-Q0.75)

Показатель		Дети с псориазом (n =132)		
		Группа 1	Группа 2	Группа 3
MDSCs	кл/мкл	52,6(38,9-84,2)	57,6(39,7-88,1)	83,2(49,8-116,9)
	%	1,8(1,3-2,7)	2,2(1,5-3,4)	2,7(1,8-3,6)
		$p_{13}=0,007$ $p_{23}=0,037$ $p_{13}=0,014$		
M-MDSCs	кл/мкл	4,0(2,1-10,7)	5,1(2,0-10,8)	10,8(3,6-34,9)
	%	8,2(3,3-16,6)	11,4(4,2-16,1)	21,0(6,0-32,9)
		$p_{13}=0,016$		
G-MDSCs	кл/мкл	7,8(4,7-20,4)	11,6(3,6-23,9)	13,7(8,4-34,5)
	%	15,1(9,3-27,1)	17,9(9,3-33,6)	23,3(10,8-29,3)
		$p_{13}=0,007$		
MDSCs (M-G-)	кл/мкл	34,7(25,7-48,0)	34,4(21,7-51,3)	49,7(23,8-67,9)
	%	66,0(53,4-78,7)	66,7(47,0-76,7)	56,4(45,1-67,5)
		$p_{13}=0,011$		

Примечание. р – статистически значимые различия с контрольными показателями; p_{12} – // различия между 1 и 2 группами; p_{13} – // различия между 1 и 3 группами; p_{23} – // между 2 и 3 группами.

детей и у пациентов с псориазом. Получено достоверное увеличение содержания данных клеток, особенно моноцитарной субпопуляции у детей с псориазом по сравнению со здоровыми, что согласуется с данными у взрослых пациентов [9]. Получено также, что относительное количество MDSCs повышается с возрастом, однако процент увеличения данной популяции существенно меньше, чем разброс показателей внутри возрастной группы. В связи с этим, можно предположить, что увеличение содержания MDSCs в большей степени отражает состояние пациента на момент обследования, чем зависимость от возраста. Возникает вопрос: какова роль увеличения данной популяции в иммунном воспалении при псориазе? Первоначально считалось, что повышение MDSCs – клеток с иммуносупрессивными свойствами – компенсация за развитие воспалительных процессов, ассоциированных с Th1 и Th17-лимфоцитами. Однако, в последнее время появились публикации, свидетельствующие, что повышенная пролиферация MDSCs способствует дифференцировке Th17-лимфоцитов из исходных CD4⁺T-клеток IL-1 β -зависимым способом, причем содержание MDSCs коррелирует с уровнем IL-17A [33, 34]. Мы также получили, что тяжесть состояния детей с псориазом, оцененная по индексу PASI, напрямую коррелирует с содержанием Th17-лимфоцитов и моноцитарной субпопуляцией MDSCs. А содержание Th17-лимфоцитов коррелирует как с моноцитарной, так и с гранулоцитарной субпопуляциями MDSCs. Данный результат также указывает на возможность MDSCs потенцировать образование Th17-лимфоцитов и, тем самым, усугублять патологический процесс.

Для умеренных и тяжелых форм псориаза показано применение системной терапии с использованием лекарств, способных ингибировать или снижать иммунный ответ, уменьшая воспаление и воспалительную клеточную инфильтрацию псориазных повреждений. Метотрексат и ингибиторы TNF- α (этанерцепт, адалимумаб) являются основными иммуносупрессивными препаратами, используемыми в системном лечении псориаза. В последнее время в лечении

псориаза у детей также используется препарат устекинумаб – блокатор IL12/23. Не смотря на то, что эти биологические препараты блокируют разные цитокины, они обладают и схожим механизмом действия. Устекинумаб непосредственно блокирует IL 23, а блокаторы TNF- α (этанерцепт, адалимумаб) способны уменьшать активацию миелоидных дендритных клеток, которые являются основными источниками IL 23 [31]. Мы проанализировали содержание популяций лимфоцитов и MDSCs у детей на базовой и наружной терапии, на системной терапии метотрексатом, на терапии генно-инженерными биологическими препаратами (этанерцепт, адалимумаб, устекинумаб). Получено, что в группе пациентов на терапии метотрексатом снижается количество Т-лимфоцитов и В-клеток по сравнению с группой детей на наружной терапии, при этом различий в количестве Th17-лимфоцитов и Treg между этими группами не выявлено. У детей на терапии ГИБП достоверно увеличено содержание В-клеток, Т-хелперов и Treg по сравнению с группой детей на наружной терапии. Увеличение Treg у взрослых пациентов с псориазом связано с хорошим клиническим эффектом терапии ГИБП и с уменьшением индекса PASI [35]. Интересно отметить, что у детей на терапии ГИБП выявлено наибольшее количество MDSCs и наибольший разброс данного показателя. Это согласуется с тем, что терапия ГИБП назначается самым тяжелым пациентам, а разброс показателей MDSCs связан, вероятно, с разным эффектом лечения терапии ГИБП и данное предположение нуждается в дополнительном изучении.

