

Уважаемые коллеги!

В соответствии с принятыми решениями
III Всероссийского конгресса дерматовенерологов
место проведения мероприятия 2010 года определяется
на основании заявок региональных отделений
Российского общества дерматовенерологов.

К 1 декабря 2009 года в адрес Исполнительного комитета
поступила одна заявка — регионального отделения РОДВ
Свердловской области.

Рады сообщить Вам время и место проведения
XI Всероссийского съезда дерматовенерологов:

**26 – 29 октября 2010 года,
г. Екатеринбург.**

Местом проведения выбрана гостиница
Hyatt Regency Ekaterinburg (★★★★★).

В ближайшее время будет подготовлена информация
по условиям участия в работе съезда.

Адрес Оргкомитета:

107076, Москва, ул. Короленко, д.3, стр.6, ком. 403

Тел: (499) 785-20-21

E-mail: registration@cnikvi.ru; romancova@cnikvi.ru; congress@cnikvi.ru

Официальный сайт: www.cnikvi.ru



Российское общество
дерматовенерологов

ВЕСТНИК ДЕРМАТОЛОГИИ И ВЕНЕРОЛОГИИ

научно-практический журнал

№6
2009

Дорогие друзья!



Только раз в году календарь дарит нам удивительный и необыкновенный день, когда, провожая один год, мы сразу же встречаем другой.

Уходящий год дарил нам радости встреч и открытий, были маленькие и большие победы и достижения, мы обрели новый бесценный опыт жизни.

В эти дни мы по традиции подводим итоги, вспоминаем главные события, планируем на будущее все, что не успели или не смогли сделать в уходящем году.

Оглядываясь назад, мы можем смело сказать, — уходящий год прожит не зря. Он был исполнен смысла и свершений. Несмотря на все потрясения, которые нам пришлось пережить, мы сохранили стабильность в обществе, добились положительных сдвигов в социальной политике, экономике, здравоохранении.

Полон значимыми событиями был уходящий год и для отечественной дерматовенерологии.

В столице Республики Татарстан, г. Казань, состоялся III Всероссийский конгресс дерматовенерологов, который позволил сформировать задачи, направленные на дальнейшее совершенствование дерматовенерологической помощи, внедрению современных технологий.

Новый год обычно связывают с надеждами на лучшее, поэтому пускай все хорошее, что радовало нас в уходящем году, непременно найдет свое продолжение в году наступающем.

Изменяются цифры на календаре, но неизменными остаются ценности, которые являются нашей опорой во все времена: это любовь к родным и близким, дружба и верность, участие и милосердие. Они придают нам силы в любой ситуации, помогают не только преодолевать сложности, но и подниматься на новую высоту.

Пусть никого не пугают грядущие перемены и преобразования. Надо верить в себя, в свои силы, а Новый год подарит всем благополучие, исполнение заветной мечты, укрепит веру в будущее.

Давайте смело откроем первую страничку календаря 2010 года и пожелаем друг другу мира, согласия, терпения, добра, счастья и, конечно, удачи.

С Новым годом!

Главный редактор журнала «Вестник дерматологии и венерологии», Президент ООО «Российское общество дерматовенерологов», академик РАМН

Лубан — А.А. Кубанова



Учредители

Федеральное государственное учреждение «Государственный научный центр дерматовенерологии Минздравсоцразвития России»



Общероссийская общественная организация «Российское общество дерматовенерологов»

ВЕСТНИК ДЕРМАТОЛОГИИ И ВЕНЕРОЛОГИИ

6'2009

научно-практический рецензируемый журнал

«ВЕСТНИК ДЕРМАТОЛОГИИ И ВЕНЕРОЛОГИИ» — рецензируемый научно-практический журнал. Основан в 1924 году.

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору за соблюдением законодательства в сфере массовых коммуникаций и охране культурного наследия.

Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ № ФС77-28563 от 15.06.2007.

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

107076, Москва, ул. Короленко, 3, стр. 6
ФГУ «ГНЦД Минздравсоцразвития России»,
редакция журнала
«Вестник дерматологии и венерологии»
тел.: (499) 785-20-96
e-mail: margo@cnikvi.ru
менеджер по рекламе
тел.: (499) 785-20-21
e-mail: ershova@cnikvi.ru
www.vestnikdv.ru

ИЗДАТЕЛЬСТВО:

ООО «ДЭКС-ПРЕСС»
125167, Москва, 4-я ул. 8 Марта, д. 6а,
тел./факс: (495) 730 5352, 730 5317,
e-mail: info@dex.ru
Перепечатка материалов или их фрагментов
допускается только по согласованию с редакцией
в письменном виде.

Редакция не несет ответственности
за содержание рекламы.

Цена свободная.

Тираж 2 800 экз.

Отпечатано в типографии ЗАО «ТДДС-Столица-8».

Индекс для подписчиков — **72082**.

Журнал входит в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки России при защите кандидатских и докторских диссертаций.

Электронная версия журнала «Вестник дерматологии и венерологии» размещена на сайте Научной Электронной библиотеки.

Условия доступа к журналу можно найти на сайте www.elibrary.ru

Журнал «Вестник дерматологии и венерологии» включен в Российский Индекс Научного Цитирования (РИНЦ).

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор

А. А. КУБАНОВА

Заместитель главного редактора

В. А. САМСОНОВ

Ответственный секретарь

И. Н. ЛЕСНАЯ

Научный редактор

В. А. ВОЛНУХИН

В. В. ДУБЕНСКИЙ

А. А. КУБАНОВ

Н. В. КУНГУРОВ

А. А. МАРТЫНОВ

О. С. ПАНОВА

А. В. САМЦОВ

С. В. СИДОРЕНКО

Ю. К. СКРИПКИН

Н. В. ФРИГО

И. Г. ШАКУРОВ

А. И. НОВИКОВ

ОРГАНИЗАЦИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

ORGANIZATION OF HEALTH SERVICE

А.А. КУБАНОВА, А.А. МАРТЫНОВ, И.Н. ЛЕСНАЯ, А.А. КУБАНОВ, Е.В. ПИРГОВА
Современные информационные технологии
в деятельности специализированных
дерматовенерологических учреждений

4

Н.В. КУНГУРОВ, Н.В. ЗИЛЬБЕРБЕРГ, М.А. УФИМЦЕВА, Е.В. ГРИШАЕВА
Обеспечение контроля качества
дерматовенерологической помощи

16

С.Н. ГЫРЫЛОВА, Т.Г. РУКША, Г.А. АРУТЮНЯН
Особенности эпидемиологии и клинических проявлений
меланомы кожи в Красноярском крае

21

A.A. KUBANOVA, A.A. MARTYNOV, A.A. KUBANOV, YE.V. PIROGOVA
Current information technologies in the operations of
specialized dermatovenerology institutions

N.V. KUNGUROV, N.V. ZILBERBERG, M.A. UFIMTSEVA, YE.V. GRISHAYEVA
Assurance of dermatovenerological aid quality

S.N. GYRYLOVA, T.G. RUKSHA, G.A. ARUTYUNYAN
Clinical epidemiology of skin melanoma in the Krasnoyarsk
Territory

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

LITERATURE REVIEW

А.В. РЕЗАЙКИН, А.А. КУБАНОВА, А.В. РЕЗАЙКИНА
Неинвазивные методы исследования кожи

28

Н.В. КИТАЕВА, Н.В. ФРИГО, И.А. ВОЛКОВ, В.В. ЛИХАРЕВА
Биомикрочипы и возможность их применения
в дерматовенерологии

33

A.V. REZAIKIN, A.A. KUBANOVA, A.V. REZAIKINA
NON-INVASIVE SKIN EXAMINATION METHODS

V.V. LIKHAREVA, N.V. KITAYEVA, N.V. FRIGO AND I.A. VOLKOVA
Biomicrochips and aspects of their application
in dermatovenerology (a review of literature)

МЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

MEDICAL TECHNOLOGIES

Дифференцированная наружная терапия
экзематозных проявлений

46

НАУЧНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

SCIENTTIFIC RESEARCHES

Т.А. ГОРЯЧЕВА, В.А. САМСОНОВ, О.Р. КАТУНИНА
Клинико-иммуноморфологический анализ
изменений содержания ключевых эффекторных
клеток воспалительного инфильтрата кожи больных
атопическим дерматитом под действием
узкополосного (311 нм) спектра ультрафиолета

52

М.Б. ЖИЛОВА, Н.Л. КАГАНОВА, Н.В. ФРИГО, Л.Ф. ЗНАМЕНСКАЯ,
И.А. ВОЛКОВ, В.А. ВОЛНУХИН
Выбор генов, ассоциированных с эксцизионной
системой репарации ДНК. Разработка протокола
исследования для изучения прогнозирования
эффективности и безопасности ультрафиолетовой
терапии больных псориазом

59

С.В. КЛЮЧАРЁВА, И.Н. ЧУПРОВ, И.П. САВИНОВ, В.Л. РОМАНОВА
Разнообразие морфологических проявлений базально-
клеточного рака кожи (классификация ВОЗ 2006 год)

67

В.А. ВОЛНУХИН, Н.Л. МУРАДЯН, О.Р. КАТУНИНА
Особенности нарушений Т-клеточных иммунных
процессов в коже больных ограниченной склеродермией
и их динамика в процессе УФА-1 терапии

74

Н.В. ШЕБАШОВА, И.А. КЛЕМЕНОВА, А.В. РЕЗАЙКИН
Видовое разнообразие грибов рода *Candida*
при микозах кожи и онихомикозах

81

Н.П. ЕВСТИГНЕЕВА, Ю.Н. КУЗНЕЦОВА, Н.М. ГЕРАСИМОВА, А.Г. СЕРГЕЕВ,
О.О. МИХАЙЛОВА, А.В. РЕЗАЙКИН
Генетические различия штаммов *M. hominis*, выделенных
от женщин с воспалительными заболеваниями органов
малого таза

85

T.A. GORYACHEVA, V.A. SAMSONOV, O.R. KATUNINA
A clinical, immune and morphologic analysis of changes
in the key effector cells in the skin inflammatory infiltrate
in patients with atopic dermatitis exposed to a narrowband
(311 nm) UV spectrum

M.B. ZHILOVA, N.L. KAGANOVA, N.V. FRIGO, L.F. ZNAMENSKAYA, I.A. VOLKOVA,
V.A. VOLNUKHINA
Selection of genes associated with the DNA excision repair
system and development of a study method to forecast the
efficacy and safety of the UV therapy of psoriasis patients

S.V. KLYUCHARYOVA, I.N. CHUPROV, I.P. SAVINNOV, V.L. ROMANOVA
Morphologic versions of basalioma (according to the WHO
Classification, 2006) and their therapy

V.A. VOLNUKHIN, N.L. MURADYAN, O.R. KATUNINA
Characteristics of the phenotypic profile of lymphocytes
in the foci of circumscribed scleroderma and its changes
in the course of the UVA-1 therapy

N.V. SHEBASHOVA, I.A. KLEMONOVA, A.V. REZAIKIN
Species diversity of *Candida* fungi in dermal mycoses
and onychomycoses

N.P. YEVSTIGNEYEVA, YU.N. KUZNETSOVA, N.M. GERASIMOVA,
A.G. GERASIMOVA, O.O. MIKHAILOVA, A.V. REZAIKIN
Possible registration of *Mycoplasma hominis* mutation in
patients with inflammatory diseases of small pelvis organs

ЭСТЕТИЧЕСКАЯ КОСМЕТОЛОГИЯ

AESTHETIC COSMETOLOGY

М.В. НАПРИЕНКО
Оптимизация использования токсина ботулизма типа А
(Диспорт) в эстетической неврологии

91

M.V. NAPRIYENKO
Optimizing the application of botulinum toxin Type A
(Dysport) in cosmetic neurology

В ПОМОЩЬ ПРАКТИЧЕСКОМУ ВРАЧУ

GUIDELINES FOR PRACTITIONERS

Ю.Ю. ШТИРШНАЙДЕР, В.А. ВОЛНУХИН
Клиническая эффективность применения диодного
лазера в лечении доброкачественных
новообразований кожи

98

М.К. БАЛТАБАЕВ, А.А. КАЙБАГАРОВА, Д.А. САДЫКОВА
Случай хронического гранулематозного кандидоза

104

YU.YU. SHTRSHNEIDER, V.A. VOLNUKHIN
Efficacy of using diode lasers in the treatment of benign
skin neoplasms

M.K. BALTABAYEV, A.A. KOYBAGAROVA, D.A. SADYKOVA
Summary the case of unusual form of mucocutaneous
candidiasis

СОДЕРЖАНИЕ**CONTENTS**

М.Р. РАХМАТУЛИНА, И.А. НЕЧАЕВА Иммунотропная терапия детей с папилломавирусной инфекцией препаратом ликопид	109	M.R. RAKHMATULLINA, I.A. NECHAYEVA Immunotropic therapy with Licopid for children suffering from papilloma viral infection
А.В. ИГНАТОВСКИЙ, Е.В. СОКОЛОВСКИЙ Вульвовагинальный кандидоз — практические аспекты	113	A.V. IGNATOVSKY, YE.V. SOKOLOVSKY Vulvovaginal candidosis: practical aspects
Результаты Всероссийского многоцентрового открытого наблюдательного исследования «Эллипс» по определению эффективности, безопасности и переносимости различных лекарственных форм Адвантана при лечении больных экземой	116	Results of an all-russian multicenter open-label follow-up study «Ellipse» to evaluate the efficacy, safety and tolerance of treatment with various forms of advantan in eczema patients
ХРОНИКА		CRONICLE
III Всероссийский Конгресс дерматовенерологов	125	
ЮБИЛЕИ		JUBILEES
О.С. ПАНОВА к 70-летию со дня рождения	130	

Подписаться на журнал
«ВЕСТНИК ДЕРМАТОЛОГИИ И ВЕНЕРОЛОГИИ»
(второе полугодие 2010 года)
МОЖНО ВО ВСЕХ ПОЧТОВЫХ ОТДЕЛЕНИЯХ СВЯЗИ РОССИИ
в каталоге
АГЕНТСТВА «РОСПЕЧАТЬ»
«ГАЗЕТЫ. ЖУРНАЛЫ».
ИНДЕКС ПОДПИСКИ — 72082

СОВРЕМЕННЫЕ ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ

А.А. КУБАНОВА, А.А. МАРТЫНОВ, И.Н. ЛЕСНАЯ, А.А. КУБАНОВ, Е.В. ПИРОГОВА

CURRENT INFORMATION TECHNOLOGIES IN THE OPERATIONS OF SPECIALIZED DERMATOVENEROLOGY INSTITUTIONS

A.A. KUBANOVA, A.A. MARTYNOV, A.A. KUBANOV, YE.V. PIROGOVA

Об авторах:

А.А. Кубанова — директор, ФГУ «ГНИЦ Росмедтехнологий», г. Москва, академик РАМН, д.м.н., профессор
А.А. Мартынов — ведущий научный сотрудник, ФГУ «ГНИЦ Росмедтехнологий», г. Москва, к.м.н., доцент
И.Н. Лесная — заместитель директора по научно-клинической работе, ФГУ «ГНИЦ Росмедтехнологий», г. Москва, д.м.н., профессор
А.А. Кубанов — заместитель директора по научной работе, ФГУ «ГНИЦ Росмедтехнологий», г. Москва, д.м.н., профессор
Е.В. Пирогова — аспирант, ФГУ «ГНИЦ Росмедтехнологий», г. Москва

Приведены современные данные о состоянии развития информационных и телекоммуникационных технологий, как в многопрофильных медицинских учреждениях, так и в специализированных дерматовенерологических учреждениях; представлены основные направления деятельности Государственного научного центра дерматовенерологии, направленные на развитие информационных и телекоммуникационных технологий в дерматовенерологии.

Ключевые слова: дерматовенерология, информатизация, телемедицина, электронная история болезни, дистанционное обучение.

The article presents current data about the today's stage of development of information and telecommunications technologies both in multi-profile medical institutions and specialized dermatovenerology institutions, and describes the key lines of operations of the State Research Center for Dermatology and Venereology aimed at the development of information and telecommunications technologies in the field of dermatovenerology.

Key words: dermatovenerology, informatization, telemedicine, electronic case history, long-distance education.

В своем ежегодном Послании Президентом Российской Федерации Д.А. Медведевым было отмечено, что «благополучие России в относительно недалеком будущем будет напрямую зависеть от ... внедрения новейших медицинских, ... и информационных технологий...» [1].

«...Доступность современных информационных технологий, качественных государственных услуг, широкополосного доступа в Интернет — главный показатель развития информационного общества в стране...»

Д.А. Медведев

(Заседание совета по развитию информационного общества в России 12 февраля 2009 г.)

Основной целью государственной политики в области здравоохранения, определенной Правительством Российской Федерации на период до 2020 года, является формирование системы, обеспечивающей доступность медицинской помощи и повышение эффективности медицинских услуг, объемы, виды и качество которых должны соответствовать уровню заболеваемости и потребностям населения, передовым достижениям медицинской науки [2].

На среднесрочную перспективу Правительством Российской Федерации обозначены 6 основных направлений развития системы здравоохранения [3]:

1. Обеспечение государственных гарантий оказания бесплатной медицинской помощи и совершенствование страховых принципов.

2. Осуществление структурных преобразований в здравоохранении.

3. Повышение открытости управления организациями здравоохранения.

4. Обеспечение населения специализированной, в том числе высокотехнологичной, медицинской помощью.

5. Улучшение лекарственного обеспечения.

Укрепление кадрового потенциала и материально-технической базы.

Концепцией долгосрочного социально-экономического развития Российской Федерации на период до 2020 года, утвержденной распоряжением Правительства Российской Федерации от 17 ноября 2008 г. № 1662-р, а также проектом Концепции развития системы здравоохранения в Российской Федерации до 2020 года в качестве одного из основных приоритетных направлений определена ин-

форматизация процесса предоставления медицинских услуг (рис. 1).

Для достижения поставленной цели Минздравсоцразвитием России планируется решить следующие приоритетные задачи [4]:

- создание государственной информационной системы персонифицированного учета оказания медицинской помощи;
- создание информационно-аналитической системы ведения федеральных реестров и регистров, а также нормативно-справочного обеспечения в области здравоохранения;
- создание условий для функционирования «саморегулируемой системы организации меди-

ЗАДАЧИ КОНЦЕПЦИИ РАЗВИТИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РФ ДО 2020 ГОДА

Создание условий, возможностей и мотивации населения для ведения здорового образа жизни

Совершенствование системы организации медицинской помощи

Конкретизация государственных гарантий оказания гражданам бесплатной медицинской помощи

Улучшение лекарственного обеспечения граждан в амбулаторных условиях в рамках системы ОМС

Создание эффективной модели управления финансовыми ресурсами программы государственных гарантий

Повышение квалификации медицинских работников и создание системы мотивации их к качественному труду

Развитие медицинской науки и инноваций в здравоохранении

Информатизация здравоохранения

МИНИСТЕРСТВО
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Рис. 1. Задачи Концепции развития здравоохранения Российской Федерации на период до 2020 года, направленные на внедрение информационных технологий в деятельность медицинских учреждений

цинской помощи» с применением постоянного мониторинга и анализа показателей качества медицинской помощи;

- создание и внедрение автоматизированной системы ведения истории болезни в электронном виде.

Минздравсоцразвитием России к 2015 г. планируется разработать и апробировать во всех типах медицинских учреждений типовые программно-технические комплексы и подключить их к сети Интернет. В последующий период предусмотрено создание системы централизованного ведения и актуализации научно-справочной информации, а также единой федеральной системы сбора и хранения электронных историй болезни на базе национальных стандартов (рис. 2).

В 2009 году Центральным научно-исследовательским институтом организации и информатизации здравоохранения по поручению Минздравсоцразвития России был проведен сбор информации об уровне развития информационной и технологической инфраструктуры медицинских учреждений, находящихся в ведении органов управления здравоохранением субъектов Российской Федерации. Осо-

бый интерес представляют данные, касающиеся оснащенности медицинских учреждений компьютерной техникой и программным обеспечением.

Так, во всех лечебно-профилактических учреждениях России имеется всего 271 310 персональных компьютеров, что в среднем составляет 36,4 компьютера на 1 лечебно-профилактическое учреждение или 0,09 компьютера на 1 медицинского работника (врачебного и среднего медицинского персонала) (рис. 3). На долю персональных компьютеров типа «пентиум четыре и выше» приходится около 25% от общего объема имеющегося оборудования. Только 7% имеющихся в медицинских учреждениях компьютеров имеют доступ к сети Интернет.

Анализ программного обеспечения медицинских учреждений Российской Федерации показал, что наиболее распространенными являются специальные бухгалтерские программы. Они установлены в 76% имеющихся персональных компьютеров. На долю правовых систем и программ по работе с кадрами приходится 65 и 39% соответственно. Среди специального программного обеспечения наиболее распространены автоматические информационные системы управления ре-



Рис. 2. Мероприятия Концепции развития здравоохранения Российской Федерации на период до 2020 года, направленные на внедрение информационных технологий в лечебно-диагностический процесс

сурсами лечебно-профилактического учреждения (98%) и автоматические информационные системы экономико-статистического учета (42%). А вот медико-технологические информационные системы имеются всего лишь в 13,5% учреждений. Соответственно на долю профессиональной медицинской деятельности приходится не более 10—15% имеющихся персональных компьютеров (рис. 4).

Автоматические информационные системы ведения электронной медицинской карты амбулаторного/стационарного больного установлены менее

чем в 8% медицинских учреждений страны. Они получили наибольшее распространение в медицинских учреждениях Северо-Западного (14,8%) и Центрального (9,8%) федеральных округов, а наименьшее — около 4% — на территории Дальневосточного федерального округа.

Научно-информационные программы используются менее чем в 1% медицинских учреждений, преимущественно на территории Центрального федерального округа. Обучающие информационные системы чаще используются в медицинских учреж-



дениях Центрального федерального округа — всего лишь 3,8%, что почти в 2 раза превышает российский показатель в целом.

Относительно использования информационных аналитических систем в деятельности специализированных дерматовенерологических учреждений следует особо отметить, что в 2002 году из 323 профильных медицинских учреждений всего лишь у 7 (2%) имелись электронные истории болезни (рис. 5).

Государственным научным центром дерматовенерологии в целях достижения основной цели развития отечественного здравоохранения и реализации программных документов Президента и Правительства Российской Федерации, начиная с 2004 г., осуществляется информатизация деятельности федеральных и региональных специализированных дерматовенерологических учреждений. Большая часть мероприятий по информатизации отечественной дерматовенерологии осуществляется за счет средств федерального бюджета и бюджетов субъектов Российской Федерации в рамках реализации подпрограммы «Инфекции, передаваемые половым путем» Федеральной целевой программы «Предупреждение и борьба с социально значимыми заболеваниями (2007—2011 годы)» (рис. 6).

В течение 2010 г. Государственным научным центром дерматовенерологии планируется провести работу по анализу оснащенности компьютерной техникой в федеральных и региональных специализированных дерматовенерологических учреждениях. Полученная информация позволит дать оценку реальной ситуации по готовности медицинских учреждений к работе с современными информационными технологиями и подготовить конкретные предложения для Минздравсоцразвития России и руководителей органов государственной власти субъектов Российской Федерации по финансовому

обеспечению Стратегии развития информационного общества в России.

Основные направления работы ГНЦД по информатизации специализированных дерматовенерологических учреждений представлены на рис. 7.

Для осуществления мониторинга заболеваемости населения Российской Федерации инфекциями, передаваемыми половым путем, заразными кожными заболеваниями и анализа ресурсного обеспечения деятельности медицинских учреждений дерматовенерологического профиля ГНЦД была создана информационная аналитическая система, позволяющая в режиме on-line получать первичные данные о всех вновь зарегистрированных случаях заболеваний среди населения субъектов Российской Федерации, вводить эти сведения в базы данных и проводить анализ эпидемиологической ситуации (рис. 8).

В основе данной информационной системы находится существующий порядок учета, основанный на использовании статистической учетной формы № 089/у-кв, форм государственного статистического наблюдения № 9, № 34 и др.

Одновременно ГНЦД создана компьютерная программа по учету ИППП, которая размещена на интернет-странице www.cnikvi.ru (рис. 9).

Система позволяет осуществлять мониторинг эффективности деятельности учреждений при предоставлении специализированной дерматовенерологической помощи. Информационная система разработана с использованием современных интернет-технологий, позволяющих пользователю работать с ней, независимо от скорости обмена данными сети Интернет. Данные по заболеваемости ИППП, кадровом потенциале и материально-техническом развитии каждого учреждения ежеквартально поступают в единую базу данных, которая ведется ГНЦД.

В 2002 г.
в деятельности всего лишь
2% кожно-венерологических
диспансеров использовались
электронные истории болезни



Рис. 5. Информатизация деятельности специализированных дерматовенерологических учреждений



Рис. 6. Структура подпрограммы «Инфекции, передаваемые половым путем»



Рис. 7. Направления деятельности ГНЦД по информатизации специализированных дерматовенерологических учреждений

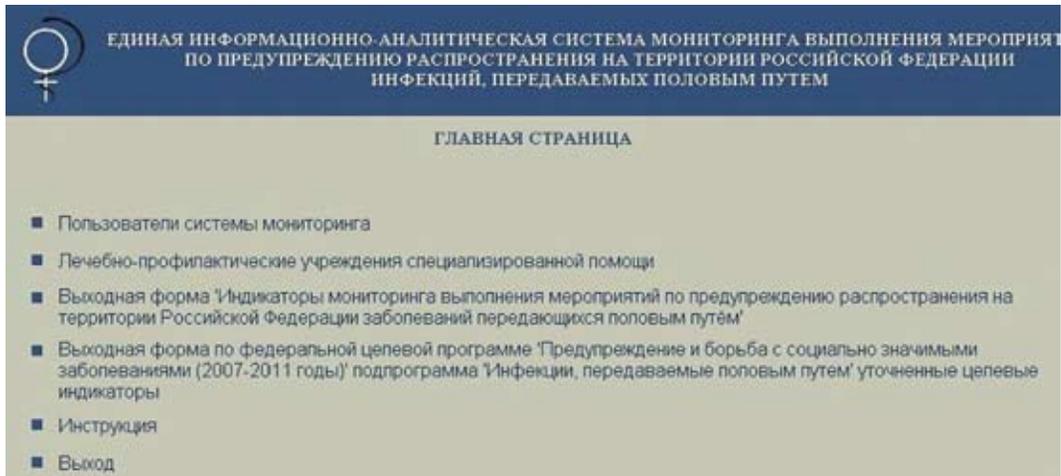


Рис. 8. Начальная страница сайта: www.monitoring-ipp.ru

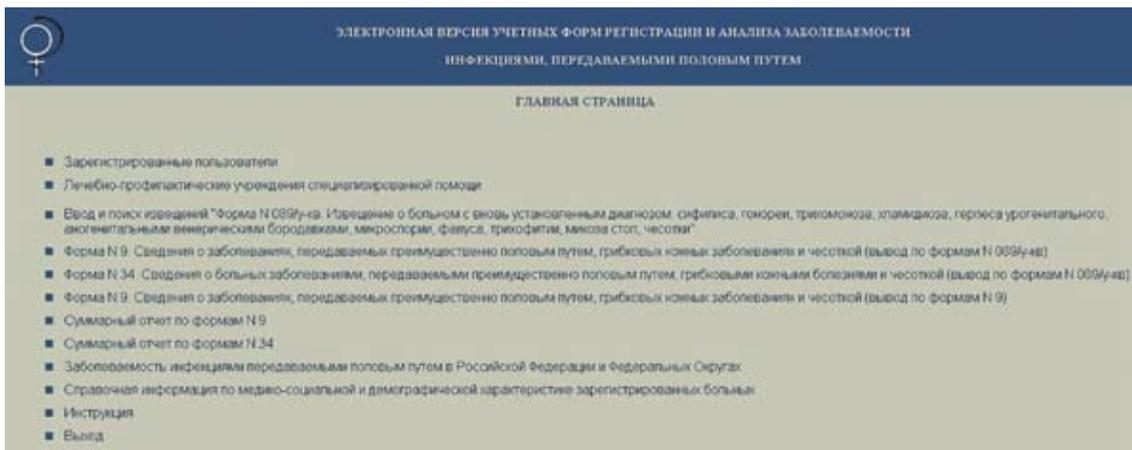


Рис. 9. Начальная страница сайта: www.cnikvi.ru

К настоящему моменту информационная система прошла опытную эксплуатацию более чем в 40 кожно-венерологических диспансерах, находящихся в ведении органов управления здравоохранением субъектов Российской Федерации. Дальнейшее ее развитие будет идти за счет увеличения числа специализированных дерматовенерологических учреждений, активно применяющих её в практической деятельности, а также расширения перечня нозологических форм и других показателей деятельности, подлежащих учету.

Внедрение данной информационной системы позволяет получать информацию о заболеваемости заразными кожными заболеваниями и инфекциями, передаваемыми половым путем, в режиме реального времени, что позволит улучшить эпидемиологический надзор на территории Российской Федерации. Данная информационная система универсальна и может быть использована при других социально

значимых заболеваниях, перечень которых утвержден постановлением Правительства Российской Федерации от 01.12.2004 № 715.

Перспективным направлением развития системы мониторинга заболеваемости населения инфекциями, передаваемыми половым путем, станет объединение всех профильных ЛПУ дерматовенерологического профиля в единую компьютерную сеть, что позволит перейти на качественно новый уровень в управлении организации оказания медицинской помощи населению, эффективно использовать финансовые ресурсы при выборе схем лечения и профилактических мероприятий, осуществлять оценку рентабельности деятельности лечебно-профилактических учреждений.

Другим направлением информационной поддержки специализированных дерматовенерологических учреждений является создание «Медицинской информационной системы лечебно-профилактического учреждения дерматовенероло-

гического профиля» (МИС «ГНЦД»). Она полностью соответствует Национальному стандарту Российской Федерации ГОСТу 52636-2006 «Электронная история болезни. Общие положения», который установил требования к организации создания, сопровождения и использования информационных систем типа «электронная история болезни» при оказании медицинской помощи. В 2008 году МИС «ГНЦД» была зарегистрирована в реестре программ для ЭВМ Федеральной службы по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам 23 сентября 2008 г. (регистрационный № 2008614574) (рис. 10).

МИС «ГНЦД» состоит из восьми взаимосвязанных модулей (рис. 11) и позволяет:

- осуществлять полуавтоматический ввод результатов осмотра пациента как врачами-дерматовенерологами, так и другими консультантами, а также заключений результатов обследования пациента с использованием конструирования протоколов исследований;
- сохранять в электронном виде в медицинской карте амбулаторного/стационарного больного визуальную информацию в виде фотографий, рентгенограмм, видеофрагментов и др. результатов объективного исследования;
- отражать результаты лабораторных исследований в электронной медицинской карте непосредственно с диагностических приборов, а также возможность их рассмотрения с использованием медицинских графических систем;
- контролировать состояние больного и оценивать динамику лечения по графическому представлению на основе выбранных показателей (данные осмотров или анализов);



Рис. 10. Свидетельство о государственной регистрации МИС «ГНЦД»



Рис. 11. Модули Медицинской информационной системы «Государственный научный центр дерматовенерологии»

- формировать направления на различные диагностические и лечебные процедуры;
- анализировать диагностические и лечебные мероприятия с целью оценки их эффективности и безопасности для пациента;
- стандартизировать диагностический и лечебный этапы предоставления медицинской помощи;
- проводить оценку качества предоставляемой медицинской помощи путем построения аналитических отчетов;
- в автоматическом режиме оценивать стоимость законченного случая оказания медицинской помощи конкретному пациенту, контролировать расчеты с организациями, оплачивающими медицинские услуги своих клиентов, а также проводить экономическую оценку всех этапов предоставления медицинской помощи;
- осуществлять контроль получения и расходования медикаментов и изделий медицинского назначения, используемых в процессе предоставления медицинской помощи конкретному больному;
- проводить учёт заболеваемости населения.

МИС «ГНЦД» освобождает специалистов от рутинного ручного способа заполнения медицинской

документации и дает возможность больше времени уделять пациентам. Программа имеет единую унифицированную систему навигации по медицинской карте амбулаторного/стационарного больного утвержденного образца, имеет широкие возможности по настройке под нужды конкретного медицинского учреждения, а также настраивается под индивидуальные особенности работы любого специалиста (рис. 12, 13, 14).

Использование МИС «ГНЦД» позволяет объединить в единое целое все этапы предоставления специализированной дерматовенерологической помощи, включая амбулаторно-поликлинический прием, консультации смежных специалистов, лабораторную и функциональную диагностику, стационарное лечение, отпуск медикаментов из аптеки и контроль их расходования на конкретного больного.

Существующая возможность объединения баз данных МИС «ГНЦД», установленной в региональных специализированных медицинских учреждениях дерматовенерологического профиля, в значительной степени облегчит проведение контроля качества предоставляемой медицинской помощи, в том числе специалистами других медицинских учреждений.

К настоящему моменту МИС «ГНЦД» успешно прошла опытную эксплуатацию в специализирован-

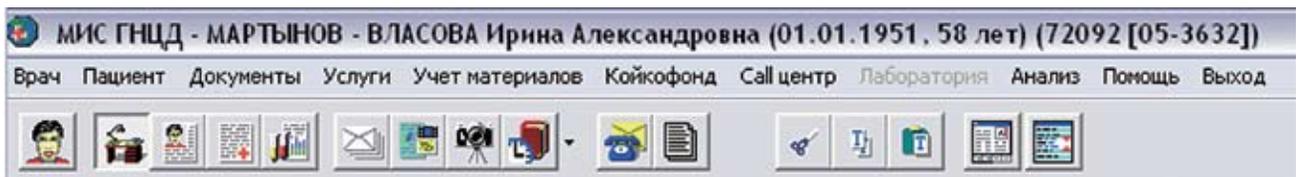


Рис. 12. Инструменты панели управления Медицинской информационной системы «Государственный научный центр дерматовенерологии»

Рис. 13. Расписание приема специалистов в рабочем окне Медицинской информационной системы «Государственный научный центр дерматовенерологии»

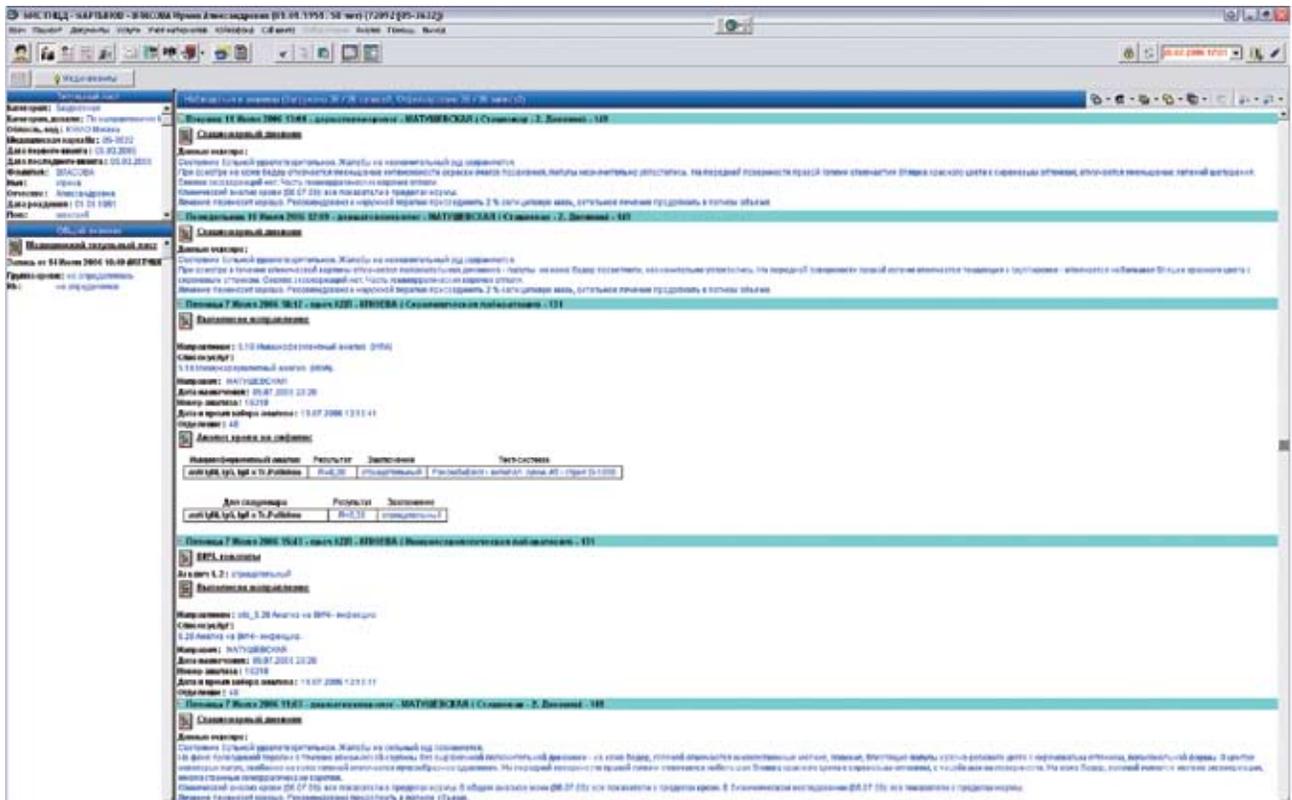


Рис. 14. Вид рабочего стола электронной медицинской карты амбулаторного/стационарного больного Медицинской информационной системы «Государственный научный центр дерматовенерологии»

ных дерматовенерологических учреждениях на территории ряда субъектов Российской Федерации:

- Мурманский областной центр специализированных видов медицинской помощи (25 рабочих мест);
- Самарский областной кожно-венерологический диспансер (25 рабочих мест);
- Рязанский областной кожно-венерологический диспансер (20 рабочих мест);
- Краснодарский краевой кожно-венерологический диспансер (25 рабочих мест);
- Тверской областной кожно-венерологический диспансер (25 рабочих мест).

МИС «ГНЦД» устанавливается в Новосибирском областном кожно-венерологическом диспансере. Одновременно более чем в десяти субъектах Российской Федерации подготовлена материально-техническая база для её внедрения. В ГНЦД МИС «ГНЦД» используется в повседневной практике врачей, провизоров, средних медицинских работников, регистраторов, работников Лабораторного центра и административно-хозяйственного персонала, что в значительной степени облегчает взаимодействие всех заинтересованных специалистов в процессе предоставления медицинской помощи конкретному пациенту (всего установлено более 100 рабочих мест).

Новые возможности в организации предоставления специализированной дерматовенерологической помощи открывают применение современных телемедицинских технологий (рис. 16). Сегодня телемедицинские информационные системы преимущественно сосредоточены в Сибирском (более 5%) и Центральном (3%) федеральных округах. Оснащение других регионов по данным ЦНИИОиЗ не превышает 1%.

«...Масштабы такой страны, как Россия, заставляют нас использовать методы телемедицины для выявления, диагностики и ранней диагностики различных заболеваний...»

Д.А. Медведев

(Всемирный экономический форум (Давос, 2007))

В целях дальнейшего развития данного направления информационного взаимодействия Правительством Российской Федерации предусмотрен ряд конкретных шагов:

- предоставление гражданам социальных услуг на всей территории Российской Федерации

с использованием информационных и телекоммуникационных технологий;

- расширение использования информационных и телекоммуникационных технологий для развития новых форм и методов обучения, в том числе дистанционного образования;
- создание медицинского информационного и образовательного ресурса;
- внедрение новых методов оказания медицинской помощи населению, а также дистанционного обслуживания пациентов, развитие телемедицины;
- развитие системы региональной информатизации.

Основными направлениями использования телемедицинских технологий в дерматовенерологии являются: консультации пациентов и их отбор на лечение с использованием специализированной, в том числе высокотехнологичной, медицинской помощи за счет ассигнований федерального бюджета; проведение научно-практических семинаров, лекций, телемониторинга, телемедицинских совещаний, консилиумов, симпозиумов [5].

