

Features of immune system in alopecia areata patients

Nikolaeva T.¹, Smoljagin A.², Voronina L.³, Setko N.⁴

Особенности системного иммунитета пациентов с прогрессирующей стадией гнездной алопеции

Николаева Т. В.¹, Смолягин А. И.², Воронина Л. Г.³, Сетко Н. П.⁴

¹Николаева Татьяна Владимировна / Nikolaeva Tat'jana – кандидат медицинских наук, доцент, кафедра дерматовенерологии;

²Смолягин Александр Иванович / Smoljagin Aleksandr – доктор медицинских наук, профессор, заведующий проблемной лабораторией, проблемная лаборатория по изучению механизмов естественного иммунитета;

³Воронина Людмила Григорьевна / Voronina Ljudmila – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой, кафедра дерматовенерологии;

⁴Сетко Нина Павловна / Setko Nina – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой,

кафедра гигиены и эпидемиологии,

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Оренбургский государственный медицинский университет

Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Оренбург

Аннотация: оценка параметров системного иммунитета у пациентов, страдающих гнездной алопецией, выявила дисбаланс его компонентов. Он заключается в сочетании признаков гиперфункции иммунной системы, выражающейся относительным лимфоцитозом, увеличением концентрации циркулирующих иммунных комплексов, повышением функциональной активности нейтрофилов и иммунной недостаточности, характеризующейся снижением относительного содержания нейтрофилов и дефицитом Т-клеточных субпопуляций (CD3⁺-, CD4⁺- и CD8⁺-лимфоцитов). Выявленные изменения параметров иммунной системы свидетельствуют о наличии в организме пациентов, страдающих гнездной алопецией, системных признаков аутоиммунного процесса, что вероятно, свидетельствует о том, что патогенез этого заболевания не ограничивается кожей. Отсутствие клинко-иммунологических параллелей с определяемыми иммунными параметрами может объясняться высокой миграционной способностью иммунных клеток, участвующих в патогенезе гнездной алопеции.

Abstract: evaluation of systemic immune parameters in patients suffering from alopecia areata, imbalance identified components. Signs of hyperfunction of the immune system have been identified, expressed relative lymphocytosis, an increase in the concentration of circulating immune complexes, the increase of the functional activity of neutrophils and signs of immune deficiency, characterized by a decrease in the relative content of neutrophils and a deficit of T-cell subsets (CD3 + -, CD4 + - and CD8 + lymphocytes). The detected changes in the immune system parameters indicate the presence in the organism of patients with alopecia areata, systemic signs of an autoimmune process that probably suggests that the pathogenesis of this disease is not limited to the skin. The absence of clinical and immunological parallels with defined immune parameters may be due to high migration ability of immune cells involved in the pathogenesis of alopecia areata.

Ключевые слова: гнездная алопеция, иммунный статус, гиперфункция иммунной системы, иммунная недостаточность, Т-клеточный иммунитет.

Keywords: alopecia areata, immune status, hyperactivity of the immune system, immune deficiency, a T-cell-mediated immunity.

Гнездная алопеция (ГА) остается крупной нерешенной клинической проблемой, привлекающей внимание дерматологов и иммунологов на протяжении последних десятилетий [1]. ГА рассматривается как орган-специфическое аутоиммунное заболевание [2], основными патогенетическими звеньями которого в коже считаются утрата иммунной привилегии волосным фолликулом и формирование пери- и интрафолликулярной Т-клеточной инфильтрации вокруг анагенового фолликула [2, 3, 4]. Ряд исследователей полагают, что иницирующие ГА патогенетические механизмы возникают за пределами кожи, в иммунной системе и ее органах [5]. Для выяснения патогенеза ГА требуется рассмотрение этого заболевания с точки зрения изменений в иммунной системе организма в целом [1, 5]. Однако сегодня отсутствует единое представление о дисбалансе клеточного и гуморального звена иммунитета у пациентов, страдающих ГА, а имеющиеся данные отдельных исследователей носят противоречивый характер [6, 7, 8].

Целью исследования явилось определение особенностей иммунного статуса пациентов с ГА.

