

Характеристика субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у детей с различными формами врожденного ихтиоза

SCO — краткое сообщение

<https://doi.org/10.53529/2500-1175-2024-1-44-47>

Купцова Д. Г.¹, Мурашкин Н. Н.^{1,2,3}, Макарова С. Г.^{1,4}, Иванов Р. А.^{1,2}, Аветисян К. О.¹,
Радыгина Т. В.¹, Курбатова О. В.¹, Петричук С. В.¹

¹ ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, 119991, г. Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, с. 1, Россия

² ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента РФ, Москва, Россия

³ ФGAOYBO «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

⁴ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», Москва, Россия

Ключевые слова: дети, ихтиоз, Th17, Treg.

Для цитирования: Купцова ДГ, Мурашкин НН, Макарова СГ, Иванов РА, Аветисян КО, Радыгина ТВ, Курбатова ОВ, Петричук СВ. Характеристика субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у детей с различными формами врожденного ихтиоза. *Аллергология и иммунология в педиатрии*. 2021; 1: 44-47. <https://doi.org/10.53529/2500-1175-2024-1-44-47>

Characteristics of subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes in children with different forms of congenital ichthyosis

<https://doi.org/10.53529/2500-1175-2024-1-44-47>

D. G. Kuptsova¹, N. N. Murashkin^{1,2,3}, S. G. Makarova^{1,4}, R. A. Ivanov^{1,2}, K. O. Avetisyan¹,
T. V. Radigina¹, O. V. Kurbatova¹, S. V. Petrichuk¹

¹ National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

² Central State Medical Academy of Department of Presidential Affairs, Moscow, Russian Federation

³ Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

⁴ Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Keywords: children, ichthyosis, Th17, Treg.

For citation: Kuptsova DG, Murashkin NN, Makarova SG, Ivanov RA, Avetisyan KO, Radigina TV, Kurbatova OV, Petrichuk SV. Characteristics of subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes in children with different forms of congenital ichthyosis. *Allergology and immunology in pediatrics*. 2024; 1: 44-47. <https://doi.org/10.53529/2500-1175-2024-1-44-47>

Врожденные ихтиозы (ВИ) представляют собой большую гетерогенную группу редких генетических кожных заболеваний с иммунными нарушениями и нарушениями ороговения кожи [1]. При этих заболеваниях наблюдается дефектная дифференцировка кератиноцитов и аномальное формирование эпидермального барьера [1, 2]. Возникающая в результате дисфункция кожного барьера приводит к увеличению трансэпидермальной потери воды (TEWL-показатель функций кожного барьера) и воспалению [3, 4]. Нарушение ороговения кожи независимо от формы ВИ клинически характеризуется сухостью, шелушением, гиперкератозом и эритемой [1, 2]. Исследования последних лет показали, что клинические про-

явления ВИ и прогрессирование заболевания обусловлено также неконтролируемой активацией клеток иммунной системы и медиаторов воспаления в коже [3, 5, 6]. У пациентов с ВИ было установлено, что сильная активация цитокинов семейства IL-17 и TNF α в коже тесно связаны с тяжестью заболевания и изменением показателя TEWL [7, 8].

ВИ охватывают спектр синдромальных и несиндромальных дерматозов с различной генетической основой [1, 6]. К несиндромальным ихтиозам относят наиболее охарактеризованный и распространенный фенотип — вульгарный ихтиоз (IV), обусловленный мутациями гена *FLG* (кодирующего филаггрин). Наиболее распространенными

редкими несиндромальными формами ВИ являются ламеллярный ихтиоз (LI, мутации гена *TGM1*, кодирующий трансглутаминазу 1 и др.) и врожденная ихтиозиформная эритродермия (CIE; множественные гены), известные под общим названием аутосомно-рецессивный врожденный ихтиоз, а также кератинопатический ихтиоз (KPI) с мутациями в генах *KRT1*, *KRT2* и *KRT10* (гены кодирующие белки кератина) [1, 9, 10]. Синдромальные формы ВИ характеризуются моногенным типом наследования, низкой распространенностью и включают синдром Нетертона (NS), который характеризуется большим количеством (> 80) мутаций гена *SPINK5* и специфическими клиническими проявлениями [1, 7].

