

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Імені О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ХАЛДЄЄВА АННА ЄВГЕНІВНА

УДК 616.594.1-092.19-07-085

ДИСЕРТАЦІЯ
ІМУНОПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ДІАГНОСТИКИ ТА ШЛЯХИ
ОПТИМІЗАЦІЇ ТЕРАПІЇ АУТОІМУННОЇ ГНІЗДОВОЇ АЛОПЕЦІЇ

Галузь знань 22 – «Охорона здоров'я»
Спеціальність 222 – «Медицина»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
_____ А.Є.Халдєєва

Науковий керівник: Курченко Андрій Ігорович, доктор медичних наук,
професор

Київ – 2025

АНОТАЦІЯ

Халдєєва А.Є. Імунопатогенетичні особливості діагностики, та шляхи оптимізації терапії аутоімунної гніздової алопеції

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина». – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, 2025.

Дисертаційна робота присвячена аналізу системної імунної відповіді у пацієнтів із різними формами аутоімунної алопеції (АА) для розробки, обґрунтування та оптимізації ефективності терапевтичної тактики. Актуальність дослідження зумовлена значною поширеністю АА, яка зустрічається у близько 2% населення Європи та Північної Америки, з піком маніфестації у віці 10–25 років. Це захворювання суттєво впливає на психоемоційний стан пацієнтів, спричиняючи хронічний стрес, депресивні розлади та соціальну дезадаптацію, що обумовлено негативним впливом втрати волоссяного покриву на самосприйняття особистості.

Основою патогенезу АА є втрата імунного привілею волоссяних фолікулів (ВФ) та розвиток аутоагресії з боку імунної системи. Серед факторів, що ініціюють цей процес виокремлюють генетичну схильність, стресові впливи, токсичні чинники (талій, арсен, селен, ртуть), незбалансоване харчування, ожиріння та тютюнопаління. Спадкова схильність реалізується через складні механізми за участю груп генів, відповідальних за імунну регуляцію та диференціацію Т-клітин, і не підпорядковується законам Менделя. Ключовими в розвитку патології є механізми імунної агресії, зокрема активація цитотоксичних лімфоцитів (CD8+, NK-клітин) через рецептори NKG2D, та дисфункція регуляторних клітин (Treg, Breg). Важливу роль також відіграє дисрегуляція продукції цитокінів (IL-2, IFN- γ , IL-12, IL-17, TNF- α , IL-10 та TGF- β), що спричинює локальне запалення та руйнування ВФ.

Терапевтичні підходи залишаються складними через обмежену ефективність класичних препаратів (кортикостероїдів, місцевої імунотерапії, цитостатиків) та їх значні побічні ефекти. Останнім часом перспективним напрямом стали інгібітори янус-кіназ (JAK), що демонструють високу ефективність при різних формах АА. Додатково досліджується потенційне застосування статинів у зв'язку з їх вираженими імуномодуючими властивостями.

В основній частині роботи досліджено клінічні дані та імунологічні особливості 60 хворих на АА, серед яких 30 мали гніздову форму (група ГА), інші 30 характеризувались тотальним ураженням (група ТА). Діагноз АА встановлювався згідно рекомендацій Європейського товариства дослідження волосся – EHRS, Guaidlain 2020 Alopecia areata. Оцінку стадії проводили за підрахунками площі ураження по шкалі SALT (Severity of Alopecia Tool) із урахуванням додаткової симптоматики по шкалі SBN (S-scalp, B-body, N-nail). Локальні зміни шкіри скальпу аналізували за даними дерматоскопії, трихоскопії та фотофіксації. Наявність порушень імунного профілю в досліджуваних хворих виявляли при порівнянні відповідних показників в групі 30 здорових добровольців. Комплексну оцінку системного імунітету виконували за результатами кількісного та якісного дослідження популяцій імунних клітин (CD3-19+, CD3-56+, CD3+8+, CD3+4+, CD4+/CD8+), експресії активуючих та інгібуючих рецепторів (NKG2D, NKG2A), цитокінового профілю (IFN- γ , TNF- α , IL-10, TGF- β), а також спонтанної та індукованої продукції цитокінів моноклеарними клітинами. Обстеження пацієнтів виконувалось двічі: на початку дослідження та після 24 тижнів спостереження. З метою диференційованого підходу до лікування серед пацієнтів групи ГА та ТА було виділено підгрупи 1 та 2, де хворим з ГА2 та ТА2 призначався стандартний терапевтичний протокол, а в групах ГА1 та ТА1 базове лікування доповнювалось прийомом комбінованого засобу Симвастатин 20мг/Езетиміб 10мг.

На першому етапі дослідження нами було встановлено переважання неімунних чинників ризику у пацієнтів групи ГА, таких як метаболічний синдром ($\chi^2=11,5$, $p<0,001$), порушення харчового режиму ($\chi^2=4,9$, $p<0,05$) та хронічне стресове навантаження ($\chi^2=11,4$, $p<0,001$). Напроти, пацієнти групи ТА характеризувались невисокою частотою зовнішніх впливів та в більшій мірі мали супутню імунну патологію, зокрема, вітіліго та аутоімунного тиреоїдит ($\chi^2=5,1$, $p<0,05$). При трихологічному огляді серед пацієнтів групи ТА спостерігалась повна втрата волосся в ділянці скальпу, частково тіла. Переважаючими трихоскопічними ознаками були жовті крапки (90% пацієнтів), чорні крапки (66% пацієнтів) та зміни нігтьових пластин (23,3% пацієнтів). Область ураження при ГА була меншою, становила від 25% до 75% площі скальпу (середнє значення та медіана за шкалою SALT відповідно $33,17\pm 24,2\%$ та $37,5\%$, $IQR=35,00\%$), із середнім розміром окремого вогнища $9,90\pm 2,92$ см ($Me=9,97$ см, $IQR=5,08$). Трихоскопічна картина у хворих з ГА характеризувалась більшою кількістю проявів, які включали жовті крапки (70% пацієнтів), чорні крапки (50% пацієнтів), коротке конічне волосся (76,7% пацієнтів).

Оцінка показників системного імунітету у хворих на ТА продемонструвала значне зниження рівня CD3-CD19+, яке супроводжувалось помірним зменшенням CD3-CD56+ та CD3+. Подібного роду зміни були встановлені і у хворих на ГА, які, проте, були менш вираженими та, в ряді випадків не мали статистичної значимості. Одночасно спостерігалось зниження кількості NK-клітин, що пов'язано з їх активним перерозподілом у зони аутоімунної агресії. Аналіз концентрації Т-лімфоцитів також показав прогресивне зниження відповідно до тяжкості захворювання, ймовірно, через хронічну активацію та виснаження цих клітин. Усі обстежені хворі характеризувались зниженою концентрацією CD3+CD4+ та зростанням CD3+CD8+, що закономірно супроводжувалось порушенням співвідношення CD4+/CD8+ із мінімальним значенням у пацієнтів з ТА (0,74, $p<0,01$ проти контролю та групи ГА). При цьому, у хворих на АА була доведена надмірна

експресія лімфоцитами активуючого рецептора NKG2D, що у випадку ТА обтяжувалось різким дефіцитом синтезу регуляторного NKG2A. Переважання активуючих над пригнічуючими механізмами імунної відповіді у пацієнтів з ТА підтверджувалось у 2,2 разів та 1,85 разів збільшеним кількісним співвідношенням експресії NKG2D до NKG2A на натуральних кіллерах відносно здорових та групи ГА ($p < 0,001$).

Оцінка цитокінового профілю в периферичній крові хворих на АА підтверджувала наявність вираженої активації цитотоксичних та прозапальних механізмів із значними порушеннями регуляції імунної відповіді. Так, середні рівні TNF- α та IFN- γ перевищували контрольне значення більш ніж в 2 та 4 рази в групі ГА та ТА відповідно ($p < 0,001$). Концентрація регуляторного TGF- β у хворих групи ГА була в 2,2 рази зменшеною, та досягала мінімального значення серед хворих на ТА ($p < 0,001$). Порушення протизапальних механізмів та гальмування імунної активності у хворих на алопецію підтверджувалось за зниженням рівню іншого цитокіну – IL-10, значення якого в групі ТА становило лише 27% від контрольного ($p < 0,05$).

Аналіз функціонального резерву імунокомпетентних клітин за рівнями продукції цитокінів IL-10 та TGF- β *in vitro* в спонтанному та індукованому режимах підтвердив часткове збереження регуляторних механізмів у хворих на ГА та, практично, повне їх пригнічення серед пацієнтів з ТА (приріст індукованих мітогеном IL-10 у здорових осіб - 58%, у хворих на ГА - 34% у хворих на ТА - 10%, $p < 0,05$; TGF- β у здорових осіб – 54,6%, у хворих на ГА – 28,6% у хворих на ТА – 6,7%, $p < 0,05$). При цьому, тривала високоінтенсивна імунна активність у хворих на ТА поєднувалась із виснаженням клітинного реагування та мінімальним приростом запальних цитокінів IFN- γ (на 9%) та TNF- α (на 7,5%), тоді як в груп ГА їх синтез у відповідь на стимуляцію був достатнім та не відрізнявся від контролю.

Результати дослідження клітинної ланки імунітету у хворих із АА на тлі проведеного комплексного лікування із додаванням засобу

симвастатин/ezetиміб продемонстрували відновлення рівня первинно низької кількості В-лімфоцитів (на 35% в групі ГА1 та в 3,4 рази в групі ТА1, $p<0,05$), що, ймовірно було результатом збільшення регуляторного компоненту та репаративних можливостей системного імунітету. При цьому спостерігалось зниження цитотоксичного потенціалу, про що судили за абсолютним та відносним зменшенням CD3+8+ (на 27,2% в групі ГА1 та на 22% в групі ТА1, $p<0,05$). Крім того, нормалізація клітинного складу супроводжувалась зменшенням кількості лімфоцитів, позитивних за активуючим рецептором NKG2D (на 21% в групі ГА1 та у 2,5 разів в групі ТА1, $p<0,05$) та зростанням носіїв інгібуючого NKG2A (на 24% в групі ТА1, $p<0,05$). Про сприятливу імунологічну динаміку на тлі застосованого комплексного лікування можна було судити за зростанням концентрації циркулюючих регуляторних/протизапальних цитокінів (в групі ГА1 – IL-10 на 45% та TGF- β на 42%; в групі ТА1 – TGF- β на 27%, $p<0,05$) та зниженням концентрації досліджуваних медіаторів запалення (в групі ГА1 – TNF- α на 30% та IFN- γ на 24%; в групі ТА1 – TNF- α на 41% та IFN- γ на 49%, $p<0,05$). Достовірної відмінності показників клітинної та гуморальної ланки імунітету в групах пацієнтів, які отримували стандартний протокол лікування в динаміці дослідження встановлено не було.

Приріст секреції цитокінів мононуклеарними клітинами *in vitro* серед груп комплексного лікування був синергічним, в більшій мірі при локалізованих формах хвороби. Паралельно збільшенню продукції IL-10 (на 31% в групі ГА1 та на 23% в групі ТА1, $p<0,05$) у пацієнтів групи ГА1 визначалось достовірне зростання продукції TGF- β (на 39% в групі ГА1 та на 27% в групі ТА1, $p<0,05$), а приріст синтезу IFN- γ (на 37% в групі ГА1 та на 23% в групі ТА1, $p<0,05$) супроводжувався такою ж динамікою зі сторони TNF- α (на 37,2% в групі ГА1 та на 27,5% в групі ТА1, $p<0,05$).

Застосування стандартного та комплексного підходу до лікування АА в досліджуваних групах супроводжувалось ознаками регресу клінічних проявів за шкалою SALT. Додавання засобу симвастатин/ezetиміб до базової терапії в

групі ГА1 асоціювалось із достовірним зменшенням залишкової площі ураження (на 51%, $p < 0,05$ проти ГА2). Водночас, в групі ГА1 спостерігалось 33,3% випадків повного клінічного регресу ознак хвороби, тоді як в групі ГА2 їх частка становила 6,7%. В умовах комплексного лікування в групі ГА1 було виявлено низький відсоток невідповідачів (26,6%), при цьому, в групі ГА2 резистентність до терапії спостерігали у 6 хворих (40%). Серед пацієнтів групи ГА1 у 5 осіб (33,3%) на тлі комплексного лікування було виявлено повне відростання волосяного покриву та лише 2 випадки (13,3%) абсолютної неефективності лікування. В групі ГА2 частка невідповідачів біла більшою (40%) та лише 3 випадки (20%) відновлення росту в усіх зонах. Трихоскопічне обстеження пацієнтів групи ГА1 на 24 тиждень спостереження продемонструвало значне зниження кількості нефункціонуючих фолікулів у вигляді жовтих та чорних точок, тоді як їх кількість зберігалась достовірно більшою в групі ГА2.

За результатами кореляційного аналізу Спірмена було встановлено наявність сильного прямого взаємозв'язку між вираженістю симптомокомплексу алопеції та концентрацією CD3+314+ ($\rho=0,78$; $p<0,001$), TNF- α ($\rho=0,8$; $p<0,001$) та IFN- γ ($\rho=0,85$; $p<0,001$). Обернена залежність помірної сили була виявлена між стадією АА за шкалою SBN та вмістом CD3+94+ ($\rho=0,42$; $p<0,05$), TGF- β ($\rho=-0,45$; $p<0,05$) та IL-10 ($\rho=-0,65$; $p<0,001$). Ці дані підтвердили наявність взаємозалежності між активацією аутоімунних механізмів, пригніченням регуляторного потенціалу та клінічним перебігом АА в досліджуваних хворих. Отже, АА характеризувалась значними змінами в клітинній ланці імунітету, що посилювались зі збільшенням клінічної тяжкості захворювання. В таких умовах розвиток системного імуномодуючого ефекту комплексного лікування створювало передумови для зростання кількості випадків клінічної відповіді та більш вираженого регресу проявів алопеції. Отримані результати формують теоретичну основу для розробки спеціалізованих імунотерапевтичних підходів, спрямованих на

нормалізацію імунологічного балансу, що дозволить покращити якість життя пацієнтів та досягти стійкої ремісії.

Наукова новизна проведеного дослідження полягає у вперше здійсненому комплексному порівняльному аналізі стану клітинної та цитокінової складової імунітету у хворих з різними клінічними формами аутоімунної алопеції (гніздової та тотальної) у порівнянні з групою здорових осіб.

Вперше детально досліджено і встановлено взаємозв'язок між тяжкістю клінічних проявів алопеції та вираженістю порушень клітинного імунітету, що включало прогресивне зниження концентрації В-лімфоцитів (CD3-CD19+), NK-клітин (CD3-CD56+) і Т-лімфоцитів (CD3+), з чітким порушенням балансу між субпопуляціями Т-хелперів (CD3+CD4+) та цитотоксичних Т-клітин (CD3+CD8+).

Встановлено, що при тяжких формах захворювання (тотальній алопеції) ці зміни є найбільш вираженими та супроводжуються значним зниженням індексу імуногенності, що підтверджує переважання цитотоксичних механізмів аутоімунної агресії.

Вперше було виявлено істотний дисбаланс у рецепторному профілі NK-клітин, зокрема значне підвищення експресії активуючого рецептора NKG2D (CD314+) і одночасне зниження експресії інгібуючого рецептора NKG2A (CD94+), особливо виражене при тотальній алопеції. Це дозволяє припустити ключову роль NK-клітин у формуванні та підтриманні хронічного аутоімунного процесу.

Також вперше комплексно досліджено фоновий цитокіновий профіль периферійної крові пацієнтів з алопецією та встановлено прогресуюче зниження концентрації регуляторних протизапальних цитокінів (TGF- β , IL-10) на тлі одночасного значного підвищення прозапальних цитокінів (TNF- α ,

IFN- γ) в умовах *in vivo* та *in vitro*, що свідчить про порушення імунної толерантності та розвиток вираженого запального компонента, який є критичним для прогресування захворювання.

Оригінальним внеском є встановлення позитивного впливу комбінованого лікування симвастатином/ezetимібом на стан клітинного імунітету у хворих з гніздовою і тотальною формами алопеції, що проявляється суттєвим відновленням кількості В-лімфоцитів, NK-клітин, нормалізацією співвідношення експресії рецепторів NKG2D/NKG2A та балансу цитокінів. Вперше продемонстровано, що така імунологічна корекція безпосередньо корелює з поліпшенням клінічних показників, зменшенням площі ураження та частотою повного регресу.

Отримані результати відкривають перспективи для розробки нових диференційованих імунотерапевтичних підходів, що мають потенціал значно покращити клінічні результати лікування АА, сприяючи не лише контролю автоімунного запалення, а й відновленню імунного гомеостазу та толерантності.

Практична значимість проведеної роботи полягає у встановленні важливих імунологічних змін, пов'язаних з різними клінічними формами АА, що відкриває можливості для їх використання в клінічній діяльності. Зокрема, проведений аналіз клітинної ланки імунітету дозволив визначити специфічні імунологічні маркери, що відображають ступінь тяжкості захворювання, а саме – виражене зниження кількості В-лімфоцитів, натуральних кілерних (NK) клітин, Т-лімфоцитів, а також дисбаланс субпопуляцій Т-хелперів і цитотоксичних клітин. Виявлені імунологічні показники можуть бути використані для діагностики, оцінки тяжкості, прогнозування клінічного перебігу захворювання та моніторингу ефективності терапії.

Практичну значимість має встановлення специфічних маркерів аутоімунної агресії, таких як високий рівень активації рецептора NKG2D та зниження інгібуючого рецептора NKG2A на NK-клітинах, а також зміни рівнів ключових прозапальних (TNF- α , IFN- γ) та протизапальних (IL-10, TGF- β) цитокінів. Це дозволяє формувати індивідуалізовані підходи до терапії пацієнтів з різними формами алопеції, спрямовані на корекцію конкретних порушень імунної відповіді.

Особливо важливою є встановлена ефективність комплексної терапії з використанням симвастатину/ezetимібу, яка сприяла нормалізації імунних параметрів і, відповідно, поліпшенню клінічного перебігу хвороби. Показано, що ця терапія здатна відновлювати гуморальну ланку імунітету, зменшувати цитотоксичну агресію і посилювати регуляторні механізми імунної системи, що може використовуватись у лікуванні пацієнтів з тяжкими формами захворювання, які традиційно погано піддаються терапії. Таким чином, отримані результати є теоретичним підґрунтям для створення більш ефективних лікувальних схем, що враховують особливості імунологічних порушень у кожного окремого пацієнта.

Отже, практична значимість дослідження полягає в тому, що отримані дані можуть бути використані як в діагностичній та прогностичній роботі, так і для розробки нових імунотерапевтичних стратегій, орієнтованих на зниження аутоімунної агресії, відновлення імунологічного балансу та, відповідно, покращення якості життя пацієнтів з алопецією.

Ключові слова: аутоімунна алопеція, системне запалення, аутоагресія, клітинна ланка імунітету, активуючий рецептор, інгібуючий рецептор, цитокіни, волосяний фолікул, імуномодуюче лікування, статинотерапія

ABSTRACT

Khaldieieva A.Ye. Immunopathogenetic Features of Diagnosis and Ways to Optimize Therapy for Autoimmune Alopecia Areata

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 22 "Healthcare" in the specialty 222 "Medicine". – Bogomolets National Medical University, Kyiv, 2025.

The dissertation research is dedicated to the analysis of the systemic immune response in patients with different forms of autoimmune alopecia (AA) to develop, justify, and optimize the effectiveness of therapeutic strategies. The relevance of the study is determined by the significant prevalence of AA, which affects approximately 2% of the population in Europe and North America, with a peak manifestation occurring between the ages of 10 and 25 years. This disease significantly impacts the psycho-emotional state of patients, leading to chronic stress, depressive disorders, and social maladaptation, which is largely due to the negative effect of hair loss on self-perception. The basis of AA pathogenesis is the loss of immune privilege of hair follicles (HF) and the development of autoimmune aggression by the immune system. The factors initiating this process include genetic predisposition, stress exposure, toxic agents (thallium, arsenic, selenium, mercury), unbalanced nutrition, obesity, and smoking. Hereditary predisposition is realized through complex mechanisms involving groups of genes responsible for immune regulation and T-cell differentiation, which do not follow Mendelian inheritance patterns. The key mechanisms in the development of pathology include immune aggression, particularly the activation of cytotoxic lymphocytes (CD8⁺, NK cells) through NKG2D receptors, and dysfunction of regulatory cells (Treg, Breg). A significant role is also played by dysregulation of cytokine production (IL-2, IFN- γ , IL-12, IL-17, TNF- α , IL-10), which contributes to local inflammation and HF destruction.

Therapeutic approaches remain challenging due to the limited efficacy of conventional medications (corticosteroids, topical immunotherapy, cytostatics) and their significant side effects. Recently, Janus kinase (JAK) inhibitors have emerged as a promising treatment option, demonstrating high efficacy across various forms of AA. Additionally, the potential application of statins with their pronounced immunomodulatory properties is being explored. In the main part of the study, we investigated the clinical data and immunological characteristics of 60 patients with AA, among whom 30 had the patchy form (PA group), while the other 30 were characterized by total hair loss (TA group). The diagnosis of AA was established according to the recommendations of the European Hair Research Society (EHRS) Guideline 2020 for Alopecia Areata. Disease stage assessment was performed by calculating the affected area using the Severity of Alopecia Tool (SALT) scale, considering additional symptoms based on the SBN scale (S-scalp, B-body, N-nail). Local changes in the scalp skin were analyzed based on dermatoscopy, trichoscopy, and photographic documentation. The presence of immune profile disturbances in the studied patients was identified by comparing the corresponding parameters with a group of 30 healthy volunteers. A comprehensive assessment of systemic immunity was performed based on the quantitative and qualitative analysis of immune cell populations (CD3-19+, CD3-56+, CD3+19, CD3+8+, CD3+4+, CD4+/CD8+), expression of activating and inhibitory receptors (NKG2D, NKG2A), cytokine profile (IFN- γ , TNF- α , IL-10, TGF- β), as well as spontaneous and induced cytokine production by mononuclear cells. Patient assessments were conducted twice: at the beginning of the study and after 24 weeks of follow-up. For a differentiated treatment approach, within the PA and TA groups, subgroups 1 and 2 were identified, where PA2 and TA2 patients received a standard therapeutic protocol, while in the PA1 and TA1 groups, basic treatment was supplemented with a combination therapy of Simvastatin 20 mg/Ezetimibe 10 mg.

At the first stage of the study, we identified a predominance of non-immune risk factors in PA patients, including metabolic syndrome ($\chi^2=11.5$, $p<0.001$), dietary disorders ($\chi^2=4.9$, $p<0.05$), and chronic stress burden ($\chi^2=11.4$, $p<0.001$). In contrast, TA patients exhibited a lower frequency of external influences and were more often associated with concurrent immune pathology, particularly vitiligo and autoimmune thyroiditis ($\chi^2=5.1$, $p<0.05$). During trichological examination, TA patients demonstrated complete hair loss of the scalp and partial loss on the body. Trichoscopic features included a significant number of yellow dots (90% of patients), black dots (66% of patients), and nail plate abnormalities (23.3% of patients). The affected area in PA patients was smaller, ranging from 25% to 75% of the scalp area (mean and median SALT scores $33.17\pm24.2\%$ and 37.5% , $IQR=35.00\%$), with an average lesion size of 9.90 ± 2.92 cm ($Me=9.97$ cm, $IQR=5.08$). The trichoscopic picture in PA patients was characterized by a greater variety of manifestations, including yellow dots (70% of patients), black dots (50% of patients), and short conical hairs (76.7% of patients).

Assessment of systemic immunity markers in TA patients demonstrated a significant reduction in CD3-CD19⁺ levels, accompanied by moderate decreases in CD3-CD56⁺ and CD3⁺. Similar changes were observed in PA patients; however, these were less pronounced and, in some cases, did not reach statistical significance. At the same time, a reduction in NK cells was observed, which is associated with their active redistribution to sites of autoimmune aggression. The analysis of T-lymphocyte concentrations also indicated progressive decline corresponding to disease severity, likely due to chronic activation and exhaustion of these cells. Examined patients exhibited reduced CD3⁺CD4⁺ levels and increased CD3⁺CD8⁺ levels, which naturally led to an altered CD4⁺/CD8⁺ ratio, with the lowest values in TA patients (0.74, $p<0.01$ vs. control and PA group). Furthermore, AA patients exhibited excessive expression of the activating receptor NKG2D by lymphocytes, which in TA cases was compounded by a severe deficit in regulatory NKG2A synthesis. The predominance of activating over inhibitory immune response mechanisms in TA patients was confirmed by a 2.2-fold and 1.85-fold increase in

the quantitative expression ratio of NKG2D to NKG2A on NK cells relative to healthy controls and the PA group ($p < 0.001$).

Evaluation of the cytokine profile in the peripheral blood of AA patients confirmed the presence of pronounced activation of cytotoxic and pro-inflammatory mechanisms with significant dysregulation of immune response control. The mean levels of TNF- α and IFN- γ exceeded control values by more than 2-fold and 4-fold in PA and TA groups, respectively ($p < 0.001$). The concentration of regulatory TGF- β in patients of the PA group was reduced by 2.2 times and reached its minimum value among patients with TA ($p < 0.001$). The impairment of anti-inflammatory mechanisms and suppression of immune activity in alopecia patients was confirmed by the decreased level of another cytokine, IL-10, whose value was only 27% of the control level in the TA group ($p < 0.05$). The analysis of the functional reserve of immunocompetent cells based on cytokine production levels of IL-10 and TGF- β in vitro under spontaneous and induced conditions confirmed the partial preservation of regulatory mechanisms in PA patients and their almost complete suppression in TA patients (mitogen-induced IL-10 increase in healthy individuals - 58%, in PA patients - 34%, in TA patients - 10%, $p < 0.05$; TGF- β in healthy individuals - 54.6%, in PA patients - 28.6%, in TA patients - 6.7%, $p < 0.05$). At the same time, prolonged high-intensity immune activity in TA patients was associated with cellular response exhaustion and minimal increases in inflammatory cytokines IFN- γ (by 9%) and TNF- α (by 7.5%), whereas in the PA group, their synthesis in response to stimulation was adequate and did not differ from the control.

The results of the study on the cellular immune response in AA patients undergoing comprehensive treatment, including simvastatin/ezetimibe administration, demonstrated the restoration of the initially low B-lymphocyte levels (by 35% in the PA1 group and 3.4 times in the TA1 group, $p < 0.05$), which was likely due to an increase in the regulatory component and the reparative capacity of systemic immunity. At the same time, a reduction in cytotoxic potential was observed, as evidenced by the absolute and relative decreases in CD3⁺8⁺ (by 27.2% in PA1 and 22% in TA1, $p < 0.05$). Additionally, normalization of cellular

composition was accompanied by a decrease in the number of lymphocytes positive for the activating receptor NKG2D (by 21% in PA1 and 2.5 times in TA1, $p < 0.05$) and an increase in NKG2A inhibitory receptor carriers (by 24% in TA1, $p < 0.05$). Favorable immunological dynamics against the background of the applied comprehensive treatment were indicated by an increase in circulating regulatory/anti-inflammatory cytokines (in PA1 – IL-10 by 45% and TGF- β by 42%; in TA1 – TGF- β by 27%, $p < 0.05$) and a decrease in inflammatory mediators (in PA1 – TNF- α by 30% and IFN- γ by 24%; in TA1 – TNF- α by 41% and IFN- γ by 49%, $p < 0.05$). No significant differences in cellular and humoral immune parameters were established in the groups receiving the standard treatment protocol during the study.

The increase in cytokine secretion in vitro by mononuclear cells in the comprehensive treatment groups was synergistic, particularly in localized forms of the disease. Alongside the increase in IL-10 production (by 31% in PA1 and 23% in TA1, $p < 0.05$), PA1 patients demonstrated a significant rise in TGF- β production (by 39% in PA1 and 27% in TA1, $p < 0.05$), while the increase in IFN- γ synthesis (by 37% in PA1 and 23% in TA1, $p < 0.05$) was accompanied by a similar dynamic for TNF- α (by 37.2% in PA1 and 27.5% in TA1, $p < 0.05$).

The application of standard and comprehensive treatment approaches in the studied AA groups was associated with signs of regression of clinical manifestations according to the SALT scale. The addition of simvastatin/ezetimibe to the baseline therapy in PA1 was associated with a significant reduction in the residual lesion area (by 51%, $p < 0.05$ vs. PA2). At the same time, in PA1, 33.3% of cases showed complete clinical regression of disease symptoms, whereas in PA2, this figure was only 6.7%. Under comprehensive treatment in PA1, a low percentage of non-responders (26.6%) was observed, while in PA2, resistance to therapy was recorded in 6 patients (40%). Among TA1 patients, 5 individuals (33.3%) exhibited complete hair regrowth following comprehensive treatment, while only 2 cases (13.3%) showed absolute treatment ineffectiveness. In TA2, the proportion of non-responders was higher (40%), and only 3 cases (20%) showed hair regrowth in all

affected areas. Trichoscopic examination of TA1 patients at 24 weeks of follow-up demonstrated a significant reduction in the number of non-functional follicles in the form of yellow and black dots, whereas their quantity remained significantly higher in PA2.

Spearman correlation analysis established a strong direct relationship between the severity of the alopecia symptom complex and the concentration of CD3⁺314⁺ ($\rho=0.78$; $p<0.001$), TNF- α ($\rho=0.8$; $p<0.001$), and IFN- γ ($\rho=0.85$; $p<0.001$). A moderate inverse correlation was identified between the AA stage on the SBN scale and the levels of CD3⁺94⁺ ($\rho=0.42$; $p<0.05$), TGF- β ($\rho=-0.45$; $p<0.05$), and IL-10 ($\rho=-0.65$; $p<0.001$). These data confirm the interdependence between autoimmune mechanism activation, suppression of regulatory potential, and the clinical course of AA in the studied patients. Thus, AA was characterized by significant changes in the cellular immune compartment, which intensified with increasing disease severity. Under these conditions, the development of a systemic immunomodulatory effect through combination therapy created the prerequisites for an increased number of clinical responses and a more pronounced regression of alopecia manifestations. The obtained results establish a theoretical basis for the development of specialized immunotherapeutic approaches aimed at restoring immunological balance, which will improve the quality of life of patients and achieve stable remission.

Scientific Novelty of the Study. The scientific novelty of the conducted research lies in the first-ever comprehensive comparative analysis of the cellular and cytokine components of immunity in patients with different clinical forms of autoimmune alopecia (patchy and total) compared to a control group of healthy individuals.

For the first time, a detailed investigation has been conducted to establish the correlation between the severity of clinical manifestations of alopecia and the degree of cellular immune disturbances, including a progressive decrease in the concentrations of B-lymphocytes (CD3⁻CD19⁺), NK cells (CD3⁻CD56⁺), and T-

lymphocytes (CD3⁺), with a clear imbalance between T-helper cell subpopulations (CD3⁺CD4⁺) and cytotoxic T cells (CD3⁺CD8⁺).

It has been determined that in severe forms of the disease (total alopecia), these changes are the most pronounced and are accompanied by a significant reduction in the immunogenicity index, confirming the predominance of cytotoxic mechanisms of autoimmune aggression.

For the first time, a significant imbalance in the receptor profile of NK cells has been identified, specifically a marked increase in the expression of the activating receptor NKG2D (CD314⁺) and a simultaneous decrease in the expression of the inhibitory receptor NKG2A (CD94⁺), particularly evident in total alopecia. This suggests a key role of NK cells in the initiation and maintenance of the chronic autoimmune process.

Additionally, a comprehensive analysis of the baseline cytokine profile of peripheral blood in alopecia patients was conducted for the first time, revealing a progressive decrease in regulatory anti-inflammatory cytokines (TGF- β , IL-10) alongside a significant increase in pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IFN- γ) both in vivo and in vitro. These findings indicate a breakdown in immune tolerance and the development of a pronounced inflammatory component, which is critical for disease progression.

A novel contribution of the study is the demonstration of the beneficial effects of combination therapy with simvastatin/ezetimibe on the cellular immune status in patients with both patchy and total alopecia. This effect manifests as a significant restoration of B-lymphocytes, NK cells, normalization of the NKG2D/NKG2A receptor expression ratio, and rebalancing of cytokine levels. For the first time, it has been demonstrated that this immune modulation directly correlates with improvements in clinical outcomes, including reduction in lesion area and increased frequency of complete disease regression.

The obtained results open new prospects for the development of differentiated immunotherapeutic approaches with the potential to significantly improve clinical

outcomes in autoimmune alopecia by not only controlling autoimmune inflammation but also restoring immune homeostasis and tolerance.

Practical Significance of the Study. The practical significance of the conducted research lies in the identification of significant immunological changes associated with various clinical forms of autoimmune alopecia, which opens up possibilities for their application in clinical practice. Specifically, the analysis of the cellular immune response enabled the identification of specific immunological markers reflecting the severity of the disease, namely, a pronounced decrease in the number of B-lymphocytes, natural killer (NK) cells, and T-lymphocytes, as well as an imbalance in T-helper and cytotoxic cell subpopulations. The identified immunological parameters can be used for diagnosis, severity assessment, prognosis of the clinical course, and monitoring of treatment efficacy.

The establishment of specific markers of autoimmune aggression has practical significance, such as a high level of NKG2D receptor activation and a decrease in the inhibitory receptor NKG2A on NK cells, as well as changes in the levels of key pro-inflammatory (TNF- α , IFN- γ) and anti-inflammatory (IL-10, TGF- β) cytokines. These findings allow for the development of personalized therapeutic approaches for patients with different forms of alopecia, aimed at correcting specific immune response abnormalities.

Of particular importance is the demonstrated efficacy of combination therapy with simvastatin/ezetimibe, which contributed to the normalization of immune parameters and, consequently, an improvement in the clinical course of the disease. It has been shown that this therapy can restore humoral immunity, reduce cytotoxic aggression, and enhance the regulatory mechanisms of the immune system, which may be useful in the treatment of severe forms of the disease that are traditionally resistant to conventional therapies. Thus, the obtained results provide a theoretical foundation for the development of more effective treatment strategies, taking into account the individual immunological abnormalities of each patient.

Therefore, the practical significance of this study is that the obtained data can be applied in diagnostic and prognostic work, as well as in the development of new

immunotherapeutic strategies aimed at reducing autoimmune aggression, restoring immunological balance, and ultimately improving the quality of life of patients with alopecia.

Keywords: autoimmune alopecia, systemic inflammation, autoaggression, cellular immunity, activating receptor, inhibitory receptor, cytokines, hair follicle, immunomodulatory treatment, statin therapy.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Курченко АІ, Ніколаєнко ОМ, Федорук ГВ, Халдєєва АЄ. Вплив препарату Ербісол УЛЬТРАфарм на показники клітинного імунітету при часто рецидивуючій герпесвірусній інфекції. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2021;3:52-56. DOI: 10.37321/immunology.2021.3-06.
2. Халдєєва АЄ. Аналіз сучасних лікувальних методів впливу на імунологічну складову при гніздовій алопеції. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2022;1-2:53-58. DOI: 10.37321/immunology.2022.1-2-06
3. Халдєєва А. Особливості стану клітинного імунітету при гніздовій алопеції. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2024;2:47-53. DOI: 10.37321/immunology.2024.2-06
4. Халдєєва А. Зміни В-клітинної ланки імунітету та експресії NKG2D (CD314) і CD94(NKG2A) при алопеції тоталіс. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2024;3-4:80-85. DOI: 10.37321/immunology.2024.3-4-07
5. Халдєєва А. Зміни імунологічних показників при лікуванні гніздової алопеції препаратами групи статинів. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2025;1:56-66. DOI: 10.37321/immunology.2025.1-06

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	25
ВСТУП	27
РОЗДІЛ 1. ІМУНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕЗУ, ДІАГНОСТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ АУТОІМУННОЇ ГНІЗДОВОЇ АЛОПЕЦІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	36
1.1. Сучасні уявлення про патогенез аутоімунної гніздової алопеції....	36
1.2. Імунопатогенез аутоімунної гніздової алопеції.....	38
1.2.1. Роль клітинного імунітету в патогенезі аутоімунної гніздової алопеції.....	38
1.2.2. Роль цитокінів в патогенезі аутоімунної гніздової алопеції.....	42
1.3. Сучасні патогенетичні засоби лікування хворих із різними клінічними формами гніздової алопеції.....	45
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	50
2.1. Дизайн та клінічні методи дослідження.....	50
2.2. Лабораторні методи дослідження.....	55
2.2.1. Визначення показників імунної системи методом лазерної проточної цитофлуориметрії.....	55
2.2.2. Методи імуноферментного аналізу для визначення концентрації цитокінів.....	57
2.2.3. Визначення in vitro спонтанної та індукованої продукції цитокінів мононуклеарними клітинами периферичної крові.....	58
2.3. Статистична обробка отриманих даних.....	60
РОЗДІЛ 3. КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ХВОРИХ.....	62
3.1. Клініко-анамнестична характеристика пацієнтів групи гніздової алопеції.....	62
3.2. Клініко-анамнестична характеристика пацієнтів групи тотальної алопеції.....	64

3.3 Трихологічна та дерматоскопічна характеристика пацієнтів групи із гніздовою алопецією.....	67
3.4 Трихологічна та дерматоскопічна характеристика пацієнтів групи тотальної алопеції.....	70
РОЗДІЛ 4. ОСОБЛИВОСТІ СИСТЕМНОГО ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ НА АУТОІМУННУ ГНІЗДОВУ АЛОПЕЦІЮ.....	75
4.1. Аналіз показників клітинної ланки імунітету у хворих на гніздову алопецію та тотальну алопецію.....	75
4.2. Визначення показників популяційного складу НК клітин та мононуклеарів периферичної крові по визначенню експресії активуючих CD314 (NKG2D) та інгібуючих CD94 (NKG2A) рецепторів у хворих із різними клінічними формами аутоімунної алопеції.....	78
РОЗДІЛ 5. АНАЛІЗ ПОКАЗНИКІВ ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ НА АУТОІМУННУ АЛОПЕЦІЮ ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ ВИВЧЕННЯ ФОНОВОГО РІВНЯ ПРОЗАПАЛЬНИХ ТА РЕГУЛЯТОРНИХ ЦИТОКІНІВ, А ТАКОЖ ЗА ЇХ ПРОДУКЦІЄЮ IN VITRO.....	84
5.1. Фоновий рівень цитокінів периферійної крові хворих із різними клінічними формами гніздової алопеції (IL-10, TGF- β , TNF- α , IFN- γ).....	84
5.2. Дослідження функціональної активності in vitro мононуклеарних клітин у хворих із різними клінічними формами гніздової алопеції по продукції IL-10 та TGF- β	86
5.3. Дослідження in vitro функціональної активності мононуклеарних клітин у хворих із різними клінічними формами гніздової алопеції по продукції TNF- α , IFN- γ	89
РОЗДІЛ 6. ДОСЛІДЖЕННЯ СИСТЕМНИХ ІМУНОЛОГІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ПОКАЗНИКІВ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ ІЗ РІЗНИМИ КЛІНІЧНИМИ ФОРМАМИ АУТОІМУННОЇ АЛОПЕЦІЇ В ДИНАМІЦІ КОМПЛЕКСНОЇ МЕДИКАМЕНТОЗНОЇ ТЕРАПІЇ.....	93

6.1. Аналіз показників клітинної ланки імунітету у хворих із різними формами АА під впливом комплексної медикаментозної терапії.....	93
6.2. Зміни показників популяційного складу НК клітин та мононуклеарів периферичної крові по визначенню експресії активуючих CD314(NKG2D) та інгібуючих CD94(NKG2A) рецепторів у хворих із різними клінічними формами гніздової алопеції під впливом комплексної медикаментозної терапії.....	97
РОЗДІЛ 7. ДОСЛІДЖЕННЯ СИСТЕМНИХ ІМУНОЛОГІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ПОКАЗНИКІВ ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ ІЗ РІЗНИМИ КЛІНІЧНИМИ ФОРМАМИ ГНІЗДОВОЇ АЛОПЕЦІЇ В ДИНАМІЦІ КОМПЛЕКСНОЇ МЕДИКАМЕНТОЗНОЇ ТЕРАПІЇ.....	105
7.1. Дослідження профілю основних регуляторних та прозапальних цитокінів у хворих із різними клінічними формами АА в динаміці комплексної медикаментозної терапії.....	105
7.2. Дослідження <i>in vitro</i> функціональної активності мононуклеарних клітин у хворих із різними клінічними формами гніздової алопеції по продукції цитокінів до і після проведення комплексного лікування....	109
РОЗДІЛ 8. ДОСЛІДЖЕННЯ КЛІНІЧНОГО ПЕРЕБІГУ РІЗНИХ ФОРМ АУТОІМУННОЇ АЛОПЕЦІЇ В ДИНАМІЦІ СТАНДАРНОГО ТА КОМПЛЕКСНОГО ЛІКУВАННЯ ТА ЇХ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ІЗ ПОКАЗНИКАМИ СИСТЕМНОГО ІМУНІТЕТУ.....	117
8.1. Дослідження динаміки клінічних проявів та трихоскопічних показників у хворих на ГА на тлі комплексної та стандартної медикаментозної терапії.....	117
8.2. Дослідження динаміки клінічних проявів та трихоскопічних показників у хворих на ТА на тлі комплексної та стандартної медикаментозної терапії.....	119
8.3. Аналіз кореляційних зв'язків між імунологічними показниками та клінічним перебігом АА.....	123
РОЗДІЛ 9. ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	127

ВИСНОВКИ.....	139
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	142
ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ.....	143
ДОДАТКИ	163

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АА	— аутоімунна алопеція
ГА	— гніздова алопеція
ГГКА	— гідрометил-глутарил-коензим А
ІІ	— імунний привілей
ТА	— тотальна алопеція
ВФ	— волосяний фолікул
РНК	— рибонуклеїнова кислота
Breg (B regulatory cell)	— В регуляторні клітини
CD4+ (cluster of differentiation 4 positive)	— кластер диференціювання 4 позитивні
CD8+ (cluster of differentiation 8 positive)	— кластер диференціювання 8 позитивні
CD19+ (cluster of differentiation 19 positive)	— кластер диференціювання 19 позитивні
CD56+ (cluster of differentiation 56 positive)	— кластер диференціювання 56 позитивні
DAP10 (dnax-activating protein 10)	— білок 10 активатор ДНК-асоційованого білка X
EHRS	—
DPCP (diphencyprone)	— дифенципрон
IFN- γ (interferon-gamma)	— інтерферон-гамма
IL-10 (interleukin-10)	— інтерлейкін-10
ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif)	— імунорецепторний тирозиновмісний інгібуючий мотив
JAK (janus kinase)	— янус кіназа
MHC (major histocompatibility complex)	— головний комплекс гістосумісності

MICA (MHC class I polypeptide-related sequence A)	– послідовність A, пов'язана з поліпептидом головного комплексу гістосумісності класу I
NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated b cells)	– ядерний фактор каппа-легкого ланцюга активованих b-клітин
NK (natural killer)	– натуральні кілери
NKG2A (natural killer group 2 member A)	– член групи 2 натуральних кілерів A
NKG2D (natural killer group 2 member D)	– член групи 2 натуральних кілерів D
PUVA (psoralen plus ultraviolet A)	– псорален плюс ультрафіолет A
SADBE (squaric acid dibutyl ester)	– дибутиловий ефір щавлевої кислоти
SALT (Severity of Alopecia Tool)	– шкала оцінки вираженості алопеції
SBN (S-scalp, B-body, N-nail).	– s – шкіра голови, b – тіло, n – нігті. Шкала вираженості алопеції та поширення на інші ділянки
STAT (signal transducer and activator of transcription)	– трансдуктор сигналу та активатор транскрипції
T-bet (t-box expressed in t cells)	– t-box, експресований у t-клітинах
TGF-β (transforming growth factor-beta)	– трансформуючий фактор росту-бета
Th1 (t helper 1)	– Т-хелпер 1 типу
Th2 (t helper 2)	– Т-хелпер 2 типу
Th17 (t helper 17)	– Т-хелпер 17 типу
TNF-α (tumor necrosis factor-alpha)	– фактор некрозу пухлин-альфа
Treg (T regulatory cell)	– Т регуляторні клітини

ВСТУП

Обґрунтування теми дослідження. Аутоімунна алопеція (АА) є органоспецифічним аутоімунним захворюванням, яке опосередковується агресією активованих Т – лімфоцитів в перибульбарній частині волосяного фолікула (ВФ), зупинки фізіологічного поділу клітин та переривання фази анагену. Не зважаючи на те, що ураження волосистої частини голови, зазвичай, є єдиним клінічним проявом хвороби, що має характер косметичного дефекту, різка часткова, або повна втрата волосся гостро відображається на психоемоційному стані, призводячи до хронічного стресу, затяжних депресій, та навіть втрати суспільної комунікації [1]. Більшої актуальності проблемі надає той факт, що пік захворюваності на АА спостерігається у віковому проміжку 10-25 років, коли естетичному аспекту надається найбільшого значення [2].

