

Я.Ф. Кутасевич
Г.К. Кондакова
Н.І. Гойденко

ДУ «Інститут дерматології та
венерології НАМН України»
Харків, Україна





Надійшла: 09.09.2023

Прийнята: 21.09.2023

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.3.76-80>

УДК 616.517-092:577.121

ІМУНОГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ Т-ЛІМФОЦИТІВ В ШКІРІ ХВОРИХ НА ВУЛЬГАРНИЙ ПСОРІАЗ

Kutasevych Ya.F.  , Kondakova H.K. , Goidenko N.I.  Immunohistochemical study of T-lymphocytes in the skin of patients with psoriasis vulgaris.

SE «Institute of Dermatology and Venereology of the NAMS of Ukraine», Kharkiv, Ukraine.

ABSTRACT. Background. An in-depth study of the immunohistochemical features of inflammatory processes in the morphological elements of the psoriatic skin rash is important in terms of obtaining the latest data on the pathogenesis of psoriasis. **Objective.** To determine the content of CD3+, CD4+, CD8+ lymphocytes in skin biopsies of patients with psoriasis vulgaris during the exacerbation of the disease. **Methods.** Immunohistochemical study of biopsy material is undertaken from areas to the skin psoriasis pouring out at 5 patients on psoriasis. The row of immunogistochemical methodologies was used also for the exposure of expression of CD3, CD4, CD8. **Results.** The conducted study showed that the exacerbation of psoriasis vulgaris is characterized by an increase in the focus of inflammation of the cells of the lymphocytic row. The most represented cell type is CD4+, CD8+ with a predominance of CD8-positive cells. **Conclusion.** An inflammatory process in a skin at psoriasis develops as a result immunopathologic reactions. Most presented is a cellular link – CD4, CD8


Key words: vulgar psoriasis, immunohistochemical changes, resident memory cells.

Citation:

Kutasevych YaF, Kondakova HK, Goidenko NI. [Immunohistochemical study of T-lymphocytes in the skin of patients with psoriasis vulgaris]. Morphologia. 2023;17(3):76-80. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.3.76-80>

 Kutasevych Ya.F. 0000-0001-8706-1487

 Kondakova H.K. 0000-0002-7739-1922

 Goidenko N.I. 0009-0009-9919-6798

 e-mail: idvnamnu@ukr.net

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Псоріаз — мультифакторіальне захворювання, питання його етіології залишається нез'ясованим і тепер. Основними характеристиками патологічного процесу при псоріазі визнані: імунне запалення, що супроводжується активацією Т-лімфоцитів, надмірною продукцією медіаторів імунної відповіді – цитокінів (інтерферону гамма - ІФН- γ , фактора некрозу пухлин альфа – ФНО- α , ІЛ – 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 17, 18, 19, 20, 23); порушення диференціювання кератиноцитів, а також надлишковий ангіогенез та васодилатація в дермі [1-3].

Деякі автори підтримують теорію про активну участь резидентних клітин пам'яті в розвитку та підтримці запального процесу при псоріазі. Після дебюту захворювання в імунній системі хворого формуються Т-клітини пам'яті, які в пе-

ріод ремісії підтримують субклінічний запальний процес в шкірі та приймають безпосередню участь в розвитку рецидивів псоріазу [4, 5]. Т-клітини пам'яті представлені трьома субпопуляціями: циркулюючими ефекторними та центральними Т-клітинами пам'яті, а також тканинорезидентними клітинами пам'яті, які відносяться до CD4+ та CD8+ Т-лімфоцитів [6, 7]. Поява псоріатичних висипок на шкірі в період рецидиву псоріазу, вірогідно, викликана активною проліферацією в шкірі Т-клітин пам'яті у відповідь на дію тригерних сигналів. Вважають, що резидентні CD4+ Т-лімфоцити втягують у запальний процес кератиноцити шляхом продукції ключових щодо псоріазу прозапальних цитокінів – ІЛ-17 і ІЛ-22, а CD8+ Т-клітини посилюють запалення в осередках ураження за кошт залучення в шкіру різних імунних клітин [4, 8, 9]. При затяжному хроніч-

ному процесі в тканинах накопичуються інфільтрати. Вважають, що основними клітинами в цьому інфільтраті є Т-клітини.

Отже, формування імунологічної пам'яті відіграє значну роль у розвитку псоріазу, а персистенція Т-клітин пам'яті призводить до хронічного рецидивуючого перебігу дерматозу. Проте результати фенотипичних досліджень вельми дискутабельні (одні автори відмічають збільшення CD4+-лімфоцитів, інші - CD8+) [10]. Все це підтверджує актуальність та необхідність подальшого вивчення Т-клітин пам'яті у хворих на псоріаз. Враховуючи вищезазначене поглиблене вивчення імуногістохімічних особливостей запальних процесів у морфологічних елементах шкірної псоріатичної висипки є важливим в аспекті отримання нових даних з патогенезу псоріазу.