Актуальность исследования роли иммунной системы в развитии хронического воспаления при ихтиозе обусловлена поиском эффективных таргетных методов лечения детей с различными формами ВИ. На сегодняшний день остается огромная потребность в более безопасных и эффективных методах лечения ихтиоза у детей [1, 5, 11]. Комплексное иммунофенотипирование крови у большего числа пациентов с ихтиозом позволит охарактеризовать иммунный профиль различных форм заболевания и поможет в выборе таргетной терапии при ВИ у детей.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ: определить особенности показателей основных и малых популяций лимфоцитов у детей с разными формами врожденного ихтиоза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Обследовано 96 детей с несиндромальными (n = 65) и синдромальными (n = 31) формами врожденного ихтиоза, включая синдром Нетертона (NS — группа 1, n = 20), X-сцепленный ихтиоз (группа 2, n = 11), ламеллярный ихтиоз (LI — группа 3, n = 17), ихтиозиформная эритродермия (CIE — группа 4, n = 16), кератинопатический ихтиоз (KPI — группа 5, n = 15) и вульгарный ихтиоз (IV — группа 6, n = 14). Возраст обследованных детей составил от 2 месяцев до 18 лет. Исследование выполнено на базе лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии, обследование и лечение пациентов — в отделении дерматологии и аллергологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. Диагноз и подтип ВИ был установлен на основании результатов молекулярно-генетических исследований методом NGS.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом (протокол № 6 от 17.06.2021). При обследовании детей получено письменное информированное согласие родителей.

У всех пациентов проводили иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови методом проточной цитометрии на цитофлуориметре «Novocyte» (ACEA Biosciences, США) с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter, США). Методом пошагового гейтирования в регионе CD45⁺ было определено содержание: Т-лимфоцитов (CD3⁺), Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺), цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺), В-лимфоцитов (CD3⁻CD19⁺), NK-клеток (CD3⁻CD16⁺CD56⁺), регуляторных Т-клеток (CD4⁺CD25^{high}CD127^{low} — Treg), активированных Т-хелперов (CD4⁺CD25⁺CD127^{high} — Thact), Th17-лимфоцитов (CD3⁺CD4⁺CD161⁺ — Th17) и Th2-лимфоцитов (CD3⁺CD4⁺CD294⁺ — Th2).

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:

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

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%.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Statistica 10.0. Описательная статистика количественных признаков представлена в формате: медиана (нижний и верхний квартили) — Me ($Q_{0,25}$ — $Q_{0,75}$). Для оценки значимости различий между группами использовали непараметрический критерий Манна — Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследования проводили анализ содержания основных и малых популяций лимфоцитов у детей с синдромальными и несиндромальными формами врожденного ихтиоза. Независимо от формы ВИ, у детей выявлено увеличение содержания активированных Т-хелперов относительно показателей возрастной нормы. Анализ выявил значимое увеличение относительно

го содержания Th17-лимфоцитов в группе детей с синдромальными формами заболевания относительно показателей в группе с несиндромальными: для относительного содержания Th17 (% от Лф) отклонение от показателей нормы составило 84,3 (30–203) % против 29,0 (–2,3–77) %, $p=0,005$; для относительного содержания Th17 (% от CD4) – 111,8 (22,4–221) % против 18,2 (–12–80) %, $p=0,001$.

Анализ содержания основных популяций лимфоцитов у детей с синдромом Нетертона, X-сцепленным ихтиозом, ламеллярным ихтиозом, ихтиозиформной эритродермией, кератинопатическим ихтиозом и вульгарным ихтиозом показал, что относительное и абсолютное содержание Т-лимфоцитов, Т-хелперов, НК-клеток, В-лимфоцитов в основном находилось в пределах возрастных референсных значений, однако между формами заболевания наблюдались достоверные различия и большой разброс показателей. Для пациентов с синдромом Нетертона выявлено снижение процента цитотоксических Т-лимфоцитов ниже уровня возрастной нормы на 12,5 % (–21–42,6). Аналогичное снижение относительного содержания CD8⁺ Т-клеток получено для детей с ламеллярным ихтиозом: –10,8 (–27,1–20,7) %. В группе детей с X-сцепленным ихтиозом выявлено снижение относительного и абсолютного содержания В-лимфоцитов ($p<0,05$), а в группе с КРІ – снижение относительно содержания В-лимфоцитов ниже возрастной нормы. Для детей с вульгарным ихтиозом характерно существенное снижение содержания НК-клеток, относительно возрастной нормы и относительно показателей детей с ламеллярным ихтиозом ($p=0,025$) и кератинопатическим ихтиозом ($p=0,002$).