Материалы и методы исследования. В основную группу исследования были включены 22 взрослых пациента с прогрессирующей стадией ГА, средний возраст которых составил $31,05 \pm 2,7$ лет. Средняя длительность течения заболевания в исследуемой группе была равна $3,27 \pm 1,1$ года. Описание клинических фенотипов ГА у обследованных проводилось согласно классификации Olsen E., Canfield D. (2004). При первом обращении за медицинской помощью у четырнадцати пациентов площадь очагов поражения не превышала 25% общей площади волосистой части головы (S_1), у одного пациента площадь очага поражения составила 40,6% (S_2), у трех пациентов площадь очагов поражения находилась в пределах 50 – 74% (S_3) и у четырех пациентов – в пределах 75 – 90% (S_{4a}). При этом шестнадцать пациентов не имели фенотипических проявлений заболевания на коже туловища и конечностей (B_0), у остальных регистрировалась частичная потеря волос на указанных участках (B_1). Дистрофические изменения части ногтевых пластин были отмечены у одиннадцати пациентов (N_1), у одного пациента диагностирована ониходистрофия всех ногтевых пластин (N_{1a}). Иммунологическое обследование включало определение популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD19^+$ -клеток) периферической крови в реакции иммунофлюоресценции с помощью моноклональных антител ООО «Сорбент». Определение фагоцитарной активности сегментоядерных нейтрофилов в периферической крови проводили по методике В. В. Меньшикова (1987). Для этого в мазках из периферической крови определяли процентное содержание фагоцитирующих клеток – фагоцитарный показатель (ФП) и поглотительную способность нейтрофилов – фагоцитарный индекс (ФИ) в отношении тест-культуры золотистого стафилококка (штамм 209-Р). Определение сывороточных иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG) проводилось методом радиальной иммунодиффузии. Концентрацию общего IgE устанавливали методом ИФА с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест». Уровень циркулирующих комплексов (ЦИК) в сыворотке крови определялся в реакции преципитации с раствором полиэтиленгликоля. Группой сравнения выступили 35 здоровых лиц.

Математическая обработка полученных данных проводилась в программе Statistica 10.0. Использование критерия Шапиро-Уилка выявило несоответствие большинства показателей иммунного статуса закону нормального распределения. Это определило способ описания данных в виде медианы и интерквартильного размаха (25-го и 75-го квартилей) [9] и методы их статистической обработки, - сравнение показателей с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни и корреляционный анализ методом ранговой корреляции Спирмена [10].

Результаты. В результате проведенного исследования установлено, что показатели содержания лейкоцитов, моноцитов и эозинофилов у пациентов, страдающих ГА, и здоровых лиц группы сравнения не имели статистически значимых различий (таблица).

Таблица 1. Показатели иммунного статуса пациентов с гнездной алопецией и здоровых лиц группы сравнения¹

Показатель, единицы измерения	Пациенты n = 22	Группа сравнения n = 35	p-уровень
	Me [Q25; Q75]	Me [Q25; Q75]	
Лейкоциты, тыс./мкл	5,95 [5,50; 7,40]	6,10 [5,30; 4,60]	0,97
Лимфоциты, %	44,5 [33,0; 55,0]	36,0 [33,0; 38,0]	0,006**
Лимфоциты, тыс./мкл	2,70 [1,99; 3,26]	2,15 [1,91; 2,61]	0,02*
CD3 ⁺ , %	53,5 [51,0; 60,0]	62,0 [58,0; 66,0]	<0,001***
CD3 ⁺ , тыс./мкл	1,47 [1,05; 1,79]	1,34 [1,14; 1,61]	0,46
CD19 ⁺ , %	16,0 [13,0; 19,0]	15,0 [12,0; 17,0]	0,27
CD19 ⁺ , тыс./мкл	0,42 [0,29; 0,53]	0,32 [0,26; 0,38]	0,02*
CD4 ⁺ , %	38,2 [32,0; 42,0]	43,0 [37,0; 46,0]	0,03*
CD4 ⁺ , тыс./мкл	1,33 [1,12; 1,91]	0,84 [0,75; 1,05]	<0,001***
CD8 ⁺ , %	21,0 [18,0; 24,0]	25,0 [22,0; 27,0]	0,03*
CD8 ⁺ , тыс./мкл	0,85 [0,57; 1,0]	0,52 [0,43; 0,66]	<0,001***
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,74 [1,38; 2,0]	1,70 [1,50; 1,96]	0,79
Нейтрофилы сегмент., %	46,5 [40,0; 56,0]	56,0 [53,0; 59,0]	<0,001***
Нейтрофилы сегмент., тыс./мкл	3,07 [2,24; 3,64]	3,50 [3,08; 4,29]	0,03*
Моноциты, %	3,0 [3,0; 7,0]	3,0 [2,0; 5,0]	0,19
Моноциты, тыс./мкл	0,22 [0,11; 0,46]	0,11 [0,04; 0,25]	0,01**
Эозинофилы, %	3,0 [1,0; 6,0]	3,0 [2,0; 3,0]	0,73
Эозинофилы, тыс./мкл	0,17 [0,057; 0,45]	0,13 [0,05; 0,18]	0,14
ФП, %	59,0 [52,0; 67,0]	54,0 [50,0; 65,0]	0,38
ФИ, усл. единиц	4,60 [4,20; 5,10]	3,5 [3,20; 4,10]	<0,001***
ЦИК, ЕД ОП	113,0 [84,0; 217,0]	70,0 [63,0; 76,0]	<0,001***
IgA, г/л	1,80 [1,26; 2,66]	1,90 [1,74; 2,06]	0,92
IgM, г/л	1,09 [0,90; 2,03]	1,31 [1,24; 1,50]	0,31
IgG, г/л	11,21 [9,12; 14,4]	12,08 [11,04; 14,4]	0,22
IgE, МЕ/мл	80,0 [14,0; 170,0]	78,0 [14,0; 166,0]	0,89

