НА ПРАВАХ РУКОПИСИ

Купцова Дарья Геннадьевна

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ПСОРИАЗА ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫМИ БИОЛОГИЧЕСКИМИ ПРЕПАРАТАМИ В ДЕТСКОМ ВОЗРАСТЕ

3.2.7. Иммунология

3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России)

Научные руководители:
доктор медицинских наук,
профессор **Мурашкин Николай Николаевич**
доктор биологических наук,
профессор **Петричук Светлана Валентиновна**

Официальные оппоненты:
Балмасова Ирина Петровна – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии Научно-исследовательского медицинского стоматологического института Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Луговская Светлана Алексеевна – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится « __ » _____ 2023 года в ___ часов на заседании диссертационного совета 68.1.002.01 в ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России по адресу: 115522, Москва, Каширское шоссе, д. 24.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России и на сайте https://nrcii.ru/dissertatsionnyy-sovet/dissertatsii-postupivshie-na-rassmotrenie/.

Автореферат разослан «____» _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук Гудима Георгий Олегович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Псориаз (ПС) – хроническое воспалительное заболевание кожи с наследственной предрасположенностью, характеризующееся повышенной пролиферацией эпидермальных клеток, нарушением кератинизации и воспалительной реакцией в дерме, обусловленной активацией Т-лимфоцитов и синтезом провоспалительных цитокинов. В педиатрической практике распространенность патологии занимает второе место после атопического дерматита и составляет от 0,1% до 1,4% населения мира. Вульгарный, обыкновенный псориаз является наиболее рааспространенной клинической формой псориаза у детей, составляющий до 80% случаев заболеваемости [Кубанов А.А. и соавт., 2020; Yamanaka K. et al., 2021; Menter A. et al., 2020].

Диагностика псориаза основывается на визуальном осмотре кожных покровов пациента, с выявлением симптомов псориатической триады – феномен стеаринового пятна, кровяной росы, терминальной пленки, с учетом жалоб больного и анамнеза заболевания [Relvas M. et al., 2017; Чебышева С. и соавт., 2020].

Для лечения псориаза у детей разработаны алгоритмы наружной и системной терапии, основанные на физикальном обследовании и клинической оценке характерных признаков и изменений на коже пациента. При среднетяжелом и тяжелом течении заболевания, а также при неэффективности ранее применяемой терапии показано назначение генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП) [Мурашкин Н.Н. и соавт., 2020; Галлямова Ю. и соавт.,2021]. Таргетное действие ГИБП основано на блокаде основных провоспалительных цитокинов патогенеза заболевания, таких как фактор некроза опухоли-альфа (TNFα), интерлейкин (IL) -17, IL-12 и IL-23 [Dogra S. et al.,2018; Намазова-Баранова Л.С. и соавт., 2021]. Применение ГИБП у детей с псориазом показало свою эффективность, увеличив продолжительность ремиссии и улучшив качество жизни пациентов. Однако все чаще встречаются случаи развития резистентности к проводимой терапии, требующие замены или отмены препарата [Curmin R. et al., 2022; Радыгина Т.В. и соавт., 2022]. Актуальность проведенного исследования связана с участием иммунной системы в патогенезе заболевания и отсутствием лабораторных маркеров эффективности ГИБП у детей с псориазом.

Степень разработанности темы исследования

Центральную роль в развитии клинических признаков при псориазе играют гиперактивированные реакции Th1- и Th17-лимфоцитов и повышенная продукция провоспалительных цитокинов (TNFα, IFNγ, IL-6, IL-17, IL-21, IL-23) [Seyedmirzaei H. et al., 2021; Chhabra S. et al., 2022]. Отличительной чертой псориаза является устойчивое воспаление, которое приводит к неконтролируемой пролиферации кератиноцитов и их дисфункциональной дифференцировке. Патофизиология псориаза связана не только с активацией провоспалительных реакций, но и со снижением противовоспалительных функций иммуносупрессорных клеток (регуляторные Т-лимфоциты (Treg), регуляторные В-клетки и клетки-супрессоры миелоидного происхождения (MDSCs) [Nussbaum L. et al., 2021; Kanda N. et al., 2021; Козлов В.А. и соавт., 2021]. Нарушение функции Treg способствует развитию псориаза за счет неэффективного противодействия провоспалительным Т-клеткам, в частности Th1- и Th17-лимфоцитам [Uttarkar S. et al., 2019; Orsmond A. et al., 2021]. Показано, что содержание MDSCs в периферической крови увеличивается у взрослых пациентов с псориазом по сравнению со здоровыми и связано с тяжестью и длительностью заболевания [Consonni F. et al., 2019; Заморина С.А. и соавт., 2021; Моренкова А.Ю. и соавт., 2021; van Geffen C. et al., 2022].

Важную роль в иммунном ответе при воспалении играет пуринергическая регуляция функционирования Т-клеток [Giuliani A. et al., 2021; Zimmermann H. et al., 2021]. Основными нуклеотидазами, участвующими в гидролизе внеклеточного аденозинтрифосфата (еАТФ) являются эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролаза-1 (CD39) и экто-5’-нуклеотидаза (CD73), которые обеспечивают баланс провоспалительного АТФ и противовоспалительного аденозина в очаге воспаления [Alvarez-Sanchez N. et al., 2019; Zeng J. et al., 2020; Eberhardt N. et al., 2022]. Результаты исследований указывают на высокую значимость определения уровней экспрессии CD39 и CD73 на Treg в диагностике, мониторинге эффективности терапии многих заболеваний [Vuerich M. et al., 2019; Ferrari D.2021].

Известно, что каждый этап иммунного ответа характеризуется метаболическим профилем лимфоцитов, определяющим их функции [Saravia J. et al., 2020; Braun M. et al., 2021]. В наивных Т-клетках преобладают процессы окислительного фосфорилирования (OXPHOS), в пролиферирующих клетках - процессы

гликолиза, глутаминолиза и окисления жирных кислот [Geltink R. et al., 2018; Voss K. et al., 2021; Zhang M. et al., 2022].

Изменения в путях передачи внутриклеточных сигналов, влияющие на активацию иммунных клеток, пролиферацию и дифференцировку кератиноцитов при псориазе, могут объяснить сложный патогенез заболевания [Sun W. et al., 2018; Prescott J. et al., 2021; Liu D.2022]. Одним из путей передачи внутриклеточных сигналов является сигнальный путь ядерного фактора транскрипции κB (NF-κB), который контролирует экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла. Проточная цитометрия с визуализацией позволяет количественно оценить уровень транслокации NF-κB в разных популяциях лимфоцитов [Barteneva N. et al., 2017; Петричук С. и соавт., 2022].

Учитывая рост заболеваемости псориазом у детей, наличие тяжелых форм заболевания, развитие резистентности к терапии, изучение механизмов регуляции иммунного ответа и оценка комплекса иммунологических параметров является перспективным направлением поиска потенциальных критериев своевременного прогноза эффективности ГИБП при данной патологии.

Цель исследования

Разработать информативные иммунологические критерии прогноза эффективности применения генно-инженерных биологических препаратов при псориазе у детей.

Задачи исследования

1. Оценить показатели клеточного иммунитета (основные и малые популяции лимфоцитов, Т-клетки памяти, клетки-супрессоры миелоидного происхождения) в зависимости от клинических характеристик детей с вульгарным псориазом.
2. Выявить особенности метаболизма лимфоцитов различных субпопуляций (активность митохондриальных дегидрогеназ и эктонуклеотидаз) и клеток-супрессоров миелоидного происхождения (аргиназа-1) у детей с псориазом при разной тяжести заболевания и эффективности лечения.
3. Определить концентрации комплекса циркулирующих цитокинов, регулирующих аутоиммунные реакции, у детей с псориазом в зависимости от тяжести заболевания и эффективности терапии ГИБП.