Мета дослідження — проаналізувати вміст CD3+-, CD4+-, CD8+- лімфоцитів в біоптатах шкіри хворих на вульгарний псоріаз в період загострення захворювання.

Матеріали та методи

Матеріалом для дослідження були зразки шкіри, які були отримані за допомогою панч-біопсії, взяті з ділянки шкірної псоріатичної висипки у 5 хворих на вульгарний псоріаз. Біопсії проводились до лікування хворих. В якості контрольного матеріалу було досліджено однотипно взятий біопсійний матеріал із шкіри передньої черевної стінки у 4 умовно здорових донорів відповідного віку. Взяття відповідного матеріалу для дослідження проводилось за умови інформованої згоди пацієнтів.

Біопсійний матеріал (фрагменти шкіри з ділянок псоріатичних бляшок та фрагменти нормальної шкіри) фіксували в 10% нейтральному формаліні протягом доби, з подальшою рутинною методикою із заливкою в парафін та виготовлення гістологічних зрізів товщиною 4-5 мкм на ротайному мікротомі Microm HM325 із системою переносу зрізів STS (Carl Zeiss, Німеччина).

Для визначення характеру і поширення місцевих клітинних імунних і запальних реакцій у шкірі застосовували імуногістохімічні методики з визначенням вмісту прозапальних маркерів імунного запалення - CD3+-, CD4+-, CD8+- лімфоцитів. Імуногістохімічні (ІГХ) реакції проводили з антитілами проти антигенів людини: поліклональним CD3 (DAKO, поліклональні), моноклональними CD4 (DAKO, clone 4B12), CD8 (DAKO, clone C8/144B), у відповідності до рекомендацій виробника. Для візуалізації продуктів ІГХ реакції застосовували систему детекції EnVision™ FLEX («Dako», Данія). Для остаточної візуалізації зрізи фарбували рутинною методикою з гематоксилином і еозинном. Отримані препарати вивчали та фотографували за допомогою мікроскопа Zeiss (Німеччина).

Результати імуногістохімічної реакції оці-

нювали напівкількісним методом в балах від 0 до 6 за загальноприйнятою методикою з урахуванням забарвлених клітин. 0 балів визначали при відсутності забарбовування, 1 бал – до 10%, 2 бали – до 20%, 3 бали – до 30 %, 4 бали – до 40 %, 5 балів – до 50 %, 6 балів – більше 50% забарвлених клітин. Результати дослідження представляли у вигляді медіани з мінімальними (Q₁) і максимальним (Q₂) значеннями.

Результати та їх обговорення

Проведене дослідження показало, що загострення вульгарного псоріазу характеризується збільшенням в осередку запалення клітин лімфоцитарного ряду (табл. 1). Кількість позитивно забарвлених клітин коливалася від поодиноких клітин до 80 %. В біоптатах шкіри хворих спостерігається збільшення в 1,5 рази кількості CD3+-лімфоцитів, в 2 рази - CD4+-лімфоцитів та в 3 рази - CD8+-лімфоцитів (табл.1).

Таблиця 1

Кількість CD3+-, CD4+ - та CD8+-лімфоцитів у біоптатах шкіри хворих на вульгарний псоріаз та умовно здорових донорів

Обстежені групи	CD3+	CD4+	CD8+
	Показники в балах (Me [Q ₁ ; Q ₂])		
Хворі на вульгарний псоріаз	3 [2; 5]	2 [1; 2]	3 [2; 3]
Умовно здорові донори	2 [1; 2]	1 [0; 1]	1 [0; 1]

За даними літератури в нормальній шкірі завжди присутня невелика кількість Т-лімфоцитів, які, як правило, розташовуються в дермі, а частина - в епідермісі [7]. Як показують отримані дані (рис. 1-3), у всіх випадках при вульгарному псоріазі спостерігається переважання в запальних інфільтратах імунокомпетентних Т-клітин і характеризуються неоднорідністю в залежності від походження.

CD3+Т-лімфоцити у запальному інфільтраті шкіри хворих розподілені нерівномірно – кількість CD3+Т-лімфоцитів в епідермісі значно менша ніж у периваскулярних інфільтратах дерми (рис. 1).