Примечание. ¹Данные представлены в виде медианы (Me) и 25-го и 75-го квартилей [Q25; Q75].* – статистическая значимость различий на уровне $p<0,05$; ** – статистическая значимость различий на уровне $p<0,01$; *** – статистическая значимость различий на уровне $p<0,001$.

Вместе с тем, у пациентов с ГА было выявлено снижение относительного и абсолютного содержания сегментоядерных нейтрофилов по сравнению с показателями здоровых людей на 16,96% и 11,78% ($p<0,001$ и $p=0,03$) соответственно и, напротив, увеличение данных параметров по содержанию лимфоцитов. Так, медианы относительного и абсолютного содержания лимфоцитов в периферической крови пациентов на 23,6% и 25,6% ($p=0,006$ и $p=0,02$) соответственно превышали аналогичный уровень у лиц группы сравнения. Согласно литературным данным эти гематологические изменения ассоциированы с аутоиммунной патологией [11, 12, 13].

Установлено, что фагоцитарный индекс (ФИ) нейтрофилов у пациентов с ГА на 31,4% ($p<0,001$) превышал таковой у здоровых лиц, кроме того, отмечена тенденция к росту фагоцитарного показателя (ФП), который у пациентов с ГА был на 9% ($p=0,38$) выше, чем в группе сравнения. Это свидетельствует о повышении интенсивности фагоцитоза и незначительном усилении фагоцитарной активности нейтрофилов.

Сравнительный анализ содержания субпопуляций лимфоцитов показал, что относительный уровень зрелых Т-лимфоцитов ($CD3^+$) у пациентов был на 13,7% ($p<0,001$) ниже, чем у лиц группы сравнения, относительное содержание $CD4^+$ (Т-хелперов) и $CD8^+$ (цитотоксических лимфоцитов) в периферической крови пациентов с ГА также было снижено соответственно на 11,2% и 16,0% ($p=0,03$ и $p=0,03$), при увеличении их абсолютных значений на 58,3% и 63,5% ($p<0,001$ и $p<0,001$) соответственно. Показатель относительного содержания В-лимфоцитов ($CD19^+$) у пациентов с ГА не отличался от такового у здоровых лиц, при увеличении абсолютного содержания этих клеток у пациентов с ГА на 31,25% ($p=0,02$) по сравнению с контролем. Учитывая более высокую диагностическую значимость относительного содержания популяции лимфоцитов и их субпопуляций [11], у пациентов, страдающих ГА, имеет место дефицит зрелых Т-лимфоцитов ($CD3^+$), Т-хелперов ($CD4^+$) и цитотоксических лимфоцитов ($CD8^+$), а увеличение абсолютных показателей содержания исследуемых субпопуляций лимфоцитов объясняется имеющейся относительной нейтропенией, ассоциированной с увеличением удельного веса лимфоцитов. Оценка параметров гуморального иммунного ответа показала, что концентрации сывороточных иммуноглобулинов классов А, М, G и E не отличались от аналогичных показателей здоровых людей. Вместе с тем, уровень ЦИК в сыворотке пациентов с ГА в 1,6 раза превышал таковой у здоровых лиц. Учитывая повышение концентрации ЦИК можно предположить, что относительная нейтропения у пациентов формируется вследствие влияния ЦИК, которые могут вызывать функциональные нарушения нейтрофилов, увеличивать их адгезию к эндотелиальным клеткам, модулировать апоптоз нейтрофилов [12].