В 2009 году Государственным научным центром дерматовенерологии закончен монтаж и начата опытная эксплуатация телемедицинского терминала (рис. 15). В последующем в субъектах Российской Федерации, имеющих телемедицинские терминалы, станет возможным проведение сеансов телемедицины с привлечением специалистов дерматовенерологического профиля. Применение телемедицины открывает возможности наиболее эффективно

и экономично использовать интеллектуальный потенциал медицинских учреждений, дорогостоящее медицинское оборудование, сосредоточенное в федеральных и региональных медицинских учреждениях [6—7]. На 2010 год Государственным научным центром дерматовенерологии запланирована работа по анализу возможностей региональных медицинских учреждений по использованию телемедицинских технологий, а также разработка методических рекомендаций по организации телемедицинских консультаций больных с заболеваниями кожи и подкожной клетчатки.

Одной из основных задач проекта Концепции развития здравоохранения на период до 2020 года является создание государственной информационной системы персонифицированного учета оказания медицинской помощи, что предусматривает, в том числе, «создание информационно-аналитической системы ведения федеральных реестров и регистров...». В целях создания единой базы данных больных, страдающих хроническими дерматозами, Государственным научным центром дерматовенерологии в течение 2007 года были подготовлены Методические рекомендации по ведению регистра больных хроническими заболеваниями кожи. Методические рекомендации были утверждены и изданы Минздравсоцразвитием России от 30 апреля 2008 г. № 3131-РХ.

С 2008 года Регистр больных хроническими дерматозами ведется сотрудниками Государственного научного центра дерматовенерологии совместно со специалистами ряда региональных специализированных дерматовенерологических учреждений.



Рис. 15. Теледерматология

Регистр ведется с использованием современных информационных технологий, позволяющих создать единую базу данных больных (рис. 16). На его основе станет возможным изучить распространенность отдельных тяжелых дерматозов, требующих лечения дорогостоящими лекарственными препаратами и медико-социальные последствия данных заболеваний, а также:

- проводить мониторинг качества оказания специализированной дерматовенерологической помощи и последующего диспансерного наблюдения за больными;
- планировать ресурсы и финансовые затраты, необходимые для оказания специализированной,

в том числе высокотехнологичной, медицинской помощи по профилю дерматовенерология;

- осуществлять информационный обмен между профильными специализированными дерматовенерологическими учреждениями.

К настоящему моменту в данном регистре содержатся данные более чем о 2000 больных, получающих специализированную, в том числе высокотехнологическую, медицинскую помощь по профилю дерматовенерология. Сотрудниками Государственного научного центра дерматовенерологии осуществляется обучение специалистов региональных специализированных дерматовенерологических учреждений по работе с ним.

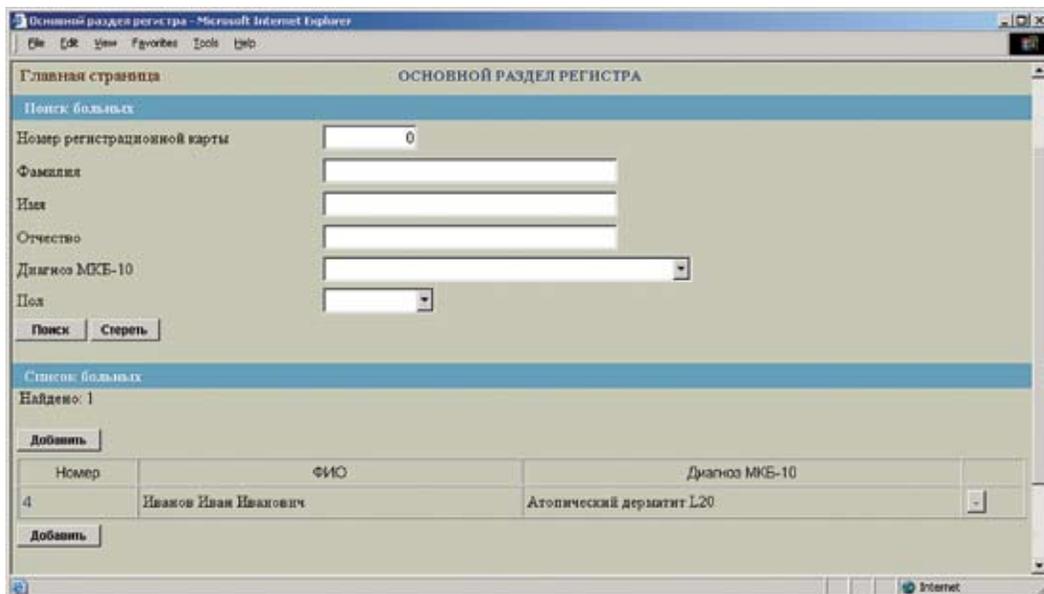


Рис. 16. Рабочее окно основного раздела регистра больных хроническими дерматозами

Таким образом, повсеместное внедрение современных информационных и телекоммуникационных технологий в деятельность специализированных дерматовенерологических учреждений позволит увеличить доступность данного вида медицинской помощи, а также откроет возможности оперативного контроля за структурой и качеством ее оказания. Следующей задачей по развитию информатизации в специализированных дерматовенерологических учреждениях является внедрение вышепредставленных информационных технологий в практическую деятельность конкретных медицинских учреждений.

В целом, оценивая сложность сегодняшнего состояния информационной и технологической инфраструктуры специализированных дерматовенерологических учреждений, считаем необходимым в ближайшее время определить перечень конкретных шагов по пути их преодоления, поскольку со-

временные медицинские информационные технологии, несомненно, оказывают существенное влияние на качество и доступность медицинской помощи, одновременно повышая эффективность планирования и управления ресурсами системы здравоохранения.

Литература

1. Послание Президента Российской Федерации Федеральному Собранию Российской Федерации от 12 ноября 2009 г.
2. Распоряжение Правительства Российской Федерации от 17 ноября 2008 г. № 1662-р.
3. Распоряжение Правительства Российской Федерации от 17 ноября 2008 г. № 1663-р.
4. Проект Концепции развития здравоохранения Российской Федерации на период до 2020 года.
5. Приказ Минздрава России и РАМН от 27 августа 2001 г. № 344/76 «Об утверждении Концепции развития телемедицинских технологий в Российской Федерации и плана ее реализации».
6. Bashshur RL. Telemedicine effects: cost, quality, and access. *J Med Syst.* 1995 Apr. Vol. 19, № 2. P. 81–91.
7. Assessment of Approaches to Evaluating Telemedicine. Final Report. -Department of Health and Human Services. The Lewin Group, Inc. 2000. 52 p.

ОБЕСПЕЧЕНИЕ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ПОМОЩИ

Н.В. КУНГУРОВ, Н.В. ЗИЛЬБЕРБЕРГ, М.А. УФИМЦЕВА, Е.В. ГРИШАЕВА

ASSURANCE OF DERMATOVENEROLOGICAL AID QUALITY

N.V. KUNGUROV, N.V. ZILBERBERG, M.A. UFIMTSEVA, YE.V. GRISHAYEVA

Об авторах:

Н.В. Кунгуров — директор ФГУ «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии Росмедтехнологий», г. Екатеринбург, д.м.н., профессор

Н.В. Зильберберг — ученый секретарь ФГУ «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии Росмедтехнологий», г. Екатеринбург, д.м.н.

М.А. Уфимцева — младший научный сотрудник ФГУ «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии Росмедтехнологий», г. Екатеринбург

Е.В. Гришаева — заведующая клиникой ФГУ «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии Росмедтехнологий», г. Екатеринбург

Представлена методика внутриучрежденческого контроля качества специализированной медицинской помощи больным дерматозами и инфекциями, передаваемыми половым путем, включающая состав и положение о врачебной комиссии; положение об организации работы по экспертизе временной нетрудоспособности и положение об обеспечении качества оказания медицинской помощи пациентам клиники ФГУ «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии Росмедтехнологий» на основании мониторинга индикаторов качества.

Ключевые слова: внутриучрежденческий контроль качества, критерии оценки качества, нормативные документы, специализированная медицинская помощь больным дерматозами и инфекциями, передаваемыми половым путем.

A method of intra-institutional quality assurance for specialized medical aid rendered to patients with dermatoses and STDs including medical commission membership and regulations about it, regulations about the organization of works related to temporary disability expert assessment and regulations about the quality of medical aid rendered to patients of FGU Ural Research Institute of Dermatovenereology and Immunology, Federal Agency for High-Technology Medical Aid, based on the monitoring of quality indices is offered.

Key words: intra-institutional quality assurance, quality assessment criteria, regulatory documents, specialized medical aid rendered to patients with dermatoses and STDs.

На современном этапе сохраняется актуальность разработки механизмов внедрения, контроля и управления качеством медицинских услуг [1, 2]. «Важнейший элемент управления кожно-венерологическим учреждением (КВУ) — это обеспечение при осуществлении медицинской деятельности контроля соответствия качества выполняемых медицинских работ (услуг) установленным требованиям (стандартам)» (Постановление Правительства РФ от 22.01.2007 № 30 «Положение о лицензировании медицинской деятельности», пп. 3, п. 5). Выделяют три укрупненных объекта стандартизации: ресурсное обеспечение здравоохранения (требования к кадровым, материальным, финансовым, информационным ресурсам); процессы (лечебно-диагностические, профилактические, реабилитационные, организационные, производственные

технологии); эффективность (исходы заболеваний, социально-экономические показатели).

В 2007 г. Росздравнадзором в 12 субъектах РФ в 108 лечебно-профилактических учреждениях проведены комплексные плановые проверки по организации контроля качества медико-социальной помощи населению. По итогам проверок установлено, что в ряде субъектов система организации контроля качества медицинской помощи функционирует. Наряду с этим выявлены следующие типичные недостатки: 1. Отсутствие уполномоченного (ответственного специалиста) по качеству в органе управления здравоохранением субъектов РФ. 2. Отсутствие территориальных программ по улучшению качества и доступности медицинской помощи населению и оценке удовлетворенности населения медицинской помощью. 3. Недостаточная работа органа управления здравоохранением субъектов РФ по внедрению установленных федеральных стандартов в сфере здравоохранения и разработке региональных стандартов. 4. Недостаточный кон-

троль исполнения приказа Минздравсоцразвития России от 14.03.2007 г. № 170 «Об организации деятельности врачебной комиссии медицинской организации». 5. Низкое качество рассмотрения обращений граждан по вопросам качества лечебно-диагностических мероприятий.

Кроме того, были выявлены следующие недостатки при оказании платных медицинских услуг населению:

1. Отсутствие лицензии на медицинскую деятельность.

2. Отсутствие разрешения органов управления здравоохранением субъектов РФ на оказание платных медицинских услуг, а также контроля за их предоставлением.

3. Предоставление за плату медицинских услуг, которые гарантированы территориальными Программами государственных гарантий оказания бесплатной медицинской помощи населению субъектов РФ.

4. Нарушения в оформлении предоставления платных услуг.

5. Отдельные нарушения при оформлении информационных стендов для потребителя.

Данные анализа жалоб и обращений граждан в Росздравнадзор в 2007 г. свидетельствуют, что из 14 564 поступивших писем жалобы на качество медицинской помощи содержались в 3667 обращениях, что составило 25,2% от всех поступивших обращений. Причем в структуре обращений жалоб на качество медицинской помощи было 1807 (49,4 %), на качество лечения детей — 290 (7,9 %), на требование платы за лечение в государственных и муниципальных лечебно-профилактических учреждениях (ЛПУ) — 184 (5,0 %) [3].

В международной практике под качеством медицинской помощи понимают совокупность характеристик, подтверждающих соответствие оказанной медицинской помощи имеющимся потребностям пациента, его ожиданиям, современному уровню развития медицинской науки и техники. Важнейшими составляющими, обеспечивающими качество в здравоохранении, являются: лицензирование медицинской деятельности и лицензионный контроль. В соответствии с действующей нормативно-правовой базой определены три уровня контроля качества медицинской помощи: 1-й уровень — медицинское учреждение (организация самооценки); этот уровень, в свою очередь, имеет следующие подуровни: самоконтроль врача (0-й подуровень), контроль на уровне заведующего отделением (1-й подуровень), контроль на уровне заместителя главного врача по клинико-экспертной работе (2-й подуровень), контроль на уровне врачебной комиссии КВУ (3-й подуровень); 2-й уровень — органы государственной власти субъектов РФ в области охраны здоровья граждан, вневедомственная экспертиза страховых организаций и территориальных фон-

дов обязательного медицинского страхования; 3-й уровень — Росздравнадзор и его территориальные управления [4—6].

Для отработки модели внутриучрежденческого контроля качества нами были проанализированы законы РФ (от 28.06.1991 г. № 1499-1, от 02.05.2006 г. № 59-ФЗ); ГОСТ Р 52623-2006; Постановление Правительства РФ от 22.01.2007 г. № 30; приказы Минздрава РФ (от 21.05.2002 г. № 154) и Минздравсоцразвития РФ (от 31.12.2006 г. № 905; от 14.03.2007 г. № 170); методические рекомендации № 2002/140 от 20.12.2002 г. «Учет, оценка и анализ клинико-экспертной деятельности ЛПУ».

На основании указанных нормативно-правовых документов и, в частности, приказа № 170 от 14.03.2007 г. Минздравсоцразвития РФ «Об организации деятельности врачебной комиссии медицинской организации» нами разработаны и утверждены приказами по УрНИИДВиИ состав и положение о врачебной комиссии; положение об организации работы по экспертизе временной нетрудоспособности и положение об обеспечении качества оказания медицинской помощи пациентам клиники.

Подробно с содержанием указанных положений можно ознакомиться на сайте УрНИИДВиИ urniidvi.ru. Методика проведения внутриучрежденческого контроля качества медицинской помощи включает:

1. Эксперт во время проведения экспертизы качества лечебно-диагностического процесса в обязательном порядке оценивает полноту и своевременность диагностических мероприятий, правильность и точность постановки диагноза, адекватность выбора и соблюдение лечебных мероприятий, обоснованность выдачи листка временной нетрудоспособности; выявляет дефекты и устанавливает их причины; готовит рекомендации по устранению и предупреждению выявленных недостатков.

2. На каждый случай экспертной оценки на первом этапе заполняется «Карта экспертной оценки качества медицинской помощи», которая содержит краткую характеристику случая и балльную оценку качества.

3. При выборочном контроле на втором этапе экспертизы результаты фиксируются экспертом в «Журнале оценки качества медицинской помощи», в котором отражаются данные повторной экспертизы и оценка расхождений с данными первичной экспертизы.

Анализ уровня качества медицинской помощи в клинике института (с использованием результатов обоих этапов экспертизы качества) включает:

1) ежеквартальный анализ работы клиники института по следующим параметрам: анализ врачебных ошибок, выявленных при проведении экспертной оценки; причины объективного и субъективного характера, повлекшие возникновение недочетов и ошибок при проведении лечебно-диагностических

действий; качество оказания медицинской помощи по отделениям клиники института; качество оказания медицинской помощи больным с наиболее распространенными дерматозами и инфекциями, передаваемыми половым путем; качество оказания медицинской помощи врачами и научными сотрудниками;

2) ежеквартальный анализ Индикаторов качества оказания медицинской помощи с целью оценки эффективности работы клиники.

На первом этапе экспертизы изучаются следующие показатели: доля больных, пролеченных с полным выполнением стандарта (0 баллов при экспертной оценке); доля больных, пролеченных с нарушением стандарта (более 2 баллов при экспертной оценке); коэффициент обоснованности госпитализаций; доля больных дерматозами с вновь развившейся вторичной инфекцией во время пребывания в стационаре; доля больных, переведенных в другие ЛПУ.

На втором этапе экспертизы выборочно или при имеющихся отклонениях от Стандарта оказания медицинской помощи анализируются следующие индикаторы: доля случаев с отклонением сроков пребывания в стационаре, рассмотренных клинико-экспертной комиссией; коэффициент изменения показателей смертности от врожденного сифилиса; коэффициент обоснованности жалоб на работу медицинских сотрудников; коэффициент ресурсоемкости лечения (соотношение расчетной стоимости одного случая госпитализации в полном соответствии со стандартом к фактическим затратам на один случай госпитализации); выполнение квот на дорогостоящую помощь по региону.

3. Итоги анализа работы клиники института (экспертная работа, Индикаторы качества оказания медицинской помощи) ежеквартально обсуждаются на заседании клинико-экспертной комиссии, на основании чего формулируются предложения для принятия администрацией института управленческих решений.

С целью повышения эффективности работы по контролю и экспертизе качества медицинской помощи разработана программа подготовки и переподготовки членов комиссии и заведующих структурными подразделениями с привлечением специалистов территориального управления Росздравнадзора. Сформирован пакет документов, обязательный для изучения и использования в работе: Государственный стандарт РФ «Система менеджмента качества» (ГОСТ Р ИСО 9001-2001); Национальный стандарт РФ «Протоколы ведения больных. Общие положения» (ГОСТ Р 52623-2006), дата введения: 01.10.2007 г.; Национальный стандарт РФ «Технология выполнения простых медицинских услуг. Общие положения» (ГОСТ Р 52623-2006), дата введения: 01.01.2008 г.; Отраслевой стандарт «Порядок разработки, согласования, принятия, внедрения и введения норматив-

ных документов системы стандартизации в здравоохранении» (ОСТ ПРСПБВ № 91500.01.0001-2000; приказ Минздрава РФ от 31.07.2000 г. № 302); Отраслевой стандарт «Термины и определения системы стандартизации в здравоохранении. Требования нормативных документов системы стандартизации в здравоохранении» (приказ Минздрава РФ от 31.01.2001 г. № 18); Отраслевой стандарт «Система стандартизации в здравоохранении. Основные положения» (ОСТ 91500.01.0007-2001; приказ Минздрава РФ от 04.06.2001 г. № 181); Отраслевой классификатор «Простые медицинские услуги» (91500.09.0001-2001; приказ Минздрава РФ от 10.04.2001 г. № 113); Отраслевой стандарт «Сложные и комплексные медицинские услуги. Состав» (вместе с ОСТ 91500.09.0003-2001; приказ Минздрава РФ от 16.07.2001 г. № 269); Отраслевой классификатор «Сложные и комплексные медицинские услуги» (91500.09.0002-2001). Система стандартизации в здравоохранении РФ (приказ Минздрава РФ от 16.07.2001 г. № 268); ОСТы, Протоколы ведения больных. Методические рекомендации «Порядок разработки и применения протоколов ведения больных» (приказ Минздравсоцразвития, 03.03.2006 г.).

Своевременное выявление дефектов в процессе оказания медицинской помощи, снижение количества ошибок в процессе контроля качества, интенсификация диагностических и лечебно-профилактических мероприятий служат основой улучшения качества оказания пациентам специализированной дерматовенерологической помощи.

Под особый контроль врачебной комиссии взято ведение учетной и отчетной медицинской документации: медицинские карты амбулаторного и стационарного больного; журнал учета процедур; журнал учета приема больных и отказа в госпитализации; ведомость учета посещений в поликлинике; листок учета больных и коечного фонда стационара; журнал регистрации листов нетрудоспособности (Ф-036/у). Данный раздел деятельности предусмотрен в «Положении о лицензировании медицинской деятельности» (пп. «л» п. 5).

В Гражданском кодексе Российской Федерации действует принцип презумпции вины (ст. 401, 1064), и невиновность доказывает лицо, нарушившее обязательство. В связи с этим врачебная документация должна включать документирование проведенных исследований и их результатов — подтверждение полноценной диагностики и ее интерпретация, документирование всех манипуляций, назначений, промежуточных осмотров и прочего, т. е. подтверждение выполнения всех этапов лечения и необходимых процедур, а также документирование информирования пациента — подтверждение проведения необходимых разъяснений и обсуждения лечения от этапа планирования до рекомендации при выписке.

Принцип информированного добровольного согласия на медицинское вмешательство или клини-

ческое исследование закреплен в законодательстве РФ, прежде всего в Основах законодательства РФ об охране здоровья граждан, т.е. является не только этической, но и правовой основой деятельности врача. В ст. 32 Основ законодательства РФ об охране здоровья граждан сказано: «Необходимым предварительным условием медицинского вмешательства является информированное добровольное согласие гражданина», а в ст. 31 уточняется понятие права граждан на информацию о состоянии здоровья: «Каждый гражданин имеет право в доступной для него форме получить имеющуюся информацию о состоянии своего здоровья, включая сведения о результатах обследования, наличии заболевания, его диагнозе и прогнозе, методах лечения, связанных с ними рисках, возможных вариантах медицинского вмешательства, их последствиях и результатах проведенного лечения».

Информация о состоянии здоровья гражданина предоставляется ему, а в отношении лиц, не достигших возраста 15 лет, и граждан, признанных в установленном законом порядке недееспособными, — их законным представителям лечащим врачом, заведующим отделением лечебно-профилактического учреждения или другими специалистами, принимающими непосредственное участие в обследовании и лечении.

Вопросы предоставления информации регулируются не только указанными отраслевыми нормативно-правовыми актами, но и гражданским законодательством РФ. Обязанность предоставления информации закреплена в Гражданском кодексе Российской Федерации, Федеральном законе «О защите прав потребителей». По общему правилу гражданско-правовая ответственность не может наступать при отсутствии вины причинителя вреда, однако независимо от вины причинителя вреда возмещается вред жизни и здоровью гражданина вследствие недостоверной или недостаточной информации о ней (ст. 1095 ГК РФ), если причинитель вреда (врач, ЛПУ) не докажет, что вред возник вследствие непреодолимой силы или нарушения потребителем установленных правил пользования товаром или результатами услуги. Таким образом, недостоверность или недостаточность информации о медицинской услуге — условие объективного вменения вины медицинским работникам при причинении вреда жизни и здоровью пациента при медицинском вмешательстве.

В Федеральном законе «О лекарственных средствах» указывается, что пациент должен быть информирован о лекарственном средстве; об ожидаемой эффективности; о безопасности лекарственного средства, степени риска для пациента; о действиях пациента в случае непредвиденных эффектов влияния лекарственного средства на состояние его здоровья; об условиях страхования здоровья пациента.

Информированное добровольное согласие (ИДС) на медицинское вмешательство всегда должно оформляться исключительно в письменной форме, с подписями врача, предоставившего информацию, и пациента. Только в таком случае при возникновении конфликта можно будет дать объективную оценку объему предоставленной информации. Часть информации для облегчения работы врача может быть представлена в типовой форме ИДС, но все особенности именно данного медицинского вмешательства с учетом индивидуальных особенностей состояния здоровья пациента необходимо дополнительно фиксировать документально. До настоящего времени федеральным органом исполнительной власти, осуществляющим реализацию государственной политики и нормативно-правовое регулирование в сфере здравоохранения, не разработана и не утверждена типовая форма ИДС. Кроме того, решение проблемы ИДС зависит от уровня правового сознания как пациента, так и медицинских работников.

Данные обстоятельства побудили нас провести социологическое исследование среди врачей и пациентов. Основные задачи исследования — изучение уровня информированности работников здравоохранения о правах пациентов и о проблеме ИДС; изучение информированности пациентов о своих правах, обязанностях работников здравоохранения и проблеме ИДС с целью разработки и последующего практического использования в КВУ типовой формы ИДС. В ходе исследования проведено анкетирование 122 врачей и 265 пациентов КВД из 11 регионов РФ. Анализ полученных сведений показал, что 67,2 % врачей согласие на медицинское вмешательство от пациентов получают всегда; 31,1 % врачей согласие получают, но не всегда, и лишь 1,7 % такового не получают. При этом всегда фиксируют письменно данное согласие лишь 39,3 % опрошенных, фиксируют не всегда — 31,3%, вообще не заполняют данную форму — 29,6 % опрошенных. На вопрос о том, с какого возраста необходимо получать ИДС у пациента, лишь 11,5 % ответили правильно — с 15 лет. Обращает внимание отсутствие знаний у всех опрошенных о случаях, предусмотренных законодательством РФ, в которых медицинская помощь может оказываться без согласия граждан. Мнение самих врачей о том, какой порядок оформления согласия должен быть, следующее: 88,5 % считают правильным оформление ИДС письменно, 5 % считают приемлемой устную форму согласия, 6,5 % затруднились с ответом. При выявлении проблем, возникающих при заполнении ИДС, 45,9 % опрошенных отметили трудности общения с пациентом, 41,0% — недостаток правовых знаний и 29,5 % — дефицит времени. При самооценке правовых знаний врачом 27,9 % опрошенных оценили свои знания как достаточные, 55,7 % — как недостаточно полные и 16,4 % сочли свой уровень правовых знаний низким.

На вопрос о том, знают ли пациенты о своих правах, в том числе на ИДС, при оказании медицинской помощи, утвердительно ответили 18 % респондентов. На вопрос о желании знать о состоянии своего здоровья, о результатах проведенного обследования, о методах лечения 87 % респондентов ответили уверенно утвердительно. На вопрос о том, объясняют ли пациентам все, что они желают знать о состоянии их здоровья, о результатах обследования, о возможных методах лечения и связанном с ними риске, утвердительно ответили 33% опрошенных; 28 % респондентов ответили «скорее да, чем нет», 33 % ответили «скорее нет, чем да»; 6 % респондентов ответили отрицательно. На вопрос, давали ли они согласие на госпитализацию, обследование, лечение и в какой форме: 17 % респондентов ответили, что давали согласие в письменной форме; 63 % респондентов ответили, что давали согласие в устной форме, а 20 % опрошенных отметили, что не давали согласие на госпитализацию, обследование и лечение ни в какой форме.

Полученные результаты свидетельствуют о низком уровне правовых знаний по проблемам ИДС как у медицинских работников, так и у пациентов и диктуют необходимость разработки типовой формы ИДС. Пока такая форма не разработана на федеральном уровне, это можно сделать на уровне органов управления здравоохранением субъекта РФ и, безусловно, на уровне конкретного КВД. ИДС должно оформляться документально и содержать следующие сведения: о состоянии здоровья больного (его заболевании, результатах обследования, прогнозе заболевания, возможных осложнениях заболевания, включая отдаленные последствия); медицинских технологиях и рисках, связанных с их использованием; возможных вариантах медицинского вмешательства, его результатах и последствиях, включая

отдаленные последствия; о правах и обязанностях пациента, находящегося в поликлинике (стационаре) КВУ; об организации и персонале, осуществляющем медицинское вмешательство.

Таким образом, мониторинг контроля качества медицинской помощи является важнейшим фактором улучшения качества и доступности специализированной помощи, рационального использования финансовых, материальных, человеческих ресурсов.

Литература

1. Кубанова А.А. Новые методы управления качеством в дерматовенерологии / А.А. Кубанова, А.А. Мартынов // Российский конгресс дерматовенерологов. Материалы научных трудов. Т. II. 23—26 сентября 2003 г. С. 177.
2. Кунгуров Н.В. Дерматовенерология: принципы и методология планирования ресурсного обеспечения с учетом современных задач и лицензионных требований / Н.В. Кунгуров, Н.В. Зильберберг, Н.И. Рогинко и [др.]. Екатеринбург: Изд-во «Чароид», 2008. 295 с. ISBN 978-5-94166-088-9.
3. Юргель Н.В. О контроле качества медицинской помощи населению / Н.В. Юргель // Вестник Росздравнадзора. 2008. № 3. С. 19—20.
4. Хабриев Р.У. Оценка качества медицинской помощи с использованием индикаторов / Р.У. Хабриев // Неотложная терапия. 2005, № 2. С. 5—9.
5. Воробьев П.А. Стандартизация в здравоохранении / П. А. Воробьев // Проблемы стандартизации в здравоохранении. 2007, № 7. С. 3—9.
6. Вялков А.И. Оценка эффективности деятельности учреждений здравоохранения / А.И. Вялков // Главврач. 2005. № 3. С. 25—33.
7. Приказ № 170 от 14.03.2007 г. Минздравсоцразвития России «Об организации деятельности врачебной комиссии медицинской организации».
8. Методические рекомендации № 2002/140 от 20.12.2002 г. «Учет, оценка и анализ клинико-экспертной деятельности ЛПУ».
9. Приказ Минздрава РФ и Федерального фонда ОМС от 24.10.1996 г. № 363/77 «О совершенствовании контроля качества медицинской помощи населению Российской Федерации».
10. «Положение о лицензировании медицинской деятельности», утвержденное постановлением Правительства Российской Федерации от 22 января 2007 г. № 30 (Собрание законодательства РФ, 2007, № 5, ст. 656).

ОСОБЕННОСТИ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ МЕЛАНОМЫ КОЖИ В КРАСНОЯРСКОМ КРАЕ

С.Н. ГЫРЫЛОВА, Т.Г. РУКША, Г.А. АРУТЮНЯН

CLINICAL EPIDEMIOLOGY OF SKIN MELANOMA IN THE KRASNOYARSK TERRITORY

S.N. GYRYLOVA, T.G. RUKSHA, G.A. ARUTYUNYAN

Об авторах:

С.Н. Гырылова — аспирант кафедры патологической физиологии Красноярского государственного медицинского университета

Т.Г. Рукша — заведующая кафедрой патофизиологии с курсом клинической патофизиологии Красноярского государственного медицинского университета, д.м.н.

Г.А. Арутюнян — заместитель главного врача по хирургической части Красноярского краевого онкологического диспансера, д.м.н.

Представлен анализ заболеваемости и смертности от меланомы кожи в Красноярском крае за период 2003—2007 гг. Проведено клинико-эпидемиологическое исследование больных меланомой кожи с целью выявления клинических и гистопатологических факторов риска развития данного заболевания.

Ключевые слова: эпидемиология, клинические особенности, меланома кожи.

Pathological Physiology Chair with a Course of Clinical Pathophysiology, Prof. V.F. Voino-Yasenetsky State Medical University, Krasnoyarsk, Ministry of Health Care and Social Development of the Russian Federation, KGUZ Krasnoyarsk Territorial Oncology Dispensary

An analysis of the skin melanoma incidence and mortality in the Krasnoyarsk Territory in 2003-2007 is presented. A clinical and epidemiological study was conducted in skin melanoma patients to reveal the clinical and histopathological risk factors of the disease development.

Key words: skin melanoma, incidence rate, epidemiology

Меланома кожи является агрессивным злокачественным новообразованием, рост заболеваемости которым регистрируется во всем мире. Самый высокий уровень заболеваемости отмечается в США и Австралии (до 20—40 случаев на 100 000 населения). В Европе этот показатель находится в пределах 5—7 на 100 000 населения [1]. В России абсолютное число впервые выявленных случаев данного заболевания с 1982 г. увеличилось в 2 раза, заболеваемость в 2003 г. составляла у мужчин 3,2, у женщин 3,6 на 100 000 населения.

Цель настоящего исследования—изучение заболеваемости меланомой кожи на территории Красноярского края и выявление факторов риска развития данного заболевания.

Материалы и методы

Клинико-эпидемиологическое исследование предусматривало изучение распространенности ме-

ланомы кожи среди населения Красноярского края за 2003—2007 гг.

Оценка заболеваемости, смертности, характеристика верификации диагноза меланомы кожи и других злокачественных новообразований кожи проводилась по данным годовых статистических отчетов. Осуществлен ретроспективный анализ 350 историй болезней пациентов с диагнозом злокачественной меланомы кожи (рубрика С43) в соответствии с МКБ-10, находившихся на стационарном лечении в КГУЗ «Красноярский краевой онкологический диспансер» с 2003 по 2007 г. Для обработки полученных данных использовался пакет программ Statistica 6.0. Применялись методы описательной статистики, тесты на нормальность распределения признаков проводились по критерию Колмогорова—Смирнова с поправкой Лиллиефорса, сравнение групп осуществлялось при помощи критерия χ^2 и t -критерия Стьюдента для независимых групп.

Результаты исследования и обсуждение

Наметилась стойкая тенденция к увеличению заболеваемости меланомой кожи населения как Красноярского края, так и Российской Федерации

в целом. При этом темпы прироста показателей по Красноярскому краю выше темпов прироста показателей по РФ. Так, стандартизованные показатели заболеваемости за пятилетний период с 2003 по 2007 г. в Красноярском крае увеличились на 34,4%, а общероссийские — лишь на 10,3%, со среднегодовыми темпами прироста данного показателя 9 и 2,5% соответственно (табл. 1).

Общероссийские показатели заболеваемости женского населения статистически значимо выше, чем мужского населения, на протяжении всего пятилетнего периода (например, в 2007 г. $4,05 \pm 0,06$ и $3,49 \pm 0,07$ на 100 000 населения соответственно; $p < 0,01$). При этом заболеваемость меланомой кожи у женщин Красноярского края достоверно не отличалась от соответствующих показателей заболеваемости мужского населения.

С другой стороны, в Красноярском крае выявлены различия в темпах прироста стандартизованного показателя заболеваемости между мужчинами и женщинами: 80 и 14% соответственно, в то время как в РФ аналогичные показатели составляют

9 и 11% соответственно. Таким образом, увеличение заболеваемости меланомой кожи в Красноярском крае происходит в основном за счет мужского населения (табл. 2).

На протяжении исследуемого периода увеличилось число больных меланомой кожи, выявленных на I—II стадии заболевания (с 52 до 61%), что сопровождалось уменьшением числа впервые выявленных больных на поздних стадиях заболевания (табл. 3). Вероятно, это связано с повышением качества первичной диагностики меланомы, а также повышением информированности пациентов о злокачественных новообразованиях кожи.

Регистрируемые показатели заболеваемости населения Красноярского края другими злокачественными новообразованиями кожи были намного выше показателей заболеваемости меланомой, однако среднегодовой темп их прироста составил лишь 3%, т.е. намного меньше аналогичного показателя при меланоме кожи (9%), и в то же время практически совпадал с показателем среднегодового темпа прироста по РФ — 2,8% (табл. 4).

Таблица 1

Общая заболеваемость меланомой кожи населения Красноярского края и Российской Федерации за 2003—2007 гг. (на 100 000 населения; $M \pm m$)

Год	Красноярский край	Российская Федерация
2003 г.	$3,2 \pm 0,65$	$3,4 \pm 0,04$
2004 г.	$3,6 \pm 0,70$	$3,57 \pm 0,04$
2005 г.	$4,4 \pm 0,78$	$3,54 \pm 0,04$
2006 г.	$3,6 \pm 0,35$	$3,56 \pm 0,04$
2007 г.	$4,3 \pm 0,38$	$3,75 \pm 0,05$

Таблица 2

Заболеваемость меланомой кожи мужского и женского населения Красноярского края и Российской Федерации за 2003—2007 гг. (на 100 000 населения; $M \pm m$)

	Красноярский край	Российская Федерация
	Мужское население	
2003 г.	$2,0 \pm 0,75$	$3,2 \pm 0,06$
2004 г.	$2,8 \pm 0,90$	$3,26 \pm 0,06$
2005 г.	$4,1 \pm 1,09$	$3,36 \pm 0,07$
2006 г.	$2,9 \pm 0,46$	$3,28 \pm 0,07$
2007 г.	$3,6 \pm 0,52$	$3,49 \pm 0,07$
	Женское население	
2003 г.	$4,3 \pm 1,05$	$3,6 \pm 0,06$
2004 г.	$4,2 \pm 1,04$	$3,86 \pm 0,06$
2005 г.	$4,7 \pm 1,00$	$3,72 \pm 0,06$
2006 г.	$4,3 \pm 0,52$	$3,85 \pm 0,06$
2007 г.	$4,9 \pm 0,56$	$4,05 \pm 0,06$

Стандартизованные показатели заболеваемости злокачественными новообразованиями кожи, исключая меланому, в Красноярском крае практически совпадали с общероссийскими показателями. Однако показатели заболеваемости мужского населения Красноярского края злокачественными новообразованиями кожи были достоверно ниже, чем общероссийские показатели в течение данного пятилетнего

периода. Анализируя распределение заболевших по полу, следует подчеркнуть, что заболеваемость злокачественными новообразованиями кожи среди женщин в Красноярском крае была выше, чем среди мужчин (на 100 000 населения): в 2007 г. $29,0 \pm 1,37$ и $19,0 \pm 1,18$ соответственно ($p < 0,001$), в то время как подобных различий в общероссийских показателях не отмечено (табл. 5).

Таблица 3

Характеристика верификации диагноза у больных с впервые выявленной меланомой кожи

Показатель	2003 г.	2004 г.	2005 г.	2006 г.	2007 г.
Количество (в %) больных с заболеванием, выявленным:					
на I—II стадии	52	47	48	46	61
на III стадии	23	18	29	27	19
на IV стадии	16	21	14	14	10
Количество (в %) больных с неустановленной стадией заболевания	9	14	9	13	11

Таблица 4

Общая заболеваемость другими злокачественными новообразованиями кожи (исключая меланому) населения Красноярского края и Российской Федерации за 2003—2007 гг. (на 100 000 населения; $M \pm m$)

Год	Красноярский край	Российская Федерация
2003 г.	$21,2 \pm 1,68$	$21,28 \pm 0,1$
2004 г.	$22,6 \pm 1,75$	$22,87 \pm 0,1$
2005 г.	$22,7 \pm 1,76$	$22,31 \pm 0,1$
2006 г.	$25,0 \pm 0,92$	$23,28 \pm 0,11$
2007 г.	$23,7 \pm 0,90$	$23,74 \pm 0,11$

Таблица 5

Заболеваемость другими злокачественными новообразованиями кожи (исключая меланому) мужского и женского населения Красноярского края и Российской Федерации за 2003—2007 гг. (на 100 000 населения; $M \pm m$)

Год	Красноярский край		Российская Федерация
	Мужское население		
2003 г.	$16,6 \pm 2,16$		$23,40 \pm 0,18^*$
2004 г.	$18,6 \pm 2,32$		$25,38 \pm 0,18^*$
2005 г.	$17,6 \pm 2,27$		$24,49 \pm 0,18^*$
2006 г.	$20,9 \pm 1,24$		$25,61 \pm 0,19^*$
2007 г.	$19,0 \pm 1,18$		$26,24 \pm 0,19^{**}$
	Женское население		
2003 г.	$25,4 \pm 2,54$		$20,67 \pm 0,13$
2004 г.	$25,9 \pm 2,58$		$22,07 \pm 0,13$
2005 г.	$27,3 \pm 2,65$		$21,64 \pm 0,13$
2006 г.	$30,2 \pm 1,39$		$22,56 \pm 0,14^{**}$
2007 г.	$29,0 \pm 1,37$		$22,84 \pm 0,14^{**}$

Примечание. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

В структуре смертности населения Российской Федерации от злокачественных новообразований доля меланомы незначительна. Однако прирост стандартизованного показателя смертности населения Российской Федерации от злокачественных новообразований кожи за пятилетний период составил 9%, среднегодовой темп прироста — 2%. С другой стороны, эти показатели значительно меньше аналогичных по Красноярскому краю (62 и 16% соответственно). Хотя на протяжении последних 4 лет показатели смертности от меланомы кожи в Красноярском крае сохранялись практически без изменений, в 2007 г. отмечалось увеличение данного показателя (в 1,7 раза) по сравнению с 2006 г. (с 1,6 до 2,7 на 100 000 населения; табл. 6).

Показатели смертности от других злокачественных новообразований кожи населения Красноярского края статистически значимо не отличаются от общероссийских показателей. Соответственно отмечена общая тенденция к снижению смертности от злокачественных новообразований кожи. Так, среднегодовой темп убыли в Красноярском крае составил 4,7%, а в РФ 1,8% (см. табл. 6).