4. Изучить уровень транслокации ядерного фактора транскрипции кВ (NF-кВ) в основных и малых популяциях лимфоцитов у детей с псориазом в зависимости от типа терапии и эффективности применения ГИБП.

5. Установить ранние прогностические критерии эффективности ГИБП у детей с псориазом на основе выявленных информативных иммунологических показателей.

Научная новизна

Впервые у детей с псориазом описана возрастная динамика основных и малых популяций лимфоцитов, а также $CD4^+$- и $CD8^+$-Т-клеток памяти в периферической крови. Выявлена информативность показателей клеточного иммунитета (Th17, Thact, Treg, MDSCs) в качестве дополнительных лабораторных критериев, отражающих активность заболевания. Определены пороговые значения содержания Th17, Thact, Treg, Т-клеток памяти, позволяющие прогнозировать эффект ГИБП при вульгарном псориазе у детей.

Впервые проведена оценка MDSCs у детей с псориазом и показано увеличение содержания популяции и их функциональной активности, особенно у детей с хорошим эффектом ГИБП.

Впервые в педиатрической практике при псориазе применен иммуноцитохимический метод определения активности митохондриальных дегидрогеназ в основных и малых популяциях лимфоцитов. Показана информативность определения метаболической активности клеток иммунной системы (СДГ в Treg) в оценке и прогнозе эффективности проводимого лечения ГИБП.

Впервые у пациентов с псориазом и условно здоровых детей проведена оценка экспрессии ферментов пуринергической регуляции $CD39^+$- и $CD73^+$-эктонуклеотидаз в популяциях Th17, Thact, Treg. У детей с псориазом показано снижение супрессорной популяции Th17-лимфоцитов ($CD39^+$Th17). Выявлена информативность содержания $CD39^+$Treg в качестве дополнительного лабораторного маркера оценки тяжести псориаза у детей и эффективности проводимой биологической терапии блокаторами TNFα и IL-12/23.

Впервые проведена оценка широкого комплекса циркулирующих цитокинов и хемокинов у детей с псориазом. Выявлено существенное увеличение уровней провоспалителительных цитокинов (IL-23, IL-22, IL-12p70, IL-27, IL-17E, IL-17F,

TNFα), что подтверждает целесообразность назначения антицитокиновой терапии. Определены наиболее информативные цитокины и их пороговые значения, позволяющие прогнозировать эффективность биологической терапии псориаза у детей.

Впервые у пациентов с псориазом и здоровых детей методом проточной цитометрии с визуализацией проведен анализ транкрипционного фактора NF-κB в популяциях лимфоцитов. У детей с псориазом установлено существенное повышение уровня транслокации NF-κB в Т-хелперах, Thact, Treg, Th17 и Tc17. Показана информативность оценки данного показателя и определены пороговые значения NF-κB для прогноза эффективности ГИБП. Выявлена обратная зависимость уровня транслокации NF-κB и активности митохондриальных дегидрогеназ (СДГ, ГФДГ) в популяциях лимфоцитов как у детей с псориазом, так и в группе сравнения.

Впервые на основании клинических и иммунологических показателей установлены ранние лабораторные маркеры эффективности биологической терапии псориаза в детском возрасте. Определены пороговые значения иммунологических показателей, позволяющие прогнозировать эффект ГИБП при вульгарном псориазе у детей.

Теоретическая и практическая значимость работы

При исследовании клеточного иммунитета у детей с вульгарным псориазом получены новые данные о содержании основных и малых популяций лимфоцитов, а также MDSCs. Прогресс заболевания и неэффективность проводимой биологической терапии характеризуются нарастанием нарушений субпопуляционного состава. Содержание Thact и отношение Th17/Treg позволяет оценить степень воспалительного процесса при псориазе и прогнозировать эффект проводимой терапии ГИБП.

В работе отработаны и подробно описаны новые современные иммунологические методы исследования клеточного иммунитета, путей передачи внутриклеточных сигналов в иммунных клетках, показана информативность оценки метаболической активности иммунных клеток и уровня циркулирующих цитокинов в прогнозе эффективности ГИБП у детей с вульгарным псориазом.

Исследованы закономерности изменения количественных характеристик иммунологических параметров при разной эффективности проводимой терапии

псориаза у детей. Определены дополнительные лабораторные критерии и их пороговые значения, позволяющие персонифицировано и своевременно проводить коррекцию биологической терапии в детском возрасте.

Публикации по теме диссертации

Основные результаты диссертации опубликованы в 23 печатных работах, из которых 14 работ в научных журналах, включенных в перечень рецензируемых периодических научных изданий, рекомендованных для опубликования основных научных результатов докторских и кандидатских диссертаций и 9 публикаций в материалах конгрессов и конференций.

Апробация результатов

Апробация работы состоялась 26 апреля 2023 года на заседании проблемной комиссии Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Основные результаты диссертации доложены на научно-практических конференциях: XVI Всероссийский научный форум «Дни иммуннологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2017), IX Всероссийская школа по клинической иммунологии «Иммунология для врачей» (Пушкинские Горы, 2018), 5th European Congress of Immunology (Амстердам, 2018), научно-практический семинар «Визуализирующая проточная цитометрия в клинической практике и научных исследованиях» (Москва, 2019), XXVI Всероссийская научно-практическая конференция «Клиническая лаборатория: от аналитики к диагнозу» (Москва, 2021), VIII Российский конгресс лабораторной медицины (Москва, 2022), 17 Всероссийская конференция с международным участием «Иммунологические чтения в г. Челябинске» (Челябинск, 2022), 8 научно-практическая школа-конференция Аллергология и клиническая иммунология для практикующих аллергологов-иммунологов, инфекционистов, педиатров, терапевтов и гинекологов (Сочи, 2022), V Всероссийский Съезд Ассоциации детских аллергологов и иммунологов России (Москва, 2022), XXVIII Всероссийской научно-практической конференции «Наукоемкие лабораторные технологии для клинической практики» (Москва, 2023), Международная научно-практическая конференция «Современные тенденции развития инфектологии, медицинской

паразитологии, эпидемиологии и микробиологии» (Ургенч, 2023), XVII Всероссийский научный форум с международным участием имени академика В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2023).

Внедрение в практику

Результаты диссертационной работы внедрены в практику отделения дерматологии с группой лазерной хирургии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, а также в учебный процесс кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации и в учебный процесс кафедры педиатрии и детских инфекционных болезней Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 240 страницах машинописного текста, включает 40 таблиц, 85 рисунков и главы «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты исследования», «Обсуждение результатов исследования», «Заключение», «Список литературы». Библиография включает 286 источников, в том числе 73 отечественных и 213 зарубежных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 277 детей с обыкновенным вульгарным псориазом, в возрасте от 1,5 до 18 лет, находившиеся в период с 2016 г. по 2022 г. на лечении в отделении дерматологии с группой лазерной хирургии (заведующий – д.м.н., профессор Н.Н. Мурашкин) ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России (директор – д.м.н., профессор А.П. Фисенко). Группу сравнения составили 90 здоровых детей в возрасте от 1,4 до 18 лет. Тяжесть течения псориаза оценивали по индексам оценки тяжести и распространенности псориаза - PASI (Psoriasis Area Severity Index) и общей площади поражения тела псориазом - BSA (Body Surface Area). Значение PASI изменялось от 0 до 68 (Me 14,0 (9,0-19,9)), BSA – от 0 до 100 % (Me 20,0 (12,0-30,0)). При PASI<10 баллов степень тяжести псориаза определяли как легкую, при PASI от 10 до 19 - как среднетяжелую, при PASI≥20 баллов – как тяжелую степень тяжести. Дети с псориазом получали разную

патогенетическую терапию: наружные кортикостероиды (n=105), метотрексат (n=62), блокаторы TNFα (адалимумаб и этанерцепт, n=59) и блокатор IL-12/23 (устикинумаб, n=51). Критериями назначения биологической терапии являлись PASI≥10 и/или BSA≥10%. У 110 детей с псориазом оценивали индексы PASI, BSA и проводили лабораторное обследование до назначения биологической терапии, на 16 и 52 неделях терапии. Эффективность биологической терапии псориаза определяли по достижению PASI 75 к году терапии: в группу с недостаточным эффектом ГИБП составили 52 ребенка («НЭ», менее PASI 75), 58 детей составили группу с хорошим эффектом ГИБП («PASI 75» и более).