Науковою спільнотою чітко встановлено зв'язки між розвитком АА та активацією системної прозапальної імунної відповіді поряд із зниженням спроможності механізмів захисту [3, 4, 5]. Нині доведеною в патогенезі АА центральна роль належить CD8⁺ цитотоксичним клітинам, натуральним кіллерам та гіперпродукції ключових прозапальних цитокінів - IFN- γ , TNF- α [4, 6, 7]. Втім, повного розуміння ланок взаємодії між різними популяціями імунних клітин, гуморальним компонентом та генетичними передумовами в механізмах захворювання і досі нема [8, 9]. Дискутабельними залишаються питання ролі зовнішніх впливів та наявної коморбідності в якості тригерів аутоагресії, або ж, як самостійних чинників маніфестації АА [10, 11]. Значним досягненням на шляху до глибшого усвідомлення патогенезу АА стало визначення експресії рецептору NKG2D на певних групах лімфоцитів, як фундаментальної складової старту аутоімунного процесу [12, 13]. Паралельно ведуться дослідження потенційно інгібуючого рецептора NKG2A в контексті з'ясування його регуляторних, протизапальних та репаративних функцій [14]. Все ж, переважна більшість такого роду даних отримано в результаті

лабораторно-експериментальних робіт, тоді як дослідження у людей є поодинокими та із малочисельною вибіркою.

Зачасту, терапія АА обмежується симптоматичною тактикою, що не враховує системні зміни, як передумову прогресування хвороби [15, 16]. Зважаючи на наявність певних спільних механізмів розвитку АА та ряду аутоімунних захворювань, фахівцями з різною успішністю ведуться дослідження щодо ефективності лікування глюкокортикодами, цитостатиками, біологічною терапією та іншими засобами з імуномодулюючим ефектом [17, 18, 19]. З цією ж метою для лікування АА можуть застосовуватись препарати групи статинів, які відомі своєю здатністю пригнічувати активність запальних реакцій. Серед механізмів статинотерапії, що потенційно можуть мати вплив на запалення при АА виділяють блокування індукцибельної синтази оксиду азоту, а також пригнічення продукції IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , IL-6 [20]. Крім того, відомою є здатність деяких статинів регулювати міжпопуляційний баланс Th1, Th17, Th2 та Treg клітин в умовах різного роду ревматологічної патології [21]. Доказова база для статинотерапії в умовах АА є обмеженою та суперечливою. В деяких роботах була показана хороша ефективність такого підходу, в інших – зазначалась відсутність значимої терапевтичної відповіді та висока частка небажаних явищ [22].

Відсутність впевненого розуміння імунопатогенетичних механізмів розвитку АА зумовлює труднощі для вибору ефективного та безпечного лікування. Тож, в даному дослідженні ми спрямували увагу на поглиблене вивчення взаємодії клітинної та гуморальної ланок імунітету в умовах різних форм АА, а також на визначення ефективності та переносимості комплексної терапії з додаванням препарату симвастатин/ezetиміб в перебігу захворювання.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.

Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри клінічної та лабораторної імунології, алергології та медичної генетики НМУ імені О.О. Богомольця «Вивчення імуногенетичних аспектів діагностики,

лікування та профілактики алергічних та інших соціально значимих мультифакторіальних захворювань», реєстраційний номер 0124U000023, 2024-2027 рр.

Мета дослідження: вивчити динаміку імунологічних показників клітинного складу системного імунітету у хворих гніздовою аутоімунною алопецією, для пошуку імунологічних маркерів перебігу захворювання та вдосконалення методів терапії.

Для досягнення поставленої мети було сформульовано **завдання дослідження:**

1. Дослідити в динаміці імунофенотипічні властивості мононуклеарів периферичної крові у хворих із гніздовою та тотальною формами аутоімунної алопеції.

2. З'ясувати особливості цитокінового складу периферичної крові у хворих на аутоімуну форму алопеції на підставі вивчення фонового рівня концентрації цитокінів.

3. Дослідити ступінь функціональної активності мононуклеарів периферичної крові за рівнем спонтанної та індукованої продукції цитокінів (IFN- γ , TNF- α , IL-10, TGF- β) в умовах *in vitro* у хворих на аутоімуну алопецію у хворих порівняльних груп.

4. Дослідити в динаміці імунофенотипічні властивості натуральних кілерних клітин NKG2D⁺ пацієнтів на аутоімуну форму алопеції.

5. Дослідити динаміку зміни системного імунітету у хворих на аутоімуну форму алопеції в процесі комплексної терапії властивостей і складу імунологічних клітин периферичної крові у хворих з гніздовою алопецією.

6. Оптимізувати алгоритм діагностики та лікування аутоімунної гніздової форми алопеції з урахуванням змін в клітинному складі системного імунітету.

Об'єкт дослідження: різні форми аутоімунної алопеції

Предмет дослідження: порушення клітинної та гуморальної ланки імунітету, експресія активуючих та інгібуючих рецепторів на лімфоцитах та

натуральних кіллерів, макроскопічні та мікроскопічні ураження волосяного покриву в умовах аутоімунної алопеції

Методи дослідження. В процесі виконання дослідження нами застосовувались наступні методи: загальноклінічні (оцінка скарг, анамнезу, об'єктивне обстеження, виявлення симптомів та важкості перебігу АА), лабораторні (визначення концентрації основних моноклеарів – CD3-19+, CD3-56+, CD3-8+, CD3-4+, CD4+/CD8+, експресії активуючих та інгібуючих рецепторів – NKG2D, NKG2A, цитокінового профілю – IFN- γ , TNF- α , IL-10, TGF- β , а також спонтанної та індукованої продукції цитокінів *in vitro*), інструментальні (дерматоскопію, трихоскопію та фотофіксацію) та статистичні (визначення нормальності розподілу тестом Колмогорова-Смірнова; порівняння відмінностей виконували однофакторним аналізом дисперсії – ANOVA, Т-критерієм Ст'юдента, тестом Мана-Уїтні, χ^2 -тестом та тестом Вілкоксона; для даних у відсотковому еквіваленті приводили 95% довірчі інтервали; для оцінки взаємозалежностей між ранговими показниками виконували кореляційний аналіз Спірмена).

Наукова новизна. Вперше здійснено комплексний порівняльний аналіз стану клітинної та цитокінової складової імунітету у хворих з різними клінічними формами аутоімунної алопеції (гніздової та тотальної) у порівнянні з групою здорових осіб.

Вперше детально досліджено і встановлено взаємозв'язок між тяжкістю клінічних проявів алопеції та вираженістю порушень клітинного імунітету, що включало прогресивне зниження концентрації В-лімфоцитів (CD3-CD19+), НК-клітин (CD3-CD56+) і Т-лімфоцитів (CD3+), з чітким порушенням балансу між субпопуляціями Т-хелперів (CD3+CD4+) та цитотоксичних Т-клітин (CD3+CD8+).

Встановлено, що при тяжких формах захворювання (тотальній алопеції) ці зміни є найбільш вираженими та супроводжуються значним зниженням

індексу імуногенності, що підтверджує переважання цитотоксичних механізмів аутоімунної агресії.

Вперше було виявлено істотний дисбаланс у рецепторному профілі NK-клітин, зокрема значне підвищення експресії активуючого рецептора NKG2D (CD314+) і одночасне зниження експресії інгібуючого рецептора NKG2A (CD94+), особливо виражене при тотальній алопеції. Це дозволяє припустити ключову роль NK-клітин у формуванні та підтриманні хронічного аутоімунного процесу.

Також вперше комплексно досліджено фоновий цитокіновий профіль периферійної крові пацієнтів з алопецією та встановлено прогресуюче зниження концентрації регуляторних протизапальних цитокінів (TGF- β , IL-10) на тлі одночасного значного підвищення прозапальних цитокінів (TNF- α , IFN- γ) в умовах *in vivo* та *in vitro*, що свідчить про порушення імунної толерантності та розвиток вираженого запального компонента, який є критичним для прогресування захворювання.

Оригінальним внеском є встановлення позитивного впливу комбінованого лікування симвастатином/ezetимібом на стан клітинного імунітету у хворих з гніздовою і тотальною формами алопеції, що проявляється суттєвим відновленням кількості В-лімфоцитів, NK-клітин, нормалізацією співвідношення експресії рецепторів NKG2D/NKG2A та балансу цитокінів. Вперше продемонстровано, що така імунологічна корекція безпосередньо корелює з поліпшенням клінічних показників, зменшенням площі ураження та частотою повного регресу.

Отримані результати відкривають перспективи для розробки нових диференційованих імунотерапевтичних підходів, що мають потенціал значно покращити клінічні результати лікування АА, сприяючи не лише контролю

автоімунного запалення, а й відновленню імунного гомеостазу та толерантності.

Практичне значення. В процесі дослідження встановлено важливі імунологічні зміни, пов'язані з різними клінічними формами аутоімунної алопеції, що відкриває можливості для їх використання в клінічній практиці. Зокрема, проведений аналіз клітинної ланки імунітету дозволив визначити специфічні імунологічні маркери, що відображають ступінь тяжкості захворювання, а саме – виражене зниження кількості В-лімфоцитів, натуральних кілерних (NK) клітин, Т-лімфоцитів, а також дисбаланс субпопуляцій Т-хелперів і цитотоксичних клітин. Виявлені імунологічні показники можуть бути використані для діагностики, оцінки тяжкості, прогнозування клінічного перебігу захворювання та моніторингу ефективності терапії.

Встановлено специфічні маркери аутоімунної агресії, такі як високий рівень активації рецептора NKG2D та зниження інгібуючого рецептора NKG2A на NK-клітинах, а також зміни рівнів ключових прозапальних (TNF- α , IFN- γ) та протизапальних (IL-10, TGF- β) цитокінів. Це дозволяє формувати індивідуалізовані підходи до терапії пацієнтів з різними формами алопеції, спрямовані на корекцію конкретних порушень імунної відповіді.

Доведена ефективність комплексної терапії з використанням симвастатину/ezetимібу, яка сприяла нормалізації імунних параметрів і, відповідно, поліпшенню клінічного перебігу хвороби. Показано, що ця терапія здатна відновлювати гуморальну ланку імунітету, зменшувати цитотоксичну агресію і посилювати регуляторні механізми імунної системи, що може використовуватись у лікуванні пацієнтів з тяжкими формами захворювання, які традиційно погано піддаються терапії. Таким чином, отримані результати є теоретичним підґрунтям для створення більш ефективних лікувальних схем, що враховують особливості імунологічних порушень у кожного окремого

пацієнта. Отримані дані можуть бути використані як в діагностичній та прогностичній роботі, так і для розробки нових імунотерапевтичних стратегій, орієнтованих на зниження автоімунної агресії, відновлення імунологічного балансу та, відповідно, покращення якості життя пацієнтів з алопецією.

Особистий внесок здобувача. Робота виконана особисто автором на базі кафедри клінічної імунології та алергології з секцією медичної генетики НМУ імені О.О. Богомольця Дисертантом самостійно проведено патентно-інформаційний пошук та аналіз відомих даних на тему дослідження в авторитетних джерелах. Під редакцією керівника сформульовано дизайн, мету та завдання дослідження. Здобувачем проведено відбір пацієнтів в дослідження, їх клінічний супровід, моніторинг безпеки та ефективності лікування, а також безпосередньо дерматоскопічне обстеження. Автором самостійно створено базу даних, виконано статистичний аналіз, написано текст та ілюстрування розділів дисертаційної роботи. Сумісно із керівником сформульовані висновки та визначено практичні рекомендації. Результати дослідження представлені автором у вигляді наукових статей, тез, доповідей на конференціях та конгресах. Зовнішнього фінансування дослідження не мало. Конфлікт інтересів заперечую.

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення дисертаційного дослідження було представлено і обговорено на конгресах, конференціях та медичних форумах: Вільнюська міжнародна конференція-школа дитячої пульмонології та алергології (м. Київ, 13 грудня 2019р.), міжнародна конференція «InterCHARM» (м.Київ, 18–20 вересня 2019р.), Aesthetic Medicine Congress (UBAME21) (м.Київ, 9–11 вересня 2021р.), «Дні високої естетичної медицини» (м. Одеса, 21–23 вересня, 2021р.), «Ukrainian Dermoscopy Congress» (м.Київ, 25 лютого 2022р.), конгрес «Точки дотику» (м.Київ, 4 жовтня 2023р.), Конгрес «Dermaschool.practice 2023» (м.Київ, 29 вересня 2023р.), Конгрес «Точки дотику» (м.Київ, 10 грудня 2023р.), конференція

«Медицина України та світу: Основи, реалії та стратегічні перспективи» (м.Львів 14 грудня 2023р.), конгрес «Dermo Innovation Matrix» (м.Одеса, 21 грудня 2023р.), міжнародний конгрес «Prime-2023, Pediatrics» (м.Львів, 4 червня 2023р), Український дерматологічний форум «Кутіс-проект. Складна дерматологія» (м.Київ, 5 вересня 2023р.), форум з міжнародною участю «Грані мистецтва в педіатрії» (м.Київ, 20 червня 2024р.), конференція «Дерматологіка» (м.Львів, 31 травня 2024р), 4-й Ukrainian Hair Research Society Congress (м.Київ, 26–27 серпня 2024р.).

Публікації. За результатами дисертаційної роботи опубліковано 5 наукових праць у фахових періодичних наукових виданнях, що внесені до переліку наукових фахових видань України, в тому числі 3 одноосібні статті: 1. Курченко АІ, Ніколаєнко ОМ, Федорук ГВ, Халдєєва АЄ. Вплив препарату Ербісол УЛЬТРАфарм на показники клітинного імунітету при часто рецидивуючій герпесвірусній інфекції. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2021;3:52-56. DOI: 10.37321/immunology.2021.3-06. 2. Халдєєва АЄ. Аналіз сучасних лікувальних методів впливу на імунологічну складову при гніздовій алопеції. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2022;1-2:53-58. DOI: 10.37321/immunology.2022.1-2-06. 3. Халдєєва А. Особливості стану клітинного імунітету при гніздовій алопеції. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2024;2:47-53. DOI: 10.37321/immunology.2024.2-06. 4. Халдєєва А. Зміни В-клітинної ланки імунітету та експресії NKG2D (CD314) і CD94(NKG2A) при алопеції тоталіс. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2024;3-4:80-85. DOI: 10.37321/immunology.2024.3-4-07. Зміни імунологічних показників при лікуванні гніздової алопеції препаратами групи статинів. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2025;1:56-66. DOI: 10.37321/immunology.2025.1-06

Структура та обсяг дисертації. Матеріали дисертації викладено українською мовою на 162 сторінках друкованого тексту, проілюстровано 18

таблицями та 20 рисунками. В структуру роботи увійшли анотація українською та англійською мовами, вступ, огляд та аналіз літературних джерел, матеріали та методи дослідження, шість розділів власних досліджень, розділ аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновки, практичні рекомендації, перелік використаних джерел

Список використаних джерел складається з 167 найменувань латиницею.

РОЗДІЛ 1

ІМУНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕЗУ, ДІАГНОСТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ АУТОІМУННОЇ ГНІЗДОВОЇ АЛОПЕЦІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Сучасні уявлення про патогенез аутоімунної гніздової алопеції

В сучасних реаліях зовнішній вигляд відіграє надважливу роль для самосприйняття та налагодження соціальних контактів. Одним із ключових аспектів формування образу здорової та успішної людини є наявність та гарний стан волоссяного покриву голови. Тож, різка часткова, або повна втрата волосся в ділянці скальпу гостро відображається на психоемоційному стані, призводячи до хронічного стресу, затяжних депресій, та навіть втрати суспільної комунікації [1]. До таких захворювань відноситься і аутоімунна алопеція (АА), клінічними проявами якої є поява вогнищ безволосяних ділянок, або, повна відсутність волосся голови у важких випадках. Поширеність АА серед населення країн Європи та Північної Америки становить близько 2%, тоді як загальносвітові дані коливаються в межах 0,57%-6,9% [23, 24]. Піковим періодом за кількістю нововиявленої АА вважається віковий проміжок з 10 до 25 років (60% нових випадків), із деяким зниженням захворюваності в більш молодому та старшому віці [2].

Основою патогенезу АА вважають втрату імунного привілею (ІП) волоссяними фолікулам (ВФ) та розвиток аутоагресії імунної системи. При цьому, тригером розвитку такого роду процесів можуть бути безліч чинників, серед яких виділяють генетичні передумови, стресове навантаження, токсичні впливи, особливості харчування, навколишнє середовище та інше [25, 26, 27]. Про значимість спадковості в розвитку АА свідчать результати ряду досліджень, згідно яких частота захворювання серед родичів першого порядку коливалась від 10% до 42% [28]. За іншими даними, в умовах єдиного генетичного профілю, зокрема, у однойцевих близнюків, частка появи АА досягає 50% випадків [29]. Відомо, що успадкування АА не підпорядковується законам Менделя, має складний характер із залученням генних груп, відповідальних за

імунну регуляцію, розвиток запального процесу та диференціацію Т-клітин [8, 9]. Додатковим чинником розвитку АА *de novo* вважають стресовий вплив. В основі стрес-індукованої АА можуть лежати два механізми: домінуючий аутоімунний та апоптотичний. У першому випадку аутоагресія опосередковується ектопічною експресією головного комплексу гістосумісності класу I (МНС від англ. Major Histocompatibility Complex) у ВФ у відповідь на ініційоване різними сигналами запалення. При цьому виникає порушення привілейованості ВФ та прикріплення CD8⁺ Т-клітин до кератиноцитів. Індукція апоптозу в умовах АА як відповідь на стресове навантаження має обмежене значення, та в більшій мірі пов'язане із регуляцією месенджерних молекул із розвитком загибелі кератиноцитів ВФ [30]. В кількох дослідженнях показано, що щонайменше у 23% осіб із нещодавно перенесеним емоційним кризом в подальшому мали місце ознаки АА [10, 31]. Вважається, що АА має спільні механізми розвитку із декількома коморбідними захворюваннями, серед яких гіпертиреоз, гіпотиреоз, системний червоний вовчак, вітіліго, псоріаз, ревматоїдний артрит, запальні хвороби товстого кишечника, atopічний дерматит, псоріаз та інші [32, 33, 34]. До того ж, нерідкісною, але часто проігнорованою причиною гніздової алопеції у чоловіків і жінок є токсичний вплив металів, таких як талій, арсен, селен і ртуть [35, 36]. В основі цього, вірогідно, лежить здатність металів інактивувати білки та блокувати сульфгідрильні з'єднання кератину, спричинюючи випадіння волосся [37]. Шляхом молекулярної мімікрії токсичні метали здатні заміщувати цинк та конкурувати за участь в обмінних процесах біологічної системи. Сприяючими передумовами розвитку АА вважають і тютюнопаління. Так, за даними досліджень серед курців ймовірність появи АА є вагомо більшою із відношенням ризиків 1,88 [39]. Значення має як тривалість періоду тютюнопаління, так і кількість цигарок на добу. Сигаретний дим містить велику кількість вільних радикалів, які вбудовуючись в ВФ понижують його імунний привілей [39, 40]. До того ж, паління активує Th17-опосередковане запалення в шкірі та збільшує кількість

клітин, що продукують IL-17 [41]. Описані порушення негативно впливають на ложе ВФ та приймають участь в патофізіології АА [42.]. Ще одним фактором ризику розвитку АА на думку науковців є ожиріння. У зв'язку із здатністю гіпертрофованих адипоцитів секретувати прозапальні цитокіни [11], зростанням рівня лептину - стимулятора Th17-залежної імунної відповіді та зниженням протизапального гормону адипонектину спостерігається посилення інтенсивності імуно-запальних реакцій, що може стати тригером до схильних до АА осіб [43, 44]. В експериментальних умовах дієта з високим вмістом жирів у мишей призводила до підвищення IL-17-опосередкованого запалення шкіри та посиленого утворення клітин, що продукують IL-17 [45]. Ці дані співвідносяться із результатами популяційних досліджень, згідно яких серед людей із ожирінням відношення шансів маніфестації АА становило до 1,15 [46]. Незважаючи на безліч сприяючих факторів та наявних передумов, загальновизнаною основою патогенезу АА залишається надмірна активація імунної відповіді та розвиток запального процесу в ділянці волосяного фолікула, що має наслідком порушення фізіології росту волосся та передчасне його випадіння.

1.2. Імунопатогенез аутоімунної гніздової алопеції.

1.2.1. Роль клітинного імунітету в патогенезі аутоімунної гніздової алопеції.

Доведено, що маніфестація та прогресування АА стійко пов'язані із локальним та системним імунними розладами. Згідно цієї концепції в умовах АА виникає порушення ІІ ВФ паралельно із активацією аутореактивних лімфоцитів [3]. ВФ у фазі анагену мають виражену базальну мембрану, багату на протеоглікани, яка є локальною перепорою для проникнення імунних клітин [47]. В основі ІІ ВФ лежить практично повна відсутність МНС класу I і II в нижній третині волосяних фолікулів, які необхідні для представлення антигенів імунній системі [48]. Навіть внутрішньоепітеліальні клітини Лангерганса, що розташовані у ВФ нижче його стовбурової клітинної зони є функціонально пригніченими та не експресують МНС [49]. Будь-яка ектопічна

експресія МНС, як, наприклад, при порушенні функцій імунних супресорних факторів, може бути тригером для аутореактивних CD8⁺ цитотоксичних клітин [50]. Вважається, що активовані CD8⁺, діючи як цитолітичні ефектори, здатні незалежно індукувати прояви АА та є однією із основних ланок її розвитку [4, 51]. Внаслідок появи аутоантигенів на антиген-презентуючих клітинах (АПК), зокрема білків волосяного фолікула, наївні CD8⁺ Т-клітини активуються, диференціюються у цитотоксичні Т-лімфоцити та проходять клональну експансію у дренуючих лімфовузлах шкіри [52]. У відповідь задіяні CD8⁺Т-лімфоцити запускають подальший імунний каскад. Лізис уражених клітин супроводжується вивільненням нуклеїнових кислот та додаткових аутоантигенів, що залучає АПК і підсилює активацію Т- лімфоцитів та призводить до диференціювання інших ефекторних клітин [47, 53].

В експерименті на мишах було показано, що після активації ефекторні клітини мігрують у периферичні тканини, утворюють дифузний лімфоцитарний інфільтрат та концентруються навколо ВФ [54]. При морфологічному вивченні тканин уражених АА було виявлено поширену акумуляцію лімфоцитів внаслідок їх міграції із дермальних капілярів та розвиток запалення у верхніх відділах ВФ [55]. В клітинному складі перифолікулярного лімфоцитарного інфільтрату у вогнищах АА представлені цитолітичні Т-клітини (CD8⁺ та CD56⁺), плазмоцитоїдні дендритні клітини та Т-хелпери (CD4⁺) [56, 57]. Хелперний функціонал CD4⁺Т-клітин сприяє подальшій активації CD8⁺цитотоксичних Т-лімфоцитів, підтримуючи запальний процес в умовах АА [58]. Особливо це стосується Th17-клітини – спеціалізованої підгрупи CD4⁺ клітин із подвійною роллю, що складається із фізіологічного захисту від патогенів та індукції аутоагресії при надмірній активності [59]. Залучення в патологічний процес популяції натуральних кіллерів (NK, від англ. Natural Killer) різко посилює цитотоксичність CD8⁺клітин та безпосередню атаку на ВФ навіть за відсутності презентації антигену. При цьому, вміст NK в сироватці крові може бути незмінним, або навіть зниженим, що пов'язано із міграцією та накопиченням CD56⁺клітин у вогнищах ураження [60, 61, 62].

Важливим чинником периферичної толерантності та механізмом протидії АА є популяція регуляторних клітин, до функцій яких відносять підтримку адаптивності до власних антигенів та участь у запобіганні розвитку аутоагресії. Існують дані, що Т-регуляторні (Treg. від англ. T regulatory cells) клітини локалізуються в більшій мірі в ділянках шкіри із щільним волоссяним покривом [63]. У осіб із АА кількісний склад циркулюючих Treg клітин може бути збереженим, проте, спостерігається їх значна дисфункція та нездатність ефективно пригнічувати активовані лімфоцити [64, 65]. В основі таких порушень може лежати щонайменше 4 механізми: пластичність Treg клітин, різноманітні епігенетичні чинники та зв'язування з інгібуючими мікро РНК [66]. При цьому, згідно даних досліджень, хворі на АА характеризуються зменшеною популяцією В-регуляторних (Breg. від англ. B regulatory cells) клітин, що призводить до зменшення синтезу протизапальних цитокінів, зниження протидії Th1-клітинам, активації продукції антитіл та, по принципу «хибного кола», пригнічення Treg лімфоцитів [5]. В своєму дослідженні Kubo R. та співавтори показали, що рівні циркулюючих регуляторних клітин обернено корелюють із активністю CD4+, CD8+, CD56+ та із тривалістю хвороби [67]. Існуючі дані, щодо ролі регуляторних клітин в патогенезі АА поступово доповнюються, поглиблюючи розуміння природи хвороби для пошуку патогенетично-обґрунтованих терапевтичних підходів.

В останні десятиріччя погляди науковців та клініцистів на імунні процеси в контексті АА суттєво розширились. Збільшення можливостей протокової цитометрії, доступність генетичних, молекулярно-біологічних та імуногістохімічних методів дозволило визначити рецептор NKG2D (CD314+), що експресується на певних групах лімфоцитів, в першу чергу CD8+, як центральну ланку в запуску аутоімунної відповіді при АА. По суті, NKG2D є активуючим рецептором на поверхні, переважно, CD8+ цитотоксичних Т-лімфоцитів, NK-клітин та $\gamma\delta$ Т-лімфоцитів [68]. NKG2D класифікується як лектиноподібний рецептор та відомий як член D сімейства рецепторів групи 2 NK клітин (NKG2D). На молекулярному рівні рецептор утворений

гомодимером двох дисульфідно- зв'язаних трансмембранних білків із укороченими внутрішньоклітинними несигнальними доменами. На генному рівні NKG2D рецептор кодується геном *Klrk1*, розташованим на 12 хромосомі [69]. В умовах запального каскаду NKG2D рецептор здатен виступати медіатором активації імунних клітин. Цікаво, що як НК, так і Т-клітини, зазвичай, потребують вторинного сигналу, який реалізується шляхом зв'язування заряджених амінокислотних залишків трансмембранного домену NKG2D та адаптерного білка DAP10. Тож, NKG2D рецептори регулюють передачу сигналу через інші рецептори, що запускає сигнальний каскад для виживання клітин, росту цитотоксичності та продукції цитокінів [70, 71, 72]. В клінічних дослідженнях неодноразово доведено патогенетичну роль CD314+клітин при різних хворобах із аутоімунним компонентом. Зокрема, існують дані, щодо участі NKG2D рецепторів у розвитку діабету I типу, розсіяного склерозу, ревматоїдного артрити, хвороби Крона та інших [73, 74, 75, 76, 77]. Стосовно АА, вже зібрано достатню наукову базу за даними результатів гуманізованих експериментальних моделей, щодо значимості даного рецептора в активації процесів імунної агресії відносно ВФ [12, 78, 79]. Існують поодинокі клінічні дослідження, які демонструють зростання кількості циркулюючих NKG2D-позитивних клітин в крові хворих АА та їх локальне накопичення в перифолікулярних зонах [13]. При мікроскопічному дослідженні шкіри скальпу хворих на АА було виявлено інфільтрацію в зоні ВФ цитотоксичних CD8+NKG2D+Т-клітин із одночасною надмірною експресією так званих "сигналів небезпеки" – двох лігандів рецептора NKG2D (ULBP3 та MICA) [80]. Активація імунних клітин багато в чому залежить від зміни балансу сигналів від експресії інгібіторних та активуючих рецепторів. Вважається, що порогові значення активації НК-клітин встановлюються шляхом взаємодії інгібіторних рецепторів під час їхнього розвитку. Серед рецепторів сімейства НК групи 2 є представники із потенційно інгібуючим впливом. До таких рецепторів відносять також рецептор NKG2A (CD94+) [14]. NKG2A рецептор кодується одним геном *KLRC1* та зв'язується з молекулами

компоненту МНС I класу – лейкоцитарним антигеном людини – E (HLA-E від англ. Human Leukocyte Antigen E). Вони є інгібуючими рецепторами, що містять дві ITIM-послідовності у своїх цитоплазматичних доменах та утворюють гетеродимери з інваріантними ланцюгами CD94 через дисульфідні зв'язки. Нині, доступними є цілий ряд даних, щодо протективних властивостей NKG2A в умовах хвороби Бехчета, системного червоного вовчака, ревматоїдного артрити та низки інших аутоімунних захворювань [81, 82, 83]. Крім того, було встановлено, що NKG2A рецептор є свого роду протидією NKG2D рецептора, який відіграє захисну роль, та запобігає аутоімунному руйнуванню волосяних фолікулів у хворих на АА [84].

1.2.2. Роль цитокінів в патогенезі аутоімунної гніздової алопеції .

Аутоімунна алопеція вважається органоспецифічною хворобою із, переважно, обмеженим ураженням ВФ. Останні дослідження вказують на те, що захворювання асоціюється із системною імунною активацією та дисрегуляцією рівнів сироваткових цитокінів. Відомо, що безпосереднє ураження зони ВФ, ймовірно, реалізується через перфориновий та Fas-залежний шлях апоптозу, що призводить до масивного вивільнення цитокінів із деструктивним потенціалом [85]. Ключову роль у цьому процесі відіграє активація Th1-клітин та продукція ними IL-2, IFN- γ і IL-12, які шляхом зворотного зв'язку підтримують подальшу диференціацію Th1, тоді як IL-18 та IL-23 можуть модулювати імунну відповідь, сприяючи розвитку запального процесу. Вище перелічені цитокіни стимулюють синтез цілого ряду інших прозапальних агентів, зокрема, TNF, IFN- γ та IL-1 альфа і бета [6, 86]. Сумарне зростання їх рівнів зумовлює пригнічення проліферації в ВФ, конденсацію і деформацію дермального сосочка, вакуолізацію клітин матриксу зі зменшенням його розміру, руйнування фолікулярних меланоцитів та аномальне кератинування цибулини фолікула [87]. Більш пізні дослідження показали певну роль у патогенезі АА Th2 та Th17 клітин у зв'язку з їх здатністю до секреції IL-5, IL-6, IL-13, IL-17, IL-22 і IL-23 [88]. До того ж, Th2 сприяють трансформації В-клітин в активовані плазматичні клітини та

продукції антитіл, як ще одного із чинників прогресування АА [89]. При цьому, дефіцит регуляторних клітин у хворих на АА зумовлює зниження рівнів цитокінів із протизапальними властивостями та протекторною дією на ВФ (IL-10, α MSH, IGF-1 і TGF β), що в комплексі із активацією аутоагресії призводить до його деградації [47, 90].

Класичні індуктори експресії МНС класу I та II, такі як IFN- γ [91], фактор некрозу пухлин TNF- α та інтерлейкін IL-1 β [92], посилюються у вогнищах алопеції, приймають участь у порушенні імунного привілею ВФ, створюючи передумови для подальшої атаки цитотоксичних клітин. До того ж, в умовах АА IFN- γ підвищує функціональну активність цитотоксичних CD8+лімфоцитів та макрофагів, а також продукцію ними TNF- α . Зазвичай IFN- γ продукується NK- та NKT- клітинами у рамках вродженого імунітету, а також CD4+ лімфоцитами та CD8+цитотоксичними Т-лімфоцитами у випадках антиген-специфічної імунної відповіді [93]. Підвищення рівня циркулюючого IFN- γ є характерною ознакою хворих на АА [7, 94, 95], причому, його беззаперечна роль у розвитку даної патології підтверджується значним викидом цитокіну у відповідь на стимуляцію периферичних мононуклеарів [96]. Вважається, що вміст IFN- γ в сироватці крові зростає по мірі розширення площі ураження АА, активності імунної агресії та важкості клінічного перебігу хвороби [97, 98].

В свою чергу, індуковане зростання продукції TNF- α макрофагами, моноцитами, Т- та В-клітинами, бере участь у розвитку активної запальної реакції, локального апоптозу та запускає широкий спектр сигнальних процесів. Під впливом даного цитокіну замикається «хибне коло» внаслідок стимуляції CD4+ Th1-клітин, наступної продукції IFN- γ та посилення запалення у фолікулі. Відомою є здатність TNF- α до активації Th17-клітини, що виділяють IL-17 та IL-23, сприяючи автоімунному процесу. Дані дослідників підтверджують про прямий зв'язок між рівнем TNF у сироватці крові та тяжкістю захворювання [99, 100]. По аналогії із IFN- γ , підвищена концентрація TNF- α асоціюється із клінічно більш важкими та тривалими

формами хвороби, або ж, у деяких випадках із поєднаною аутоімунною патологією [101, 102]. Безпосередню причетність TNF- α до механізмів розвитку АА було показано в дослідженні Rossi A та співавторів, в якому рівень TNF- α внаслідок стимуляції периферичних мононуклеарів прямо корелював із тривалістю хвороби [103].

Втім, патогенетичні механізми АА не обмежуються безпосередньою активацією прозапальної ланки гуморального імунітету. Важливим аспектом в таких умовах є ослаблення захисних механізмів та супресорного потенціалу. Згідно цілого ряду досліджень у цієї категорії пацієнтів визначається понижений рівень IL-10 – одного із найважливіших цитокінів імунної толерантності [104, 105, 106]. Джерелом IL-10 є макрофаги, моноцити, дендритні, опасисті та регуляторні клітини [107]. Водночас, його недостатність є чинником порушення функціоналу Tregs та розвитку неконтрольованої Th1/Th17-опосередкованої атаки на волосяний фолікул. При цьому, IL-10 є природнім антагоністом до IFN- γ , TNF- α і IL-17. Дані досліджень щодо рівнів IL-10 у хворих на АА суттєво різняться. Одні дослідники стверджують про зростання даного показника [108, 109], тоді як інші декларують його зниження [98]. Вірогідно, такий стан речей пов'язаний із важкістю перебігу АА, та виснаженням репаративних можливостей при ускладненому перебігу захворювання, тоді як при більш легких формах спостерігається збереження компенсаторних механізмів для стримування запалення [110].

Ще одним сигнальним білком із потенційно-інгібіторними можливостями є трансформуючий фактор росту бета (TGF- β), який являє собою плеотропний цитокін із подвійною роллю в регуляції імунної відповіді. В залежності від мікросередовища він може як пригнічувати запалення, так і сприяти розвитку аутоімунних реакцій. З однієї сторони TGF- β індукує розвиток регуляторних Т-клітин, тим самим пригнічуючи Th1- і Th17-опосередковану ланку. Тоді як в умовах підвищеного IL-6 він здатен стимулювати диференціацію Th17-клітин та продукції IL-17. Вірогідно, функціональна активність TGF- β в

патогенезі різних захворювань обумовлюється наявним балансом Tregs та Th17. [111, 112, 113].

Таким чином АА є імунообумовленим захворюванням, в комплексному патогенезі якого приймають участь генетичні, соціальні, психоемоційні, токсичні та метаболічні складові. Не зважаючи на суттєвий прогрес у вивченні природи АА, взаємодія ланок аутоімунного процесу залишається маловивченою. Подальші дослідження в даному напрямку дозволять вирішувати питання ефективного та безпечного лікування, для досягнення стійкої ремісії та клінічного результату.

1.3. Сучасні патогенетичні засоби лікування хворих із різними клінічними формами гніздової алопеції.

Зважаючи на те, що основою розвитку АА є патологічна активація імунної відповіді та персистенція хронічного запального процесу, логічним підходом до лікування таких хворих є пригнічення вищевказаних механізмів. Давно доведеним та вивченими засобами для лікування АА, як і інших асоційованих станів, є застосування кортикостероїдної терапії [15, 114, 115]. При цьому доступність локалізації вогнищ ураження дозволяє застосовувати такого роду засоби топічно (місцево) – для досягнення максимальної концентрації засобу та мінімізації системного ефекту [116]. В клінічній практиці широко використовують як підшкірне введення гормональних препаратів так і нанесення лікарського засобу на поверхню шкіри. Вважається, що ознаки дієвості такого лікування повинні мати місце упродовж 6 місяців від початку терапії, в іншому ж випадку такий підхід визнається як неефективний [117]. У важких випадках тотальної або універсальної алопеції, ряд фахівців вважають доцільним системне застосування глюкокортикоїдів у вигляді пульс-терапії [17, 118, 119]. Водночас, широкий спектр побічних ефектів такого лікування змушує фахівців оцінювати співвідношення користь/шкода та шукати більш безпечних підходів зі співставною ефективністю.

Ще одним класичним шляхом корекції проявів АА є місцева імунотерапія. Цей метод відноситься до першої лінії лікування у пацієнтів із хронічною

поширеною АА, при умові її доцільності за певними трихоскопічними ознакам. Основними препаратами в цих випадках лишаються дифенілциклопропенон (DPCP) та дибутиловий ефір щавлевої кислоти (SADBE). Але механізми терапевтичної ефективності цих препаратів нині є не до кінця відомими, проте, контрольована індукція алергічного контактного дерматиту дозволяє перерозподілити імунну відповідь та ослабити атаку на ВФ. Відомо, що даний спосіб лікування має імуномодуляторну дію на перибульбарні інфільтрати із пригніченням Т-клітинної агресії. У проведених метааналізах досліджень за участю 2227 хворих на тотальну/універсальну АА застосування топічної імунотерапії призводило до повного відновлення волосяного покриву у 32,3%, тоді як частковий результат спостерігався 65,5% [16]. Клінічні ознаки покращення перебігу хвороби настають досить швидко, проте в ряді випадків можуть бути відстроченими до 12-18 місяців. Асоційовані побічні ефекти даного способу лікування, зазвичай, не мають системного характеру, та полягають у розвитку важких форм дерматиту (наприклад бульозного, або везикулярного).

У зв'язку із наявністю певної спільності аутоімунних механізмів між АА та рядом інших шкірних захворювань, для лікування останньої можуть бути використані засоби, призначені для спорідненої патології. Зокрема, антралін, або дітранол, в свій час був засобом для місцевої терапії псоріазу шкіри. Тим не менше, невелика кількість клінічних досліджень продемонструвала позитивний результат на ріст волосся у хворих з АА [18, 120]. Крім того, існують дані щодо додаткової користі додавання антраліну під час курсу DPCP [121]

Таким же принципом керувались фахівці тестуючи засоби біологічної терапії та цитостатики для лікування АА. Результати проведених випробувань продемонстрували певну користь цитостатичних препаратів. Зокрема, додавання метотрексату до терапії глюкокортикоїдами дозволяло досягнути клінічної відповіді у 63% випадків [19]. За даними невеликих досліджень застосування азатіоприну призводило до відновлення росту волосся на голові

у майже 43% пацієнтів із важкими формами АА [122]. Подібні результати було отримано в невеликих випробуваннях, в яких терапія сульфосалазином призводила до часткового відновлення волосяного покриву у 40,9% та повної клінічної відповіді у 27,3% пацієнтів [123]. Незважаючи на непогані результати, з точки зору редукції вогнищ алопеції, вище перелічені цитостатики характеризуються цілим рядом системних побічних реакцій, що вимагає від лікаря постійного контролю лабораторних показників та стану пацієнта. В останні роки, імунобіологічні препарати, які підтвердили свою високу ефективність в лікуванні різного роду ревматологічних хвороб, стали розглядатися можливою опцією лікування АА. Проте, дані пілотних клінічних досліджень із застосуванням інгібіторів TNF- α (інліксімаб, етанерцепт) та моноклональних антитіл (ефалізумаб, алефацепт) не демонстрували переконливу ефективність в лікуванні АА [124, 125, 126]. Водночас, сучасні препарати з групи інгібіторів янус-кінази (JAK, від англ. Janus kinase) виявились високоефективними засобами та характеризуються як перспективний напрямок терапії АА. JAK відноситься до родини внутрішньоклітинних тирозинкіназ та є важливим елементом сигнальної системи для більшості прозапальних механізмів (зокрема, шляхом інгібування шляху JAK / STAT через запальні цитокіни IL-2, IL-15 та IFN- γ). Представники групи інгібіторів JAK (тофацитиніб, руксолітиніб) вже зарекомендували себе як високоефективні та достатньо безпечні засоби лікування АА [127, 128]. Науковою спільнотою активно ведеться робота як над впровадженням локальних форм даних препаратів, що суттєво обмежує ризики системних побічних явищ, так і над синтезом нових малих молекул (наприклад бартицитиніб) для збільшення дієвості та профілю безпеки терапії [129, 130]. В лікуванні АА з невисокою, або помірною ефективністю також використовують підшкірне введення збагаченої тромбоцитами плазми, топічні аналоги простагландинів, лазерну терапію в комплексі із хіміотерапевтичними засобами (PUVA) та як самостійний метод.

Ефективність інгібіторів JAK, надихнула ряд вчених до подальшого пошуку в даному напрямку. Потенційними агентами, що можуть впливати на даний сигнальний каскад є інгібітори редуктази гідрометил-глутарил-коензиму А (ГГКА), або іншими словами, препарати групи статинів. Традиційно сфера їх застосування обмежується серцево-судинними захворюваннями з метою зниження рівню холестерину [131]. Тим не менше, давно доведеним є системний протизапальний ефект цієї групи препаратів, який реалізується в зменшенні активності запальних реакцій в умовах різної патології з аутоімунним компонентом. Справа в тому, що пригнічення ГГКА асоціюється зі зниженням синтезу ізопреноїдів, які опосередковуються внутріклітинними вторинними месенджерами та приймають участь в розгортанні прозапального сигнального каскаду [132]. Серед механізмів статинотерапії, що потенційно можуть мати вплив на запалення при АА виділяють блокування індукцибельної синтази оксиду азоту, а також пригнічення продукції IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , IL-6 [20, 133]. Крім того, відомою є здатність деяких статинів регулювати міжпопуляційний баланс Th1, Th17, Th2 та Treg клітин в умовах різного роду ревматологічної патології. Так, шляхом модуляції шляху JAK / STAT під впливом деяких статинів відбувається зниження викиду NF- κ B і T-bet із збільшенням диференціювання Th2 та зменшенням Th1 клітин [21, 134]. Окрім пригнічення активності атакуючих цитотоксичних клітин та прозапального цитокінового профілю, застосування інгібіторів ГГКА асоціюється із попередженням презентування антигенів в ділянці самого ВФ, а також зниженням експресії молекул МНС класу I та II як в периферичній зоні, так і на лімфоцитах, макрофагах та ендотеліальних клітинах [135, 136].