С целью изучения особенностей клинических проявлений меланомы кожи проанализированы истории болезней 350 пациентов с меланомой кожи (238 женщин, 112 мужчин). Средний возраст больных составил $56,3 \pm 0,79$ года. Выявлены значительные различия среднего возраста заболевших между лицами мужского и женского пола: средний возраст мужчин был достоверно ниже, чем женщин: $53,9 \pm 1,4$ и $57,3 \pm 0,98$ года соответственно ($p < 0,05$). Из 350 пациентов 255 (72,5 %) были с впервые установленным диагнозом. Средний возраст этих

больных составил $55,8 \pm 0,98$ года. При этом средний возраст в течение исследуемого периода достоверно не изменялся ни у мужчин, ни у женщин. Является установленным фактом, что меланома кожи развивается у более молодых лиц, составляющих наиболее работоспособную часть населения, по сравнению с другими видами злокачественных новообразований [2]. По социальному положению пациенты с впервые установленным диагнозом распределялись следующим образом: учащиеся — 1,5%, неработающие — 7%, инвалиды I—III групп — 10%, пенсионеры — 30,5%. Доля рабочих и служащих была наибольшей — 51%.

Проведен анализ стадий меланомы по классификации Американского объединенного комитета по раку (AJCC): достоверных различий по полу и возрасту не обнаружено (табл. 7). Из 255 пациентов с впервые установленным диагнозом у 54 (21%) больных меланома кожи выявлена на III—IV стадии, т. е. у этой группы больных имелась метастазирующая опухоль. Средний возраст пациентов, выявленных на III—IV стадии заболевания, составил $57,22 \pm 2,11$ года и достоверно не отличался от среднего возраста пациентов с I—II стадией заболевания ($55,4 \pm 1,11$ года).

Анатомическое расположение первичного очага меланомы — важный прогностический фактор заболевания. Новообразования, возникающие в различных областях тела, ведут себя по неизвестным причинам по-разному. Таким образом, локализация опухоли часто служит независимой переменной для прогнозирования исхода заболевания [1]. При анализе локализаций меланомы кожи было обнаружено, что у 39 % пациентов опухоль располага-

Таблица 6

Смертность от злокачественных новообразований кожи населения Красноярского края и Российской Федерации за 2003—2007 гг. (на 100 000 населения; $M \pm m$)

Год	Красноярский край	Российская Федерация
	Меланома кожи	
2003 г.	$1,67 \pm 0,47$	$1,34 \pm 0,03$
2004 г.	$1,84 \pm 0,50$	$1,38 \pm 0,03$
2005 г.	$1,80 \pm 1,50$	$1,43 \pm 0,03$
2006 г.	$1,6 \pm 0,23$	$1,42 \pm 0,03$
2007 г.	$2,7 \pm 0,31$	$1,46 \pm 0,03^*$
	Другие злокачественные новообразования кожи	
2003 г.	$1,17 \pm 0,40$	$0,69 \pm 0,02$
2004 г.	$0,85 \pm 0,34$	$0,66 \pm 0,02$
2005 г.	$1,00 \pm 0,37$	$0,69 \pm 0,02$
2006 г.	$1,06 \pm 0,19$	$0,66 \pm 0,02$
2007 г.	$0,9 \pm 0,18$	$0,64 \pm 0,02$

Примечание. * $p < 0,05$

лась в области туловища, у 31 % — в области нижних конечностей, у 11 % — на верхних конечностях, у 13 % — в области лица, волосистой части головы и на шее, у 3,5 % — в области наружных половых органов; у 2,5 % пациентов определялись метастазы меланомы без первично выясненной локализации. Установлено, что у мужчин достоверно чаще, чем у женщин, встречалась локализация в области туловища: 52 и 32,5% соответственно ($p<0,05$). У женщин чаще, чем у мужчин, меланома кожи диагностировалась в области нижних конечностей: 37 и 19% соответственно ($p<0,05$; табл. 8).

Агрессивность меланомы кожи определяется высоким риском метастазирования, при развитии которого эффективность противоопухолевой терапии

является крайне низкой. Для выявления клинических факторов прогноза заболевания был проведен анализ локализации меланомы кожи и определение риска развития метастазов (табл. 9). Установлено, что в группе пациентов с локализацией меланомы в области нижних конечностей доля пациентов без метастазов достоверно больше, чем в группах пациентов с локализацией в области туловища ($p<0,05$) и верхних конечностей ($p<0,05$). Таким образом, у лиц женского пола ниже риск метастазирования в связи с тем, что у них преобладает локализация меланомы в области нижних конечностей.

Среди клинико-морфологических разновидностей наиболее часто встречалась поверхностно-распространяющаяся меланома (57%), а так-

Таблица 7

Стадии меланомы кожи у пациентов с впервые установленным диагнозом по классификации AJCC

Стадия	Все больные		Мужчины		Женщины	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
I A	27	10	6	7	21	12
I B	109	42,5	35	41	74	43
II A	53	20,5	16	19	37	22
II B	15	6	8	9	7	4
III	36	14	15	17	21	12
IV	18	7	6	7	12	7

Таблица 8

Локализация меланомы кожи у пациентов с впервые установленным диагнозом

Локализация меланомы	Все больные		Мужчины		Женщины	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Туловище	100	39	45	52	55	32,5
Нижние конечности	78	31	16	19	62	37
Верхние конечности	29	11	8	9	21	12,5
Лицо, волосистая часть головы, шея	33	13	10	12	23	14
Наружные половые органы	9	3,5	5	6	4	2
Без первично выясненной локализации	6	2,5	2	2	4	2

Таблица 9

Количество (в %) больных с метастазами при различных видах локализации меланомы кожи

Локализация меланомы	Пациенты с метастазами	Пациенты без метастазов
Туловище ($n=146$)	47	53
Нижние конечности ($n=97$)	30	70
Верхние конечности ($n=48$)	48	52
Лицо, волосистая часть головы, шея ($n=39$)	33	67
Наружные половые органы ($n=8$)	25	75

же узловая форма пигментной меланомы (28%; табл. 10). При анализе структуры распределения клиничко-морфологических форм меланомы по полу за 2003—2007 гг. значимых различий не выявлено, за исключением того, что лентиго-меланома наблюдалась только у женщин. При поверхностно-распространяющейся меланоме кожи образование было в 98% случаях представлено единичным пятном, папулой или бляшкой с неравномерной окраской розового, серого, коричневого, синюшного и черного цветов, с неровными краями, иногда с венчиком гиперемии по периферии. Размеры варьировали от 0,3 до 4,5 см. Опухоль развивалась на фоне пигментных невусов, а также возникала на неизменной коже и прогрессировала на протяжении нескольких месяцев или лет. Со временем появлялись жалобы на зуд в области образования, интенсивный рост по периферии, опухоль становилась более плотной при пальпации. Средний возраст больных с поверхностно-распространяющейся формой меланомы составил $54,7 \pm 1,31$ года. 69% пациентов с этой клинической формой заболевания составили женщины, 31% — мужчины.

Узловая меланома представляла собой единичный узел, размеры которого варьировали от 0,8 до 7 см в диаметре, с неравномерной окраской розового, красного, вишневого, бурого, коричневого и черного цветов. Такие образования, возвышающиеся над кожей, травмировались, кровоточили, воспалялись либо изъязвлялись самостоятельно. Средний возраст больных с узловой формой меланомы составил $57,4 \pm 1,80$ года и достоверно не отличался от возраста пациентов с поверхностно-распространяющейся меланомой. Распределение по полу также было сходным: 63% женщин и 37% мужчин. Узловая меланома чаще, чем поверхностно-распространяющаяся меланома, локализовалась в области туловища (53 и 38% соответственно; $p < 0,05$) и наружных половых органов (6 и 1% соот-

ветственно; $p < 0,05$). С другой стороны, не было отмечено ни одного случая узловой меланомы с локализацией в области лица, шеи и волосистой части головы. Хотя считается, что подтип меланомы рассматривается как важный прогностический фактор и узловая меланома признана более агрессивной формой опухоли, так как имеет более выраженную вертикальную фазу роста и соответственно более высокий уровень инвазии [3], достоверных различий между пациентами с метастазами и без метастазов при оценке клиничко-морфологических типов меланомы нами не выявлено.

Акрально-лентигозная меланома была выявлена у 3 пациентов с характерной локализацией для этой формы заболевания в области I пальцев стоп кистей. Выявлено 4 случая лентиго-меланомы, которая встречалась исключительно у женщин. При обследовании ни у пациентов с акрально-лентигозной меланомой, ни у пациентов с лентиго-меланомой метастазов не обнаружено. У одной пациентки установлен достаточно редкий диагноз узловой меланомы, развившейся из голубого невуса в области левого предплечья.

Толщина агрессивного компонента рассматривается как одна из наиболее важных переменных для определения прогноза. В проанализированных историях болезней верификация уровня инвазии при гистологическом исследовании проводилась по Кларку. У большей части пациентов (42—55%) определялся 3-й уровень инвазии меланомы, когда клетки опухоли заполняют весь сосочковый слой дермы, но не проникают в сетчатый слой (табл. 11). Также установлено, что при 5-м уровне инвазии меланомы по Кларку выявлялось достоверно большее количество пациентов с метастазами, чем пациентов без метастазов (табл. 12). Однако, несмотря на то что риск метастазирования опухоли увеличивается соответственно уровню инвазии, даже при минимальном уровне инвазии развитие метастазов не исключено.

Таблица 10

Клиничко-морфологические формы злокачественной меланомы кожи у больных с впервые установленным диагнозом

Тип меланомы	Все больные		Мужчины		Женщины	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Поверхностно-распространяющаяся	145	57	45	52	100	60
Узловая	72	28,5	27	32	45	26,5
Веретенноклеточная	13	5	5	6	8	5
Беспигментная	5	2	2	2	3	1,5
Лентиго-меланома	4	1,5	0	0	4	2
Акрально-лентигозная	3	1	1	1	2	1
Узловая из голубого невуса	1	0,5	0	0	1	0,5
Неустановленная форма	12	4,5	6	7	6	3,5

Таблица 11

Характеристика верификации уровня инвазии по Кларку при гистологическом исследовании у больных с впервые выявленной меланомой кожи (% больных)

Уровень инвазии по Кларку	2003 г.	2004 г.	2005 г.	2006 г.	2007 г.
1-й	0	0	0	2	0
2-й	11	20	7	12	9
3-й	45	46	46	42	55
4-й	36	19	26	24	18
5-й	4	6	14	10	11
Не установлен	4	9	7	10	7

Таблица 12

Риск метастазирования у пациентов с впервые установленным диагнозом в зависимости от уровня инвазии меланомы по Кларку (% больных)

Уровень инвазии по Кларку	Метастазы определялись	Метастазы не определялись
1-й	0	0,5
2-й	6	13
3-й	23	53*
4-й	26	24
5-й	17	7,5**
Не установлен	28	2

Примечание. * $p < 0,01$; ** $p < 0,05$.

У 20% больных с впервые выявленной меланомой кожи при сборе анамнеза определялись различные эндокринологические заболевания: узловой зоб, сахарный диабет, ожирение различной степени тяжести. Онкологические заболевания в анамнезе установлены у 14% пациентов.

Заключение

В Красноярском крае за период 2003—2007 гг. отмечается тенденция к увеличению заболеваемости меланомой кожи, а также регистрируется увеличение уровня смертности от данного злокачественного новообразования кожи, что совпадает с общероссийской тенденцией. Особую настороженность вызывают более высокие темпы прироста данных показателей в Красноярском крае, которые превосходят аналогичные показатели в РФ. Более 50% больных меланомой кожи составляет работо-

способная часть населения, что позволяет расценивать данное заболевание как серьезную социальную проблему. Выявленные клинические и гистопатологические особенности течения заболевания могут быть использованы для усовершенствования качества первичной, вторичной и третичной профилактики меланомы, направленной на выявление лиц с высоким риском развития опухоли, а также для оптимизации ранней диагностики заболевания и определения риска метастазирования.

Литература

1. Дерматоонкология. //Под ред. Г.А. Галил-Оглы, В.А. Молочкова, Ю.В. Сергеева. М.: Медицина для всех, 2005. С.170—199.
2. Markovic S. N., Erickson L.A., Rao R.D. et al. Malignant Melanoma in the 21st Century. Part I: Epidemiology, Risk Factors, Screening, Prevention, and Diagnosis. // *Mayo Clin. Proc.* 2007. Vol. 82, № 3. P. 364—380.
3. Cummins D. L., Cummins J. M., Pantle H. et al. Cutaneous Malignant Melanoma. // *Mayo Clin. Proc.* 2006. Vol. 81, № 4. P. 500—507.

НЕИНВАЗИВНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КОЖИ

А.В. РЕЗАЙКИН, А. А. КУБАНОВА, А.В. РЕЗАЙКИНА

NON-INVASIVE SKIN EXAMINATION METHODS

A. V. REZAIKIN, A. A. KUBANOVA, A. V. REZAIKINA

Об авторах:

А.В. Резайкин — заведующий отделением ультразвуковой диагностики ГУ «Городская поликлиника № 220» Департамента здравоохранения г. Москвы, к.м.н.

А.А. Кубанова — директор ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий», академик РАМН, д.м.н., профессор

А.В. Резайкина — ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий», д.м.н., профессор

Представлены данные литературы, в том числе результаты ранее проведенных авторами исследований по использованию ультразвукового сканирования в диагностике кожных заболеваний, преимущественно новообразований кожи. Приведены результаты исследований с использованием других современных неинвазивных методов оценки физиологических и морфологических параметров кожи.

Ключевые слова: кожа, неинвазивные методы, физиологические параметры, морфологические параметры.

The article discloses data from literature including the results of previous studies carried out by the authors on using ultrasonic diagnostics for the examination of patients with skin diseases, mainly skin neoplasms. Besides, the article presents the results of a study involving other present-day non-invasive methods to assess physiological, structural and morphological skin parameters.

Key words: skin, non-invasive methods, physiological parameters.

Прижизненное изучение кожи с помощью неинвазивных методов исследования в настоящее время привлекает внимание не только дерматовенерологов, но и других специалистов. Это, прежде всего, связано с появлением новой высокотехнологичной медицинской аппаратуры, возможностью реализации новых научных идей при финансовой поддержке как государственных, так и иных структур и другими положительными тенденциями в области медицины вообще и в дерматовенерологии, в частности. Существующие неинвазивные методы используются для оценки как физиологических, так и морфологических параметров кожи.

К методам оценки физиологических параметров кожи относятся: измерение трансэпидермальной потери воды (определение состояния липидного барьера), корнеометрия и определение диэлектрической постоянной рогового слоя с использованием соответствующих датчиков, рН-метрия (оценка состояния барьерной функции эпидермиса), себометрия и визioskанирование (определение кожного сала), когезиометрия (оценка выраженности шелушения), кутометрия и акустическое сканирование (ревизиометрия), эластометрия (оценка упругоэластических параметров кожи), колорометрия и мексаметрия (оценка содержания различных пигментов в коже), профилография мимических морщин, изучение микрорельефа. Эти методы исследования некоторые

авторы называют аппаратными. Они позволяют оценить эффективность коррекции возрастных изменений кожи [15, 18, 27—30, 33, 77].

Методы, предназначенные для изучения морфологических параметров кожи, можно разделить на оптические и ультразвуковые. Одним из наиболее информативных оптических методов является конфокальная лазерная микроскопия кожи, которая позволяет послойно оценивать структуру кожи без ее повреждения с разрешающей способностью, фактически сравнимой с гистологическим исследованием. При использовании этого метода возможна оценка рогового, зернистого, шиповатого, базального слоев, эпидермиса, базальной мембраны, сосочкового и сетчатого слоев дермы [7, 19].

Следующим по значимости оптическим методом исследования является оптическая когерентная томография, в основе которой лежит принцип, аналогичный ультразвуковому исследованию, но использующий в качестве зондирующего излучения низкоинтенсивный свет ближнего инфракрасного диапазона мощностью до 1,5 мВт, не повреждающий ткани. К достоинствам метода относятся высокое разрешение (15 мкм), хорошая контрастность изображений, достаточная глубина зондирования кожи (1,5 мм) [10, 21, 22].

Применение прижизненной микроскопии кожи и ее различных вариантов (поверхностная микроскопия, микроскопия в падающем свете, эпифлюоресцентная микроскопия (дерматоскопия), интравитальная микроскопия), также относящихся к оптическим методам исследования, началось с ра-

бот Н. Hinselmann [23]. Дерматоскопия позволяет проводить дифференциальную диагностику доброкачественных и злокачественных новообразований, а также других дерматозов [6]. Разновидностью дерматоскопии является контактная биомикроскопия, проводимая с применением контактных объективов, фронтальная линза которых соприкасается с поверхностью изучаемого в коже объекта, а освещение осуществляется в падающем свете в нескольких спектральных режимах с помощью опаклилляминатора, специальных светоделительных пластин и фильтров. Кроме изучения микроскопического изображения с увеличением от 50 до 600 раз контактная биомикроскопия дает возможность провести витальную микрофлуориметрию выбранных в коже объектов в режиме аутофлуоресценции или с использованием экзогенных флуорохромов. Метод является эффективным при диагностике некоторых буллезных дерматозов [23].

К разновидностям оптических методов исследования можно отнести лазерную биофотометрию [1] и флуоресцентный метод, при которых измеряется интенсивность отраженного тканью излучения на выбранных длинах волн. При флуоресцентном методе под воздействием лазерного излучения происходит возбуждение флуорохромов в биологическом объекте, и по показателям отражения кожи можно судить о ее микрорельефе и типе [4]. В условиях *in vivo* показана зависимость оптических параметров кожи (коэффициента поглощения, коэффициента светопроводимости) от ее морфологии и функционального состояния [14, 32].

Одним из основных неинвазивных методов исследования кожи является ультразвуковое сканирование. Впервые ультразвуковое исследование кожи было проведено в 1979 г. С этого времени постоянно происходило усовершенствование аппаратуры и датчиков, позволяющих визуализировать слои кожи [55, 56, 62].

Для изучения кожи обычно применяют ультразвуковые сканеры с частотой ультразвуковых волн от 20 МГц и выше. Приборы с частотой ультразвука 50 МГц используются только для оценки эпидермиса, ультразвуковая техника с частотой 20 МГц применяется для исследования эпидермиса, дермы и подкожной жировой клетчатки [73]. Высокочастотные ультразвуковые диагностические приборы позволяют изучать изменения структуры кожи при псориазе, склеродермии, атрофодермии Пазини-Пьерини, сосудистых и пигментных новообразованиях, базально-клеточном раке, экземе, атопическом дерматите, витилиго, возрастных изменениях, а также используются при оценке эффективности фототерапии и косметических средств, изучении фотобиологических процессов в коже. Биопсийные пробы участков пораженной кожи имеют ограниченную ценность для сравнительного исследования, так как структура образцов подвергается

существенным механическим изменениям при заборе материала. Преимуществом ультразвукового исследования кожи являются неинвазивность, мгновенный результат, возможность проведения неоднократных исследований любого участка кожного покрова с анализом микроструктуры ткани *in situ*. Эхография также используется для обнаружения непальпируемых новообразований в глубоких слоях кожи, которые обычно не выявляются при клиническом осмотре. К недостаткам ультразвукового метода исследования можно отнести низкую специфичность и необходимость высокой квалификации исследователя, так как при недостаточном опыте врача информативность метода значительно снижается. При ультразвуковом исследовании эпидермис выглядит как гиперэхогенная однородная структура в виде четкой полосы. Дерма неоднородна по эхогенности [8, 9, 16, 49].

Использование специального ультразвукового дерматологического сканера с частотой 22 МГц позволяет сканировать кожу на глубине 8–10 мм. Ультрасонография позволяет определить размеры и плотность инфильтрата или опухолевых образований, глубину инвазии, характер роста, особенности границ с окружающими тканями, толщину кожи и подкожной жировой клетчатки, сосудов микроциркуляторного русла [5, 24, 34, 35, 37–39, 46, 47, 52, 54, 57, 60, 66–68, 72, 76, 80]. Ценность ультрасонографии с использованием высокочастотных датчиков заключается также в том, что образования на коже, в частности опухоли сосудистого и меланоцитарного происхождения, можно выявить еще до рождения ребенка, что позволяет определить своевременную адекватную тактику лечения [41–43, 51, 58, 65, 69, 70, 79].

Современная ультразвуковая аппаратура с высокочастотными датчиками обеспечивает распознавание природы метастазов опухолей в кожу по ультразвуковым признакам характера роста, плотности, расположению сосудистой сети [45, 48, 59, 74].

Цветовое доплеровское картирование оказывает существенную помощь в дифференциальной диагностике узловых элементов кожи по изменению сосудистого рисунка [71].

Ультразвуковая диагностика наиболее широко применяется при обследовании пациентов с различными новообразованиями. Некоторые исследователи считают, что ультразвуковое исследование в настоящее время является единственным доступным неинвазивным методом, позволяющим получить информацию о толщине меланомы [40, 50, 63, 64, 78, 82, 83]. При ультразвуковом исследовании датчиками с частотной характеристикой 20 МГц и выше первичная меланома кожи определяется как структура гомогенная, гипоэхогенная, что позволяет дифференцировать ее от доброкачественных опухолей еще в дооперационном периоде [44, 53, 61, 75, 81].

Интерес к ультразвуковой диагностике при обследовании больных опухолевыми образованиями не угасает и в нашей стране, что, возможно, объясняется постоянным ростом заболеваемости новообразованиями кожи в Российской Федерации, появлением новых методов лечения, требующих многократных контрольных исследований [11—13]. Результаты наших исследований показали возможность определения внутрикожных границ базально-клеточного рака с помощью ультразвуковой аппаратуры с полифункциональным датчиком 9—12 МГц и применения «телевой подушки», что расширяет границы использования полифункционального датчика в практической деятельности дерматовенеролога и онколога [20]. Позже было установлено, что ультразвуковая томография при использовании линейных датчиков с частотными характеристиками 7—10 и 4—12 МГц позволяет измерить толщину первичной меланомы кожи у 77,5% больных. При этом для исключения компрессии опухоли датчиком на область ее локализации помещали пластиковые кольца; для обеспечения хорошего контакта между датчиком и новообразованием использовали достаточное количество геля [3].

Среди ультразвуковых методов исследования особое место занимает ультразвуковое биомикроскопирование с частотной характеристикой 50 МГц. Сравнительная оценка результатов использования этого метода для дифференциальной диагностики новообразований кожи с результатами гистологического исследования показала, что чувствительность ультразвукового биомикроскопирования варьирует от 78 до 86%, специфичность — от 37 до 69% [36].

Лазерная доплеровская флоуметрия, позволяющая определять скорость капиллярного кровотока (кожного кровотока) и интенсивность тканевого кровоснабжения, находит применение для оценки состояния кожи у больных аллергодерматозами [2, 17, 26, 28, 31]. Установлено, что кожное кровообращение зависит от функциональной активности анатомической области и особенностей строения капиллярных сетей [25].

Таким образом, неинвазивные методы исследования играют важную роль при обследовании больных дерматозами. Возможность использования для исследования кожи не только узкоспециализированных высокочастотных датчиков от 20 МГц и выше, но и полифункциональных датчиков с частотной характеристикой 7—12 МГц, входящих в стандартный комплект большинства ультразвуковых аппаратов, открывает широкие перспективы для применения ультразвуковой диагностики в амбулаторно-поликлинических условиях, особенно для диагностики новообразований кожи.

Литература

1. Алексеев Ю.В. Биометрический метод оценки оптической плотности структур в дерматокосметологии / Ю.В. Алексеев, Н.Н. Потекаев, Ю.Б. Макарова // Экспер. и клин. дерматокосметол. 2003. № 2. С. 29—32.
2. Ананьев К.Г. Влияние условий труда на состояние микроциркуляции кожи у работников железнодорожного транспорта // Росс. журн. кожн. и венерич. болезней. 2000. №3. С. 33—35.
3. Аллахвердян Г.С. Возможности ультразвуковой томографии при меланоме кожи; диагностика первичной опухоли и метастазов в регионарных лимфатических узлах: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Г.С. Аллахвердян. М., 2006. 38 с.
4. Баграмова Г.Э. Оценка результатов поверхностного химического пилинга гликолевой кислотой кожи лица с учетом данных неинвазивного флуоресцентного экспресс-метода: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Г.Э. Баграмова. М., 2002. 18 с.
5. Безуглый А.П. Ультразвуковое сканирование кожи в практике врача-дерматокосметолога/А.П. Безуглый, Л.Е. Ахмедова, Н.Н. Потекаев и др. // Экспер. и клин. дерматокосметол. 2006. № 6. С. 42—48.
6. Богущ П.Г. Дерматоонкологическая помощь населению: актуальные задачи / П.Г. Богущ, И.Г. Богущ, Г.Д. Селицкий и др. // Вестн. дерматол. и венерол. 2003. № 6. С. 7—9.
7. Варданян К.Л. Конфокальная сканирующая лазерная микроскопия — современный неинвазивный метод оценки морфофункционального состояния кожи / К.Л. Варданян, Е.А. Васильевская, Т.С. Кузьмина и др. // Росс. журн. кожн. и венерич. болезней. 2009. № 1. С. 45—50.
8. Васильевская Е.А. Использование высокочастотной ультразвуковой аппаратуры для исследования кожи в норме и при патологии/Е.А. Васильевская, Е.В. Иванова, Т.С. Кузьмина и др. // Эксперимент. и клинич. дерматокосметол. 2005. № 1. С. 33—37.
9. Васильевская Е.А. Оценка эффективности фототерапии псориаза с использованием метода ультразвукового сканирования/ Е.А. Васильевская, Т.С. Кузьмина, Н.Н. Потекаев и др. // Экспер. и клин. дерматокосметол. 2005. № 5. С. 5—10.
10. Дербалюк Е.Н. Возможности оптической когерентной томографии в прижизненной диагностике базалиомы (часть 1) // Экспер. и клин. дерматокосметол. 2006. № 4. С. 2—7.
11. Дубенский В.В. Современные аспекты эпидемиологии, патогенеза, клиники и лечения базально-клеточного рака/ В.В. Дубенский, А.А. Гармонов // Вестн. дерматол. и венерол. 2004. № 6. С. 7—12.
12. Дубенский В.В. Новообразования кожи в практике дерматовенеролога. Вопросы эпидемиологии, этиологии и патогенеза, диагностики/ В.В. Дубенский, Вл.В. Дубенский // Вестн. дерматол. и венерол. 2008. № 6. С. 22—40.
13. Дубенский В.В. Новообразования кожи в практике дерматовенеролога. Вопросы эпидемиологии, этиологии и патогенеза, диагностики / В.В. Дубенский, Вл.В. Дубенский, А.А. Гармонов // Вестник дерматол. и венерол. 2009. № 1. С. 18—26.
14. Журавель В.Г. Оптика и морфология кожи/ В.Г. Журавель // Вестн. дерматол. и венерол. 1997. № 2. С. 8—11.
15. Иванова Е.В. Оценка морфофункционального состояния стареющей кожи лица неинвазивными методами/ Е.В. Иванова, С.Б. Ткаченко, И.В. Кошелева // Экспер. и клин. дерматокосметол. 2007. № 6. С. 37—42.
16. Иванова Е.В. Оценка морфофункционального состояния стареющей кожи лица неинвазивными методами/ Е.В. Иванова, С.Б. Ткаченко, И.В. Кошелева // Экспер. и клиническая дерматокосметол. 2008. № 3. С. 2—7.
17. Кантемирова Б.И. Динамика показателей микроциркуляции кожи в процессе комплексного лечения атопического дерматита у детей: автореф. дис. ... канд. мед. наук. 2005. 18 с.
18. Кузьмина Т.С. Современные неинвазивные методы оценки морфофункционального состояния кожи / Т.С. Кузьмина, Е.А. Васильевская, Е.В. Иванова и др. // Росс. журн. кожн. и венерич. болезней. 2008. № 4. С. 29—32.
19. Лукашева Н.Н. Прижизненная конфокальная лазерная сканирующая микроскопия в оценке патоморфологических изменений при аллергодерматозах // Экспер. и клин. дерматокосметол. 2008. № 5. С. 30—34.

20. Новиков А.Г. Использование ультразвукового исследования для определения объемных параметров базально-клеточного рака кожи / А.Г. Новиков, А.В. Резайкин // Вестн. дерматол. и венерол. 2004. № 2. С. 42—44.
21. Петрова Г.А. Оптическая когерентная томография в прижизненной диагностике дерматозов и мониторинге структурных изменений кожи / Г.А. Петрова, Е.Н. Дерпалюк, Н.Д. Гладкова и др. // Росс. журн. кожн. и венерич. болезней. 2005. № 3. С. 16—23.
22. Петрова Г.А. Экспериментальная идентификация компонентов ОКТ-изображений здоровой тонкой кожи человека / Г.А. Петрова, К.С. Петрова, И.Л. Шлишко и др. // Росс. журн. кожн. и венерич. болезней. 2008. № 6. С. 53—58.
23. Прохоренков В.И. Возможности контактной биомикроскопии при дифференциальной диагностике буллезных поражений кожи / В.И. Прохоренков, А.И. Новиков, Ю.В. Карачева и др. // Росс. журн. кожн. и венерич. болезней. 2008. № 4. С. 32—34.
24. Раннева Е.А. Современные инструментальные методы диагностики целлюлита / Е.А. Раннева, С.А. Зубкова, В.Н. Мовчан // Экспер. и клин. дерматокосметол. 2007. № 4. С. 48—51.
25. Расулова А.В. Кровообращение в поверхностных слоях мягких тканей тела человека (кожный кровоток) / А.В. Расулова, В.Г. Лелюк, С.Э. Лелюк // Эхография. 2003. Т. 4, № 2. С. 129—136.
26. Руднева Н.С. Исследование микроциркуляции методом лазерной доплеровской флоуметрии у детей, страдающих atopическим дерматитом // Росс. журн. кожн. и венерич. болезней. 2006. № 5. С. 38—41.
27. Санчес Е.А. Косметологическая коррекция инволюционно-измененной кожи лица: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е.А. Санчес. М., 2002. 20 с.
28. Ступина В.А. Современная диагностика состояния кожи и ее возрастные особенности / В.А. Ступина, В.Н. Федорова, Н.Е. Мантурова и др. // Экспер. и клин. дерматокосметол. 2006. № 2. С. 18—22.
29. Тимофеев Г. Методы аппаратного исследования кожи человека / Г. Тимофеев // Косметика и медицина. 2005. № 6. С. 30—37.
30. Тимофеев Г. Диагностика кожи — больше чем научные исследования / Г. Тимофеев // Косметика и медицина. 2007. № 5. С. 70—74.
31. Тихонова И.В. Возрастные особенности функционирования микроциркуляторного русла кожи человека // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2005. Т. 91, № 10. С. 1132—1137.
32. Утц С.Р. Новые оптические методы диагностики и лазеротерапии в дерматологии: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / С.Р. Утц. М., 1998. 33 с.
33. Фаустова Е.Е. Оценка эффективности методов косметической коррекции с учетом акустических свойств кожи: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е.Е. Фаустова. М., 1999. 17 с.
34. Altmeyer P. Phenomena of Ultrasound in Dermatology / P. Altmeyer, K. Hoffmann, P. Stucker. 1992. P. 55—79.
35. Avci O. Basal cell carcinoma of the nipple — an unusual location in a male patient / O. Avci, U. Pabuççuoğlu, M.A. Koçdoret. al. // J. Dtsch. Dermatol. Ges. 2008. Vol. 6, № 2. P. 130—132.
36. Bajaj M.S. Ultrasound biomicroscopic appearances of eyelid lesions at 50 MHz / M.S. Bajaj, L. Aalok, V. Gupta et. al. // J. Clin. Ultrasound. 2007. Vol. 35, № 8. P. 424—429.
37. Berson M. High-resolution realtime ultrasonic scanner / M. Berson, L. Vaillant, F. Patat et. al. // Ultrasound Med. Biol. 1992. Vol. 18. P. 471—478.
38. Bhatt K.D. Ultrasound biomicroscopy of the skin to detect a sub-clinical neuroma of the proximal nail-fold / K.D. Bhatt, R. Fernandes, R. Dhurat // Indian. J. Dermatol. Venereol. Leprol. 2006. Vol. 72, № 1. P. 60—62.
39. Bobadilla F. Pre-surgical high resolution ultrasound of facial basal cell carcinoma correlation with histology / F. Bobadilla, X. Wortsman, C. Muñoz et. al. // Cancer Imaging. 2008. Vol. 22, № 8. P. 163—172.
40. Breitbart E.W. Potentials and limits of ultrasonic diagnosis for the in vivo determination of the depth of invasion of malignant melanoma / Breitbart E.W., Rehpenning W. // Hautkr. 1983. Vol. 158, № 13. P. 975—987.
41. Brix M. Antenatal diagnosis of rapidly involuting congenital hemangiomas / M. Brix, V. Soupre, O. Enjolras et. al. // Rev. Stomatol. Chir. Maxillofac. 2007. Vol. 108, № 2. P. 109—111.
42. Cammarota T. Current uses of diagnostic high-frequency US in dermatology / Cammarota T., Pinto F., Magliaro A. et. al. // Eur. J. Radiol. 1998. Vol. 27, suppl. 2. S. 215—223.
43. Chen C.P. Prenatal sonographic findings of Klippel-Trénaunay-Weber syndrome / C.P. Chen, S.P. Lin, T.Y. Chang et. al. // J. Clin. Ultrasound. 2007. Vol. 35, № 7. P. 409—412.
44. Clement A. Value of high-frequency (20MHz) in the diagnosis of cutaneous tumors / Clement A., Faget P., Hoffel C. et. al. // J. Radiol. 1998. Vol. 79, № 4. P. 313—317.
45. Conley M. Complete heart block and cardiac tamponade secondary to Merkel cell carcinoma cardiac metastases / M. Conley, K. Hawkins, D. Ririe // South. Med. J. 2006. Vol. 99, № 1. P. 74—78.
46. Desai T.D. The use of high-frequency ultrasound in the evaluation of superficial and nodular basal cell carcinomas / T.D. Desai, A.D. Desai, D.C. Horowitz et. al. // Dermatol. Surg. 2007. Vol. 33, № 10. P. 1220—1227.
47. Dräger H. Cylindromatosis / H. Dräger, R. Kruse, J. Reifemberger et. al. // Hautarzt. 2006. Vol. 57, № 4. P. 332—333.
48. Fujii Y. Metastasis from a primary angiosarcoma of the scalp to the colon: sonographic and CT findings / Y. Fujii, H. Koibuchi-Yamaoka, N. Taniguchi et. al. // J. Clin. Ultrasound. 2008. Vol. 36, № 2. P. 110—112.
49. Fornage B.D. Imaging of the skin with 20 MHz US / B.D. Fornage, M.N. McGavran, M. Duvic et. al. // Radiology. 1993. Vol. 189, № 1. P. 69—76.
50. Gassenmaier G. Value of high resolution ultrasound in determination of vertical tumor thickness in malignant melanoma of the skin / Gassenmaier G., Kisewetter F., Schell H. et. al. // Hautarzt. 1990. Vol. 41. P. 360—364.
51. Grisey A. Prenatal diagnosis and management of a case of rapidly involuting congenital hemangioma. Review of literature / A. Grisey, P. Roth, A. Martin et. al. // J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. (Paris). 2006. Vol. 35, № 4. P. 405—410.
52. Gustin A.F. Pilomatricoma in a pediatric patient / A.F. Gustin, E.Y. Lee // Pediatr Radiol. 2006. Vol. 36, № 10. P. 1113.
53. Happe M. High resolution 20 MHz ultrasound diagnosis in dermatology for noninvasive imaging of malignant melanomas / M. Happe, M. Freitag, M. Stucker et. al. // Z. Artztl. Fortbild. Qualitatssich. 1997. Vol. 91, № 4. P. 347—353.
54. Hassell D.S. Imaging appearance of diffuse neurofibroma / D.S. Hassell, L.W. Bancroft, M.J. Kransdorf et. al. // Am. J. Roentgenol. 2008. Vol. 190, № 3. P. 582—588.
55. Hoffmann K. Digital 20 mhz sonography of the skin in preoperative diagnosis / K. Hoffmann, S. Gammal, U. Matthes et. al. // Z. Hautarzt. 1989. Vol. 64, № 10. P. 851—858.
56. Hoffmann K. Digital 20 mhz sonography of basalioma in the B-scan / K. Hoffmann, M. Stucker, S. Gammal et. al. // Hautarzt. 1990. Vol. 41, № 6. P. 333—339.
57. Hwang J.Y. The common ultrasonographic features of pilomatricoma / J.Y. Hwang, S.W. Lee, S.M. Lee // J. Ultrasound. Med. 2005. Vol. 24, № 10. P. 1397—1402.
58. Ikwueke I. Congenital dermal sinus tract in the lateral buttock: unusual presentation of atypically midline lesion / I. Ikwueke, S. Bandara, S.J. Fishman et. al. // J. Pediatr. Surg. 2008. Vol. 43, № 6. P. 1200—1202.
59. Jessup T.P. Metastatic Merkel cell carcinoma diagnosed by EUS-guided FNA of a rapidly progressive peripancreatic mass / T.P. Jessup, W.Y. Wassef, R.K. Yantiss et. al. // Gastrointest. Endosc. 2006. Vol. 63, № 3. P. 527—529.
60. Jin W. Sonographic findings of an eccrine spiradenoma: case report and literature review / W. Jin, G.Y. Kim, B.L. Lew et. al. // J. Ultrasound. Med. 2008. Vol. 27, № 5. P. 813—818.
61. Jovanovic D.L. Value of preoperative determination of skin tumor thickness with 20-MHz ultrasound / D.L. Jovanovic, V. Katic, B. Jovanovic // Arch. Dermatol. 2005. Vol. 141, № 2. P. 269—270.
62. Kraus W. Diagnostic progress in malignant melanomas by high-resolution real-time sonography / W. Kraus, A. Narl-Elias, P. Schramm // Hautarzt. 1985. Vol. 36, № 7. P. 386—392.
63. Lassau N. Prognostic value of high-frequency Sonography and color Doppler sonography for the preoperative assessment of melanomas // Amer. J. Roentgenol. 1999. Vol. 172, № 2. P. 457—461.