Дальнейшие исследования популяций клеточного иммунитета и клеток-супрессоров миелоидного происхождения должны быть посвящены изучению их функциональной активности. Учитывая рост заболеваемости псориазом у детей, наличие пациентов с тяжелыми формами заболеваний, развитием неэффективности к терапии, изучение иммунологических показателей является перспективным направлением поиска потенциальных критериев более раннего назначения ГИБП и прогноза эффективности лечения при данной патологии.

Литература

1. Смирнова С.В., Смольникова М.В. Иммунопатогенез псориаза и псориазического артрита. Медицинская иммунология 2014; Т.16, №2: 127-138.
2. Ladizinski B., Lee K., Wilmer E. et al. A review of the clinical variants and the management of psoriasis. Adv. Skin Wound Care 2013; №6: 271-284. <http://dx.doi.org/10.1097/01.ASW.0000429778.10020.67>.

3. Пинегин Б.В., Иванов О.Л., Пинегин В.Б. Роль клеток иммунной системы и цитокинов в развитии псориаза. Иммунология 2012; №4: 213-219.
4. Cesare A., Meglio P., Nestle F. The IL-23/Th17 Axis in the Immunopathogenesis of Psoriasis. J. Invest Dermatol. 2009; Vol. 129, Iss.6: 1339-1350. <https://doi.org/10.1038/jid.2009.59>