Наибольшие изменения содержания лимфоцитов были выявлены при анализе малых популяций CD4⁺ Т-клеток в периферической крови у детей с разными формами ВИ. При всех изученных формах ВИ у детей установлено существенное увеличение содержания активированных Т-хелперов, которое было увеличено в 1,8–3,9 раза относительно показателей возрастной нормы. Что касается регуляторных Т-клеток, то наибольшее повышение содержания данной популяции выявлено для детей с синдромом Нетертона и составило для относительного содержа-

ния (% CD4) – 126 (46–200) %, для абсолютного (кл/мкл) – 155 (–5–349) %. В других группах детей с ВИ относительное содержание Treg находилось в диапазоне нормы, тогда как абсолютное содержание популяции было повышено в группах с LI, CIE, КРІ и IV. Стоит отметить, что при всех формах врожденного ихтиоза отмечался большой разброс содержания Treg.

Анализ содержания Th17-лимфоцитов у детей с разными формами ВИ показал, что повышение популяции наблюдалось у детей с синдромом Нетертона: относительного содержания (% CD4) на 112 (65–209) %; для абсолютного содержания (кл/мкл) на 168 (43–342) %. Повышение абсолютного количества Th17 также было выявлено в группе детей с ихтиозиформной эритродермией и составило 190 (76–311) % относительно возрастной нормы. Повышение содержания Th2-лимфоцитов было выявлено при NS, CIE и КРІ. По содержанию Th2-лимфоцитов наибольшее повышение относительно показателей возрастной нормы выявлено в группе пациентов с кератинопатическим ихтиозом на 200 (131–393) % для относительного содержания и на 399 (172–571) % для абсолютного содержания.