64. Lassau N. Prognostic value of Angiogenesis Evaluated with High Frequency and Color Doppler Sonography for Preoperative Assessment of Melanomas / N. Lassau, S. Koscielny, V. Avril et.al.// Am.J.Roentgenol. 2002. Vol. 178, № 7. P. 1547—1551.
65. Li L. Prenatal diagnosis and outcomes of fetuses with cutaneous hemangioma/ L.Li, P.Qin//Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. 2006. Vol. 41, № 9. P. 605—607.
66. Liffers A. In vivo biomicroscopy of the skin with high resolution magnetic resonance imaging and high frequency ultrasound / A. Liffers, M. Vogt, H. Ermet//Biomed. Tech. 2003. Vol. 48, № 5. P. 130—134.
67. Lizzi L. Three-dimensional imaging for diagnostic ultrasound in dermatology/ L. Lizzi //J.Amer.Academy Dermatol. 1993. Vol. 23. P. 171—175.
68. Martínez Ramos D. Subcutaneous seeding of hepatocellular carcinoma after fine-needle percutaneous biopsy / D. Martínez Ramos, C. Villegas Cánovas, V. Senet Vizcaíno// Rev. Esp. Enferm. Dig. 2007. Vol. 99, № 6. P. 354—357.
69. Miyakoshi K. Occipital scalp hemangioma: prenatal sonographic and magnetic resonance images/ K. Miyakoshi, M. Tanaka, T. Matsumoto et.al. J. Obstet Gynaecol Res. 2008. Vol. 34, № 4 (Pt 2). P. 666—669.
70. Neis A.E. Sonographic characteristics of linear nevus sebaceous sequence/ A.E. Neis, K.L. Johansen, R.W. Harms et.al.//Ultrasound. Obstet. Gynecol. 2006. Vol. 27, № 3. P. 323—324.
71. Ozkol M. The significance of venous dominance in color Doppler ultrasound for the diagnosis of primary nodular skin lesions: a new perspective in classification/ M. Ozkol, L. Yoleri, M.A. Demir et.al.//Clin Imaging. 2006. Vol. 30, № 1. P. 43—47.
72. Price R.R. Basic concepts of ultrasonic tissue characterization/ R.R. Price, T.B. Jones, J. Goddard et.al.//Radiol. Clin.North.Am. 1980. № 18. P. 21—30.
73. Rallan D. Ultrasound in dermatology — basic principles and applications/ D. Rallan, C. Harland//Clin. E[p.Dermatol. 2003. Vol. 28, № 6. P. 632—638.
74. Riley S. Cutaneous metastasis of esophageal adenocarcinoma with an unusual presentation/S. Riley, T. Wah //J. Clin. Ultrasound. 2007. Vol. 35, № 5. P. 289—292.
75. Schwaighofer B. Diagnostic value of ultrasound in malignant melanoma/ Schwaighofer B., Pohl-Markl H., Fruhwald F. et.al.//ROFO Fortschr. Geb.Rontgenstr. Nuklearmed. 1987. Vol. 146, № 4. P. 409—411.
76. Seldenari Pagnoni A. Echographic Evaluation with image Analysis of Normal Skin: Variation according to Age and Sex/ A. Seldenari Pagnoni, Adi Nardo, A. Glannetti//Skin. Pharmacol. 1994. № 7. P. 201—209.
77. Serup J. Non-Invasive Methods and the Skin / J. Serup, B. Gregor, G.L. Grove//Handbook. 2-nd Ed. 2006.
78. Solivetti F.M. Role of high-definition and high frequency ultrasoundography in determining tumour richness in cutaneous malignant melanoma / F.M. Solivetti, V.F. Thorel, A. Di Luca Sidozzi et.al.//Radiol. Med. 1998. Vol. 96, № 6. P. 558—561.
79. Stein J.A. Noninvoluting congenital hemangioma / J.A. Stein, N. Heidary, M. Pulitzer et.al.// Dermatol. Online. J. 2008. Vol. 15, № 14(5). P. 7.
80. Thangappan A. Iris cavernous hemangioma associated with multiple cavernous hemangiomas in the kidney, brain, and skin / A. Thangappan, C.L. Shields, M. Dinowitz et.al.//Cornea. 2007. Vol. 26, № 4. P. 481—483.
81. Turnbull P.H. A 40-100 MHz B-scan ultrasound backscatter microscope for skin imaging / P.H. Turnbull, B.G. Starkoski, K.A. Harasiewicz et.al.//Ultrasound. Med.Biol. 1995. Vol. 21, № 1. P. 79—88.
82. Ulrich J. Ultrasound in dermatology. Part 2. Ultrasound of regional lymph node basins and subcutaneous tumours/ J. Ulrich, C. Voit // Eur.J.Dermatol. 2001. Vol. 11, № 1. P. 73—79.
83. Weichenthal M. The velocity of ultrasound in human primary melanoma tissue — implications for the clinical use of high resolution sonography/ M. Weichenthal, P. Mohr, E.W. Breitbart//BMC Dermatol. 2001. Vol. 1, № 1. P. 1.



Скин-кап – инновация, проверенная временем!

Уникальная лекарственная форма – аэрозоль

Негормональное безопасное и эффективное лечение атопического дерматита, псориаза, себорея

- 95% пациентов с псориазом позитивно относятся к терапии аэрозолем Скин-кап, их оценка - «очень нравится» или «нравится».

- 78% пациентов с псориазом отметили, что лечение псориаза при применении препарата Скин-кап проще и лучше в сравнении с другими препаратами*

* Кубанов А.А., Петровский Ф.И. Влияние эффективной терапии (активированный пиритион цинка (Скин-кап)) на качество жизни больных псориазом. Вестник дерматологии и венерологии. 2008. №2. с. 80-85.

БИОМИКРОЧИПЫ И ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ В ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИИ*

Н.В. КИТАЕВА, Н.В. ФРИГО, И.А. ВОЛКОВ, В.В. ЛИХАРЕВА

BIOMICROCHIPS AND ASPECTS OF THEIR APPLICATION IN DERMATOVENEROLOGY (A REVIEW OF LITERATURE)

N.V. KITAYEVA, N.V. FRIGO, I.A. VOLKOVA, V.V. LIKHAREVA

Об авторах:

Н.В. Китаева — ведущий научный сотрудник ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий», к.м.н.

Н.В. Фриго — гл. научный сотрудник ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий», д.м.н.

И.А. Волков — научный сотрудник ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий», к.б.н.

В.В. Лихарева — младший научный сотрудник ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий»

Приведены данные современной научной литературы, посвященные технологиям создания биомикрочипов, достижениям и перспективам их применения в медицине и, в частности, в дерматовенерологии. Представлены способы и этапы технологии создания биомикрочипов, существующие системы детекции. Показано, что биомикрочипы могут быть использованы в биомедицинских исследованиях и, в частности, в дерматовенерологии для идентификации возбудителей ИППП и условно-патогенных микроорганизмов, возбудителей микозов, определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам, проведения генетических исследований (определения экспрессии генов) у больных злокачественными новообразованиями кожи и дерматозами, выявления антител к возбудителям инфекций, передаваемых половым путем, и маркеров онкологических и аутоиммунных заболеваний.

Ключевые слова: ДНК-чип, белковый чип, биомикрочиповые технологии, дерматозы, инфекции, передаваемые половым путем (ИППП), уrogenитальные инфекции.

The article presents data from the present-day scientific literature on biomicrochip development technologies as well as achievements and prospects of their application in medicine, in particular, dermatovenerology. The article describes methods and stages of biomicrochip development technologies and current detection systems. Biomicrochips can be used for biomedical examinations and, in particular, in dermatovenerology to identify pathogens of STDs, opportunistic microorganisms and mycosis pathogens, to determine the microorganisms' sensitivity to antimicrobial drugs, for genetic tests (gene expression determination) in patients with malignant skin neoplasms and dermatoses, as well as in case of need to detect STD anti-pathogen antibodies and markers of oncological and autoimmune diseases.

Key words: DNA chip, protein chip, biomicrochip technologies, dermatoses, sexually transmitted diseases (STD), urogenital infections.

Методы классической микробиологии — бактериоскопические и бактериологические, применяемые в настоящее время в практике для идентификации возбудителей инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), и изучения их свойств, позволяющие с высокой чувствительностью и специфичностью выявить возбудителя, изучить его чувствительность к антимикробным препаратам, а также оценить фенотипические свойства изучаемых патогенов. Несмотря на перечисленные достоинства постановки, данные методы имеют ряд недостатков, таких как длительность постановки, трудоемкость в использовании, нестабильность качества диагностических наборов и питательных сред, связанная с отсутствием их стандартизации, что снижает диагностическую значимость используемых методов.

Быстрая идентификация микроорганизмов в микробном сообществе, определение их фенотипических и генотипических свойств возможны при использовании технологии биомикрочипов. Наиболее важной особенностью данной технологии является возможность одновременного изучения и анализа большого набора биомолекул в исследуемом биоматериале.

Для определения этиологии инфекционного заболевания часто требуется постановка нескольких иммунологических тестов с целью выявления различных видов антител к возбудителю заболевания. Такие ситуации могут возникнуть при смешанных инфекциях, когда организм поражается сразу несколькими возбудителями, а также при инфекциях, сопровождающихся развитием сложного иммунного ответа и формированием на разных стадиях заболевания различных видов антител. К числу подобных заболеваний могут быть отнесены, в частности, такие распространенные ИППП, как сифилис, ВИЧ-инфекция и гепатиты. Необходимость одновремен-

© Н.В. Китаева и соавт., 2009
Vestn Dermatol Venerol 2009; 6: 33–45
Контактная информация: frigo@cnikvi.ru

* Статья поступила в редакцию 18.09.2009

ного выявления антител к нескольким антигенам может возникнуть также при диагностике онкологических и аутоиммунных заболеваний. Современный рынок диагностических наборов реагентов предлагает в основном моноспецифические тест-системы, позволяющие определять только один или несколько близкородственных микроорганизмов. Однако успехи в развитии иммунохимии, в частности получение моноклональных антител и разработка эффективных способов выделения специфических иммуноглобулинов из поликлональных сывороток, позволяют в значительной степени унифицировать их свойства и сделать возможным проведение комплексного многопрофильного анализа с использованием так называемых белковых чипов.

К настоящему времени создано множество различных типов биомикрочипов, широко применяемых в самых разнообразных областях молекулярной биологии и медицины [1, 2]. Однако, несмотря на многообразие вариантов биомикрочипов, можно выделить некоторые общие черты, характерные для всех биомикрочипов. Прежде всего с помощью микрочипов можно проводить анализ одновременно по многим параметрам.

В качестве основы (подложки) для создания биомикрочипов используют стекло, пластик, металл, мембраны и другие материалы. На этой подложке могут быть иммобилизованы различные биологические макромолекулы, в первую очередь ДНК, а также РНК, белки, полисахариды, различные низкомолекулярные лиганды. По устоявшейся терминологии, иммобилизуемые молекулы принято называть зондами, а те молекулы, которые находятся в исследуемом образце и подвергаются анализу, — мишенями. Как правило, зонды наносят на поверхность биомикрочипа в определенной последовательности, число зондов может составлять 10^3 — 10^5 на 1 см^2 . Значения концентраций анализируемых макромолекул находятся обычно в пределах $\sim 1 \text{ пмоль}$ — 10 мкмоль .

ДНК-чипы

Основные особенности анализа ДНК исследуемого объекта с помощью биомикрочипа можно проиллюстрировать на примере ДНК-чипа. В основе анализа с помощью ДНК-чипа лежит метод гибридизации. Химической основой метода гибридизации является соединение комплементарных одноцепочечных молекул ДНК/РНК с образованием двухцепочечной молекулы. В ходе гибридизации на ДНК-чипе происходит соединение ДНК/РНК-мишени со специфичным олигонуклеотидным зондом, представляющим собой последовательность, комплементарную участку анализируемой нуклеиновой кислоты. Результат гибридизации оценивается по уровню флуоресцентного сигнала, определяемого с помощью специальных сканеров. С помощью ДНК-чипа можно проводить изучение

и идентификацию вирусных и бактериальных нуклеиновых кислот, ДНК или мРНК клеток человека, в частности с целью выявления генетически обусловленных заболеваний [3].

В настоящее время при анализе ДНК исследуемого объекта на ДНК-чипе широко применяются флуоресцентно меченные молекулы ДНК, позволяющие проводить высокочувствительный и быстрый анализ нуклеиновых кислот на микрочипах.

Введение флуоресцентной метки в молекулу ДНК/РНК можно осуществить путем непосредственного присоединения красителя к изучаемой последовательности, например, с помощью флуоресцентно меченных праймеров. При проведении другого, непрямого, метода изучаемая нуклеотидная последовательность содержит биотин, к которому в свою очередь присоединяются красители, соединенные со стрептавидином. Большим достижением в этой области стала разработка специальных флуоресцентных комплексов, содержащих более 1000 флуоресцентных молекул каждый. Применение подобных комплексов пропорционально увеличивает интенсивность сигнала, а следовательно, и чувствительность метода.

Биомикрочипы можно классифицировать на основе различных характеристик. Так, в зависимости от носителя, на котором иммобилизуются зонды, различают матричные и гелевые чипы. В матричных биомикрочипах олигонуклеотиды или одноцепочечная ДНК (зонды) иммобилизуют на поверхности мембран или пластинок из стекла, пластика, полупроводника или металла. В гелевых микрочипах зонды иммобилизуют в слое полиакриламидного геля толщиной 10—20 мкм, нанесенного на специально обработанную поверхность стекла [4].

Следующая характеристика, на основе которой можно классифицировать биомикрочипы, это область применения. Микрочипы могут быть условно разделены на универсальные и специализированные.

Универсальные биочипы содержат олигонуклеотиды всех возможных последовательностей определенной длины. Принцип исследования анализируемой ДНК на универсальных чипах заключается в том, что исследуемую пробу гибридизуют со всеми возможными олигонуклеотидами и определяют, какие из них образуют совершенные дуплексы с исследуемой пробой. Затем последовательность пробы восстанавливают по перекрывающимся участкам этих олигонуклеотидов.

Наиболее распространенным сегодня можно назвать другой тип чипов, так называемые специализированные микрочипы, разрабатываемые в основном для биомедицинских исследований. Их специализация определяется конкретными задачами, например, необходимостью идентификации последовательностей функционально значимых генов,

точечных нуклеотидных замен в них [5, 6], а также более крупных перестроек [7].

Такие биомикрочипы представляют собой набор тщательно сконструированных олигонуклеотидных зондов со сходными гибридизационными характеристиками [8]. Процесс выбора таких зондов зависит от конкретной задачи, но тем не менее основывается на базовых принципах, общих для всех случаев. Одним из таких требований является минимизация набора зондов, что позволяет упростить структуру чипа и соответственно процесс получения результатов анализа, а также снизить себестоимость микрочипа [9, 10]. Тем не менее в ряде случаев для получения более надежных результатов при идентификации одной полиморфной единицы могут быть использованы несколько зондов, различающихся по структуре (например, по длине, положению переменного основания и пр.).

Примерами успешного применения специализированных биомикрочипов являются: детекция мутаций, ответственных за развитие β -талассемии [11, 12], идентификация аллельных вариантов локуса HLA DQA1 генома человека [13], идентификация и дифференциация близкородственных видов бактерий [14] и др.

Благодаря небольшим размерам, низкой себестоимости, простоте в использовании и высокой скорости анализа специализированные биомикрочипы являются весьма конкурентоспособными по сравнению с классическими тест-системами для обнаружения патогенных микроорганизмов, определения их лекарственной устойчивости, продукции токсинов и др.

Отдельную нишу среди всего многообразия биомикрочипов занимают экспрессионные микрочипы, применяемые для мониторинга экспрессии генов многих организмов, включая растения [15], дрожжи [16, 17] и человека [18–20]. Применение экспрессионных биомикрочипов позволяет точнее описать сложные заболевания и выявить новые гены, их обуславливающие, тем самым позволяя находить мишени для разработки новых лекарственных препаратов, а также проводить исследования эффективности лекарственной терапии, что уже сегодня широко используется фармацевтическими компаниями [21, 22].

Наконец, биомикрочипы могут быть классифицированы по технологии изготовления, а именно по принципу нанесения зондов на поверхность чипа.

На сегодняшний день существуют два основных подхода к изготовлению биомикрочипов. Первая технология основана на размещении на чипах предварительно синтезированных (синтез *non in situ*) олигонуклеотидов или полученных с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) одноцепочечных фрагментов ДНК. Вторая технология позволя-

ет синтезировать олигонуклеотиды непосредственно на поверхности чипа (*on-chip*), т. е. провести синтез *in situ*.

Синтез non in situ. Технология, основанная на размещении предварительно синтезированных олигонуклеотидов или полученных с помощью ПЦР одноцепочечных фрагментов ДНК, применяется для создания двух видов биомикрочипов. Исторически первыми были разработаны биомикрочипы с размещёнными на них олигонуклеотидами. Несмотря на ряд недостатков (необходимость предварительного синтеза большого количества олигонуклеотидов, ограничение ёмкости чипа предельно в 1000 ячеек), такие биомикрочипы могут применяться для детекции некоторых клинически значимых онкомаркеров, HLA типирования (типирования главного комплекса гистосовместимости человека — HLA комплекса), выявления некоторых наследственных заболеваний, антибиотикорезистентности, онкозаболеваний, связанных с возникновением определённых нуклеотидных замен в строго определённых сайтах генов. Все эти области применения могут иметь клиническое значение.

Другим распространённым типом биомикрочипов, разработанных по технологии синтеза *non in situ*, являются так называемые «к-ДНК-чипы». Это биомикрочипы, на поверхность которых нанесены одноцепочечные молекулы ДНК. При разработке и использовании таких биомикрочипов процессы амплификации и гибридизации ДНК могут осуществляться различными способами.

В более традиционном и простом подходе амплификация ДНК и гибридизация амплифицированной ДНК с биомикрочипом проводятся в две отдельные стадии. Такие двухстадийные методы были разработаны для идентификации мутаций в β -глобиновом гене, вызывающем наследственное заболевание β -талассемию, определения аллелей в гене гистосовместимости HLA DQA1, нуклеотидного полиморфизма в гене μ -опиоидного рецептора [23], определения ряда бактериальных генов, ответственных за резистентность к антибиотикам и синтез некоторых токсинов [24].

В других подходах гибридизацию на биомикрочипе объединяют с амплификацией на биомикрочипе в одну стадию, что ускоряет и упрощает анализ.

Размещение олигонуклеотидных зондов, фрагментов ДНК/РНК на поверхности биомикрочипа осуществляется с помощью специальных роботов, получивших название принтеров, или «Agtagers». Принтеры различаются по способу переноса вещества на подложку-матрицу: печать с использованием твёрдых головок, касающихся поверхности биомикрочипа, а также бесконтактная печать с использованием пьезоэлектрических инжекторов (*inkjet* технология).

Кроме того, перенос веществ на подложку-микроматрицу может быть осуществлен путем распыления растворов зондов из капилляра через сетчатую позиционируемую маску под действием электрического потенциала. Так, при создании ДНК-чипов этот метод позволяет наносить один и тот же олигонуклеотид на десятки и даже сотни биомикрочипов одновременно, однако существенные трудности при использовании этого метода представляет дальнейшая иммобилизация олигонуклеотидов.

Следует отметить, что основные различия в области технологии производства биомикрочипов с использованием предварительно синтезированных олигонуклеотидов и фрагментов ДНК заключаются в методах иммобилизации зондов на поверхности биомикрочипа.

Синтез in situ. Другая технология производства биомикрочипов основана на синтезе зондов непосредственно на поверхности чипа (*синтез in situ*) путем поэтапного добавления нуклеотидов к растущему концу цепи. Это технология более эффективна, чем использование предварительно синтезированных олигонуклеотидов, так как предполагает возможность одновременного синтеза всех олигонуклеотидов, размещаемых на биомикрочипе.

Существуют два подхода к синтезу биомикрочипов *in situ*: последовательный и параллельный.

Последовательный подход предусматривает использование обычного фосфорамидитного метода синтеза полинуклеотидов. При этом реагенты (5'-защищенные 3'-фосфорамидитактивированные нуклеотиды) наносятся на необходимые точки. Преимуществом последовательного подхода является его простота, отсутствие необходимости в сложном оборудовании. Однако данный подход имеет существенные недостатки, обусловленные невозможностью одновременного синтеза большого количества нуклеотидов.

Значительно более перспективны технологии, основанные на использовании принципиально другого — параллельного подхода. Он состоит в селективной активации растущих концов олигонуклеотидов. При использовании этого метода каждый новый нуклеотид обычно является защищенным по растущему концу, так что к нему не может быть присоединен последующий нуклеотид. На определенных участках биомикрочипа олигонуклеотиды подвергаются активации (депротекции) путем удаления защитной группы или другим способом. Такие олигонуклеотиды способны присоединить нуклеотиды, находящиеся в растворе. Следовательно, нет необходимости доставлять соответствующие мономеры к каждому участку чипа. Пространственная структура активных растущих концов создается в результате селективной активации (депротекции) соответствующих участков биомикрочипа.

Технология, основанная на использовании параллельного подхода, является самой прогрессив-

ной и наиболее точно соответствующей требованиям синтеза для чипов высокой плотности, поскольку обеспечивает главное достоинство ДНК-чиповой технологии — высокую степень параллелизма. При синтезе ДНК-чипов этим способом все олигонуклеотиды чипа в каждом цикле одновременно удлиняются на один нуклеотид. Это снимает все принципиальные ограничения по плотности синтеза, поскольку любое количество олигонуклеотидов может синтезироваться одновременно. Все характеристики синтеза, главными среди которых являются его скорость, эффективность каждого этапа и возможная плотность размещения олигонуклеотидных ячеек, определяются способом активации (депротекции). Различные технологии синтеза с помощью данного подхода различаются по способу депротекции или, в более широком смысле, — активации.

Наиболее распространенным и единственным практически реализованным на сегодняшний день способом является применение для селективной депротекции фотолитографических методов.

Эти методы были впервые разработаны для создания интегральных схем высокой плотности в микроэлектронных системах, таких как микропроцессоры.

Такие технологии позволяют наиболее полно использовать самое важное свойство ДНК-чиповой технологии — возможность одновременного анализа огромного количества ДНК-проб. Достигается это возможностью одновременного синтеза практически неограниченного количества олигонуклеотидов, обеспечиваемой чрезвычайно высокой плотностью размещения с размером ячейки в несколько микрометров.

Недостатком этой технологии является необходимость использования литографических масок или сложных и дорогих рефлекторных устройств. Это приводит к тому, что производство биомикрочипов такого типа доступно лишь крупным фирмам. Данную технологию при разработке своих продуктов использует компания Affymetrix (США) [25—28].

Регистрация происходящих на биомикрочипах процессов может осуществляться принципиально различными методами: радиоизотопным, оптическим, спектроскопическим, электрохимическим, хемилюминисцентным и др.

Преимуществом радиоизотопного метода детекции является высокая чувствительность, однако в последние годы он применяется все реже по причине сложности работы с радиоактивным материалом и трудности количественного анализа, так как в качестве детектора используется фотоэмульсия, интенсивность сигнала на которой пропорциональна полученному воздействию, но имеет качественный, а не количественный характер.

Среди оптических методов на сегодняшний день наиболее распространенным является флуоресцентная детекция [29—31]. Флуоресцентный

краситель может быть введен непосредственно в последовательность анализируемой нуклеиновой кислоты либо присоединен на этапе детекции через комплекс биотин—авидин. Существует широкий спектр коммерческих флюоресцентных красителей, ведущей фирмой-производителем этих веществ является MolecularProbes (США), поставляющая на рынок красители для анализа ДНК, РНК и белков. Обладая достаточной чувствительностью, метод легко оптимизируется для использования в большом числе приложений, в том числе и для массового скрининга последовательностей [32].

Для проведения сравнительного анализа гибридационных сигналов предложен метод двухпараметрической детекции, при которой анализируемая и контрольная нуклеиновая кислота метятся разными красителями. Одновременная детекция обоих сигналов в каждой из ячеек позволяет прямо сравнить их интенсивность и избежать ошибок, связанных с невозможностью воспроизводимости результатов. Данный подход широко используется при работе с экспрессионными биомикрочипами. Метод также используется для повышения точности мутационного анализа, выполняемого с помощью олигонуклеотидных биомикрочипов [33].

В качестве аппаратуры для считывания флюоресцентного сигнала применяются стационарные [29] и портативные [34] флюоресцентные микроскопы, а также лазерные сканеры [35]. Источником света в сканерах является лазер с длиной волны, соответствующей пику поглощения используемого флюоресцентного красителя. Изображение при помощи оптической системы микроскопа фокусируется на ПЗС матрице. Объектив движется над поверхностью биомикрочипа, обеспечивая его просмотр.

Среди спектроскопических методов особое место занимает масс-спектрометрия. Метод основан на измерении соотношения масса/заряд ионов. Эти ионы образуются вследствие ионизации исследуемого субстрата различными способами. Для анализа олигонуклеотидов обычно используется метод, получивший название матрикс-опосредованная лазерная десорбция/ионизация — MALDI (*Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization*). Способность дискриминировать минорный полиморфизм этим методом основана на разнице соотношения масса/заряд образуемых ионов [36]. Преимуществом метода является отсутствие необходимости в мечении ДНК и применении динамического анализа. Однако метод не находит широкого применения из-за необходимости большого количества анализируемого образца, строгих ограничений длины изучаемой последовательности, что связано с использованием десорбции образца, которая способна привести к его деградации, а также из-за низкой разрешающей способности. Метод предложен и разрабатывается фирмой Sequenom (США).

Обработка данных, полученных на биомикрочипах, как правило, сопряжена с применением нестандартных статистических методов. Переход к микрообъемам существенно увеличивает случайные вариации различных величин (обычно около 30% или даже выше) [37], которые налагаются на огромные массивы данных. С другой стороны, исследователей обычно интересуют отдельные выделенные события (выделенные гены, мутации и т. д.), которые со статистической точки зрения являются выбросами. Поэтому анализ таких событий требует обязательной перекрестной проверки. Основными источниками случайных вариаций сигналов являются флуктуации концентрации иммобилизованной ДНК, которые могут быть связаны с неоднородностью подложки, различием в размерах разных пинов механического робота, различием в размерах капель, наносимых даже одним и тем же пином и др. [38]. Изготовление биомикрочипов предъявляет высокие требования к степени запыленности и постоянству влажности помещения. Часть вариаций сигналов связана с эффектами вторичной и третичной структуры гибридуемых одонитевых молекул ДНК [39]. Процедура обработки изображений флюоресцентных пятен требует оконтуривания пятен неправильной формы с размытыми границами, а также исключения фона [40]. При использовании техники с применением двух красителей добавляется требование пространственной однородности перекрытия обоих пятен с разной окраской [41].

ДНК-чипы представляют собой быстро развивающуюся экспериментальную отрасль, которая находит множество приложений. В отличие от других молекулярно-биологических методов данный метод позволяет проводить одновременно анализ по нескольким генетическим локусам, а также выявлять минорные различия ДНК-штаммов микроорганизмов одного вида и тем самым наиболее детально анализировать ДНК-мишени.

Технология ДНК-чипов имеет значительный потенциал для применения в микробиологии, так как позволяет определять до тысячи микробных видов и родов. С помощью ДНК-чипа возможно проведение анализа целых микробных сообществ. В этом случае в число предъявляемых требований входит необходимость осуществления параллельной идентификации микроорганизмов на уровне рода или более высокого таксона.

В России первые научные исследования с целью разработки биомикрочипов были проведены в Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН под руководством академика А.Д. Мирзабекова в конце 80-х годов прошлого века. С целью определения последовательности анализируемой ДНК было предложено гибридизовать анализируемый фрагмент меченой ДНК с неизвестной последовательностью с набором иммобилизованных на подложке коротких олигонуклеотидов, представ-

ляющих собой все возможные последовательности определенной длины [42].

В настоящее время ДНК-чипы находят все большее применение в медицинских исследованиях. Так, биомикрочипы применяются для выделения возбудителей при бактериемии неясной этиологии, для диагностики энтерококковой инфекции, туберкулеза, ротавирусов группы А, листерий, выявления мутаций ВИЧ-1, предрасположенности к лейкемии у детей [42].

Технология ДНК-чипов в области дерматовенерологии может быть использована с целью детекции широкого спектра патогенов — возбудителей ИППП и микозов, определения факторов вирулентности микроорганизмов, выявления детерминант микробной антибиотикорезистентности, а также изучения уровня экспрессии генов в клетках кожи при различных патологических состояниях.

Основное преимущество использования биомикрочипов для диагностики ИППП — возможность проведения параллельного анализа широкого спектра микроорганизмов/вирусов в одном клиническом образце за короткое время [43, 44].

В Институте молекулярной биологии РАН совместно с Институтом акушерства, гинекологии и перинатологии разработан ДНК-чип для идентификации возбудителей перинатальных инфекций: вируса простого герпеса 1-го и 2-го типов (HSV-1 и HSV-2), цитомегаловируса (CMV), а также *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum*. В качестве специфичных мишеней в разработанной комплексной системе для анализа использованы: ген ДНК-полимеразы *pol* (для HSV-1, HSV-2 и CMV), ген адениндеаминазы (для *M. hominis*), ген уреазы (для *U. urealyticum*) и ген 16S рРНК (для *C. trachomatis*).

С. Noehammer и соавт. был разработан ДНК-чип для комплексной идентификации 25 патогенов, включая грамположительные кокки, ряд микроорганизмов рода *Enterobacteriaceae*, клинически значимые виды *Candida* [45]. Показано, что с помощью биочипового анализа возможно дифференцировать близкородственные виды бактерий, однако лимит детекции различается для разных микроорганизмов (от 10 клеток для *E. coli* до 10⁵ клеток для *S. aureus*), что, несомненно, нужно учитывать при разработке ДНК-чипа для диагностики ИППП в клинической практике.

С целью диагностики вирусных инфекций разработан ДНК-чип, включающий зонды для идентификации HSV-1 и HSV-2, вируса опоясывающего герпеса, вируса Эпштейна—Барр, CMV, вируса герпеса 6-го типа А и В, а также аденовирусов [46].

В ФГУ «ГНИЦ Росмедтехнологий» разработан экспериментальный ДНК-чип для определения спектра патогенных, условно-патогенных и непатогенных микроорганизмов, включающего 41 микроорганизм. В результате тестирования биоматериала, по-

лученного от пациентов с жалобами на расстройства мочеполовой сферы, на разработанной экспериментальной партии ДНК-чипов установлена высокая (100%) чувствительность выявления трех патогенных микроорганизмов (*N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* и *M. genitalium*); высокая (100%) чувствительность выявления ряда непатогенных (*Lactobacillus spp.*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. gasseri*, *L. salivarius*, *L. vaginalis*) и условно-патогенных микроорганизмов (*M. hominis*, *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides eggerthii*, *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron*, *Prevotella disiens*, *P. melanogenica*, *P. bivia*, *Streptococcus anaerobius*, *Veillonella parvula*, *Peptostreptococcus anaerobius* и *Moraxella catarrhalis*) и невысокая (ниже 70%) чувствительность выявления ряда микроорганизмов, представленных на чипе (в том числе *U. urealyticum*).

Показатель клинической специфичности разработанного ДНК-чипа оценивался только по отношению к патогенным микроорганизмам (*N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* и *M. genitalium*) и составил 100%.

В целом результаты оценки чувствительности и специфичности экспериментального ДНК-чипа продемонстрировали высокую диагностическую эффективность подобранных видоспецифичных олигонуклеотидных зондов при выявлении большинства определявшихся патогенов [47].

В настоящее время в ФГУ «ГНИЦ Росмедтехнологий» продолжается научно-исследовательская работа по разработке ДНК-чипов с целью идентификации возбудителей ИППП. Определенный интерес для диагностики патологических состояний мочеполовой сферы вызывает ряд микроорганизмов, не вошедших в состав разработанного ДНК-чипа. В настоящее время к спектру микроорганизмов, диагностируемых с помощью ДНК-чипа, были добавлены новые микроорганизмы — возбудители ИППП: патогенные (*Trichomonas vaginalis*, вирус герпеса 1-го и 2-го типов), условно-патогенные (*Prevotella oralis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus sanguinis*, *Corynebacterium spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella extace*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, *Anaerobius prevotii*) и непатогенные (*Lactobacillus spp.*). При этом ряд микроорганизмов был исключен из состава разрабатываемого ДНК-чипа ввиду низкой частоты ассоциаций с инфекциями мочеполовой сферы.

Установлено, что существует определенная взаимосвязь инфицирования вирусом папилломы человека (ВПЧ) и возникновения рака шейки матки, тонзиллярных опухолей, а также определенных видов рака головы и шеи [48]. Поэтому в настоящее время уделяется особое внимание идентификации ВПЧ с целью выявления вируса на ранних стадиях инфекции. Разработка ДНК-чипов с целью детекции и субтипирования ВПЧ проводилась разными группами ученых. F. Thunnissen и соавт. разработали ДНК-чип высокой плотности для анализа как

мультиплексной папилломавирусной инфекции, вызванной разными типами ВПЧ, так и инфекции, вызванной одним типом вируса. В целом с помощью одного видоспецифичного зонда удалось идентифицировать 45 типов ВПЧ, при этом оставшиеся 8 типов были идентифицированы специфической комбинацией зондов [49]. С помощью анализа на ДНК-чипе проведена дифференциация 15 генотипов ВПЧ высокой онкогенности и 12 генотипов низкой онкогенности. Показано, что уровень детекции методом ДНК-чипа по крайней мере в 100 раз выше, чем уровень детекции метода ПЦР. [48]. На основании данных, полученных с помощью ДНК-чипа, установлено, что уровень экспрессии генов в клетках, трансформированных ВПЧ-16 и ВПЧ-18, в сравнении с здоровыми лицами различается по 13 генам: *E6BP*, *UBE4A*, *C20orf14*, *ATF7*, *ABCC8*, *SLC6A12*, *WASF3*, *SUV39H1*, *SPAG8*, *CCNC*, *E2FFE*, *BIRC5* и *DEDD*, которые, возможно, представляют собой гены, отвечающие за сигнальные пути клетки, инициируемые трансформацией ВПЧ [50].

Еще одна область применения биочипов для идентификации патогенов — это различные кератомикозы, в частности вызванные такими хорошо известными оппортунистическими патогенами, как *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Cryptococcus neoformans*. Диагностика микозов на ранних стадиях заболевания очень важна для своевременного назначения антимикотической терапии. Однако применяющиеся в настоящее время лабораторные методы диагностики микозов занимают много времени и часто недостаточно чувствительны. Анализ биоматериала с использованием биочипа представляется наиболее перспективным методом диагностики микозов, так как дает возможность одновременной дифференциации нескольких видов грибов в одном клиническом образце.

D. Самра и соавт. на основе технологии ДНК-чипа разработана система для детекции 24 видов возбудителей микозов, в том числе рода *Candida* (*C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. famata*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. metapsilosis*, *C. orthopsilosis*, *C. parapsilosis*, *C. pulcherrima*), *Cryptococcus neoformans*, рода *Aspergillus* (*A. fumigatus* и *A. terreus*), рода *Trichophyton* (*T. rubrum* и *T. tonsurans*), *Trichosporon cutaneum*, *Epidermophyton floccosum*, *Fusarium solani*, *Microsporium canis*, *Penicillium marneffei* и *Saccharomyces cerevisiae* [51]. Еще один ДНК-чип был разработан для детекции и дифференцирования 14 патогенов (*A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus*, *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. lusitaniae*, *C. tropicalis*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Mucor racemosus*, *Rhizopus microsporus*, *Scedosporium prolificans* и *Trichosporon asahii*). С помощью разработанного чипа проведен анализ образцов крови, ткани и бронхоальвеолярного лаважа [52].

Одной из основных проблем использования антибактериальных препаратов в медицинской практике является формирование устойчивости микроорганизмов к их действию, в том числе формирование множественной устойчивости к антибиотикам нескольких групп. В связи с этим актуальными являются своевременные исследования микроорганизмов, выделенных от больного, на предмет выявления их возможной устойчивости к антибиотикам, а также анализ распространения лекарственной устойчивости микроорганизма в популяции в целом, позволяющий выработать общие рекомендации по выбору препаратов для проведения антибактериальной терапии.

Общепринятые тесты, основанные на культивировании бактерий с использованием питательных сред и последующим определением минимальной подавляющей концентрации, имеют ряд недостатков: трудоемкость, длительное время выполнения (48—72 ч.), сложность стандартизации, необходимость поддержания жизнеспособности микроорганизма до проведения исследования.

В настоящее время с накоплением знаний о механизмах формирования лекарственной устойчивости и развитием методов молекулярной биологии разрабатываются новые подходы к оценке чувствительности микроорганизма к антибактериальным препаратам, призванные преодолеть вышеназванные недостатки микробиологического метода.

ДНК-чипы представляют перспективным подходом для идентификации известных нуклеотидных замен в геноме микроорганизмов, обеспечивая точность, высокую производительность, низкую себестоимость анализа.

Так S. Booth и соавт. разработали ДНК-чипы для идентификации пяти мутаций, обнаруженных в двух генах *N. gonorrhoeae*, *gyrA* и *parC*, которые ассоциированы с устойчивостью штаммов этого возбудителя к ципрофлоксацину [53]. Авторами подобраны специальные олигонуклеотидные зонды для дифференциации мутаций в целевой нуклеотидной последовательности, длина которой могла достигать 400 пар нуклеотидов.

M. Solheim и соавт. с помощью ДНК-чипа провели секвенирование штаммов *E. faecalis* путем мультилокусного типирования (MLST) с целью определения устойчивости микроорганизмов к антибиотикам и идентификации генетических маркеров вирулентности. Проведено сравнение геномов исследуемых изолятов и генома штамма *E. faecalis* V583 (V583), устойчивого к ванкомицину [54].

С применением чипового анализа проводится изучение устойчивости *C. albicans* к флюконазолу [55]. Определено, каким образом изменяется уровень экспрессии генов *C. albicans* в ходе приобретения устойчивости. Показано, что при наличии устойчивости происходит изменение уровня экспрессии ряда генов, ответственных за различ-

ные клеточные процессы: биосинтез эргостерола (*ERG2*, *ERG9*), метаболизм стерола (*ARE2*, *IPF6464*), энергетический обмен (*ADH3*, *AOX2*), а также факторы транскрипции (*FCR1*, *ECM22*) [56].

Одно из направлений применения биомикрочипов — изучение профилей экспрессии генов при различных патологических состояниях. Чиповая технология позволяет проводить параллельный анализ уровня экспрессии десятков тысяч генов и создавать молекулярный портрет клетки [57, 58].

В настоящее время активно проводятся исследования по изучению меланомы — заболевания, которое плохо поддается лечению и часто заканчивается летальным исходом [59]. Метастатическая форма меланомы характеризуется неконтролируемым ростом клеток, устойчивостью их к апоптозу, высокой инвазивностью, а также эффективным неоангиогенезом и пластичностью клеток [60]. Установлено, что на молекулярном уровне агрессивность раковых клеток меланомы ассоциирована с рядом факторов, таких как васкулярный эндотелиальный кадгерин (VE-кадгерин), фокальная адгезионная киназа, фосфоинозитид-3-киназа, а также галектин-3 (Gal-3). С помощью ДНК-чипа было установлено, что Gal-3 служит промежуточным звеном экспрессии большого числа генов, связанных с опухолевым ангиогенезом и эндотелиальной клеточной дифференциацией [60].

С помощью тканевого биомикрочипа был изучен уровень экспрессии остеопонтина и показано, что этот белок может выступать как независимый маркер развития меланомы и процесса метастазирования [61].

Технология экспрессионных биочипов применяется при изучении патогенеза кератомикозов, в частности вызванных *C. albicans*. С помощью ДНК-чипа определяют уровень экспрессии генов инфицированных клеток в сравнении со здоровыми лицами с целью выявления изменений, происходящих в транскриптоме клетки, и определения сигнальных путей, активирующихся при развитии кератомикозов [62].

Кроме того, биомикрочипы применяют для изучения уровня экспрессии матриксных металлопротеиназ (ММП) и тканевых ингибиторов металлопротеиназ (ТИМП) на начальной стадии и в процессе развития экспериментального кератомикоза. Показано, что на ранних стадиях кератита, вызванного *C. albicans*, увеличивается уровень трансляции и транскрипции ММП-8, -9, -13, и ТИМП-1 [63].

Белковые чипы, или иммуночипы

Белковый чип для многопрофильного анализа антигенов состоит из плотной подложки, на поверхность которой дискретно в определенном порядке нанесены антитела к различным антигенам. Такие чипы позволяют работать с одним видом метки, а расшифровка результатов после выполнения

на них иммуноанализа проводится по наличию сигнала в точно пространственно определенных зонах нанесения антител [64]. В развитых зарубежных странах разработка таких устройств осуществляется по пути размещения больших библиотек антител на миниатюрных подложках, роботизации процесса изготовления и применения чипов [65].

По своему дизайну белковые микрочипы принципиально не отличаются от ДНК-чипов [66—68]. При создании белковых микрочипов также важны миниатюрность, параллельность при нанесении проб и автоматический скрининг. Основные процедуры изготовления ДНК- и белковых чипов схожи и включают в себя подготовку проб ДНК или белков, выбор субстрата для чипа, нанесение проб (ДНК или белков) исследуемых образцов и детекцию сигнала. Многие из оборудования для производства ДНК-чипов может быть адаптировано к получению белковых микрочипов, например, оборудование для печати микрочипов, лазерные сканнеры и программное обеспечение, необходимое для анализа данных. Однако некоторые этапы в производстве белкового микрочипа являются более сложными, чем в случае ДНК-чипа, особенно это касается так называемых «функциональных белковых микрочипов». Поскольку белки транслируются с молекулы мРНК, в большинстве случаев необходимым условием являются клонирование гена, экспрессия и очистка белка. Другое существенное отличие белкового чипа от ДНК-чипа заключается в выборе субстрата микрочипа: в отличие от олигонуклеотидов или фрагментов ДНК, которые обладают сходными биохимическими свойствами, белки гетерогенны как по своей активности и биохимическим свойствам, так и по размерам, форме и стабильности [66].