Известно, что интегративный характер работы иммунной системы определяется взаимодействием отдельных популяций и субпопуляций лимфоидных клеток [11, 14]. Полученные в результате корреляционного анализа данные, характеризующие взаимосвязь между параметрами иммунного статуса пациентов с ГА, выявили различия в характере ассоциаций показателей иммунного статуса пациентов с ГА и здоровых людей. Так, у лиц группы сравнения были выявлены прямые корреляционные связи между общим количеством лейкоцитов и содержанием IgM ($r_s=0,4$; $p<0,05$) и IgG ($r_s=0,4$; $p<0,05$); относительным количеством эозинофилов и содержанием IgA ($r_s=0,47$; $p<0,05$); концентрациями IgM и IgG ($r_s=0,52$; $p<0,05$); уровнем IgE и показателем соотношения $CD4^+/CD8^+$ ($r_s=0,77$; $p<0,05$). Обратные корреляционные взаимосвязи у здоровых людей установлены между относительным количеством В-лимфоцитов ($CD19^+$) и ФИ ($r_s=-0,42$; $p<0,05$); относительным содержанием сегментоядерных нейтрофилов и IgA ($r_s=-0,52$; $p<0,05$); относительным уровнем моноцитов и IgE ($r_s=-0,81$; $p<0,05$). В то же время у пациентов, страдающих ГА, формируются прямые корреляционные связи между общим количеством лейкоцитов и относительным содержанием цитотоксических лимфоцитов ($CD8^+$) ($r_s=0,59$; $p<0,05$), ФИ ($r_s=0,62$; $p<0,05$); между концентрацией IgM и относительным количеством зрелых $CD3^+$ -лимфоцитов и ($r_s=0,67$; $p<0,05$) и Т-хелперов ($CD4^+$) ($r_s=0,44$; $p<0,05$); между уровнями IgA и IgG ($r_s=0,56$; $p<0,05$). Отрицательные корреляционные связи выявлены между абсолютным содержанием лейкоцитов и показателем соотношения $CD4^+/CD8^+$ ($r_s=-0,61$; $p<0,05$); между относительным содержанием цитотоксических лимфоцитов ($CD8^+$) и IgE ($r_s=-0,5$; $p<0,05$); между концентрацией IgM и ФП ($r_s=-0,43$; $p<0,05$), кроме того, установлены отрицательные корреляционные зависимости между содержанием ЦИК и относительным и абсолютным уровнем сегментоядерных нейтрофилов ($r_s=-0,3$; $p<0,05$ и $r_s=-0,5$; $p<0,05$ соответственно), что подтверждает их функциональный антагонизм, особенно проявляющийся в условиях аутоиммунной патологии. Общим для пациентов с ГА и здоровых лиц явилось наличие прямой корреляционной взаимосвязи между относительными уровнями зрелых $CD3^+$ - и $CD4^+$ -лимфоцитов, при этом сила связи соответственно составила ($r_s=0,55$; $p<0,05$) и ($r_s=0,4$; $p<0,05$). При анализе различий в ассоциациях иммунологических показателей у пациентов с ГА и здоровых лиц группы сравнения обратило на себя внимание то, что у обследованных пациентов имело место активное

формирование корреляционных зависимостей между субпопуляциями лимфоцитов и показателями гуморального иммунитета, т.е. возникла функциональная взаимосвязь между специфическими иммунными компонентами. Изменение характера корреляционных взаимодействий, формирование новых корреляционных связей, по мнению Лебедева К. А. и Понякиной И. Д., свидетельствует об активации иммунной системы и активном участии ее в воспалительном процессе [11]. Одним из важных вопросов является установление взаимосвязи параметров иммунного статуса с характером клинических проявлений ГА. В результате проведенного корреляционного анализа показателей иммунограммы с длительностью течения ГА у обследованных пациентов и площадью очагов поражения на волосистой части головы, показано отсутствие клинико-иммунологических параллелей между исследуемыми параметрами иммунограммы и клиническими данными. Об отсутствии взаимосвязи показателей иммунного статуса с тяжестью клинических проявлений ГА также сообщали отдельные исследователи [15, 16].