CD4+Т-лімфоцити-хелпери зустрічались як в дермальних, периваскулярних клітинних інфільтратах, так і в епідермісі. Основна маса CD4-позитивних клітин виявляється в периваскулярних інфільтратах в основі сосочків (рис. 2).

CD8+-лімфоцити виявлялись в дермальних та периваскулярних клітинних інфільтратах, в епідермісі інфільтрація була слабкою (рис. 3).

Одержані дані свідчать про те, що запальний процес в шкірі при псоріазі розвивається в результаті імунопатологічних реакцій, про що свідчить переважання в запальних інфільтратах CD4+- та CD8+-лімфоцитів.

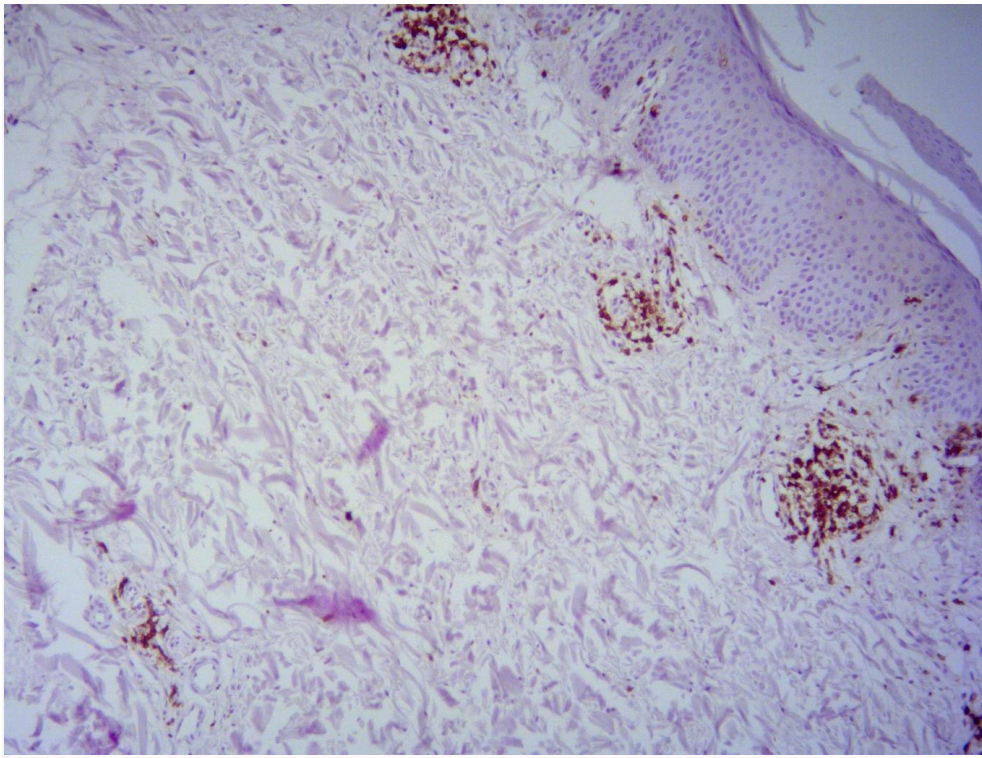


Рис. 1. Вульгарний псоріаз, CD3+Т-лімфоцити. ×100.