Лабораторные исследования выполнены на базе лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России (заведующая лабораторным отделом – д.м.н., Е.Л. Семикина). Научная работа проводилась с соблюдением всех правил научных исследований, основывалась на принципах биоэтики и одобрена Локальным этическим комитетом ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России (протокол № 2 от 14 февраля 2020 г.).

Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови проводили на проточном цитометре Novocyte (ACEA Biosciences, США) с использованием моноклональных антител (МАТ) по стандартизованному протоколу. В регионе $CD45^+$ определяли: $CD3^+$ (Т-лимфоциты), $CD3^+CD4^+$ (Т-хелперы), $CD3^+CD8^+$ (цитотоксические Т-лимфоциты), $CD3^-CD19^+$ (В-лимфоциты), $CD3^-CD16^+/CD56^+$ (NK-клетки), $CD3^+CD16^+/CD56^+$, $CD3^+HLA\text{-}DR^+$ (активированные Т-лимфоциты), $CD4^+CD127^{low}CD25^{high}$ (Treg), $CD4^+CD25^+CD127^{high}$ (Thact), $CD3^+CD4^+CD161^+$ (Th17) и $CD3^+CD4^+CD294^+$ (Th2-лимфоциты). Оценивали содержание субпопуляций $CD4^+$- и $CD8^+$-Т-клеток памяти: наивные Т-хелперы (T_{NAIVE}), центральные Т-клетки памяти (T_{CM}), эффекторные Т-клетки памяти (T_{EM}) и терминально-дифференцированные эффекторные Т-клетки (T_{EMRA}), используя МАТ - CD3, CD4, CD8, CD45R0, CD197.

Анализ содержания MDSCs и их функциональной активности выполняли методом проточной цитометрии, включающий выделение «лимфоидно-моноцитарного» региона, выделение популяции клеток, не несущих на себе линейные лимфоцитарные маркеры CD3, CD19, CD56 с флуорохромом PE и негативные по HLA-DR – FITC, выделение двойной позитивной популяции по маркерам CD11b – APC-Cy7 и CD33 – PE-Cy7, разделение популяции MDSCs по

экспрессии CD14 – PerCP и CD15 – APC на субпопуляции M-MDSCs и G-MDSCs. Иммуносупрессорную способность популяции MDSCs оценивали по экспрессии внутриклеточного фермента аргиназы-1. Экспрессию фермента определяли по средней интенсивности флуоресценции (MFI).

Определение количества субпопуляций $CD4^+$ Т-клеток с экспрессией $CD39^+$- и $CD73^+$-эктонуклеотидаз включало использование антител, конъюгированные с флуорохромами: CD3 – PerCP, CD4 – FITC, CD127 – PE, CD161 – PE, CD25 – PE-Cy7, CD39 – APC и CD73 – APC-Cy7 (Beckman Coulter, Sony Biotechnology, США). Методом пошагового гейтирования проводили выделение следующих популяции клеток: $CD39^+$Tregs, $CD73^+$Tregs, $CD39^+$Thact, $CD73^+$Thact, $CD39^+$Th17, $CD73^+$Th17.

Иммуноцитохимический метод определения активности митохондриальных дегидрогеназ в популяциях лимфоцитов выполняли с использованием наборов для определения СДГ и ГФДГ (НИЦ «Курчатовский институт» - ИРЕА, Россия). Метод основывается на измерении показателей гранулярности клетки до и после проведения цитохимической реакции. Активность фермента оценивали отношением показателя SSC после проведения реакции к SSC до проведения реакции, умноженным на 100.

Мультиплексный анализ уровня цитокинов в сыворотке крови включал количественное определение концентрации 25 цитокинов и хемокинов: IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-17E/IL-25, IL-17F, IL-21, IL-22, IL-23, IL-27, IL-28A, IL-31, IL-33, GM-CSF, IFNγ, CCL20/MIP-3α, TNFα и TNFβ с использованием набора MILLIPLEX MAP Human Th17 (Millipore, Германия). Считывание образцов и анализ данных выполняли на приборе Bio-plex 200 (Bio-Rad, США).

Анализ уровня транслокации NF-κB в популяциях лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии с визуализацией (Amnis ImageStream^X Mk II, США) с применением набора «Amnis NF-κB Translocation Kit» (Luminex, США). Определяли уровень транслокации NF-κB в Т- и В-лимфоцитах, Т-хелперах, цитотоксических Т-лимфоцитах, NK-клетках, Thact, Treg, Th17 и Tc17 ($CD3^+CD8^+CD161^+$). Собранные изображения проанализированы с использованием программного обеспечения IDEAS® по алгоритму, представленному на рис. 1.

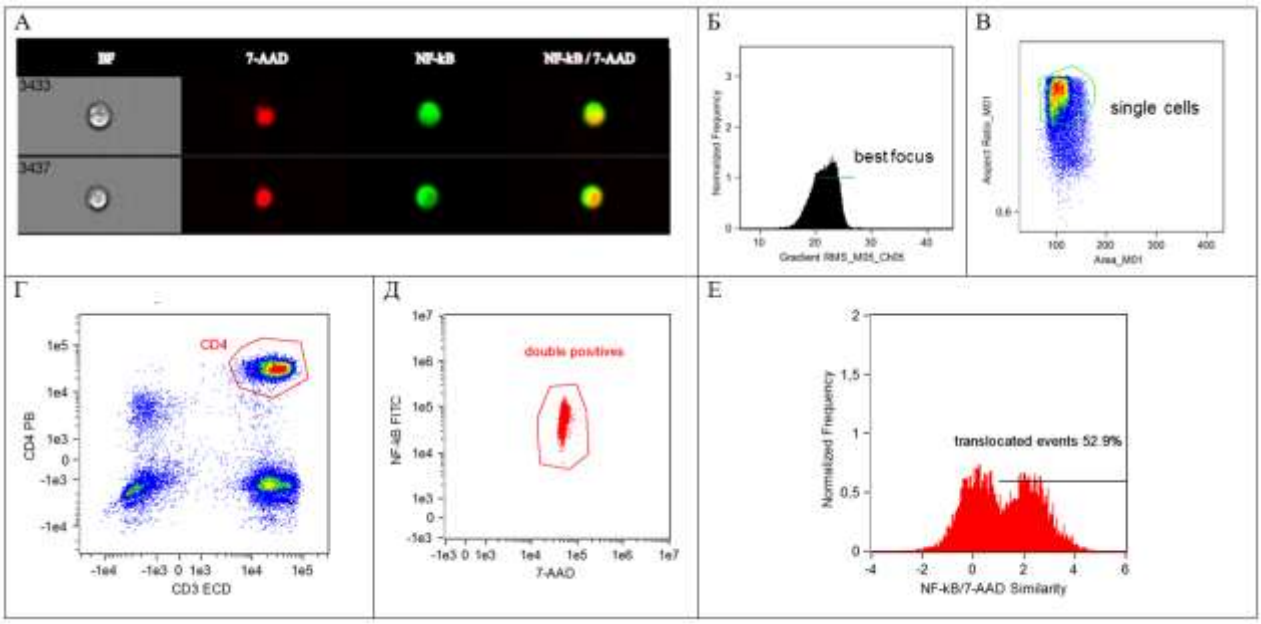


Рис. 1. Последовательность этапов анализа при оценке уровня транслокации NF-κB: А – галерея записанных изображений клеток; Б – выделение клеток в хорошем фокусе по параметру Gradient RMS; В – выделение одиночных событий; Г – выделение исследуемой популяции клеток (Т-хелперы - CD3_ECD - канал 4; CD4_PB - канал 3); Д – выделение двойных-позитивных клеток (NF-κB_FITC - канал 2; 7-AAD - канал 5); Е – выделение процента клеток с транслокацией NF-κB по параметру Similarity>1