Таким образом, у пациентов, страдающих ГА, имелся дисбаланс компонентов иммунной системы. Он заключался в сочетании признаков гиперфункции иммунной системы, выражающейся относительным лимфоцитозом, увеличением концентрации ЦИК, повышением функциональной активности нейтрофилов и признаков иммунной недостаточности, характеризующейся снижением относительного содержания нейтрофилов и дефицитом Т-клеточных субпопуляций (CD3⁺, CD4⁺ и CD8⁺-лимфоцитов). В совокупности выявленные изменения параметров иммунной системы позволили сделать вывод о наличии в организме пациентов, страдающих ГА, системных признаков аутоиммунного процесса.

Литература

1. What causes alopecia areata? / K. J. McElwee, A. Gilhar, D. J. Tobin, ... A. Tosti, ... R. Paus [et al.] // *Exp. Dermatol.*, 2013. Vol. 22 (9). P. 609–626.
2. Paus R., Bertolini M. The role of hair follicle immune privilege collapse in alopecia areata: status and perspectives // *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.*, 2013. Vol. 16 (1). P. 25–27.
3. Gilhar A., Paus R., Kalish R. S. Lymphocytes, neuropeptides, and genes involved in alopecia areata // *J. Clin. Invest.*, 2007. Vol. 117 (8). P. 2019–2027.
4. Ito T., Ito N., Saatoff M., Hashizume H., Fukamizu H. Maintenance of hair follicle immune privilege is linked to prevention of NK cell attack // *J. Investig. Dermatol.*, 2008. Vol. 128. P. 1196–1206.
5. Wang E., McElwee K. J. Etiopathogenesis of alopecia areata: Why do our patients get it? // *Dermatol. Ther.*, 2011. Vol. 24 (3). P. 337–347.
6. Зуева А. В. Клиническая эффективность СКЭНАР-терапии и ее влияние на показатели иммунитета у больных очаговой алопецией: автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 2006.
7. Верхогляд И. В., Олисова О. Ю. Иммунные нарушения при гнездной алопеции // *Экспериментальная и клиническая дерматокосметология*, 2010. № 4. С. 7–10.
8. Касымов А. О. Иммунологические нарушения у больных гнездной алопецией // *Здравоохранение Таджикистана*, 2015. № 2. С. 18–22.
9. Гржибовский А. М. Типы данных, проверка распределения и описательная статистика // *Экология человека*, 2008. № 1. С. 52–58.
10. Унгурияну Т. Н., Гржибовский А. М. Корреляционный анализ с использованием пакета статистических программ STATA // *Экология человека*, 2014. № 9. С. 60–64.
11. Лебедев К. А., Понякина И. Д. Иммунная недостаточность (выявление и лечение). Москва: Медицинская книга, Н.Новгород: Изд-во НГМА, 2003.
12. Starkebaum G. Chronic neutropenia associated with autoimmune disease // *Semin. Hematol.*, 2002. Vol. 39 (2). P. 121–127.
13. Gibson C., Berliner N. How we evaluate and treat neutropenia in adults. *Blood.*, 2014. Vol. 21. № 124 (8). P. 1251–1258.
14. Иммунная реактивность как фактор регуляции гомеостаза организма / А.М. Земсков, В. М. Земсков, В. И. Золоедов, Е. И. Бжозовский // *Успехи соврем. биол.*, 1999. Т. 119. № 2. С. 99–114.
15. Нефедова Е. Д. Гнездная алопеция: клинико-генетические предикторы тяжёлого течения заболевания: автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Москва, 2011.
16. Rivitti E. Alopecia areata: a revision and update // *Ann. Bras. Dermatol.* 2005. Vol. 80 (1). P. 57–68.
17. Григорян А. Г. Актуальные вопросы иммунопатологии при дерматозах // *Медицинский вестник Эрбунни*, 2003. № 3. С. 15–16.