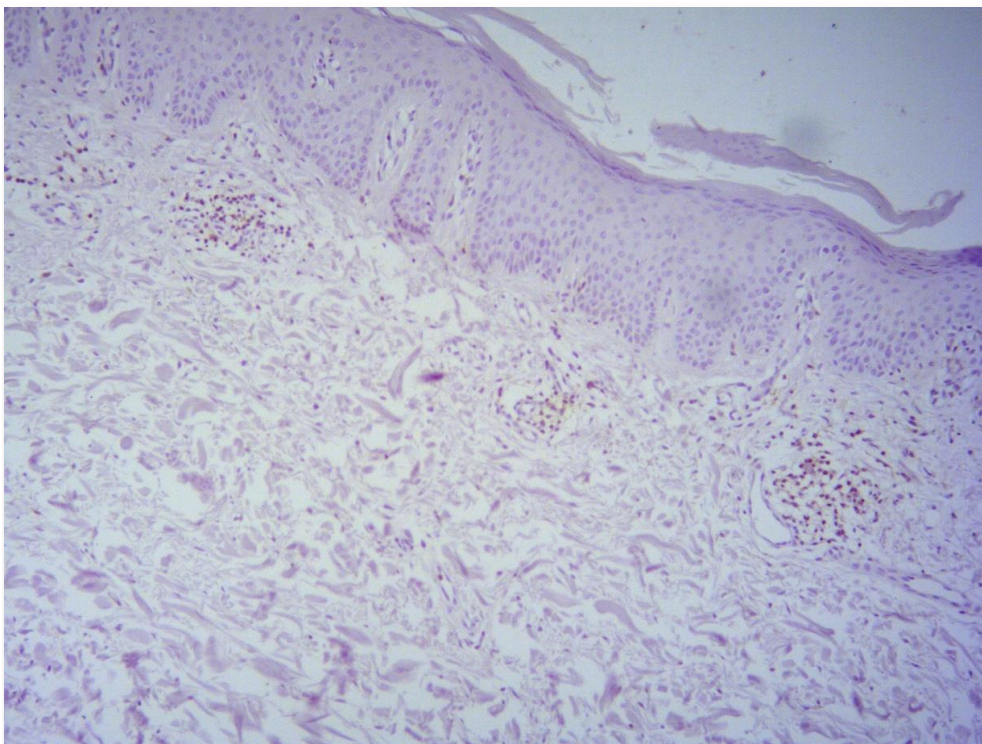


Рис. 2. Вульгарний псоріаз, CD4+Т-лімфоцити. ×100.

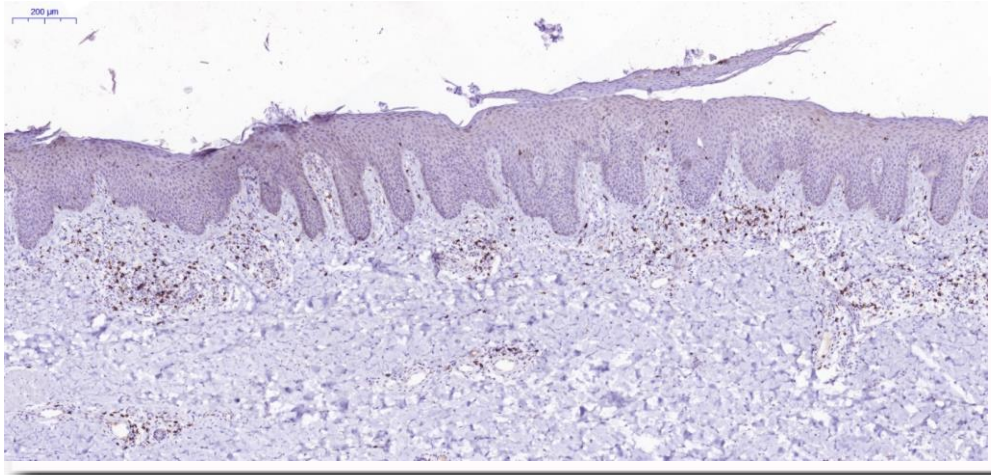


Рис. 3. Вульгарний псоріаз, CD8+Т-лімфоцити. ×200.

В дермі хворих на вульгарний псоріаз відсоток CD8-клітин значно вище, ніж в дермі здорових людей. Di Meglio P. з співавторами показали, що в епідермісі хворих абсолютна кількість Th17-клітин в 2-10 раз вища, ніж в дермі [11]. На сьогодні тканиннорезидентні клітини пам'яті CD8+, які продукують IL-17A, вважаються однією з патогенних популяцій шкіри при псоріазі [12]. Але CD4+CD103+ клітини пам'яті також можуть колонізувати епідерміс та продукувати IL-22 під час стимуляції [6]. Тобто особлива патогенність CD4+- та CD8+-лімфоцитів визначається тим, що вони мають властивості продукувати IL-17 та IL-22 - ключові прозапальні цитокіни, які приймають участь в патологічному процесі при псоріазі [8, 11]. Це може пояснити клінічний феномен схильності псоріатичних уражень до рецидивів в одному й теж самому місці [9] і вказує на роль CD4+- та CD8+-лімфоцитів в локальній пам'яті дерматозу.

Підсумок

Встановлено, що в біоптатах шкіри хворих на вульгарний псоріаз в період загострення за-

хворювання в дермальном інфільтраті спостерігається значне збільшення кількості клітин CD4+ та CD8+-лімфоцитів. Кількість CD8+- клітин переважає над CD4+.

Перспективи подальших досліджень

Розширення знань в області імунологічних основ патогенезу псоріазу дасть можливість розширити уявлення про механізми розвитку дерматозу та необхідні для створення і вдосконалення нових підходів у формуванні терапевтичної стратегії у лікуванні та профілактиці рецидивів псоріазу.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Дослідження виконано в рамках науково-дослідної теми «Дослідити участь резидентних Т-клітин пам'яті в патогенезі хронічних запальних дерматозів» (номер державної реєстрації 0120U103066).

