

# Гиперэкспрессия STAT4 – возможный диагностический маркер ранних стадий грибовидного микоза

Грекова Е.В.<sup>1</sup>, Олисова О.Ю.<sup>1</sup>, Алексеева Е.А.<sup>2,3</sup>, Залетаев Д.В.<sup>2,3</sup>, Горенкова Л.Г.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Кафедра кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва  
<sup>2</sup>Лаборатория медицинской генетики Института молекулярной медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва  
<sup>3</sup>Лаборатория эпигенетики ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва  
<sup>4</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, Москва

## ВВЕДЕНИЕ

Грибовидный микоз (ГМ) – хроническое лимфопролиферативное заболевание, характеризующееся клональной пролиферацией и первичным накоплением опухолевых Т-лимфоцитов в коже. ГМ является наиболее частым заболеванием среди Т-клеточных лимфом кожи (85–90%). Наименее информативной в диагностическом плане является пятнистая стадия ГМ, дифференциальную диагностику которой проводят в первую очередь с мелко- и крупнобляшечным параспориозом (БП).

Достоверность диагноза ГМ, подтвержденного только клиническими, гистологическими и иммуногистохимическими признаками, составляет 50–75%. Вероятность установления диагноза ГМ молекулярно-биологическим методом (ПЦР-исследование для идентификации реаранжировки гена Т-клеточного рецептора) на поздних стадиях (IIB–IV) составляет 90%, на ранних (I–IIA) – 50%. Таким образом, в настоящее время отсутствуют надежные, более информативные и специфичные генетические маркеры для ранней диагностики ГМ.

## ЦЕЛЬ

Изучить генетические маркеры (FOXP3, STAT4, IL-12 В) для ранней диагностики грибовидного микоза.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под нашим наблюдением находилось 42 пациента с ГМ и БП, получавших терапию на базе Клиники кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова и ФГБУ «НМИЦ гематологии». Группу больных ГМ составили 29 пациентов, группу больных БП – 13 пациентов. Группа контроля представлена 10 здоровыми лицами (средний возраст 44 ± 2,5 лет).

Для подтверждения диагноза ГМ проводили клинический осмотр; морфологическое исследование кожи (нередко неоднократное); иммуногистохимический метод (ИГХ) исследования кожи с изучением иммунофенотипов  $\beta$ F1+, CD3+, CD4+, CD5+, CD7+, CD45RO+, CD20+, CD25+, CD117+ и индекса пролиферативной активности Ki-67; молекулярно-генетический метод с определением клональности по реаранжировке гена  $\gamma$ -цепи Т-клеточного рецептора. Определение генетических маркеров (FOXP3, STAT4, IL-12 В) выполняли на базе Лаборатории медицинской генетики Института молекулярной медицины Сеченовского университета. Анализ экспрессии генов FOXP3, STAT4, IL12B проводился методом TaqMan Real time-ПЦР с обратных транскриптов в термоблокере для ПЦР в реальном времени (Bio-Rad, USA) с использованием зондов TaqMan, меченых флуоресцентным красителем FAM. Объектами исследования были пораженные участки кожи больных ГМ, БП и здоровых лиц, взятые методом инцизионной биопсии (6 мм). Статистическая обработка данных проводилась с использованием программ EXCEL 2003 и STATISTICA 6.0.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Средний возраст пациентов группы ГМ составил 54 ± 4,5 года (от 28 до 80), из них было 15 (52%) мужчин и 14 (48%) женщин (соотношение 1,1:1). По клиническим стадиям заболевания больных распределили следующим образом: пятнистая – 12 (41%), бляшечная – 8 (28%), опухолевая – 6 (21%), эритродермия – 3 (10%). По стадиям заболевания больных распределили следующим образом: IA – 3 (10%), IB – 10 (34%), IIA – 6 (21%), IIB – 5 (17%), IIIA – 4 (14%), IVA – 1 (4%).

В ходе исследования выявлено, что уровень экспрессии гена STAT4 показал значительное (в 9 раз) повышение экспрессии мРНК транскриптов STAT4 у пациентов ГМ (166) по сравнению с больными БП (17,9;  $p < 0,05$ ) и в 553 раза – со здоровыми лицами (0,3;  $p < 0,05$ ).

Анализ экспрессии гена FOXP3 показал у пациентов ГМ повышение экспрессии мРНК транскриптов FOXP3 (16,3) в 5 раз по сравнению с группой с БП, однако это не является статистически значимым (3,2;  $p > 0,05$ ), и в 82 раза – по сравнению со здоровыми лицами (0,2;  $p < 0,05$ ).

Выявлена слабая экспрессия IL-12B в обеих группах.

Также было отмечено статистически значимое преобладание уровня экспрессии мРНК транскриптов STAT4 у пациентов с пятнистой и бляшечной стадиями

ГМ (180; 318) по сравнению с больными БП (17,9;  $p < 0,05$ ) и здоровыми лицами (0,3;  $p < 0,05$ ), а также его резкое снижение у пациентов с эритродермической формой ГМ (7,19) (табл. 1).