Доказова база для статинотерапії в умовах АА є обмеженою та суперечливою. З однієї сторони в деяких роботах була показана хороша ефективність та переносимість такого підходу, з іншої – зазначалась відсутність значимої терапевтичної відповіді та висока частка небажаних явищ. Так, проспективний аналіз даних 19 хворих із АА, які упродовж 24 тижнів щоденно отримували комбінований езетиміб/симвастатин в дозуванні 10/40мг, показав 70%

відростання волосся у 9 випадках та 20% відновлення покриву у 24 випадках [21]. Іншими авторами було встановлено ефективність такої комбінації при лікуванні хворих із тотальною формою АА [137, 138]. Попри це, результати відкритого дослідження за участю 14 пацієнтів з АА не засвідчили суттєвого покращення перебігу хвороби, в результаті чого авторами було зроблено висновок про недоцільність такого застосування [22].

З огляду на характер імунних порушень, асоційованих з АА, а також визнану здатність інгібіторів ГГКА впливати на причетні механізми, нами було ініційоване дослідження для оцінки ефективності, переносимості, безпекового профілю застосування комбінованого препарату симвастатин езетиміб у комплексній схемі лікування хворих із АА.

Основні результати цього розділу висвітлено в наступних публікаціях:

1. Халдєєва А. Є. Аналіз сучасних лікувальних методів впливу на імунологічну складову при гніздовій алопеції. Імунологія та алергологія: наука і практика, 2022;1-2:53-58. DOI: 10.37321/immunology.2022.1-2-06

РОЗДІЛ 2.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Дизайн та клінічні методи дослідження

Дослідження виконувалось із дотриманням вимог етичних принципів медичного дослідження за участю людей: Гельсінської декларації (2008р.), Належної лікарської практики (Good Clinical Practice - GCP), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1997 р.) та Конституції України (статті 3, 21, 24, 28, 32), Основ законодавства України про охорону здоров'я (статті 43.1, 44.1), Закону України «Про лікарські засоби» (статті 7, 8). Дизайн та основні положення наукової роботи були розглянуті та отримали схвальний висновок Комісії з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень при Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця (протокол засідання №140 від 21 грудня 2020 року). Усі пацієнти були детально проінформовані про можливі ризики та переваги їх участі в дослідженні, задали всі цікавлячі їх питання, отримали вичерпні відповіді та добровільно підписали інформовану згоду учасника дослідження ще до його початку.

Наукова робота виконувалась на базі кафедри клінічної та лабораторної імунології, алергології та медичної генетики Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

Дизайн дослідження передбачав двоетапне обстеження пацієнтів: первинно - тиждень 0, та повторно при завершенні курсу лікування - тиждень 24. На обох етапах проводилась клінічна оцінка перебігу хвороби, трихоскопічна діагностика уражених ділянок, базове лабораторне обстеження, а також широка оцінка імунологічного профілю, включно із визначенням функціональної активності мононуклерів по їх здатності до продукції цитокінів *in vitro*. Для визначення наявності порушень системного імунного статусу у хворих на АА на початку дослідження показники порівнювались із відповідними даними групи умовно здорових осіб (n=30)

Нами було обстежено 60 хворих на АА після підписання ними інформованої згоди, затвердженої Комісією з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень при Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця (протокол засідання №140 від 21 грудня 2020 року).

Постановка діагнозу здійснювалась згідно рекомендацій Європейського товариства дослідження волосся – EHRS, Guaidlain 2020 *Alopescia ariata* (діагнози пацієнтів відповідали коду за МКХ-10: L 63.0, 63.2, L 63.8, L L 63.9, та L 63.1). [139].

До дослідження включали пацієнтів з нелікованою АА в період її маніфестації *de novo* із давністю захворювання не більше 1,5-2 роки, чоловіків та жінок широкого вікового діапазону (від 18 до 60 років) із ознаками порушення ліпідного обміну у вигляді гіперхолестеринемії, або змішаної дисліпідемії.

В дослідження не включали:

- хворих на будь-які вірусні та інші інфекції, які можуть спричинити імуносупресивні стани
- осіб, які отримували імуномодулюючу та гормональну терапію за 2 місяці до- та на момент дослідження
- пацієнтів із наявністю патології будь-якої із систем органів із гострим перебігом, або в стані декомпенсації
- наявність міопатії
- підвищення печінкових трансаміназ більш ніж в 4 рази
- вагітність та лактація

Відповідно до площі охоплення втратою волосся пацієнти були розподілені на 2 групи:

1. Група гніздової алопеції (ГА) – хворі які мали від одного до 6 ділянок ураження волосистої частини голови

2. Група тотальної алопеції (ТА) – пацієнти із повною втратою волосяного покриву скальпу та можливим залученням в патологічний процес інших придатків шкіри.

Оцінка площі ураження та стадія алопеції у пацієнтів із вогнищевим випадінням проводилась згідно класичної шкали SALT (Severity of Alopecia Tool) [140]. В основі методу лежало визначення частки втрати волосся у кожній із чотирьох анатомічних ділянок волосистої частини голови, яка в подальшому множилась на відповідний коефіцієнт внеску кожної із зон у загальну площу.

Розподіл волосистої частини голови на зони та відсотковий еквівалент до загальної площі становив: верхівка (Vertex) – 40%, потилична область (Occiput) – 24%, права скронева область (Right Temporal) – 18%, ліва скронева область (Left Temporal) – 18%.

Загальний відсоток втрати волосся (SALT Score) визначався за формулою:

$$\text{SALT Score} = (P1 \times 0.40) + (P2 \times 0.24) + (P3 \times 0.18) + (P4 \times 0.18)$$

Де: P1 – відсоток втрати волосся у верхівковій зоні, P2 – у потиличній зоні, P3 – у правій скроневої зоні, P4 – у лівій скроневої зоні

Результатом вважали числовий показник SALT Score, який відображав загальний ступінь втрати волосся та визначав важкість перебігу хвороби:

Градація важкості алопеції за шкалою SALT:

SALT 0 – Нормальний ріст волосся (0% втрати)

SALT 1 – Легка алопеція (1–24%)

SALT 2 – Помірна алопеція (25–49%)

SALT 3 – Виражена алопеція (50–74%)

SALT 4 – Тяжка алопеція (75–99%)

SALT 5 – Повна алопеція (100%)

Не зважаючи на загальноприйняте використання шкали SALT в трихологічній практиці, вона все ж не має достатньої діагностичної цінності у випадках тотальної алопеції при повній втраті волосся в області скальпу. Для таких хворих в якості додаткового методу нами було обрано шкалу SBN (від англ S-scalp, B-body, N-nail) [141], де S (скальп): 0 – втрата волосся відсутня, 1 – втрата <25% волосся, 2 – втрата 25-49% волосся, 3 – втрата 50-74% волосся, 4 – втрата 75-99% волосся, 5 – втрата 100% волосся. Оцінка показника B (body) включала в себе всі ділянки тіла та обличчя, де: 0 – втрата волосся на тілі відсутня, 1 – часткова втрата волосся на тілі, 2 – повна втрата волосся на тілі. Наявність, або відсутність ураження нігтів відображає показник N, де 0 – відсутність ураження нігтів, 1 – часткове ураження нігтів, 2 – дистрофія 20 нігтів.

Активну фазу АА констатували при наявності прогресуючого поширення ділянок ураження, нестабільності волосся по краю вогнищ і шкірних проявів в осередку. Виявлені вогнища без ознак зростання та змін шкіри трактували як хронічну фазу АА [141].

Трихоскопічне обстеження пацієнтів проводилось із використанням високоточної системи FotoFinder MediCam 1000s (із роздільною здатністю 1920x1080, оптичним збільшенням 20x–140x, автофокусом на всіх рівнях збільшення та поляризованим/неполяризованим світлом), яка забезпечувала якісну візуалізацію шкіри голови та ВФ завдяки використанню сучасних технологій цифрової дерматоскопії. Система PhotoFinder дозволяла отримати детальне зображення волосся, ВФ і шкірного покриву з високою роздільною здатністю, що забезпечувало точну діагностику та можливість відстеження динаміки перебігу захворювання. Оцінювали наявність та кількість порожніх фолікулів (жовті крапки), зламаного волосся на рівні фолікула (чорні крапки), велусного волосся, а також росту нового гострокінцевого волосся в динаміці спостереження. Висока якість зображення, можливість масштабування та

фіксації ключових ділянок дозволяють виявити навіть мінімальні морфологічні зміни, характерні для різних форм АА.

Із урахуванням того, що в усіх досліджуваних пацієнтів АА була діагностовано вперше, в якості первинного заходу лікування в обох групах було призначено стандартний 24-тижневий протокол у вигляді послідовного нанесення мазі клобетазолу пропіонату 0,05% та нашкірного розчину Міноксидилу 5% з інтервалом в 30 хвилин на ніч. Додатково, 1 раз на 4 тижні пацієнтам виконувались інтралезійні ін'єкції бетаметазону динатрію фосфату/бетаметазону дипропіонату.

На етапі тижня 0 після визначення загального характеру лабораторних та клінічних порушень серед пацієнтів двох основних груп було виділено 1 та 2 підгрупи. Зважаючи на наявність дисбалансу ліпідного обміну у досліджуваних хворих, пацієнтам підгруп 1 в якості первинного запобігання розвитку атеросклерозу нативних артерій було рекомендовано комбінований гіполіпідемічний засіб симвастатин 20мг/ezetиміб 10мг (Таб 2.1.).

Таблиця 2.1.

Розподіл досліджуваних хворих згідно форми АА та терапевтичного підходу.

ГА (n=30)		ТА (n=30)	
ГА1 (n=15) Стандартний протокол лікування + Симвастатин/Езетиміб	ГА2 (n=15) Стандартний протокол лікування	ТА1 (n=15) Стандартний протокол лікування + Симвастатин/Езетиміб	ТА2 (n=15) Стандартний протокол лікування

Водночас, нами очікувалась реалізація системного імуномодулюючого ефекту статинотерапії, підтвердженого клінічними дослідженнями при інших аутоімунних розладах, у позитивний вплив на перебіг АА [142, 143]. Призначення медикаментозного лікування дисліпідемії виконувалось лікарем-кардіологом після оцінки ризику розвитку серцевосудинних подій за

шкалою SCORE та згідно рекомендацій Європейського товариства кардіологів із менеджменту дисліпідемій, 2019р. [144]. З цією ж метою, пацієнтам підгруп 2 було рекомендовано немедикаментозні заходи профілактики, спрямовані на розширення режиму аеробних фізичних навантажень, дотримання дієти із низьким вмістом жирів тваринного походження та простих вуглеводів

2.2. Лабораторні методи дослідження

2.2.1 Визначення показників імунної системи методом лазерної проточної цитофлуориметрії

Забір крові у досліджуваних пацієнтів виконували згідно стандартних правил із використанням КЗЕДТА в якості антикоагулянту. Субпопуляційний склад лімфоцитів периферійної крові досліджували методом проточної цитофлуориметрії за допомогою реагентів для визначення кластерів диференціації виробництва «Beckman Coulter Inc.», США (Cyto-Stat тетраCHROME CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/D3-PC5, CYTO-STAT тетраCHROME CD45FITC, CD56RD1, CD19ECD, CD3PC5, IOTest CD56PC5, IOTest CD3FITC, CD314APC, CD94PE, IOTest CD45PC7). Цитофлуориметричний аналіз виконували на проточному цитометрі NAVIOS («Beckman Coulter Inc.»). Результати аналізували у вигляді абсолютних значень та у відсотковому еквіваленті. В процесі дослідження оцінювали рівні CD19 (CD3-19+), NK-натуральних кілерів CD56+ (CD3-56+), усіх Т-лімфоцитів (CD3+19-), Т-кілерів/супресорів (CD3+8+), Т-хелперів (CD3+4+), індекс імуногенності (CD4+/CD8+). В додаток до цього оцінювали абсолютний показник та частку експресії прозапального рецептора CD314+ та CD94+ на всіх Т-лімфоцитах та клітинах NK (CD3-56+314+, CD3-56+94+). Крім того, серед всіх NK (прийнятих за 100 %) визначали відсоток клітин, що не мають експресії жодного з вищевказаних рецепторів, позитивні тільки за CD314+, або позитивні за обома рецепторами (CD3-56+314+94+). Серед Т-лімфоцитів визначали окремо відсоток Т-клітин, які не марковані жодним рецептором,

позитивні за CD314+ та позитивні за обома рецепторами (CD3+56+314-94-, CD3+56+314+94-, CD3+56+314+94+).

В основі методу лазерної проточної цитофлуориметрії лежить маркування поверхневих антигенів клітини специфічними кон'югатами моноклональних антитіл (мкАТ) та флюорохрому. Отримана завись мічених клітин під тиском подавалась потоком в оптичну систему приладу, де в полі сфокусованого лазерного променя активувалось світіння флюорохрому. Фотоелектричні детектори фіксували флюорисценцію для подальшої цифрової обробки комп'ютерною системою. Лазерна проточна цитофлуориметрія дозволяє ідентифікувати тип клітини та визначати цілий ряд її характеристик, серед яких розміри, наявність ядер, цитоплазматичних гранул та інших органел. Одночасна зміна переднього і бокового розсіювання дозволяє ідентифікувати лімфоцити, моноцити та гранулоцити. В процесі дослідження для кон'югації із мкАТ нами використовувались флюоресцеїн, який дозволяв маркувати клітини-носії специфічних поверхневих антигенів, та фікоеретрин – універсальний флюорохром для лазерної проточної цитометрії. Високий рівень люмінесценції останнього, а також здатність до емісії на довжині хвилі близько 575 нм, що приблизно на 50 нм перевищує максимум емісії флюоресцеїну, передбачає високу точність та інформативність методу. Використання оптичних фільтрів забезпечувало диференціацію емісії обох флюорохромів та їх сумісне застосування для маркування мкАТ. Подальше посилення сигналів дозволяло отримати зображення гістограми на екрані дисплея. Специфічні антигенні маркери клітин визначали шляхом фарбування моноклеарних клітин хворих і здорових донорів у прямому одно- та двокольоровому імунофлюоресцентному тесті. У дослідженні використовували різні панелі моноклональних антитіл, мічених як флюоресцеїном, так і фікоеретрином. Контроль неспецифічного зв'язування кон'югатів мкАТ виконували за допомогою фарбування зразків мишачими мкАТ проти гемоціаніну фісурели

(Keyhole limpet) субкласів IgG1 (міченим FITC) і IgG2a (міченим PE). Збір даних і статистичну обробку результатів виконували за допомогою програмного забезпечення LYSYS-II Ver.I.I, Win MDI 2.8 (Joseph Trotter, Scripps Institute, LA Jolla, CA, USA) та Microsoft Excel 2000 із пакету Microsoft Office 2000.

2.2.2. Методи імуноферментного аналізу для визначення концентрації цитокінів

Для оцінки цитокінового профілю у досліджуваних виконували забір венозної крові з ліктьової вени у вакуумні пробірки BD Vacutainer® PLUS із розмежувальним гелем – SST II™. В подальшому відстояна кров підлягала центрифугуванню при 3000 об./хв протягом 10–15 хв в умовах кімнатної температури. Отримані зразки сироватки крові пацієнтів накопичували і зберігали до трьох місяців при -20 °C для проведення досліджень. Рівні IFN- γ , TNF- α , IL-10 та TGF- β у сироватці крові визначали з використанням твердофазного "сендвіч"-варіантного імуноферментного аналізу (ІФА), застосовуючи комерційні тест-системи eBioscience™/Affymetrix (США) згідно з інструкціями виробника. Вимірювання оптичної щільності здійснювали на багатоканальному спектрофотометрі "STATFAX 303 Plus" (США) із вертикальним скануванням. Перед проведенням аналізу зразки для визначення TGF піддавали попередній активації, необхідній для переведення латентної (неактивної) форми молекули у біологічно активний стан. Активацію проводили шляхом обробки сироватки специфічним реагентом відповідно до рекомендацій виробника тест-системи. Після цього проби використовували для аналізу за стандартним протоколом. Процедура дослідження включала трьохстадійний твердофазний "сендвіч"-ІФА, який передбачав специфічне зв'язування аналізованої молекули з антитілами та її подальше виявлення шляхом ферментного маркування. На першому етапі у лунки планшета, на стінках яких були іммобілізовані моноклональні

антитіла, специфічні до IFN- γ , TNF- α , IL-10 або активного TGF- β , додавали зразки сироватки крові та контрольні стандарти. Інкубацію проводили при 37°C протягом 1 години, що забезпечувало взаємодію аналізованих цитокінів із іммобілізованими антитілами. Після завершення інкубації незв'язані компоненти видаляли шляхом багаторазового промивання лунок. На наступному етапі до лунок додавали кон'югат №1 – біотин-мічені поліклональні антитіла, специфічні до кожного з аналізованих цитокінів. Після інкубації при кімнатній температурі протягом 45 хвилин зразки знову промивали для усунення надлишку реагентів. Третя стадія передбачала додавання до лунок кон'югату №2 – стрептавідину, міченого пероксидазою хрому (HRP-стрептавідин), який взаємодівав із біотин-міченими антитілами. Інкубацію проводили при кімнатній температурі протягом 30 хвилин, після чого лунки знову промивали для забезпечення високої специфічності аналізу. Для детекції у кожному лунку додавали субстратний розчин, що містив тетраметилбензидин та перекис водню, який у присутності пероксидази хрому спричиняв утворення забарвлення блакитного кольору, інтенсивність якого прямо корелювала з концентрацією аналізованого цитокіну. Після 20-хвилинної інкубації у темряві при кімнатній температурі до лунок додавали стоп-реагент (1N H₂SO₄ або HCl), що змінював забарвлення розчину на жовтий колір. Оптичну щільність визначали за допомогою спектрофотометра "STATFAX 303 Plus" при довжині хвилі 450 нм. Для кількісного аналізу будували калібрувальну криву на основі стандартних зразків із відомою концентрацією цитокіну, що дозволяло визначити рівень IFN- γ , TNF- α , IL-10 та активного TGF- β у досліджуваних пробах. Референтними вважали значення цитокінів згідно з рекомендаціями виробника відповідно тест-системи.

2.2.3. Визначення *in vitro* спонтанної та індукованої продукції цитокінів мононуклеарними клітинами периферичної крові

Мононуклеарні клітини периферійної крові виділяли шляхом градієнтного центрифугування на середовищі Фікол-Верографін із густиною 1,076–1,078 г/мл. Отримані клітини тричі відмивали у середовищі 199, після чого ресуспендували у культуральному середовищі RPMI-1640, доповненому 10% ембріональної телячої сироватки, 40 мкг/мл гентаміцину, 5×10^{-6} М 2-меркаптоетанолу та 3% L-глутаміну. Суспензію клітин у концентрації $1,5 \times 10^6$ клітин/мл інкубували впродовж 24 годин у CO₂-інкубаторі при температурі 37°C у середовищі без стимуляторів або за наявності фітогемаглютиніну (ФГА) у концентрації 50 мкг/мл та ліпополісахариду (ЛПС) у концентрації 30 мкг/мл. Крім того, для оцінки впливу препаратів групи Ербісолів до культурального середовища додавали Ербісол, Супер Ербісол та Екстра Ербісол у розведеннях 1:100, 1:500, 1:1000 та 1:10 000. При цьому розведення 1:100 відповідало разовій дозі 2 мл у перерахунку на концентрацію клітин лімфоцитарно-моноцитарного ряду у 1 мл культурального середовища ($1,5 \times 10^6$ кл/мл). Після завершення інкубації клітинну суспензію осаджували шляхом центрифугування при 1600 об./хв протягом 10 хвилин, після чого супернатанти відбирали та заморожували при –20°C до подальшого аналізу. Концентрацію цитокінів у супернатантах визначали методом імуноферментного аналізу (ІФА) із використанням комерційних наборів тест-систем. Дослідження проводили на імуноферментному аналізаторі "STATFAX 303 Plus". Для проведення аналізу у 96-лункові планшети вносили 100 мкл калібрувальних стандартів у відповідні лунки для побудови стандартної кривої, а у решту лунок додавали 100 мкл супернатантів досліджуваних зразків. До всіх лунок додавали 50 мкл специфічних антицитокінових антитіл. Планшети інкубували при кімнатній температурі протягом 2 годин, після чого проводили п'ятикратне промивання лунок буферним розчином, видаляючи залишки рідини. Далі у кожен лунку додавали 100 мкл стрептавідин-пероксидази, включаючи "нульову" пробу. Після 30-хвилинної інкубації при

кімнатній температурі планшети повторно промивали п'ять разів та вносили у всі лунки 100 мкл хромогену (ТМВ-субстрату). Після інкубації тривалістю 12–15 хвилин ферментативно-субстратну реакцію зупиняли додаванням 100 мкл H_2SO_4 у кожен лунку. Вимірювання оптичної щільності стандартних зразків та досліджуваних супернатантів здійснювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 450 нм. Калібрувальна стандартна крива визначалася як лінійна залежність між рівнем концентрації цитокінів у супернатантах та оптичною щільністю, що дозволяло здійснити інтерполяцію отриманих значень для розрахунку рівня синтезу цитокінів. Математичну обробку отриманих даних здійснювали за допомогою методів варіаційної статистики, застосовуючи t-критерій Ст'юдента. Достовірність відмінностей оцінювали за довірчою ймовірністю ($p < 0,05$) з використанням статистичного пакету Statistica 5.0 for Windows. Супернатанти, отримані за описаною методикою, використовували для аналізу продукції цитокінів.

2.3. Статистична обробка отриманих даних

Математичне опрацювання результатів проводилось на персональному комп'ютері за допомогою пакету програм "SPSS for Windows. Версія 11» і "MedStat". Перед вибором статистичного методу отримані дані перевірялись на нормальність розподілу із використанням тесту Колмогорова-Смірнова. У випадках збереження нормальності для порівняння результатів в трьох більше групах застосовували однофакторний аналіз дисперсії (ANOVA) із визначенням показника F-статистика, що дозволяло оцінювати як дисперсію всередині групи так і міжгруповий діапазон [145]. При аналізі результатів із нормальним розподілом у двох групах, а також при інтерпретації залежних вибірок, нами визначалось середнє значення показника та стандартне відхилення ($M \pm SD$) для порівняння яких використовували Т-критерій Ст'юдента [146]. У випадках відсутності нормального розподілу дані були представлені у вигляді середнього значення, або медіани (Me) із приведенням

міжквартильного розкиду (IQR). При цьому, визначення міжгрупових відмінностей проводили за допомогою тесту Мана-Уїтні (непарного, непараметричного, двохвостого), схожість розподілу між групами та ефект розміру оцінювали відповідно за значеннями U-статистики та r . В умовах відсутності нормального розподілу порівняння однієї групи в двох часових точках до і після впливу лікування обирали парний тест Вілкоксона, з обчисленням суми рангів позитивних зсувів у парних спостереженнях (W). При представленні даних у відсотковому еквіваленті для оцінки варіативності приводили 95% довірчі інтервали (CI) [147]. У випадку необхідності порівняння категорійних змінних застосовували χ^2 -тест із поправками Йейтса та Вільсона.

Для оцінки взаємозалежностей між ранговими показниками та в умовах відсутності нормального розподілу виконували кореляційний аналіз Спірмена із визначення коефіцієнту кореляції – ρ (де $\rho = +1$ – ідеальна пряма монотонна залежність, $\rho = -1$ – ідеальна обернена монотонна залежність, $\rho = 0$ – немає монотонної залежності).

Статистичні відмінності між даними для всіх обчислень вважали достовірними при $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 3.

КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ХВОРИХ

З метою оцінки стану пацієнтів, визначення наявності супутньої патології та формування чіткого розуміння щодо схильностей та передумов, нами було проаналізовано дані скарг, анамнезу та клінічних проявів хвороби 60 пацієнтів із ознаками АА ще на початок дослідження та перед стартом лікування. Згідно наявності, розміру та поширеності вогнищ втрати волоссяного покриву досліджувані пацієнти були віднесені до групи гніздової алопеції (ГА) (n=30), або тотальної алопеції (ТА) (n=30).

3.1. Клініко-анамнестична характеристика пацієнтів групи гніздової алопеції.

Серед пацієнтів групи ГА середній вік становив Пацієнти, включені до дослідження, мали вік від 25 до 65 років, середній вік склав $45 \pm 7,2$ років (Me=43,13 років, IQR=7,61) років. До групи увійшло 18 жінок (60%; CI: 42,5% - 77,5%.) та 12 чоловіків (40%; CI: 22,5% - 57,5%) ($z = 1,55$, $p = 0.121$). Тривалість алопеції на момент обстеження варіювала від 1 до 4 місяців, що відображало наявність ранньої фази хвороби у більшості пацієнтів. Згідно аналізу даних спадкового анамнезу бкдо виявлено, що у 4 пацієнтів (13,3%; CI: 1,17% - 25,50%) пацієнтів із ГА спостерігались випадки гніздової алопеції серед найближчих родичів, що підкреслює ймовірний генетичний компонент у патогенезі захворювання. При цьому, у родичів досліджуваних пацієнтів було діагностовано ряд інших захворювань із аутоімунним компонентом: системний червоний вовчак (13,3%; CI: 1,15%-25,45%; ревматоїдний артрит (30%; CI: 13,60% - 46,40%), псоріаз (16,6%; CI: 3,29% - 29,91%), вітіліго (13,3%; CI: 1,15% - 25,45%). Водночас, безпосередньо серед досліджуваних хворих гіперактивація імунної системи проявлялась патологією щитоподібної залози, які були діагностовані у 10 пацієнтів 30% (16,67 - 47,88). Ревматоїдний артрит був підтверджений у 2 пацієнтів (6,7%; CI: 0,82% - 22,07%), тоді як вітіліго не зустрічалось лише в цієї категорії хворих. Більшість досліджуваних пацієнтів із групи ГА підтвердили наявність ознак atopічного дерматиту в дитячому віці

($n=20$, 66,7%; CI: 49,84% - 83,56%), який був перерослий у дорослому віці. Також було зафіксовано наявність бронхіальної астми як складової atopічного кола у 2 пацієнтів (6,7%; CI: 0% - 15,65%). Окрім цього, серед пацієнтів були зареєстровані інші хронічні патології, зокрема atopія та ендокринні порушення, що можуть впливати на загальний стан організму та імунну систему.

Аналіз супутніх захворювань показав високу поширеність метаболічного синдрому серед обстежених пацієнтів. Зокрема, цей стан було виявлено у 22 пацієнтів, що становило 73,3% (CI: 57,47% - 89,13%), що підтверджує відомі дані, щодо наявності зв'язку між порушеннями обміну речовин та розвитком гніздової форми aloпеції ($\chi^2=11,5$, $p<0,001$ проти групи ТА). Крім того, було виявлено, що 12% пацієнтів (40%, CI: 22,5% - 57,5%) є активними курцями, що потенційно може погіршувати мікроциркуляцію шкіри голови та впливати на перебіг захворювання. Щодо психоемоційного стану, значна частина пацієнтів ($n=27$, 90%; CI: 79,26% - 100,74%) вказали на наявність стресових факторів, які були безпосередньо пов'язані з військовими діями в Україні. Більшість пацієнтів зазначили, що ГА виникла або загострилася саме на фоні нервових потрясінь, що підкреслює роль стресу як одного з головних тригерів розвитку даної форми захворювання. Дослідження психологічного стану серед пацієнтів із ГА також показало високу поширеність порушень сну. Так, 20 пацієнтів (66,7%, CI: 49,84% - 83,56%) відзначили наявність пізнього засинання, частих пробуджень протягом ночі та скороченої тривалості сну ($\chi^2=11,5$, $p<0,001$ проти групи ТА). Пацієнти вказували, що ці порушення були зумовлені високим рівнем тривожності, зокрема через тривоги, пов'язані з військовими діями в Україні ($\chi^2=11,5$, $p<0,001$ проти групи ТА). Неспокійний сон та хронічне недосипання можуть значною мірою впливати на перебіг гніздової aloпеції, оскільки доведено, що хронічний стрес та порушення сну сприяють дисбалансу імунної системи. Аналіз харчових звичок пацієнтів показав, що 12 пацієнтів (40%, CI: 22,5% - 57,5%) харчуються нерегулярно, із перепадами від здорового збалансованого

харчування до споживання жирної їжі й джанк-фуду ($\chi^2=4,9$, $p<0,05$ проти групи ТА).

3.2. Клініко-анамнестична характеристика пацієнтів групи тотальної алопеції.

Вік пацієнтів групи ТА коливався в межах від 35 до 65 років, із середнім його значенням $50\pm 7,2$ років ($Me=48,13$; $IQR=6,83$). За гендерним розподілом спостерігалось переважання жінок ($z = 2,07$; $p = 0,039$) - 19 жінок (65%, CI : 45,51% - 78,13%) порівняно з 11 чоловіків (35%, CI : 21,87% - 54,49%), що може бути обумовлено особливостями імунної відповіді, гормональними факторами та вищою частотою аутоімунних патологій серед жінок.

Тривалість захворювання серед обстежених пацієнтів демонструвала значну варіабельність — від кількох місяців до кількох років. Така різниця у тривалості вказує на індивідуальні особливості перебігу тотальної алопеції, деякі випадки якої можуть прогресувати повільно, а інші — швидко, із переходом від гніздової форми до тотальної.

Спадковий анамнез мав певне значення: 6 пацієнтів (20%; CI : 9,51% - 37,31%) зазначили наявність випадків алопеції у найближчих родичів. Це свідчить про потенційний генетичний компонент у розвитку тотальної алопеції, хоча спадковість не є єдиним визначальним фактором і часто поєднується з іншими тригерами.

Аналіз супутніх захворювань продемонстрував наявність часткової коморбідності серед пацієнтів з ТА. Зокрема, метаболічний синдром був виявлений у 6 пацієнтів (20%; CI : 9,51% - 37,31%), що може мати вплив на функціонування імунної систем та опосередкований вплив на стан ВФ.

Особливу увагу було приділено аналізу наявності аутоімунних порушень серед досліджуваних пацієнтів у зв'язку із можливістю спільних механізмів розвитку. Зокрема, аутоімунний тиреїдит мав місце у 18 пацієнтів (60% CI : 42,47% - 77,53%), що вказує на важливість оцінки функції щитоподібної залози при діагностиці алопеції ($\chi^2=5,1$, $p<0,05$ проти групи ГА). В структурі іншої аутоімунної патології у хворих на ТА було виявлено

ревматоїдний артрит (n=1, 3,3%; CI: 0%-11,35%) та вітіліго (n=2, 6,7%; CI: 0% -15,65%). Щодо atopічного дерматиту, 12 пацієнтів (40%, CI: 22,5% - 57,5%) відзначили наявність симптомів, однак не всі мали підтверджений діагноз, що свідчить про можливі труднощі в ідентифікації дерматологічних коморбідностей.

Важливою знахідкою стало встановлення можливого впливу перенесених вірусних інфекцій на розвиток та перебіг тотальної алопеції. Зокрема, 15 пацієнтів (50%; CI: 33,15% - 66,85%) відзначили, що перенесли COVID-19 до моменту розвитку алопеції або незадовго до загострення захворювання. Це підтверджує дані про можливу роль вірусних інфекцій у запуску або активації аутоімунних процесів, які лежать в основі гніздової та тотальної алопеції. У частини пацієнтів після перенесення COVID-19 спостерігалось посилення випадіння волосся або перехід гніздової алопеції в тотальну форму, що може бути обумовлено поствірусними імунними порушеннями (Таб 3.2.1.).

Ще однією важливою клінічною ознакою були зміни нігтьових пластин, які спостерігалися у 7 пацієнтів (23,3%; 14,18% - 44,45%). Патологічні зміни включали появу лінійних заглиблень, точкових вдавлень, ламкості та стоншення нігтьових пластин, переважно на кінцівках рук. Такі зміни часто є супутнім симптомом аутоімунного процесу, що поширюється не лише на волосяні фолікули, а й на інші придатки шкіри, включно з нігтями. Відомо, що нігтьові зміни можуть бути прогностичним фактором більш важкого перебігу алопеції та вказувати на системний характер патологічного процесу.

Серед факторів ризику важливу роль відігравали зовнішні впливи та поведінкові чинники. Значна кількість пацієнтів мала шкідливі звички: 73,3% (CI: 57,47% - 89,13%), пацієнтів зазначили, що є активними курцями. Куріння, як відомо, негативно впливає на мікроциркуляцію, посилює оксидативний стрес та може погіршувати перебіг алопеції.

Ще одним важливим фактором ризику був хронічний стрес, особливо у контексті соціально-політичних подій. Більшість пацієнтів відзначили вплив

військових дій в Україні як значного стресогенного чинника, що суттєво вплинув на їхній психоемоційний стан. Хронічний стрес, як відомо, здатний активувати аутоімунні процеси, порушувати гормональний баланс і призводити до дисфункції волосяних фолікулів. Пацієнти також вказували на тривале перебування у стані підвищеної тривожності та постійного психоемоційного напруження, що могло виступати тригером у розвитку тотальної алопеції або сприяти її прогресуванню.

Таблиця 3.2.1

Порівняльний клініко-анамнестичних показників груп ГА та ТА

Ознака	Група ГА (n=30)	Група ТА (n=30)
Середній вік, роки	45 ± 7,2	50 ± 7,2
Медіана віку (IQR), роки	43,13 (7,61)	48,13 (6,83)
Жінки, % (95% CI)	60 (42,5 - 77,5)	65 (45,51 - 78,13)
Чоловіки, % (95% CI)	40 (22,5 - 57,5)	35 (21,87 - 54,49)
Наявність супутньої патології та інших чинників, % (95% CI)		
Спадковість АА, % (95% CI)	13,3 (1,17 - 25,50)	20 (9,51 - 37,31)
Метаболічний синдром, % (95% CI)	73,3 (57,47 - 89,13)	20 (9,51 - 37,31)
Аутоімунний тиреоїдит, % (95% CI)	30 (16,67 - 47,88)	60 (42,47 - 77,53)
Гіпотиреоз, % (95% CI)	15 (33,15% - 66,9%)	6,7 (0 - 15,65)
Ревматоїдний артрит, % (95% CI)	6,7 (0,82 - 22,07)	3,3 (0 - 11,35)
Вітіліго, % (95% CI)	-	6,7 (0 - 15,65)
Атопічний дерматит	66,7 (49,84 - 83,6%)	40 (22,5 - 57,5)
COVID-19, як тригер АА, % (95% CI)	6,7 (0,82 - 22,07)	50 (33,15 - 66,85)
Стресові фактори, % (95% CI)	90 (79,26 - 100,7%)	40 (22,5 - 57,5)
Порушення сну, % (95% CI)	66,7 (49,84 - 83,6%)	20 (9,51 - 37,31)
Розлад харчування, % (95% CI)	40 (22,5 - 57,5)	13,3 (1,17 - 25,50)
Курці, % (95% CI)	40 (22,5 - 57,5)	73,3 (57,47 - 89,1)

3.3 Трихологічна та дерматоскопічна характеристика пацієнтів групи із гніздовою алопецією.

У групі пацієнтів із гніздовою алопецією було проведено трихологічний та дерматоскопічний огляд з метою визначення основних характеристик захворювання, зокрема типу алопеції, кількості та розмірів вогнищ, локалізації уражень, а також стадії перебігу патологічного процесу.

Усі обстежені пацієнти мали класичну форму гніздової алопеції, яка характеризується обмеженими осередками випадіння волосся на волосистій частині голови. Загалом було встановлено, що 12 пацієнтів (40%; СІ: 22,5% - 57,5%) мали лише одне вогнище алопеції, тоді як 18 пацієнтів (60%; СІ: 42,47% - 77,53%) демонстрували множинні осередки випадіння волосся — від двох до шести, як ознаку поширеного вогнищового процесу.

Розміри вогнищ алопеції варіювали в широкому діапазоні — від 5 см до 10–15 см у діаметрі. У пацієнтів із множинними осередками часто спостерігалось варіювання розмірів окремих вогнищ, причому найбільші осередки досягали 15 см. Середній розмір вогнища та медіана діаметру становили відповідно $9,90 \pm 2,92$ см та $Me = 9,97$ см ($IQR = 5,08$). Оцінка частки площі ураження шкіри голови за шкалою SALT у досліджуваних пацієнтів дозволила визначити середній показник та медіану в групі, які становили відповідно $33,17 \pm 24,2\%$ та $37,5\%$ ($IQR = 35,00\%$). В подальшому пацієнти були оцінені за шкалою SBN, що дозволило визначити відсутність в даній групі ураження нігтів, ділянок тіла та чітко розмежувати пацієнтів за площею вогнищ в ділянці скальпу (Таб.3.3.1).

Щодо локалізації вогнищ алопеції, у всіх обстежених пацієнтів випадіння волосся обмежувалося виключно волосистою частиною голови. Ураження брів, вій чи інших ділянок тіла не було зафіксовано. Найбільш часто ураженими зонами були тім'яна та потилична ділянки, що відповідає типовим патернам для гніздової алопеції. Відсутність ураження брів, вій чи інших ділянок свідчить про локалізований характер патологічного процесу в межах волосистої частини голови.

Таблиця 3.3.1

**Розподіл хворих у групі ГА за площею та ділянками ураження
згідно шкали SBN.**

Ступінь ураження за шкалою SBN	Група ГА n=30 (100%)
S1B0N0, n (частка хворих)	12 (40%)
S2B0N0, n (частка хворих)	6 (20%)
S3B0N0, n (частка хворих)	7 (23,3%)
S4B0N0, n (частка хворих)	5 (16,7%)

Аналіз стадії захворювання показав, що 19 пацієнтів (63,3%; CI: 42,32% - 75,41%) перебували у прогресуючій стадії захворювання. У цій фазі спостерігається активне збільшення кількості або розміру осередків випадіння волосся, що вказує на високу активність патологічного процесу. Ще 11 пацієнтів (36,7%; CI: 21,87% - 54,49%) мали змішану стадію перебігу гніздової алопеції із поєднанням прогресуючих та стаціонарних вогнищ. Саме у цих пацієнтів деякі осередки залишалися стабільними за розмірами, тоді як інші мали тенденцію до подальшого розростання. Тож, у всіх пацієнтів зберігався активний перебіг патологічного процесу на момент обстеження, відсутність спонтанної ремісії та не було зафіксовано регресивної стадії захворювання, яка б свідчила про відновлення росту волосся в уражених ділянках (Рис.3.3.1)



Рисунок 3.3.1. Приклад типової клінічної картини пацієнта з ГА

Трихоскопічна діагностика при ГА.

Трихоскопічне дослідження пацієнтів із гніздовою алопецією дозволило виявити характерні морфологічні ознаки, які мають важливе діагностичне значення та допомагають оцінити стадію захворювання, активність процесу та прогноз. Візуалізація шкірного покриву волосистої частини голови за допомогою трихоскопії дала змогу визначити частоту появи класичних трихоскопічних маркерів, притаманних саме ГА.

Серед пацієнтів, які брали участь у дослідженні, жовті крапки були виявлені у 21 пацієнта (70%; 52,12% — 83,34%). Це один із найбільш характерних трихоскопічних маркерів гніздової алопеції. Жовті крапки являють собою розширені фолікулярні устя, заповнені себумом і кератином, як ознаку локальної фолікулярної дистрофії. Їх наявність корелює зі стаціонарною або хронічною фазою перебігу алопеції. Чорні крапки, які відображають зламані волосини на рівні епідермісу, спостерігалися у 18 (60%; CI: 42,47% - 77,53%) пацієнтів.

Таблиця 3.3.2

Порівняльна характеристика груп за кількістю пацієнтів носіїв трихоскопічної ознаки

Ознака	Група ГА	Група ТА
Жовті крапки, n (%; 95% CI)	21 пацієнта (70%; 52,1%-83,34%)	27 пацієнтів (90%; 79,26%-100,74%)
Чорні крапки, n (%; 95% CI)	15 пацієнтів (50%; 33,2%-66,9%)	20 пацієнтів (66,7%, 49,8%-83,56%)
Велусне волосся, n (%; 95% CI)	9 пацієнтів (30%; 13,60%-46,4%)	11 пацієнтів (36,7%, 21,87%-54,5%)
Коротке дистрофічне волосся, n (%; 95% CI)	3 пацієнти (10%; 3,46%-25,6%)	2 пацієнта (6,7%; 0,8%-22,07%)
Зламане волосся, n (%; 95% CI)	27 пацієнтів (90%; 79,3%-100,7%)	1 пацієнт (3,3%; 0,82%-22,07%),
Волосся у вигляді «знаку оклику», n (%; 95% CI)	23 пацієнтів (76,7%; 59,1%-88,2%)	-

Ця ознака є індикатором активної фази захворювання та вказує на триваючий деструктивний процес у ВФ. Коротке конічне волосся (волосся у формі знаку оклику) було виявлено у 23 пацієнтів (76,7%; 59,07% — 88,21%). Такий тип волосся є класичним маркером активної стадії ГА. Воно характеризується витонченням біля основи волоссяного стрижня, що робить його вразливим до випадіння (Таб.3.3.2). Зламане волосся було присутнє у 27 досліджуваних (90%; СІ: 79,26% -100,74%), що є ще одним маркером активного аутоімунного процесу. Зламані волосини різної довжини вказують на механічну нестійкість волосся внаслідок патологічного впливу на фолікул. Менш поширеним, але діагностично важливою знахідкою було коротке дистрофічне волосся, яке спостерігалось у 3 (10%; СІ: 3,46% — 25,62%) пацієнтів. Це волосся зі структурними порушеннями стрижня, яке є наслідком пошкодження фолікула під впливом аутоімунного процесу (Рис 3.3.2.)



Рисунок 3.3.2. Приклад типової трихоскопічної картини пацієнта з ГА

3.4 Трихологічна та дерматоскопічна характеристика пацієнтів групи ГА.

У всіх пацієнтів групи ГА була зафіксована повна втрата волосся на волосистій частині голови (100% випадків), що є ключовою ознакою даної форми АА. Окремих осередків випадіння волосся не спостерігалось — алопеція охоплювала всю волосисту частину голови, що відносило пацієнтів

групи ТА за шкалою SALT до категорії хворих із 100% ураженням скальпу. У деяких випадках патологічний процес поширювався на інші ділянки тіла — так, у 3 пацієнтів (10%, CI: 3,46% — 25,62%) було відзначено випадіння брів, що розглядалось ознакою агресивного перебігу хвороби з тенденцією до універсальної алопеції (Таб.3.4.).

Таблиця 3.4.

Розподіл хворих у досліджуваних групах за площею та ділянками ураження згідно шкали SBN.

Ступінь ураження за шкалою SBN	Група ТА n=30 (100%)
S5B0N0, n (частка хворих)	22 (73,3%)
S5B0N1, n (частка хворих)	5 (16,7%)
S5B1N0, n (частка хворих)	1 (3,3%)
S5B1N1, n (частка хворих)	2 (6%)

Стадія захворювання серед пацієнтів варіювалася: переважала стаціонарна форма із відсутністю нових осередків випадіння волосся, проте у частини пацієнтів спостерігалися ознаки прогресуючого процесу (n=6, 20%; CI:9,51% - 37,31%) (Рис.3.4).