Літературні джерела

References

1. Yemchenko Ya. [The role of local inflammation in the immunopathogenesis of psoriasis]. Actual Problems of the Modern Medicine: Bulletin of Ukrainian Medical Stomatological Academy. 2019;19(1):109-114. Ukrainian. DOI: 10.31718/2077-1096.19.1.109.
2. Lima EA, Lima MA. Reviewing concepts in the immunopathogenesis of psoriasis. An Bras Dermatol. 2011;86(6):1151-1158. DOI: 10.1590/s0365-05962011000600014.
3. Stepanenko R. [Immunohistochemical feature of inflammatory process in skin with psoriasis]. Immunology and Allergology: Science and Practice. 2015;1:24-29. Ukrainian.
4. Cheuk S, Wiken M, Blomqvist L, Nylen S, Talme T, Stahle M, Eidsmo L. Epidermal Th22 and Tc17 cells form a localized disease memory in clinically healed psoriasis. Journal of Immunology. 2014;192:3111-3120. DOI: 10.4049/jimmunol.1302313
5. Diani M, Galasso M, Cozzi S, Sgambelluri F, Altomare A, Cigni C, Frigerio E, Drago L, Volinia S, Granucci F. Blood to skin recirculation of CD4+ memory T cells associates with cutaneous and systemic manifestations of psoriatic disease. Clinical Immunology. 2017;180:84-94. DOI: 10.1016/j.clim.2017.04.001
6. Mackay LK, Rahimpour A, Ma J, Collins N, Stock A, Hafon M. The developmental pathway for CD103(+)/CD8+tissue-resident memory T cells of

skin. *Nature Immunology*. 2013;14:1294-1301. DOI: 10.1038/ni.2744

7. Watanabe R, Gehad A, Yang C, Scott L, Teague J, Schlapbach C, Elco C, Huang V, Matos T, Kupper T, Clark R. Human skin is protected by four functionally and phenotypically discrete populations of resident and recirculating memory T cells. *Science translational medicine*. 2015;7(279):279-239. DOI: 10.1126/scitranslmed.3010302

8. Ritchlin C. Tissue-resident T cells: Sequestered immune sensors and effectors of inflammation in spondyloarthritis. *Arthritis Rheumatol*. 2020;72(3):379-382. DOI: <https://doi.org/10.1002/art.41172>

9. Owczarczyk Saczonek A, Krajewska-Włodarczyk M, Kasprowicz-Furmańczyk M, Placek W. Immunological Memory of Psoriatic Lesions. *Int*

J Mol Sci. 2020;21(2):625. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21020625>.

10. Chen L, Shen Z. Tissue-resident memory T cells and their biological characteristics in the recurrence of inflammatory skin disorders. *Cellular and Molecular Immunology*. 2020;17:64-75. DOI: 10.1038/s41423-019-0291-4.

11. Di Meglio P, Villanova F, Navarini AA, Mylonas A, Tosi I, Nestle FO, Conrad C. Targeting CD8(+) T cells prevents psoriasis development. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138:274-276. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.10.046>.

12. Vu TT, Koguchi-Yoshioka H, Watanabe R. Skin-Resident Memory T Cells: Pathogenesis and Implication for the Treatment of Psoriasis. *J Clin Med*. 2021;10(17):3822. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm10173822>.

Кутасевич Я.Ф., Кондакова Г.К., Гойденко Н.І. Імуногістохімічне дослідження Т-лімфоцитів в шкірі хворих на вульгарний псоріаз.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Поглиблене вивчення імуногістохімічних особливостей запальних процесів у морфологічних елементах шкірної псоріатичної висипки є важливим для отримання новітніх даних з патогенезу псоріазу. **Мета** - визначити вміст CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺- лімфоцитів в біоптатах шкіри хворих на вульгарний псоріаз в період загострення захворювання. **Методи.** Проведено дослідження з використанням імуногістохімічних методів вмісту CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺-лімфоцитів у запальному інфільтраті шкіри хворих на вульгарний псоріаз. **Результати.** Проведене дослідження показало, що загострення вульгарного псоріазу характеризується збільшенням в осередку запалення клітин лімфоцитарного ряду. Найбільш представленою є клітинна ланка - CD4⁺, CD8⁺, з переважанням CD8-позитивних клітин. **Підсумок.** Запальний процес в шкірі при псоріазі розвивається в результаті імунопатологічних реакцій, про що свідчить переважання в запальних інфільтратах CD4⁺- та CD8⁺-лімфоцитів

Ключові слова: вульгарний псоріаз, імуногістохімічні зміни, резидентні клітини пам'яті.