Статистические методы. Статистический анализ результатов выполняли с помощью Statistica 13.0 (StatSoft, США). Построение точечных графиков выполнено с использованием Prism Graphpad 9. Описательная статистика количественных признаков представлена в виде медианы (нижний – верхний квартили) – Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$). Достоверность различий между группами оценивали непараметрическим U-критерием Манна-Уитни, критерием Вилкоксона для сопряженных пар, критерием Фишера (F-критерий), различия распределений оценивали критерием χ-квадрат. Различия при $p<0,05$ считались достоверными. Корреляционный анализ был выполнен методом множественной пошаговой регрессии с исключением. Анализ пороговых значений исследуемых показателей осуществляли методом характеристических кривых (ROC-анализ) с использование SPSS 16.0 («SPSS: An IBM Company», США). В исследование включены дети разного возраста и для оценки изменений в основных и малых популяциях лимфоцитов рассчитывали процент отклонения индивидуальных показателей от уровня возрастной нормы.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

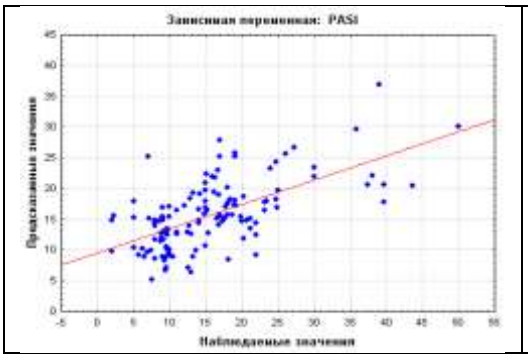
Показатели клеточного иммунитета у детей с псориазом

В результате проведенного исследования получено, что возрастная динамика содержания основных популяций лимфоцитов у детей с вульгарным псориазом соответствовала таковой у здоровых детей: абсолютное количество клеток в основных популяциях снижалось с возрастом на фоне повышения относительного содержания Т-лимфоцитов. Выявлена прямая зависимость относительного количества Th17 и Thact от возраста детей, при этом абсолютное количество этих популяций не зависело от возраста. Относительное количество Treg не зависело от возраста детей, а абсолютное количество снижалось с возрастом, повторяя динамику абсолютного содержания Т-хелперов. У детей с псориазом показано увеличение популяции центральных $CD4^+$- и $CD8^+$-Т-клеток памяти, эффекторных $CD4^+$-Т-клеток памяти и снижение наивных $CD4^+$-Т-клеток памяти с возрастом ($p<0,05$). Относительное содержание клеток памяти отличалось на разных типах терапии: наибольшее количество эффекторных $CD4^+$-Т-клеток памяти наблюдалось у детей на наружной терапии, а наименьшее количество эффекторных $CD8^+$-Т-клеток памяти – на терапии метотрексатом.

У детей с псориазом выявлено значительное повышение относительного количества (% CD4) Thact в 80% случаев и Th17-лимфоцитов в 36% случаев в периферической крови, а также абсолютного количества Thact в 77% случаев и Th17-лимфоцитов в 47% случаев, при этом уровень Treg не отличался от показателей группы сравнения. Значимое увеличение популяции Thact выявлено на всех типах терапии у детей с псориазом ($p<0,05$).

Содержание MDSCs у детей с псориазом повышено относительно группы сравнения ($p<0,01$) и зависит от типа терапии: наибольшее количество MDSCs относительно группы сравнения выявлено у детей на терапии блокаторами TNFα.

Тяжесть псориаза у детей соотносится с показателями клеточного иммунитета: индекс PASI коррелирует с повышением относительного количества Th17, Treg, MDSCs и M-MDSCs ($R_{мн}=0,63$; $p<0,01$; рис. 2), а индекс BSA - с увеличением содержания Thact и Th17 ($R_{мн}=0,57$; $p<0,01$).



Зависимая переменная: PASI (Rмн=0,63)

Параметр	Регрессионный коэффициент	p
Свободный член	2,06	0,526
Th17, % CD4	0,76	0,001
Возраст, год	-0,87	0,001
MDSCs, %	0,84	0,001
Treg, % CD4	0,67	0,018
M-MDSCs, %	0,08	0,042

Рис. 2. Зависимость индекса PASI от показателей клеточного иммунитета у детей с псориазом

Метаболическая активность клеток периферической крови при псориазе у детей

Оценка метаболизма популяций лимфоцитов при псориазе у детей показала, что активность СДГ снижена во всех популяциях лимфоцитов, кроме популяции Thact и $CD5^-$ В-клеток относительно группы сравнения ($p<0,01$). Степень снижения активности СДГ определяется популяцией лимфоцитов. У детей с псориазом активность ГФДГ была снижена в общей популяции лимфоцитов за счет снижения активности в В-лимфоцитах и NK-клетках ($p<0,05$). Тяжесть состояния пациентов по индексу PASI тем выше, чем ниже активность СДГ и ГФДГ в популяциях лимфоцитов (рис. 3А). Степень снижения активности митохондриальных ферментов СДГ и ГФДГ у детей с псориазом, получавших разную патогенетическую терапию, зависела от типа терапии и популяции клеток. Наибольшие снижение активности ферментов СДГ и ГФДГ выявлено в группе детей на анти-TNF терапии.

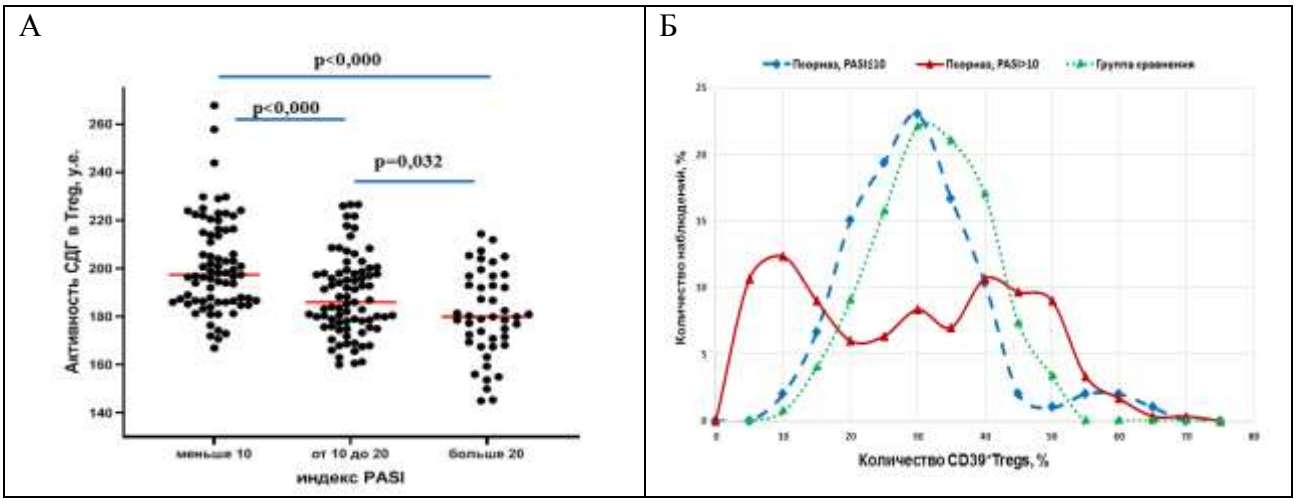


Рис. 3. Активность СДГ в Treg в зависимости от PASI (А) и распределение здоровых детей, пациентов с псориазом в стадии регресса (PASI<10) и прогресса заболевания (PASI≥10) по относительному количеству $CD39^+$Tregs (Б)