Рисунок 3.4. Приклад типової клінічної картини пацієнта з ТА

Трихоскопічна діагностика при ТА.

Трихоскопічне дослідження дозволило визначити низку характерних ознак, притаманних тотальній алопеції. Так, жовті крапки були зафіксовані у 27 досліджуваних (90%; СІ: 79,26% -100,74%), що свідчить про втрату волосся із закупоркою фолікулярних устів себумом і кератином. Чорні крапки, які вказують на наявність зламаного волосся на рівні шкіри, спостерігалися у 20 учасників (66,7%, СІ: 49,84% - 83,56%) — ця ознака свідчить про триваючий деструктивний процес у волоссяних фолікулах. Також у 11 пацієнтів (36,7%; СІ: 21,87% - 54,49%) було виявлено мініатюризоване (велусне) волосся, що є проявом спроби фолікулів відновити функцію, але за умови активного аутоімунного процесу таке волосся є тендітним і не досягає повноцінного росту (Таб. 3.5. Рис 3.4).

Таблиця 3.5.

Порівняльна характеристика досліджуваних груп за типовими трихоскопічними ознаками аутоімунної алопеції

Трихоскопічна ознака (в 4 стандартних точках/1 см ²)	Гніздова алопеція (n=30)		Тотальна алопеція (n=30)	
	M±SD	Me (IQR)	M±SD	Me (IQR)
Жовті крапки	35,2±4,22	34,5 (5,2)	60,5±6,15*	58,0 (7,6)*
Чорні крапки	12,7±1,6	12,0 (2,6)	25,3±2,8*	24,5 (4,4)*
Велусне волосся	22,4±3,05	22,0 (4,09)	5,8±1,11***	5,5 (1,05)***
Коротке дистрофічне волосся	8,9±1,2	8,5 (1,8)	-	-
Зламане волосся	15,3±2,9	15, 0 (3,35)	-	-

Примітки: різниця достовірна * - p<0,05, *** - p<0,001



Рисунок 4. Приклад типової клінічної картини пацієнта з ТА

Отримані результати дозволяють зробити кілька важливих висновків. По-перше, тотальна алопеція — це складний мультифакторний процес, у розвитку якого беруть участь генетичні, аутоімунні, метаболічні та психоемоційні фактори. Подруге, аутоімунні порушення, зокрема захворювання щитоподібної залози, є частою супутньою патологією, яка вимагає діагностики та корекції. По-третє, хронічний стрес, пов'язаний із соціально-політичними факторами (зокрема військовими діями в Україні), відіграє ключову роль у розвитку та загостренні алопеції. Також слід враховувати, що куріння та інші шкідливі звички значно погіршують прогноз та збільшують ризик прогресування хвороби. Перенесений COVID-19 є потенційним тригером аутоімунного процесу та може впливати на тяжкість перебігу алопеції.

Висновки.

1. В структурі чинників ризику АА у пацієнтів групи ГА переважали передумови неімунного характеру, серед яких були метаболічний синдром ($\chi^2=11,5$, $p<0,001$), порушення харчового режиму ($\chi^2=4,9$, $p<0,05$), хронічне стресове навантаження ($\chi^2=11,4$, $p<0,001$) та дисрегуляція сну ($\chi^2=11,5$, $p<0,001$). Напроти, пацієнти групи ТА характеризувались невисокою частотою зовнішніх впливів та в більшій мірі мали супутню імуну патологію, зокрема, вітіліго та аутоімунного тиреоїдит ($\chi^2=5,1$, $p<0,05$)

2. Пацієнти групи ТА характеризувались повною втратою волосся шкіри голови (100% за шкалою SALT), частково тіла (10% пацієнтів), великою кількістю жовтих крапок (90% пацієнтів), чорних крапок (66% пацієнтів) та змінами нігтьових пластин (23,3%% пацієнтів). Область ураження при ГА була меншою, коливалась від 25% до 75% площі скальпа (середнє значення та медіана за шкалою SALT відповідно $33,17 \pm 24,2\%$ та $37,5\%$, $IQR=35,00\%$), із середнім розміром вогнища ($9,90 \pm 2,92$ см, $Me=9,97$ см, $IQR=5,08$). Основними трихоскопічними ознаками були жовті точки та велусне волосся. Трихоскопічна картина у хворих характеризувалась більшою кількістю проявів, які включали жовті крапки (70% пацієнтів), чорні крапки (50% пацієнтів), коротке конічне волосся (76,7% пацієнтів), зламане волосся (90% пацієнтів) та коротке дистрофічне волосся (10% пацієнтів).

РОЗДІЛ 4.

ОСОБЛИВОСТІ СИСТЕМНОГО ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ НА
АУТОІМУННУ ГНІЗДОВУ АЛОПЕЦІЮ4.1. Аналіз показників клітинної ланки імунітету у хворих на
гніздову алопецію та тотальну алопецію.

Проведений нами порівняльний аналіз складу клітинної ланки імунітету серед здорових добровольців, хворих із ГА та ТА дозволив встановити ряд суттєвих відмінностей. Зокрема, пацієнти в групі контролю характеризувались сталістю механізмів імунного балансу, про що судили за збереженою в межах референтних значень кількістю В-лімфоцитів (медіана 15,4%; IQR: 14,2–16,8%, 245 кл/мкл). Водночас, в групі пацієнтів із ГА цей показник був достовірно зниженим до 6,4% (IQR: 5,8–7,1%, 76 кл/мкл, $p < 0,05$, $U = 140$, $r = -0.43$), а в групі ТА – до 1,4% (IQR: 1,1–1,8%, 28 кл/мкл, $p < 0,01$, $U = 80$, $r = -0.65$). (Рис 4.1.1., 4.1.2)

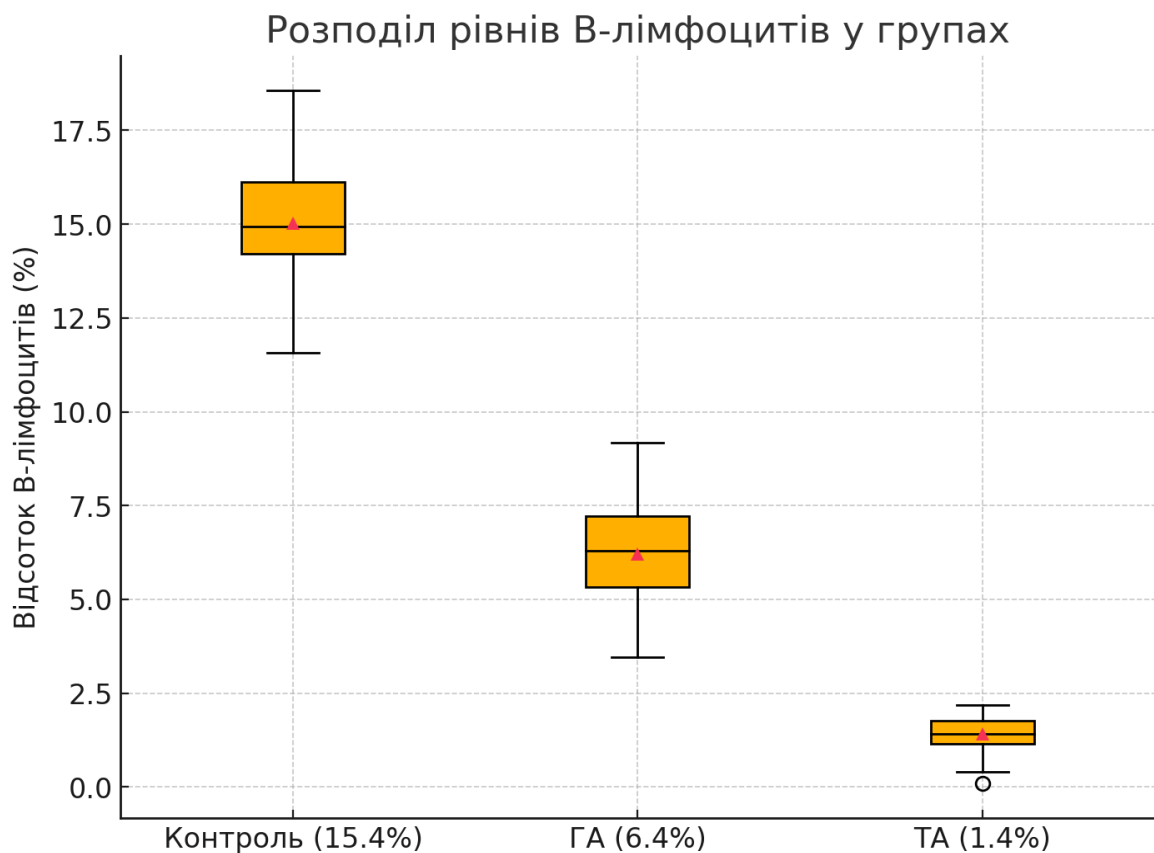
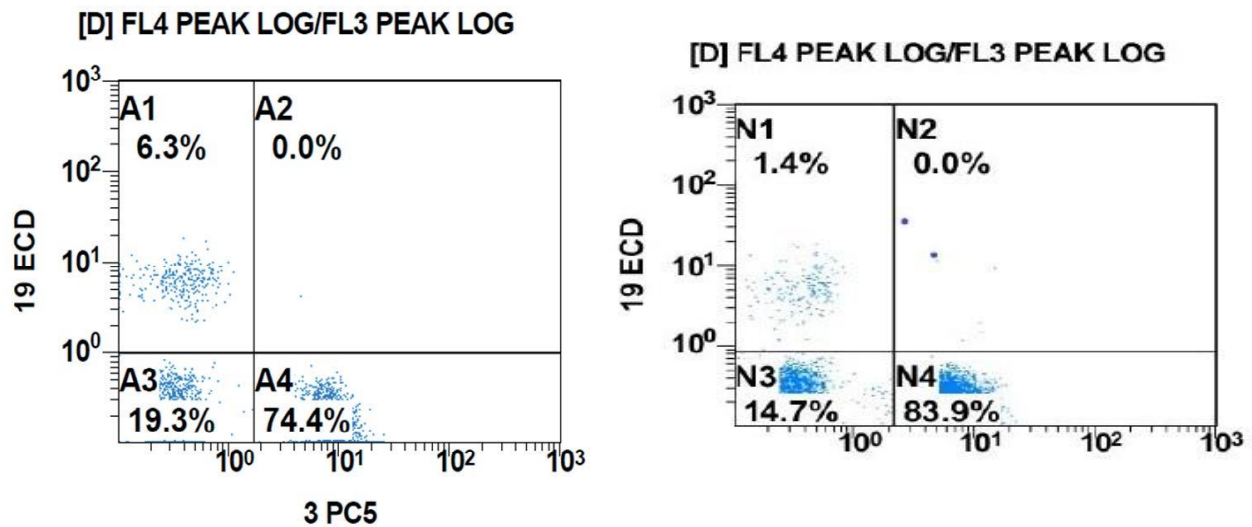


Рис.4.1.1.Порівняльний аналіз частки CD3-CD19+ в групах ГА, ТА та здорових



Примітки: Хворі на ГА. A1 – CD3-CD19+, A3 - CD3-CD19-, A4 - CD3+CD19-; Хворі на ТА. N1 – CD3-CD19+, N3 - CD3-CD19-, N4 - CD3+CD19-

Рисунок 4.1.2 Приклади типової гістограми для пацієнтів із аутоімунною алопецією

Виявлені зміни в групах обох алопецій, можуть бути пояснені порушенням гомеостазу в клітинному компоненті імунітету та пригніченням його регуляторного компоненту. Паралельно цьому, серед пацієнтів групи ГА та ГА спостерігалось достовірне зниження кількості NK CD3-56+клітин, при цьому, міжгрупові відмінності були значимі як відносно групи контролю, так і при порівнянні обох груп алопеції ($p < 0,05$, $U = 900.0$, $r = 0.86$). Так, медіана NK у здорових осіб становила 15,4% від усіх лімфоцитів 15,4% (IQR: 14,7–16,0%, 397,2 кл/мкл), мала помірне знижене значення у хворих на ГА – 9,3% (IQR: 8,3–10,6%, 212,8 кл/мкл, $p < 0,05$ проти групи контролю, $U = 4.0$, $r = -0.85$) та була мінімальною серед хворих з ТА – 3,1% (IQR: 2,7–4,1%, 69,0 кл/мкл, $p < 0,05$ проти групи контролю, $U = 0.0$, $r = -0.86$). Встановлені відмінності трактувались нами, як результат перерозподілу NK-клітин із циркулюючої крові в осередки аутоагресії, які були відсутні у здорових, проте, були найбільш значними за площею та активністю випадках ТА.

Подібна тенденція спостерігалась і при вивченні популяції CD3+Т-лімфоцитів, рівень яких достовірно спадав по мірі зростання аутоімунного

компоненту хвороби. Так серед здорових медіана CD3+клітин становила 71,4% від усіх лімфоцитів (IQR: 69,0–73,0%, 2832 кл/мкл), була зниженою в групі ГА до 64,8% (IQR: 62,5–66,5%, 1495 кл/мкл, $p < 0,05$ проти групи контролю, $U = 4,0$, $r = -0,85$), та становила 57,3% (IQR: 55,0–59,5%, 1146 кл/мкл, $p < 0,05$ проти групи контролю, $U = 0,0$, $r = -0,86$) у хворих з ТА. В основі даного явища, як і при зниженні CD56+клітин, вірогідно лежали механізми клітинного перерозподілу, що посилювались хронічною активацією та виснаженням імунної відповіді в умовах перманентного запального процесу.

Проаналізовані нами показники концентрації та відсоткового співвідношення CD3+CD4+клітин та CD3+CD8+клітин у здорових осіб продемонстрували збалансованість регуляції імунної відповіді до цитотоксичної активності. Так медіана Т-хелперів та Т-цитотоксичних клітин в контрольній групі становила відповідно 53,9% (1056 кл/мкл) та 27,2% (508 кл/мкл). В той же час, в групах ГА та ТА спостерігалось відхилення відповідних показників, як від референтних значень, так і відносно групи контролю. Відсоткова частка та абсолютна кількість CD3+CD4+клітин в групі ГА становила 41,1% та 815 кл/мкл, що не досягало відповідного значення в групі контролю ($p < 0,001$, $U = 200$, $r = 0,41$). Натомість, концентрація CD3+CD8+клітин в групі ГА були достовірно більшою та становили 36,6%, (694 кл/мкл) ($p < 0,01$, $U = 250$, $r = 0,36$, проти групи контролю), що, в цілому, відображало збереження регуляторного потенціалу без вираженого переважання аутоімунного компоненту. Пацієнти із ТА характеризувались значимо зниженими рівнями CD3+CD4+клітин та зростанням CD3+CD8+клітин (відповідно 38,3%, 749 кл/мкл та 52,3% 1020 кл/мкл), які були в повній мірі статистично відмінними від групи здорових (Т-хелпери – $p = 0,004$, $U = 150$, $r = 0,78$; Т-цитотоксичні клітини – $p < 0,001$, $U = 180$, $r = -0,75$), тоді як в групі ГА достовірність підтверджувалась лише для CD3+CD8+клітин (Т-хелпери – $p = 0,15$, $U = 395$, $r = 0,28$; Т-цитотоксичні клітини – $p < 0,001$, $U = 200$, $r = 0,49$). В цьому ключі закономірним було значне

зменшення індексу імуногенності у хворих на ТА, як відносно групи здорових осіб, так і групи ГА (0,74 проти 1,98 в контрольній групі $p < 0.001$, $U = 110$, $r = 0,54$ та 1,12 в групі ГА $p = 0.002$, $U = 250$, $r = 0,4$). Рис.4.1.3.

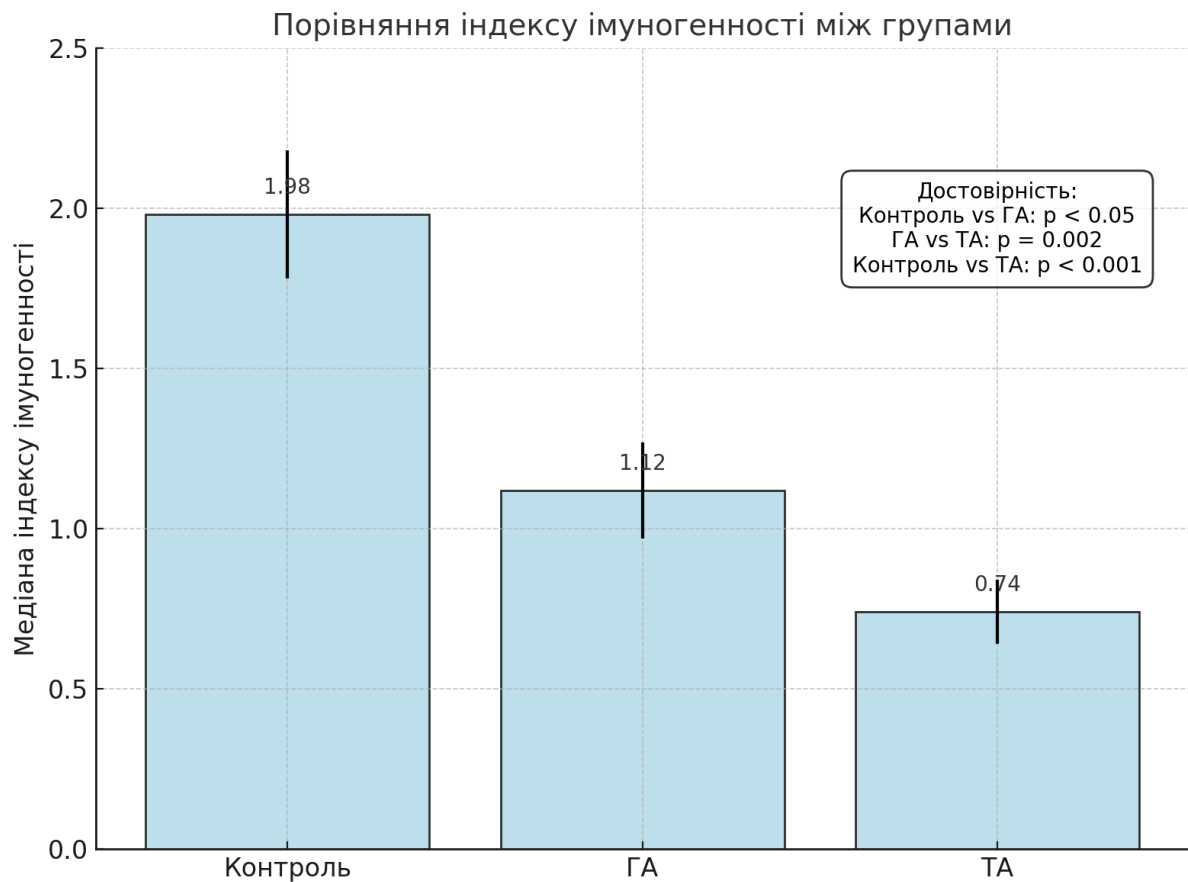


Рисунок 4.1.3 Медіанне значення індексу імуногенності в групах ГА та ТА відносно групи контролю.

Зазначимо, що в групі ГА спостерігалось статистично незначиме невелике збільшення даного показника відносно здорових осіб, що вказує на низькоактивну локалізовану імунну відповідь порівняно з ТА ($p > 0.05$, $U = 450$, $r = -0.12$).

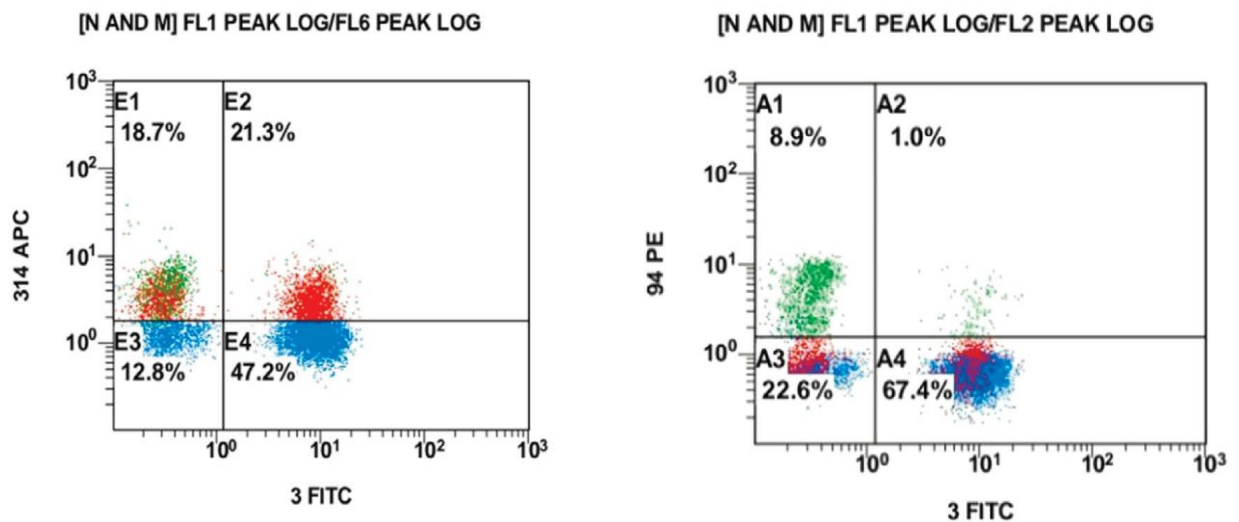
4.2. Визначення показників популяційного складу НК клітин та мононуклеарів периферичної крові по визначенню експресії активуючих CD314 (NKG2D) та інгібуючих CD94 (NKG2A) рецепторів у хворих із різними клінічними формами аутоімунної алопеції.

Для більш глибокого вивчення імунопатогенетичних механізмів, асоційованих із розвитком та прогресуванням аутоімунної алопеції нами було

виконано аналіз експресії CD314 (NKG2D) рецепторів та CD94 (NKG2A) рецепторів в абсолютних та у відсотковому еквіваленті серед всіх Т-лімфоцитів та на поверхні NK клітин. Не зважаючи на зниження концентрації практично всієї ланки циркулюючих Т-клітин та натуральних кіллерів (NK), детальне вивчення їх функціоналу дозволило визначити особливості зростання їх прозапального та цитотоксичного потенціалу в умовах автоімунної алопеції. Було встановлено, що хворі як на гніздову алопецію (ГА) так і на тотальну алопецію ТА характеризуються значним підвищенням експресії CD314+ (NKG2D) серед усіх лімфоцитів, яка п'ятикратно перевищувала значення у здорових осіб (контрольна група 8%, 192 кл/мкл проти групи ГА 40,1%, 357 кл/мкл та групи ТА 39,8%, 788 кл/мкл; $p < 0.001$, $U = 0$, $r = -0.86$). Водночас, оцінка експресії CD94+ (NKG2A) рецептору серед усіх лімфоцитів продемонструвала обернені результати, згідно яких саме в групі ТА спостерігалась найменша кількість клітин такого типу (група ТА 4,15%, 82 кл/мкл проти групи контролю 12%, 137 кл/мкл та групи ГА 9,83%, 88 кл/мкл; $p < 0,05$, $U = 900.0$, $r = -0.59$). Високий рівень експресії CD314+ (NKG2D) рецептора та зниження CD94+ (NKG2A) інгібуючого рецептора в групі ТА дозволяє припустити виражене порушення регуляції імунної системи та ознаки надмірної активації NK-клітин і, як наслідок, припущення більш агресивної атаки на волосяні фолікули.

Результати вивчення експресії CD314+(NKG2D) рецептора та CD94+ (NKG2A) рецептора на Т-лімфоцитах продемонстрували переважання кількості клітин, маркованих за кожним із двох рецепторів, серед пацієнтів групи контролю. Зокрема, частка CD3+314+клітин в групі здорових добровольців становила 30,3% (602 кл/мкл), тоді як в групах ГА та ТА її значення було відповідно 21,3% (189 кл/мкл) та 27,7% (548 кл/мкл) ($p = 0.02$, $U = 210.0$, $r = 0.55$ група контролю проти ГА; $p = 0.04$, $U = 255.0$, $r = 0.33$ група контролю проти ТА). При цьому, група контролю характеризувалась достатністю регуляторного потенціалу, про що судили за більш ніж 4 кратно вищим значеннями експресії CD94+(NKG2A) рецептора на Т-лімфоцитах. З

урахуванням в цілому більшої кількості Т-лімфоцитів в групі контролю, концентрація CD3+94+ клітин становила 4,8% (81 кл/мкл), в групі ГА 1% (9 кл/мкл) та 1,2% в групі ТА (24 кл/мкл) ($p < 0.001$, $U = 50.0$, $r = 0.85$ контроль проти ГА; $p < 0.001$, $U = 90.0$, $r = 0.75$ контроль проти ТА; $p = 0.1$, $U = 360.0$, $r = 0.25$ ГА проти ТА) (Рис.4.2.1)



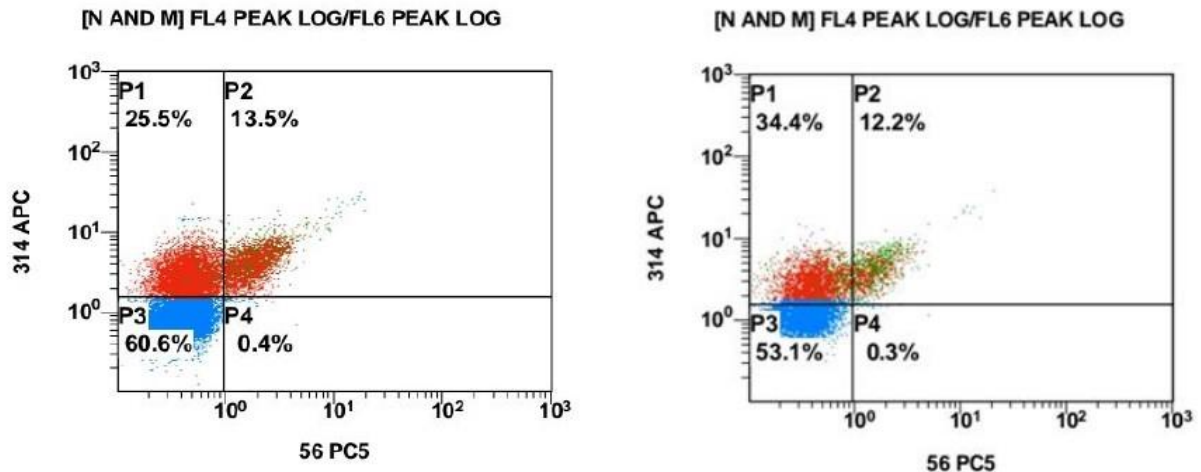
A1- CD3- 94+, A3- CD3- 94-, A4 – CD3+94-

Тотальна алопеція

Гніздова алопеція

Рисунок 4.2.1 Типові порівняльні гістограми експресії CD94/NKG2 і NKG2D (CD314) рецепторів у хворих на ТА і ГА

Зважаючи на знижену загальну концентрацію CD3-56+клітин в сироватці крові особливе зацікавлення викликав їх потенціал індукції аутоагресії в контексті балансу із механізмами захисту. Так, згідно отриманих даних у хворих на ГА експресія NKG2D рецептора серед усіх CD3-56+ клітин перевищувала контрольне значення в 3,6 разів (18,7% проти групи контролю, IQR: 4.5%–6.5%, $p = 0.01$, $U = 150$, $r = -0.70$), в групі ТА відповідний показник був дещо нижчим (12,1%, IQR: 16%–21%, $p = 0.002$, $U = 896$, $r = -0.60$ проти групи ГА), серед здорових осіб частка клітин, позитивних за активуючим рецептором становила 5,2% та була в межах референтних значень (Рис.4.2.2).



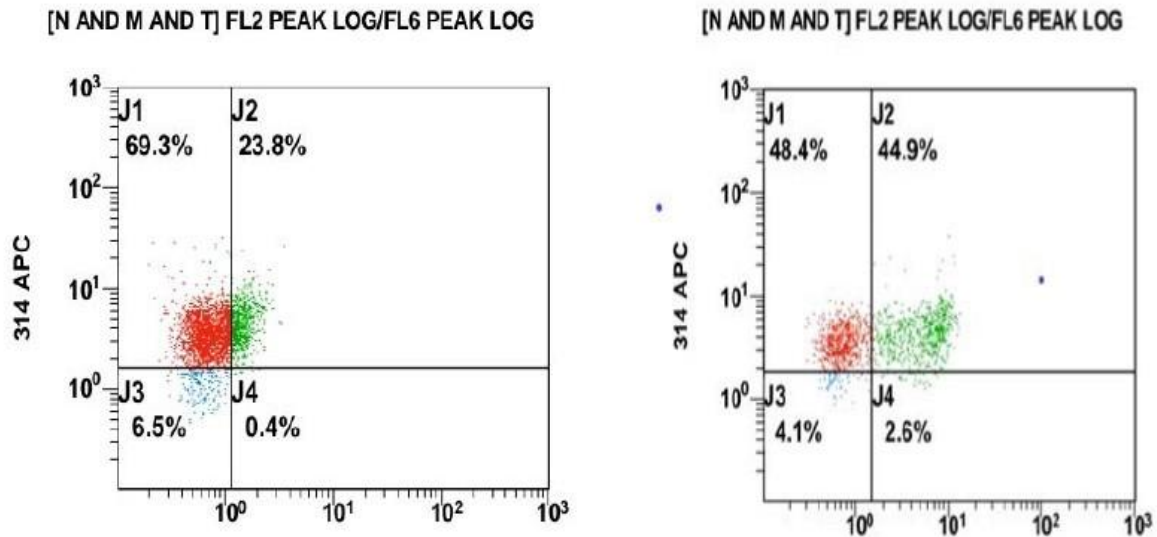
P1 -CD314+56+ , P3- CD56+314-

Тотальна алопеція

Гніздова алопеція

Рисунок 4.2.2. Типові порівняльні гістограми експресії CD94/NKG2 і NKG2D рецепторів на CD314-56+ клітинах хворих на ТА і ГА

При цьому, в групі контролю та групі ТА серед усіх CD3-56+клітин визначалась невисока експресія інгібуючого CD94+(NKG2A) рецептора яка становила відповідно 2,8% та 3% ($p=0.12$, $U=420.5$, $r=0.12$). Натомість, у хворих на ГА відсоткова частка позитивних за NKG2A натуральних кіллерів склала 8,9% та достовірно переважала як контрольні показники, так і в групі ТА (відповідно $p=0.002$, $U=245.0$, $r=0.85$ та $p=0.001$, $U=210.0$, $r=0.9$). Варто відзначити, що позитивних тільки одним рецептором CD 3-56+314+94- клітин в групі ТА була найбільша кількість (69,3%; $p = 0.001$, $U = 310$; $r = 0.78$ проти групи контролю, $p = 0.008$, $U = 290$, $r = 0.69$ проти групи ГА), тоді як в групах ГА та контролю їх концентрація статистично не відрізнялись (відповідно 48,4% та 43,6%; $p = 0.12$, $U = 320$, $r = 0.48$). В протилежність цьому, імунорегуляторні механізми у здорових та групи ГА були збереженими, про що свідчили більша кількість клітин CD 3-56+314+94+, позитивних за обома рецепторами NKG2D та NKG2A. Так, частка подвійно-позитивних НК клітин становила 50,6% в групі контролю, 47,5% в групі ГА та було достовірно меншою в групі ТА – 23,8% ($p = 0.001$, $U = 200$, $r = 0.88$ проти групи контролю та $p = 0.02$, $U = 290$, $r = 0.55$ проти групи ГА) (Рис.4.2.3).



J1- CD56+ CD314+ 94-, J2- CD314+94+ , J3- CD314- 94-

Тотальна алопеція

Гнездова алопеція

Рисунок 4.2.3. Типові порівняльні гістограми експресії CD94/NKG2 і NKG2D рецепторів на поверхні клітин у хворих на ТА і ГА

Кількість подвійно-негативних CD56+клітин, які не виявляли ознак експресії жодного із двох вищезазначених маркерів в досліджуваних групах була невеликою та статистично не відрізнялась між групами (контроль – 5,2%, ГА – 4,1%, ТА – 6,5%; $p > 0,5$). Проведений обрахунок співвідношення між усіма CD3-56+клітинами, які експресували NKG2D рецептор, до CD3-56+клітин, позитивних за експресією NKG2A рецептора, в групі хворих на ТА (4,03) продемонстрував в 2,2 разів та 1,85 разів його більше значення відносно групи здорових (коефіцієнт 1,82, $p < 0.001$, $U = 150$, $r = 0.88$) та групи ГА (коефіцієнт 2,18, $p = 0.001$, $U = 270$, $r = 0.74$), що вказувало на залучення натуральних кіллерів в процес аутоагресії та переважання активуючих над інгібуючими механізмами імунної відповіді у хворих на ТА.

Висновки.

1. У хворих на алопецію у випадках її тотальної форми (ТА) спостерігалось значне зниження рівня CD3-CD19+клітин, яке супроводжувалось помірним зменшенням CD3-CD56+клітин та CD3+ клітин.

Подібного характеру зміни були встановлені і у хворих на гніздову алопецію (ГА), які, проте, були менш вираженими та, в ряді випадків не мали статистичної значимості. Обстежені хворі в групах алопеції характеризувались зменшенням концентрації CD3+CD4+клітин та зростанням CD3+CD8+клітин, що закономірно супроводжувалось зниженим індексом імуногенності, який в групі ТА був мінімальним та становив 0,74 ($p < 0,01$ проти контролю та групи ГА)

2. Хворі в досліджуваних групах характеризувались надмірною експресією активуючого рецептора NKG2D, яка спостерігалась як серед усіх лімфоцитів, так і в окремих субпопуляціях (CD3+, CD3-56+ клітин). При цьому, в групі ТА встановлено найменшу кількість клітин позитивних за експресією NKG2A рецептора серед усіх лімфоцитів. Співвідношення між усіма CD3-56+ клітинами, які експресували NKG2D рецептор, до CD3-56+клітин, позитивних за експресією NKG2A рецептора, в групі ТА продемонстрував в 2,2 разів та 1,85 разів його більше значення відносно групи здорових ($p < 0.001$) та групи ГА ($p = 0.001$), що вказувало на залучення натуральних кіллерів в процес аутоагресії та переважання активуючих над інгібуючими механізмами імунної відповіді.

Основні результати цього розділу висвітлено в наступних публікаціях:

1. Халдєєва А. Особливості стану клітинного імунітету при гніздовій алопеції. Імунологія та алергологія: наука і практика, 2024;2:47-53. DOI: 10.37321/immunology.2024.2-06
2. Халдєєва А. Зміни В-клітинної ланки імунітету та експресії NKG2D (CD314) і CD94(NKG2A) при алопеції тоталіс. Імунологія та алергологія: наука і практика, 2024;3-4:80-85. DOI: 10.37321/immunology.2024.3-4-07

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ПОКАЗНИКІВ ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ НА АУТОІМУННУ АЛОПЕЦІЮ ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ ВИВЧЕННЯ ФОНОВОГО РІВНЯ ПРОЗАПАЛЬНИХ ТА РЕГУЛЯТОРНИХ ЦИТОКІНІВ, А ТАКОЖ ЗА ЇХ ПРОДУКЦІЄЮ *IN* *VITRO*

5.1. Фоновий рівень цитокінів периферійної крові хворих із різними клінічними формами гніздової алопеції (IL-10, TGF- β , TNF- α , IFN-g).

Виявлений нами дисбаланс в клітинній ланці імунітету серед хворих на аутоімунну алопецію вимагав поглибленого дослідження продукції та регуляції ключових цитокінів для визначення характеру імунної відповіді, прозапального потенціалу та диференційованої оцінки патогенетичних механізмів в групах ГА та ТА.

Зниження частки CD3+CD4+клітин та CD3-CD19+клітин у пацієнтів із алопецією поєднувалось із порушенням імунологічної толерантності та зниженням активності протективних механізмів. Середній рівень циркулюючого TGF- β в групі здорових осіб на початковому етапі дослідження становив $8,87 \pm 1,52$ нг/мл, що відображало високі регуляторні можливості організму у відповідь на надмірну активацію імунної системи. У хворих на ГА концентрація TGF- β була в 2,2 рази меншою ($4,03 \pm 0,53$ нг/мл), та досягала мінімального значення серед хворих на ТА – $1,94 \pm 0,09$ нг/мл ($F=10,56$, $p < 0.001$; різниця між середніми рівнями TGF- β із CI=95%: 1,68 – 7,99 для контроль проти ГА, 3,95 – 9,91 для контроль проти ТА, 1,04-3,14 для ГА проти ТА).

Порушення протизапальних механізмів та гальмування імунної активності у хворих на алопецію опосередковано підтверджувалось за зниженням рівню іншого цитокіну – IL-10. Так, його середній вміст в сироватці крові серед здорових осіб складав $6,7 \pm 0,82$ пг/мл, був зменшеним, хоча і недостовірно в групі ГА – $4,66 \pm 0,64$ пг/мл, та становив лише 27% від контрольного значення в групі ТА ($1,78 \pm 0,22$ пг/мл) (F -статистика: 14.58;

різниця між середніми рівнями IL-10 із CI=95%: -0,46 – 4,54 для контроль проти ГА, $p > 0,05$; 3,22 – 6,62 для контроль проти ТА, $p < 0,001$; 0,95 – 4,81 для ГА проти ТА, $p < 0,05$). (Рис. 5.1.1)

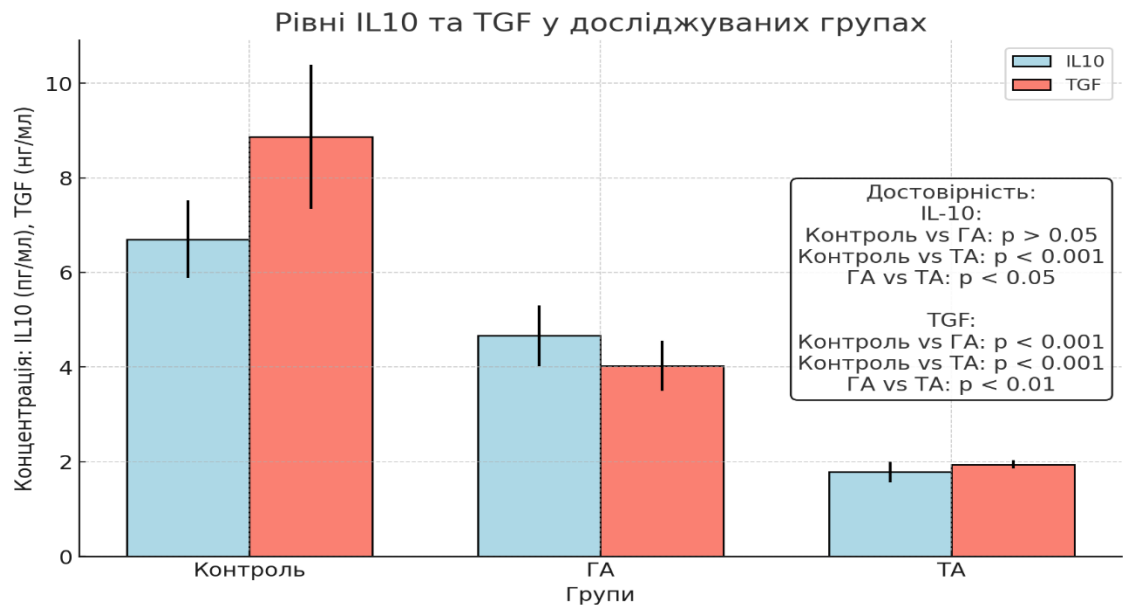


Рисунок 5.1.1 Рівні регуляторних цитокінів в досліджуваних групах.

Паралельно цьому, серед досліджуваних пацієнтів спостерігалось інтенсивна активація цитотоксичних процесів та механізмів запалення системного характеру. Зокрема, середні значення TNF- α у хворих на ГА ($35,21 \pm 4,80$ пг/мл) перевищувало рівень цитокіну у здорових ($12,68 \pm 3,72$ пг/мл) в 2,8 разів. Концентрація TNF- α серед пацієнтів з ТА досягала високих показників та переважала відповідні рівні групи ГА в 1,7 разів та групи контролю в 4,7 разів ($59,42 \pm 8,36$ пг/мл) (F-статистика: 10,60; $p < 0,001$). Ще одним підтвердженням присутності високоактивного запального процесу серед досліджуваних хворих була надмірна продукція IFN- γ , зростання якого здатне запускати цілий каскад реакцій на генному, клітинному та гуморальному рівнях. Середній рівень IFN- γ в контрольній групі становив $8,37 \pm 0,94$ пг/мл збільшувався до $17,04 \pm 1,10$ пг/мл в групі ГА та досягав $38,19 \pm 4,23$ пг/г в групі ТА (F-статистика: 59,55; $p < 0,001$ контроль проти ТА; $p < 0,05$ – контроль проти ГА та ГА проти ТА). Рис.5.1.2.

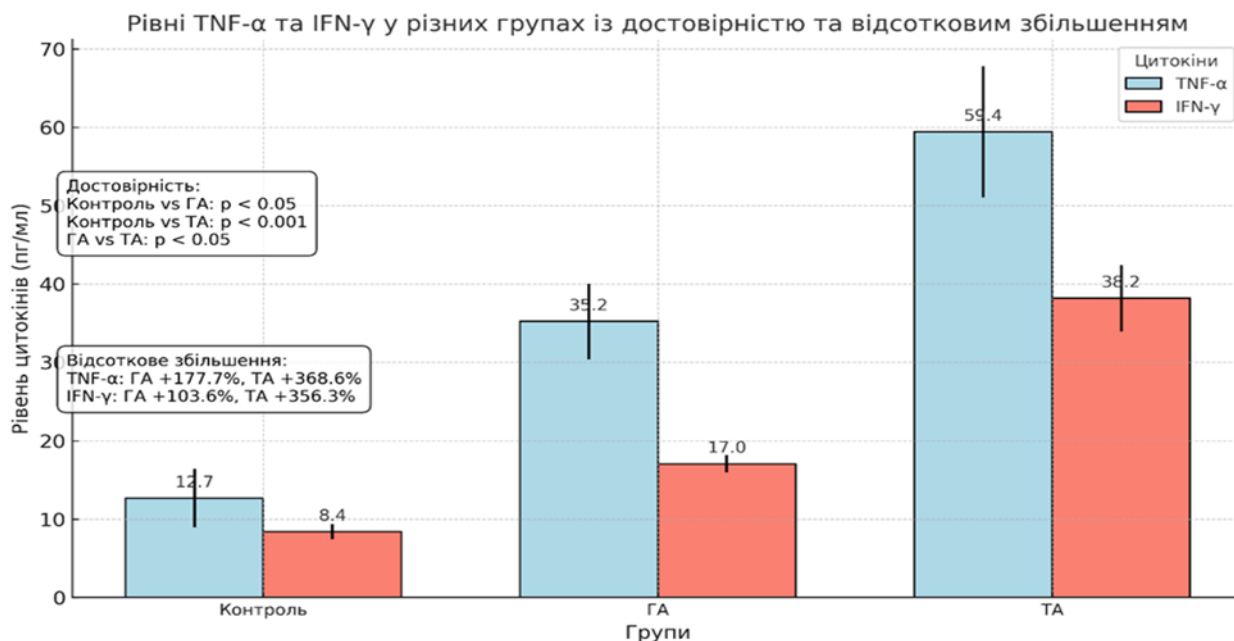


Рисунок 5.1.2. Рівні прозапальних цитокінів в досліджуваних групах.