В технологии изготовления белковых микрочипов могут использоваться два вида печати — контактная и бесконтактная. Оборудование для производства микрочипов с контактным принципом нанесения вещества оснащено комплектом игл небольшого диаметра, при помощи которых на поверхность слайда наносится субнанолитровое количество молекул белка. Контактный вид печати позволяет создавать белковые микрочипы с высокой плотностью наносимых молекул [69].

Бесконтактная печать является новой технологией, основанной на большом спектре методов, включающем методы фотохимии, электрораспыления, лазерную запись и технологию пьезоэлектрических инжекторов. При бесконтактном виде печати на поверхности слайда могут быть размещены пробы объемом от нано- до пиколитров. Это дает особое преимущество при параллельном размещении большого количества проб на белковом микрочипе [70].

Белковые микрочипы также могут быть получены с помощью фотолитографических методов и технологий мягкой литографии [71—73]. Технологии мягкой литографии дают возможность исследовате-

лям наносить чувствительные биомолекулы на поверхность слайда вместе с крошечными каплями гидрогеля [74].

Для создания сильной и специфичной связи между поверхностью чипа и белком, при которой сохранялась бы активность и функциональность белка, было разработано несколько видов покрытий, обладающих способностью ковалентно связывать белки [75—77].

Для покрытия слайдов белковыми молекулами используются бифункциональные кросс-линкеры. Одна функциональная группа кросс-линкера взаимодействует с гидроксильными группами, присоединенными к поверхности стекла, а другая может напрямую взаимодействовать с аминоклассами исследуемого белка (например, альдегидная, эпокси- или N-гидроксисукцимидная эфирная группа) либо может быть в дальнейшем химически модифицирована, чтобы проявить максимум специфичности по отношению к белку [78].

Другой вид модификации поверхности — покрытие слайда золотом [79]. Чтобы сформировать самоагрегированный монослой на поверхности золота, обычно используется бифункциональный тиоалкилен. Этот реагент имеет SH-группу, которая взаимодействует с золотом, и еще одну группу, которая взаимодействует с захваченной молекулой. Преимущество использования поверхностей, меченных золотом, заключается в том, что в качестве методов детекции для наблюдения за динамикой реакции и для идентификации захваченной молекулы могут применяться соответственно поверхностный плазменный резонанс и масс-спектрометрия [79, 80]. Этот подход удобен для изучения биохимических реакций в высокопроизводительном режиме и имеет большие возможности применения в биомедицинских исследованиях.

Аффинное прикрепление белков к поверхности слайда позволяет получить высокий выход активного белка и гомогенность прикрепления всех иммобилизованных белковых молекул. Белки, несущие на C- или N-конце высокоаффинные аминокислотные последовательности, прикрепляются с их помощью к поверхности чипа; поэтому все прикрепленные белки будут одинаково ориентированы относительно поверхности слайда [77, 79, 81]. Поскольку при использовании данного метода повышается вероятность того, что иммобилизованные белки сохраняют свою нативную структуру, анализы имеют открытый доступ к активным сайтам белков [66, 77, 82].

По типу субстрата белковые микрочипы можно разделить на микрочипы с 3D-структурой поверхности и слайды из обычного стекла. К 3D-микрочипам относятся микрочипы, изготовленные на поверхности стекла по методу фотолитографии из полиакриламидного геля или тонкой пленки агарозы [83, 84]. Поскольку и акриламид, и агароза образуют высоко-

пористую гидрофобную матрицу, такие молекулы, как ДНК, белки и антибиотики, могут легко диффундировать внутрь пористой структуры, где они иммобилизуются лигандами, которыми модифицирована матрица. Биохимические исследования после этого могут осуществляться при добавлении аналитов к 3D-чипам. Однако этапы изготовления этих 3D-субстратов отличаются сложностью.

Более простой путь к изготовлению 3D-матрицы — поместить на поверхность стеклянного слайда нитроцеллюлозную мембрану. Однако нитроцеллюлозная мембрана ввиду своих значительных размеров имеет склонность создавать помехи при детекции сигнала. Поэтому для уменьшения помех и повышения чувствительности исследования необходимо пользоваться более тонкими мембранами [66].

Для детекции сигнала используют различные методы: методы, предусматривающие применение меченых молекул, или методы без использования таких молекул. Наиболее распространенным методом, также как и при использовании ДНК-чипов, является флюоресцентный метод детекции. Сигнал, поступающий с флюоресцентно меченой репортерной молекулы, регистрируется при помощи конфокальных лазерных сканеров. В других высокочувствительных системах для детекции сигнала применяют технологии пластинчатого волновода, хемилюминесценции, колориметрии [69, 85—88].

В настоящее время функционально выделяют два класса применения белковых микрочипов: аналитические и функциональные белковые микрочипы. В случае аналитических белковых микрочипов в качестве иммобилизованных сорбентов используют хорошо охарактеризованные молекулы с высокой специфической активностью, такие как антитела, комплексы МНС-пептидов или лектины. Такие микрочипы становятся наиболее мощными платформами для мультиплексной детекции. Кроме того, они являются более чувствительным инструментом по сравнению с масс-спектрометрией, иммуноферментным анализом и высокоэффективной жидкостной хроматографией [89].

Аналитические белковые микрочипы могут использоваться для наблюдения за экспрессией белков, идентификации биомаркеров, профилирования маркеров или гликозилирования клеточной поверхности, клинической диагностики, анализа безопасности пищевых продуктов. Функциональные белковые микрочипы всё чаще находят применение в области биологии и медицины, включая определение лекарственных препаратов, а также изучение ДНК-белковых, белок-липидных, белок-лекарственных, белок-пептидных и белок-белковых взаимодействий, их биохимической активности и иммунного ответа. Обычно при изготовлении функциональных белковых чипов на поверхность слайда наносят большое количество белков или даже целый проте-

ом, причем иммобилизованные белки могут не быть в достаточной мере охарактеризованы [66].

Несколько примеров по конкретному использованию белковых микрочипов в медицине позволят лучше понять их роль и уровень проводимых с их помощью исследований. Так, микрочипы, содержащие антитела к лектину, были использованы для диагностики рака поджелудочной железы на ранних стадиях [90]. На стеклянную подложку, покрытую нитроцеллюлозой, наносились антитела к потенциальным гликопротеиновым маркерам опухоли, и проводилась гибридизация с сывороткой крови пациента. Для определения структурных единиц прикрепленных гликопротеинов использовали лектин *Aleuria aurantia* (AAL), лектин *Sambucus nigra bark* (SNA), лектин II *Maackia amurensis* (MAL), агглютинин *Lens culinaris* (LCA) и конканавалин А (ConA). При исследовании 89 образцов сыворотки крови, полученных от здоровых лиц, 35 — от больных хроническим панкреатитом, 37 — сахарным диабетом и 22 — раком поджелудочной железы, было показано, что в образцах сыворотки крови больных злокачественным новообразованием, в отличие от других групп, ответ α_1 - β -гликопротеина на SNA-лектин возрастал приблизительно до 69% (95% доверительный интервал при ответе 53—86%), что свидетельствует о возможности дифференцирования раковой опухоли, в том числе на ранних стадиях, от других заболеваний.

Для диагностики рака легких разработан микрочип, на котором расположены белки-производные опухоли [91]. Использование двумерной хроматографии позволило разделить белки линии A549 аденокарциномы легкого на 1760 фракций, которые в присутствии контролей были нанесены в двойной повторности на нитроцеллюлозные слайды. Авторами отмечена высокая чувствительность и специфичность микрочипов при определении даже единичных антител во фракциях, содержащих антигенные маркеры рака легкого. Инкубация микрочипов с 14 образцами сыворотки крови пациентов с раком легкого, с 14 — раком толстой кишки и 14 — здоровых людей показала, что белковые микрочипы фракций производных опухоли обладали значительным диагностическим потенциалом обнаружения антигенов, вызывающих иммунный ответ у пациентов с соответствующими видами рака.

Использование микрочипов возможно для выявления аллергических реакций к различным пищевым аллергенам, в частности к белку сои [92]. При использовании микрочипа во всех исследуемых образцах была зафиксирована положительная реакция на *Bet v 1*, который является одним из антигенов, вызывающих аллергическую реакцию.

Анализ данных отечественной литературы показал, что проводимые исследования направле-

ны преимущественно на диагностику инфекционных заболеваний. Так, разработана экспериментальная тест-система в формате иммуночипа для диагностики иксодового клещевого боррелиоза [93]. Контрольную группу составили 150 образцов сыворотки крови, полученных от доноров ($n=80$), больных с аутоиммунными заболеваниями ($n=20$), сифилисом ($n=50$). Специфичность метода составила 100%.

Сообщается о разработке иммуночипа для отдельной детекции антител G- и M-классов к вирусу гепатита С [94]. Принцип работы иммуночипа построен на прямом методе выявления специфических антител к возбудителю вируса гепатита С при использовании смеси соответствующих антивидовых конъюгатов, меченных флюорофорами с различающимися спектральными характеристиками. По данным авторов, специфичность тест-системы в формате иммуночипа не уступала специфичности иммуноферментного анализа и линейного иммуноблотинга и составила 99,5%.

Имеются данные о разработке экспериментальной тест-системы в формате иммуночипа для диагностики сифилитической инфекции [95]. Принцип работы тест-системы построен на непрямом методе выявления специфических антител как IgG, так и IgM к наиболее специфичным антигенам возбудителя сифилиса (Tr 47, Tr 17, Tr 15, TmрA) с помощью флюоресцентной детекции. Для анализа специфичности тест-системы использовали сыворотки крови от больных Лайм-боррелиозом и лептоспирозом. Разработанная тест-система показала 100% чувствительность и 100% специфичность.

В настоящее время запатентованы технологии белкового чипа для диагностики ревматоидного артрита, птичьего гриппа, атипичной пневмонии, туберкулеза, а также для идентификации возбудителей нескольких инфекционных заболеваний (гепатиты В и С, ВИЧ, сифилис, цитомегаловирус, герпес и др.) [96—100].

Таким образом, как следует из приведенных данных литературы, технология биомикрочипов является в настоящее время необходимой и востребованной во многих областях медицины и, в частности, в дерматовенерологии. Она позволяет за короткое время анализировать большие массивы данных, осуществлять идентификацию возбудителей инфекций, определять их чувствительность к антимикробным препаратам, проводить изучение экспрессии генов, связанных с канцерогенезом и другими процессами, наблюдаемыми у больных дерматозами, на уровне генома и транскриптома клетки, выявлять антитела к возбудителям инфекций, маркеры онкологических и аутоиммунных заболеваний. Преимуществами технологии биомикрочипов перед рутинными методами исследования являются высокая скорость анализа, меньшее количество необходимого для исследования биологического материала

ла, единовременная детекция большого количества маркеров, низкая себестоимость исследования. Применение передовой технологии биомикрочипов в повседневной практике и при проведении научных исследований позволит оптимизировать диагностику ИППП и дерматозов и изучить многие аспекты их патогенеза.

Литература

- Blohm D.H., Guiseppi-Elie A. New developments in microarray technology // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2001. Vol. 12. P. 41–7.
- Lockhart D.J., Winzler E.A. Genomics, gene expression and DNA arrays // *Nature*. 2000. Vol. 405. P. 827–36.
- Fuller C., Perry A. Fluorescence in situ hybridization. (FISH) in diagnostic and investigative // *Brain Pathol.* 2002. Vol. 12, № 1. P. 67–86.
- Guschin D., Yerшов G., Zaslavsky A., Gemmel A., Shick V., Proudnikov D., Arenkov P., Mirzabekov A. Manual manufacturing of oligonucleotide, DNA and protein microchips // *Anal. Biochem.* 1997. Vol. 250. P. 203–211.
- Cutler D., Zwick M., Carrasquillo M., Yohn C., Tobin K., Kashuk C., Mathews D., Shah N., Eichler E., Warrington J., Chakravarti A. High-throughput variation detection and genotyping using microarrays // *Genome Res.* 2001. Vol. 11, № 11. P. 1913–1925.
- Kolchinsky A., Mirzabekov A. Analysis of SNPs and other genomic variations using gel-based chips // *Hum. Mutat.* 2002. Vol. 19, № 4. P. 343–360.
- Nasedkina T., Domer P., Zharinov V., Hoberg J., Lysov Y., Mirzabekov A. Identification of chromosomal translocations in leukemias by hybridization with oligonucleotide microarrays // *Haematologica*. 2002. Vol. 87, № 4. P. 363–372.
- Tillib and A. Mirzabekov. Advances in the Analysis of DNA Sequence Variations Using Oligonucleotide Microchip Technology // *Curr. Opin. Biotech.* 2001. Vol. 12. P. 53–58.
- Zlatanova J. and Mirzabekov A. Gel-Immobilized Microarrays of Nucleic Acids and Proteins. Production and Application for Macromolecular Research // *Methods Mol. Biol.* 2001. Vol. 170. P. 17–38.
- Borneman J., Chrobak M., Della Vedova G., Figueroa A., Jiang T. Probe selection algorithms with applications in the analysis of microbial communities // *Bioinformatics*. 2001. Vol. 1. P. 39–48.
- Drobyshev A., Mologina N., Shick V., Pobedimskaya D., Yerшов G., and Mirzabekov A. Sequence analysis by hybridization with oligonucleotide microchip: identification of beta-thalassemia mutations // *Gene*. 1997. Vol. 188. P. 45–52.
- Yerшов, G., Barsky V., Belgovskiy, A., Kirillov, E., Kreindlin, E., Ivanov, I., Parinov, S., Guschin, D., Drobyshev, A., Dubiley, S., and Mirzabekov, A. DNA analysis and diagnostics on oligonucleotide microchips // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1996. Vol. 93. P. 4913–4918.
- Shick, V., Lebed, Y., and Kryukov, G. Identification of HLA DQA1 alleles by the oligonucleotide microchip method // *Mol. Biol.* 1998. Vol. 32. P. 679–688.
- Guschin, B. Mobarry, D. Proudnikov, D. Stahl, B. Rittmann, and A. Mirzabekov. Oligonucleotide Microchips as Genosensors for Determinative and Environmental Studies in Microbiology // *Appl. Environ. Microbiol.* 1997. Vol. 63. P. 2397–2402.
- Schena M. Genome analysis with gene expression microarrays // *Bioassays*. 1996. Vol. 18. P. 427–431.
- DeRisi J., Vishwanath R.L., Brown P.O. Exploring the metabolic and genetic control of gene expression on a genomic scale // *Science*. 1997. Vol. 278. P. 680–686.
- Shalon D., Smith S.J., Brown P.O. A DNA microarray system for analyzing complex DNA samples using twocolor fluorescent probe hybridization // *Genome Res.* 1996. Vol. 6. P. 639–45.
- DeRisi J., Penland L., Brown P.O., Bittner M.L., Meltzer P.S., Ray M., Chen Y., Su Y.A., Trent J.M. Use of a cDNA microarray to analyse gene expression patterns in human cancer // *Nature Genetics*. 1996. Vol. 14. P. 457–460.
- Whitney L.W., Ludwin S.K., McFarland H.F., Biddison W.E. Microarray analysis of gene expression in multiple sclerosis and EAE identifies 5-lipoxygenase as a component of inflammatory lesions. *J. Neuroimmunol.* 2001. Vol. 121, № 1–2. P. 40–48.
- C. Xiang, Y. Chen. cDNA microarray technology and its applications // *Biotechnol. Advances*. 2000. Vol. 18. P. 35–46.
- Marton M.J. Drug target validation and identification of secondary drug target effects using DNA microarrays // *Nature Med.* 1998. Vol. 4. P. 1293–301.
- Pietu G., Alibert O., Guichard V., Lamy B., Bois F., Leroy E., Mariage-Samson R., Houlgatte R., Soularue P., Auffray C. Novel gene transcripts preferentially expressed in human muscles revealed by quantitative hybridization of a high-density cDNA array // *Genome Res.* 1996. Vol. 6. P. 492–503.
- LaForge K.S., Shick V., Spongier R. et al. Detection of single nucleotide polymorphisms of the human mu opioid receptor gene by hybridization or single nucleotide extension // *Am. J. Med. Genet.* 2000. Vol. 96, № 5. P. 604–615.
- Strizhkov B.N., Drobyshev A.L., Mikhailovich V.M., Mirzabekov A.D. PCR amplification on a microarray of gel-immobilized oligonucleotides: Detection of bacterial toxin- and drug-resistant genes and their mutations // *BioTechniques*. 2000. Vol. 29. P. 844–857.
- Chee M., Yang R., Hubbell E., Berno A., Huang X.C., Stern D., Winkler J., Lockhart D.J., Morris M.S., and Fodor S.P.A. Accessing genetic information with high-density DNA arrays // *Science*, 1996. Vol. 274. P. 610–614.
- Fodor, S.P.A., Read, J.L., Pirrung, M.C., Stryer, L., Lu, A.T., Solas D. Light-directed, spatially addressable parallel chemical synthesis // *Science*. 1991. Vol. 251. P. 767–773.
- Lipshutz R.J., Morris D., Chee M., Hubbell E., Kozal M.J., Shah N., Shen N., Yang R., and Fodor S.P.A. Using oligonucleotide probe arrays to access genetic diversity // *BioTechniques*. 1995. Vol. 19. P. 442–447.
- Pease A.C., Solar D., Sullivan E.J., Cronin M.T., Holmes C.P., and Fodor S.P.A. Light-directed oligonucleotide arrays for rapid DNA sequence analysis // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 1994. Vol. 91. P. 5022–5026.
- Barskii Ya., Grammatin A., Ivanov A., Kreindlin E., Kotova E., Barskii V., Mirzabekov A. Wide-field luminescence microscopes for analyzing biological microchips // *J. Opt. Technol.* 1997. Vol. 65. P. 938–941.
- Barsky V., Perov A., Tokalov S., Chudinov A., Kreindlin E., Sharonov A., Kotova E., Mirzabekov A. Biochips as arrays of biosensors: equipment, fluorescence labels, and applications. (unpublished). 2001.
- Kricka L. Stains, labels and detection strategies for nucleic acids assays // *Ann Clin Biochem.* 2002. Vol. 39. P. 114–129.
- Yu J., Othman M., Farjo R., Zarepari S., MacNee S., Yoshida S., Swaroop A. Evaluation and optimization of procedures for target labeling and hybridization of cDNA microarrays // *Mol Vis.* 2002. Vol. 26, № 8. P. 130–137.
- Hacia J., Brody L., Chee M., Fodor S., Collins F. Detection of heterozygous mutations in BRCA1 using high density oligonucleotide arrays and two-colour fluorescence analysis // *Nat Genet.* 1996. Vol. 14, № 4. P. 441–7.
- Bavykin S., Akowski J., Zakhariev V., Barsky V., Perov A., Mirzabekov A. Portable system for microbial sample preparation and oligonucleotide microarray analysis // *Appl Environ Microbiol.* 2001. Vol. 67, № 2. P. 922–928.
- Kapur, V., Li L., Iordanescu S., Hamrick M.R., Wanger A., Kreiswirth B.N., and J.M. Musser. Characterization by automated DNA sequencing of mutations in the gene (rpoB) encoding the RNA polymerase B subunit in rifampin-resistant Mycobacterium tuberculosis strains from New York City and Texas // *J. Clin. Microbiol.* 1994. Vol. 32. P. 1095–1098.
- Stomakhin A., Vasiliskov V., Timofeev E., Schulga D., Cotter R., Mirzabekov A. DNA sequence analysis by hybridization with oligonucleotide microchips: MALDI mass spectrometry identification of 5mers contiguously stacked to microchip oligonucleotides // *Nucleic Acids Res.* 2000. Vol. 28, № 5. P. 1193–1198.
- Schena M. ed. *Microarray Biochip Technology* / Eaton Publ., Natick, MA. 2000. 297 p.
- Schuchhardt J., Beule D., Malik A., Wolsky E., Eickhoff H., Leh-rach H., Herzel H. Normalization strategies for cDNA microarrays // *Nucl. Acids Res.* 2001. Vol. 28, № 10. P. 47.
- Southern E., Mir K., Shchepinov M. Molecular interactions on microarrays // *Nat Genet.* 1999. Vol. 21(1 Suppl). P. 5–9.
- Zhou Y.X., Kalocsai P., Chen J.Y., Shams S. Information processing issues and solutions associated with microarray technology // *Methods Mol Biol.* 2001. Vol. 170. P. 223–36.

41. Brown C.S., Goodwin P.C., Sorger P.K. Image metrics in the statistical analysis of DNA microarray data // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001. Vol. 98. P. 8944—8949.
42. Наседкина Т.В. Использование биологических микрочипов в онкогематологии. Онкогематология. 2006. № 1—2. С. 25—37.
43. Palka-Santini M., Cleven B.E., Eichinger L., Krönke M., Krut O. Large scale multiplex PCR improves pathogen detection by DNA microarrays // BMC Microbiol. 2009. Jan. Vol. 3, № 9. P. 1.
44. Jin L.Q., Li J.W., Wang S.Q., Chao F.H., Wang X.W., Yuan Z.Q. Detection and identification of intestinal pathogenic bacteria by hybridization to oligonucleotide microarrays // World J Gastroenterol. 2005 Dec. Vol. 28, № 11(48). P. 7615—9.
45. Wiesinger-Mayr H., Vierlinger K., Pichler R., Kriegner A., Hirschl A.M., Presterl E., Bodrossy L., Noehammer C. Identification of human pathogens isolated from blood using microarray hybridisation and signal pattern recognition // BMC Microbiol. 2007 Aug. Vol. 14, № 7. P. 78.
46. Müller R., Ditzen A., Hille K., Stichling M., Ehrlich R., Illmer T., Ehninger G., Rohayem J. Detection of herpesvirus and adenovirus co-infections with diagnostic DNA-microarrays // J. Virol. Methods. 2009 Feb. Vol. 155, № 2. P. 161—6.
47. Лихарева В.В., Фриго Н.В., Рахматулина М.Р., Нурутдинова О.С., Кухарева Е.Н., Шаталова Ю.А. Разработка ДНК-чипа для комплексной диагностики ИППП // Вестн. дерматол. и венерол. 2009. № 4. С. 49—57.
48. Oh T.J., Kim C.J., Woo S.K., Kim T.S., Jeong D.J., Kim M.S., Lee S., Cho H.S., An S. Development and Clinical Evaluation of a Highly Sensitive DNA Microarray for Detection and Genotyping of Human Papillomaviruses // J. Of Clin. Microbiol. 2004 July. P. 3272—3280
49. Klaassen C.H., Prinsen C.F., de Valk H.A., Horrevorts A.M., Jeunink M.A., Thunnissen F.B. DNA microarray format for detection and subtyping of human papillomavirus // J. Clin. Microbiol. 2004 May. Vol. 42, № 5. P. 2152—60.
50. Vázquez-Ortiz G., García J.A., Ciudad C.J., Noé V., Peñuelas S., López-Romero R., Mendoza-Lorenzo P., Piña-Sánchez P., Salcedo M. Differentially expressed genes between high-risk human papillomavirus types in human cervical cancer cells // Int J Gynecol Cancer. 2007 Mar-Apr. Vol. 17, № 2. P. 484—91.
51. Campa D, Tavanti A, Gemignani F, Mogavero CS, Bellini I, Botari F, Barale R, Landi S, Senesi S. DNA microarray based on arrayed-primer extension technique for identification of pathogenic fungi responsible for invasive and superficial mycoses // J Clin Microbiol. 2008 Mar. Vol. 46, № 3. P. 909—15.
52. Spiess B., Seifarth W., Hummel M., Frank O., Fabarius A., Zheng C., Mörz H., Hehlmann R., Buchheidt D. DNA microarray-based detection and identification of fungal pathogens in clinical samples from neutropenic patients // J. Clin. Microbiol. 2007 Nov. Vol. 45, № 11. P. 3743—53.
53. Booth S.A., Drobot M.A., Martin I.E., Ng L.K. Design of oligonucleotide arrays to detect point mutations: molecular typing of antibiotic resistant strains of *Neisseria gonorrhoeae* and hantavirus infected deer mice // Mol. Cell. Probes. 2003 Apr-Jun. Vol. 17, № 2—3. P. 77—84.
54. Solheim M., Aakra A., Snipen L.G., Brede D.A., Nes I.F. Comparative genomics of *Enterococcus faecalis* from healthy Norwegian infants // BMC Genomics. 2009 Apr. Vol. 24, № 10. P. 194.
55. Jia X.M., Ma Z.P., Jia Y., Gao P.H., Zhang J.D., Wang Y., Xu Y.G., Wang L., Cao Y.Y., Cao Y.B., Zhang L.X., Jiang Y.Y. RTA2, a novel gene involved in azole resistance in *Candida albicans* // Biochem Biophys Res Commun. 2008 Sep. 5. Vol. 373, № 4. P. 631—6.
56. Yan L., Zhang J., Li M., Cao Y., Xu Z., Cao Y., Gao P., Wang Y., Jiang Y. DNA microarray analysis of fluconazole resistance in a laboratory *Candida albicans* strain // Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai). 2008 Dec. Vol. 40, № 12. P. 1048—60.
57. van Berkum N.L., Holstege F.C., DNA microarrays: raising the profile // Curr. Opin. Biotechnol. 2001. Vol. 12. P. 48—52.
58. Golub T.R., Slonim D.K., Tamayo P. Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring // Science. 1999. Vol. 286. P. 531—537.
59. Hoek K.S. Melanoma progression, gene expression and DNA microarrays // G. Ital. Dermatol. Venereol. 2009 Feb. Vol. 144, № 1. P. 39—49. Review.
60. Mourad-Zeidan A.A., Melnikova V.O., Wang H., Raz A., Bar-Eli M. Expression profiling of Galectin-3-depleted melanoma cells reveals its major role in melanoma cell plasticity and vasculogenic mimicry // Am. J. Pathol. 2008 Dec. Vol. 173, № 6. P. 1839—52.
61. Rangel J., Nosrati M., Torabian S., Shaikh L., Leong S.P., Haqq C., Miller J.R. 3rd, Sagebiel R.W., Kashani-Sabet M. Osteopontin as a molecular prognostic marker for melanoma // Cancer. 2008 Jan. 1. Vol. 112, № 1. P. 144—50.
62. Yuan X., Mitchell B.M., Wilhelmus K.R. Gene profiling and signaling pathways of *Candida albicans* keratitis // Mol. Vis. 2008. Vol. 14. P. 1792—8.
63. Yuan X., Mitchell B.M., Wilhelmus K.R. Expression of matrix metalloproteinases during experimental *Candida albicans* keratitis // Invest Ophthalmol Vis Sci. 2009 Feb. Vol. 50, № 2. P. 737—42.
64. Cutler P. Protein arrays: the current state-of-the-art // Proteomics. 2003 Jan. Vol. 3, № 1. P. 3—18.
65. Nielsen U.B., Geierstanger B.H. Multiplexed sandwich assays in microarray format // J. Immunol. Methods. 2004 Jul. Vol. 290, № 1—2. P. 107—20.
66. Tao S.C., Chen C.S., Zhu H. Applications of protein microarray technology // Comb. Chem. High. Throughput. Screen. 2007 Sep. Vol. 10, № 8. P. 706—18.
67. De Risi J., Penland L., Brown P.O., Bittner M.L., Meltzer P.S., Ray M., Chen Y., Su Y.A., Trent J.M. Use of a cDNA microarray to analyse gene expression patterns in human cancer // Nat. Genet. 1996. Vol. 14. P. 457.
68. Schena M., Shalon D., Davis R.W., Brown P.O. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray // Science. 1995. Vol. 270. P. 467.
69. Yu X., Schneiderhan-Marra N., Hsu H-Y, Bachmann J., and Joos T.O. Protein Microarrays: Effective Tools for the Study of Inflammatory Diseases // Reverse Chemical Genetics, Methods in Molecular Biology. Vol. 577.
70. Barbulovic-Nad I, et al. Bio-microarray fabrication techniques — a review // Crit. Rev. Biotechnol. 2006. Vol. 26. P. 237—59.
71. Lee M., et al. Protein nanoarray on Prolinker surface constructed by atomic force microscopy dip-pen nanolithography for analysis of protein interaction // Proteomics. 2006. Vol. 6. P. 1094—103.
72. Wang Z., Wilkop T., and Cheng Q. Characterization of micropatterned lipid membranes on a gold surface by surface Plasmon resonance imaging and electrochemical signaling of a pore-forming protein // Langmuir. 2005. Vol. 21. P. 10292—6.
73. Rozkiewicz D.I., et al. Dendrimer-mediated transfer printing of DNA and RNA microarrays // J. Am. Chem. Soc. 2007. Vol. 129. P. 11593—9.
74. Mayer M., et al. Micropatterned agarose gels for stamping arrays of proteins and gradients of proteins // Proteomics. 2004. Vol. 4. P. 2366—76.
75. Zhu H., Bilgin M., Banham R., Hall D., Casamayor A., Bertone P., Lan N., Jansen R., Bidlingmaier S., Houfek T., Mitchell T., Miller P., Dean R.A. Global analysis of protein activities using proteome chips // M. Gerstein, M. Snyder // Science. 2001. Vol. 293. P. 2101.
76. MacBeath G., Schreiber S.L. Printing proteins as microarrays for high-throughput function determination // Science. 2001. Vol. 289. P. 1760.
77. Zhu H., Klemic J.F., Chang S., Bertone P., Casamayor A., Klemic K.G., Smith D., Gerstein M., Reed M.A., Snyder M. Analysis of yeast protein kinases using protein chips // Nat. Genet. 2000. Vol. 26. P. 283.
78. Heysel S., Vogel H., Sanger M., Sigrist H. Covalent attachment of functionalized lipid bilayers to planar waveguides for measuring protein binding to biomimetic membranes // Protein Sci. 1995. Vol. 4. P. 2532.
79. Houseman B.T., Huh J.H., Kron S.J., Mrksich M. Peptide chips for the quantitative evaluation of protein kinase activity // Nat Biotechnol. 2002 Mar. Vol. 20, № 3. P. 270—4.
80. Rich R.L., Day Y.S.N., Morton T.A., Myszka D.G. High-resolution and high-throughput protocols for measuring drug/human serum albumin interactions using BIACORE // Anal. Biochem. 2001. Vol. 296. P. 197.
81. Templin M.F., Stoll D., Schrenk M., Traub P.C., Vöhringer C.F., Joos T.O. Protein microarray technology // Trends Biotechnol. 2002. Vol. 20. P. 160.

82. Gelperin D.M., White M.A., Wilkinson M.L., Kon Y., Kung L.A., Wise K.J., Lopez-Hoyo N., Jiang L., Piccirillo S., Yu H., Gerstein M., Dumont M.E., Phizicky E.M., Snyder M., Grayhack E.J. Biochemical and genetic analysis of the yeast proteome with a movable ORF collection // *Genes. Dev.* 2005. Vol. 19. P. 2816.
83. Guschin D., Yershov G., Zaslavsky A., Gemmel A., Shick V., Proudnikov D., Arenkov P., Mirzabekov A. Manual manufacturing of oligonucleotide, DNA, and protein microchips // *Anal. Biochem.* 1997. Vol. 250. P. 203.
84. Afanassiev V., Hanemann V., Wolff S. Preparation of DNA and protein micro arrays on glass slides coated with an agarose film // *Nucleic. Acids. Res.* 2000. Vol. 28. E66.
85. Pawlak M., et al. Zeptosens' protein microarrays: a novel high performance microarray platform for low abundance protein analysis // *Proteomics.* 2002. Vol. 2. P. 383–93.
86. Usui-Aoki K., Shimada K., Koga H. A novel antibody microarray format using non-covalent antibody immobilization with chemiluminescent detection // *Mol. Biosyst.* 2007. Vol. 3. P. 36–42.
87. Guo H., et al. Development of a low density colorimetric protein array for cardiac troponin I detection // *J. Nanosci Nanotechnol.* 2005. Vol. 5. P. 2161–6.
88. Timlin J.A. Scanning microarrays: current methods and future directions // *Methods Enzymol.* 2006. Vol. 411. P. 79–98.
89. Dufva M., Christensen C.B. Diagnostic and analytical applications of protein microarrays // *Expert. Rev. Proteomics.* 2005 Jan. Vol. 2, № 1. P. 41–8.
90. Li C., Simeone D.M., Brenner D.E., Anderson M.A., Shedden K.A., Ruffin M.T., Lubman D.M. Pancreatic cancer serum detection using a lectin/glyco-antibody array method // *J. Proteome Res.* 2009 Feb. Vol. 8, № 2. P. 483–92.
91. Madoz-Gúrpide J., Kuick R., Wang H., Misek D.E., Hanash S.M. Integral protein microarrays for the identification of lung cancer antigens in sera that induce a humoral immune response // *Mol. Cell Proteomics.* 2008 Feb. Vol. 7, № 2. P. 268–81.
92. Yagami A., Inaba Y., Kuno Y., Suzuki K., Tanaka A., Sjolander S., Saito H., Matsunaga K. Two cases of pollen-food allergy syndrome to soy milk diagnosed by skin prick test, specific serum immunoglobulin E and microarray analysis // *J. Dermatol.* 2009 Jan. Vol. 36, № 1. P. 50–5.
93. Смердова М.А., Маркелов М.Л., Манзенюк И.Н., Карань Л.С., Судьина А.Е., Шишова А.В., Шипулин Г.А. Серологическая диагностика иксодового клещевого боррелиоза в новом формате иммуночипа // *Клин. лаб. диагностика.* 2008. № 9. С. 4.
94. Чеканова Т.А., Маркелов М.Л., Манзенюк И.Н., Сперанская А.С., Шишова А.В., Алексеева Ю.А., Судьина А.Е., Браславская С.И., Шипулин Г.А. Разработка иммуночипа для раздельной детекции антител к вирусу гепатита С // *Клин. лаб. диагностика.* 2008. № 6. С. 25–30.
95. Смердова М.А., Маркелов М.Л., Судьина А.Е., Шишова А.В., Гущин А.Е., Шипулин Г.А. Иммуночип для серодиагностики сифилиса // II Всерос. конгресс дерматол. 25–28 сентября 2007 г., С-П., 2007, Тез., С. 165.
96. Lebrun Stewart J., Microarray-Based Analysis Of Rheumatoid Arthritis Markers, US Pat. 2008131417 (A1), 2008.
97. Lin Liancheng, Method Of Biochip For Simultaneous Testing Avian Influenza Infection Of Human And Fowls, Pat. CN101000340 (A), 2007.
98. Hu Zhangli, Human Sars Virus Surface Film Protein Antigen Determinant Polypeptide, Polynucleotide Sequence And Its Use, Pat. CN1580073 (A), 2005.
99. Xiaogang Zhang, Mycobacterium tuberculosis recombination fusion protein and application thereof, Pat. CN101100673 (A), 2008.
100. Zhang Tao, Protein chip for detecting infection disease in taken blood in blood bank, Pat. CN1373365 (A), 2002.

Preпарат основной терапии для лечения онихомикозов

ФУНГОТЕРБИН®

Грибок как рукой снимет!

Спрей и крем Фунготербин® применяются для лечения и профилактики грибковых поражений кожи:

- Устраняют зуд, красноту, шелушение
- Заживляют трещины, вызванные грибом

Пер. № ЛС-002681 от 29.12.2006

Пер. № Р. N00227001-2003

Пер. № Р. N000955/01от 29.12.2006

СТАДА
C I S

НИЖФАРМ

ОРИГИНАЛЬНАЯ КОМБИНАЦИЯ КОМПОНЕНТОВ

ДИФФЕРЕНЦИРОВАННАЯ НАРУЖНАЯ ТЕРАПИЯ ЭКЗЕМАТОЗНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ МЕДИЦИНСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ № ФС-2007/070-У ОТ 24 АПРЕЛЯ 2007 ГОДА

ФГУ «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии Росмедтехнологий», г. Екатеринбург

Технология дифференцированной наружной терапии больных с экзематозными проявлениями реализована в виде алгоритма, учитывающего нозологический диагноз, характер клинических проявлений, локализацию и осложнения кожного процесса. В технологии определены клинико-диагностические показания и последовательность назначения наружных средств иммуномодулирующего, противовоспалительного, противоаллергического и противомикробного действия. Технология позволяет оптимизировать лечение экземы и атопического дерматита: увеличить численность излеченных больных и уменьшить сроки терапии заболеваний в 1,5—1,9 раза.

Технология предназначена для врачей-дерматовенерологов специализированных лечебно-профилактических учреждений.
Ключевые слова: базально-клеточный рак, ультразвуковое сканирование, неинвазивные методы диагностики.

Оптимизация терапии экзематозных поражений кожи остается важной проблемой для специалистов-дерматологов ввиду высокой заболеваемости аллергодерматозами среди детей и взрослых, значительными потерями трудоспособности, обусловленными островоспалительными

клиническими проявлениями и сильным зудом [1—3]. В структуре госпитализированной заболеваемости в дерматологических стационарах аллергодерматозы составляют 38,5—43,7%, а среднее пребывание на стационарном этапе достигает 15,0—21,4 койко-дня [4].

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ

№ ФС-2007/070-У от «24» апреля 2007 г.
Действительно до «24» апреля 2017 г.

Название медицинской технологии:
Дифференцированная наружная терапия экзематозных проявлений.

Аннотация:
Алгоритм дифференцированной наружной терапии больных с экзематозными проявлениями учитывает нозологический диагноз, характер клинических проявлений, локализацию и наличие осложнений кожного процесса и заключается в последовательном назначении наружных средств иммуномодулирующего, противовоспалительного, противоаллергического и противомикробного действия. Применение технологии позволяет оптимизировать лечение экземы и атопического дерматита: увеличивает численность излеченных больных и уменьшает сроки терапии заболевания в 1,5-1,9 раза.
*Показания, противопоказания и материально-техническое оснащение изложены в приложении.

Разработчик:
ФГУ «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии Росздрава (620076, г. Екатеринбург, ул. Шербакова, 8)
Медицинская технология предназначена для врачей-дерматовенерологов.
Масштаб использования:
Специализированные лечебно-профилактические учреждения.

**Руководитель
Федеральной службы**

Н.В.Юргель
(подпись, печать)

*Регистрационное удостоверение без приложения действительно.

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

**ПРИЛОЖЕНИЕ
К РЕГИСТРАЦИОННОМУ УДОСТОВЕРЕНИЮ**

№ ФС-2007/070-У от «24» апреля 2007 г.

Название медицинской технологии:
Дифференцированная наружная терапия экзематозных проявлений.

Показания:
Экзематозные проявления на коже в фазе острого и хронического воспаления, установленные диагнозы экземы и атопического дерматита.

Противопоказания:

- Клинические проявления вирусной инфекции кожи;
- Индивидуальная непереносимость наружных средств и компонентов, входящих в их состав.

Материально-техническое обеспечение медицинской технологии:
Разрешенные и разрешенному применению в установленном порядке средства для наружной терапии:

- Пивертролиумс 1% крем (Элидел).
- Метилпреднизолона гидроксида 0,1% (Авантан). Лекарственные формы – мази для наружного применения, крем для наружного применения, мазь для наружного применения, мазь жирная (безводная) для наружного применения.
- Монтелукаст фуроат 0,1% (Сингос). Лекарственные формы – лосьон для наружного применения, крем для наружного применения, мазь для наружного применения.
- Монтелукаст фуроат 0,1% и салициловая кислота 5% (Эликом С). Мазь для наружного применения.
- Бетаметазона дипропионата 0,64 мг, клобетризол 10 мг, гистамина сульфата 1 мг (Тридерм). Лекарственные формы – крем для наружного применения, мазь для наружного применения.
- Фузидовая кислота 20 мг 2% (Фуцидин). Лекарственные формы – крем для наружного применения, мазь для наружного применения.
- Фузидовая кислота 20 мг, гидрокортизона ацетат 10 мг (Фуцидин Г). Крем для наружного применения.
- Фузидовая кислота 20 мг, бетаметазона валерат 1 мг (Фуцидерм). Крем для наружного применения.