У детей с псориазом и в группе сравнения количество клеток с экспрессией $CD39^+$- и $CD73^+$-эктонуклеотидаз определяется популяцией клеток. Наибольшее содержание клеток, экспрессирующих $CD39^+$-эктонуклеотидазу, выявлено в популяции Treg (Me 33 (21-42), % от Treg), а CD73 – в Thact (Me 18 (15-25), % от Thact). Содержание $CD39^+$Tregs достоверно превышало количество клеток с экспрессией CD39 в популяциях Thact и Th17, при этом количество $CD39^+$Th17 было выше, чем $CD39^+$Thact ($p<0,01$). У детей с псориазом при PASI≥10 наблюдается большой разброс показателя $CD39^+$Tregs, выделяются пациенты как с высоким (Me 45 (36-51) %), так и с низким (Me 20 (12-26) %) содержанием $CD39^+$Tregs, достоверно отличающиеся от показателя здоровых детей (Me 32 (25-37) %, $p<0,01$ по критерию χ^2). На фоне биологической терапии и при снижении индекса PASI уменьшается количество пациентов со сниженной и повышенной экспрессией $CD39^+$ в Tregs (рис. 3Б). Выявлено снижение содержания супрессорной популяции Th17 ($CD39^+$Th17) у детей с псориазом относительно группы сравнения (Me 8 (5-11) против 11 (9-14), $p<0,01$).

Уровень экспрессии аргиназы-1, отвечающей за иммуносупрессорную функцию MDSCs, у детей с псориазом значимо увеличена относительно группы сравнения (Me 3,2 (3,0-3,4) MFI против Me 2,7 (2,6-2,9) MFI, $p<0,01$). У детей в прогрессирующей стадии псориаза (PASI≥10) уровень экспрессии фермента аргиназы-1 ниже, чем в стадии регресса заболевания (PASI<10, $p<0,01$). Таким образом, метаболическая активность иммунных клеток у детей с псориазом информативна в оценке тяжести состояния и должна учитываться наряду с количественным содержанием клеток в периферической крови.

Уровень транслокации NF-κB в популяциях лимфоцитов у детей с псориазом

Проведенный анализ показал, что уровень транслокации NF-κB у обследованных детей изменялся от 7,0 до 98 % и зависел от популяции клеток. Максимальное количество клеток с транслокацией NF-κB выявлено в В-лимфоцитах как у детей с псориазом (46 (37-61), %), так и в группе сравнения (49 (35-61), %). У детей с псориазом выявлено достоверное увеличение процента клеток с транслокацией NF-κB в Т-хелперах, Thact, Treg Th17 и Tc17 относительно показателей здоровых детей ($p<0,05$). Содержание клеток с транслокацией NF-κB у детей с псориазом незначительно увеличивается с возрастом детей и длительностью заболевания. Через сутки после введения ГИБП количество клеток

с транслокацией NF-κB в лимфоцитах снижается и зависит от мишени препарата. Выявлена обратная корреляционная зависимость уровня транслокации NF-κB и активности СДГ в популяциях лимфоцитов у детей с псориазом ($r=-0,44$; $p<0,01$) и в группе сравнения ($r=-0,49$; $p<0,01$). У детей с псориазом наибольшая зависимость выявлена для популяции NK-клеток ($r=-0,51$; $p<0,01$). На основании установленной зависимости возможно использование доступного иммуноцитохимического метода для оценки уровня транслокации NF-κB.

Уровень циркулирующих цитокинов у детей с псориазом

У детей с псориазом выявлен повышенный уровень провоспалительных цитокинов – IL-23, IL-22, IL-12p70, IL-27, IL-17E, IL-17F, TNFα. Уровень IL-23 в сыворотке крови достигал 8300 пг/мл, IL-22 - 7000 пг/мл, IL-27 - 1900 пг/мл. Уровень TNFα был повышен у 82% пациентов с псориазом. У детей с псориазом выявлены сильные корреляционные зависимости между провоспалительными цитокинами IL-17E, IL-17F, IL-23, IL-27, IL-31 и IL-33 ($r>0,86$). В группе детей с тяжелым течением псориаза (PASI>20) получено достоверное увеличение провоспалительных цитокинов – IL-17A, TNFα, IL-2, IL-6 и IL-9 по сравнению с пациентами с легкой степенью тяжести (PASI<10; $p<0,05$). Показано влияние типа проводимой терапии на уровень циркулирующих цитокинов у детей с псориазом. Наибольший уровень цитокинов выявлен у детей с псориазом, находящихся на биологической терапии блокаторами TNFα и IL-12/23, что вероятно, связано с тяжестью состояния пациентов.

Лабораторные критерии прогноза эффективности ГИБП у детей с псориазом

Анализ иммунологических показателей позволил выделить наиболее информативные показатели в прогнозе и оценке эффективности ГИБП у детей с псориазом. Выявлена информативность содержания Th17, Thact и Treg до начала терапии и их динамика к концу индукционного курса. ROC-анализ показал, что при отклонении Thact выше 181% (от возрастной нормы) и Th17/Treg выше 2,6 до назначения ГИБП в 75% случаев можно ожидать недостаточную эффективность биологической терапии к году. Анализ на 16 неделе терапии ГИБП показал, что при отношении Th17/Treg выше 2,6 вероятность неэффективного лечения составляет 68%, а при отклонении Th17 выше 102 % составляет 82% (рис. 4А).

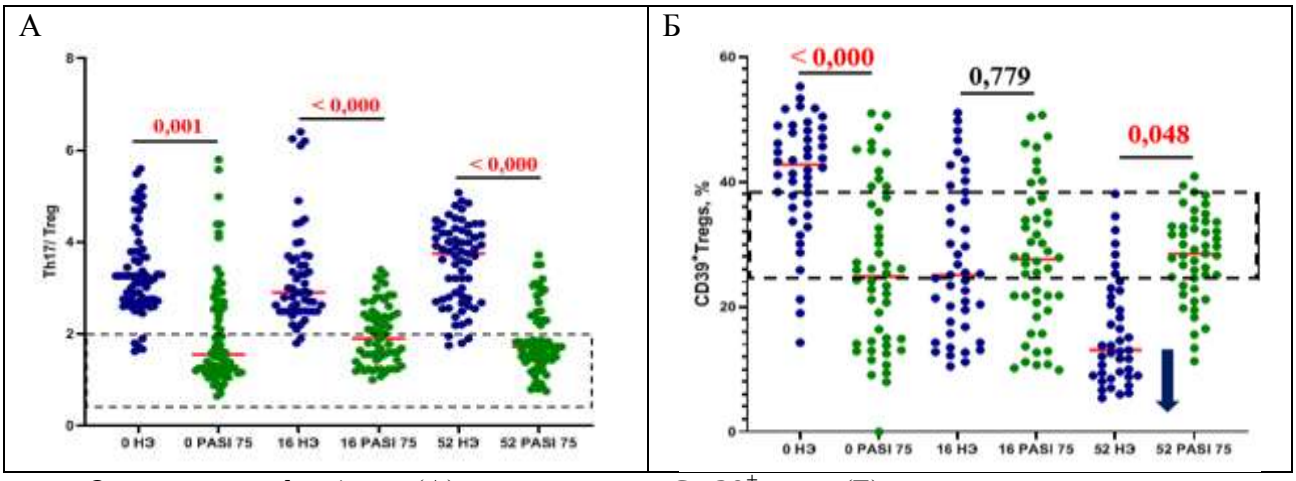


Рис. 4. Отношение Th17/Treg (А) и содержание $CD39^{+}$Tregs (Б) у детей с псориазом с разным эффектом терапии ГИБП

У детей с псориазом при хорошем эффекте биологической терапии выявлено более высокое содержание MDSCs до начала терапии и в течение года терапии, чем в группе детей с недостаточной эффективностью.