Взаємодія прозапальних цитокінів у хворих на АА реалізувалась по принципу «хибного кола», в якому зростання TNF- α стимулювало CD4⁺ Th1-клітини та призводило до індукції синтезу IFN- γ . В свою чергу, IFN- γ підвищував функціональну активність цитотоксичних CD8⁺лімфоцитів та макрофагів, а також продукцію ними TNF- α , що мало комплексний вплив на посилення запалення у фолікулі та важкість клінічних проявів.

5.2. Дослідження функціональної активності *in vitro* мононуклеарних клітин у хворих із різними клінічними формами гніздової алопеції по продукції IL-10 та TGF- β

Для оцінки реактивності імунної системи, функціонального стану супресорних механізмів, визначення джерела зростання концентрації циркулюючих цитокінів в умовах АА та диференційної діагностики із можливими супутніми станами, що характеризуються системною запальною відповіддю, нами були виконано дослідження функціональної активності мононуклеарних клітин за продукцією ряду цитокінів. Дане дослідження дозволяло уникнути хибного розуміння природи виявлених на попередньому етапі порушень, та визначити основні патогенетичні ланки в умовах різної вираженості АА. Рутинна оцінка фонового рівню цитокінів в сироватці крові

не завжди дозволяє достеменно визначити їх походження, що може призводити до хибного трактування результатів дослідження. Вважається, що від важкості та стадії АА рівні цитокінів після стимуляції матимуть різний профіль, що дозволить більш точно оцінювати перспективи та обирати напрямки лікування.

Для більш точної характеристики функціонального стану клітин нами враховувались показники продукції цитокінів у спонтанному та індукваному режимах в умовах *in vitro*.

Оцінка спонтанної продукції одного із найважливіших цитокінів імунної толерантності – ІЛ-10 показала достовірну різницю між його рівнями в усіх досліджуваних групах (F-статистика = 8,75, $p < 0,001$) (Таб.5.2.1). Водночас, індукція мітогеном відібраних мононуклеарних клітин призвела до вираженого зростання рівнів ІЛ-10 у здорових осіб (на 58%, $p < 0,05$) та у хворих на ГА (на 34% $p < 0,05$), що різко контрастувало із практично відсутньою динамікою серед пацієнтів з ТА (на 10%, $p > 0,05$). Враховуючи патогенетичні основи АА, порушення індукованої продукції ІЛ-10 у хворих із більш важким клінічним перебігом (група ТА), вірогідно, було наслідком дисфункції регуляторних клітин в умовах імунної агресії та зниження їх обмежуючого впливу на активність Th1/Th17.

Таблиця 5.2.1

**Рівні спонтанної та індукованої продукції *in vitro* ІЛ-10
мононуклеарними клітинами крові у хворих досліджуваних груп**

Досліджувані групи	Рівні ІЛ-10 <i>in vitro</i> (пг/мл)	
	Спонтанна продукція	Індукована продукція
Група контролю (n=30)	8,9±1,52	14,1±2,86
ГА (n=30)	5,8±0,63***	7,8±0,84***
ТА (n=30)	2,0±0,43*** ^{ooo}	2,2±0,76*** ^{ooo}

Примітки. *** $p < 0,001$ відносно контрольної групи, ^{ooo} - $p < 0,001$ відносно групи ГА

Разом із цим, про присутність загального дефіциту імунної регуляції, який здатен сприяти хронічному запаленню та підтримувати аутоімунний процес свідчило зниження спонтанної продукції TGF- β серед хворих на АА. При цьому рівні цитокіну були збереженими в здорових осіб та знижувались у хворих паралельно зростанню важкості перебігу хвороби (F-статистика = 4.08, $p < 0,05$). (Таб. 5.2.2).

Таблиця 5.2.2.

**Рівні спонтанної та індукованої продукції *in vitro* TGF- β
мононуклеарними клітинами крові у хворих досліджуваних груп**

Досліджувані групи	Рівні TGF <i>in vitro</i> (нг/мл)	
	Спонтанна продукція	Індукована продукція
Група контролю (n=30)	10,9 $\pm$ 3,3	16,85 $\pm$ 4,11
ГА (n=30)	5,6 $\pm$ 0,73***	7,2 $\pm$ 1,07***
ТА (n=30)	2,4 $\pm$ 0,27*** ^{ooo}	2,56 $\pm$ 0,25*** ^{ooo}

Примітки. *** $p < 0,001$ відносно контрольної групи, ^{ooo} - $p < 0,001$ відносно групи ГА

При вивченні індукованої продукції мононуклеарними клітинами TGF *in vitro* нами було встановлено виражене зростання вмісту цитокіну серед учасників групи контролю (на 54,6%, $p < 0,01$). Такі концентрації дозволяють підтримувати фізіологічний баланс імунної системи та обмежувати гіперактивацію Т-хелперів (CD4⁺), цитотоксичних Т-клітин (CD8⁺) і NK-клітин. В свою чергу, пацієнти із ГА при в цілому зниженому рівні TGF, характеризувались достатнім приростом показника (на 28,6%, $p < 0,05$) у відповідь на стимуляцію, що свідчило про часткове збереження механізмів толерантності та протидії імунної атаки на ВФ. Напроти, серед хворих на ТА спостерігались різко знижені рівні цитокіну та наявність незначного, статистично незначимого зростання у відповідь мітоген (на 6,7%), що реалізувалось у пригніченні регуляторних клітин, відсутності обмежень на експресію МНС в ділянці ВФ, та більш важким клінічним перебігом хвороби

5.3. Дослідження *in vitro* функціональної активності мононуклеарних клітин у хворих із різними клінічними формами гніздової алопеції по продукції TNF- α , IFN- γ

Згідно відомих даних, в гострий період АА спостерігається первинне залучення CD8⁺T-клітин та Th1-клітин - активних продуцентів IFN- γ . В подальшому розгортається запальний каскад через Th1/Th17, макрофаги та NK-клітини, які синтезують як IFN- γ так і TNF- α . При цьому, посилена продукція TNF- α та IFN- γ може корелювати із тяжкістю хвороби та ступенем руйнування фолікулів. Проте, відсутність приросту концентрації цитокінів у відповідь на стимуляцію може бути ознакою виснаження імунної системи в результаті тривалої високої активності хвороби.

Згідно отриманих нами результатів було встановлено, що рівень спонтанного та індукованого IFN- γ зазнавав суттєвого приросту серед здорових осіб та в групі ГА, що, вірогідно відображало достатню функціональну спроможність Th1-хелперних клітин, активацію трансмембранних процесів в імунокомпетентних клітинах, що може відігравати важливу роль в процесах презентування антигену у вогнищах АА (Таб 5.3.1).

Таблиця. 5.3.1.

Рівні спонтанної та індукованої продукції *in vitro* IFN- γ мононуклеарними клітинами крові у хворих досліджуваних груп

Досліджувані групи	Рівні IFN- γ <i>in vitro</i> (пг/мл)	
	Спонтанна продукція	Індукована продукція
Група контролю (n=30)	13,9 $\pm$ 6,3	21,3 $\pm$ 4,6
ГА (n=30)	23,7 $\pm$ 2,78**	30,8 $\pm$ 4,11**
ТА (n=30)	40,1 $\pm$ 3,97*** ^o	43,9 $\pm$ 4,04***

Примітки. *** $p < 0,001$ відносно контрольної групи, ** $p < 0,01$ відносно контрольної групи, ^o - $p < 0,05$ відносно групи ГА

Водночас відповідний показник серед пацієнтів із ТА не демонстрував значної динаміки та не характеризувався статистично значимим приростом, що могло бути ознакою зниження резерву клітинного реагування в умовах тривалого та високоактивного аутоімунного процесу.

Було відмічено, що не зважаючи на статистично відмінні показники спонтанної продукції IFN- γ між групами ГА та ТА ($13,9 \pm 6,3$ пг/мл в контролі, $23,7 \pm 2,78$ пг/мл в групі ГА, $40,1 \pm 3,97$ пг/мл в групі ТА; F-статистика = 4,65, $p < 0,05$), достовірної міжгрупової різниці між рівнями цитокіну після стимуляції не спостерігалось (F-статистика = 1.99, $p > 0.05$), Рівень IFN- γ у здорових осіб після стимуляції мітогеном зростав на 53,2%, в групі ГА – на 30%, та практично залишався незмінним у хворих на ТА (на 9%, $p > 0,05$).

При оцінці спонтанної продукції, результати порівняння концентрації TNF- α статистично відрізнялись між групами із найвищим значенням серед хворих на ТА та невисокими рівнями в у здорових ($17,5 \pm 7,1$ пг/мл в контролі, $48,7 \pm 3,22$ пг/мл в групі ГА, $61,1 \pm 7,4$ пг/мл в групі ТА; F-статистика = 4,55, $p < 0,01$) (Таб.5.3.2).

Таблиця 5.3.2.

**Рівні спонтанної та індукованої продукції TNF- α *in vitro*
мононуклеарними клітинами крові у хворих досліджуваних груп**

Досліджувані групи	Рівні TNF- α <i>in vitro</i> (пг/мл)	
	Спонтанна продукція	Індукована продукція
Група контролю (n=30)	$17,5 \pm 7,1$	$33,3 \pm 9,6$
ГА (n=30)	$48,7 \pm 3,22^{***}$	$65,4 \pm 8,34^{**}$
ТА (n=30)	$61,1 \pm 5,4^{***\circ}$	$65,7 \pm 5,45^{**}$

Примітки. *** $p < 0,001$ відносно контрольної групи, ** $p < 0,01$ відносно контрольної групи, $^{\circ}$ - $p < 0,05$ відносно групи ГА

При цьому, виконана стимуляція призводила до різкого зростання TNF- α серед учасників групи контролю (на 90,2%, $p < 0,001$) та хворих на ГА (на 35%, $p < 0,05$), тоді як тільки у двох хворих на ТА відмічалось помірно

виражена відповідь на мітоген, яка, втім не призводила до суттєвої динаміки середнього показника у групі (на 7,5%, $p > 0,05$).

Таким чином, клітинна відповідь на мітоген в умовах *in vitro* серед здорових осіб мала фізіологічний характер, та відображала імунні процеси реагування для елімінації подразника та стримування аутоагресії. Як було з'ясовано, серед хворих на ГА було виявлено збережений резерв клітинної активності та достатню продукцію цитокінів у відповідь на стимуляцію, що розглядалось як ознака комплексної природи патологічного процесу із лише частковим залучення імунної системи до ураження ВФ. Практично відсутній приріст рівнів стимульованих цитокінів в групі ТА, вірогідно, був свідченням виснаження ресурсу клітинного та гуморального імунітету у відповідь на високу та тривалу імунну активність, як основного джерела розвитку хвороби.

1. Хворі на тотальну алопецію (ТА) характеризувались вираженою активацією цитотоксичних та прозапальних механізмів та значними порушеннями регуляції імунної відповіді, про що свідчили збільшення вмісту IFN- γ та TNF- α , а також зниження вмісту TGF- β та IL-10 в крові хворих. Порушення гуморальної ланки у хворих на гніздову алопецію (ГА) мали подібне спрямування, проте, були менш вираженими.

2. Оцінка спроможності профілю імунної толерантності за рівнями протизапальних цитокінів IL-10 та TGF- β в умовах *in vitro* в режимі спонтанної та індукованої продукції у хворих на АА продемонструвала наявність статистично значимого їх зниження порівняно із здоровими особами, засвідчила часткове збереження регуляторних механізмів у хворих на ГА та, практично, повне їх пригнічення серед пацієнтів з ТА.

3. Результати дослідження *in vitro* спонтанної та індукованої продукції рівнів IFN- γ і TNF- α та продемонстрували збереження резерву функціональної активності клітинного імунітету в групі хворих на ГА та здорових осіб, про що судили по достатній рівень продукції прозапальних цитокінів у відповідь на стимуляцію. Водночас, в групі ТА синтез IFN- γ і TNF- α незначимо збільшувався у відповідь на мітоген, що вірогідно, було ознакою виснаження

клітинного реагування внаслідок тривалої високоінтенсивної імунної активності.

Основні результати цього розділу висвітлено в наступних публікаціях:

1. Халдєєва А. Зміни В-клітинної ланки імунітету та експресії NKG2D (CD314) і CD94(NKG2A) при алопеції тоталіс. Імунологія та алергологія: наука і практика, 2024;3-4:80-85. DOI: 10.37321/immunology.2024.3-4-07

РОЗДІЛ 6

ДОСЛІДЖЕННЯ СИСТЕМНИХ ІМУНОЛОГІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ПОКАЗНИКІВ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ ІЗ РІЗНИМИ КЛІНІЧНИМИ ФОРМАМИ АУТОІМУННОЇ АЛОПЕЦІЇ В ДИНАМІЦІ КОМПЛЕКСНОЇ МЕДИКАМЕНТОЗНОЇ ТЕРАПІЇ.

6.1. Аналіз показників клітинної ланки імунітету у хворих із різними формами АА під впливом комплексної медикаментозної терапії

До початку лікування досліджувані пацієнти груп ГА та ТА характеризувались наявністю змін клітинної ланки імунітету. При цьому, виділені підгрупи 1 та 2 згідно обраного протоколу лікування в межах кожної із груп АА (ГА та ТА) були співставними за досліджуваними показниками та не характеризувались наявністю статистично значущих відмінностей. В подальшому, порівняльний аналіз популяційного складу клітинної ланки імунітету в процесі виконуваного дослідження дозволив встановити наявність відмінностей, що позитивно характеризували перебіг хвороби на лабораторному рівні серед пацієнтів, які отримували стандартну терапію у комплексі із засобом симвастатин/ezetиміб. Зокрема, як в групі ГА, так і в групі ТА визначався достовірно більший приріст кількісної та відсоткової частки В-лімфоцитів в циркулюючій крові. Так, первинно в групах ГА1 та ГА2 рівні клітин становили відповідно 77,3 кл/мкл (6,5%, IQR=10,6) 73,9 кл/мкл (6,2%, IQR=10,5) ($U=160$, $p>0,05$). В подальшому в групі ГА1 було встановлено достовірне зростання даного показника (на 35%), який на 24 тиждень дослідження досягав 104,4 кл/мкл ($W=12$, CI: - 35,72 кл/мкл – -0,03 кл/мкл, $p<0,01$). Водночас, серед пацієнтів які отримували стандартне лікування зміни рівнів циркулюючих В-лімфоцитів не спостерігалось (78,5 кл/мкл, 6,7%, $W=41$, CI: -4,81 кл/мкл – 12,49 кл/мкл, $p>0,05$). Динаміка приросту CD19+клітин в групі ТА1 була ще більш вираженою. Рівень даного показника до початку лікування становив 28,4 кл/мкл (1,4%) та перевищував первинне значення в 3,4 рази на етапі його завершення (96,6 кл/мкл, 4,8%,

W=10, CI: -79.82 кл/мкл – 44.13 кл/мкл, $p<0,01$). При цьому, застосування базової терапії в групі TA2 не поєднувалось із значимими змінами концентрації CD19+клітин, про що свідчило відсутність статистичної відмінності між початковим та кінцевим значенням (25,7 кл/мкл на початку дослідження проти 30,3 кл/мкл в його кінці, W=31, CI: -7.47 кл/мкл – 0,70 кл/мкл, $p>0,05$), а також наявність достовірної різниці відносно групи TA1 (96,6кл/мкл в групі TA1, IQR=15,36 проти 30,3 кл/мкл в групі TA2, U=225, IQR=4,77, $p<0,001$). Таким чином, рівні В-лімфоцитів в групах GA2 та TA2 на період 24 тижня спостереження залишалися стабільно зниженими, тоді як серед обох груп комбінованого лікування спостерігалась виражена позитивна динаміка, що вірогідно, було ознакою відновлення регуляторного компоненту клітинної ланки імунітету у відповідь на імуномодуючий вплив терапії.

Крім того, в ході терапії по стандартному протоколу AA у поєднанні із статинотерапією серед досліджуваних хворих спостерігалось кількісне та відсоткове збільшенням вмісту NK (CD56+клітин), яке набувало статистичної достовірності на завершальному етапі дослідження. Так, в групі GA1 первинна концентрація CD56+клітин становила 210,8 кл/мкл (9,2%), зростала на 27% до кінця 24 тижні спостереження (до 270,2 кл/мкл, 11,8%; W=20, CI: 55,69 кл/мкл - 4,26 кл/мкл, $p<0,05$), що перевищувало відповідний показник в групі GA2 на 22% (270,2 кл/мкл, IQR=31,79 в групі GA1 проти 221,5 кл/мкл в групі GA2, U=208, IQR=36,28, $p<0,001$). Водночас в групі GA2 кількість CD56+ клітин залишалась стабільно зниженою, що відображало відсутність системної імунної реакції у відповідь на лікування (217,1 кл/мкл, 9,7% на початку дослідження проти 221,5 кл/мкл, 9,9% в кінці дослідження, W=44, CI: -17.07 кл/мкл - 25.87 кл/мкл, $p>0,05$). У випадку хворих на ТА, показники NK клітин перед початком лікування становили 68,2 кл/мкл (3,1%) в групі 1 та в 73кл/мкл (3,3%) в групі 2 (U=73, $p>0,05$), та залишалися мало зміненими в обох групах, навіть при умові різних терапевтичних підходів (TA1 – 72,8 кл/мкл, W=40, CI: -10,06 кл/мкл – 2,12 кл/мкл, $p>0,05$ відносно значення на початку дослідження; TA2 – 70,3 кл/мкл, W=55, CI:-7,75 кл/мкл – 7,10 кл/мкл, $p>0,05$ відносно

значення на початку дослідження). При цьому, на завершальному етапі зберігалась раніше виявлена достовірна відмінність між вмістом CD56+клітин у пацієнтів групи ГА1 та ТА1 не зважаючи на спробу системного впливу в процесі лікування (відповідно 270,2 кл/мкл та 78,4 кл/мкл, $p < 0,001$).

Подібного роду результати були отримані при вивченні сумарної популяції CD3+ клітин. Застосування як стандартного протоколу лікування, так комплексного системного підходу не асоціювалось із достовірними змінами абсолютної кількості та відсоткового еквіваленту в загальній популяції Т-лімфоцитів. Серед пацієнтів групи ГА1 початкова кількість циркулюючих CD3+клітин залишалась зниженою та становила 1489,7 кл/мкл (64,4%) при первинному та 1512 кл/мкл (65,4%) при контрольному обстеженнях ($W=59$, CI: -16,72 кл/мкл – 22,65 кл/мкл, $p > 0,05$). В групі ГА2 концентрація Т-лімфоцитів також не зазнавала суттєвої динаміки упродовж дослідження (1496 кл/мкл на тиждень 0 проти 1506,7 кл/мкл на тиждень 24, $W=47$, CI: -99,9 кл/мкл – 91,02 кл/мкл, $p > 0,05$) та не відрізнялась від відповідного показника групи ГА ($W=39$, CI: -5,29 кл/мкл - 55,59 кл/мкл, $p > 0,05$). Такого ж роду дані було отримано у хворих на ТА. У пацієнтів ТА1 та ТА2 групи CD3+ клітин на етапі завершення лікування зберігались стійко зниженими (відповідно 1139 кл/мкл, 56,1%, IQR=26,49 та 1150 кл/мкл, 55,8%, IQR=26,24, $U=130$, $p > 0,05$) та не різнились в подальшому залежно від обраного методу лікування (ТА1 – 1147,2 кл/мкл, IQR=52,56 та ТА2 – 1169 кл/мкл, IQR=47,13, $U=114$, $p > 0,05$).

При цьому, вивчення окремих субпопуляцій CD3+клітин на тлі проведеного лікування продемонстрували появу суттєвих змін. Зокрема, сумісне застосування базисної терапії та препарату симвастатин/ezetиміб в досліджуваних групах ГА та ТА асоціювалось із кількісним зменшенням цитотоксичних CD3+8+лімфоцитів, які вважаються ключовими клітинами розвитку та прогресування АА. Так, на початку спостереження вміст CD3+8+лімфоцитів в групі ГА1 та ГА2 були суттєво підвищеними (699 кл/мкл, 36,9%, IQR=45 та 653,5 кл/мкл, 32,4%, IQR=38, $U=70$, $p > 0,05$). Проте, по

завершенню терапевтичного курсу в групі ГА1 фіксувалось їх достовірне зниження (на 27,2%, до 505,2 кл/мкл, $W=15,0$, $CI: -31,53$ кл/мкл – $112,26$ кл/мкл, $p<0,01$) та збереження попередніх рівнів в групі ГА2 (до 623,4 кл/мкл, $W=35$, $CI: -16,87$ кл/мкл – $32,38$ кл/мкл, $p>0,05$). Як і в групах ГА1 та ГА2, первинне медіанне значення CD3+8+ лімфоцитів в групах ТА1 та ТА2 було співставним (ТА1 – 1025 кл/мкл, $IQR=40,26$, 52,3%, проти ТА2 – 1012 кл/мкл, $IQR=53,21$, 56,1%, $U=111$, $p>0,05$). Повторне обстеження пацієнтів по завершенні курсу лікування продемонструвало падіння концентрації цитотоксичних Т-лімфоцитів в групі ТА1 до 78,6% від початкового рівня (від 1025 кл/мкл до 801,4 кл/мкл, $W=4$, $CI: 125,28$ кл/мкл – $263,48$ кл/мкл, $p<0,001$). Пацієнти групи ТА2 характеризувались сталістю цитотоксичного профілю, про що судили за збереженням рівню CD3+8+ лімфоцитів без значимих ознак динаміки (Група ТА2 від 1012 кл/мкл до 1037 кл/мкл, $W=43$, $CI: -41,36$ кл/мкл – $73,19$ кл/мкл, $p>0,05$). При цьому, за даними імунологічного дослідження хелперний потенціал дорівнював (ГА1 – 811 кл/мкл, $IQR=9,2$ проти ГА2 – 818 кл/мкл $IQR=10,6$, $U=95$, $p>0,05$; ТА1 – 752 кл/мкл, $IQR=16,3$ проти ТА2 – 748 кл/мкл $IQR=12,4$, $U=149$, $p>0,05$), та в досліджуваних групах практично не змінювався в процесі спостереження (ГА1: від 811 кл/мкл до 814,7 кл/мкл, $W=55$, $CI: -18,42$ кл/мкл – $19,76$ кл/мкл, $p>0,05$; ГА2 від 818 кл/мкл до 816,4 кл/мкл, $W=37$, $CI: -7,64$ кл/мкл – $9,40$ кл/мкл, $p>0,05$; ТА2 від 748 кл/мкл до 743,7 кл/мкл, $W=24$, $CI: -3,21$ кл/мкл – $26,98$ кл/мкл, $p>0,05$), за винятком незначного зростання вмісту CD3+4+клітин в групі ТА1, яке, втім, не досягало статистичної значимості (ТА1 від 752 кл/мкл до 763 кл/мкл, $W=48$, $CI: -5,3$ – $13,1$, $p>0,05$).

Зважаючи на наявність статистично значимого зниження рівнів цитотоксичних лімфоцитів на тлі комбінованого лікування, закономірним було очікувати динаміки зі сторони індексу імуногенності. Так, значення співвідношення кількості Т-хелперів до Т-цитотоксичних клітин серед хворих групи ГА1 достовірно зросло (від 1,11 на етапі тиждень 0 до 1,66, $IQR=0,106$ на тиждень 24, $W=6$, $CI: 0,382$ кл/мкл – $0,591$ кл/мкл, $p<0,001$), та перевищило

відповідні показники в усіх досліджуваних групах (ГA2 – 1,14, IQR=0,09, U=225, $p<0,05$; TA1 – 0,9, IQR=0,26, U=223, $p<0,05$; TA2 – 0,69, IQR=0,18, U=210, $p<0,05$). (Рис 6.1.1.)

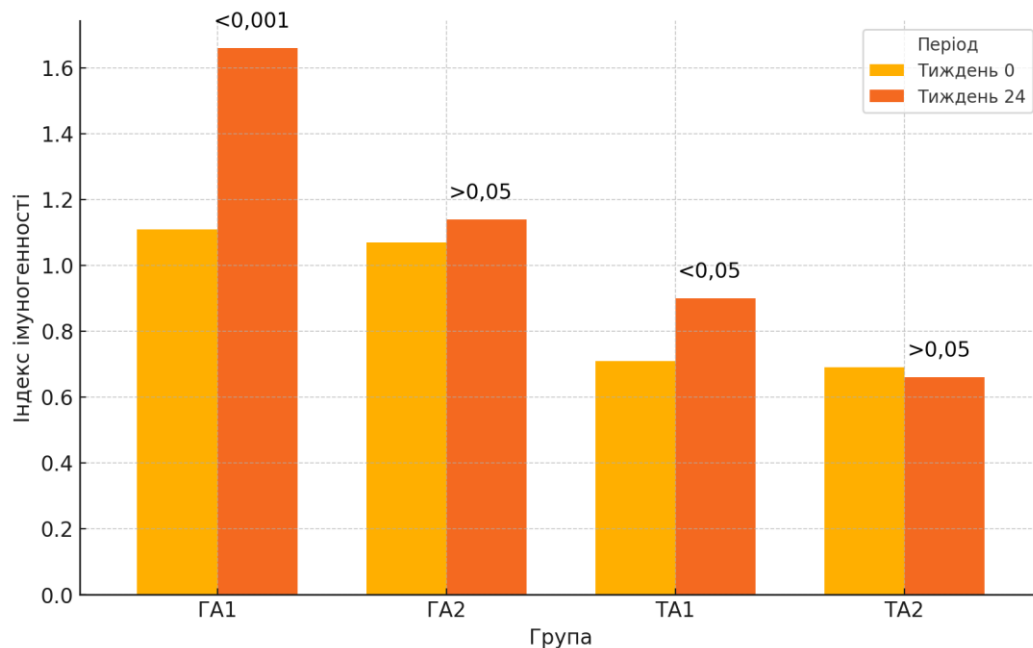


Рисунок 6.1.1. Динаміка показника індексу імуногенності в досліджуваних групах на тлі стандартної та комбінованої терапії АА.

В групі TA1 також було відмічено приріст індексу імуногенності (від 0,71 на тиждень 0 до 0,9 на тиждень 24, W=20, CI: -0,021 кл/мкл – 0,187 кл/мкл, $p<0,05$), який все ж залишався нижчим порівняно із ГA1, проте достовірно відрізнявся від такого в групі TA2 (TA1: 0,9, IQR=0,041 проти TA2: 0,71, IQR=0,218, U=171, $p<0,05$).

6.2. Зміни показників популяційного складу NK клітин та мононуклеарів периферичної крові по визначенню експресії активуючих CD314(NKG2D) та інгібуючих CD94(NKG2A) рецепторів у хворих із різними клінічними формами гніздової алопеції під впливом комплексної медикаментозної терапії

Згідно отриманих нами даних, реакція клітинної ланки імунітету досліджуваних хворих у відповідь на лікування по базовому протоколу із додаванням засобу симвастатин/ezetиміб обмежувалась, переважно,

кількісним зростанням В-клітин та зниженням концентрації цитотоксичних CD3+8+лімфоцитів. Зважаючи на відсутність значимої динаміки зі сторони інших клітинних популяцій, поглиблене вивчення імунних механізмів в умовах АА за рівнями експресії CD314(NKG2D) та CD94(NKG2A) рецепторів на всіх лімфоцитах, Т-лімфоцитах та на NK клітинах дозволило більш чітко зрозуміти активність їх прозапального та цитотоксичного функціоналу. На початковому етапі дослідження було встановлено, що хворі як на ГА так і на ТА характеризуються значним підвищенням експресії CD314+(NKG2D)рецептору серед усіх лімфоцитів. Результати вивчення відповідного показника в процесі дослідження показало, що проведене лікування серед пацієнтів групи ГА1 поєднувалось із зниженням кількості усіх лімфоцитів (на 21%), які експресували NKG2D рецептор - від 364,2 кл/мкл (40,7% від усіх лімфоцитів) на 0 тижні до 287,2 кл/мкл (32,2% від усіх лімфоцитів) на 24 тижень спостереження ($W=0$, CI: -95,37 кл/мкл – -76,20 кл/мкл, $p<0,01$). Водночас, відповідні показники в групі ТА1 характеризувались стійкою активною динамікою із більш ніж двократним (у 2,5 разів) зниженням CD314+клітин на 24 тижні терапії - від 789,3 кл/мкл (39,8% від усіх лімфоцитів) на 0 тижні до 311,4 кл/мкл (15,7% від усіх лімфоцитів) на 24 тижень спостереження ($W=0$, CI: -519,6 кл/мкл – -478,73 кл/мкл, $p<0,001$). При цьому була встановлені достовірні відмінності між рівнями CD3+314+клітин в групах стандартного та комплексного лікування. Так, кількість лімфоцитів, які експресували NKG2D рецептор в групі ГА2 перевищувала даний показник в групі ГА1 на 25% (357,9 кл/мкл, IQR=11,6 в групі ГА2 проти 287,2 кл/мкл, в групі ТА1, IQR=20,99, $U=276$, $p<0,01$), тоді як серед пацієнтів із тотальною формою хвороби відповідне перевищення було кратним (в 2,4 рази) (754,3 кл/мкл, IQR=26,49 в групі ТА2 проти 311,4 кл/мкл в групі ТА1, IQR=52,5, $U=3,3$, $p<0,001$)

Зниження кількості NKG2D-позитивних лімфоцитів на тлі проведеного лікування в групі ТА1 поєднувалось із відновленням стримуючих механізмів, про ще судили за зростанням клітин-носіїв інгібуючого NKG2A рецептора.

Так, перед стартом лікування у пацієнтів групи ТА1 та ТА2 медіанні рівні CD94+клітин були суттєво зниженими – відповідно 82,4 кл/мкл (4,15% від усіх лімфоцитів, IQR=4,96) та 86,3 кл/мкл (4,0% від усіх лімфоцитів, IQR=5,5) ($U=45$, $p>0,05$). При завершенні курсу кількість CD3+94+клітин в групі ТА1 зросла до 102,1 кл/мкл, 5,17% від усіх лімфоцитів (на 24%, $W=22$, $CI:17,2$ кл/мкл – $22,4$ кл/мкл, $p<0,001$) та статистично не змінилась в групі ТА2 (89,3 кл/мкл, 4,1% від усіх лімфоцитів, $W=34$, $CI:-0,32$ кл/мкл – $2,08$ кл/мкл, $p>0,05$). При цьому, в обох підгрупах ГА не було встановлено достовірного зростання клітин - носіїв CD94+, а також міжгрупових відмінностей показників, на жодному із етапів терапії, що, ймовірно, було свідченням комплексної природи захворювання без переважання аутоімунного компоненту (ГА1: від 88,7 кл/мкл на 0 тижні до 91,7 кл/мкл на 24 тиждень спостереження, $W=48$, $CI:-1,2$ кл/мкл – $3,65$ кл/мкл, $p>0,05$; ГА2: від 85,9 кл/мкл на 0 тижні до 87,7 кл/мкл на 24 тиждень спостереження, $W=27$, $CI:0,12$ кл/мкл – $2,06$ кл/мкл, $p>0,05$; ГА1, IQR=7,62 проти ГА2, IQR=7,0, $U=161$, $p>0,05$ на 24 тиждень).

Подібного роду динаміка спостерігалась при вивченні експресії NKG2D рецептора на циркулюючих Т-лімфоцитах, рівні яких достовірно знижувались до кінця терапевтичного курсу, в більшій мірі серед хворих на ТА. Так, в групі ГА1 значення CD3+314+клітин при первинному обстеженні становило 191,8 кл/мкл (21,5% від частки CD3+лімфоцитів) та помірно знижувалось (на 19%) до кінця періоду комплексного лікування (155,4 кл/мкл, 17,4% від CD3+ на тиждень 24, $W=59$, $CI:31,36$ кл/мкл – $41,44$ кл/мкл, $p<0,05$). Застосування лише стандартного протоколу лікування у хворих групи ГА2 не асоціювалось із значущою динамікою показників (від 185,8 кл/мкл на тиждень 0 до 182,5 кл/мкл, $W=58$, $CI:-5,1$ кл/мкл – $2,6$ кл/мкл, $p>0,05$), що призводило до появи статистичної відмінності між підгрупами на етапі 24 тижня ($U=47$, $p<0,01$). При первинно співставних рівнях NKG2D-позитивних Т-лімфоцитів в обох підгрупах ТА (ТА1 – 547,3 кл/мл, IQR=13,42 та ТА2 – 543,9 кл/мкл, IQR=20,1, $U=109$, $p>0,05$), серед пацієнтів групи базисної терапії значимого зниження

концентрації в процесі дослідження виявлено не було (від 543,9кл/мкл на тиждень 0 до 550 кл/мкл на 24 тиждень, $W=51$, $CI:-2,87$ кл/мкл – $7,17$ кл/мкл, $p>0,05$), тоді як додавання засобу езетиміб/симвастатин супроводжувалось суттєвим зменшенням концентрації CD3+314+клітин (від 547 кл/мкл, 27,7% від частки CD3+лімфоцитів до 389,1 кл/мкл, 19,7% від частки CD3+лімфоцитів, $W=8$, $CI:55,89$ – $181,9$ $p<0,05$; TA1 - $IQR=13,42$ проти TA2 - $IQR=20,1$, $U=225$, $p<0,01$). При цьому, серед досліджуваних хворих, які отримували комплексне лікування, визначалось відновлення регуляторного потенціалу імунної системи, про що свідчило зростання кількості CD94+ позитивних Т-лімфоцитів. До початку лікування кількість таких клітин була виражено зниженою в більшій мірі серед пацієнтів з ГА, та в меншій мірі серед хворих на ГА. При цьому, в середині двох груп, виділені підгрупи 1 та 2 були співставними за даним показником (ГА1 – 8,2 кл/мкл, $IQR=2,12$ проти ГА2 – 9,3кл/мкл, $IQR=3,15$, $U=119$; TA1 – 23,6 кл/мкл, $IQR=8,48$ проти TA2 – 25,3 кл/мкл, $IQR=12,6$ $U=139$, $p>0,05$). При лабораторному обстеженні пацієнтів наприкінці лікування нами було встановлено двократне збільшення цих показників до 18 кл/мкл ($W=8$, $CI: 6,67$ кл/мкл – $16,14$ кл/мкл, $p<0,01$) в групі ГА1 та до 41 кл/мкл ($W=4$, $CI: -2,97$ кл/мкл – $33,65$ кл/мкл, $p<0,001$) в групі TA1. Водночас, до кінця дослідження вміст CD3+94+клітин залишався зниженим та достовірно відрізнявся від такого в підгрупах комплексного лікування (ГА2 – 10,7кл/мкл, $IQR=4,24$ проти ГА1 – 18 кл/мкл, $IQR=6,3$, $U=49$, $p<0,01$; TA2 – 28,4 кл/мкл, $IQR=8,48$ проти TA1 – 41 кл/мкл, $IQR=12,6$, $U=61$, $p<0,05$)

Зважаючи на в цілому знижені первинні рівні натуральних кіллерних клітин в сироватці крові досліджуваних хворих, а також їх зростання за період комплексного лікування, особливе зацікавлення викликала збалансованість чинників аутоагресії та механізмів захисту. Так, на початку дослідження в групах ГА та ТА спостерігалось переважання прозапального потенціалу над протективними механізмами, про що судили за підвищеними рівнями CD56+314+клітин як в групі ГА (ГА1 – 19,4%, $IQR=5,37$ проти ГА2 – 18,7%,

IQR=8,34, U=96 $p>0,05$) так в групі ТА (ТА1 – 12,8%, IQR=5,37 проти ТА2 – 12,0%, IQR=6,7, U=94 $p>0,05$). В процесі спостереження за групами, які отримували стандартний протокол та лікування симвастатином/ezetимібом паралельно зростанню загальної кількості НК клітин було встановлено зменшення частки позитивних за активуючим рецептором NKG2D клітин. В групі ГА1 на 24 тиждень дослідження спостерігалось зниження CD56+314+ клітин на 17,2% (до 13,5%), що було достовірно меншим відповідного рівня в групі ГА2 (17,7%, IQR=5,88 в групі ГА2 проти 13,5% IQR=5,67 в групі ГА1, U=172, $p<0,05$). Подібного роду динаміка визначалась серед хворих на ТА1, частка експресуючих NKG2D рецептор CD56+ клітин зменшувалась на 38% від початково рівня в групі (від 12,8% на тиждень 0 до 7,9% на тиждень 24, W=6, CI: 3,97% – 8,62%, $p<0,01$) та становила 72% від значення показника в групі ТА2 (ТА1-7,95, IQR=2,12 проти ТА2-11,1%, IQR=3,15 U=61 $p<0,05$). Водночас, зниження кількості клітин-індукторів аутоагресії на тлі комбінованого лікування поєднувалось із збільшенням спроможності стримуючих механізмів. Сумарна концентрація CD56+ клітин позитивних за інгібуючим NKG2A рецептором в досліджуваних хворих групи ТА1 зростала упродовж лікування та перевищувала первинне значення на 34% на період завершення спостереження (від 3,1% - тиждень 0 до 4,02% - тиждень 24, CI:0,29%-1,0%, W=9 $p<0,01$). При цьому, достовірного зростання експресії CD94+ серед усіх CD56+клітин в групах ТА1 (від 2,9% на тиждень 0 до 3,3%, на тиждень 24, CI: -0,033% – 0,440% W=39 $p>0,05$), ГА2 (від 8,7% на тиждень 0 до 9, на тиждень 24, CI:-1,49% – 0,67% W=44 $p>0,05$) та ГА1 (від 9,1% на тиждень 0 до 9,55, на тиждень 24, CI:-3,20% – 3,29% W=48 $p>0,05$) встановлено не було, що у випадках двох останніх груп могло пов'язуватись із високими рівнем показника та збереженим репаративним потенціалом на початку дослідження. Ця думка підтверджується високим вмістом подвійно позитивних клітин (CD56+314+94+) в 1 та 2 підгрупах ГА (ГА1 – 48,1%, IQR=6,36 проти ГА2 – 47,3%, IQR=8,4, U=156, $p>0,05$) на початку дослідження, рівні яких також не зазнали суттєвої динаміки в процесі

лікування (на тиждень 24 рівні ГА1 – 48,0%, IQR=6,42 проти ГА2 – 48,7%, IQR=8,63 U=159, $p>0,05$). Тож, зниження сумарної кількості носіїв NKG2D рецептора серед усіх НК клітин в групі ГА1 ймовірно відбувалось за рахунок достовірного зменшення популяції CD56+314+94- клітин (від 49,2% - тиждень 0 до 38,6% - тиждень 24, CI: -8,71% – 32,90%, W=10, $p<0,01$). Стосовно пацієнтів з ТА, то на початку дослідження кількісний показник позитивних тільки за активуючим рецептором (CD56+314+94-) клітин в підгрупах 1 та 2 становив (63,8%, IQR=5,37 та 62,7%, IQR=6,7, U=104, $p>0,05$) що перевищувало відповідне значення в обох підгрупах ГА. На тлі комплексного підходу до лікування у пацієнтів групи ГА1 спостерігались ознаки зменшення системної активності імунної відповіді та кількості таких клітин (на 27% на тиждень 24 у порівнянні із початковим рівнем та до 46,8% в абсолютному значенні, CI: 10,32% – 24,75%, W=3, $p<0,001$). Паралельно у цих же пацієнтів зростала частка подвійно-позитивних клітин (CD56+314+94+), рівень яких був виражено зниженим до початку лікування: від 23,8% на період тижня 0 до 37,2% - на тиждень 24 CI: 7,65 – 25,32, W=9, $p<0,001$).

Найбільш чітко відновлення імунного балансу між процесами індукції та супресії за участю НК клітин на тлі застосованого лікування прослідковувалось при аналізі співвідношення усіх CD3-56+ клітин, які експресували NKG2D рецептор, до CD3-56+ клітин, позитивних за NKG2A. Так, в групі ГА1 даний коефіцієнт на момент початку дослідження не відрізнявся від такого в групі ГА2 (відповідно 2,2, IQR=0,20 та 2,16, IQR=0,27, U=104 $p>0,05$), проте, до завершення терапевтичного курсу досягав референтних значень зі зниженням показника на 18% відносно первинного рівня (до 1,8 – тиждень 24, CI: 0,137 – 0,536, W=7, $p<0,01$) та на 14% відносно значення в групі ГА2 (ГА1 – 1,8, IQR=0,32 проти ГА2 - 2,1, IQR=0,42, U=91,0, $p>0,05$). (Рис.6.2.1.)

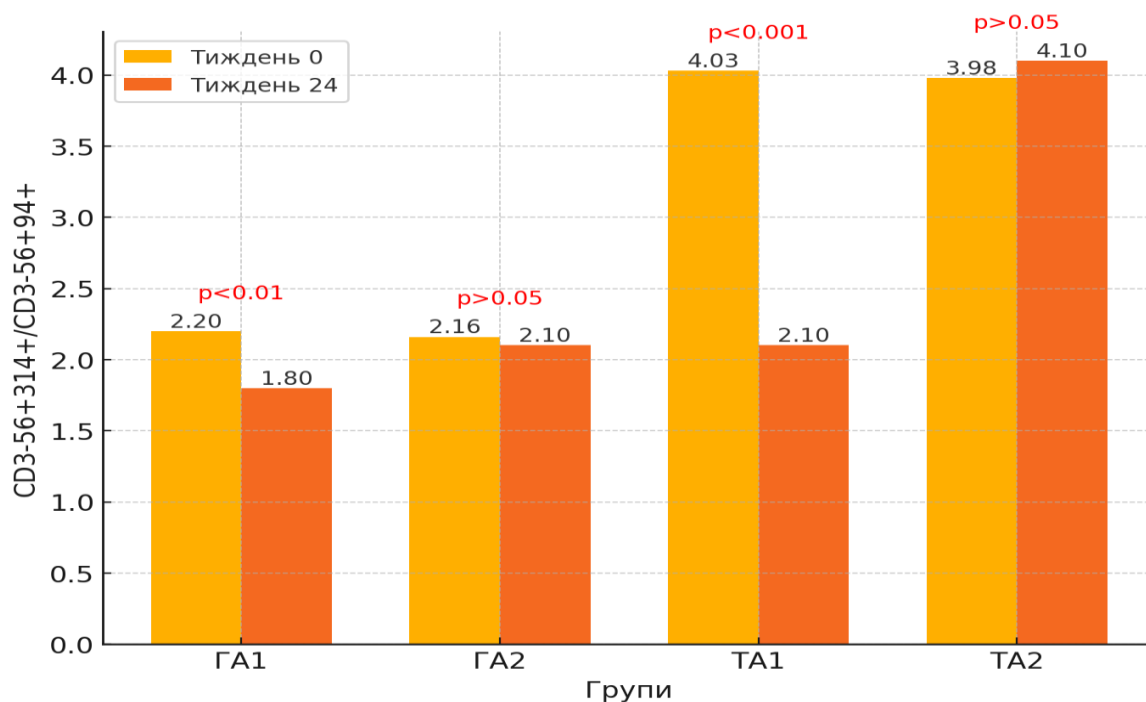


Рисунок. 6.2.1 Динаміка співвідношення усіх CD3-56+314+ клітин до CD3-56+94+ клітин в досліджуваних групах

Проведене лікування серед пацієнтів із ТА1, на відміну від групи ТА2 (від 3,98 на тиждень 0 до 4,1 на тиждень 24, СІ: -0,832 – 0,848, $W=50$, $p > 0,05$), асоціювалось із позитивною динамікою та двократним зменшенням співвідношення на кінець спостереження, що було наслідком раннього та стійкого зниження експресії NKG2D рецептора на натуральних кіллерах та збільшення частки позитивних за NKG2A+ клітин (від 4,03 на тиждень 0 до 2,1 на тиждень 24, СІ: -0,31 – 5,11, $W=6$, $p < 0,001$).