5. Lowes M., Suárez-Fariñas M., Krueger J. Immunology of psoriasis. *Annual Review of Immunology* 2014; Vol.32: 227-255. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120225>
6. Zhang L., Li Y., Yang X. et al. Characterization of Th17 and FoxP3+ Treg Cells in Paediatric Psoriasis Patients. *Scand J Immunol.* 2016; Vol.83, Iss. 3: 174-180.
7. Ma L., Xue H.-B., Guan X.-H. et al. The Imbalance of Th17 cells and CD4+CD25highFoxp3+Treg cells in patients with atopic dermatitis. *JAEDA* 2014; Vol. 28, Iss. 8: 1079-1086. <https://doi.org/10.1111/sji.12404>
8. Uttarkar S., Brembilla N.C., Boehncke W.-H. Regulatory cells in the skin: Pathophysiologic role and potential targets for anti-inflammatory therapies. *J Allergy Clin. Immunol.* 2019; Vol. 143, Iss. 4: 1302-1310. <https://doi.org/10.1111/jdv.12288>
9. Ilkovich D., Ferris L.K. Myeloid derived suppressor cells are elevated in patients with psoriasis and produce various molecules. *Molecular Medicine Reports* 2016; 14: 3935-3940. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5685>
10. Kim C.H., Yoo J.K., Jeon S.H. et al. Anti-psoriatic effect of myeloid-derived suppressor cells on imiquimod -induced skin inflammation in mice. *Scand J Immunol.* 2019; Vol.89, Iss. 3: 1-10. <https://doi.org/10.1111/sji.12742>
11. Пономарев А.В. Миелоидные супрессорные клетки: общая характеристика. *Иммунология* 2016; Т. 37, №1: 47–50. <http://dx.doi.org/10.18821/0206-4952-2016-37-1-47-50>
12. Consonni F.M., Porta C., Marino A. et al. Myeloid-Derived Suppressor Cells: Ductile Targets in Disease. *Front. Immunol.* 2019; Vol.10, Art.949: 1-15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00949>
13. Condamine T., Gabrilovich D. Molecular mechanisms regulating myeloid-derived suppressor cell differentiation and function. *Trends Immunol.* 2012: 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.it.2010.10.002>
14. Gabrilovich D., Srinivas N. Myeloid-derived-suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2009; Vol.9: 162–174. <http://dx.doi.org/10.1038/nri2506>
15. Dai J., Gazzar M.E., Li G.Y. et al. Myeloid-Derived Suppressor Cells: Paradoxical Roles in Infection and Immunity. *J Innate Immun.* 2015; Vol.7 (2): 116-126. <http://dx.doi.org/10.1159/000368233>
16. Lyadova I., Sosunova E., Nikolaev A. et al. Mesenchymal Stem Cells and Myeloid Derived Suppressor Cells: Common Traits in Immune Regulation. *Journal of Immunology Research* 2016: 1-17. <https://doi.org/10.1155/2016/7121580>
17. Mazzoni A., Bronte V. Myeloid Suppressor Lines Inhibit T-Cell Responses by an NO-Dependent Mechanism. *The Journal of Immunology* 2002: 689-695. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.168.2.689>
18. Rodriguez P., Augusto C. Arginine regulation by myeloid derived suppressor cells and tolerance in cancer: mechanisms and therapeutic perspectives. *Immunol Rev.* 2008; Vol.222: 180–191. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2008.00608.x>
19. Rydberg C., Bergenfelz C., Leandersson K. On the origin of myeloid-derived suppressor cells. *Journals Oncotarget.* 2017; Vol. 8: 3649-3665. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12278>
20. Soliman H., Mediavilla V.M. Indoleamine 2,3-Dioxygenase: Is It an Immune Suppressor? *Cancer J.* 2010; Vol.16, Iss. 4: 354-359. <http://dx.doi.org/10.1097/PPO.0b013e3181eb3343>
21. Consonni F.M., Porta C., Marino A. et al. Myeloid-Derived Suppressor Cells: Ductile Targets in Disease. *Front. Immunol.* 2019; Vol.10, Art.949: 1-15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00949>
22. Bronte V., Brandau S., Chen S.H. et al. Recommendations for myeloid-derived suppressor cell nomenclature and characterization standards. *Nat Commun.* 2016; Vol. 7: 1-10. <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms12150>
23. Goedegebuure P., Mitchem J. Myeloid-derived suppressor cells: general characteristics and relevance to clinical management of pancreatic cancer. *Curr. Cancer Drug Targets* 2011; №11: 734–751. <http://dx.doi.org/10.2174/156800911796191024>
24. Pillay J., Tak T., Kamp V. et al. Immune suppression by neutrophils and granulocytic myeloid-derived suppressor cells: similarities and differences. *Cell Mol Life Sci.* 2013; Vol. 70: 3813-3827. <http://dx.doi.org/10.1007/s00018-013-1286-4>
25. Medina E., Hartl D. Myeloid-Derived Suppressor Cells in Infection: A General Overview. *J Innate Immun.* 2018; Vol.10: 407-413. <http://dx.doi.org/10.1159/000489830>
26. Пономарев А.В. Миелоидные супрессорные клетки при некоторых онкогематологических заболеваниях. *Клиническая онкогематология* 2017; Т.10, №1: 29–38. <http://dx.doi.org/10.21320/2500-2139-2017-10-1-29-38>
27. Rosenberg S., Sinha P. Myeloid-Derived Suppressor Cells: Linking Inflammation and Cancer. *J Immunol.* 2009; Vol. 4: 4499–4506. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0802740>
28. Lu T., Gabrilovich D. Molecular Pathways: Tumor Infiltrating Myeloid Cells and Reactive Oxygen Species in Regulation of Tumor Microenvironment. *Clin Cancer Res. Author manuscript; available in PMC.* 2013; Vol. 18, Iss. 18: 4877-4882. <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-2939>
29. Cao L.Y., Chung J.S., Teshima T. et al. Myeloid-derived Suppressor Cells in Psoriasis Are an Expanded Population Exhibiting Diverse T cell-Suppressor Mechanisms. *J Invest Dermatol.* 2016; Vol. 136: 1801–1810. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.02.816>
30. Топтыгина А.П., Семикина Е.Л., Петричук С.В. и др. Изменение уровня субпопуляций Т-регуляторных клеток и Т-хелперов 17 в периферической крови здоровых людей в зависимости от возраста. *Медицинская иммунология* 2017; Т.19, №4: 409-420
31. Furiati S.C., Catarino J.S. Silva M.V. et al. Th1, Th17, and Treg Responses are Differently Modulated by TNF- α Inhibitors and Methotrexate in Psoriasis Patients. *Sci Rep.* 2019; Vol. 9(1): 7526. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43899-9>
32. Boros P., Ochando J., Zeher M. Myeloid derived suppressor cells and autoimmunity. *Human Immunology.* 2016; Vol. 77, No. 8: 631–636. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2016.05.024>
33. Guo C., Hu F., Yi H. et al. Myeloid-derived suppressor cells have a proinflammatory role in the pathogenesis of autoimmune arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2016; Vol. 75, No. 1: 278–285. <http://dx.doi.org/10.1136/annrheumdis-2014-205508>
34. Zhang H., Wang S., Huang Y. et al. Myeloid-derived suppressor cells are proinflammatory and regulate collagen-induced arthritis through manipulating Th17 cell differentiation. *Clinical Immunology* 2015; Vol. 157, No. 2: 175–186. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2015.02.001>
35. Luan L., Han S., Wang H. et al. Down-regulation of the Th1, Th17, and Th22 pathways due to anti-TNF- α treatment in psoriasis. *International Immunopharmacology* 2015; Vol. 29: 278–284. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2015.11.005>

Сведения об авторах

Купцова Дарья Геннадьевна - м.н.с. лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» МЗ РФ, dg.kuptsova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7771-3314>, тел.: +7(499) 134-13-98

Радыгина Татьяна Вечеславовна - к.м.н., ст.н.с. лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» МЗ РФ, tvradigina@mail.ru
Мурашкин Николай Николаевич - д.м.н., проф., зав. отд. дерматологии с группой лазерной хирургии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» МЗ РФ

Петричук Светлана Валентиновна - д.б.н., проф., гл.н.с. лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» МЗ РФ, эл.почта: sito@list.ru

Поступила 7.09.2020 г.