Оценка содержания субпопуляций $CD4^{+}$- и $CD8^{+}$-Т-клеток памяти в прогнозе эффективности применения ГИБП у детей с псориазом до назначения биологической терапии показала, что при уровне наивных Т-клеток (T_{NAIVE}) выше 59% от CD4 с вероятностью 79% можно ожидать достижение PASI 75 к году терапии. Кроме того, при выявлении эффекторных клеток памяти (T_{EM}) более 13% от CD4 с вероятностью 83% можно прогнозировать недостаточный эффект ГИБП к году терапии.

Показана значимость определения активности СДГ в регуляторных Т-клетках в процессе лечения у детей с псориазом. Выявлено достоверное снижение активности СДГ в Treg к году терапии при потери эффективности ГИБП (НЭ - 168,3 (162,0-190,0) усл.ед. против PASI 75 - 196,6 (187,8-216,6) усл.ед., $p<0,001$). Показатель активности СДГ в Treg можно использовать для мониторинга состояния детей с псориазом: при снижении активности СДГ в Treg менее 185 усл.ед. возрастает вероятность (до 81%) потери эффекта ГИБП к году терапии.

Анализ активности ГФДГ в основных популяциях лимфоцитов при разной эффективности биологической терапии псориаза у детей показал достоверное снижение активности ГФДГ в Т-лимфоцитах при недостаточном эффекте ГИБП до назначения биологической терапии. Снижение активности ГФДГ в NK-клетках после 16 недели терапии является фактором риска неэффективности ГИБП к году лечения. В группе детей с хорошим эффектом ГИБП уже к 16 неделе терапии

выявлено достоверное повышение активности фермента, которое сохраняется к году.

Анализ содержания субпопуляций $CD4^+$-Т-клеток с экспрессией $CD39^+$- и $CD73^+$-эктонуклеотидаз у детей с псориазом показал, что недостаточный эффект ГИБП можно ожидать, если уровень $CD39^+$Tregs до начала терапии превышает 35% от Tregs и в процессе лечения уменьшается до уровня 20% и ниже. Для прогноза эффективности важно оценивать исходный уровень экспрессии $CD39^+$-эндонуклеотидазы на Tregs и динамику показателя в течение года терапии ГИБП (рис. 4Б).

ROC-анализ уровня циркулирующих цитокинов у детей с псориазом до назначения биологической терапии показал, что при превышении уровня цитокинов выше пороговых значений можно ожидать достижение PASI 75 к году терапии: IFNγ - 3,7 пг/мл, IL-12p70 - 3,2 пг/мл, IL-21 - 12,1 пг/мл, IL-23 - 1057 пг/мл, IL-27 - 669 пг/мл, IL-31 - 43 пг/мл, TNFα - 22,5 пг/мл.

Для прогноза эффективности ГИБП у детей с псориазом необходимо учитывать динамику уровня транслокации NF-κB в популяциях лимфоцитов к окончанию индукционного курса. Получено отличное качество разделительной модели «PASI 75 – НЭ» (AUC>0,9) для NK-клеток, Th17-лимфоцитов, $CD8^+$-Т-клеток. При содержании NK-клеток с транслокацией NF-κB выше 32%, Th17 более 22% и CD8-клеток более 19% на 16 неделе терапии можно ожидать неэффективность применения ГИБП у детей с псориазом.

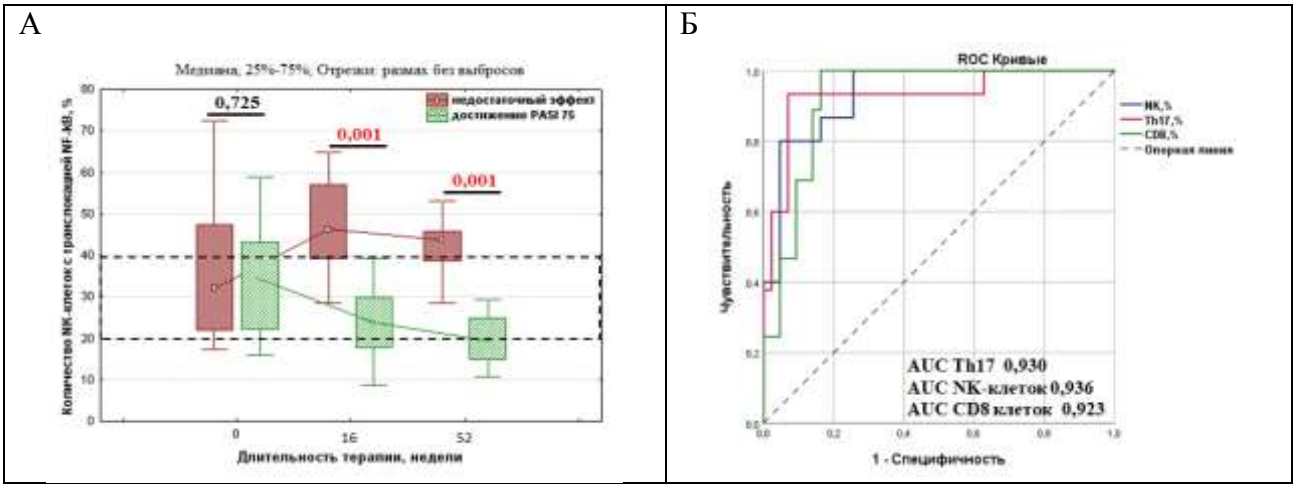


Рис. 5. Содержание NK-клеток с транслокацией NF-κB при недостаточном эффекте (НЭ) и достижении PASI 75 у детей с псориазом на 0, 16, 52 неделе ГИБП (А) и ROC-кривые содержания NK-клеток, Th17-лимфоцитов и $CD8^+$-Т-клеток с транслокацией NF-κB (Б) в прогнозе эффективности ГИБП у детей с псориазом на 16 неделе биологической терапии

В проведенном исследовании выявлены информативные иммунологические показатели, позволяющие прогнозировать эффективность биологической терапии у детей с псориазом на основании показателей до назначения терапии и их динамики к концу индукционного курса. Недостаточный эффект ГИБП можно прогнозировать на основании динамики $CD39^+$Tregs к концу индукционного курса и активности СДГ в Treg после 16 недель биологической терапии. Эффективность применения ГИБП у детей с псориазом можно прогнозировать по содержанию активированных Т-хелперов, соотношению Th17/Treg, наивных и эффекторных Т-клеток памяти в периферической крови, уровню циркулирующих цитокинов в сыворотке крови до назначения биологической терапии.