Висновки.

1. Результати дослідження клітинної ланки імунітету у хворих із АА на тлі проведеного комплексного лікування за стандартним протоколом із додаванням засобу симвастатин/ezetиміб продемонстрували відновлення рівня первинно зниженої кількості В-лімфоцитів, що, ймовірно було результатом збільшення регуляторного компоненту та репаративних можливостей системного імунітету. При цьому спостерігалось зниження цитотоксичного потенціалу, про що судили за абсолютним та відносним зменшенням CD3+8+ клітин, а також зростанням індексу імуногенності.

2. В процесі застосування комбінованої терапії АА нами було встановлено прогресивне зменшення кількості клітин (CD3+, CD56+), позитивних за активуючим NKG2D рецептором та зростання носіїв інгібуючого NKG2A рецептора. Отримані дані свідчать про сприятливу імунологічну динаміку на тлі застосованого лікування, зменшення прозапального та цитотоксичного функціоналу, підвищення спроможності регуляторних механізмів, як передумови покращення клінічного перебігу.

Основні результати цього розділу висвітлено в наступних публікаціях:

1. Халдєєва А. Зміни імунологічних показників при лікуванні гніздової алопеції препаратами групи статинів. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2025;1:56-66

РОЗДІЛ 7

ДОСЛІДЖЕННЯ СИСТЕМНИХ ІМУНОЛОГІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ПОКАЗНИКІВ ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ ІЗ РІЗНИМИ КЛІНІЧНИМИ ФОРМАМИ ГНІЗДОВОЇ АЛОПЕЦІЇ В ДИНАМІЦІ КОМПЛЕКСНОЇ МЕДИКАМЕНТОЗНОЇ ТЕРАПІЇ

7.1. Дослідження профілю основних регуляторних та прозапальних цитокінів у хворих із різними клінічними формами АА в динаміці комплексної медикаментозної терапії.

Результати аналізу популяційного складу клітинної ланки імунітету та експресії рецепторів із індукторним/регуляторним потенціалом у хворих на АА передбачало подальше вивчення безпосередніх механізмів імунної атаки та захисту ВФ на тлі проведеного лікування. Зокрема, виявлене нами абсолютне, або ж відносне зростання частки CD3+CD4+ клітин та CD3-CD19+ клітин у досліджуваних хворих в процесі комплексного лікування супроводжувалось посиленням адаптивного імунітету, що, вірогідно опосередковувалось зростанням кількості регуляторних клітин та зменшенням дисбалансу в Th1/Th2 осі. Оцінка цитокінового профілю в крові хворих на АА, які отримували топічну терапію у комплексі із засобом симвастатин/ezetиміб обох підгруп показала достовірне зростання концентрації протизапального IL-10. До початку лікування серед хворих з ГА та ТА відмічалось зниження даного показника (група ГА1 – $4,6 \pm 0,71$ пг/мл проти групи ГА2 – $4,71 \pm 0,72$ пг/мл, $p > 0,05$; група ТА1 – $1,74 \pm 0,26$ пг/мл проти групи ТА2 – $1,79 \pm 0,3$ пг/мл, $p > 0,05$). Подальше спостереження за підгрупами 1 (ГА1 та ТА1) продемонструвало приріст рівня цитокіну на 45% (до $6,67 \pm 0,74$ пг/мл, $p < 0,05$) у пацієнтів із локальною формою та на 15% (до $2,0 \pm 0,21$ пг/мл, $p > 0,05$) у пацієнтів із тотальною формою хвороби. При цьому середні значення концентрації IL-10 в групах ГА2 та ТА2 залишалися незмінними, а у випадку останньої навіть незначимо знижувались в процесі дослідження (ГА2: від $4,71 \pm 0,72$ пг/мл на тиждень 0 до $4,57 \pm 0,64$ пг/мл на тиждень 24, $p > 0,05$; ТА2:

від $1,79 \pm 0,3$ пг/мл на тиждень 0 до $1,63 \pm 0,21$ пг/мл на тиждень 24, $p > 0,05$). Оцінка кінцевих рівнів IL-10 між пацієнтами в залежності від застосованого лікування продемонструвала наявність більш високого рівня показника (на 46%) серед пацієнтів групи ГА1 проти ГА2 (відповідно $6,67 \pm 0,74$ пг/мл проти $4,57 \pm 0,64$ пг/мл, $p < 0,05$) тоді як відповідна динаміка у пацієнтів з ТА не досягнула статистичної значимості (ТА1 – $2,0 \pm 0,21$ пг/мл проти ТА 2 – $1,63 \pm 0,21$ пг/мл, $p > 0,05$) (Рис.7.1.1.)

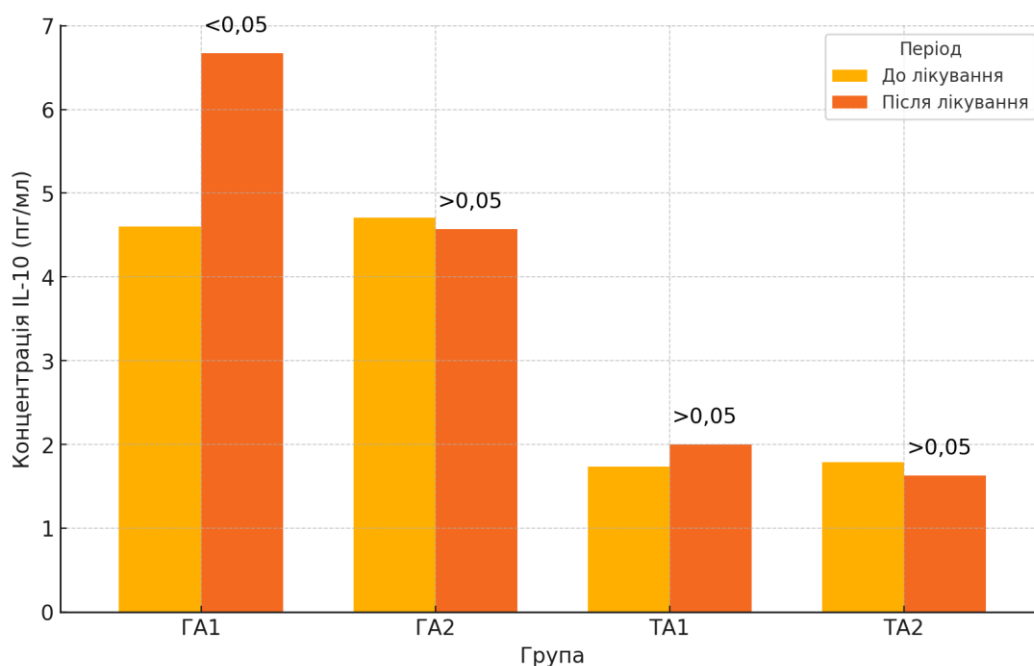


Рисунок.7.1.1. Динаміка рівня IL-10 до та після лікування в досліджуваних групах.

Паралельно відновленню рівнів IL-10 на тлі комбінованого лікування в крові досліджуваних пацієнтів, спостерігалось зростання концентрації TGF- β – одного із ключових регуляторів імунної толерантності, протизапальної відповіді та росту тканин. Проведений аналіз даних продемонстрував більш виражену реакцію імунної системи на лікування серед хворих на ГА. Так, при первинному обстеженні значення TGF- β у цих хворих було характерно зниженим (ГА1 – $4,02 \pm 0,56$ нг/мл проти ГА2 – $4,1 \pm 0,6$ нг/мл, $p > 0,05$), в подальшому поступально наростало на тлі комплексного лікування та перевищувало початковий рівень та значення в групі ГА2 на відповідно 42% та 35% на останньому візиті: (від $4,02 \pm 0,56$ нг/мл на тиждень 0 до

5,79±0,61нг/мл на тиждень 24, $p<0,05$; ГА1 – 5,7±0,64нг/мл проти ТА2 – 4,23±0,43нг/мл, $p<0,05$).

Серед хворих на ТА процес відновлення імунного балансу та механізмів гальмування реактивності мав більш повільний та ослаблений характер в умовах комплексного лікування (ТА1: рівень TGF на тиждень 0 – 1,91±0,09 нг/мл проти на тиждень 24 – 2,43±0,11 нг/мл, $p<0,05$), та навіть тенденцію до негативної динаміки на тлі стандартної терапії (ТА2: рівень TGF- β на тиждень 0 – 1,97±0,12нг/мл проти на тиждень 24 – 1,88±0,1нг/мл, $p>0,05$), що, вірогідно, було пов'язано із важкістю перебігу хвороби, активністю запального процесу та виснаженням функціонального резерву клітинної ланки (Рис.7.1.2).

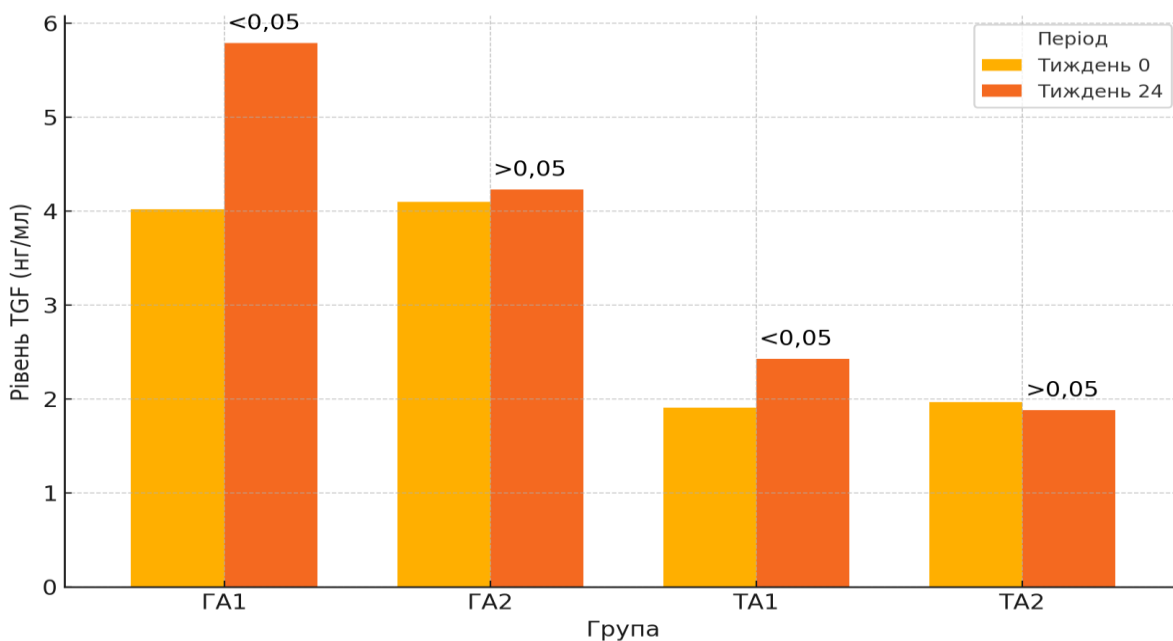


Рисунок.7.1.2. Динаміка рівня TGF- β до та після лікування в досліджуваних групах.

При цьому, одночасне застосування системного та локального підходу до лікування все ж мало свої переваги в цієї категорії хворих, про що судили за появою статистично значимого перевищення рівню TGF- β (в 1,3 рази) в групі ТА1 проти групи ТА2 (відповідно 2,43±0,11 нг/мл проти 1,88±0,1нг/мл, $p<0,05$)

Часткове відновлення регуляторних механізмів в процесі комплексного лікування посилювало процеси гальмування в імунній системі та поєднувалось із зниженням концентрації прозапальних цитокінів в периферичній крові. Особливо вагомим в даних умовах розглядалось зменшення концентрації IFN- γ , рівні якого, як відомо прямо корелюють із важкістю клінічних проявів та тривалістю АА. На етапі первинного обстеження рівні цього цитокіну були суттєво підвищеними, що спостерігалось як серед пацієнтів з ТА (ТА1 – $37,1 \pm 4,23$ пг/мл проти ТА2 – $40,02 \pm 4,48$ пг/мл, $p > 0,05$) так і у хворих на ГА (ГА1 – $16,64 \pm 1,23$ пг/мл проти ГА2 – $18,28 \pm 4,51$ пг/мл, $p > 0,05$). За результатами повторних визначень в групі ТА1 спостерігалась виражена позитивна динаміка, що реалізувалась у поступальному зниженні показника до 52% від початкового значення в кінці 24 тижня лікування (ТА1: IFN- γ на тиждень 0 від – $37,1 \pm 4,23$ пг/мл до $22,5 \pm 3,15$ пг/мл до на тиждень 24, $p < 0,01$) та відсутність такого ефекту при лікуванні по стандартному протоколу (ТА2: IFN- γ на тиждень 0 від – $40,02 \pm 4,48$ пг/мл до $38,5 \pm 4,15$ пг/мл до на тиждень 24, $p > 0,05$) (Рис.7.1.3).

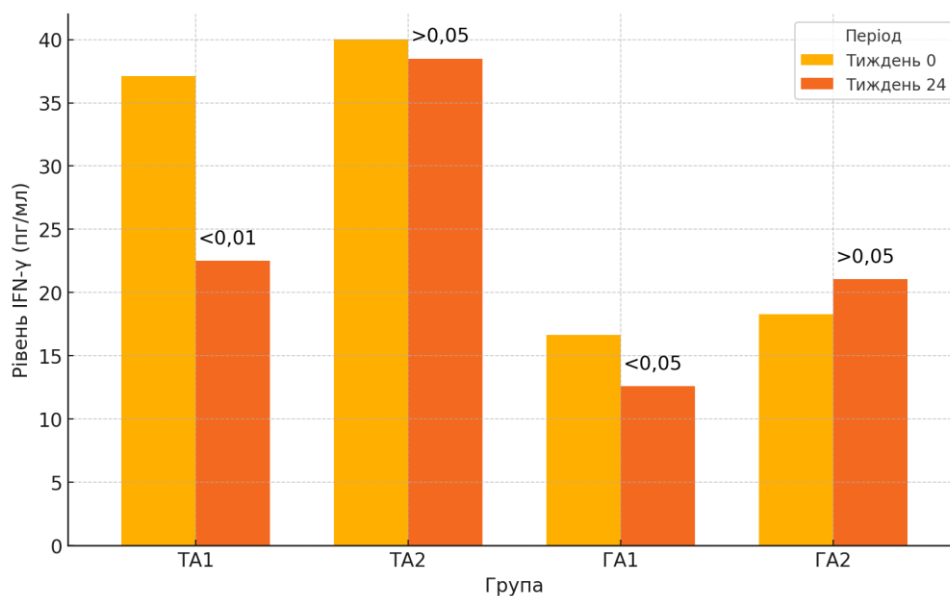


Рисунок 7.1.3. Динаміка рівнів IFN- γ в досліджуваних групах на тлі комбінованого лікування.

Пригнічення градації системного запального процесу підтверджувалось і в групі ГА1, де початковий рівень IFN- γ був нижчим порівняно із хворими на

ТА та характеризувався менш стрімкою динамікою в процесі спостереження (ГА1: IFN- γ на тиждень 0 – $16,64 \pm 1,23$ пг/мл на тиждень 24 – $12,6 \pm 1,09$ пг/мл, $p < 0,05$), що, тим не менше, призводило до появи достовірної різниці за рівнем цитокіну між групами ГА1 та ГА2 (IFN- γ на тиждень 24: ГА1 – $12,6 \pm 1,09$ пг/мл проти ГА2 – $21,06 \pm 3,12$ пг/мл, $p < 0,05$)

Зважаючи на відому взаємодію прозапальних цитокінів та здатність IFN- γ до індукції цитотоксичних CD8+лімфоцитів, в умовах його зниження закономірним було очікувати подібну динаміку зі сторони TNF- α . Це припущення підтверджувалось в процесі дослідження, де суттєве зниження запального медіатора IFN- γ поєднувалось із паралельною динамікою TNF- α . Так, у хворих груп ГА1 та ГА2 середній рівень TNF- α на початку дослідження становив відповідно $36,42 \pm 4,13$ пг/мл та $33,77 \pm 4,89$ пг/мл ($p > 0,05$). Контрольне вимірювання показало зниження рівня цитокіну (на 30%, до $25,0 \pm 3,45$ пг/мл, $p < 0,01$) в групі ГА1, збереження його концентрації в групі ГА2 ($35,36 \pm 4,10$ пг/мл, $p > 0,05$) та наявність достовірної різниці між групами на 24 тиждень спостереження (ГА1 – $25,0 \pm 3,45$ пг/мл проти ГА2 – $35,36 \pm 4,10$ пг/мл, $p < 0,05$) (Рис.7.1.4.). При цьому, первинно вищі значення TNF- α в групі ГА1 та характеризувались вираженим зниженням в динаміці дослідження (на 41% при завершенні дослідження): від $59,93 \pm 7,02$ пг/мл на тиждень 0 до $35,1 \pm 4,47$ пг/мл, $p < 0,01$ на тиждень 24. Рівень даного цитокіну на початок лікування в групі ГА2 не відрізнявся такого при його завершенні (від $58,22 \pm 6,37$ пг/мл на тиждень 0 до $49,93 \pm 5,27$ пг/мл на тиждень 24, $p > 0,05$), проте достовірно перевищував на 30% відповідне значення в групі ГА1 ($p < 0,05$).

Характеризуючи зміни показників гуморальної ланки імунітету за рівнями IL-10, TGF- β , TNF- α та IFN- γ нами було встановлено, що застосоване комплексне лікування у хворих на ГА та ТА асоціювалось із тенденцією до відновлення імунного балансу та пригнічення аутоагресії. При цьому в групі ГА спостерігалось більш виражене порівняно із ТА відновлення регуляторного потенціалу, як обмежуючого чинника гіперактивації Т-

хелперів ($CD4^+$), цитотоксичних Т-клітин ($CD8^+$) і NK-клітин, на тлі помірного пригнічення запальних механізмів.

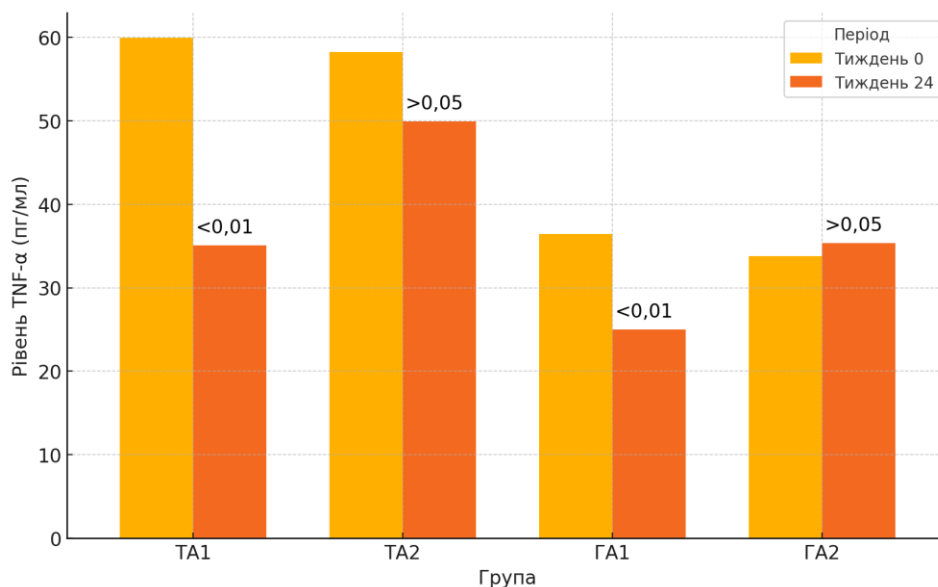


Рисунок. 7.1.4. Динаміка рівнів TNF-α в досліджуваних групах на тлі комбінованого лікування.

Серед пацієнтів із ТА на фоні курсу комбінованої терапії було відзначено значне зниження прозапальних TNF-α та IFN-γ та недостатній приріст IL-10, TGF-β що може бути пояснено надмірно високою активністю запального процесу та скомпрометованою імунною толерантністю в базових механізмах розвитку хвороби.

7.2. Дослідження *in vitro* функціональної активності мононуклеарних клітин у хворих із різними клінічними формами гніздової алопеції по продукції цитокінів до і після проведення комплексного лікування.

Враховуючи позитивну динаміку зі сторони фонового цитокінового профілю у хворих із АА паралельно тривалості курсу комбінованого лікування було проведено поглиблене вивчення механізмів даного явища. Оцінка функціональної активності мононуклеарних клітин за здатністю продукувати ними цитокіни у відповідь на стимуляцію дозволила більш чітко зрозуміти механізми терапевтичної дії на перебіг хвороби, підтвердити

імуномодулюючу дію лікування, відмежувати потенційний вплив на результати неімунних чинників та уникнути хибного трактування результатів.

Результати аналізу продукції ІЛ-10 на етапі контрольного обстеження по завершенні періоду спостереження продемонстрували збільшення кількості синтезу цитокіну в супернатантах пацієнтів із груп комплексного лікування. Так, двокомпонентна терапія у хворих групи ГА1 супроводжувалось зростанням спонтанного рівня ІЛ-10 на 31% (від $5,74 \pm 0,68$ пг/мл на тиждень 0 до $7,55 \pm 0,72$ пг/мл на тиждень 24, $p < 0,05$). У цій же групі продукція цитокіну мононуклеарами у відповідь на стимуляцію мітогеном досягала максимального значення (на 35%, від $7,71 \pm 0,92$ пг/мл на тиждень 0 до $10,4 \pm 0,97$ пг/мл на тиждень 24, $p < 0,05$; на 36% від відповідного показника групи ГА2, $p < 0,05$), яке було статистично співставним із значенням в групі здорових (контролю $14,1 \pm 2,86$ пг/мл на тиждень 0, $p > 0,05$), хоча й не досягало його в абсолютних числах. При цьому, пацієнти групи ТА1 характеризувались малим приростом ІЛ-10 як в спонтанному (на 19%, $p > 0,05$), так і індукованому режимах (на 23%, $p > 0,05$), про достовірність якого можна було судити лише на рівні тенденції (Таб.7.2.1.).

Таблиця 7.2.1.

Рівні продукції мононуклеарними клітинами ІЛ-10 серед хворих досліджуваних груп в динаміці спостереження.

Продукція цитокіну		Рівні ІЛ-10 in vitro (пг/мл)			
		ГА1	ГА2	ТА1	ТА2
Спонтанна	Тиждень 0	$5,74 \pm 0,68$	$5,91 \pm 0,81$	$2,1 \pm 0,54$	$1,95 \pm 0,49$
	Тиждень 24	$7,55 \pm 0,72^*$	$6,05 \pm 0,90$	$2,5 \pm 0,63$	$1,89 \pm 0,54$
Індукована	Тиждень 0	$7,71 \pm 0,92$	$7,83 \pm 1,04$	$2,11 \pm 0,81$	$2,43 \pm 0,78$
	Тиждень 24	$10,4 \pm 0,97^*$	$7,65 \pm 1,1^\circ$	$2,69 \pm 0,94$	$2,31 \pm 0,84$

Примітки: * - $p < 0,05$ для різниці тиждень 0 проти тиждень 24; ° - $p < 0,05$ для різниці між групою комплексного та стандартного лікування.

Низькі значення секреції цитокіну на початку дослідження та відсутність значної динаміки у процесі лікування в цих хворих розцінювалось

як ознака виснаження функції клітинного резерву в умовах перманентно-високої активності імунної системи.

Рівні IL-10 *in vitro* серед хворих які отримували тільки локальну терапію згідно першої лінії стандартного протоколу для АА залишались стабільно зниженими – без суттєвих відмінностей від первинного значення, що демонструвало недоліки такого підходу, з огляду на системність патогенетичних механізмів самого захворювання.

Приріст секреції протизапальних цитокінів *in vitro* серед груп комплексного лікування (ГА1 та ТА1) був синергічним, в більшій мірі при локалізованих формах хвороби. Паралельно збільшенню продукції IL-10 у пацієнтів групи ГА1 визначалось достовірне зростання спонтанної (на 41%, від $5,3 \pm 0,83$ нг/мл до $7,48 \pm 0,8$ нг/мл, $p < 0,05$) та індукованої продукції TGF (на 39%, від $7,3 \pm 0,9$ нг/мл до $10,16 \pm 1,1$ нг/мл, $p < 0,05$). При цьому, порівняльний аналіз між групами ГА1 та ГА2 також характеризувався достовірністю в сторону менших показників в останній (Таб.7.2.2).

Таблиця. 7.2.2

Рівні продукції моноклеарними клітинами TGF серед хворих досліджуваних груп в динаміці спостереження.

Продукція цитокіну		Рівні TGF- β <i>in vitro</i> (нг/мл)			
		ГА1	ГА2	ТА1	ТА2
Спонтанна	Тиждень 0	$5,3 \pm 0,83$	$5,7 \pm 0,91$	$2,2 \pm 0,18$	$2,61 \pm 0,27$
	Тиждень 24	$7,48 \pm 0,8^*$	$5,45 \pm 0,76^\circ$	$2,67 \pm 0,17^*$	$2,31 \pm 0,2$
Індукована	Тиждень 0	$7,3 \pm 0,9$	$7,2 \pm 1,14$	$2,43 \pm 0,25$	$2,67 \pm 0,27$
	Тиждень 24	$10,16 \pm 1,1^*$	$7,43 \pm 1,08^\circ$	$3,13 \pm 0,26^*$	$2,50 \pm 0,25^\circ$

Примітки: * - $p < 0,05$ для різниці тиждень 0 проти тиждень 24; ° - $p < 0,05$ для різниці між групою камплексного та стандартного лікування.

Паралельно, було встановлено зростання секреції цитокіну в групі ТА1, рівень якого в спонтанному та індукованому режимах перевищував первинне значення на 20% та 27% ($p < 0,05$). Співставлення середніх концентрацій TGF в супернатантах групи ТА1 та ТА2 підтвердило більші значення показника у

групі комплексного лікування, втім, чітка статистична відмінність спостерігалась лише у випадку синтезу цитокіну під впливом мітогену (спонтанна продукція ТА1 – $2,67 \pm 0,17$ нг/мл проти ТА2 – $2,31 \pm 0,2$ нг/мл, $p > 0,05$; індукована продукція ТА1 – $3,13 \pm 0,26$ нг/мл проти ТА2 – $2,50 \pm 0,25$ нг/мл, $p < 0,05$).

Поява відмінностей в кінці дослідження між первинно співставними рівнями $TGF-\beta$ в підгрупах 1 та 2 пояснювалась відсутністю приросту функціональної активності мононуклеарних клітин у хворих, що отримували тільки локальну терапію. Такого ж роду дані були отримані нами при вивченні продукції $IFN-\gamma$ – одного із ключових медіаторів у розвитку АА. На момент початку дослідження пацієнти груп ГА1 проти ГА1 та ТА1 проти ТА2 статистично не відрізнялись за значеннями $IFN-\gamma$. Згідно результатів повторного обстеження на 24 тижень лікування серед пацієнтів групи ГА було встановлене збільшення середнього рівня цитокіну на 33,3% $p < 0,05$, у пацієнтів групи ГА2 його показник практично не змінився (ГА2: тиждень 0 – $24,51 \pm 3,45$ пг/мл проти тиждень 24 – $25,75 \pm 4,56$ пг/мл, $p > 0,05$), при цьому, достовірність міжгрупової відмінності за оцінкою спонтанної продукції досягнена не була (ГА1 – $31,61 \pm 3,13$ пг/мл проти ГА2 – $25,75 \pm 4,56$ пг/мл, $p > 0,05$) (Таб.7.2.3.).

Таблиця 7.2.3.

Рівні продукції мононуклеарними клітинами $IFN-\gamma$ серед хворих досліджуваних груп в динаміці спостереження.

Продукція цитокіну		Рівні $IFN-\gamma$ <i>in vitro</i> (пг/мл)			
		ГА1	ГА2	ТА1	ТА2
Спонтанна	Тиждень 0	$22,7 \pm 3,05$	$24,51 \pm 3,45$	$39,2 \pm 3,27$	$42,6 \pm 4,56$
	Тиждень 24	$31,61 \pm 3,1^*$	$25,75 \pm 4,56$	$48,92 \pm 3,5^*$	$39,29 \pm 4,23$
Індукована	Тиждень 0	$29,86 \pm 4,33$	$31,4 \pm 4,64$	$42,5 \pm 3,71$	$44,3 \pm 4,24$
	Тиждень 24	$42,20 \pm 4,4^*$	$33,72 \pm 5,0^\circ$	$52,8 \pm 3,89^*$	$41,13 \pm 4,6^\circ$

Примітки: * - $p < 0,05$ для різниці тиждень 0 проти тиждень 24; ° - $p < 0,05$ для різниці між групою комплексного та стандартного лікування.

Паралельно цьому, реакція мнуклеарних клітин на стимуляцію була більш вираженою, що обумовило в групі ГА1 як зростання концентрації цитокіну в динаміці дослідження (на 37%, $p<0,05$), так і появу достовірної різниці відносно такої в групі ГА2 (25%, $p<0,05$).

Серед пацієнтів групи ТА1 також спостерігалось достовірне збільшення рівня цитокіну, яке перевищувало первинне значення при спонтанній секреції на 22% ($p<0,05$) та при стимуляції мітогеном на 23% ($p<0,05$). Водночас в групі ТА на тлі застосування базової терапії продукція цитокіну в обох досліджуваних режимах, хоча й незначимо, проте, спадала наприкінці дослідження (спонтанна продукція на 7,8%, індукована продукція на 7,2%, $p>0,05$).

Про часткове відновлення функції циркулюючих мнуклеарних клітин на тлі комплексного лікування можна було судити і за секрецією TNF- α (Таб.7.2.4)

Таблиця 7.2.4.

Рівні продукції мнуклеарними клітинами TNF- α серед хворих досліджуваних груп в динаміці спостереження.

Продукція цитокіну		Рівні TNF- α <i>in vitro</i> (пг/мл)			
		ГА1	ГА2	ТА1	ТА2
Спонтанна	Тиждень 0	47,34 $\pm$ 4,62	48,1 $\pm$ 3,94	60,83 $\pm$ 6,3	61,93 $\pm$ 7,4
	Тиждень 24	63,05 $\pm$ 5,67*	51,87 $\pm$ 5,03	74,05 $\pm$ 6,75	59,6 $\pm$ 7,02
Індукована	Тиждень 0	66,23 $\pm$ 6,45	65,3 $\pm$ 7,34	65,15 $\pm$ 6,58	66,2 $\pm$ 7,94
	Тиждень 24	90,87 $\pm$ 8,12**	69,31 $\pm$ 7,85°	83,07 $\pm$ 7,00*	62,71 $\pm$ 6,42°

Примітки: * - $p<0,05$ та ** - * - $p<0,01$ для різниці тиждень 0 проти тиждень 24; ° - $p<0,05$ для різниці між групою камплексного та стандартного лікування.

Так, первинно знижені показники спонтанної (ГА1 – 47,34 $\pm$ 4,62пг/мл проти ГА2 – 48,1 $\pm$ 3,94пг/мл, $p>0,05$) та індукованої продукції цього медіатора (ГА1 – 66,23 $\pm$ 6,45 пг/мл проти ГА2 – 65,3 $\pm$ 7,34 пг/мл, $p>0,05$) значимо зростали до кінця періоду спостереження у пацієнтів групи ГА1 (спонтанна

продукція на 33%, $p < 0,05$ та індукована продукція на 37,2%, $p < 0,01$), що різко контрастувало із відсутністю динаміки серед хворих групи ГА2.

Такого ж спрямування, але менша за вираженістю динаміка спостерігалась у хворих на ТА, які отримували стандартний протокол лікування у комплексі із статинотерапією. Приріст TNF- α спостерігався як у спонтанному режимі (на 21,7%, $p > 0,05$), так і у відповідь на мітоген (на 27,5%, $p < 0,01$), проте, лише у останньому випадку підтверджувався статистично. Збільшення секреції цитокіну серед пацієнтів групи ГА2 та ТА2 не спостерігалось, що дозволяло судити про збереження імунних порушень, та навіть їх поглиблення, при застосуванні лише локального лікування АА у цієї категорії хворих.

Таким чином, результати оцінки активності мононуклеарів по продукції ключових цитокінів демонстрували зростання функціональної спроможності клітинного резерву, як відносно синтезу протизапальних цитокінів, так і їх антагоністів. В таких умовах, можна було судити про відновлення регуляції запального процесу через збалансовану продукцію біологічно активних молекул спрямовану на підтримання гомеостазу. Спостережуваний ефект був більш виражений серед пацієнтів із локальною формою хвороби, тоді як при тотальному ураженні вираженість динаміки була меншою. В основі даного явища може бути менша залученість імунного компонента до розвитку ГА, при збереженій ролі аутоагресії як переважаючого патогенетичного чинника для ТА.

Висновки.

1. Додавання засобу симвастатин езетиміб до стандартного протоколу лікування АА супроводжувалось зростанням концентрації циркулюючих регуляторних/протизапальних цитокінів та зниженням концентрації досліджуваних медіаторів запалення. В максимальному об'ємі прояви даного явища спостерігались серед пацієнтів групи ГА1, були менш вираженими серед в групі ТА1 та не виявлялись у хворих на стандартному протоколі терапії.

2. Дослідження функціональної активності *in vitro* мононуклеарних клітин у досліджуваних хворих на тлі комплексного лікування показало приріст продукції як протизапальних цитокінів, так і їх антагоністів, як ознаки процесів відновлення імунного балансу. В цьому контексті, пацієнти із ТА характеризувались сповільненою динамікою та меншою амплітудою зростання показників, що відображало виснаженість резерву клітинного функціоналу в мовах тривалого активного перебігу хвороби.

Основні результати цього розділу висвітлено в наступних публікаціях:

1. Халдєєва А. Зміни імунологічних показників при лікуванні гніздової алопеції препаратами групи статинів. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2025;1:56-66

РОЗДІЛ 8

ДОСЛІДЖЕННЯ КЛІНІЧНОГО ПЕРЕБІГУ РІЗНИХ ФОРМ АУТОІМУННОЇ АЛОПЕЦІЇ В ДИНАМІЦІ СТАНДАРТНОГО ТА КОМПЛЕКСНОГО ЛІКУВАННЯ ТА ЇХ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ІЗ ПОКАЗНИКАМИ СИСТЕМНОГО ІМУНІТЕТУ

8.1. Дослідження динаміки клінічних проявів та трихоскопічних показників у хворих на ГА на тлі комплексної та стандартної медикаментозної терапії.

На завершальному етапі дослідження паралельно аналізу лабораторних показників було оцінено наявність та вираженість клінічних проявів АА в досліджуваних хворих. Так, на початку спостереження підгрупи ГА1 та ГА2 були співставними за площею ураження по шкалі SALT (відповідно $30,5 \pm 22,8\%$, $Me=32.0\%$, $IQR=32.0\%$ та $35,8 \pm 25,4\%$, $Me=40.5\%$, $IQR=37.5\%$; $p>0,05$). Застосування комплексного підходу до лікування у вигляді комбінації локальної терапії та засобу симвастатин/ezetиміб в групі ГА1 супроводжувалось достовірним регресом вогнищ алопеції, що призводило до зменшення їх середнього значення та медіани на 66% в групі (площа ураження в групі ГА1: $10,37 \pm 7,75\%$, $Me=10.88\%$, $IQR=10,14$ на тиждень 24, $p<0,001$ проти тиждень 0). В групі ГА2 лікування по стандартному протоколу також призводило до клінічного покращення проте ступінь його вираженості була меншою (на 41%, площа ураження в групі ГА2: $21,12 \pm 12,0\%$, $Me=23,9\%$, $IQR=22,13\%$ на тиждень 24, $p<0,01$ проти тиждень 0). (Рис.8.1.1)

При цьому було встановлено достовірність відмінності за розміром ділянки алопеції між групою ГА1 та ГА2, що вказує на зниження активності хвороби в групі комплексного лікування (ГА1 - $10,37 \pm 7,75\%$, $Me=10,88\%$, $IQR=10,14$ проти ГА2 – $21,12 \pm 12,0\%$, $Me=23,90\%$, $IQR=22,13\%$; $U=183$, $p<0,05$).

Проведений детальний аналіз дозволив виявити перехід ряду пацієнтів з ГА до категорії більш легкого перебігу хвороби за шкалою SBN, що було ознакою успішності проведеного лікування



Рисунок 8.1.1. Типова клінічна картина регресу вогнища ГА.

Таблиця 8.1.1.

Розподіл хворих у групах ГА1 та ГА2 за площею ураження згідно шкали SBN в динаміці дослідження.

Ступінь ураження за шкалою SBN	ГА1 (n=15), тиждень 0	ГА1 (n=15), тиждень 24	ГА2 (n=15) тиждень 0	ГА2 (n=15), тиждень 24
S1B0N0	6 (40%)	9 (60%)	6 (40%)	5 (33,3%)
S2B0N0	3 (20%)	4 (26,7%)	3 (20%)	4 (26,7%)
S3B0N0	4 (26,7%)	2 (13,3%)	3 (20%)	5 (33,3%)
S4B0N0	2 (13,3%)	0 (0%)	3 (20%)	1 (6,7%)

Зокрема в групі ГА1 спостерігалася тенденція до зменшення важкості хвороби (Таб.8.1.1.), включаючи 5 (33,3%) випадків повного клінічного регресу ознак хвороби. При цьому 4 пацієнти (26,6%) не демонстрували позитивної відповіді на лікування, зі збереженням сталого розміру ділянки втрати волосся, та навіть її поширення у одного із хворих. Інші 6 пацієнтів (40%) групи ГА1 демонстрували відростання волосся, що паралельно супроводжувалось появою нових ділянок облісіння. Серед пацієнтів групи ГА2 в цілому теж спостерігалось покращення, проте, повна клінічна інволюція фіксувалась лише в одного хворого. Резистентність до терапії визначали у 6 хворих (40%), серед яких встановлено 2 випадки (13,3%) прогресування хвороби.

Дерматоскопічна картина досліджуваних пацієнтів групи ГА залежала від типу відповіді пацієнта на лікування. У хворих із повним відновленням волоссяного покриву нами визначалось кардинальне зменшення кількості жовтих крапок, чорних крапок, які заміщувались ростом гострокінцевого волосся. У випадках регресу наявних вогнищ та утворенням нових, трихоскопічна ознаки нормалізації поєднувались із розвитком патологічної картини в нових ділянках скальпу. У випадках резистентності до терапії кількість пустих фолікулів зберігалась на попередньому рівні без значимої динаміки в процесі спостереження (Рис.8.1.2).

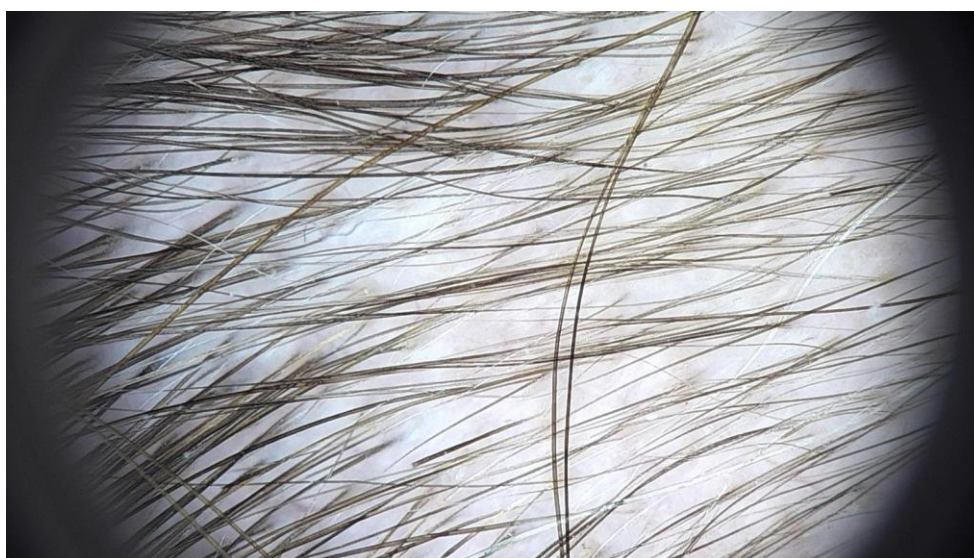


Рисунок 8.1.2. Типова дерматоскопічна картина відновлення волосся при ГА.

8.2. Дослідження динаміки клінічних проявів та трихоскопічних показників у хворих на ТА на тлі комплексної та стандартної медикаментозної терапії.

Оцінка площі ураження за шкалою SALT первинно та в динаміці була недоцільною серед пацієнтів із ТА, що обумовлювалось поширеністю алопеції на всю область скальпу. В такому випадку нами аналізувалось наявність відростання волосся в чотирьох стандартизованих ділянках: лобній, тім'яній, потиличній та обох скроневих. Так серед пацієнтів групи ТА1 у 5 осіб (33,3%) на тлі комплексного лікування було виявлено повне відростання волоссяного покриву (33,3%). Серед іншого, у 2 пацієнтів відзначався ріст у трьох областях,

ще у 4 хворих – у двох зонах та у 2 випадках лише в одній зоні скальпу. Двоє пацієнтів не демонстрували ознак відповіді на лікування зі збереженням стабільної клінічної картини (Таб.8.2.1).

Таблиця 8.2.1.

Порівняльна характеристика пацієнтів із ТА за кількістю зон відростання волосся в умовах комплексної та стандартної терапії

Кількість зон відростання волосся	ТА1 (n=15)	ТА2 (n=15)
Усі зони	n=5 (33,3%)	n=3 (20%)
3 зони	n=2 (13,3%)	n=1 (6,7%)
2 зони	n=4 (26,7%)	n=3 (20%)
1 зона	n=2 (13,3%)	n=2 (13,3%)
Відростання не було	n=2 (13,3%)	n=6 (40%)

В групі ТА2 спостерігалось трикратно більша кількість хворих, які не відповідали на лікування та не демонстрували жодного клінічного покращення. В цій же групі у меншій кількості пацієнтів вдалося досягнути повного регресу симптоматики, що вказує на недостатню ефективність локальних засобів лікування та важливість системного підходу до такої категорії хворих. Статистичне порівняння за даними показниками хоча і не досягало межі достовірності, що пов'язано із розміром вибірки, все ж вказувало на зсув розподілу хворих групи ТА1 до розширення площі росту нового волосся.

При подальшому аналізі нами було виявлено зміни співвідношення в структурі хворих за шкалою SBN. Було встановлено, що в групі ТА1 відновлення волоссяного покриву скальпу не спостерігалось у пацієнтів із найважчим перебігом АА, у яких на початку дослідження спостерігалось ураження інших ділянок тіла, зокрема нігтів (Таб.8.2.2.). При цьому застосування комплексного лікування поєднувалось із відновленням росту в зоні брів, чого не спостерігалось при топічній терапії. Повного відновлення

нігтьових пластин не спостерігалось у жодному із 7 випадків незалежно від типу терапевтичного підходу.

Таблиця 8.2.2.

Розподіл хворих у групах ГА1 та ГА2 за площею ураження згідно шкали SBN в динаміці дослідження.