Таким образом, проведенное исследование позволило определить характерные отклонения показателей основных и малых популяций лимфоцитов для разных форм врожденного ихтиоза у детей. Для пациентов детского возраста с синдромом Нетертона, ихтиозиформной эритродермией и ламеллярным ихтиозом показано значительное увеличение содержания активированных Т-хелперов и Th17-лимфоцитов, а для детей с синдромом Нетертона, кератинопатическим ихтиозом, ихтиозиформной эритродермией и вульгарным ихтиозом – увеличение содержания регуляторных Т-клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные о состоянии клеточного иммунитета у детей с различными формами врожденного ихтиоза расширяют понимание иммунопатогенеза данного заболевания и могут послужить основой для выбора таргетной биологической терапии, что позволит тем самым улучшить состояние пациентов и прогнозировать течение болезни.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Мурашкин НН, Аветисян КО, Иванов РА, Макарова СГ. Врожденный ихтиоз: клинико-генетические характеристики заболевания. Вопросы современной педиатрии. 2022; 21 (5): 362–377. [Murashkin NN, Avetisyan KO, Ivanov RA, Makarova SG. Congenital Ichthyosis: Clinical and Genetic Characteristics of the Disease. Current Pediatrics. 2022; 21 (5): 362–377. (In Russ.)] <https://doi.org/10.15690/vsp.v21i5.2459>.
2. Тахтарова ТГ, Хисматуллина ЗР, Панова ЛД, Панова АН. Ихтиоз (понятие, патогистология, клиническая картина, лечение). Вестник дерматологии и венерологии. 2021; 97 (3): 6–13. [Takhtarova TG, Khismatullina ZR, Panova LD, Panova AN. Ichthyosis (concept, pathohistology, clinical picture, treatment). Vestnikdermatologiiivenerologii. 2021; 97 (3): 6–13. (In Russ.)] <https://doi.org/10.25208/vdv1214>.
3. Аветисян КО, Мурашкин НН, Макарова СГ, Петричук СС, Купцова ДГ. Особенности клеточного иммунитета у детей с врожденным ихтиозом и их роль в стратегии патогенетической терапии заболевания. Вопросы современной педиатрии. 2023; 22 (5): 415–424. [Avetisyan KO, Murashkin NN, Makarova SG, Petrichuk SS, Kuptsova DG. Features of Cell-Mediated Immunity in Children with Congenital Ichthyosis and Their Role in the Pathogenetic Management. Current Pediatrics. 2023; 22 (5): 415–424. (In Russ.)] <https://doi.org/10.15690/vsp.v22i5.2645>.
4. Vahlquist A, Törmä H. Ichthyosis: A Road Model for Skin Research. Acta Derm Venereol. 2020; 100 (7): adv00097. Published 2020 Mar 25. <https://doi.org/10.2340/00015555-3433>.
5. Lefferdink R, Rangel SM, Chima M, et al. Secukinumab responses vary across the spectrum of congenital ichthyosis in adults. Arch Dermatol Res. 2023; 315 (2): 305–315. <https://doi.org/10.1007/s00403-022-02325-3>.
6. Еремина АА, Герлингер АВ, Макеенко ОА, Кох НВ, Сергеева ИГ. Внедрение современных генетических и инструментальных методов обследования в ведении пациентов с вульгарным ихтиозом и атопическим дерматитом. Клиническая дерматология и венерология. 2023; 22 (4): 399–405. [Eremina AA, Gerlinger AV, Makeenko OA, Kokh NV, Sergeeva IG. Introduction of modern genetic and instrumental examination methods in patients with ichthyosis vulgaris and atopic dermatitis. Klinicheskaya Dermatologiya i Venerologiya. 2023; 22 (4): 399–405. (In Russ.)] <https://doi.org/10.17116/klinderma202322041399>.
7. Czarnowicki T, He H, Leonard A, et al. The Major Orphan Forms of Ichthyosis Are Characterized by Systemic T-Cell Activation and Th-17/Tc-17/Th-22/Tc-22 Polarization in Blood. J Invest Dermatol. 2018; 138 (10): 2157–2167. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2018.03.1523>.
8. Paller AS, Renert-Yuval Y, Suprun M, et al. An IL-17-dominant immune profile is shared across the major orphan forms of ichthyosis. J Allergy Clin Immunol. 2017; 139 (1): 152–165. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.07.019>.
9. Новиков ЮА, Зыкова ЕА, Правдина ОВ. Описание клинического случая врожденной ихтиозиформной эритродермии Брока. Вестник дерматологии и венерологии. 2019; 95 (3): 46–53. [Novikov Yu A, Zyкова E A, Pravdina OV. Clinical case of Brock's congenital ichthyosiform erythroderma. Vestnik Dermatologii i Venerologii. 2019; 95 (3): 46–53. (In Russ.)] <https://doi.org/10.25208/0042-4609-2019-95-3-46-53>.
10. Кошкин СВ, Чермных ТВ, Евсеева АЛ, Рябова ВВ, Рябов АН. Ламеллярный врожденный ихтиоз. Вестник дерматологии и венерологии. 2016; 92 (5): 44–50. [Koshkin SV, Chermnykh TV, Evseeva AL, Ryabova VV, Ryabov AN. Lamellar congenital ichthyosis in practice of dermatologists. Vestnik dermatologii i venerologii. 2016; 92 (5): 44–50. (In Russ.)] <https://doi.org/10.25208/0042-4609-2016-92-5-44-50>.
11. Петрова СЮ, Альбанова ВИ, Ноздрин КВ, Гузев КС. Основные эффекты воздействия ретинола пальмитата на структуры кожи и принципы его применения в дерматологической практике. Вестник дерматологии и венерологии. 2023; 99 (1): 6–17. [Petrova SY, Albanova VI, Nozdrin KV, Guzev KS. Main effects of retinol palmitate on skin structures and the technology of its use in dermatological practice. Vestnik dermatologii i venerologii. 2023; 99 (1): 6–17. (In Russ.)] <https://doi.org/10.25208/vdv1375>.