Табл. 1. Распределение значений уровня экспрессии генетических маркеров FOXP3, STAT4, IL-12B в группах пациентов с грибовидным микозом, бляшечным параспориозом и у здоровых лиц

Группа	FOXP3	STAT4	IL-12B
Здоровые лица	0,2 [0,01–0,60]	0,3 [0,01–0,70]	0,03 [0,01–0,10]
Бляшечный параспориоз (БП)	3,2 [0,01–16,50]	17,9 [0,36–88,3]	0,7 [0,09–5,50]
Мелкобляшечный параспориоз	1,59 [0,01–4,87]	5,43 [0,36–26,80]	0,3 [0,16–1,45]
Крупнобляшечный параспориоз	8,93 [4,72–16,50]	56,42 [7,3–88,3]	1,95 [0,09–5,50]
Грибовидный микоз (ГМ)	16,3 [1,0–49,3]	166* [1,0–456]	2,2 [0,03–15]
Пятнистая стадия	21,53 [5,35–37,70]	180* [147–240]	5,3 [0,04–150]
Бляшечная стадия	25,34 [1,32–49,30]	318* [180–456]	0,54 [0,05–1,02]
Опухолевая стадия	25,58 [20,4–30,80]	151 [76,7–225]	0,31 [0,03–0,30]
Эритродермическая форма	0,93 [1,1–1,5]	7,19 [1,0–13]	1,36 [1,0–1,72]

\*- $p < 0,05$  – статистически значимые различия между группами больных ГМ и БП. Данные представлены как медиана, 25–75 перцентили. Уровень экспрессии указан в относительных единицах (о.е.) относительно ACTB.

## Выводы

- Полученные нами данные свидетельствуют о том, что для ранней диагностики ГМ приобретает большое значение уровень экспрессии мРНК транскриптов STAT4, который достоверно преобладает у пациентов с ГМ по сравнению с БП.
- Включение в список клинических, гистологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических признаков STAT4 повышает точность дифференциальной диагностики ГМ и БП с 59,1% до 81,8% соответственно.
- Выявляемая у всех больных БП и ГМ экспрессия маркера Трег-клеток FOXP3, а также IL-12B не является диагностически значимой и может рассматриваться только как вспомогательный диагностический признак в совокупности с другими морфологическими проявлениями.

Рис. 1. STAT-передача импульсов в лимфоцитах у больных грибовидным микозом\*

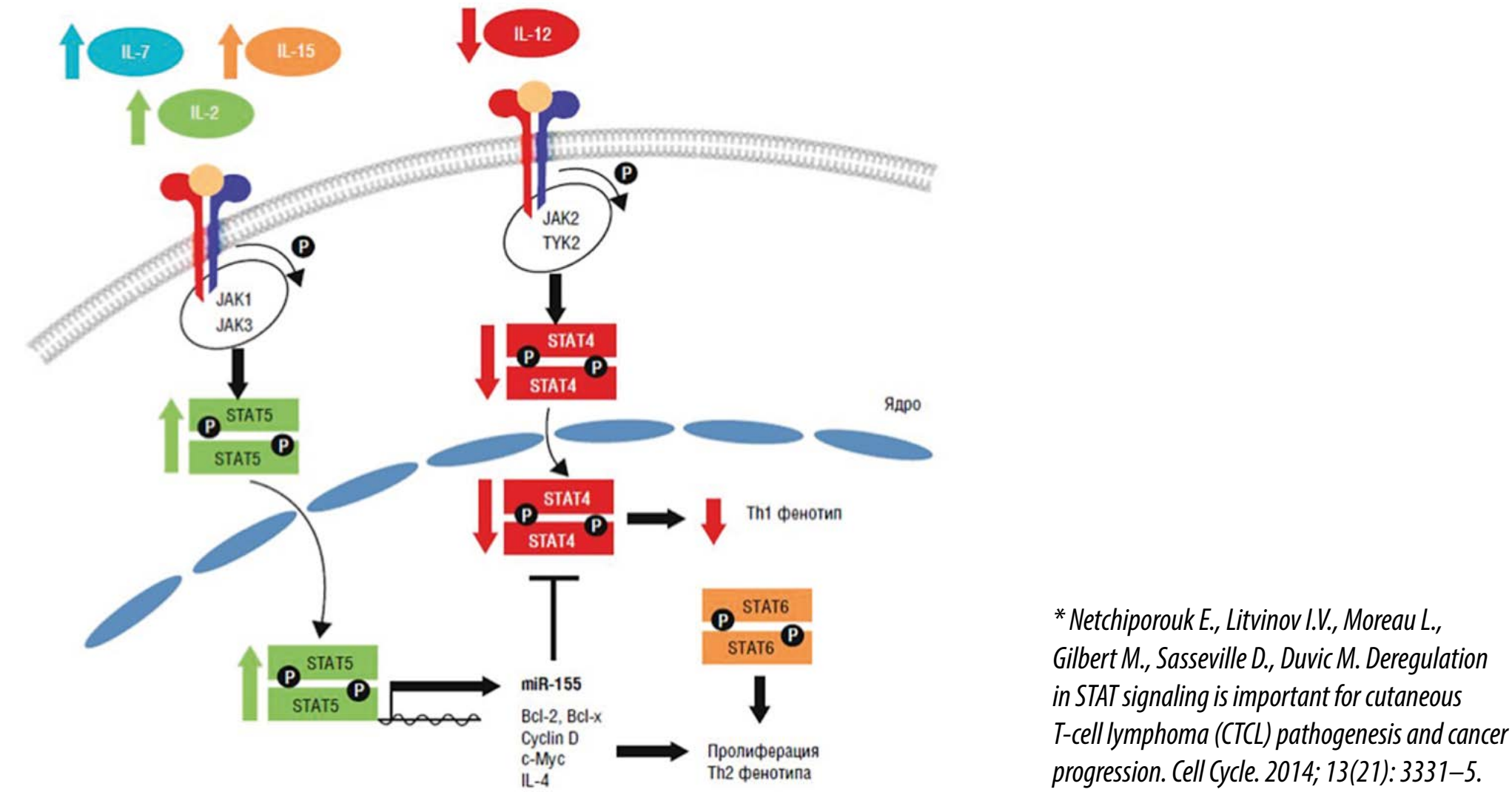


Рис. 2. Полученные кинетические кривые ПЦР-РВ для STAT4, FOXP3, IL-12B и ACTB