**Руководитель
Федеральной службы**

Н.В.Юргель
(подпись, печать)

Среди аллергодерматозов наиболее распространенными являются различные виды экземы и атопический дерматит (АД), на долю которых приходится более 80% всех случаев обращений на амбулаторно-поликлиническом этапе оказания специализированной помощи.

Клинические манифестации при указанных дерматозах сопровождаются выраженным зудом, отличаются многообразием, а наиболее активные проявления острой фазы заболевания представлены распространенными экзематизированными высыпаниями с гиперемией, отечностью, экссудацией и мокнутием кожи. Фаза хронического воспаления, напротив, характеризуется наличием очаговой инфильтрации, формированием поверхностного гиперкератоза, лихенификации, фиссуризации, сухости и шелушения кожи.

Частым осложнением экземы и АД является присоединение вторичной пиококковой и грибковой инфекции, что связано с установленным снижением противомикробной резистентности поверхности кожи [5, 6]. Известная этиологическая роль гноеродной и грибковой флоры в развитии инфекционных осложнений у больных АД в настоящее время убедительно дополнена сведениями о ее участии в патогенезе заболевания путем продукции специфических IgE, развитием сенсибилизации и дополнительной активации дермальных лимфоцитов [7, 8].

Терапия инфекционных осложнений затруднена нарастающей резистентностью основных возбудителей пиодермии *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis* к широко применяемым антибиотикам: пенициллину (до 80% штаммов), тетрациклину (до 65%), эритромицину (до 40%). Бесконтрольное применение наружных противомикробных препаратов, чувствительность к которым утрачена, затягивает процесс санации инфекции и способствует дальнейшей селекции резистентной флоры [9–12].

Основным принципом терапии экзематозных проявлений является активное терапевтическое воздействие на очаг поражения с целью ликвидации воспаления, восстановления целостности и нормальной структуры кожного покрова, снижения интенсивности зуда.

Тактика врача при выборе средств наружного лечения основывается на уточнении нозологического диагноза дерматоза, строится с учетом характера клинических проявлений, наличия инфекционных осложнений, этиологической принадлежности инфицирующего агента и его чувствительности к антибактериальным препаратам.

В топической терапии экземы и АД в настоящее время преобладает использование глюкокортикостероидных средств (ГКС), оказывающих комплексное противовоспалительное, противоаллергическое, противозудное действие; кроме того,

в терапии АД применяется нестероидный топический иммуномодулятор.

В настоящее время необходимым является обоснование дифференцированного подхода к назначению лекарственных средств как нестероидного действия, так и содержащих ГКС, их лекарственных форм и препаратов комбинированного действия, предназначенных для санации инфекционных осложнений, а также уточнение последовательности тактических действий специалиста при проведении терапии больных с экзематозными проявлениями на коже, создание алгоритма назначения необходимых диагностических исследований и выбора средств наружного лечения.

Конечной целью разработки и внедрения медицинской технологии является оптимизация диагностического подхода и совершенствование наружных методов лечения больных экземой и АД, а также уменьшение сроков достижения клинической ремиссии, что может быть реализовано на госпитальном и амбулаторном этапах оказания специализированной помощи.

Показания к применению медицинской технологии

Экзематозные проявления на коже в фазе острого и хронического воспаления, установленные диагнозы экземы и атопического дерматита.

Противопоказания к применению медицинской технологии

Наличие клинических проявлений вирусной инфекции кожи у больных экземой и АД, непереносимость препаратов, а также их ингредиентов.

Материально-техническое обеспечение медицинской технологии

Средства для наружной терапии:

Пимекролимус 1% крем для наружного применения; код АТХ D11AX (Элидел). Регистрационное удостоверение П №014689/01-2002.

Прочие ингредиенты: триглицериды, олеиловый спирт, пропиленгликоль, стеариловый спирт, цетиловый спирт, моно- и диглицериды, натрия цетостеарил сульфат, спирт бензиловый, лимонная кислота, натрия гидроксид, вода очищенная.

Метилпреднизолон ацепонат 0,1%; код АТХ D07AC14 (Адвантан)

Лекарственные формы:

Эмульсия для наружного применения (Регистрационное удостоверение П № 013563/02) метилпреднизолон ацепонат 0,1%; прочие ингредиенты: триглицериды с цепями средней величины, софтизан 378, полиоксизтилен-2-стерильный спирт, полиоксизтилен-21-стерильный спирт, глицерин 85%, бензиловый спирт, натрия эдетат, вода очищенная.

Крем для наружного применения (Регистрационное удостоверение П № 013563/01) метилпред-

низолона ацепонат 0,1%; прочие ингредиенты: децилолеат, глицерина моностеарат, цетостерилловый спирт, твердый жир, софтизан 378, полиоксил-40-стеарат, глицерин 85%, натрия эдетат, бензиловый спирт, бутилгидрокситолуол, вода очищенная.

Мазь для наружного применения (Регистрационное удостоверение П № 013563/03) метилпреднизолона ацепонат 0,1%; Прочие ингредиенты: белый воск, тяжелый жидкий парафин, эмульгатор Е, белый вазелин, вода очищенная.

Мазь жирная (безводная) для наружного применения (Регистрационное удостоверение П № 013563/04) метилпреднизолона ацепонат 0,1%; прочие ингредиенты: белый мягкий парафин, тяжелый жидкий парафин, воск микрокристаллический, гидрогенизированное касторовое масло.

Мометазона фуруат 0,1%, код АТХ D07AC13 (Элоком)

Лекарственные формы:

Лосьон для наружного применения (Регистрационное удостоверение П № 013256/03-2001) мометазона фуруат 0,1%, прочие ингредиенты: спирт изопропиловый 40%, пропиленгликоль, гидроксипропилцеллюлоза, натрия фосфат, вода дистиллированная.

Крем для наружного применения (Регистрационное удостоверение П № 013256/02-2001) мометазона фуруат 0,1%, прочие ингредиенты: гексиленгликоль, кислота фосфорная, пропиленгликольстеарат, спирт стеариловый, эфир цетилстеариловый, цетеарет-20, диоксид титана, алюминия октенилсукцинат, воск белый, вазелин отбеленный, очищенная вода.

Мазь для наружного применения (Регистрационное удостоверение П № 013256/01-2001) мометазона фуруат 0,1%, прочие ингредиенты: гексиленгликоль, кислота фосфорная, пропиленгликольстеарат, воск белый, вазелин белый, очищенная вода.

Мометазона фуруат 0,1% и салициловая кислота 5%, код АТХ D07XC (Элоком С).

Мазь для наружного применения (Регистрационное удостоверение П № 015104/01-2003) мометазона фуруат 0,1%, прочие ингредиенты: гексиленгликоль, очищенная вода, пропиленгликольстеарат, воск белый, вазелин белый.

Бетаметазона дипропионат 0,64 мг, клотримазол 10 мг, гентамицина сульфат 1 мг, код АТХ D07XC01 (Тридерм)

Мазь для наружного применения (Регистрационное удостоверение П № 013503/01-2001); прочие ингредиенты: жидкий парафин, белый вазелин.

Крем для наружного применения (Регистрационное удостоверение П № 013502/01-2001); прочие ингредиенты: жидкий парафин, белый вазелин, цетостеариловый спирт, пропиленгликоль, цетомикроголь, бензиловый спирт, натрия двухосновного фосфата дигидрат, фосфорная кислота, натрия гидроксид, очищенная вода.

Фузидиевая кислота 20 мг (2%), код АТХ D06AX01 (Фуцидин)

Лекарственные формы:

Крем для наружного применения (Регистрационное удостоверение П № 011114/03), фузидиевая кислота 20 мг.

Мазь для наружного применения (Регистрационное удостоверение П № 011114/02); фузидиевая кислота 20 мг, прочие ингредиенты: ланолин, парафин белый мягкий, парафин жидкий, цетиловый спирт.

Фузидиевая кислота 20 мг, гидрокортизона ацетата 10 мг, код АТХ D07CA01 (Фуцидин Г).

Крем для наружного применения (Регистрационное удостоверение П № 011629/01) фузидиевая кислота 20 мг, гидрокортизона ацетата 10 мг; прочие ингредиенты: бутилгидроксианизол, спирт цетиловый, глицерол 85%, парафин жидкий, калия сорбат, полисорбат 60, парафин белый мягкий, кислота хлористоводородная 3М, вода очищенная.

Фузидиевая кислота 20 мг, бетаметазона валерат 1 мг, код АТХ D07CC01 (Фуцикорт)

Крем для наружного применения (Регистрационное удостоверение П № 011628/01) фузидиевая кислота 20 мг, бетаметазона валерат 1 мг; прочие ингредиенты: макрогола цетостеариловый эфир, цетостеариловый спирт, хлоркрезол, натрия дигидрофосфат дигидрат, парафин жидкий, парафин белый мягкий, натрия гидроксид, вода очищенная.

Методы лабораторных исследований

Исследование содержания общего иммуноглобулина Е в сыворотке крови проводится методом количественного твердофазного иммуноферментного анализа (ЗАО «Алкор Био», ФС № 032a2003/0390-04 от 12.08.2004).

Определение вида возбудителя при осложненных формах кожного процесса проводится с помощью микробиологического исследования отделяемого очага с идентификацией микроорганизмов и определением чувствительности микрофлоры к антибиотикам с использованием сред, готовых к употреблению, и бумажных дисков, импрегнированных антибиотиками (BIO-RAD LABORATORIES, № регистрационного удостоверения МЗ РФ 2004/650 от 24.06.2004).

Определение возбудителей грибковой флоры кожи проводится с помощью микроскопического и микологического исследований соскобов на дерматофиты и грибы *Candida* с использованием агара и бульона Сабуро (BIO-RAD, ФС № 2005/1036 от 02.08.2005).

Описание медицинской технологии

Первым этапом тактических действий врача является нозологическая диагностика дерматоза. С этой целью проводится сбор и оценка общего, семейного и аллергологического анамнеза, физи-

кальное обследование пациента, определяется тип кожного дермографизма.

При наличии соответствующих клинико-анамнестических признаков и симптомов (см. рисунок) у больного диагностируется АД, что подтверждается выявлением высокого содержания общего иммуноглобулина Е в сыворотке крови. При отсутствии признаков АД ставится диагноз «экзема» с последующим уточнением ее вида.

На втором этапе врач назначает больным системную терапию в соответствии со Стандартами медицинской помощи больным АД и экземой (Приказ МЗ и СР № 268 от 23.11.2004), а наружное лечение проводится дифференцированно в соответствии с представленным алгоритмом (см. рисунок).

Фаза острых проявлений (активная гиперемия очагов, отечность кожи, наличие на этом фоне мелких везикул, точечных эрозий, серозных корок, экскориаций) у лиц старше 20-летнего возраста, в особенности с указанием на воздействие неблагоприятных бытовых и производственных факторов, может быть манифестацией истинной (идиопатической) экземы. У таких пациентов рациональным является наружное применение топических ГКС из группы «сильных», в молекуле которых отсутствуют атомы фтора — адвантан и элоком. Использование лекарственных форм эмульсии адвантана и лосьона элокома (содержащих спирты, глицерин и очищенную воду) способствует быстрому регрессу экссудативных проявлений, отека кожи под воздействием сильных ГКС и подсушивающего и охлаждающего действия основы лекарственного средства. Препараты применяются один раз в сутки, длительность терапии составляет 7—9 дней.

При установлении диагноза АД в фазе острых проявлений с легкой и умеренной тяжестью течения процесса терапевтическим средством является крем Элидел, наносят который 2 раза в сутки, длительность лечения составляет 14—21 день. Терапия нестероидным препаратом Элидел позволяет избежать риска формирования атрофии кожи, может применяться у детей раннего возраста (от 3 мес. жизни) и при локализации высыпаний в особо чувствительных зонах (лицо, шея, складки). Пролонгирование применения крема Элидел до 4—6 нед. способствует увеличению длительности клинической ремиссии и предотвращает обострения АД.

В случае формирования у пациента тяжелых проявлений АД (выраженная воспалительная инфильтрация, участки лихенификации, обширная распространенность процесса) в наружной терапии используют ГКС адвантан (у детей от 6 мес. жизни), элоком (у детей от 2 лет) в лекарственной форме крема (лицо, шея, складки) и мази (конечности, туловище).

При наличии у пациентов одновременно остро-воспалительных проявлений и клинических признаков пиогенных осложнений кожного процесса диагностируется АД, осложненный вторичной пио-

кокковой инфекцией, или микробная экзема. После идентификации возбудителя, определения спектра чувствительности пиококков к антибиотикам (что особенно важно при рецидивах гнойных осложнений более 3 раз в году) назначаются наружные средства соответствующего состава. В случае невозможности проведения бактериологических исследований — эмпирическая терапия проводится препаратами, содержащими фузидиевую кислоту (крем, мазь Фуцидин, Фуцидин Г, Фуцикорт), чувствительность штаммов *Staphylococcus aureus* к которой сохраняется на уровне 95—100% [13].

На поражения в области лица, шеи, складок рационально применение крема Фуцидин Г, содержащего гидрокортизона ацетат, при локализации очагов на конечностях и туловище — крема Фуцикорт, в состав которого входит бетаметазона валерат. Средняя длительность терапии 7—9 дней.

Фаза хронических проявлений (очаги застойной гиперемии, выраженная воспалительная инфильтрация, лихенификация, гиперкератоз и сухость кожи) может свидетельствовать о поздней (взрослой) стадии развития АД, чаще локализующегося на конечностях. Рациональным является применение в терапии ГКС адвантана или элокома в лекарственных формах, оказывающих ожиряющее и смягчающее действие (мазь, жирная мазь). Сроки наружной терапии 10—16 дней.

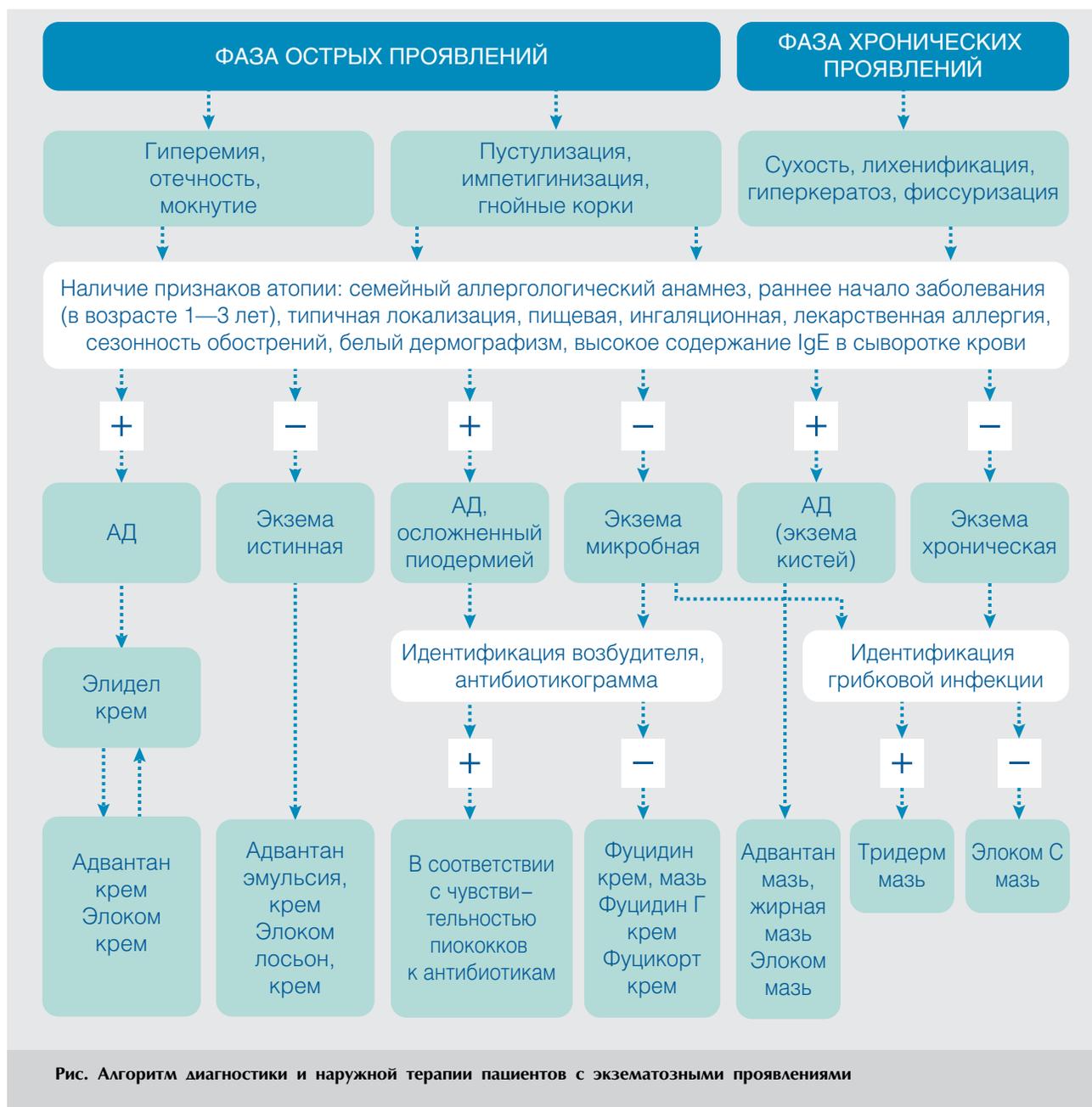
Подобные высыпания в отсутствие клинико-анамнестических признаков и симптомов АД являются манифестациями хронической экземы. Данные клинические проявления необходимо отличать от грибковых поражений гладкой кожи, для чего проводятся микроскопическое и микологическое исследования на дерматофиты и грибы рода *Candida*. В случае обнаружения возбудителей микозов назначается терапия мазью Тридерм (2 раза в сутки, сроком до 14—16 дней); при их отсутствии для терапии гиперкератотических проявлений применяется препарат Элоком С (2 раза в сутки, сроком до 14 дней).

Возможные осложнения при использовании медицинской технологии и способы их устранения

При правильном использовании медицинской технологии в строгом соответствии с показаниями осложнений не наблюдается. В случае усиления зуда, нарастания гиперемии при использовании указанных средств рекомендуется их отмена и дополнительное нанесение других ГКС препаратов для купирования реакции.

Эффективность использования медицинской технологии

Проведен ряд проспективных открытых исследований эффективности наружной терапии, назначенной в соответствии с предлагаемым алгоритмом, в группах пациентов с соответствующими диагноза-



ми. Всего под наблюдением в течение 2003—2006 гг. находились 133 больных. Осуществлен ретроспективный анализ эффективности терапии больных с аналогичными дерматозами в группах, подобранных репрезентативно по возрасту и тяжести проявлений (129 больных), которым терапия проводилась наружными ГКС более ранних генераций (крем триамцинолона ацетонид 0,1%; мазь флуоцинолона ацетонид 0,025%; мазь окситетрацилина гидрохлорид 0,3% и гидрокортизона ацетат 0,01%; мазь мазипредон гидрохлорид 0,025% и миконазол 0,02%) за период с 1999 по 2002 г. Сравнительные данные эффективности лечения представлены в таблице.

Результаты сравнительных исследований свидетельствуют, что у пациентов, терапия которых проводилась в соответствии с представленным алгоритмом, достоверно выше средние показатели достижения клинической ремиссии (85,5—97,6%), а также меньше сроки лечения: экземы — в 1,3—1,5 раза, различных форм АД — в 1,5—1,9 раза.

Таким образом, представленная медицинская технология, реализованная в виде алгоритма дифференцированного назначения наружной терапии у пациентов с различными видами экземы и АД, проводимой в соответствии с нозологической формой дерматоза, характером клинических прояв-

Таблица

Сравнительная эффективность терапии препаратами различных поколений больных экземой и АД

Контингент больных	Число больных	1999—2002 гг.		Число больных	2003—2006 гг.		
		длительность терапии, дни	достижение ремиссии, %		длительность терапии, дни	К	достижение ремиссии, %
Экзема истинная (острая)	21	11,7±2,0	84,4±3,0	22	8,0±0,7	1,5	97,1±5,6*
Экзема хроническая	16	18,9±1,6	78,5±5,3	17	12,6±2,3*	1,5	91,9±4,8*
Экзема микотическая	14	16,9±2,2	85,0±4,6	13	13,0±1,2	1,3	97,6±3,7*
АД (острая фаза)	38	15,7±3,3	71,2±7,0	36	8,4±2,0*	1,9	89,9±5,4*
АД (хроническая фаза)	16	21,1±3,5	67,3±7,4	19	13,5±3,3	1,6	85,5±6,6*
АД и пиодермия	24	11,4±1,8	89,2±6,2	26	7,4±0,9*	1,5	98,6±2,5*

Примечание. *Различия достоверны ($p < 0,05$). К — коэффициент сокращения сроков терапии при использовании алгоритма

лений основного заболевания и сопутствующих осложнений, оптимизирует лечение АД: увеличивает численность излеченных больных и уменьшает сроки терапии заболевания в 1,3—1,9 раза.

Литература

1. Кунгуров Н.В., Герасимова Н.М., Кохан М.М. Атопический дерматит. Типы течения, принципы терапии. Екатеринбург, 2000. 272 с.
2. Белоусова Т.А. Аллергодерматозы — болезни современной цивилизации // РМЖ. 2003. Т. 11, № 27. С. 1538—1542.
3. Масюкова С.А., Маркова О.Н., Устинов М.В. Особенности организации оказания медицинской помощи военнослужащим при микробной экземе // РМЖ. 2005. № 16. С. 1090—1096.
4. Кунгуров Н.В., Кохан М.М., Курилко О.Н. Анализ дерматологической заболеваемости по данным стационара Уральского НИИ ДВиИ // Росс. журн. кожн. и венерич. болезней. 2003. № 6. С. 54—60.
5. Феденко Е.С. Атопический дерматит: обоснование поэтапного подхода к терапии // Consilium medicum. 2001. № 3(4). С. 176—184.
6. Воронина В.Р., Смолкин Ю.С., Чебуркин А.А. Роль грибковой и бактериальной флоры кожи в патогенезе атопического дерматита // Вестн. дерматол. и венерол. 2003. № 1. С. 16—19.
7. Елисютина О.Г., Феденко Е.С. Роль *Staphylococcus aureus* в патогенезе атопического дерматита // Росс. аллергологич. журн. 2004. № 1. С. 17—22.
8. Leung D.Y.M.. Atopic dermatitis // Lancet. 2003. Vol. 361. P. 151—160.
9. Белобородов В.Б., Митрохин С.Д. Стафилококковые инфекции // Consilium medicum. 2003. № 5.
10. Elston D.M. Epidemiology and prevention of skin and soft tissue infections // Cutis. 2004. Vol. 73(5 Suppl). P. 3—7.
11. Gosbell I.B. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: impact on dermatology practice // Am. J. Clin. Dermatol. 2004. Vol. 5(4). P. 239—259.
12. Rayner C., Munckhof W.J. Antibiotics currently used in the treatment of infections caused by *Staphylococcus aureus* // Intern. Med. J. 2006. Vol. 36(2). P. 142—143.
13. Stratchounski L.S., Dekhnich A.V., Kretchikov V.A., Edelstain I.A., Narezkina A.D., et al. Antimicrobial resistance of nosocomial strains of *Staphylococcus aureus* in Russia: results of a prospective study // J. Chemother. 2005. Vol. 17(1). P. 54—60.

КЛИНИКО-ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ СОДЕРЖАНИЯ КЛЮЧЕВЫХ ЭФФЕКТОРНЫХ КЛЕТОК ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ИНФИЛЬТРАТА КОЖИ БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ ПОД ДЕЙСТВИЕМ УЗКОПОЛОСНОГО (311 НМ) СПЕКТРА УЛЬТРАФИОЛЕТА

Т.А. ГОРЯЧЕВА, В.А. САМСОНОВ, О.Р. КАТУНИНА

A CLINICAL, IMMUNE AND MORPHOLOGIC ANALYSIS OF CHANGES IN THE KEY EFFECTOR CELLS IN THE SKIN INFLAMMATORY INFILTRATE IN PATIENTS WITH ATOPIC DERMATITIS EXPOSED TO A NARROWBAND (311 NM) UV SPECTRUM

T.A. GORYACHEVA, V.A. SAMSONOV, O.R. KATUNINA

Об авторах:

Т.А. Горячева — врач-дерматовенеролог ФГУ «ГНИЦ Росмедтехнологий»

В.А. Самсонов — заместитель главного редактора журнала «Вестник дерматологии и венерологии», д.м.н., профессор

О.Р. Катунина — заведующая лабораторией патоморфологии ФГУ «ГНИЦ Росмедтехнологий», к.м.н.

У 15 больных с тяжелыми и среднетяжелыми формами атопического дерматита в стадии обострения иммуногистохимическим методом выявлено статистически достоверное увеличение по сравнению со здоровыми лицами содержания в дерме кожно-ассоциированных CD45RO+Т-лимфоцитов и CLA+Т-лимфоцитов, а также молекул межклеточной адгезии (ICAM-1), которое коррелировало с тяжестью клинической симптоматики. Достоверное снижение величин изученных иммуногистохимических показателей на фоне узкополосной (311 нм) средневолновой фототерапии свидетельствует не только о доминирующей патогенетической роли CD45RO+Т-лимфоцитов, CLA+Т-лимфоцитов и ICAM-1 в формировании воспалительного инфильтрата в коже, но также раскрывает один из механизмов терапевтического действия данного спектра ультрафиолетового излучения на кожу больных атопическим дерматитом.

Ключевые слова: атопический дерматит, кожно-ассоциированные Т-лимфоциты, клетки памяти, кожный лимфоцитарный антиген, молекулы межклеточной адгезии, узкополосная (311 нм) средневолновая ультрафиолетовая терапия, иммуногистохимические исследования.

A statistically reliable growth in the number of skin-associated CD45RO+, CLA+T-lymphocytes and intercellular adhesion molecules (ICAM-1) was revealed by using immunohistochemistry techniques in the derma of 15 patients with severe to moderate atopic dermatitis at the exacerbation stage vs. similar healthy volunteers. These indices correlated with the severity of clinical symptoms and were much higher than the same levels in the control group. A reliable reduction in the number of immune and morphologic indices in the skin of such patients against the background of narrowband (311 nm) MF wave phototherapy does not only prove the prevalent pathogenic role of CD45RO+, CLA+T-lymphocytes and ICAM-1 in the formation of inflammatory infiltrate in skin but also reveals one of mechanisms of the UV spectrum effect on the skin of patients suffering from atopic dermatitis.

Key words: atopic dermatitis, skin-associated T-lymphocytes, memory cells, cutaneous lymphocyte antigen, intercellular adhesion molecules, narrowband (311 nm) MF wave phototherapy, immunohistochemistry changes.

Атопический дерматит относится к заболеваниям мультифакториальной природы. Общепризнанным в развитии болезни считается участие наследственных факторов, нарушений центральной и вегетативной нервной системы, эндокринной системы, неоспорима роль аллергических реакций не-

медленного типа, неинфекционных, бактериальных аллергенов, суперантигенов и др. [1, 2].

Ведущее значение в реализации клинических проявлений атопического дерматита отводится клеточно-опосредованным реакциям (гиперчувствительности замедленного типа), что подтверждено многочисленными исследованиями отечественных и зарубежных авторов [2—5].

В развитии гиперчувствительности замедленного типа, наряду с антигенпрезентирующими клетка-

ми, важную роль играют CD4+Т-лимфоциты (Th0), которые в острый период заболевания дифференцируются преимущественно в Th2 с повышенной продукцией соответствующих цитокинов [2]. По мере хронизации очагов воспаления в коже больных atopическим дерматитом изменяется реализация иммунных реакций, которые осуществляются уже с преимущественным участием Th1 и сопровождаются сменой цитокинового профиля [2, 6, 7].

Большинство Т-клеток, выявляемых в очагах поражения больных atopическим дерматитом, являются длительно персистирующими кожно-ассоциированными клетками памяти CD45RO+. Т-лимфоциты с кожным аффинитетом идентифицируются по экспрессии на их поверхности кожного лимфоцитарного антигена (CLA) — рецептора хоминга в кожу. Для миграции CD45RO+ Т-лимфоцитов и CLA+Т-лимфоцитов в кожу необходимо участие молекул межклеточной адгезии (ICAM-1; intercellular adhesion molecule). Т-лимфоциты, взаимодействуя с ICAM-1, формируют воспалительный инфильтрат в коже больных atopическим дерматитом [2, 8, 9, 16].

В немногочисленных публикациях зарубежных авторов сообщается о превалировании в дермальных инфильтратах CD45RO+Т-лимфоцитов в период обострения atopического дерматита [8, 9, 12—15]. Однако единого мнения по этому вопросу нет. В отечественной литературе мы не встретили работ, посвященных изучению роли кожно-ассоциированных CD45RO+ Т-лимфоцитов, CLA+Т-лимфоцитов и ICAM-1 в развитии воспалительного инфильтрата в коже больных atopическим дерматитом. Мы не обнаружили также работ, в которых освещался бы мониторинг изменения содержания данных показателей в коже больных atopическим дерматитом под влиянием узкополосной (311 нм) средневолновой фототерапии. Не проводилось и одновременного раздельного исследования уровня экспрессии кожно-ассоциированных CD45RO+Т-лимфоцитов и CLA+Т-лимфоцитов в инфильтратах дермы у одних и тех же больных atopическим дерматитом.

Изложенное послужило основанием к проведению настоящего исследования.

Материал и методы

Основную группу исследования составили 15 больных (5 мужчин и 10 женщин) с тяжелым и среднетяжелым течением atopического дерматита в возрасте от 17 до 48 лет. Все пациенты страдали atopическим дерматитом с раннего детского возраста, длительность заболевания варьировала от 17 до 45 лет.

Клиническая картина заболевания соответствовала периоду обострения и характеризовалась полиморфными высыпаниями, представленными очагами эритемы, инфильтрации, лихенификации, шелу-

шением, мелкопапулезными элементами, многочисленными точечными и линейными эксфолиациями различной глубины, серозно-геморрагическими или гнойными корочками. У некоторых пациентов наблюдали явления экссудации. Очаги поражения локализовались преимущественно на сгибательных поверхностях локтевых, лучезапястных, коленных и голеностопных суставов, а также на коже лица, передней и задней поверхностей шеи, туловища и кистей.

Степень тяжести atopического дерматита оценивали с использованием индекса SCORAD [10], который до лечения находился в пределах 61—100 баллов ($76,7 \pm 3,3$ балла).

Пациенты впервые получали узкополосную средневолновую (311 нм) ультрафиолетовую терапию. В качестве наружных средств применяли смягчающие кремы. В начале курса фототерапии при необходимости назначали гипосенсибилизирующие, антигистаминные и снотворные средства.

Процедуры фототерапии проводили на ультрафиолетовой установке «Waldmann UV-7001 К», оснащенной 20 лампами F85/W — TL 01 (длина волны 310—315 нм с максимальной эмиссией на длине волны 311 нм). Начальная доза облучения составляла 0,05—0,1 Дж/см², в последующем каждую процедуру или через процедуру в зависимости от переносимости дозу увеличивали на 0,05—0,1 Дж/см². Процедуры проводили с режимом облучения 4 раза в неделю. Максимальная разовая доза облучения находилась в пределах 0,25—1,6 Дж/см². Количество процедур на курс варьировало от 10 до 37. Общая кумулятивная доза облучения составляла от 2,85 до 27,85 Дж/см² ($12,5 \pm 1,8$ Дж/см²).

С добровольного согласия пациентов у них был произведен забор биоптатов кожи из очагов поражения до и после лечения.

Контрольную группу составили 10 здоровых женщин и мужчин в возрасте от 18 до 45 лет, у которых биоптаты кожи были получены при хирургических операциях.

Иммуногистохимические исследования биоптатов кожи осуществляли на парафиновых срезах по стандартной методике с применением проявляющей системы Novocastra Peroxidase Detection System (Leica Microsystems, Великобритания). Для иммунофенотипирования использовались моноклональные антитела CLA в рабочем разведении 1:30 (BD Biosciences-Pharming, США), CD45RO в рабочем разведении 1:150 (Novocastra laboratories Ltd, Великобритания) и CD54 (ICAM-1) в рабочем разведении 1:30 (Visionbiosystems novocastra, Великобритания).

Исследование полученных препаратов кожи проводили с использованием светового микроскопа Leica DM4000B при увеличении $\times 400$. При калибровке поля зрения при помощи калибровочной шкалы было установлено, что диаметр поля зрения составил 0,6 мм. Затем была вычислена пло-

щадь поля зрения по формуле: $S = \pi r^2$, что составило: $S = 3,14 \cdot 0,32 = 0,283 \text{ мм}^2$. Количество меченых клеток в дерме подсчитывали из расчета на единицу площади. В эпидермисе подсчет меченых клеток производили из расчета на 100 кератиноцитов базального слоя. Экспрессию ICAM-1 (CD54) в эпидермисе выражали в баллах: 0 баллов — отсутствие экспрессии, 1 балл — слабая экспрессия, 2 балла — умеренная, 3 балла — выраженная экспрессия. Все полученные результаты документировали, фотографируя цифровой камерой Leica DFC320.

Статистическую обработку проводили с применением пакета прикладных программ Statistica'99 (StatSoft, США) и использованием параметрических методов. Корреляционный анализ осуществляли непараметрическим методом Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ [11].

Результаты

В исследуемой группе пациентов клиническое выздоровление было достигнуто у 5 (33,3%), значительное улучшение — у 10 (66,7%) больных. Среднее значение индекса SCORAD снизилось с $76,7 \pm 3,3$ до $21,1 \pm 5,3$ балла (в среднем на $73,5 \pm 5,8 \%$; $p < 0,001$).

При иммуногистохимическом исследовании кожи здоровых лиц было выявлено, что кожно-ассоциированные CD45RO+T-лимфоциты в эпидермисе отсутствовали, а их количество в дермальных инфильтратах составило $10,8 \pm 0,4$ (рис. 1). CLA+T-лимфоциты в эпидермисе здоровых выявляли в области базального слоя ($0,14 \pm 0,09$), а в дерме количество CLA+лимфоцитов составило $4,52 \pm 0,35$ (рис. 2; см. таблицу).

У больных атопическим дерматитом до лечения кожно-ассоциированные CD45RO+T-лимфоциты и CLA+T-лимфоциты выявляли преимущественно в дерме в составе периваскулярных клеточных инфильтратов: количество CD45RO+T-лимфоцитов

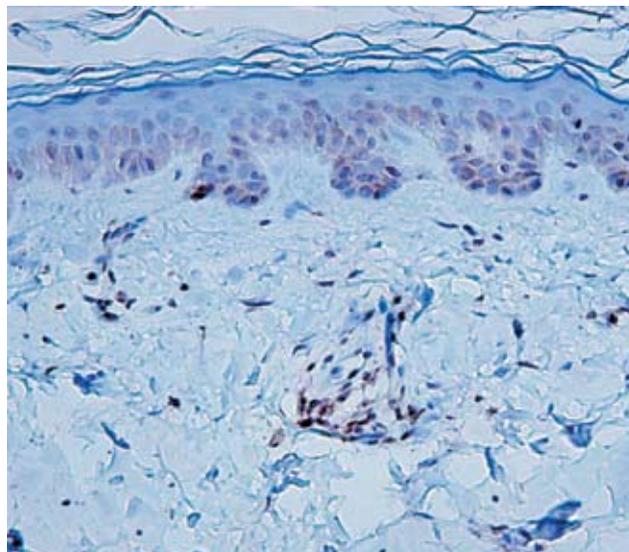


Рис. 1. CD45RO+лимфоциты в коже здорового человека $\times 200$

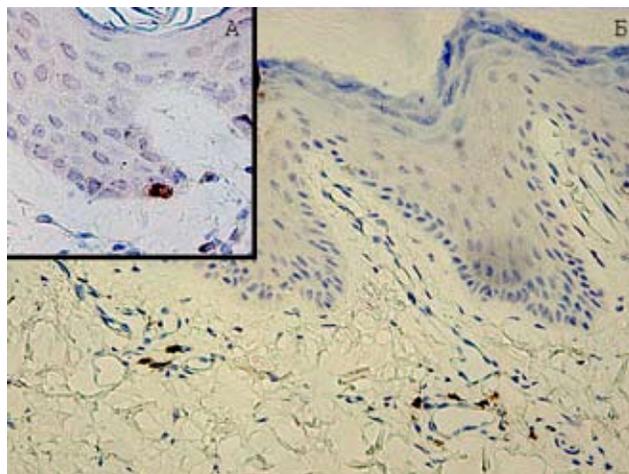


Рис. 2. CLA+лимфоциты в базальном слое эпидермиса (А) и в дерме (Б) здорового человека $\times 200$

Содержание популяций клеток в эпидермисе и периваскулярных инфильтратах кожи здоровых добровольцев и больных атопическим дерматитом, получавших курс узкополосной (311 нм) фототерапии ($M \pm m$)

Популяция клеток	Здоровые добровольцы ($n = 10$)	Больные атопическим дерматитом ($n = 15$)		p	p_1	p_2
		до лечения	после лечения			
Эпидермис (количество клеток на 100 кератиноцитов базального слоя)						
CD45RO+	0	$0,28 \pm 0,06$	$0,04 \pm 0,03$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,01$
CLA+	$0,14 \pm 0,09$	$4,3 \pm 1,2$	$2,4 \pm 0,5$	$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,001$
Периваскулярные инфильтраты дермы (количество клеток на $0,283 \text{ мм}^2$)						
CD45RO	$10,8 \pm 0,4$	$66,7 \pm 4,2$	$40,5 \pm 3,4$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$
CLA	$4,52 \pm 0,35$	$19,3 \pm 1,4$	$14,3 \pm 1,3$	$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,001$

Примечание. p — уровень статистической значимости при сравнении изучаемых показателей у здоровых и больных до лечения; p_1 — уровень статистической значимости при сравнении показателей у больных до и после лечения; p_2 — уровень статистической значимости при сравнении показателей у здоровых и больных после лечения.

составляло $66,7 \pm 4,2$, активированных CLA+T-лимфоцитов — $19,3 \pm 1,4$. В эпидермисе обнаруживали лишь единичные клетки в зоне базального слоя: количество CD45RO+лимфоцитов составляло $0,28 \pm 0,06$; CLA+лимфоцитов: $4,3 \pm 1,2$.

Суммарное (эпидермис + дерма) содержание CD45RO+T-лимфоцитов в коже больных атопическим дерматитом до лечения составило $66,9 \pm 4,2$ (рис. 3), CLA+T-лимфоцитов — $23,6 \pm 2,3$ (рис. 4), что более чем в 5 и 6 раз соответственно превосходило значения аналогичных показателей в коже здоровых добровольцев ($p < 0,001$; см. таблицу). Суммарное содержание CD45RO+ и CLA+T-лимфоцитов в коже больных коррелировало с тяжестью клинических проявлений патологического процесса (величиной индекса SCORAD; $r = 0,4$ для обоих показателей).

Экспрессия ICAM-1 как в эпидермисе, так и в дерме здоровых либо отсутствовала, либо была слабо-

выражена и составляла от 0 до 1 балла. В дерме обнаруживали единичные ICAM-1+клетки (рис. 5).

У 8 больных атопическим дерматитом до начала лечения отмечалась слабая (1 балл), у 7 — умеренная (2 балла) экспрессия ICAM-1 в эпидермисе. Основная часть окрашенных ICAM-1 клеток располагалась в периваскулярных инфильтратах дермы (рис. 6). Количество ICAM-1+клеток в дерме до лечения составило $11,8 \pm 0,8$.