Выводы

1. У детей с вульгарным псориазом возрастная динамика содержания основных популяций лимфоцитов соответствует динамике здоровых детей. С возрастом снижается абсолютное количество лимфоцитов, повышается относительное содержание Т-лимфоцитов, увеличивается относительное количество Th17-лимфоцитов, активированных Т-хелперов и снижается абсолютное количество Treg. Содержание центральных $CD4^+$- и $CD8^+$-Т-клеток памяти и эффекторных $CD4^+$-Т-клеток памяти увеличивается, а наивных $CD4^+$-Т-клеток памяти снижается с возрастом.

2. Состав основных популяций лимфоцитов у детей с псориазом характеризуется значительной вариабельностью индивидуальных показателей и не имеет типичных изменений: содержание NK-клеток снижено в 51% случаев, относительное количество Т-хелперов повышено в 47% случаев. У детей с псориазом отмечено значительное увеличение активированных Т-хелперов и популяции MDSCs ($p<0,01$) в периферической крови относительно показателей группы сравнения. Увеличение содержания Th17, Treg, MDSCs и M-MDSCs отражает активность заболевания по индексу PASI ($R_{мн}=0,63$; $p<0,01$), а увеличение содержания Thact и Th17 - по индексу BSA ($R_{мн}=0,57$; $p<0,01$).

3. Активность митохондриальных дегидрогеназ СДГ и ГФДГ снижена в основных популяциях лимфоцитов у детей с псориазом относительно группы сравнения. Активность СДГ в популяциях Th17, Treg и CD5+ В-клеток снижена, а уровень экспрессии аргиназы-1 в популяции MDSCs увеличен у детей с псориазом относительно группы сравнения ($p<0,01$). У детей с тяжелым течением

заболевания (PASI>20) отмечено выраженное снижение активности СДГ в Treg, ГФДГ в общей популяции лимфоцитов и уровня экспрессии аргиназы-1 в MDSCs ($p<0,01$).

4. У детей с псориазом наибольшее содержание клеток, экспрессирующих CD39+-эктонуклеотидазу, выявлено в популяции Treg (Me 33 (21-42), %), а CD73+ – в Thact (Me 18 (15-25), %). Содержание супрессорной популяции Th17 (CD39+Th17) у детей с псориазом снижено относительно группы сравнения ($p<0,01$). При снижении индекса PASI происходит нормализация содержания CD39+Tregs.

5. Уровень транслокации NF-κB в Т-хелперах, Thact, Treg, Th17 и Tc17 у детей с псориазом увеличен относительно группы сравнения ($p<0,05$). В ответ на введение ГИБП количество клеток с транслокацией NF-κB снижается и зависит от популяции лимфоцитов. Установлена обратная корреляционная зависимость уровня транслокации NF-κB и активности СДГ в лимфоцитах, как у детей с псориазом ($r=-0,44$; $p<0,01$), так и в группе сравнения ($r=-0,49$; $p<0,01$). При содержании NK-клеток с транслокацией NF-κB выше 32% (Sp=84%), Th17 более 22% (Sp=93%) и $CD8^+$-Т-клеток более 19% (Sp=86%) к окончанию индукционного курса можно прогнозировать неэффективность применения ГИБП у детей с псориазом.

6. При тяжелом течении псориаза у детей (PASI>20) уровень провоспалительных цитокинов (IL-17A, TNFα, IL-2, IL-6, IL-9) повышен по сравнению с пациентами с легким течением (PASI<10; $p<0,05$). Для пациентов с хорошим эффектом ГИБП к году терапии выявлен более высокий исходный уровень цитокинов в сыворотке крови по сравнению с детьми, имеющими недостаточный эффект ($p<0,05$). При исходном уровне цитокинов выше пороговых значений (IFNγ - 3,7 пг/мл, IL-12p70 - 3,2 пг/мл, IL-21 - 12,1 пг/мл, IL-23 - 1057 пг/мл, IL-27 - 669 пг/мл, IL-31 - 43 пг/мл, TNFα - 22,5 пг/мл) можно ожидать достижение PASI 75 к году терапии ГИБП.

7. Прогноз эффективности ГИБП у детей с псориазом возможен по оценке иммунологических показателей до назначения препаратов и к окончанию индукционного курса терапии. Недостаточный эффект ГИБП можно ожидать, если уровень CD39+Tregs до начала терапии превышает 35% от Tregs (Se=72%, Sp=67%, $p<0,05$) и в процессе лечения снижается менее 20% (Se=73%, Sp=69%, $p<0,05$). Снижение активности СДГ в Treg менее 185 усл.ед. (Se=81%, Sp=72%,

p<0,05) после индукционного курса биологической терапии позволяет прогнозировать потерю эффекта ГИБП к году лечения.

8. Ранними прогностическими критериями неэффективности биологической терапии псориаза у детей являются: отклонение Thact выше 181% (Se=75%, Sp=76%, p<0,05), отношение Th17/Treg выше 2,6 (Se=73%, Sp=75%, p<0,05), содержание эффекторных Т-клеток памяти (T_{EM}) более 13% от CD4 (Se=81%, Sp=83%, p<0,05) до назначения ГИБП.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Купцова (Герасимова), Д.Г.** Информативность определения клеток супрессоров миелоидного происхождения для оценки тяжести состояния детей с псориазом / **Д.Г. Купцова (Герасимова),** О.В. Курбатова, И.В. Самохина, Т.В. Радыгина, Р.Ш. Закиров, С.В. Петричук // Лабораторная служба. – 2017. – Т.6. – №3. – С.56-57.

2. **Купцова (Герасимова), Д.Г**. Клетки-супрессоры миелоидного происхождения у детей с псориазом / **Д.Г. Купцова (Герасимова),** Р.Ш. Закиров, Т.В. Радыгина, О.В. Курбатова, И.В. Самохина, Н.Н. Мурашкин, С.В. Петричук // Медицинская иммунология. – 2017. – Т.19. – №S. – С.155.

3. **Kuptsova (Gerasimova), D.** Myeloid-derived suppressor cells in children with severe psoriasis / **D. Kuptsova (Gerasimova),** T. Radygina, N. Murashkin, A. Toptygina, S. Petrichuk // Abstract book: 5th European Congress of Immunology. Amsterdam – 2018. – P.361.

4. **Купцова (Герасимова), Д.Г**. Иммунометаболизм популяций Т-хелперов у детей с псориазом / **Д.Г. Купцова (Герасимова),** Т.В. Радыгина, Н.Н. Мурашкин, С.В. Петричук // Лабораторная служба. – 2018. – Т.7. – №3(2). – С.152.

5. **Купцова (Герасимова), Д.Г.** Популяции клеток-супрессоров миелоидного происхождения у детей с псориазом **/ Д.Г. Купцова (Герасимова),** Т.В. Радыгина, Р.Ш. Закиров, Э.Т. Амбарчян, А.И. Материкин, Р.В. Епишев, Н.Н. Мурашкин, С.В. Петричук // Российский иммунологический журнал. – 2019. – Т.13. – № 2-1(22). – С.200-202.

6. **Купцова, Д.Г.** Особенности клеточного иммунитета при псориазе у детей / **Д.Г. Купцова,** Н.Н. Мурашкин, Т.В. Радыгина, С.В. Петричук // Лабораторная служба. – 2020. – Т.9. – №1. – С.39-40.

7. **Купцова, Д.Г.** Показатели клеточного иммунитета и клетки-супрессоры

миелоидного происхождения у детей с псориазом / **Д.Г. Купцова,** Т.В. Радыгина, Н.Н. Мурашкин, С.В. Петричук // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2020. – №3. – С.55-65.