Ступінь ураження за шкалою SBN	ТА1 (n=15), тиждень 0	ТА1 (n=15), тиждень 24	ТА2 (n=15) тиждень 0	ТА2 (n=15), тиждень 24
S1B0N0	-	5 (33,3%)	-	3 (20%)
S2B0N0	-	2 (13,3%)	-	1 (6,7%)
S3B0N0	-	4 (26,7%)	-	3 (33,3%)
S4B0N0	-	1 (6,7%)	-	2 (13,3%)
S4B0N1	-	1 (6,7%)	-	-
S5B0N0	11 (73,3%)	-	11 (73,3%)	2 (13,3%)
S5B0N1	2 (26,7%)	2 (20%)	3 (26,7%)	3 (20%)
S5B1N0	1 (6,7%)	-	-	-
S5B1N1	1 (6,7%)	-	1 (6,7%)	1 (6,7%)

Результати трихоскопічної діагностики обох підгруп хворих на ТА продемонстрували виражене достовірне зменшення кількості жовтих та чорних крапок, які заміщувались активно ростучим новим волоссям (Таб.8.2.3.). При цьому, відсоткове зменшення кількості жовтих крапок було більшим при застосуванні комплексного лікування (на 40,1%, від $61,6 \pm 7,45$ крапок/см² на тиждень 0 до $36,9 \pm 4,24$ крапок/см² на тиждень 24, $p < 0,001$), хоча й було суттєвим при локальній терапії (на 22%, від $59,7 \pm 7,06$ крапок/см² на тиждень 0 до $46,6 \pm 5,11$ крапок/см² на тиждень 24, $p < 0,001$) (Рис 8.2.1). Варто відзначити, що на завершальному етапі дослідження пацієнти групи ТА1 та ТА2 достовірно відрізнялися за даним показником, що важливим свідченням наявності переваг системного підходу до лікування.



Рисунок 8.2.1. Типова дерматоскопічна картина відновлення волосся при ТА.

Таблиця 8.2.3.

Порівняльна характеристика досліджуваних груп із різними підходами до терапії за типовими трихоскопічними ознаками ТА.

Трихоскопічна ознака (кількість в 4 стандартних точках/1 см ²)	ТА1 (n=15), M±SD		ТА2 (n=15), M±SD	
	Тиждень 0	Тиждень 24	Тиждень 0	Тиждень 24
Жовті крапки	61,6±7,45	36,9±4,24***	59,7±7,06	46,6±5,11***°
Чорні крапки	26,5±2,8	14,42±1,8***	24,9±3,21	19,9±2,9***°
Велусне волосся	5,7±3,11	3,77±4,03**	5,53±2,9	4,93±3,84

Примітки: різниця достовірна ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ – при порівнянні первинного та кінцевого значення показника, ° - $p < 0,001$ – при порівнянні значення показника між групами.

Подібного характеру зміни спостерігались при кількісній оцінці чорних крапок, що відображали деструкцію волосся на рівні фолікула. І в цьому випадку в обох групах спостерігалось їх зменшення в динаміці спостереження. Тим не менше, порівняння середніх значень в групах ТА1 та ТА2 в кінці дослідження продемонструвало достовірно більш низьку їх кількість в групі ТА1 (ТА1 - $14,42 \pm 1,8$ крапок/см² проти ТА2 - $19,9 \pm 2,9$ крапок/см², $p < 0,001$). В додаток, серед пацієнтів групи ТА1 на тлі активізації росту повноцінного

волосся відзначалось достовірне зменшення кількості велусного компоненту (від $5,7 \pm 3,11$ велус/см² на тиждень 0 до $3,77 \pm 4,03$ велус/см² на тиждень 24; $p < 0,01$), чого в групі ТА2 встановлено не було (від $5,53 \pm 2,9$ велус/см² на тиждень 0 до $4,93 \pm 3,84$ велус/см² на тиждень 24; $p < 0,01$).

8.3. Аналіз кореляційних зв'язків між імунологічними показниками та клінічним перебігом АА.

З метою визначення зв'язку між вираженістю клінічних проявів АА та показниками системного імунітету нами було проведено кореляційний аналіз Спірмена. Для оцінки важкості захворювання було обрано показник стадії за шкалою SBN, що дозволило залучити до обрахунків дані обох досліджуваних груп та розширити статистичну значимість результатів.

Нами було проаналізовано основні клітинні популяції, які за отриманими результатами зазнавали змін у досліджуваних хворих. Втім, не всі вони асоціювались із клінічними даними та ступенем проявів алопеції. Так, отримані показники засвідчили наявність сильної позитивної взаємозалежності між рівнями циркулюючих цитотоксичних Т-лімфоцитів ($\rho = 0,68$; $p < 0,01$), що підтверджує їх роль, як ключових клітин розвитку та прогресування АА. При цьому, сила зв'язку між CD3+CD4+клітинами була меншою та із нижчим рівнем достовірності ($\rho = -0,40$; $p < 0,05$), що могло бути ознакою двоякої задіяності цих клітин в патологічний процес, зокрема, до активації запальної відповіді, або ж до порушення регуляторних процесів в разі їх зниження. Не зважаючи на відомі дані, щодо залучення CD3+56+клітин в патогенетичні механізми АА, достовірного кореляційного зв'язку між їх концентрацією в сироватці крові досліджуваних пацієнтів та ступенем важкості хвороби встановлено не було ($\rho = -0,35$; $p > 0,05$). В контексті аналізу клітинної відповіді серед досліджуваних хворих звертає на себе увагу наявність достовірної взаємозалежності між стадією захворювання та загальною концентрацією Т-клітин, позитивних за прозапальним рецептором NKG2D. Нами було встановлено наявність прямого сильного кореляційного зв'язку між усіма CD3+314+клітинами та стадією хвороби за шкалою SBN

($\rho=0,78$; $p<0,001$), що підкреслює значимість клітин-носіїв рецептора в індукції аутоагресії та її реалізації в відповідний симптомокомплекс. В протилежність цьому, було виявлено обернену залежність помірної сили між поширеністю ураження та рівнем CD3+94+клітин, відомого як інгібуючий рецептор NKG2A ($\rho=0,42$; $p<0,05$), що демонструвало пригнічення захисних механізмів імунітету по мірі прогресування клінічних проявів (Рис 8.3.)

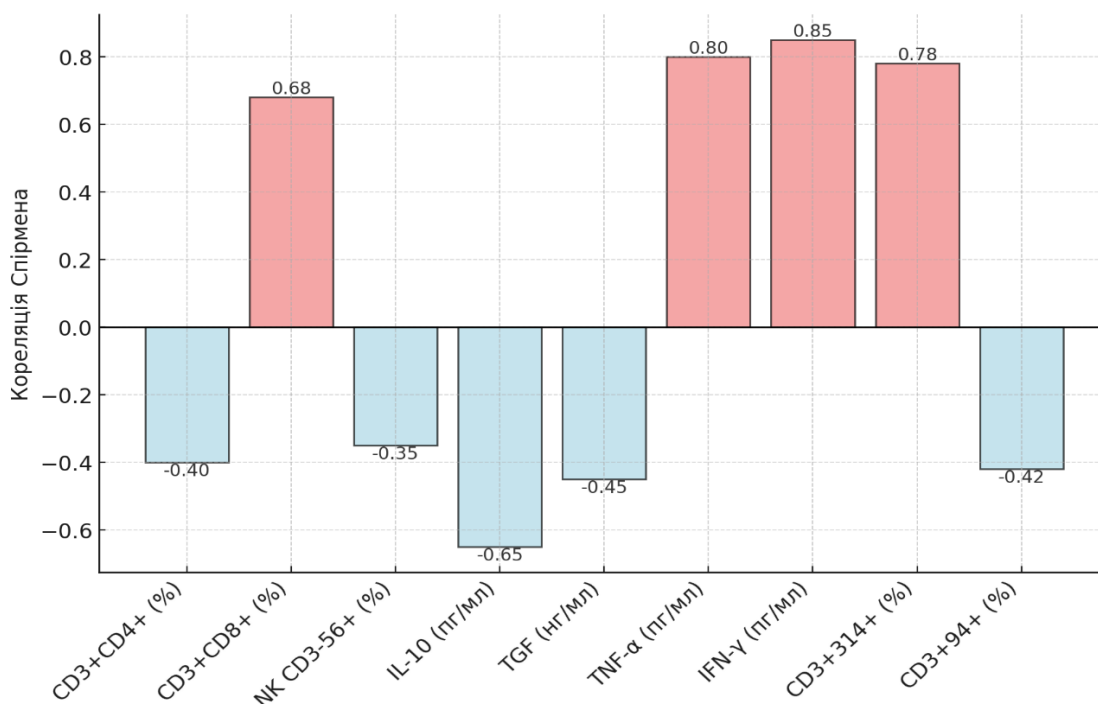


Рисунок 8.3. Кореляційні зв'язки між показниками системної імунної відповіді та вираженістю клінічних проявів за шкалою SBN.

Важливою ознакою, з точки зору ролі стримуючих механізмів в розвитку АА, була наявність оберненої асоціації між рівнями протизапальних цитокінів та важкістю проявів алопеції. Так, коефіцієнт кореляції між вмістом TGF- β із стадією хвороби мав помірну силу та становив -0,45 ($p<0,05$). Коефіцієнт кореляції для IL-10 був вищим та характеризувався більшою достовірністю ($\rho= - 0,65$; $p<0,001$), що вказує на його значимість для протидії реалізації імунних порушень в фактичний клінічний симптом. При цьому, найсильніша асоціація між стадією АА за шкалою SBN спостерігалась відносно рівнів медіаторів запалення. Зокрема, коефіцієнт кореляції між вмістом TNF- α та

важкістю хвороби становив 0,8 ($p < 0,001$), а у випадку IFN- γ досягав 0,85 ($p < 0,001$), що підкреслює провідну роль даних цитокінів в розвитку запального процесу та пошкодженні волосяних фолікулів.

Таким чином, результати кореляційного аналізу підтверджували наявність стійкої асоціації між виявленими порушеннями системного імунітету та наявними клінічними проявами хвороби. Отримані дані дозволяють припустити, що пригнічення інтенсивності системного запалення та модуляція репаративних процесів на тлі застосування комплексної терапії лежали в основі кращої клінічної відповіді та більшого регресу проявів алопеції.

Висновки:

1. Застосування стандартного та комплексного підходу до лікування АА в досліджуваних групах супроводжувалось ознаками регресу клінічних проявів за шкалою SALT. При цьому, додавання засобу симвастатин/ezetиміб до базової терапії в групі ГА 1 асоціювалось із достовірно меншою середньою по групі залишковою площею ураження (на 51%, $p < 0,05$). Водночас, в групі ГА1 спостерігалось 33,3% випадків повного клінічного регресу ознак хвороби, тоді як в групі ГА 2 їх кількість була меншої (6,7%). В умовах комплексного лікування в групі ГА1 було встановлено низький відсоток невідповідачів (26,6%), при цьому, в групі ГА2 резистентність до терапії визначали у 6 хворих (40%).

2. Серед пацієнтів групи ТА1 у 5 осіб (33,3%) на тлі комплексного лікування було виявлено повне відростання волосяного покриву та лише 2 випадки (13,3%) абсолютної неефективності лікування. В групі ТА відповідь на терапії не визначалась у 6 хворих (40%) та 3 випадки відновлення росту в усіх зонах (20%). Трихоскопічне обстеження пацієнтів групи ТА1 на 24 тиждень спостереження продемонструвало значне зниження кількості

нефункціонуючих фолікулів у вигляді жовтих та чорних точок, тоді як їх кількість зберігалась достовірно більшою в групі ГА2.

3. Було встановлено наявність сильного прямого кореляційного зв'язку між вираженістю симптомокомплексу алопеції та концентрацією CD3+314+клітин ($\rho=0,78$; $p<0,001$), TNF- α ($\rho=0,8$; $p<0,001$) та IFN- γ ($\rho=0,85$; $p<0,001$). Обернена залежність помірної сили була виявлена між стадією АА за шкалою SBN та вмістом CD3+94+ клітин ($\rho=0,42$; $p<0,05$), TGF- β ($-0,45$; $p<0,05$) та IL-10 ($\rho= - 0,65$; $p<0,001$). Отримані результати визначали наявність взаємозалежності між активацією аутоімунних механізмів, пригніченням регуляторного потенціалу та клінічним перебігом АА в досліджуваних хворих. В таких умовах розвиток системного імуномодуючого ефекту комплексного лікування створювало передумови для зростання кількості випадків клінічної відповіді та більш вираженого регресу проявів алопеції.

Основні результати цього розділу висвітлено в наступних публікаціях:

1. Халдєєва А. Зміни імунологічних показників при лікуванні гніздової алопеції препаратами групи статинів. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2025;1:56-66

РОЗДІЛ 9.

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ.

Проблема АА в контексті сучасного розуміння не обмежується суто естетичним значенням. З однієї сторони, привертає увагу її тісний взаємозв'язок із цілим рядом аутоімунної патології, що може свідчити про наявність глибоких системних порушень із невизначеними наслідками для здоров'я цієї категорії хворих. З іншої сторони, тривала боротьба із рецидивним перебігом хвороби накладає значний відбиток на психоемоційний стан пацієнта, призводить до пригніченості та депресивних розладів. Із середини минулого сторіччя науковцями та клініцистами проводиться вивчення розладів імунної відповіді в умовах АА та детермінуючих чинників, як то генетичні передумови, вплив навколишнього середовища, вірусні хвороби, стресові та токсичні ураження [148]. На думку вчених повне розуміння природи захворювання дозволить віднайти оптимальну терапевтичну тактику, яка б дозволила досягати стійкої ремісії із мінімальними побічними ефектами [40]. Нині, за даними різних авторів найвираженішого клінічного ефекту в лікуванні АА вдається досягти при застосуванні саме імуномодуючих засобів. При цьому, враховуючи наявність системних змін імунітету, япередумови розвитку хвороби, локальні засоби не дозволяють забезпечити достатню відповідь на лікування.

Тож, метою нашого дослідження було вивчити динаміку імунологічних показників клітинного складу системного імунітету у хворих з АА, для пошуку імунологічних маркерів перебігу захворювання та вдосконалення методів терапії.

В період 2020-2024рр. під нашим спостереженням знаходилось 60 хворих на АА, які, в залежності від площі ураження та важкості перебігу хвороби, були розподілені на 2 групи. До групи ГА (n=30) увійшли хворі які

мали від одного до 6 ділянок ураження волосистої частини голови, група ТА (n=30) складалась із пацієнтів із повною втратою волосяного покриву скальпу та можливим залученням в патологічний процес інших придатків шкіри. Для визначення наявності порушень системного імунного статусу у хворих на АА на початку дослідження показники порівнювались із відповідними даними групи умовно здорових осіб (n=30).

Проведений порівняльний аналіз складу клітинної ланки імунітету серед здорових добровольців, хворих із ГА та ТА дозволив встановити ряд суттєвих відмінностей та особливостей імунних реакцій, залежних від клінічної форми захворювання. У контрольній групі кількість В-лімфоцитів (CD3-CD19+) становила 15,4% (245 кл/мкл), тоді як у пацієнтів із ГА цей показник був достовірно зниженим до 6,4% (76 кл/мкл, $p < 0,05$), а при ТА – до критично низького рівня 1,4% (28 кл/мкл, $p < 0,01$). На нашу думку, такі показники свідчили про порушення гомеостазу в гуморальній ланці імунітету та ймовірне виснаження компенсаторних механізмів. Подібного роду дані було отримано J. Lee та співавторами, в роботі яких популяційний дефіцит В-лімфоцитів у хворих на АА поєднувався із більш широкою недостатністю регуляторної ланки клітинного імунітету [5]. Ще в одному дослідженні було доведено наявність протективних властивостей CD19+ та їх здатність до синтезу IL-10 при аутоімунних ураженнях шкіри [149]. В фізіологічних умовах контрольованість процесів запалення та попередження надмірного пошкодження тканин реалізується в зростанні кількості Breg у відповідь на активацію імунітету [150]. Тоді як порушення збалансованості регуляторних механізмів в умовах АА у вигляді зниження/виснаження CD19+ виступає важливим тригером запуску та підтримки аутоагресії, а також слугує прогностичним маркером перебігу хвороби [151].

Подальший аналіз популяційного складу клітинної ланки імунітету в досліджуваних хворих демонстрував зниження кількості натуральних кілерів

(NK-клітин, CD3-CD56+) в умовах ГА та ТА відносно контролю: при ГА – до 9,3% (212,8 кл/мкл), при ТА – до 3,1% (69,0 кл/мкл), значення в контрольній групі (15,4%, 397,2 кл/мкл, $p < 0,05$). Пояснення даного явища криється в активній міграції NK-клітин із циркуляції у зони локальної аутоімунної агресії, яка була більш інтенсивною при ТА [60]. При цьому, літературні джерела свідчать, що зниження циркулюючих CD56+ в крові хворих на АА супроводжується перерозподілом співвідношення їх типів (зростання ARs NKG2D та зменшення NKIRKIR-2DL2/2DL3), що призводить до гіперреактивності пулу NK-клітин у відповідь на стимуляцію [152].

Аналіз концентрації Т-лімфоцитів (CD3+) також показав прогресивне зниження залежно від тяжкості захворювання: у контрольній групі цей показник становив 71,4% (2832 кл/мкл), при ГА – 64,8% (1495 кл/мкл), а при ТА – 57,3% (1146 кл/мкл, $p < 0,05$). Причиною цього може бути хронічна активація та виснаження Т-клітин у відповідь на тривале аутоімунне запалення. Подальше дослідження субпопуляцій Т-лімфоцитів виявило суттєві зміни балансу Т-хелперів (CD3+CD4+) та цитотоксичних Т-клітин (CD3+CD8+). Відомо, що завдяки активності регуляторних та супресорних клітин Т-лімфоцити можуть пригнічувати, або сприяти розвитку аутоімунних захворювань [85]. У нашому дослідженні концентрація Т-хелперів була достовірно нижчою у хворих на алопецію: при ГА – 41,1% (815 кл/мкл), при ТА – 38,3% (749 кл/мкл). Натомість кількість цитотоксичних клітин зростає: при ГА до 36,6% (694 кл/мкл), а при ТА – до 52,3% (1020 кл/мкл). Втім, думки фахівців та наукові дані щодо характеру кількісних змін Т-хелперів та Т-супресорів в умовах АА суттєво різняться. Так, у дослідженні А. К. Younes автори засвідчують кількісне зниження обох субпопуляцій – як CD4+ так CD8+ лімфоцитів [153]. В іншій роботі, на відміну від отриманих нами результатів, було встановлено значне зменшення кількості CD8+ у хворих на АА, тоді як рівень CD4+ порушеним не був [154]. Не залежно від периферичної концентрації обох клітинних субпопуляцій, дані

імуногістохімічного вивчення шкіри скальпу з вогнищами АА демонстрували скупчення активованих як CD3+CD4+ так і CD3+CD8+ в перифолікулярній зоні [155], що в деякій мірі нівелює значимість їх рівнів в циркулюючій крові. Як і в роботі W.S.Lee, виявлені нами кількісні зміни клітинних субпопуляцій спричинили значне зниження індексу імуногенності, особливо виражене при ТА (0,74), що свідчить про домінування цитотоксичної аутоагресивної відповіді над регуляторними механізмами [156].

Детальне дослідження рецепторного поля NK-клітин дозволило встановити, що експресія активуючого рецептора NKG2D (CD314+) істотно переважала при обох формах алопеції (ГА та ТА), перевищуючи контрольні значення у кілька разів. Існують дані, що поряд зі скупченням CD4+ та CD8+ навколо анагенового ВФ у вогнищах АА визначають накопичення NK-клітин з високою експресією активуючого рецептора NKG2D, тоді як у нормальній шкірі голови їх немає [157]. При цьому, у проксимальній зовнішній оболонці, дермальному сосочку та сполучнотканинній капсулі ВФ у вогнищах АА визначається значна експресія ліганду (MICA) до NKG2D. Результатом цього є підвищення вразливості ВФ до атаки позитивних за NKG2D NK-клітин, передчасного завершення анагену та прогресування АА [158]. До того ж, у досліджуваних хворих спостерігався дисбаланс між активуючими та інгібуючими сигналами, спрямованими на автоімунну агресію, про що свідчила знижена експресія інгібуючого рецептора NKG2A (CD94+), особливо у випадках ТА. Визначене співвідношення NKG2D/NKG2A було максимально високим саме у групі ТА, що остаточно підтверджує переважання цитотоксичних та активуючих механізмів NK-клітин у патогенезі важких форм аутоімунної алопеції. Таким чином, отримані результати дозволяють стверджувати, що аутоімунна алопеція супроводжується вираженими порушеннями клітинної ланки імунітету, які посилюються зі збільшенням клінічної тяжкості. Виявлені зміни можуть стати теоретичною основою для подальшого розроблення специфічних імунотерапевтичних підходів,

спрямованих на відновлення імунологічного балансу у хворих з різними формами захворювання.

Проведений поглиблений аналіз фонового рівня цитокінів периферійної крові (IL-10, TGF- β , TNF- α , IFN- γ) у хворих із різними клінічними формами гніздової алопеції дозволив виявити суттєві порушення цитокінового профілю, що відображають ступінь залучення імунної системи в аутоімунний процес та його тяжкість. У здорових осіб концентрація TGF- β становила $8,87 \pm 1,52$ нг/мл, що свідчить про адекватну регуляцію імунної відповіді. Водночас у пацієнтів із ГА рівень TGF- β був знижений до $4,03 \pm 0,53$ нг/мл, а у хворих з ТА показник зменшувався ще сильніше – до $1,94 \pm 0,09$ нг/мл ($p < 0,001$). Вважається, що TGF- β є імуносупресуючим цитокіном, та разом із іншими чинниками приймає участь у підтримці імунного привілею ВФ [159]. Зниження його рівня у досліджуваних хворих було ознакою регуляторної дисфункції, що поглиблювалась зі зростанням тяжкості захворювання. Протизапальний цитокін IL-10 також продемонстрував аналогічну тенденцію. Середній рівень IL-10 у здорових осіб становив $6,7 \pm 0,82$ пг/мл, був знижений до $4,66 \pm 0,64$ пг/мл у пацієнтів з ГА (недостовірно, $p > 0,05$), і значно до $1,78 \pm 0,22$ пг/мл у групі ТА (27% від контролю, $p < 0,001$). Зменшення концентрації імуномодулюючих TGF та IL-10, вірогідно, було наслідком падіння вмісту Breg. Відомо, що різні підтипи CD19⁺ (наприклад CD19⁺CD21^{hi}, CD23^{hi}CD24^{hi}) є активними продуцентами IL-10, достатній рівень якого стимулює Tregs, гальмує запальний процес, знижує продукцію IFN- γ , послаблює активність цитотоксичних CD8⁺ та NK-клітин [160, 161, 162]. Таким чином, важкість алопеції корелює зі ступенем порушення механізмів протизапального контролю, що підвищує ризик незворотного ураження ВФ.

Паралельно із пригніченням протизапальних механізмів у хворих із алопецією спостерігалось значне підвищення прозапальних цитокінів.

Середній рівень TNF- α у пацієнтів з ГА ($35,21 \pm 4,80$ пг/мл) був у 2,8 рази вищий за контрольну групу ($12,68 \pm 3,72$ пг/мл), а при ТА – ще вищим, сягаючи $59,42 \pm 8,36$ пг/мл (в 4,7 рази більше контрольного, $p < 0,001$). IFN- γ також суттєво підвищувався: з контрольних $8,37 \pm 0,94$ пг/мл до $17,04 \pm 1,10$ пг/мл при ГА і до критично високих $38,19 \pm 4,23$ пг/мл при ТА ($p < 0,001$). Це засвідчує інтенсивну активацію Th1-опосередкованого та цитотоксичного компонентів імунної відповіді, які реалізуються за типом «хибного кола», взаємно підсилюючи один одного. Отримані нами дані, перекликаються із недавнім метааналізом, де було підтверджено надважливу роль TNF- α та IFN- γ в розвитку та прогресуванні АА [163]. При цьому, останній вважається ключовим цитокином у патогенезі хвороби, оскільки, ймовірно, саме він сприяє руйнуванню імунного привілею анагенних ВФ [164]. До того ж, IFN- γ здатен стимулювати експресію NKG2D на нормальних CD19+, що пояснює високий рівень запального рецептора на НК-клітинах пацієнтів з АА [158].

Додаткове дослідження *in vitro* функціональної активності мононуклеарних клітин показало важливі відмінності в продукції цитокінів при стимуляції мітогеном. Так, у здорових осіб та хворих на ГА спостерігалось значне зростання індукованих рівнів IL-10 (58% та 34%, відповідно, $p < 0,05$). У хворих на ТА динаміка IL-10 була мінімальною (10%, $p > 0,05$), що відображає виражене порушення регуляторних механізмів. Аналогічні результати отримані щодо TGF- β : у здорових приріст становив 54,6%, у пацієнтів з ГА – 28,6% ($p < 0,05$), тоді як у групі ТА приріст був незначним (6,7%, $p > 0,05$), що свідчить про виснаження компенсаторних протизапальних резервів. Оцінка продукції прозапальних цитокінів TNF- α та IFN- γ у відповідь на стимуляцію також продемонструвала виражену динаміку у здорових (на 90,2% та 53,2%, відповідно, $p < 0,001$) та помірну у хворих з ГА (TNF- α – на 34,3%, IFN- γ – на 30%, $p < 0,05$). У пацієнтів з ТА відповідь була практично відсутня (TNF- α – 7,5%, IFN- γ – 9%, $p > 0,05$), що є ознакою значного імунного виснаження внаслідок тривалого перебігу захворювання. Отримані результати

підтверджують важливість порушень цитокінового балансу як ключового механізму прогресування аутоімунного процесу при алопеції. Виявлені зміни дозволяють припустити важливість подальших досліджень у напрямку диференційованого підходу до лікування аутоімунної алопеції, спрямованого на корекцію як прозапальних, так і регуляторних цитокінових механізмів.

Проведений аналіз складу клітинної ланки імунітету серед здорових добровольців, хворих із ГА та ТА дозволив встановити суттєві особливості імунних реакцій, які мають чітку кореляцію зі ступенем тяжкості захворювання. Для подальшої оцінки клінічної ефективності терапії в досліджуваних групах ГА та ТА було виділено підгрупи 1 та 2, де хворим з ГА2 та ТА2 призначався стандартний терапевтичний протокол, а в групах ГА1 та ТА1 базове лікування доповнювалось прийомом комбінованого засобу Симвастатин 20мг/Езетиміб 10мг. На тлі комплексної медикаментозної терапії у пацієнтів з ГА було зафіксовано суттєве зростання кількості В-лімфоцитів на 35%, тоді як у хворих з ТА цей показник збільшився більш ніж утричі (від 28,4 кл/мкл до 96,6 кл/мкл, $p < 0,01$), що свідчить про відновлення клітинного компонента імунітету та репаративних можливостей імунної системи. Крім того, було зафіксовано достовірне зниження рівня цитотоксичних Т-клітин (CD3+CD8+) на тлі комплексної терапії в групі ГА1 (з 699 кл/мкл до 505,2 кл/мкл, $p < 0,01$) та особливо виражено – у групі ТА1 (з 1025 кл/мкл до 801,4 кл/мкл, $p < 0,001$). Подібні результати спостерігались в іншому дослідженні, де вивчалась імуномодуюча ефективність препарату розувастатин/езетиміб. Так, під впливом лікування визначалось суттєве зниження кількості цитотоксичних CD8+ та певних фенотипів CD4+, які виступали медіаторами в запальному процесі [165]. Враховуючи отримані нами дані можна судити про наявність групової специфічності статинів за здатністю до модуляції клітинного імунітету, що реалізується в зниженні цитотоксичного потенціалу та покращенні перебігу аутоімунного процесу. У пацієнтів, які отримували локальне лікування, таких змін не відзначалося.

Динаміка NK-клітин (CD56+) була неоднорідною. Пацієнти з ГА1, які отримували комбіновану терапію, мали достовірне збільшення NK-клітин на 27% (до 270,2 кл/мкл, $p < 0,05$), тоді як у пацієнтів з ТА (ТА1 та ТА2) рівні NK-клітин залишалися стабільно низькими без значущих змін, що може вказувати на більш стійке порушення гомеостазу NK-клітин при тяжких формах захворювання. При поглибленому дослідженні експресії активуючих та інгібуючих рецепторів NK-клітин було виявлено суттєве зниження клітин, які експресують прозапальний рецептор NKG2D на фоні терапії симвастатин/ezetиміб у групі ТА1 (зменшення у 2,5 рази), що асоціювалося із зростанням концентрації клітин з інгібуючим рецептором NKG2A. Це свідчить про суттєве відновлення балансу між цитотоксичними та регуляторними механізмами, що особливо важливо для прогнозу та терапії тяжких форм АА. До того ж, літературні дані свідчать про здатність препаратів групи статинів знижувати патологічну взаємодію між лігандом MICA та рецептором NKG2D, що в комплексі із встановленим нами зменшенням експресії самого рецептора згідно є обнадійливою передумовою для лікування АА [166].

Отримані результати дозволяють припустити, що включення симвастатину/ezetимібу до стандартного лікування хворих на алопецію позитивно впливає на стан клітинного імунітету, сприяючи відновленню його регуляторного потенціалу та є передумовою збалансування гуморальних механізмів реагування. До початку лікування у пацієнтів обох груп (ГА і ТА) було виявлено достовірно знижені рівні ключових протизапальних цитокінів IL-10 та TGF у порівнянні з показниками у здорових осіб, що вказувало на порушення регуляторних механізмів імунної відповіді. В процесі комплексної терапії, яка включала препарат симвастатин/ezetиміб, відзначалась виражена позитивна динаміка концентрації IL-10, особливо у групі пацієнтів із локальною формою алопеції (ГА1), де рівень цитокіну зростав на 45% (від $4,6 \pm 0,71$ пг/мл до $6,67 \pm 0,74$ пг/мл, $p < 0,05$). У пацієнтів із тотальною формою

(ТА1) зміни були менш виражені і не досягали статистичної значимості (на 15%, $p > 0,05$). Водночас у групах стандартної терапії (ГА2 та ТА2) рівень ІЛ-10 залишався стабільно низьким без достовірних змін. Аналогічно, рівень іншого важливого протизапального цитокіну TGF демонстрував зростання у відповідь на комбіновану терапію, особливо серед пацієнтів групи ГА1 (на 42%, від $4,02 \pm 0,56$ нг/мл до $5,79 \pm 0,61$ нг/мл, $p < 0,05$). У групі ТА1 також визначався позитивний ефект, хоча з меншою вираженістю (приріст на 27%, від $1,91 \pm 0,09$ нг/мл до $2,43 \pm 0,11$ нг/мл, $p < 0,05$). Пацієнти, які отримували стандартне лікування, не показали значимих змін рівня цього цитокіну. Отримані нами дані є близькими до результатів метааналізу, згідно яких прийом хворими статинів супроводжувався дозозалежним зростанням кількості регуляторних клітин, збільшенням вмісту імуномодулюючих ІЛ-10 та TGF, а також зниженням прозапальних IFN- γ та TNF- α [167]. Це може бути пояснено тим, що препарати цієї групи шляхом модуляції сигнального шляху JAK/STAT здатні зсувати баланс між Th2 і Th1 у популяціях Т-хелперних клітин, спричиняючи підвищену секрецію Th2-асоційованих цитокінів (ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-10) та знижену секрецію Th1-асоційованих цитокінів (ІЛ-2, ІЛ-12, IFN- γ , TNF- α) [167]. Так і в нашому дослідженні, зростання концентрацій протизапальних цитокінів на фоні лікування поєднувалося зі зниженням прозапальних медіаторів запалення IFN- γ та TNF- α , що підтверджувало пригнічення запального процесу. Зокрема, серед пацієнтів групи ТА1 рівень IFN- γ знизився майже вдвічі (від $37,1 \pm 4,23$ пг/мл до $22,5 \pm 3,15$ пг/мл, $p < 0,01$), а рівень TNF- α зменшився на 41% (від $59,93 \pm 7,02$ пг/мл до $35,1 \pm 4,47$ пг/мл, $p < 0,01$). У групі ГА1 відмічалось також достовірне зниження рівнів IFN- γ (на 24%, $p < 0,05$) та TNF- α (на 30%, $p < 0,05$). У пацієнтів, які отримували лише стандартну терапію, подібні зміни не спостерігалися.

Оцінка функціональної активності моноклеарних клітин *in vitro* підтвердила сприятливий ефект застосованого лікування на регуляторні механізми імунної відповіді. Зокрема, у групах ГА1 та ТА1 зафіксовано

зростання продукції IL-10 і TGF- β після стимуляції мітогеном, що свідчило про покращення функціонального потенціалу клітинної ланки імунітету. Водночас у групах ГА2 і ТА2 відзначалась відсутність значимої динаміки цих показників. Також, за результатами аналізу індукованої продукції прозапальних цитокінів IFN- γ та TNF- α , було зафіксовано помірне зростання їх концентрації після стимуляції у пацієнтів із комбінованим лікуванням, що свідчило про часткове відновлення функціональної активності клітинного імунітету та його резервних можливостей. Таким чином, проведене комплексне медикаментозне лікування з використанням препарату симвастатин/ezetиміб сприяло відновленню балансу між протизапальними та прозапальними цитокінами у хворих із різними клінічними формами гніздової алопеції, зменшуючи прояви аутоімунної агресії та покращуючи загальний імунологічний профіль.

На завершальному етапі дослідження паралельно аналізу лабораторних показників було оцінено клінічний перебіг аутоімунної алопеції (АА) у досліджуваних пацієнтів. До початку лікування підгрупи ГА1 та ГА2 були співставними за площею ураження згідно шкали SALT (ГА1 – $30,5 \pm 22,8\%$; ГА2 – $35,8 \pm 25,4\%$, $p > 0,05$). Застосування комплексного підходу до лікування з використанням симвастатину/ezetимібу у групі ГА1 сприяло достовірному зменшенню площі ураження (на 66% , $p < 0,001$), що суттєво перевищувало ефективність стандартного лікування у групі ГА2 (на 41% , $p < 0,01$). Встановлено статистично значущу перевагу комплексного лікування щодо кінцевих показників площі ураження (ГА1 – $10,37 \pm 7,75\%$ проти ГА2 – $21,12 \pm 12,0\%$; $p < 0,05$). У групі ГА1 повний клінічний регрес було відзначено у $33,3\%$ пацієнтів, тоді як у групі ГА2 – лише у $6,7\%$. Часткова відповідь, що супроводжувалась одночасною появою нових вогнищ алопеції, спостерігалась у 40% пацієнтів групи ГА1. При цьому резистентність до терапії визначалась у $26,6\%$ пацієнтів групи ГА1 та 40% – у ГА2. На сучасному етапі існує небагато завершених клінічних досліджень, які б оцінювали ефективність

статинотерапії для корекції проявів АА. В деяких із них автори підтверджують ефективність та безпечність даного способу лікування. Зокрема, вивчення показників 29 хворих із АА показали, що у 14 із 19 пацієнтів, які завершили 6-ти місячний курс лікування, визначались ознаки відростання волосся вже через 16 тижнів після лікування [21]. Ще в одній роботі було підтверджено ефективність такого підходу при лікуванні хворих ТА [137, 138]. Проте, в деяких випробуваннях не було встановлено суттєвого клінічного покращення та виявлено наявність побічних ефектів. Так, у відкритому дослідженні за участю 12 пацієнтів на тлі моно- та комбінованого лікування із додаванням статинів, значимого регресу АА не спостерігалось. При цьому, автори декларують до 24% випадків розвитку небажаних явищ у вигляді міалгії [22].

Тим не менше, у нашому дослідженні дерматоскопічний огляд підтверджував виражені позитивні зміни серед пацієнтів у вигляді повного та часткового регресу проявів. У пацієнтів із ТА оцінка проводилася за наявністю росту волосся у визначених зонах скальпу. В групі ТА1 повне відростання волоссяного покриву відмічалось у 33,3% випадків, тоді як у групі ТА2 – у 20%. Водночас у групі ТА1 відсутність відповіді на лікування спостерігалася лише у 13,3% хворих, тоді як у групі ТА2 – у 40% випадків. Трихоскопічна оцінка виявила суттєве зниження кількості жовтих та чорних крапок у пацієнтів групи ТА1 порівняно з групою ТА2 ($p < 0,001$). Кореляційний аналіз Спірмена підтвердив значну роль системних імунних порушень у розвитку та клінічному перебігу АА. Встановлено сильний прямий зв'язок між ступенем тяжкості хвороби та концентрацією цитотоксичних CD3+8+ лімфоцитів ($\rho = 0,68$; $p < 0,01$), а також клітин з експресією прозапального рецептора NKG2D ($\rho = 0,78$; $p < 0,001$). З іншого боку, помірна обернена залежність спостерігалась із рівнями регуляторних CD3+94+ клітин ($\rho = -0,42$; $p < 0,05$), TGF ($\rho = -0,45$; $p < 0,05$) та більш виражена – з IL-10 ($\rho = -0,65$; $p < 0,001$). Найвища позитивна кореляція була встановлена між тяжкістю захворювання та рівнями прозапальних цитокінів TNF- α ($\rho = 0,8$; $p < 0,001$) та IFN- γ ($\rho = 0,85$; $p < 0,001$).

Обговорення отриманих результатів дозволяє припустити, що ефективність комплексного підходу до лікування АА з використанням симвастатину/ezetимібу пов'язана з його здатністю впливати на системний імунітет, знижуючи запальні процеси та посилюючи регуляторні механізми. Важливим аспектом є значне зменшення проявів аутоімунної агресії, що може бути пов'язано з нормалізацією експресії прозапальних та інгібуючих рецепторів на імунокомпетентних клітинах. Зокрема, помітне зниження цитотоксичної активності Т-клітин і зростання рівнів регуляторних цитокінів IL-10 та TGF- β забезпечували виражений протизапальний ефект, що корелює із покращенням клінічного перебігу захворювання. Отримані дані свідчать про перспективність використання даного комплексного підходу в клінічній практиці. Таким чином, проведене дослідження засвідчило переваги комплексного лікування, що полягали у покращенні клінічного перебігу АА та нормалізації показників системного імунітету, демонструючи чітку взаємозалежність між імунологічними порушеннями та клінічними проявами захворювання.

ВИСНОВКИ

Аналіз сучасних літературних даних дозволив встановити, що аутоіммунна гніздова алопеція (АА) є мультифакторним захворюванням, у патогенезі якого ключова роль належить порушенням клітинної та гуморальної ланок імунної системи, зокрема активації цитокінового каскаду та дисбалансу NK-клітин.

1. Виявлено характерні зміни системного імунітету у пацієнтів з різними клінічними варіантами АА, зокрема, рівні прозапальних цитокінів TNF- α та IFN- γ при важких формах хвороби перевищували показники у контролі відповідно в 4,7 та 4,5 разів ($p < 0,001$). При цьому, визначалось зниження регуляторних IL-10 (на 73%, $p < 0,001$) та TGF- β (у 4,6 разів, $p < 0,001$), що свідчить про суттєве значення цитокінового дисбалансу у розвитку АА.

2. Дослідження функціональної активності моноклеарних клітин *in vitro* показало достовірні відмінності у продукції цитокінів залежно від клінічної форми АА, що може використовуватись як додатковий критерій диференційної діагностики та прогнозування перебігу захворювання. У хворих із гніздовим ураженням спостерігалось часткове збереження резерву клітинного реагування на стимуляцію у вигляді приросту IL-10 на 34%, TGF- β на 28%, TNF- α на 35% та IFN- γ на 30% ($p < 0,05$), тоді як у пацієнтів із ТА визначалась достовірно менша відповідь на мітоген та мінімальна продукція цитокінів як в спонтанному, так і індукованому режимах.

3. Виявлені особливості експресії інгібуючих (CD94/NKG2A) та активуючих (CD314/NKG2D) рецепторів на NK-клітинах у пацієнтів з АА полягали у збільшенні презентування прозапального та зниженні експресії регуляторного рецепторів по мірі прогресування хвороби. Порівняння індексу співвідношення між CD56+ позитивними за NKG2D

до носіїв NKG2A продемонструвало в 1,85 та 2,2 разів більше значення показника проти груп ГА та здорових ($p < 0,001$), що є ознакою суттєвої ролі природних кіллерних клітин у механізмах хронізації автоімунного процесу та може бути перспективним маркером для моніторингу ефективності лікування.

4. Розроблений та апробований комплексний підхід до медикаментозної корекції системних порушень імунітету при АА дозволив досягти відновлення функціональної активності імунокомпетентних клітин, про що судили за збільшенням кількості В-лімфоцитів (на 35% при ГА та в 3,4 рази при ТА), абсолютним та відносним зниженням CD3+8+ клітин (на 27% в групі ГА та на 22% в групі ТА), зменшенням клітин-носіїв NKG2D серед усіх лімфоцитів (у 2,5 разів в групі ТА, $p < 0,001$) та зростанням експресії інгібуючого NKG2A рецептора (на 24% в групі ТА, $p < 0,05$). Відновлення балансу клітинної ланки імунітету супроводжувалось нормалізацією гуморального профілю, що підтверджувалось зростанням концентрації циркулюючих регуляторних цитокінів (IL-10 на 45% та TGF- β на 42% в групі ГА, $p < 0,05$), зниженням концентрації медіаторів запалення (TNF- α на 41% та IFN- γ на 49% в групі ТА, $p < 0,05$) та відновленням здатності мононуклеарних клітин до продукції цитокінів *in vitro*. Достовірної відмінності показників клітинної та гуморальної ланки імунітету в групах пацієнтів, які отримували стандартний протокол лікування в динаміці дослідження встановлено не було.

5. Результати динамічного спостереження підтверджували клінічну ефективність запропонованого двокомпонентного лікування АА з використанням препаратів групи статинів, про що судили за більшою кількістю відповідачів на лікування (73,4%) в групі ГА, регресом обсягу ураження за шкалою SALT та залишкової площі вогнища (на 51%, $p < 0,05$). В групі ТА комплексна терапія супроводжувалась значним зниженням кількості нефункціонуючих

фолікулів за даними трихоскопії, досягненням повного відновлення росту волосся у 33,3% хворих та в 3 рази (13,3% випадків) меншою частотою відсутності відповіді на лікування порівняно із групою стандартного лікування.

Отримані дані мають важливе практичне значення для вдосконалення діагностики, вибору тактики ведення пацієнтів з АГА та можуть бути рекомендовані для впровадження в клінічну практику.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Асоційовані з ГА зовнішні чинники, такі як стрес, метаболічний синдром, розлади харчування, можуть бути використані в практиці лікаря для створення комплексного підходу до пацієнта та надання рекомендацій, щодо корекції способу життя.

2. Оцінка показників системного імунітету у хворих на АА може рекомендуватися для формування клініко-імунологічної характеристики пацієнта, диференціації важкості перебігу хвороби та вибору оптимізованої тактики лікування з урахуванням виявлених порушень.

3. Для формування індивідуалізованих підходів до терапії пацієнтів з різними формами АА, спрямованих на нормалізацію порушень імунної відповіді, рекомендовано оцінювати експресію активуючого рецептора NKG2D та інгібуючого рецептора NKG2A на цитотоксичних лімфоцитах.

4. В процесі динамічного спостереження за хворими на АА комплексний аналіз клітинного та гуморального імунітету може застосовуватись для ранньої оцінки прогресування хвороби, неефективності терапії, або ж доклінічного підтвердження початку ремісії на етапі відсутності видимих змін волосяного покариву.