После лечения узкополосным (311 нм) средневолновым ультрафиолетовым излучением нами было выявлено снижение всех исследуемых показателей как в эпидермисе, так и в периваскулярных инфильтратах кожи. CD45RO+T-лимфоциты в эпидермисе были обнаружены лишь у 2 больных в количестве 0,2 и 0,4 (в среднем по группе $0,04 \pm 0,03$). Содержание CLA+T-лимфоцитов в эпидермисе уменьшилось в 2 раза и составило $2,4 \pm 0,5$. В дерме также было вы-

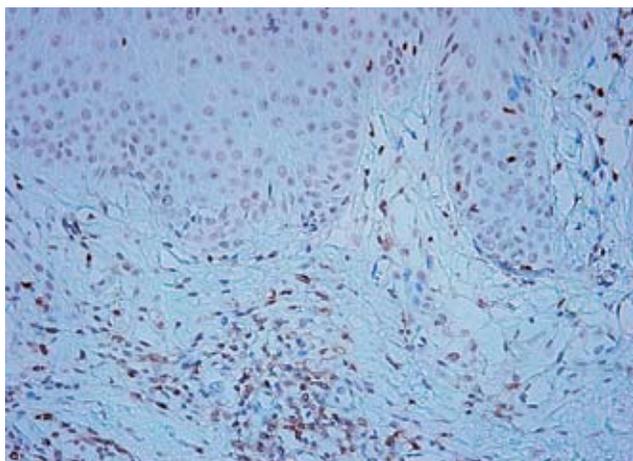


Рис. 3. CD45RO+лимфоциты в коже больного атопическим дерматитом до лечения $\times 200$

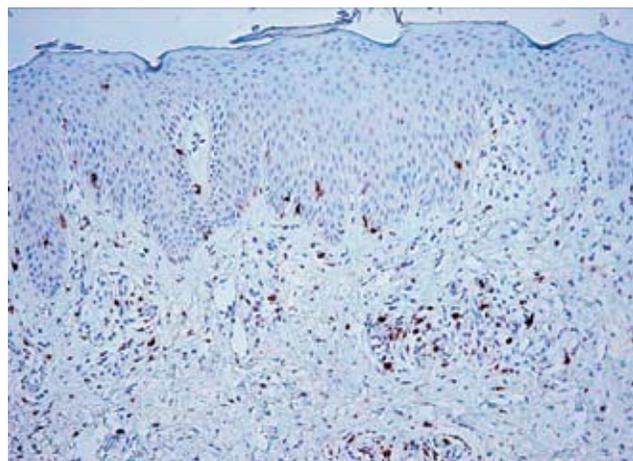


Рис. 4. CLA+лимфоциты в коже из очага поражения у пациента с атопическим дерматитом до лечения $\times 100$

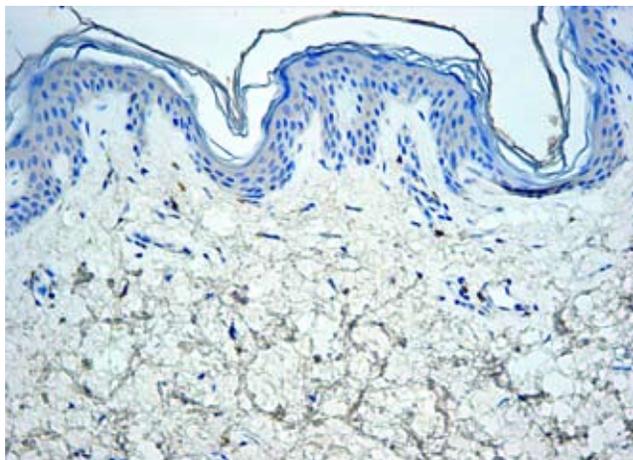


Рис. 5. Экспрессия молекул ICAM-1 в коже здорового человека $\times 100$

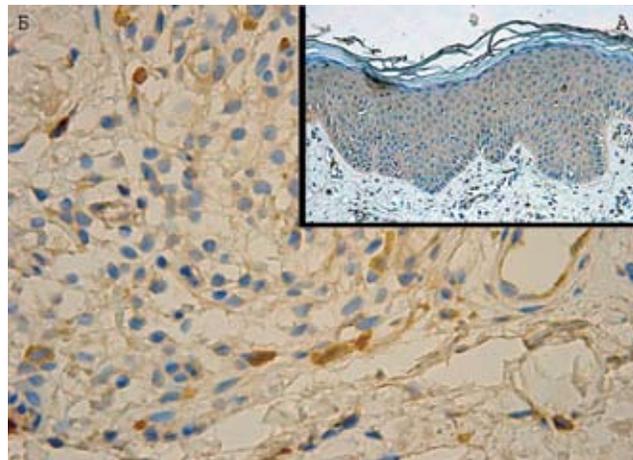


Рис. 6. Экспрессия молекул ICAM-1 в эпидермисе (А; $\times 200$) и в дерме (Б; $\times 400$) больного атопическим дерматитом до лечения

явлено значительное снижение количества CD45RO+ T-лимфоцитов и CLA+ T-лимфоцитов: соответственно до $40,5 \pm 3,4$ и $14,3 \pm 1,3$ ($p < 0,001$ в обоих случаях). Суммарно (эпидермис + дерма) количество CD45RO+ T-лимфоцитов и CLA+ T-лимфоцитов после лечения составило: $40,5 \pm 3,41$ и $16,7 \pm 1,8$ ($p < 0,001$ в обоих случаях) (рис. 7, 8). Коэффициент корреляции данных показателей с индексом SCORAD составил 0,3 и 0,2 соответственно. Экспрессия ICAM-1 после лечения в эпидермисе у 14 больных снизилась до 1 балла, у одной пациентки сохранилась на прежнем уровне (2 балла). В дерме количество ICAM-1+клеток снизилось до $8,9 \pm 0,8$ ($p < 0,01$; рис. 9). Коэффициент корреляции содержания ICAM-1+клеток с индексом SCORAD составил 0,4.

Обсуждение

Генетически детерминированная «атопическая» иммунная реакция в условиях постоянной антигенной стимуляции приводит к развитию в коже больных атопическим дерматитом воспалительной реакции. По данным зарубежных авторов [2, 8, 9, 12—15, 18], это определяется длительной персистенцией в организме активированных CD45RO+ T-лимфоцитов или CLA+ T-лимфоцитов. Единого мнения по данному вопросу нет. Считается, что эти клетки вне зависимости от фенотипа по CD4/CD8 играют в патогенезе атопического дерматита ключевую роль [2, 16]. В результате наших исследований выявлено статистически достоверное ($p < 0,001$) увеличение по сравнению с аналогичными показателями группы здоровых лиц содержания в дерме и эпидермисе больных кожно-ассоциированных CD45RO+ T-лимфоцитов и CLA+ T-лимфоцитов, а также статистически достоверное ($p < 0,001$) снижение этих показателей после курса узкополосной (311 нм) фототерапии.

Повышенный приток активированных T-лимфоцитов в очаг поражения и экстравазация их из кровеносного русла в кожу не могут осуществляться без участия факторов адгезии, к которым относятся ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, VCAM (молекулы адгезии клеток сосудистой стенки), E-селектин, P-селектин и др. Повышенная экспрессия рецепторов адгезии на эндотелии сосудов (E-селектин, P-селектин, CCL27 и др.) в очагах воспаления и их взаимодействие с лигандами гликопротеинов и рецепторов хемокинов, расположенных на поверхности T-клеток (CLA, ICAM-1, CCR10 и др.), способствует привлечению активированных T-лимфоцитов в очаг поражения [2, 9, 14—18].

Таким образом, без взаимодействия определенных рецепторов с их лигандами проникновение T-лимфоцитов из кровеносного русла в кожу невозможно. Нами обнаружено различие в количестве рецепторов CD45RO+ и CLA+ на T-лимфоцитах дермальных инфильтратов. По данным зарубежных авторов [14, 15, 17, 18], проникновение T-лимфоцитов

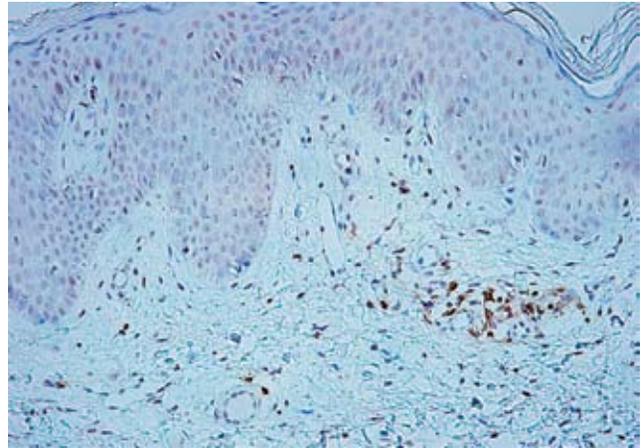


Рис. 7. CD45RO+лимфоциты в коже пациента с атопическим дерматитом после лечения $\times 200$

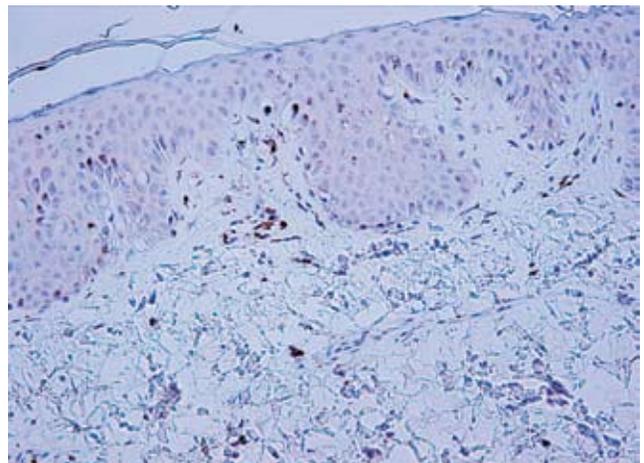


Рис. 8. CLA+клетки в коже больного атопическим дерматитом после лечения $\times 200$

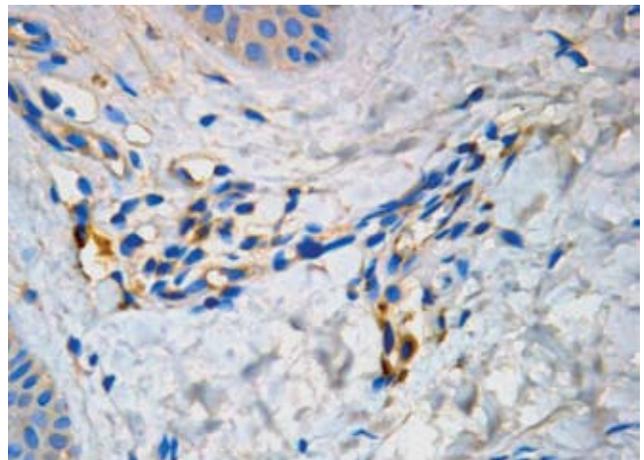


Рис. 9. Экспрессия молекул ICAM-1 в коже пациента с атопическим дерматитом после лечения $\times 400$

в кожу осуществляется с участием рецепторов CLA. Нами выявлено отсутствие CLA на поверхности 71% кожно-ассоциированных Т-лимфоцитов дермальных инфильтратов. Возможно, это связано с утратой или инактивацией рецепторов CLA в процессе длительной персистенции Т-лимфоцитов в коже. Можно также предположить, что существует альтернативный основному пути вариант экстравазации Т-лимфоцитов в дерму больных atopическим дерматитом.

Вышеизложенное, по-видимому, объясняет одну из причин неудач в лечении больных хроническими дерматозами с применением биологических модуляторов иммунного ответа, направленно блокирующих (например, эфализумаб, раптив) взаимодействие CLA+Т-лимфоцитов с молекулами межклеточной адгезии, препятствуя тем самым выходу активированных Т-лимфоцитов за пределы сосудистого русла и последующему их участию в формировании воспалительных инфильтратов в коже больных atopическим дерматитом.

Известно, что экспрессия рецепторов LFA-1 (leukocyte function antigen) и VLA-4 (very late antigen) на поверхности мембран Т-лимфоцитов приводит к торможению вращательных движений лимфоцитов с последующим взаимодействием этих антигенов с молекулами ICAM-1 и выходом Т-лимфоцитов за пределы кровеносного русла [9, 17, 18]. Вероятно, узкополосная (311 нм) фототерапия ингибирует продукцию функционального антигена лейкоцитов LFA-1 и позднего лимфоцитарного антигена VLA-4 и тем самым препятствует реализации указанного механизма экстравазации Т-лимфоцитов, оказывая противовоспалительное действие в очагах поражения.

Выявленная нами прямая корреляционная зависимость между содержанием изучаемых показателей, отвечающих за активность иммунного процесса в коже, и тяжестью клинических проявлений, а также их положительная динамика на фоне узкополосной (311 нм) средневолновой фототерапии раскрывает одно из направлений патогенетического действия данного спектра ультрафиолетового излучения на кожу больных atopическим дерматитом. Несмотря на статистически достоверное снижение количества изучаемых клеток в коже больных atopическим дерматитом под влиянием узкополосной (311 нм) фототерапии при выраженном положительном терапевтическом эффекте, содержание их в коже больных после лечения почти в 4 раза превосходило таковые показатели в коже здоровых лиц. Указанное обстоятельство, вероятно, может быть аргументом в пользу проведения более продолжительных курсов узкополосной (311 нм) фототерапии с целью увеличения периода ремиссии.

Вышеперечисленные обнаруженные нами изменения иммунологических показателей в коже больных atopическим дерматитом под влиянием

узкополосной (311 нм) фототерапии, по-видимому, являются не единственными, спектр ее действия, несомненно, шире. Мы полагаем, что узкополосная (311 нм) средневолновая ультрафиолетовая терапия воздействует и на другие звенья сложной цепи миграции Т-лимфоцитов из сосудистого русла в кожу больных atopическим дерматитом. Можно предположить, что узкополосное (311 нм) средневолновое ультрафиолетовое излучение угнетает экспрессию рецепторов хемокинов (CCR10 и др.), которые наряду с CLA-рецепторами тормозят движение Т-лимфоцитов в посткапиллярных венах именно в местах скопления молекул межклеточной адгезии. Наши представления относительно широты терапевтического действия узкополосной (311 нм) фототерапии нуждаются в конкретном подтверждении и могут составить предмет для дальнейших исследований.

Изложенное диктует необходимость дальнейшего изучения иммунных механизмов патогенеза atopического дерматита с целью разработки новых и совершенствования существующих методов лечения больных atopическим дерматитом.

Выводы

1. У 15 больных с тяжелым и среднетяжелым течением atopического дерматита в стадии обострения иммуногистохимическим методом выявлено статистически достоверное увеличение в коже по сравнению с кожей здоровых лиц содержания CD45RO+Т-лимфоцитов (в 5 раз), CLA+Т-лимфоцитов (в 6 раз), а также ICAM-1. При этом отмечалась прямая корреляционная связь всех изученных маркеров с индексом SCORAD.

2. Одновременное раздельное исследование содержания CD45RO+Т-лимфоцитов и CLA+Т-лимфоцитов в коже у одних и тех же больных atopическим дерматитом в стадии обострения выявило статистически достоверное превалирование (более чем в 1,5 раза), CD45RO+Т-лимфоцитов над CLA+Т-лимфоцитами. Установленный нами факт возможности экстравазации кожно-ассоциированных Т-лимфоцитов, не несущих на своей поверхности рецептор хоминга в кожу, вероятно, свидетельствует о наличии альтернативных традиционному пути механизмов проникновения в кожу больных CD45RO+клеток.

3. Узкополосная (311 нм) средневолновая фототерапия достоверно снижает в коже больных atopическим дерматитом содержание кожно-ассоциированных CD45RO+Т-лимфоцитов, CLA и ICAM-1 ($p < 0,001$, $p < 0,001$ и $p < 0,01$ соответственно).

4. Выявленные прямые корреляционные взаимосвязи содержания кожно-ассоциированных CD45RO+Т-лимфоцитов, CLA+Т-лимфоцитов и ICAM-1 с тяжестью клинических проявлений (величиной индекса SCORAD), а также статистически достоверное снижение их уровня на фоне вы-

раженного терапевтического эффекта в процессе узкополосной (311 нм) фототерапии свидетельствуют о значимой роли изучаемых иммуноморфологических показателей в патогенезе атопического дерматита.

5. Высокий уровень экспрессии рецепторов ICAM-1, CLA и CD45RO, сохраняющийся после лечения в коже больных атопическим дерматитом, несмотря на полученный выраженный терапевтический эффект, вероятно, может быть аргументом в пользу проведения больным более длительных курсов узкополосной (311 нм) фототерапии с целью получения более продолжительных ремиссий.

Литература

1. Поткаев Н.С., Севидова Л.Ю., Кочергин Н.Г. Атопический дерматит, основные аспекты терапии, патогенеза, клиники и немедикаментозной терапии. Учеб.-метод. рекомендации. М., 1995. 14 с.
2. Сергеев Ю.В., Иванов О.Л., Поткаев Н.С., Караулов А.В., Навиков Д.К., Земсков В.М., Сергеев А.Ю., Малышев В.С. Атопический дерматит. Рук-во для врачей под ред. Ю.В.Сергеева. М.: Медицина для всех, 2002. 183 с.
3. Караулов А.В., Земсков А.М., Земсков В.М. Клиническая иммунология и аллергология. Учебн. пособие под ред. А.В.Караулова. М.: Медицинское информационное агентство, 2002. 651 с.
4. Hanifin J.M., Chans S.C. Monocyte phosphodiesterase abnormalities and dysregulation of lymphocyte function in atopic dermatitis. // *J. Invest. Dermatol.* 1995. Vol. 105, № 1. P. 84—88.
5. Heratizadeh A., Kienlin P., Mitterman I., Valenta R., Werfel T. Detection of T-cell mediated responses to an autoantigen in atopic dermatitis, 21st World Congress of Dermatology, September-October, 2007. Abstracts. IC39.2992.
6. Кунгуров Н.В. Особенности типов течения атопического дерматита. Принципы терапии. Автореф. дисс-ции д-ра мед. наук. М, 1998.
7. Цветкова Г.М., Мордовцева В.В., Вавилов А.М., Мордовцев В.Н. Патоморфология болезней кожи. Рук-во для врачей. М.: Медицина, 2003. 496 с.
8. Воронина В.Р., Смолкин Ю.С., Чебуркин А.А. Роль грибковой и бактериальной флоры кожи в патогенезе атопического дерматита. // *Вестн. дерматол. венерол.* 2003. № 1. с. 16—19.
9. Taskapan M.O., Kumar P. Role of staphylococcal superantigenes in atopic dermatitis: from colonization to inflammation. // *Ann. Allergy, Asthma Immunol.* 2000. Vol. 84. P. 3—10.
10. Коростовцев Д.С., Макарова И.В., Ревякина В.А., Горланов И.А. Индекс SCORAD — стандартизированный метод оценки поражения кожи при атопическом дерматите. // *Аллергология.* 2000. № 3.
11. Лукьянова Е.А. Медицинская статистика. Учеб. пособие. Изд.2-е, испр. М.: Изд-во РУДН, 2003. 246 с.
12. Akdis M., Trautmann A., Klunker S. et al. Cytokine network and dysregulated apoptosis in atopic dermatitis. // *Acta Odontol. Scand.* 2001. Vol. 59, № 3. P. 178—82.
13. Santamaria L.F., Perez M.T., Hauser C., Blaser K. Skin-homing T cells in human cutaneous allergic inflammation. // *Immunol. Res.* 1995. Vol. 14, № 4. P. 317—24.
14. Colantonio L., Iellem A., Sinigaglia F., D'Ambrosio D. Skin-homing CLA+T cells and regulatory CD25+T cells represent major subsets of human peripheral blood memory T cells migrating in response to CCL1/I-309. // *Eur. J. Immunol.* 2002. Vol. 32, № 12. P. 3506—12.
15. Blanca M., Leyva L., Torres M.J. et al. Memory to the hapten in non-immediate cutaneous allergic reactions to betalactams resides in a lymphocyte subpopulation expressing both CD45RO and CLA markers. // *Blood Cells Mol. Dis.* 2003. Vol. 31, № 1. P. 75—79.
16. Ярилин А.А. Иммунные процессы в коже // *Косметика и медицина.* — 2006. № 1. С. 30—41.
17. Von Andrian U.H., Mackay C.R. T cells function and migration. // *N. Engl. J. Med.* 2000. Vol. 343. P. 1020—1034.
18. Kupper T.S., Fuhlbrigge R.C. Immune surveillance in the skin — mechanisms and clinical consequences. // *Nature Rev. Immunol.* 2004. Vol. 4. P. 211—222.

ВЫБОР ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ЭКСЦИЗИОННОЙ СИСТЕМОЙ РЕПАРАЦИИ ДНК. РАЗРАБОТКА ПРОТОКОЛА ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ

М.Б. ЖИЛОВА, Н.Л. КАГАНОВА, Н.В. ФРИГО, Л.Ф. ЗНАМЕНСКАЯ, И.А. ВОЛКОВ, В.А. ВОЛНУХИН

SELECTION OF GENES ASSOCIATED WITH THE DNA EXCISION REPAIR SYSTEM AND DEVELOPMENT OF A STUDY METHOD TO FORECAST THE EFFICACY AND SAFETY OF THE UV THERAPY OF PSORIASIS PATIENTS

M.B. ZHILOVA, N.L. KAGANOVA, N.V. FRIGO, L.F. ZNAMENSKAYA, I.A. VOLKOV, V.A. VOLNUKHIN

Об авторах:

М.Б. Жилова — заведующая отделением физиотерапии ФГУ «ГНИЦ Росмедтехнологий», к.м.н.

Н.Л. Каганова — младший научный сотрудник ФГУ «ГНИЦ Росмедтехнологий»

Н.В. Фриго — гл. научный сотрудник ФГУ «ГНИЦ Росмедтехнологий», д.м.н.

Л.Ф. Знаменская — заведующая отделом дерматологии ФГУ «ГНИЦ Росмедтехнологий», к.м.н.

И.А. Волков — научный сотрудник ФГУ «ГНИЦ Росмедтехнологий», к.б.н.

В.А. Волнухин — ведущий научный сотрудник ФГУ «ГНИЦ Росмедтехнологий», д.м.н.

В статье представлены результаты первого этапа научно-исследовательской работы, выполняемой в соответствии с Государственным контрактом 02.512.11.2323 от 05.05.2009 г. (шифр 2009-02-1.2-04-35-007) Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007—2012 годы» Федерального агентства по науке и инновациям Министерства образования и науки Российской Федерации.

Целью научно-исследовательской работы является разработка нового подхода к выбору тактики фототерапии больных псориазом (выбор вида и длительности ее проведения), прогнозированию ее эффективности и безопасности на основе выявления в биообразцах, полученных от больных псориазом, клинически значимых мутаций генов, ассоциированных с эксцизионной системой репарации ДНК.

На первом этапе исследования были отобраны для изучения гены, ассоциированные с эксцизионной системой репарации ДНК: XPC, XPD и XPF; определены в наибольшей степени функционально значимые участки указанных генов: фрагмент 15-го экзона гена XPC, фрагмент 9-го экзона гена XPD и фрагмент 11-го экзона гена XPF; разработан Протокол, включающий клинический и экспериментальный разделы и подробное описание проведения исследования; на 20 биообразцах здоровых добровольцев и 34 биообразцах больных псориазом осуществлена апробация методов выделения ДНК, амплификации и секвенирования ДНК выбранных генов, показавшая их удовлетворительную воспроизводимость. По предварительным данным, при секвенировании ДНК функционально значимых участков генов XPC, XPD и XPF у больных псориазом и здоровых добровольцев обнаружены следующие замены нуклеотидов: в гене XPD — в позициях 6491 и 12514; в гене XPC — в позициях 32724, 32828, 33343, 33350 и 82864; в гене XPF — в позициях 27945 и 28095.

Ключевые слова: псориаз, ультрафиолетовая терапия, гены XPC, XPD и XPF, эксцизионная система репарации ДНК, мутация, секвенирование.

The article presents the results of the first R&D stage under State Contract No. 02.512.11.2323 as of May 5, 2009 (Code 2009-02-1.2-04-35-007), Federal Target Program «Research and development activities for high-priority lines of development of the Russian research and technology complex in 2007—2012,» Federal Agency for Science and Innovations, Russian Ministry of Education and Science.

The goal of R&D is to develop a new approach for selecting the phototherapy tactics for psoriasis patients (selecting its type and duration), forecasting its efficacy safety based on revealing clinically relevant gene mutations associated with the DNA excision repair system in biosamples taken from psoriasis patients.

At the first stage of the study, genes associated with the DAN excision repair system were selected: XPC, XPD and XPF; the most functionally important sections of the following genes were defined: fragment of exon 15 of the XPC gene, fragment of exon 9 of the XPD gene and fragment of exon 11 of the XPF gene; the Protocol providing for the clinical and experimental section as well as detailed description of the study conduction was prepared; methods of DNA selection, amplification and DNA sequencing for the selected genes were tested based on 20 biosamples taken from healthy volunteers and 34 biosamples taken from psoriasis patients, which proved to have satisfactory repeatability. According to the preliminary data, DNA sequencing of two functionally relevant sections of XPC, XPD and XPF genes in psoriasis patients and healthy volunteers revealed the following nucleotide replacements: XPD gene — 6491 and 12514 loci; XPC gene — 32724, 32828, 33343, 33350 and 82864 loci; XPF gene — 27945 and 28095 loci.

Key words: psoriasis, UV therapy, XPC, XPD and XPF genes, DAN excision repair system, mutation, sequencing.

В последние годы в Российской Федерации отмечается рост числа хронических дерматозами больных. Так, в 2004 г. зарегистрировано 8 739 070 случаев заболеваний кожи и подкожной клетчатки (6124,5 на 100 000 населения), в 2005 г., 2006 г., 2007 г. и 2008 г. — соответственно 8 850 018 (6234,1 на 100 000 населения), 9 096 106 (6383,9 на 100 000 населения), 9 046 672 (6362,0 на 100 000 населения) и 8 972 641 случаев (6318,4 на 100 000 населения).

В современной дерматологической практике лечение больных тяжелыми формами распространенных и социально значимых заболеваний кожи проводится в рамках государственного задания на оказание высокотехнологичной медицинской помощи. Среди этих больных 60—70% составляют пациенты, страдающие псориазом, большинство которых в течение длительного времени получают повторные курсы фототерапии.

В настоящее время методы фототерапии нашли широкое применение в терапии хронических заболеваний кожи, в том числе псориаза. Способность того или иного вида излучения проникать в кожу человека зависит от длины волны, что важно учитывать при фототерапии ряда хронических дерматозов, при которых патологический процесс локализуется в различных слоях кожи. Так, средневолновые лучи (УФВ) поглощаются в основном эпидермисом, длинноволновые лучи (УФА) достигают сосочкового и сетчатого слоев дермы.

Одним из наиболее распространенных и эффективных методов ультрафиолетовой терапии является фотохимиотерапия (ПУВА-терапия), заключающаяся в сочетании применении длинноволнового УФ-излучения (УФА, длина волны 320—400 нм) и фотосенсибилизаторов группы псораленов. УФА излучение достаточно глубоко проникает в кожу и оказывает действие на дермальные фибробласты, дендритные клетки, эндотелиоциты и клетки воспалительного инфильтрата (Т-лимфоциты, тучные клетки, гранулоциты). Механизм действия ПУВА-терапии до конца не выяснен [13]. Основное значение придается взаимодействию активированного фотосенсибилизатора с ДНК клеток, в результате которого образуются монофункциональные связи с пиримидиновыми основаниями, а затем бифункциональные связи и перекрестные сшивки между цепями ДНК, что приводит к торможению клеточной пролиферации за счет временного подавления синтеза нуклеиновых кислот и белка.

В последнее время широко применяется в терапии кожных болезней средневолновое УФ-излучение узкого спектра с максимумом эмиссии на длине волны 311 нм. При узкополосной средневолновой фототерапии не требуется применения фотосенсиби-

лизаторов, в результате чего реже развиваются нежелательные побочные эффекты.

Методы УФ-терапии высокоэффективны при лечении больных разными формами псориаза, однако могут приводить к развитию ряда побочных эффектов. Выделяют ранние и отдаленные побочные эффекты. К ранним побочным эффектам относят зуд, сухость кожи и эритему. Отдаленные побочные эффекты связаны с длительным воздействием УФ-излучения и характеризуются развитием новообразований и симптомов старения кожи.

Установлено, что УФ-излучение является одним из самых частых факторов, вовлеченных в патогенез раковых образований кожи [26]. Однако точная роль в развитии рака кожи УФВ и УФА излучения, а также комбинированного воздействия этими видами излучения остается до конца не выясненной.

УФВ диапазон поглощается непосредственно ДНК клетки, УФА диапазон хуже поглощается ДНК, его генотоксические эффекты связаны главным образом с индукцией окислительного стресса и окислительного повреждения компонентов клетки.

При изучении отдаленных результатов лечения 1380 больных псориазом, получавших курсы ПУВА-терапии в течение 15 лет, отмечено увеличение частоты развития меланомы кожи по сравнению с популяционной частотой [34]. При сравнении канцерогенного потенциала низких доз (менее 100 процедур или менее 1000 Дж/см² за все курсы лечения) и высоких доз (более 200 процедур или более 2000 Дж/см²) ПУВА-терапии обнаружено, что у больных, получивших более 200 процедур, частота развития плоскоклеточного рака кожи оказалась в 14 раз выше, чем у пациентов, получивших менее 100 процедур [33].

Одним из важнейших механизмов защиты от развития рака кожи является система репарации повреждений ДНК, возникающих под влиянием УФ-излучения. УФ-индуцированные повреждения ДНК эффективно устраняются системой нуклеотидной эксцизионной репарации (NER), в которую вовлечены более 20 генов [28]. Считается, что сниженная способность к репарации ДНК является фактором, предрасполагающим к возникновению рака кожи [18,44].

Роль репарации ДНК в канцерогенезе кожи была впервые продемонстрирована у больных пигментной ксеродермой [21,29], у которых имеется врожденный дефект системы репарации ДНК. При УФ-индуцированном повреждении ДНК у этих пациентов более чем в 1000 раз повышается риск развития УФ-индуцированного рака кожи по сравнению с общей популяцией. В связи с высоким уровнем заболеваемости меланомой и ранним развитием меланом у больных пигментной ксеродермой предполагается, что гены эксцизионной системы репарации ДНК могут играть определенную роль в развитии спора-

дической меланомы кожи. Возможно, что у пациентов с УФ-чувствительной кожей также снижена способность к репарации ДНК [27].

Меланома является одним из наиболее злокачественных новообразований кожи, хотя встречается значительно реже, чем немеланомные раки кожи. Начиная с 70-х годов XX века увеличение числа случаев развития меланомы кожи наблюдается в США, Австралии, Новой Зеландии и южной Европе [3, 11, 22, 30]. С 1970 г. заболеваемость меланомой повысилась с 3 до 7%. В 2004 г. в США меланома кожи была диагностирована у 55 000 человек, из них 7910 человек умерли. Побочные эффекты УФ-облучения (ожоги, эритема кожи) повышают риск развития меланомы кожи [7, 35].

Первое исследование по изучению полиморфизмов генов репарации ДНК у больных меланомой кожи было проведено в Великобритании S. Winsey и соавт. в 2000 г. [45]. Авторами была изучена связь между полиморфизмами генов репарации ДНК *XRCC1*, *ERCC1*, *XPD*, *XPF*, *XRCC3* и риском развития меланомы кожи. Авторами обследованы 125 больных меланомой и 211 здоровых лиц. Установлено, что у больных, имеющих Т-аллель в позиции 18067 (кодон 241[Thr241Met]) в 7-м экзоне гена *XRCC3*, наблюдается двукратное увеличение риска развития меланомы кожи. Однако другое исследование, включавшее 305 больных меланомой и 319 здоровых лиц, проведенное в США, не подтвердило значимость полиморфизмов гена *XRCC3*. В более поздней работе при обследовании 56 больных меланомой кожи и 66 здоровых лиц была показана роль полиморфизмов G/A в 4-м экзоне гена *ERCC1* и полиморфизмов A/C (6 экзон), C/T (22 экзон) и A/C (23 экзон) гена *XPD* в повышении риска развития меланомы кожи [40].

A. Vaccarelli и соавт. [2] обнаружили повышенный риск развития меланомы у больных в возрасте старше 50 лет, не имевших диспластических невусов, однако они не выявили ассоциаций между полиморфизмами (*Asp312Asn* в 10-м экзоне и *Lys751Gln* в 23-м экзоне) гена *XPD* и риском развития меланомы кожи.

S. Bishop и соавт. [4,5] изучали активность систем репарации в непораженной коже больных псориазом при воздействии УФА и УФВ диапазонами. Было отмечено линейное повышение активности систем репарации ДНК при комбинированном воздействии обоими диапазонами, однако активность их не увеличивалась при воздействии только УФА излучением, на основании чего авторы делают выводы о преимущественном повреждающем действии на ДНК именно УФВ диапазона.

В исследовании M. Dybdaahl проведено сравнение [15] способности к репарации ДНК у 20 больных псориазом и наличием рака кожи и 20 больных псориазом, у которых рак кожи не выявлялся. У тех пациентов, у которых способность к репарации ДНК

была значительно снижена, наблюдалось шестикратное повышение риска развития рака кожи по сравнению с больными, имевшими высокую способность к репарации ДНК. Также было обнаружено, что чем менее выраженной была у пациентов способность к репарации ДНК, тем ранее развивался рак кожи. Однако авторы не выявили различий в способности к репарации ДНК и риске развития базально-клеточного рака кожи между 20 больными базально-клеточным раком кожи и 20 здоровыми добровольцами.

В исследовании, проведенном Y. Qiao [41], у 102 пациентов без признаков рака кожи была изучена способность к репарации ДНК, а также проведено типирование генов *XPC* и *XPD* в четырех позициях (интрон 9 в гене *XPC* и позиции 156, 312 и 715 в гене *XPD*). Авторы предполагают, что фенотипическая и генотипическая способность к репарации ДНК модулируется генетическими полиморфизмами генов типа *XPC* и *XPD*. Кроме того, каждый вариант генотипа может частично влиять на фенотип и, таким образом, на генетическую восприимчивость к раку.

Масштабные исследования по изучению ассоциаций между генетическими вариантами гена *XPD* и риском развития УФ-ассоциированного рака кожи были проведены в США на выборке из 32 826 человек. У женщин, носителей полиморфизмов *Lys751Lys* гена *XPD*, получивших высокую кумулятивную дозу солнечного облучения и имевших в анамнезе 4—5 солнечных ожогов кожи в течение жизни, было отмечено значительное повышение частоты развития меланомы и базально-клеточного рака кожи. С плоскоклеточным раком кожи ассоциации выявлено не было [H. Jiali, 2005].

Вышеуказанные полиморфизмы (*Lys751Gln* и *Asp312Asn*) гена *XPD* были также обнаружены у лиц, подвергавшихся вредному воздействию мышьяка, у которых риск развития рака кожи — значительно выше, чем в общей популяции [1]. Установлено, что белок, кодируемый геном *XPD*, и белок p53 взаимодействуют между собой в модуляции апоптоза и эксцизионной репарации ДНК. При сохранении продуктов фотоповреждения ДНК, не удаленных системой репарации, аккумулируется белок p53 и индуцируется апоптоз клеток.

Таким образом, как показывают приведенные литературные данные, существует достаточно большое количество публикаций, указывающих на наличие взаимосвязи между состоянием эксцизионной системы репарации ДНК и риском развития злокачественных новообразований кожи под влиянием УФ-излучения, хотя точная роль в развитии рака кожи УФВ и УФА диапазонов излучения, а также комбинированного их воздействия остается до конца не выясненной.

Целью настоящего исследования явилась разработка нового подхода к выбору тактики фототерапии больных псориазом (выбор вида и длительности

ее проведения), прогнозированию ее эффективности и безопасности на основе выявления в биообразцах, полученных от больных псориазом, клинически значимых мутаций генов, ассоциированных с эксцизионной системой репарации ДНК.

Научно-исследовательская работа выполнялась в соответствии с Государственным контрактом 02.512.11.2323 от 05.05.2009 г. (шифр 2009-02-1.2-04-35-007) Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007—2012 гг.» Федерального агентства по науке и инновациям Министерства образования и науки Российской Федерации.

Дизайн исследования предполагал поэтапное (4 этапа) открытое, несравнительное проспективное исследование применения различных видов УФ-терапии у пациентов со среднетяжелыми и тяжелыми распространенными формами псориаза, конечным результатом которого являлась разработка метода оценки эффективности и безопасности УФ-терапии больных псориазом на основе изучения мутаций генов, ассоциированных с эксцизионной системой репарации ДНК.

Первый этап исследования заключался в отборе генов, подверженных воздействию УФ-облучения, ассоциированных с эксцизионной системой репарации ДНК, у больных псориазом и в разработке методологии исследования.

Обоснование выбора генов, ассоциированных с эксцизионной системой репарации ДНК, подверженных воздействию УФ-облучения, у больных псориазом

Для исследования у больных псориазом генов эксцизионной системы репарации ДНК и изучения возникновения в них клинически значимых мутаций под влиянием лечения УФ-излучением были выбраны 3 гена эксцизионной репарации: *XPC*, *XPB* и *XPD*. Белки, кодируемые этими генами, являются ключевыми компонентами процесса эксцизионной репарации ДНК. Так, ген *XPC* кодирует белок, узнающий повреждения в ДНК, а ген *XPB* кодирует ДНК-геликазу — белок, который расплетает молекулу ДНК в районе места повреждения. Ген *XPD* кодирует белок, образующий комплекс с белком ERCC1 и участвующий в 5'-надрезании молекулы ДНК при эксцизионной репарации нуклеотидов. Мутации в данных генах могут привести к нарушению процессов репарации ДНК и соответственно к возрастанию ошибок в молекуле ДНК. УФ-облучение увеличивает риск появления мутаций, например, способствует образованию пиримидиновых димеров. Если мутации затронут гены репарации, это может иметь критические последствия как для отдельной клетки, так и для всего организма — повысится риск возникновения новообразований, включая раковые. Кроме того, вну-

трипопуляционный полиморфизм, обусловленный наличием SNP в последовательностях генов, может оказывать влияние на эффективность транскрипции и трансляции данных генов и процессов репарации в целом, а также на предрасположенность к ряду заболеваний.

Ввиду того, что выбранные для исследования гены эксцизионной системы репарации ДНК имеют значительные размеры, для изучения состояния каждого гена и определения его нуклеотидной последовательности были отобраны наиболее важные функциональные участки.

Для изучения гена *XPC* при проведении настоящего исследования был выбран фрагмент 15-го экзона гена *XPC*. В данном участке гена была обнаружена нуклеотидная замена, которая ассоциирована с высоким риском образования рака кожи. Кроме того, в исследуемый участок входит переменная нуклеотидная последовательность, что делает этот участок перспективным для исследования [12, 24, 42].

Для исследования гена *XPB* был выбран 9-й экзон. Данная область включает функциональный домен DEAN-box, который в свою очередь входит в АТФ-связывающий геликазный домен. Функция указанных доменов заключается в расплетании двуцепочечной молекулы ДНК для последующей работы репарационного аппарата. Также предполагается, что домен DEAN-box принимает участие в метаболизме РНК. В данной области также обнаружена нуклеотидная замена, для которой ассоциация с определенными заболеваниями на данный момент не установлена. Очевидно, что данная замена способна изменять работу DEAN-box [12, 23, 24].

Для изучения гена *XPD* (*ERCC4*) был выбран 11-й экзон. Данный участок кодирует район белка *XPD*, который входит в состав домена, отвечающего за взаимодействие с белками ERCC1 и ERCC2. В этой области также обнаружена нуклеотидная замена, значительно снижающая репарационную активность гена [12, 19, 32].

Разработка методологии исследования

Для обеспечения проведения исследования на первом этапе работы разработан Протокол исследования, включающий клинический и экспериментальный разделы.

Клинический раздел Протокола включает описание этапов клиничко-анамнестического обследования больного псориазом, которому планируется провести от 15 до 30 процедур узкополосной (311 нм) средневолновой фототерапии или общей ПУВА-терапии.