8. Мурашкин Н.Н., Псориаз и псориатический артрит в детском возрасте / Н.Н. Мурашкин, А.И. Материкин, Э.Т. Амбарчян, Р.В. Епишев, Л.А. Опрятин, Р.А. Иванов, Д.С. Куколева, **Д.Г. Купцова,** М.Ю. Помазанова // Вопросы современной педиатрии. – 2020. – Т.19. – №6. – С.444-451.

9. Мурашкин, Н.Н. Коморбидности псориаза в детском возрасте / Н.Н. Мурашкин, Л.С. Круглова, Ю.А. Коваленко, Э.Т. Амбарчян, Р.В. Епишев, А.И. Материкин, Л.А. Опрятин, Р.А. Иванов, Д.С. Куколева, **Д.Г. Купцова,** М.Ю. Помазанова, Я.В. Козырь // Вопросы современной педиатрии. – 2020. – Т.19. – №6. – С.460-467.

10. Мурашкин, Н.Н. Мультиморбидность в детской дерматологии: клинический пример / Н.Н. Мурашкин, А.И. Материкин, Э.Т. Амбарчян, Р.В. Епишев, Л.А. Опрятин, Р.А. Иванов, Д.С. Куколева, **Д.Г. Купцова,** А.А. Пушков, М.Ю. Помазанова, Я.В. Козырь // Вопросы современной педиатрии. 2020. – Т.19. – №6. – С.483-489.

11. Мурашкин, Н.Н. Эффективность и безопасность устекинумаба у детей с бляшечной, эритродермической и ладонноподошвенной формами псориаза: ретроспективное когортное исследование / Н.Н. Мурашкин, Э.Т. Амбарчян, Р.В. Епишев, А.И. Материкин А.И., Л.А. Опрятин Л.А., Р.А. Иванов, Д.С. Куколева, М.Ю. Помазанова, **Д.Г. Купцова,** Я.В. Козырь, А.Л. Бакулев // Вопросы современной педиатрии. – 2020. – Т.19. – №6. – С.531-537.

12. **Купцова, Д.Г.** Активность транскрипционного фактора NF-κB в лимфоцитах у детей с псориазом / **Д.Г. Купцова**, Т.В. Радыгина, Н.Н. Мурашкин, С.В. Петричук // Клиническая лабораторная диагностика. – 2021. – Т.66. – № S4. – С.34-35.

13. **Купцова Д.Г.** Метаболизм лимфоцитов и активность NF-κB при псориазе у детей / **Д.Г. Купцова,** Н.Н. Мурашкин, Т.В. Радыгина, О.В. Курбатова, С.В. Петричук // В книге: Материалы научно-практических конференций в рамках VIII Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2022). Сборник тезисов. Москва – 2022. – С. 21.

14. **Купцова, Д.Г.** Активность ядерного фактора транскрипции κB в популяциях лимфоцитов у детей с псориазом / **Д.Г. Купцова,** С.В. Петричук, Н.Н.

Мурашкин, О.В. Курбатова, Т.В. Радыгина, А.А. Хотко, Р.А. Иванов // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2022. – №2. – С.30–38.

15. **Купцова, Д.Г.** Оценка количества субпопуляций $CD4^+$ клеток с экспрессией эктонуклеотидаз CD39 и CD73 у детей с псориазом / **Д.Г. Купцова,** Т.В. Радыгина, С.В. Петричук, Н.Н. Мурашкин, А.А. Хотко, Р.А. Иванов // Медицинская иммунология. – 2022. – Т.24. – №3. – С.587-596.

16. Радыгина, Т.В. Экспрессия эктонуклеотидаз CD39 и CD73 в популяциях $CD4^+$ лимфоцитов у условно здоровых детей / Т.В. Радыгина, **Д.Г. Купцова,** С.В. Петричук, Е.Л. Семикина, А.П. Фисенко // Российский иммунологический журнал. - 2022. - Т. 25. - №3. - С. 283-290.

17. **Купцова, Д.Г.** Содержание субпопуляций $CD4^+$ и $CD8^+$ клеток памяти и уровень циркулирующих цитокинов при псориазе у детей / **Д.Г. Купцова,** С.В. Петричук, Н.Н. Мурашкин, Т.В. Радыгина, О.В. Курбатова // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2022. – Т.19. – №3. – С.163-172.

18. Петричук, С.В. Оценка эффективности анти-TNF терапии у детей с иммунозависимыми заболеваниями по активности NF-κB в популяциях лимфоцитов / С.В. Петричук, Т.В. Радыгина, **Д.Г. Купцова,** О.В. Курбатова, Е.Л. Семикина, Н.Н. Мурашкин, А.С. Потапов, А.П. Фисенко // Российский иммунологический журнал. – 2022. – Т.25. – №4. – С.491-498.

19. **Купцова, Д.Г.** Ранние предикторы эффективности биологической терапии псориаза / **Д.Г. Купцова,** С.В. Петричук, Н.Н. Мурашкин, Т.В. Радыгина, О.В. Курбатова // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2023. - №1 (72). – С.49-52.

20. Курбатова, О.В. Перспективы изучения иммунометаболизма в клинической практике / О.В. Курбатова, **Д.Г. Купцова,** Р.Ш. Закиров, Т.В. Радыгина, Г.Б. Мовсисян, Е.В. Фрейдлин, Е.Л. Семикина, А.С. Потапов, Н.Н. Мурашкин, С.В. Петричук // Вестник Ташкенской медицинской академии. – 2023. - №. 3(1). – С. 98-104.

21. Петричук, С.В. Активность фактора транскрипции NF-κB и метаболизм лимфоцитов при различных заболеваниях у детей / С.В. Петричук, **Д.Г. Купцова,** О.В. Курбатова, Т.В. Радыгина, Г.Б. Мовсисян, Е.В. Фрейдлин / В книге: Наукоемкие лабораторные технологии для клинической медицины. Материалы XXVIII Всероссийской научно-практической конференции с международным

участием. Под редакцией В. В. Долгова. Москва – 2023. – С. 136-138.

22. **Купцова, Д.Г.** Применение метода проточной цитометрии с визуализацией в оценке эффективности ГИБП у детей с псориазом // **Д.Г. Купцова,** Т.В. Радыгина, О.В. Курбатова, Н.Н. Мурашкин, С.В. Петричук / В книге: Наукоемкие лабораторные технологии для клинической медицины. Материалы XXVIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Под редакцией В. В. Долгова. Москва – 2023. – С. 98-99.

23. **Купцова, Д.Г.** Содержание субпопуляций $CD4^+$-Т-клеток в прогнозе эффективности биологической терапии псориаза у детей / **Д.Г. Купцова,** Т.В. Радыгина, О.В. Курбатова, А.И. Материкин, Р.В. Епишев, Л.А. Опрятин, А.А. Хотко, Н.Н. Мурашкин, С.В. Петричук // Медицинская иммунология. – 2023. – Т. 25. – № 3 – С. 529-536.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГИБП – генно-инженерные биологические препараты
ГФДГ – глицерол-3-фосфат дегидрогеназа
СДГ – сукцинатдегидрогеназа
BSA – общая площадь поражения тела псориазом
CD39 – эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролаза-1
CD73 – экто-5’-нуклеотидаза
eАТФ – внеклеточный АТФ
IL – интерлейкин
MDSCs – клетки-супрессоры миелоидного происхождения
MFI – средняя интенсивность флуоресценции
NF-κB – ядерный фактор κB
OXPHOS – окислительное фосфорилирование
PASI – индекс тяжести и распространенности псориаза
Th – Т-хелпер
Thact – активированные Т-хелперы
TNFα – фактор некроза опухоли альфа
Treg – регуляторные Т-клетки