5. Для досягнення більш вираженого регресу клінічних проявів та корекції спектру імунних порушень у хворих на АА рекомендовано додавання препарату Симвастатин/ezetиміб у дозуванні 20/10мг до стандартного протоколу лікування хвороби

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Okhovat JP, Marks DH, Manatis-Lornell A, Hagigeorges D, Locascio JJ, Senna MM. Association between alopecia areata, anxiety, and depression: A systematic review and meta-analysis. *J Am Acad Dermatol*. 2023;88(5):1040-1050. doi:10.1016/j.jaad.2019.05.086.
2. Minokawa Y, Sawada Y, Nakamura M. Lifestyle factors involved in the pathogenesis of alopecia areata. *Int J Mol Sci*. 2022;23(3):1038. doi:10.3390/ijms23031038.
3. Paus R, Bertolini M. The role of hair follicle immune privilege collapse in alopecia areata: status and perspectives. *J Investig Dermatol Symp Proc*. 2013;16(1):S25-27. doi:10.1038/jidsymp.2013.7.
4. Alli R, Nguyen P, Boyd K, Sundberg JP, Geiger TL. A mouse model of clonal CD8⁺ T lymphocyte-mediated alopecia areata progressing to alopecia universalis. *J Immunol*. 2012;188(1):477-486. doi:10.4049/jimmunol.1100657.
5. Lee JY, et al. Decreased CD19⁺CD24^{hi}CD38^{hi} regulatory B cells in alopecia areata. *J Invest Dermatol*. 2024;144(9):2080-2083.e7.
6. Giordano CN, Sinha AA. Cytokine pathways and interactions in alopecia areata. *Eur J Dermatol*. 2013;23(3):308-318. doi:10.1684/ejd.2013.2042.
7. Sadeghi S, Sanati MH, Taghizadeh M, Mansouri P, Jadali Z. Study of Th1/Th2 balance in peripheral blood mononuclear cells of patients with alopecia areata. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2015;62(3):275-285. doi:10.1556/030.62.2015.3.5.
8. Lu D, Chen L, Shi X, et al. A functional polymorphism in interleukin-1 α (IL1A) gene is associated with risk of alopecia areata in Chinese populations. *Gene*. 2013;521(2):282-286.
9. Megiorni F, Mora B, Maxia C, et al. Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 (CTLA4) +49AG and CT60 gene polymorphisms in alopecia areata: A case-

- control association study in the Italian population. *Arch Dermatol Res.* 2013;305(7):665-670.
10. Hordinsky MK. Overview of alopecia areata. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 2013;16(1):S13-15.
 11. Versini M, Jeandel PY, Rosenthal E, Shoenfeld Y. Obesity in autoimmune diseases: not a passive bystander. *Autoimmun Rev.* 2014;13(9):981-1000. doi:10.1016/j.autrev.2014.07.001.
 12. Hordinsky MK. Treatment of alopecia areata: "What is new on the horizon?". *Dermatol Ther.* 2011;24(3):364-368. doi:10.1111/j.1529-8019.2011.01421.x.
 13. Jang YH, Choi JK, Jang YH, Moon SY, Lee WJ, Lee SJ, Choi YA, Kim SH, Kim DW. Increased blood levels of NKG2D⁺CD4⁺ T cells in patients with alopecia areata. *J Am Acad Dermatol.* 2017;76(1):151-153. doi:10.1016/j.jaad.2016.07.056.
 14. Lazetic S, Chang C, Houchins JP, Lanier LL, Phillips JH. Human natural killer cell receptors involved in MHC class I recognition are disulfide-linked heterodimers of CD94 and NKG2 subunits. *J Immunol.* 1996;157(11):4741-4745. PMID: 8943374.
 15. Porter D, Burton JL. A comparison of intra-lesional triamcinolone hexacetonide and triamcinolone acetonide in alopecia areata. *Br J Dermatol.* 1971;85:272-273.
 16. Lee S, Kim BJ, Lee YB, Lee WS. Hair regrowth outcomes of contact immunotherapy for patients with alopecia areata: A systematic review and meta-analysis. *JAMA Dermatol.* 2018;154:1145-1151.
 17. Perriard-Wolfensberger J, Pasche-Koo F, Mainetti C, Labarthe MP, Salomon D, Saurat JH. Pulse of methylprednisolone in alopecia areata. *Dermatology.* 1993;187:282-285.
 18. Wu SZ, Wang S, Ratnaparkhi R, Bergfeld WF. Treatment of pediatric alopecia areata with anthralin: A retrospective study of 37 patients. *Pediatr Dermatol.* 2018;35:817-820.

19. Phan K, Ramachandran V, Sebaratnam DF. Methotrexate for alopecia areata: A systematic review and meta-analysis. *J Am Acad Dermatol*. 2019;80:120-127.e2.
20. Murphy KM, Reiner SL. The lineage decisions of helper T cells. *Nat Rev Immunol*. 2002;2:933-944
21. Lattouf C, Jimenez JJ, Tosti A, Miteva M, Wikramanayake TC, Kittles C, et al. Treatment of alopecia areata with simvastatin/ezetimibe. *J Am Acad Dermatol*. 2015;72:359-361.
22. Freitas Gouveia M, Trüeb RM. Unsuccessful treatment of alopecia areata with simvastatin/ezetimibe: Experience in 12 patients. *Skin Appendage Disord*. 2017;3:156-160.
23. Fricke A, Miteva M. Epidemiology and burden of alopecia areata: a systematic review. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2015;8:397-403. doi:10.2147/CCID.S53985.
24. Juárez-Rendón KJ, Rivera Sánchez G, Reyes-López MÁ, García-Ortiz JE, Bocanegra-García V, Guardiola-Avila I, Altamirano-García ML. Alopecia areata: Current situation and perspectives. *Arch Argent Pediatr*. 2017;115(6):e404-e411. doi:10.5546/aap.2017.eng.e404.
25. Brajac I, Tkalcic M, Dragojević DM, Gruber F. Roles of stress, stress perception, and trait-anxiety in the onset and course of alopecia areata. *J Dermatol*. 2003;30(12):871-878. doi:10.1111/j.1346-8138.2003.tb00341.x.
26. Petukhova L, Duvic M, Hordinsky M, et al. Genome-wide association study in alopecia areata implicates both innate and adaptive immunity. *Nature*. 2010;466:113-117. doi:10.1038/nature09114.
27. Dai YX, Yeh FY, Shen YJ, Tai YH, Chou YJ, Chang YT, Chen TJ, Li CP, Wu CY. Cigarette smoking, alcohol consumption, and risk of alopecia areata: A population-based cohort study in Taiwan. *Am J Clin Dermatol*. 2020;21(6):901-911. doi:10.1007/s40257-020-00547-7.
28. Ranawaka RR. An observational study of alopecia areata in Sri Lankan adult patients. *Ceylon Med J*. 2014;59(4):128-131.

29. Aytekin N, Akcali C, Pehlivan S, et al. Investigation of interleukin-12, interleukin-17, and interleukin-23 receptor gene polymorphisms in alopecia areata. *J Int Med Res.* 2015;43(4):526-534.
30. Ahn D, Kim H, Lee B, Hahm DH. Psychological stress-induced pathogenesis of alopecia areata: Autoimmune and apoptotic pathways. *Int J Mol Sci.* 2023;24(14):11711. doi:10.3390/ijms241411711.
31. Olguín García MG, Martín del Campo A, Rodríguez Acar M, et al. Factores psicológicos asociados con la alopecia areata. *Dermatol Rev Mex.* 2013;57(3):171-177.
32. Villasante Fricke AC, Miteva M. Epidemiology and burden of alopecia areata: a systematic review. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2015;8:397-403. doi:10.2147/CCID.S53985.
33. Chu SY, Chen YJ, Tseng WC, Lin MW, Chen TJ, Hwang CY, Chen CC, Lee DD, Chang YT, Wang WJ, Liu HN. Comorbidity profiles among patients with alopecia areata: The importance of onset age, a nationwide population-based study. *J Am Acad Dermatol.* 2011;65(5):949-956. doi:10.1016/j.jaad.2010.08.032.
34. Bewley A, Figueras-Nart I, Zhang J, Guerreiro M, Tietz N, Chtourou S, Durand F, Blume-Peytavi U. Patient-reported burden of severe alopecia areata: First results from the multinational alopecia areata unmet need survey. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2024;17:751-761. doi:10.2147/CCID.S445646.
35. Bhat YJ, Manzoor S, Khan AR, Qayoom S. Trace element levels in alopecia areata. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2009;75(1):29-31. doi:10.4103/0378-6323.45216.
36. Yu V, Juhász M, Chiang A, Atanaskova Mesinkovska N. Alopecia and associated toxic agents: A systematic review. *Skin Appendage Disord.* 2018;4(4):245-260. doi:10.1159/000485749.
37. Pigatto PD, Ferrucci SM, Brambilla L, Guzzi G. Alopecia areata and toxic metals. *Skin Appendage Disord.* 2020;6(3):177-179. doi:10.1159/000507296.

38. Dai YX, Yeh FY, Shen YJ, Tai YH, Chou YJ, Chang YT, Chen TJ, Li CP, Wu CY. Cigarette smoking, alcohol consumption, and risk of alopecia areata: A population-based cohort study in Taiwan. *Am J Clin Dermatol*. 2020;21(6):901-911. doi:10.1007/s40257-020-00547-7.
39. Arnson Y, Shoenfeld Y, Amital H. Effects of tobacco smoke on immunity, inflammation, and autoimmunity. *J Autoimmun*. 2010;34(3):J258-265. doi:10.1016/j.jaut.2009.12.003.
40. Rajabi F, Drake LA, Senna MM, Rezaei N. Alopecia areata: A review of disease pathogenesis. *Br J Dermatol*. 2018;179(5):1033-1048. doi:10.1111/bjd.16808.
41. Shan M, Yuan X, Song LZ, Roberts L, Zarinkamar N, Seryshev A, Zhang Y, Hilsenbeck S, Chang SH, Dong C, Corry DB, Kheradmand F. Cigarette smoke induction of osteopontin (SPP1) mediates T(H)17 inflammation in human and experimental emphysema. *Sci Transl Med*. 2012;4(117):117ra9. doi:10.1126/scitranslmed.3003041.
42. Melnik BC, John SM, Chen W, Plewig G. T helper 17 cell/regulatory T-cell imbalance in hidradenitis suppurativa/acne inversa: The link to hair follicle dissection, obesity, smoking and autoimmune comorbidities. *Br J Dermatol*. 2018;179(2):260-272. doi:10.1111/bjd.16561.
43. Stochmal A, Wałkiel-Burnat A, Chrostowska S, Zaremba M, Rakowska A, Czuwara J, Rudnicka L. Adiponectin as a novel biomarker of disease severity in alopecia areata. *Sci Rep*. 2021;11(1):13809. doi:10.1038/s41598-021-92853-1.
44. Serarslan G, Özcan O, Okyay E, Ünlü B, Karadağ M. Role of adiponectin and leptin in patients with alopecia areata with scalp hair loss. *Ir J Med Sci*. 2021;190(3):1015-1020. doi:10.1007/s11845-020-02410-4.
45. Nakamizo S, Honda T, Adachi A, Nagatake T, Kunisawa J, Kitoh A, Otsuka A, Dainichi T, Nomura T, Ginhoux F, Ikuta K, Egawa G, Kabashima K. High fat diet exacerbates murine psoriatic dermatitis by increasing the number of

- IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells. *Sci Rep.* 2017;7(1):14076. doi:10.1038/s41598-017-14292-1.
46. Hagino T, Okazaki S, Serizawa N, Suzuki K, Kaga M, Otsuka Y, Mikami E, Hoashi T, Saeki H, Matsuda H, Mitsui H, Kanda N. Dietary habits in Japanese patients with alopecia areata. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2021;14:1579-1591. doi:10.2147/CCID.S335440.
 47. Westgate GE, Craggs RI, Gibson WT. Immune privilege in hair growth. *J Invest Dermatol.* 1991;97(3):417-420. doi:10.1111/1523-1747.ep12481002.
 48. McElwee KJ, Hoffmann R. Alopecia areata - Animal models. *Clin Exp Dermatol.* 2002;27(5):410-417. doi:10.1046/j.1365-2230.2002.01075.x.
 49. Gilhar A. Collapse of immune privilege in alopecia areata: Coincidental or substantial? *J Invest Dermatol.* 2010;130(11):2535-2537. doi:10.1038/jid.2010.260.
 50. Saxena A, Martin-Blondel G, Mars LT, Liblau RS. Role of CD8 T cell subsets in the pathogenesis of multiple sclerosis. *FEBS Lett.* 2011;585(23):3758-3763. doi:10.1016/j.febslet.2011.08.047.
 51. McElwee KJ, Freyschmidt-Paul P, Sundberg JP, Hoffmann R. The pathogenesis of alopecia areata in rodent models. *J Invest Dermatol Symp Proc.* 2003;8(1):6-11. doi:10.1046/j.1523-1747.2003.12164.x.
 52. Gilhar A, Landau M, Assy B, Shalaginov R, Serafimovich S, Kalish RS. Mediation of alopecia areata by cooperation between CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes: Transfer to human scalp explants on Prkdc(scid) mice. *Arch Dermatol.* 2002;138(7):916-922. doi:10.1001/archderm.138.7.916.
 53. Bodemer C, Peuchmaur M, Fraitaig S, Chatenoud L, Brousse N, De Prost Y. Role of cytotoxic T cells in chronic alopecia areata. *J Invest Dermatol.* 2000;114(1):112-116. doi:10.1046/j.1523-1747.2000.00828.x.
 54. McElwee KJ, Silva K, Boggess D, Bechtold L, King LE Jr, Sundberg JP. Alopecia areata in C3H/HeJ mice involves leukocyte-mediated root sheath disruption in advance of overt hair loss. *Vet Pathol.* 2003;40(6):643-650. doi:10.1354/vp.40-6-643.

55. Zhang B, Zhao Y, Cai Z, Caulloo S, McElwee KJ, Li Y, Chen X, Yu M, Yang J, Chen W, Tang X, Zhang X. Early-stage alopecia areata is associated with inflammation in the upper dermis and damage to the hair follicle infundibulum. *Australas J Dermatol.* 2013;54(3):184-191. doi:10.1111/ajd.12065.
56. Tanemura A, Oiso N, Nakano M, Itoi S, Kawada A, Katayama I. Alopecia areata: Infiltration of Th17 cells in the dermis, particularly around hair follicles. *Dermatology.* 2013;226(4):333-336. doi:10.1159/000350933.
57. Tojo G, Fujimura T, Kawano M, Ogasawara K, Kambayashi Y, Furudate S, Mizuashi M, Aiba S. Comparison of interleukin-17-producing cells in different clinical types of alopecia areata. *Dermatology.* 2013;227(1):78-82. doi:10.1159/000353159.
58. Gebhardt T, Whitney PG, Zaid A, Mackay LK, Brooks AG, Heath WR, Carbone FR, Mueller SN. Different patterns of peripheral migration by memory CD4⁺ and CD8⁺ T cells. *Nature.* 2011;477(7363):216-219. doi:10.1038/nature10339.
59. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, Weiner HL, Kuchroo VK. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature.* 2006;441(7090):235-238. doi:10.1038/nature04753.
60. Lima M, Leander M, Santos M, Santos AH, Lau C, Queirós ML, Gonçalves M, Fonseca S, Moura J, Teixeira Mdos A, Orfao A. Chemokine receptor expression on normal blood CD56⁺ NK-cells elucidates cell partners that comigrate during the innate and adaptive immune responses and identifies a transitional NK-cell population. *J Immunol Res.* 2015;2015:839684. doi:10.1155/2015/839684.
61. Lutz G, Niedecken H, Bauer R, Kreysel HW. Natural killer cell and cytotoxic/suppressor T cell deficiency in peripheral blood in subjects with alopecia areata. *Australas J Dermatol.* 1988;29(1):29-32. doi:10.1111/j.1440-0960.1988.tb01222.x.

62. von Bubnoff D, Andr  s E, Hentges F, Bieber T, Michel T, Zimmer J. Natural killer cells in atopic and autoimmune diseases of the skin. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(1):60-68. doi:10.1016/j.jaci.2009.11.020.
63. Sanchez Rodriguez R, Pauli ML, Neuhaus IM, et al. Memory regulatory T cells reside in human skin. *J Clin Invest.* 2014;124(3):1027-1036. doi:10.1172/JCI72932.
64. Z  ller M, McElwee KJ, Vitacolonna M, Hoffmann R. The progressive state, in contrast to the stable or regressive state of alopecia areata, is reflected in peripheral blood mononuclear cells. *Exp Dermatol.* 2004;13(7):435-444. doi:10.1111/j.0906-6705.2004.00179.x.
65. Shin BS, Furuhashi T, Nakamura M, Torii K, Morita A. Impaired inhibitory function of circulating CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in alopecia areata. *J Dermatol Sci.* 2013;70(2):141-143. doi:10.1016/j.jdermsci.2013.01.006.
66. Boehncke WH, Brembilla NC. Autoreactive T-lymphocytes in inflammatory skin diseases. *Front Immunol.* 2019;10:1198. doi:10.3389/fimmu.2019.01198.
67. Kubo R, et al. Activated regulatory T cells are increased in patients with alopecia areata for suppressing disease activity. *J Dermatol Sci.* 2017;86(2):e27-e28. doi:10.1016/j.jdermsci.2017.02.080.
68. Wensveen FM, Jelen  i  V, Pol  i  B. NKG2D: A master regulator of immune cell responsiveness. *Front Immunol.* 2018;9:441. doi:10.3389/fimmu.2018.00441.
69. Jelen  i  V, Lenarti  M, Wensveen FM, Pol  i  B. NKG2D: A versatile player in the immune system. *Immunol Lett.* 2017;189:48-53. doi:10.1016/j.imlet.2017.04.006.
70. Ho EL, Carayannopoulos LN, Poursine-Laurent J, et al. Costimulation of multiple NK cell activation receptors by NKG2D. *J Immunol.* 2002;169(7):3667-3675. doi:10.4049/jimmunol.169.7.3667.

71. Groh V, Rhinehart R, Randolph-Habecker J, et al. Costimulation of CD8 $\alpha\beta$ T cells by NKG2D via engagement by MIC induced on virus-infected cells. *Nat Immunol.* 2001;2(3):255-260. doi:10.1038/85321.
72. Bryceson YT, March ME, Ljunggren HG, Long EO. Synergy among receptors on resting NK cells for the activation of natural cytotoxicity and cytokine secretion. *Blood.* 2006;107(1):159-166. doi:10.1182/blood-2005-04-1351.
73. Van Belle TL, Ling E, Haase C, et al. NKG2D blockade facilitates diabetes prevention by antigen-specific Tregs in a virus-induced model of diabetes. *J Autoimmun.* 2013;40:66-73. doi:10.1016/j.jaut.2012.08.001.
74. Guerra N, Pestal K, Juarez T, et al. A selective role of NKG2D in inflammatory and autoimmune diseases. *Clin Immunol.* 2013;149(3):432-439. doi:10.1016/j.clim.2013.09.003.
75. Ruck T, Bittner S, Gross CC, et al. CD4⁺NKG2D⁺ T cells exhibit enhanced migratory and encephalitogenic properties in neuroinflammation. *PLoS One.* 2013;8(11):e81455. doi:10.1371/journal.pone.0081455.
76. Andersson AK, Sumariwalla PF, McCann FE, et al. Blockade of NKG2D ameliorates disease in mice with collagen-induced arthritis: A potential pathogenic role in chronic inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum.* 2011;63(9):2617-2629. doi:10.1002/art.30460.
77. Pariente B, Mocan I, Camus M, et al. Activation of the receptor NKG2D leads to production of Th17 cytokines in CD4⁺ T cells of patients with Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2011;141(1):217-226.e1-2. doi:10.1053/j.gastro.2011.03.061.
78. Byun JW, Kim HJ, Na K, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells prevent alopecia areata development through the inhibition of NKG2D expression: A pilot study. *Exp Dermatol.* 2017;26(6):532-535. doi:10.1111/exd.13255.

79. Ford BR, Poholek AC. Regulation and immunotherapeutic targeting of the epigenome in exhausted CD8 T cell responses. *J Immunol.* 2023;210(7):869-879. doi:10.4049/jimmunol.2200681.
80. Xing L, Dai Z, Jabbari A, et al. Alopecia areata is driven by cytotoxic T lymphocytes and is reversed by JAK inhibition. *Nat Med.* 2014;20(9):1043-1049. doi:10.1038/nm.3645.
81. Li WX, Pan HF, Hu JL, Wang CZ, Zhang N, Li J, Li XP, Xu JH, Ye DQ. Assay of T- and NK-cell subsets and the expression of NKG2A and NKG2D in patients with new-onset systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol.* 2010 Mar;29(3):315-23. doi: 10.1007/s10067-009-1322-9.
82. Park KS, Park JH, Song YW. Inhibitory NKG2A and activating NKG2D and NKG2C natural killer cell receptor genes: susceptibility for rheumatoid arthritis. *Tissue Antigens.* 2008 Oct;72(4):342-6. doi: 10.1111/j.1399-0039.2008.01110.x.
83. Seo J, Park JS, Nam JH, Bang D, Sohn S, Lee ES, Park KS. Association of CD94/NKG2A, CD94/NKG2C, and its ligand HLA-E polymorphisms with Behcet's disease. *Tissue Antigens.* 2007 Oct;70(4):307-13. doi: 10.1111/j.1399-0039.2007.00907.x.
84. Maejima H, Taniguchi T, Amoh Y, Niiyama S, Katsuoka K. The distribution of anti-NKG2A and NKG2C positive cells in lichen planopilaris. *J Clin Exp Dermatol Res.* 2013;4(1):1-5. doi:10.4172/2155-9554.1000167.
85. Andersen MH, Schrama D, Thor Straten P, Becker JC. Cytotoxic T cells. *J Invest Dermatol.* 2006 Jan;126(1):32-41. doi: 10.1038/sj.jid.5700001.
86. Symington FW. Lymphotoxin, tumor necrosis factor, and gamma interferon are cytostatic for normal human keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 1989 Jun;92(6):798-805. doi: 10.1111/1523-1747.ep12696816.
87. Philpott MP, Sanders DA, Bowen J, Kealey T. Effects of interleukins, colony-stimulating factor and tumour necrosis factor on human hair follicle growth in vitro: a possible role for interleukin-1 and tumour necrosis factor- α .

- in alopecia areata. *Br J Dermatol.* 1996;135(6):942-948. doi:10.1046/j.1365-2133.1996.d01-1099.x.
88. Malik K, Guttman-Yassky E. Cytokine Targeted Therapeutics for Alopecia Areata: Lessons from Atopic Dermatitis and Other Inflammatory Skin Diseases. *J Invest Dermatol Symp Proc.* 2018 Jan;19(1):S62-S64. doi: 10.1016/j.jisp.2017.10.005.
 89. Waśkiel-Burnat A, Osińska M, Salińska A, Blicharz L, Goldust M, Olszewska M, Rudnicka L. The Role of Serum Th1, Th2, and Th17 Cytokines in Patients with Alopecia Areata: Clinical Implications. *Cells.* 2021 Dec 2;10(12):3397. doi: 10.3390/cells10123397.
 90. Ito T, Ito N, Bettermann A, Tokura Y, Takigawa M, Paus R. Collapse and restoration of MHC class-I-dependent immune privilege: exploiting the human hair follicle as a model. *Am J Pathol.* 2004 Feb;164(2):623-34. doi: 10.1016/S0002-9440(10)63151-3.
 91. Bodemer C, Peuchmaur M, Fraitaig S, Chatenoud L, Brousse N, De Prost Y. Role of cytotoxic T cells in chronic alopecia areata. *J Invest Dermatol.* 2000 Jan;114(1):112-6. doi: 10.1046/j.1523-1747.2000.00828.x
 92. Gregoriou S, Papafragkaki D, Kontochristopoulos G, Rallis E, Kalogeromitros D, Rigopoulos D. Cytokines and other mediators in alopecia areata. *Mediators Inflamm.* 2010;2010:928030. doi: 10.1155/2010/928030.
 93. Tabara K, Kozłowska M, Jędrowiak A, Bienias W, Kaszuba A. Serum concentrations of selected proinflammatory cytokines in children with alopecia areata. *Adv Dermatol Allergol/Postępy Dermatol Alergol.* 2019;36(1):63-69. doi:10.5114/ada.2019.82826.
 94. Tomaszewska K, Kozłowska M, Kaszuba A, Lesiak A, Narbutt J, Zalewska-Janowska A. Increased Serum Levels of IFN- γ , IL-1 β , and IL-6 in Patients with Alopecia Areata and Nonsegmental Vitiligo. *Oxid Med Cell Longev.* 2020 Aug 3;2020:5693572. doi: 10.1155/2020/5693572.
 95. Gautam RK, Singh Y, Gupta A, Arora P, Khurana A, Chitkara A. The profile of cytokines (IL-2, IFN- γ , IL-4, IL-10, IL-17A, and IL-23) in active alopecia

- areata. *J Cosmet Dermatol*. 2020 Jan;19(1):234-240. doi: 10.1111/jocd.12970.
96. Zöller M, McElwee KJ, Vitacolonna M, Hoffmann R. The progressive state, in contrast to the stable or regressive state of alopecia areata, is reflected in peripheral blood mononuclear cells. *Exp Dermatol*. 2004 Jul;13(7):435-44. doi: 10.1111/j.0906-6705.2004.00179.x.
 97. Kasumagic-Halilovic E, Prohic A, Karamehic J. Serum concentrations of interferon-gamma (IFN-g) in patients with alopecia areata: correlation with clinical type and duration of the disease. *Med Arh*. 2010;64(4):212-4.
 98. Ma X, Chen S, Jin W, Gao Y. Th1/Th2 PB balance and CD200 expression of patients with active severe alopecia areata. *Exp Ther Med*. 2017;13(6):2883-2887. doi:10.3892/etm.2017.4312.
 99. Omar SI, Hamza AM, Eldabah N, Habiba DA. IFN- α and TNF- α serum levels and their association with disease severity in Egyptian children and adults with alopecia areata. *Int J Dermatol*. 2021;60(11):1397-1404. doi:10.1111/ijd.15658.
 100. Atwa MA, Youssef N, Bayoumy NM. T-helper 17 cytokines (interleukins 17, 21, 22, and 6, and tumor necrosis factor- α) in patients with alopecia areata: association with clinical type and severity. *Int J Dermatol*. 2016;55(6):666-672. doi:10.1111/ijd.12808.
 101. Barahmani N, Lopez A, Babu D, Hernandez M, Donley SE, Duvic M. Serum T helper 1 cytokine levels are greater in patients with alopecia areata regardless of severity or atopy. *Clin Exp Dermatol*. 2010;35(4):409-416. doi:10.1111/j.1365-2230.2009.03523.x.
 102. Alzolibani AA, Rasheed Z, Bin Saif G, Al-Dhubaibi MS, Al Robaee AA. Altered expression of intracellular Toll-like receptors in peripheral blood mononuclear cells from patients with alopecia areata. *BBA Clin*. 2016;5:134-142. doi:10.1016/j.bbaci.2016.03.006.

103. Rossi A, Cantisani C, Carlesimo M, et al. Serum concentrations and IL-2, IL-6, IL-12, and TNF- α in patients with alopecia areata. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2012;25(3):781-788. doi:10.1177/039463201202500327.
104. Gautam RK, Singh Y, Gupta A, Arora P, Khurana A, Chitkara A. The profile of cytokines (IL-2, IFN- γ , IL-4, IL-10, IL-17A, and IL-23) in active alopecia areata. *J Cosmet Dermatol*. 2020;19(1):234-240. doi:10.1111/jocd.12970.
105. Barahmani N, Lopez A, Babu D, Hernandez M, Donley SE, Duvic M. Serum T helper 1 cytokine levels are greater in patients with alopecia areata regardless of severity or atopy. *Clin Exp Dermatol*. 2010;35(4):409-416. doi:10.1111/j.1365-2230.2009.03523.x.
106. Bilgic O, Sivrikaya A, Unlu A, Altinyazar HC. Serum cytokine and chemokine profiles in patients with alopecia areata. *J Dermatolog Treat*. 2016;27(3):260-263. doi:10.3109/09546634.2015.1093591.
107. Marlow GJ, van Gent D, Ferguson LR. Why interleukin-10 supplementation does not work in Crohn's disease patients. *World J Gastroenterol*. 2013;19(25):3931-3941. doi:10.3748/wjg.v19.i25.3931.
108. Gautam RK, Singh Y, Gupta A, Arora P, Khurana A, Chitkara A. The profile of cytokines (IL-2, IFN- γ , IL-4, IL-10, IL-17A, and IL-23) in active alopecia areata. *J Cosmet Dermatol*. 2020;19(1):234-240. doi:10.1111/jocd.12970.
109. Barahmani N, Lopez A, Babu D, Hernandez M, Donley SE, Duvic M. Serum T helper 1 cytokine levels are greater in patients with alopecia areata regardless of severity or atopy. *Clin Exp Dermatol*. 2010;35(4):409-416. doi:10.1111/j.1365-2230.2009.03523.x.
110. Gong Y, Zhao Y, Zhang X, Qi S, Li S, Ye Y, Yang J, Caulloo S, McElwee KJ, Zhang X. Serum level of IL-4 predicts response to topical immunotherapy with diphenylcyclopropenone in alopecia areata. *Exp Dermatol*. 2020;29(3):231-238. doi:10.1111/exd.13758.

111. Manimaran RP, Ramassamy S, Rajappa M, Chandrashekar L. Therapeutic outcome of diphencyprone and its correlation with serum cytokine profile in alopecia areata. *J Dermatolog Treat.* 2022;33(1):324-328. doi:10.1080/09546634.2020.1752887.
112. Loh SH, Moon HN, Lew BL, Sim WY. Role of T helper 17 cells and T regulatory cells in alopecia areata: Comparison of lesion and serum cytokine between controls and patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2018;32(6):1028-1033. doi:10.1111/jdv.14775.
113. Tembhre MK, Sharma VK. T-helper and regulatory T-cell cytokines in the peripheral blood of patients with active alopecia areata. *Br J Dermatol.* 2013;169(3):543-548. doi:10.1111/bjd.12396.
114. Kubeyinje EP. Intralesional triamcinolone acetonide in alopecia areata amongst 62 Saudi Arabs. *East Afr Med J.* 1994;71:674-675.
115. Abell E, Munro DD. Intralesional treatment of alopecia areata with triamcinolone acetonide by jet injector. *Br J Dermatol.* 1973;88:55-59.
116. Rossi A, Muscianese M, Piraccini BM, et al. Italian guidelines in diagnosis and treatment of alopecia areata. *G Ital Dermatol Venereol.* 2019;154(6):609-623. doi:10.23736/S0392-0488.19.06458-7.
117. Alkhalifah A, Alsantali A, Wang E, McElwee KJ, Shapiro J. Alopecia areata update: Part II. Treatment. *J Am Acad Dermatol.* 2010;62:191-202, quiz 203-204.
118. Sharma VK. Pulsed administration of corticosteroids in the treatment of alopecia areata. *Int J Dermatol.* 1996;35:133-136.
119. Sharma VK, Gupta S. Twice weekly 5 mg dexamethasone oral pulse in the treatment of extensive alopecia areata. *J Dermatol.* 1999;26:562-565.
120. Fiedler-Weiss VC, Buys CM. Evaluation of anthralin in the treatment of alopecia areata. *Arch Dermatol.* 1987;123:1491-1493.
121. Durdu M, Özcan D, Baba M, Seçkin D. Efficacy and safety of diphenylcyclopropanone alone or in combination with anthralin in the

- treatment of chronic extensive alopecia areata: a retrospective case series. *J Am Acad Dermatol*. 2015;72:640-650.
122. Vañó-Galván S, Hermosa-Gelbard Á, Sánchez-Neila N, Miguel-Gómez L, Saceda-Corralo D, Rodrigues-Barata R, et al. Treatment of recalcitrant adult alopecia areata universalis with oral azathioprine. *J Am Acad Dermatol*. 2016;74:1007-1008.
 123. Aghaei S. An uncontrolled, open-label study of sulfasalazine in severe alopecia areata. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2008;74(6):611-613. doi:10.4103/0378-6323.45103.
 124. Shin BS, Furuhashi T, Nakamura M, Torii K, Morita A. Impaired inhibitory function of circulating CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in alopecia areata. *J Dermatol Sci*. 2013;70:141-143.
 125. Strober BE, Siu K, Alexis AF, Kim G, Washenik K, Sinha A, et al. Etanercept does not effectively treat moderate to severe alopecia areata: an open-label study. *J Am Acad Dermatol*. 2005;52:1082-1084.
 126. Strober BE, Menon K, McMichael A, Hordinsky M, Krueger G, Panko J, et al. Alefacept for severe alopecia areata: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Arch Dermatol*. 2009;145:1262-1266.
 127. Liu LY, King BA. Ruxolitinib for the treatment of severe alopecia areata. *J Am Acad Dermatol*. 2019;80:566-568.
 128. Xing L, Dai Z, Jabbari A, Cerise JE, Higgins CA, Gong W, et al. Alopecia areata is driven by cytotoxic T lymphocytes and is reversed by JAK inhibition. *Nat Med*. 2014;20:1043-1049.
 129. Freitas E, Guttman-Yassky E, Torres T. Baricitinib for the treatment of alopecia areata. *Drugs*. 2023;83(9):761-770. doi:10.1007/s40265-023-01873-w.
 130. Liu LY, Craiglow BG, King BA. Tofacitinib 2% ointment, a topical Janus kinase inhibitor, for the treatment of alopecia areata: A pilot study of 10 patients. *J Am Acad Dermatol*. 2018;78:403-404.

131. Cervantes J, Jimenez JJ, DelCanto GM, Tosti A. Treatment of alopecia areata with simvastatin/ezetimibe. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 2018;19(1):S25-S31. doi:10.1016/j.jisp.2017.10.013.
132. Jimenez J, DelCanto G, Cervantes J, Darwin E, Maranda E, Lens A, et al. Treatment with statins reverses alopecia areata in the mouse model. *Proceedings of the 10th International Congress on Autoimmunity, Leipzig, Germany; 2016.*
133. Robinson DS, O'Garra A. Further checkpoints in Th1 development. *Immunity.* 2002;16:755-758.
134. Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, Mach F. Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nat Med.* 2000;6:1399-1402.
135. Kuipers HF, Biesta PJ, Groothuis TA, Neefjes JJ, Mommaas AM, van den Elsen PJ. Statins affect cell-surface expression of major histocompatibility complex class II molecules by disrupting cholesterol-containing microdomains. *Hum Immunol.* 2005;66:653-665.
136. Chow SC. Immunomodulation by statins: Mechanisms and potential impact on autoimmune diseases. *Arch Immunol Ther Exp.* 2009;57:243-251.
137. Ali A, Martin JM 4th. Hair growth in patients with alopecia areata totalis after treatment with simvastatin and ezetimibe. *J Drugs Dermatol.* 2010;9:62-64.
138. Robins DN. Case reports: Alopecia universalis—hair growth following initiation of simvastatin and ezetimibe therapy. *J Drugs Dermatol.* 2007;6:946-947.
139. Park H, Kim JE, Choi JW, Kim DY, Jang YH, Lee Y, et al. Guidelines for the management of patients with alopecia areata in Korea: Part I topical and device-based treatment. *Ann Dermatol.* 2023;35(3):190-204. doi:10.5021/ad.22.168.
140. Atanaskova Mesinkovska N, King BA, Vañó-Galván S, Shimomura Y, Jedynek J, McCollam J, et al. Visualizing Severity of Alopecia Tool (SALT)

- scores in the clinical setting using patient images from a clinical trial. *JEADV Clin Pract.* 2024;3:528-535. doi:10.1002/jvc2.327.
141. Olsen E, Hordinsky M, Price V, et al. Alopecia areata investigational assessment guidelines. Part II. *J Am Acad Dermatol.* 2004;51:440-447.
 142. Costenbader KH, Coblyn JS. Statin therapy in rheumatoid arthritis. *South Med J.* 2005;98(5):534-540. doi:10.1097/01.smj.0000161755.22998.f7.
 143. McCarey DW, Sattar N, McInnes IB. Do the pleiotropic effects of statins in the vasculature predict a role in inflammatory diseases? *Arthritis Res Ther.* 2005;7(2):55-61. doi:10.1186/ar1496.
 144. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. 2019 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur Heart J.* 2020;41(1):111-188. doi:10.1093/eurheartj/ehz455.
 145. Mishra P, Singh U, Pandey CM, Mishra P, Pandey G. Application of Student's t-test, analysis of variance, and covariance. *Ann Card Anaesth.* 2019;22(4):407-411. doi:10.4103/aca.ACA_94_19.
 146. Curran-Everett D. Explorations in statistics: standard deviations and standard errors. *Adv Physiol Educ.* 2008;32(3):203-208. doi:10.1152/advan.90123.2008.
 147. Curran-Everett D. Explorations in statistics: confidence intervals. *Adv Physiol Educ.* 2009;33(2):87-90. doi:10.1152/advan.00006.2009.
 148. Petukhova L, Duvic M, Hordinsky M, Norris D, Price V, Shimomura Y, et al. Genome-wide association study in alopecia areata implicates both innate and adaptive immunity. *Nature.* 2010;466(7302):113-117. doi:10.1038/nature09114.

149. Wang WM, Guo L, Jin HZ. Role of B cells in immune-mediated dermatoses. *Mol Immunol.* 2020;126:95-100. doi:10.1016/j.molimm.2020.07.016.
150. Rosser EC, Mauri C. Regulatory B cells: Origin, phenotype, and function. *Immunity.* 2015;42(4):607-612. doi:10.1016/j.immuni.2015.04.005.
151. Nakamura Y, Saito A, Kume M, Nakai S, Ishitsuka Y, Furuta J, et al. IL-10-producing potency from blood B cells correlates with the prognosis of alopecia areata. *J Invest Dermatol.* 2023;143(5):871-874.e5. doi:10.1016/j.jid.2022.11.006.
152. Baadsgaard O, Lindskov R. Circulating lymphocyte subsets in patients with alopecia areata. *Acta Derm Venereol.* 1986;66:266-268.
153. Younes AK, Hammad R, Othman M, Sobhy A. CD4, CD8 and natural killer cells are depressed in patients with alopecia areata: Their association with disease activity. *BMC Immunol.* 2022;23(1):13. doi:10.1186/s12865-022-00486-4.
154. Lutz G, Niedecken H, Bauer R, Kreysel HW. Natural killer cell and cytotoxic/suppressor T cell deficiency in peripheral blood in subjects with alopecia areata. *Australas J Dermatol.* 1988;29(1):29-32. doi:10.1111/j.1440-0960.1988.tb01222.x.
155. Bertolini M, Zilio F, Rossi A, Kleditzsch P, Emelianov VE, Gilhar A, et al. Abnormal interactions between perifollicular mast cells and CD8⁺ T-cells may contribute to the pathogenesis of alopecia areata. *PLoS One.* 2014;9(5):e94260. doi:10.1371/journal.pone.0094260.
156. Lee WS, Lee IW, Lee CH. A study on the changes of T lymphocyte of the peripheral blood in patients with alopecia areata using flow cytometry. *Korean J Dermatol.* 1996;34(4):600-607.
157. Chiarini C, Torchia D, Bianchi B, Volpi W, Caproni M, Fabbri P. Immunopathogenesis of folliculitis decalvans: Clues in early lesions. *Am J Clin Pathol.* 2008;130:526-534.

158. Ito T, Ito N, Saatoff M, Hashizume H, Fukamizu H, Nickoloff BJ, et al. Maintenance of hair follicle immune privilege is linked to prevention of NK cell attack. *J Invest Dermatol.* 2008;128:1196-1206.
159. Islam N, Leung PS, Huntley AC, Gershwin ME. The autoimmune basis of alopecia areata: A comprehensive review. *Autoimmun Rev.* 2015;14(2):81-89. doi:10.1016/j.autrev.2014.10.014.
160. Mauri C, Gray D, Mushtaq N, Londei M. Prevention of arthritis by interleukin 10-producing B cells. *J Exp Med.* 2003;197(4):489-501. doi:10.1084/jem.20021293.
161. 61. Flores-Borja F, Bosma A, Ng D, Reddy V, Ehrenstein MR, Isenberg DA, Mauri C. CD19⁺CD24^{hi}CD38^{hi} B cells maintain regulatory T cells while limiting TH1 and TH17 differentiation. *Sci Transl Med.* 2013;5(173):173ra23. doi:10.1126/scitranslmed.3005407.
162. Fillatreau S, Sweeney CH, McGeachy MJ, Gray D, Anderton SM. B cells regulate autoimmunity by provision of IL-10. *Nat Immunol.* 2002;3(10):944-950.
163. Zaaroura H, Gilding AJ, Sibbald C. Biomarkers in alopecia areata: A systematic review and meta-analysis. *Autoimmun Rev.* 2023;22(7):103339. doi:10.1016/j.autrev.2023.103339.
164. Freyschmidt-Paul P, McElwee KJ, Hoffmann R, Sundberg JP, Vitacolonna M, Kissling S, et al. Interferon-gamma-deficient mice are resistant to the development of alopecia areata. *Br J Dermatol.* 2006;155(3):515-521.
165. Ju SH, Lim JY, Song M, Kim JM, Kang YE, Yi HS, Joung KH, Lee JH, Kim HJ, Ku BJ. Distinct effects of rosuvastatin and rosuvastatin/ezetimibe on senescence markers of CD8⁺ T cells in patients with type 2 diabetes mellitus: A randomized controlled trial. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2024;15:1336357. doi:10.3389/fendo.2024.1336357.
166. Gherardini J, Rivas KE, Chéret J, Strbo N, Paus R. Downregulation of pathogenic MICA-NKG2D interactions as a novel strategy in alopecia areata

- management: A new rationale for adjunct statin therapy? *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2022;36(12):e1013-e1015. doi:10.1111/jdv.18423.
167. Robinson DS, O'Garra A. Further checkpoints in Th1 development. *Immunity.* 2002;16(6):755-758. doi:10.1016/s1074-7613(02)00331-x.

ДОДАТОК А

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Курченко АІ, Ніколаєнко ОМ, Федорук ГВ, Халдєєва АЄ. Вплив препарату Ербісол УЛЬТРАфарм на показники клітинного імунітету при часто рецидивуючій герпесвірусній інфекції. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2021;3:52-56. DOI: 10.37321/immunology.2021.3-06. *(Особистий внесок здобувача – зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів, висновки сформульовані спільно із співавторами).*

2. Халдєєва АЄ. Аналіз сучасних лікувальних методів впливу на імунологічну складову при гніздовій алопеції. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2022;1-2:53-58. DOI: 10.37321/immunology.2022.1-2-06 *(Особистий внесок здобувача – збір, обробка та аналіз матеріалу, підготовка статті до публікації).*

3. Халдєєва А. Особливості стану клітинного імунітету при гніздовій алопеції. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2024;2:47-53. DOI: 10.37321/immunology.2024.2-06 *(Особистий внесок здобувача – збір, обробка та аналіз матеріалу, підготовка статті до публікації).*

4. Халдєєва А. Зміни В-клітинної ланки імунітету та експресії NKG2D (CD314) і CD94(NKG2A) при алопеції тоталіс. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2024;3-4:80-85. DOI: 10.37321/immunology.2024.3-4-07 *(Особистий внесок здобувача – збір матеріалу, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів, підготовка статті до публікації).*

5. Халдєєва А. Зміни імунологічних показників при лікуванні гніздової алопеції препаратами групи статинів. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2025;1:56-66. DOI: 10.37321/immunology.2025.1-06 *(Особистий внесок здобувача – збір, обробка та аналіз матеріалу, підготовка статті до публікації).*