Все обследуемые (не менее 80 больных псориазом и не менее 20 здоровых добровольцев) будут разделены на несколько групп. 1-ю группу составят 20 больных псориазом, ранее не получавших узкополосную средневолновую терапию (УФВ-311)

и ПУВА-терапию. Основной целью обследования пациентов данной группы будет являться изучение нуклеотидных замен выбранных генов эксцизионной системы репарации ДНК и выявление соматических мутаций ХР-генов, которые, возможно, появятся в коже пациентов после первого курса УФ-терапии. Для проведения исследования больным будет производиться забор крови до лечения и забор биоптатов непораженной псориазом кожи после курса УФ-терапии (табл. 1).

Во 2-ю группу войдут 60 больных псориазом, ранее получавших различные виды фототерапии. В данную группу будут включены пациенты, получившие в течение жизни 3 и более курсов УФ-терапии. Целью обследования пациентов этой группы является изучение влияния кумулятивного эффекта УФ-облучения на появление возможных мутаций ХР-генов после многокурсового лечения. При анализе клинической эффективности терапии больных этой группы отдельно будут выделены лица с низким терапевтическим эффектом от проводимого лечения методами фототерапии; лица с развившимися фототоксическими реакциями, а также лица, у которых развились признаки фотостарения кожи (лентиго, кератоз кожи) и/или другие осложнения фототерапии (крапчатая пигментация и др.). Для проведения исследования больным этой группы будет проводиться забор крови до лечения и забор биоптатов непораженной псориазом кожи после курса УФ-терапии. У больных, получавших длительные курсы фототерапии, забор биоптатов планируется производить с участков непораженной псориазом кожи с признаками фотостарения или других осложнений УФ-терапии. Больным с фототоксическими реакциями забор биообразцов кожи будет производиться с участков клинических проявлений фототоксических реакций после отмены курса фототерапии.

В 3-ю группу (группа сравнения) войдут 20 здоровых добровольцев, не подвергавшихся активной солнечной инсоляции, у которых будет проводиться забор крови.

Оценка распространенности и тяжести кожного процесса будет проводиться с помощью индекса распространенности и тяжести псориаза PASI, оценка эффективности терапии — на основании определе-

ния разницы значений PASI до и после лечения, выраженной в процентах. Все нежелательные явления в процессе УФ-терапии будут фиксироваться в истории болезни пациента и его индивидуальной карте.

Тяжесть нежелательных явлений, возникающих в процессе УФ-терапии, будет оцениваться по следующим критериям:

- легкие нежелательные явления: кратковременные симптомы, не влияющие на общее состояние пациента, исчезающие самостоятельно без лечения;
- умеренные нежелательные явления: приводят к состоянию дискомфорта, могут оказывать влияние на привычную активность больного, в отдельных случаях необходимо врачебное вмешательство;
- тяжелые нежелательные явления: влияют на обычную деятельность и клинический статус больного, требуют врачебного вмешательства.

В целях систематизации данных, которые будут получены в ходе исследования, разработана индивидуальная карта больного псориазом, получающего фототерапию. Карта включает разделы, касающиеся демографических данных, анамнеза жизни и болезни пациентов, результатов их клинического обследования (включая оценку индекса PASI). В карте описано общее количество процедур и курсов фототерапии, полученное в течение жизни, отмечено наличие побочных эффектов, характер получаемого пациентом лечения в настоящее время с указанием вида применяемой фототерапии, начальной, максимальной и общей дозы УФ-излучения, количества процедур и характера клинического ответа пациентов на лечение на основании разработанных критериев.

Экспериментальный раздел Протокола по исследованию нуклеотидных последовательностей выбранных генов эксцизионной системы репарации ДНК (XPD, XPC, XPF) для поиска мутаций или нуклеотидных замен включает подбор праймеров для амплификации и секвенирования выбранных генов; выделение ДНК из биообразцов; амплификацию ДНК функционально значимых фрагментов выбранных генов; секвенирование ДНК.

Для амплификации и секвенирования функционально значимых участков генов XPC, XPD и XPF

Таблица 1

Распределение обследуемых по группам и порядок забора биоматериала для исследования

Группа пациентов	Число обследуемых	Кровь		Биоптат кожи	
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
1-я	20	+			+
2-я	60	+			+
3-я	20	+			

с использованием компьютерной программы Oligo6 подобраны следующие праймеры (табл. 2).

Выделение ДНК из биоптатов кожи проводится с использованием коммерческого набора реагентов Diatom™ DNA Prep 100 по следующему протоколу: гомогенизация биоптата в буфере на основе трис-НСL, ЭДТА, NaCL с добавлением додецилсульфата натрия, лизис полученного гомогената с использованием протеиназы К, дальнейшее выделение ДНК с использованием набора реагентов Diatom™ DNA Prep 100.

Аmplификация функционально значимых фрагментов выбранных генов осуществляется с помощью коммерческого набора реагентов фирмы «Синтол» (Россия). Полимерная цепная реакция (ПЦР) проводится в амплификаторе Dyad фирмы «Bio-Rad» (США).

Секвенирование ДНК проводится с помощью анализатора 3130 Genetic Analyzer фирмы «Applied Biosystems» (США — Япония) с использованием программного обеспечения Run 3130 Data Collection v 3.0; Sequencing Analysis 5.2; Seqscape v 2.5.

В целях испытания разработанного Протокола экспериментальных исследований проведено изучение молекулярной структуры функционально значимых участков генов *XPC*, *XPB*, *XPD*, *XPF* у 20 здоровых добровольцев и 34 больных псориазом, в результате которого установлена удовлетворительная воспроизводимость исследования.

На рис. 1 представлены результаты амплификации генов *XPD*, *XPC* и *XPF* пациента 1.

На рис. 2 представлен фрагмент сиквенса гена *XPF* у пациента 1, проанализированный с помощью программы Sequencing Analysis 5.2, которая позволяет оценить первичные данные и ряд параметров, свидетельствующих о достоверности полученных результатов (общий уровень сигнала по каждому из четырех нуклеотидов, уровень фонового сигнала, степень достоверности идентификации каждого нуклеотида в сиквенсе). У данного пациента обнаружена замена нуклеотида Т на С (выделено на рис. 2) в позиции 27945 (генотип СС).

По предварительным данным, при секвенировании ДНК функционально значимых участков генов

XPC, *XPD* и *XPF* у больных псориазом и здоровых добровольцев обнаружены следующие замены нуклеотидов: в гене *XPD* — в позициях 6491 и 12514; в гене *XPC* — в позициях 32724, 32828, 33343, 33350 и 82864; в гене *XPF* — в позициях 27945 и 28095 (табл. 3).

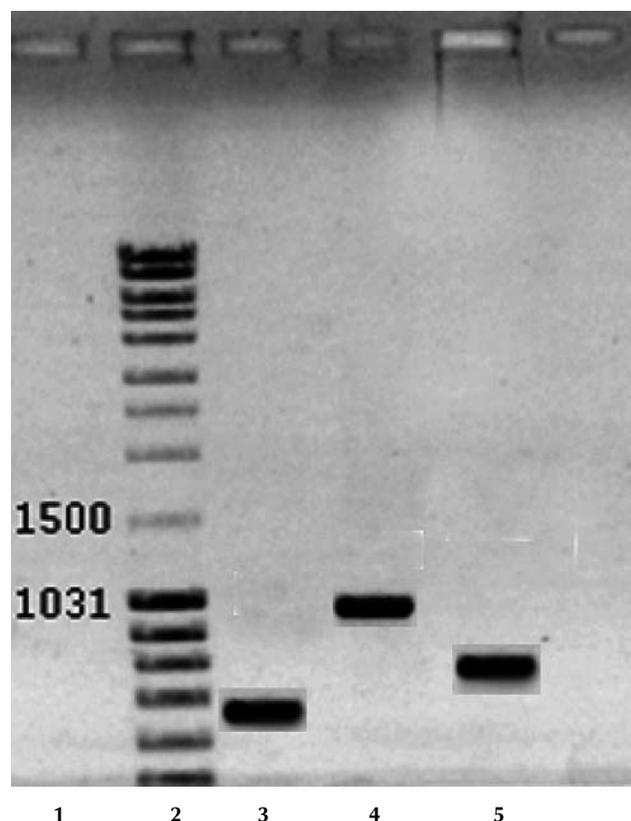


Рис. 1. Результаты ПЦР исследуемых генов пациента 1. Дорожка 1 — маркер молекулярной массы*; дорожки 2—4 — результаты амплификации генов *XPD*, *XPC*, *XPF* соответственно; дорожка 5 — отрицательный контроль.

* Маркер молекулярной массы представляет собой набор из двадцати ДНК-фрагментов длиной 80, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1031, 1500, 2000, 2500, 3000, 4000, 5000, 6000, 8000, 10000 пар нуклеотидов

Таблица 2

Праймеры для амплификации и секвенирования фрагментов генов эксцизионной системы репарации ДНК

Ген	Последовательность праймеров	Температура отжига, °С	Размер амплифицируемого продукта, п.н.
XPD	F: TCACCCTGCAGCACTTCGTT R: CTGTCTCTATCCATCTGCTC	64	673
XPC	F: TCTCCTTAGTACAGAGAGCTT R: CTGATTAACCTCGCCT	64	1014
XPF	F: GAGAGTTCTTCCCCAGTGAC R: CCTATGATGTCTGGCAAGGA	64	734

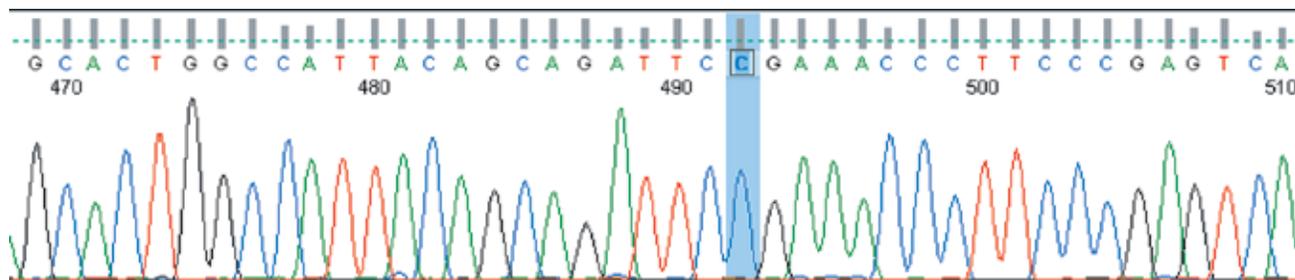


Рис. 2. Фрагмент сиквенса гена XPF пациента 1

Таблица 3

Замены нуклеотидов, обнаруженные в генах XPC, XPD и XPF у больных псориазом и здоровых добровольцев

Ген XPD	Ген XPC	Ген XPF
6491 AA	32724 AA	27945 TC
12514 AA	32828 CC или GC	28095 GA
	33343 TA	
	33350 AG	
	82864 CT	

Заключение

Таким образом, в результате проведенного этапа исследования были отобраны следующие гены эксцизионной системы репарации ДНК: XPC, XPD и XPF; определены участки генов, в наибольшей степени функционально значимые для изучения: фрагмент 15-го экзона гена XPC, фрагмент 9-го экзона гена XPD, кодирующий функциональный домен DEAN-бокс и фрагмент 11-го экзона гена XPF (ERCC4).

Для обеспечения дальнейшего проведения исследований: разработан Протокол, включающий клинический и экспериментальный разделы и подробное описание проведения исследования; подобраны праймеры для выделения выбранных участков генов, ассоциированных с эксцизионной системой репарации ДНК; с участием 20 здоровых добровольцев и 34 больных псориазом проведено испытание методов выделения ДНК из биообразцов, амплификации и секвенирования генов эксцизионной системы репарации ДНК, показавшее их удовлетворительную воспроизводимость. Все это позволяет в полном объеме осуществлять проведение экспериментальных исследований биообразцов больных псориазом, получающих УФ-терапию, и здоровых добровольцев для выявления мутаций в выбранных генах эксцизионной системы репарации ДНК.

Литература

- Applebaum K.M. Polymorphisms in nucleotide excision repair genes, arsenic exposure, and non-melanoma skin cancer in New Hampshire / K.M. Applebaum, M.R. Karagas, D.J. Hunter, P.J. Catalano, S.H. Byler, S. Morris, H.H. Nelson // Environ Health Perspect. 2007. Aug. Vol. 115, № 8. P. 231—236.
- Baccarelli A. XPD gene polymorphism and host characteristics in the association with cutaneous malignant melanoma risk / A. Baccarelli, D. Calista, P. Minghetti et al. // Br. J. Cancer. 2004. Vol. 90. P. 497—502.
- Beddingfield F.C. 3rd. The melanoma epidemic: res ipsa loquitur / F.C. Beddingfield 3rd // Oncologist. 2003. Vol. 8. P. 459—465.
- Bishop S.C. DNA repair synthesis in human skin exposed to ultraviolet radiation used in PUVA (psoralen and UV-A) therapy for psoriasis / S.C. Bishop // Br. J. Dermatol. 1979. Oct. Vol. 101, № 4. P. 399—405.
- Bishop C. DNA Repair Elicited by UVB During PUVA Therapy for Psoriasis / C. Bishop and E. Abel // Arch Dermatol Res. 1985. Vol. 278. P. 25—30.
- Bulliard J.L. Site-specific risk of cutaneous malignant melanoma and pattern sun exposure in New Zealand / J.L. Bulliard // Int J Cancer. 2000. Vol. 85. P. 627—632.
- Cleaver J.E. A Summary of Mutations in the UV-Sensitive Disorders: Xeroderma Pigmentosum, Cockayne Syndrome, and Trichothiodystrophy / J.E. Cleaver, L.H. Thompson, A.S. Richardson, J.C. States // HUMAN MUTATION. 1999. Vol. 14. P. 9—22.
- Coven T.R. PUVA-induced lymphocyte apoptosis: mechanism of action in psoriasis / T.R. Coven, I.B. Walters, I. Cardinale, J.G. Krueger // Photodermatol Photoimmunol Photomed. 1999. Feb. Vol. 15. P. 22—27.
- Drane P. Selective regulation of vitamin D receptor-responsive genes by TFIIH / P. Drane, E. Compe, P. Catez, P. Chymkowitz, J.-M. Egly // Mol. Cell 2004. Vol. 16. P. 187—197.
- Dybdahl M. Low DNA repair is a risk factor in skin carcinogenesis: a study of basal cell carcinoma in psoriasis patients / M. Dybdahl, G. Frentz, U. Vogel, H. Wallin, B.A. Nexø // Mutat Res. 1999. Vol. 433. P. 15—22.
- Grossman L. DNA repair and epidemiology of basal cell carcinoma / L. Grossman and Q. Wey // Clin Chem. 1995. Vol. 41. P. 1854—1863.
- Han J., Colditz A. Liu J. S. and Hunter D. J. Genetic Variation in XPD, Sun Exposure, and Risk of Skin Cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2005. Vol. 14, № 6. P. 1539—44.
- Hoeijmakers J.H.J. Xeroderma pigmentosum group F caused by a defect in a structure-specific DNA repair endonuclease / J.H.J. Hoeijmakers, R.D. Wood // Cell. 1996. Vol. 86. P. 811—822.
- Kraemer K.H. The role of sunlight and DNA repair in melanoma and nonmelanoma skin cancer. The xeroderma pigmentosum paradigm / K.H. Kraemer, M.M. Lee, A.D. Andrews, W.C. Lambert // Arch Dermatol. 1994. Vol. 130. P. 1018—1021.

15. Lamberg L. «Epidemic» of malignant melanoma: true increase or better detection? / L. Lamberg // *JAMA*. 2002. Vol. 287. P. 220.
16. Lehmann A.R. The xeroderma pigmentosum group D (XPD) gene: one gene, two functions, three diseases / A.R. Lehmann // *Genes Dev*. 2001. Vol. 15. P. 15–23.
17. Li L. Characterization of molecular defects in Xeroderma pigmentosum group C / L. Li, E.S. Bales, C.A. Peterson, R.J. Legerski // *Nat. Genet*. 1993. Vol. 5. P. 413–417.
18. Ravanat J.L. Direct and indirect effects of UV radiation on DNA and its components / J.L. Ravanat, T. Douki, J. Cadet // *Photochem Photobiol B*. 2001. Vol. 63. P. 88–102.
19. Rees J.L. The Genetics of Sun Sensitivity in Humans / J.L. Rees // *Am. J. Hum. Genet*. 2004. Vol. 75. P. 739–751.
20. Sancar A. DNA repair in human / A.Sancar // *Annu Rev Genet*. 1999. Vol. 29. P. 69–105.
21. Setlow R.B. Evidence that xeroderma pigmentosum cells do not perform the first step in the repair of ultraviolet damage to their DNA / R.B. Setlow, J.D. Regan, J. German et al. // *Proc Natl Acad Sci USA*. 1969. Vol. 64. P. 1035–1041.
22. Sides B.A. The melanoma epidemic. Figures have risen by over 150% over 10 years / B.A. Sides // *BMJ*. 1996. Vol. 312. P. 1363.
23. Sijbers A.M. Homozygous R788W point mutation in the XPF gene of a patient with xeroderma pigmentosum and late-onset neurologic disease / A.M. Sijbers, V.P.C. van Voorst, J.W. Snoek, A. Raams, N.G.J. Jaspers, W.J. Kleijer // *J. Invest. Dermatol*. 1998. Vol. 110. P. 832–836.
24. Stern R.S. Risk of squamous cell carcinoma and methoxsalen (psoralen) and UV-A radiation (PUVA) A meta-analysis / R.S. Stern, E.J. Lunder // *Arch Dermatol*. 1998. Dec. Vol. 134, № 12. P. 1582–1585.
25. Stern R.S. The risk of melanoma in association with long-term exposure to PUVA / R.S. Stern // *J Am Acad Dermatol*. 2001. May. Vol. 44, № 5. P. 755–761.
26. Tabenkin H. A case-control study of malignant melanoma in Israeli Kibbutzin / H. Tabenkin, A. Tamir, A.D. Sperber, M. Shapira, P. Shvartzman // *Isr Med Assoc J*. 1999. Vol. 1. P. 154–157.
27. Tomescu D. Nucleotide excision repair gene XPD polymorphisms and genetic predisposition to melanoma / D. Tomescu, G. Kavanagh, T. Ha, H. Campbell, D.W. Melton // *Carcinogenesis*. 2001. Vol. 22. P. 403–408.
28. Qiao Y. Rapid assessment of repair of ultraviolet DNA damage with a modified host-cell reactivation assay using a luciferase reporter gene and correlation with polymorphisms of DNA repair genes in normal human lymphocytes / Y. Qiao, M.R. Spitz, Z. Guo // *Mutat Res*. 2002. Vol. 509. P. 165–174.
29. Qiao Y. Modulation of repair of ultraviolet damage in the host-cell reactivation assay by polymorphic XPC and XPD/ERCC2 genotypes / Y. Qiao, M.R. Spitz, H. Shen et al. // *Carcinogenesis*. 2002. Vol. 23. P. 295–299.
30. Wei Q. DNA repair and aging in basal cell carcinoma: a molecular epidemiology study / Q. Wei, G.M. Matanoski, E.R. Farmer, M.A. Hedayati, L. Grossman // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993. Vol. 90. P. 1614–1618.
31. Winsey S.L. A variant within the DNA repair gene XRCC3 is associated with the development of melanoma skin cancer / S.L. Winsey, N.A. Haldar, H.P. Marsh et al. // *Cancer Res*. 2000. Vol. 60. P. 5612–5616.

РАЗНООБРАЗИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ БАЗАЛЬНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА КОЖИ (КЛАССИФИКАЦИЯ ВОЗ 2006 ГОД)

С.В. КЛЮЧАРЁВА, И.Н. ЧУПРОВ, И.П. САВИНОВ, В.Л. РОМАНОВА

MORPHOLOGIC VERSIONS OF BASALIOMA (ACCORDING TO THE WHO CLASSIFICATION, 2006) AND THEIR THERAPY

S.V. KLYUCHARYOVA, I.N. CHUPROV, I.P. SAVINNOV, V.L. ROMANOVA

Об авторах:

С.В. Ключарева — профессор кафедры дерматовенерологии Санкт-Петербургской медицинской академии им. Мечникова,

И.Н. Чупров — доцент кафедры патологической анатомии Медицинской академии последипломного образования, к.м.н., г. Санкт-Петербург

И.П. Савинов — профессор кафедры хирургических болезней с курсом высоких технологий Санкт-Петербургской медицинской академии им. Мечникова

В.Л. Романова — врач-дерматовенеролог кафедры дерматовенерологии Санкт-Петербургской медицинской академии им. Мечникова

Проведена оценка больных базально-клеточным раком кожи (БКРК) по различным группам клинико-морфологических показателей. Установлено, что гистотопографический вариант является определяющим в классификации БКРК. По клинико-морфологическому типу выделено три гистотопографических варианта (типа роста) БКРК, различающихся по своим макро- и микроскопическим характеристикам: поверхностный, нодулярный и инфильтративный БКРК. Представлены методики лечения БКРК различными высокоэнергетическими лазерами и фотодинамической терапией в комбинации с последующим наружным применением средства, содержащего эпигаллокатехин-3-галлат, способного останавливать развитие опухолей эпителиального происхождения.

Ключевые слова: базально-клеточный рак кожи, патоморфологическое исследование, лазер.

There was an assessment of basalioma based on different groups of clinical and morphological indices. The histotopographic version proved to be the key one in the basalioma classification. Three histotopographic versions (growth types) of basalioma distinguished by their macro- and microscopic characteristics and biopotentials were established based on clinical and morphologic features: superficial, nodular and infiltrative basalioma. A treatment method for basalioma by using high-energy lasers and photodynamic therapy as well as topical drug on the basis of epigallocatechin-3-gallate that can stop the development of epithelial tumors was presented.

Key words: basalioma, postmortem study, laser.

Гистологическое исследование биоптатов и операционного дерматологического материала является важным элементом в структуре комплекса диагностических мероприятий при опухолях кожи. Стремление отразить в гистологическом заключении максимально необходимую для клинициста информацию заставляет патоморфологов пересматривать свои классификации с учётом клинико-морфологической направленности, что является давно назревшей необходимостью. Особенно это актуально для базально-клеточного рака кожи (БКРК) — опухоли, обладающей широким спектром биологической потенции. Установление конкретной её клинико-морфологической формы может быть определяющим в решении вопросов прогноза и лечебной тактики [1, 2]. Структура морфологической классификации опухолей кожи ВОЗ (Lyon,

2006) [3] такова, что кроме традиционного выделения гистологических форм [4] включает в себя гистотопографические варианты БКРК. Под гистотопографическими вариантами понимается как опухоль паренхима, так и окружающая ее строма, что в совокупности формирует тот или иной тип роста опухоли [5—9]. Более того, гистотопографические варианты занимают в классификации приоритетное положение по отношению к гистологическим формам опухоли.

Таким образом, классификация БКРК в редакции ВОЗ (Lyon, 2006) выглядит следующим образом:

Базально-клеточный рак кожи (БКРК) — 8090/3,
поверхностный БКРК — 8091/3,
нодулярный (сольидный) БКРК — 8097/3,
микронодулярный БКРК — 8090/3,
инфильтративный БКРК — 8092/3,
фиброэпителиальный БКРК — 8093/3,
БКРК с придатковой дифференцировкой — 8098/3,
базально-плоскоклеточный рак — 8094/3,
кератотический БКРК — 8090/3,

другие варианты БКРК (кистозный, аденоидный, морфеоподобный, инфундибулокистозный, пигментный, редкие варианты).

Гистотопографические варианты (типы роста)

Поверхностный БКРК характеризуется медленным интраэпидермальным ростом, с длительно существующими булавовидными базалоидными пролифератами, происходящими из эпидермиса, без нарушения целостности базальной мембраны. В некоторых случаях имеются гистологические признаки инвазии в верхние отделы дермы, что свидетельствует о прогрессии опухоли и обязательно должно быть отмечено в морфологическом заключении.

Нодулярный вариант отличается наличием солидных, аденоидных, кистозных гистологических структур, организованных в *мелконодулярный* или *крупнонодулярный* гистотопографический тип. Опухоль располагается, как правило, не ниже уровня придатков кожи, характеризуется экспансивным ростом, без склонности к инвазии и разрушению тканей. Рецидивы после удаления практически отсутствуют. Мелконодулярный БКРК в некоторых случаях может переходить частично или полностью в инфильтративный тип, особенно в нижней, инвазивной своей части, что и становится определяющим в его прогнозе. Термин «базалиома» связан прежде всего с поверхностным и нодулярным вариантами БКРК.

Инфильтративный тип роста БКРК характеризуется наличием мелких солидных опухолевых комплексов с инфильтративно-рассеянным типом роста, более глубоким уровнем инвазии. Отмечается повышенный риск развития рецидивов [9]. Крайним проявлением этого вида служит язвенный вариант БКРК с распространением опухоли в подлежащие ткани и их разрушением. Именно с таким вариантом связан термин «базально-клеточный рак».

Гистологические формы

Фиброэпителиальный БКРК. Представлен сетью тяжелей, причудливо анастомозирующих друг с другом, состоящих из базалоидных клеток, распространяющихся в дерму в виде фенестрированного образования. Тенденции к инвазивному росту не наблюдаются.

БКРК с дифференцировкой в сторону придатков кожи. Характеризуется наличием структур, напоминающих по строению элементы придатков кожи, внутри типичных опухолевых комплексов БКРК (базалоидные луковицы, протоковые, себацейные, трихилеммальные, апокриновые, эккринные элементы). В некоторых вариантах придатковый компонент столь выражен, что такие случаи трудно дифференцировать с доброкачественными опухолями придатков кожи, например базалоидной фолликулярной гамартомой, трихоэпителиомой, трихо-

бластомой, трихилеммой. Наличие придатковой дифференцировки в БКРК отдельного прогностического значения не имеет.

Базально-плоскоклеточный (метатипический) рак. Это БКРК, ассоциированный с плоскоклеточной дифференцировкой, при которой опухолевые клетки имеют более обильную цитоплазму и выраженную кератинизацию, чем при типичном БКРК. В ядрах клеток содержится пузырьковидный хроматин, местами в опухолевых комплексах отсутствует палисадообразное расположение клеток в периферической части. Описано наличие центрального фиброза и радиального периферического ободка из инфильтративных клеток, глубокое погружение в дерму и подлежащие ткани. Характеризуется более агрессивным течением, возможны регионарные и отдаленные метастазы.

Кератотический БКРК. Микроскопически представлен нодулярным БКРК с кератинизацией в виде пластинок, воронок, роговых кист, гиалиноподобных, трихилеммальных структур, содержащих клеточные пиломатриксидной дифференцировки. Нередко присутствует дистрофическая кальцификация.

Кистозный БКРК. Имеется одна или несколько кист различных размеров вблизи от центральных опухолевых комплексов, иногда с обилием слизи по периферии.

Аденоидный БКРК. Состоит из тонких тяжелей базалоидных клеток в виде сети, часто — со слизью в строме, нередко сочетается с нодулярным (солидным) вариантом.

Склерозирующий (морфеоподобный) БКРК. Микроскопическое строение: тяжи и гнезда опухолевых клеток, погруженные в плотную фиброзированную и гиалинизированную строму.

Инфундибулокистозный БКРК. Опухоль состоит из мелких воронкообразных структур с центральными поверхностными роговыми пробками и периферическими комплексами базалоидных клеток, нередко анастомозирующих. Иногда образование носит множественный характер.

Пигментный БКРК. Микроскопически характеризуется диффузной пигментацией в связи с наличием в клетках опухолевых комплексов пигмента меланина.

Другие редкие варианты БКРК — светло(пусто)клеточный, перстневидно-клеточный, гранулярно-клеточный, гигантоклеточный (с клетками-монстрами), адамантиноидный, нейроэндокринный, шванноидный.

Целью настоящей работы явилось сопоставление основных клинико-морфологических параметров разных вариантов БКРК.

Материал и методы

Исследованы 1934 опухоли (БКРК), полученные от 1883 больных (998 женщин и 885 мужчин). Возраст пациентов колебался от 19 до 95 лет (сред-

ний возраст — 72,3±5,9 года). Проведена оценка образований по различным группам клинико-морфологических показателей. Лечение осуществлялось с помощью источников высокоэнергетического лазерного излучения. Использовали следующие лазерные аппараты: 1) CO₂-лазер — длина волны излучения 10,6 мкм, выходная мощность излучения 0,1—20 Вт; 2) полупроводниковый лазер «Диолан» — длина волны излучения 800—1000 нм, мощность излучения 1—30 Вт; 3) лазер на парах меди «Яхрома-Мед» — длина волны излучения 511 нм, 578 нм, плотность мощности — до 300 Дж/см². Применяли также фотодинамическую терапию с использованием фотосенсибилизатора второго поколения радохлорина.

Клиническими характеристиками БКРК являлись локализация и диаметр образования, длительность существования опухоли, наличие изъязвления, рецидивов и время их развития.

Группа морфологических показателей БКРК включала в себя гистологический и гистотопографический вариант, уровень инвазии, наличие структур опухоли в крае резекции и периневральной инвазии, степень пролиферативной и проангиопоптотической активности, оцененные иммуногистохимическим методом с применением моноклональных антител Ki67, p53 и bcl-2 («Novocastra», Великобритания).

Статистическую обработку данных проводили с применением методов вариационной статистики программы Microsoft Excel XP. Значимость различий между отдельными группами оценивали с помощью χ^2 , критерия Фишера и считали статистически достоверной при значении p не более 0,05.

Результаты и их обсуждение

Основные клинические характеристики БКРК

Подавляющее большинство образований локализовалось в области лица и шеи — 1542 (89,0%) случая, реже поражалось туловище — 146 (8,4%) случаев, верхние конечности — 29 (1,7%) случаев, нижние конечности — 16 (0,9%) случаев. В области головы и шеи гораздо чаще встречался инфильтративный вариант БКРК ($r = 0,74$; $p = 0,005$).

Размер опухоли (максимальное расстояние от одного края до другого) колебался от 2 до 150 мм (в среднем составлял 14,2±2,1 мм). Более крупные размеры образования оказались у нодулярного БКРК ($r = 0,54$; $p = 0,05$).

Длительность существования опухоли до её удаления составила от 2 до 276 мес. (в среднем 29,3±4,2 мес.). Наименьшая длительность существования образования была присуща инфильтративному варианту БКРК ($r = -0,63$; $p = 0,007$).

Рецидивы развивались в среднем в 7,8 % случаев. Сроки развития рецидивов колебались от 4 до 157 мес. (в среднем — 34,7 ± 5,1 мес.).

Значительно чаще ($r = 0,77$; $p = 0,007$) и раньше ($r = -0,68$, $p = 0,04$) рецидивировал инфильтративный БКРК.

В 253 (13,2%) случаях БКРК имелось изъязвление эпидермиса и поверхностных отделов дермы. Наиболее часто изъязвление развивалось также при инфильтративном варианте БКРК ($r = 0,77$, $p = 0,009$).

Основные морфологические показатели БКРК

Среди исследованных образований оказалось: 132 (6,9%) поверхностных, 1193 (62,4%) нодулярных, 587 (30,7%) инфильтративных вариантов с разной глубиной инвазии и деструкции подлежащих тканей. По гистологическому строению преобладал солидный вариант — 1243 (65,0%), кроме того, встречался БКРК смешанного строения — 249 (13,0%), десмопластический (морфеоподобный) — 276 (14,4%), поверхностный — 113 (5,9%), аденоидный — 29 (1,5%).

Уровень инвазивного роста БКРК определялся по аналогии с предложенной Clark для меланомы кожи: 1-й уровень соответствовал внутриэпидермальному росту, 2-й — в пределах сосочковой дермы, 3-й — в пределах ретикулярной дермы, 4-й — уровень придатков кожи, 5-й — прорастание в подлежащие ткани. Среди 1843 БКРК, в которых удалось определить этот параметр, 1-й уровень инвазии был у 132 (7,2%) опухолей, 2-й уровень — у 241 (13,1%), 3-й уровень — у 334 (18,2%), 4-й уровень — у 851 (46,2%), 5-й уровень — у 285 (15,5%) образований.

В 113 (5,9%) случаях БКРК имелись остатки опухоли в краях резекции, в 231 (12,1%) случае — признаки периневральной инвазии.

Иммуногистохимическое исследование

Для поверхностного БКРК отмечена положительная экспрессия p53 в 16,75±2,31% единичных клеток, расположенных ближе к базальному палисадообразному слою. В небольших солидных гнездах мелконодулярного варианта в 21,44±4,02% случаев окрашивались палисадообразные клеточные структуры, расположенные в периферической части комплексов. В пластах крупнонодулярного БКРК p53 иммунопозитивными были 31,63±5,67% клеток, равномерно распределенных по всему образованию. В инфильтративном варианте положительная экспрессия p53 присутствовала в 63,29±9,88% клеток, преимущественно по периферии ядра.

Экспрессия bcl-2 проявлялась как в виде интенсивной и равномерной окраски ядер, так и в виде тонкого ободка. В большинстве опухолевых гнезд положительно окрашивались группы клеток базального палисадообразного слоя, что составило для поверхностной формы 36,85±6,31%. Менее выраженная экспрессия bcl-2 отмечалась в нодулярном варианте — 20,56±3,32% клеток. В инфильтративном варианте БКРК число bcl-2-иммунопозитивных

опухолевых клеток было минимальным среди всех групп БКРК — $13,24 \pm 1,32\%$.

Результаты корреляционного анализа

Установлено, что частота развития рецидивов после удаления БКРК закономерно коррелировала с наличием остатков опухолевой ткани в краях резекции ($r = 0,81$; $p = 0,004$) и уровнем инвазивного роста ($r = 0,60$; $p = 0,018$). Периневральная инвазия чаще наблюдалась в крупных ($r = 0,67$; $p = 0,006$) и склонных к рецидивированию ($r = 0,55$; $p = 0,04$) БКРК (см. таблицу).

Повышение уровня пролиферативной активности опухолевых клеток (Ki67) коррелировало с более частыми рецидивами ($r = 0,63$). Обратная пропорциональная корреляция обнаружена для антиапоптотической активности: повышение уровня bcl-2 кор-

релировало с медленным ростом опухоли ($r = -0,63$), поздними рецидивами ($r = -0,53$).

Считаем целесообразным выделить три варианта лечения БКРК.

Всем пациентам была проведена терапия согласно представленным методикам.

I — первично-узловая, поверхностная опухоль кожи до 2,0 см в диаметре, ограниченная собственной дермой без перехода на окружающие ткани — лазеротерапия с использованием CO₂-лазера (рис. 1) и лазера на парах меди «Яхрома-Мед» (рис. 2).

II — язвенно-узловая, поверхностно-язвенная, фиброэпителиальная опухоль или язва более 2,0 см в диаметре, прорастающая всю толщу кожи, но не распространяющаяся на подкожную клетчатку — лазеротерапия с использованием полупроводникового лазера «Диолан», фотодинамическая терапия (рис. 3).

Корреляционные связи (r) между клиническими и морфологическими показателями БКРК

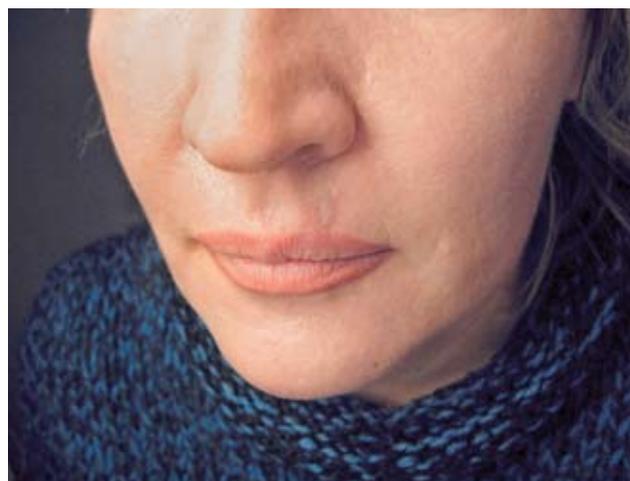
Клинический показатель	Морфологический параметр				
	УИР	ОКР	ПНИ	p53	bcl-2
Локализация	0,11	0,07	0,14	0,13	-0,20
Размеры	0,14	0,14	0,67*	0,15	0,17
Темп роста	0,27	0,13	-0,15	-0,18	0,63*
Частота рецидивов	0,60*	0,81*	0,55*	0,63*	0,06
Время развития рецидива	0,22	0,21	0,21	0,23	-0,53*
Наличие изъязвления	-0,21	0,24	-0,23	-0,21	0,17

Примечание. УИР — уровень инвазивного роста; ОКР — остатки опухоли в краях резекции; ПНИ — периневральная инвазия.

* Статистически достоверные данные.



а



б

Рис. 1. Язвенная разновидность нодулярной формы БКРК кожи:

а — проведена лазеротерапия углекислотным лазером «Ланцет» (мощность излучения 20 Вт, режим суперимпульсный, 0,002), наружно гель «Эгаллохит»; б — через 2 года после лечения. Имеется стойкий нормотрофический рубец, при осмотре рецидива не отмечается



а

б

Рис. 2. Нодулярная форма БКРК в области правого нижнего века:
 а — проведена лазеротерапия лазером на парах меди «Яхрома-Мед» (мощность излучения 1,0 Вт, режим импульсный, 0,2 с.), наружно крем «Эгаллохит»; б — через 1 год после лечения. Имеется стойкий нормотрофический рубец, при осмотре рецидива не отмечается



а

б

Рис. 3. Нодулярная форма БКРК в области переносицы:
 а — проведена лазеротерапия диодным лазером «Диолан» (мощность излучения 25 Вт, режим импульсно-периодический, 0,2 с.), наружно крем «Эгаллохит»; б — через 1 год после лечения. Имеется стойкий нормотрофический рубец, при осмотре рецидива не отмечается

III — язвенно-узловая, инфильтративно-язвенная, склеродермоподобная, рецидивная, конглобатная опухоль больших размеров или любой величины, распространяющаяся на подлежащие мягкие ткани, без прорастания хряща и кости либо наличие метакронных очагов поражения — фотодинамическая терапия (рис. 4).

Во всех случаях после лазерного воздействия назначался гель (крем) «Эгаллохит» в течение 14 дней. «Эгаллохит» содержит эпигаллокатехин-3-галлат (EGCG). Доказано, что EGCG тормозит неоангиогенез, обладая выраженной ингибирующей активностью в отношении фактора роста эндотелия сосудов и его рецепторов. Подавляет



а



б

Рис. 4. Язвенная разновидность нодулярной формы, метакронный очаг БКРК в области подбородка: а — проведена фотодинамическая терапия, наружно крем «Эгаллохит»; б — через 1 год после проведения фотодинамической терапии. Имеется стойкий нормотрофический рубец, при осмотре рецидива не отмечается

активность специфических протеиназ, эффективно тормозит процессы клеточной инвазии и метастазирования. Как сильнейший антиоксидант нейтрализует действие свободных радикалов в нормальных тканях. Обладает способностью выражено подавлять активность циклооксигеназы второго типа, простагландинов и синтез провоспалительных цитокинов, является эффективным индуктором апоптоза клеток с аномально высокой пролиферативной активностью [10].

Из сказанного выше с очевидностью следует, что данный препарат весьма целесообразно использовать для профилактики и фармакологической коррекции заболеваний, в основе развития которых лежат процессы патологического клеточного роста и воспаления.

Заключение

Результаты настоящей работы показали следующие преимущества использования лазеров и фотодинамической терапии с последующим применением средства «Эгаллохит»:

- снижение частоты рецидивирования БКРК,
- сокращение сроков эпителизации послеоперационных ран;
- снижение частоты возникновения интраоперационных осложнений;
- снижение частоты возникновения ранних и поздних послеоперационных осложнений,
- увеличение частоты положительных оценок качества косметической реабилитации.

Использование лазера с длиной волны 800—1000 нм (лазер «Диолан»), обладающего высокой

проникающей способностью и обеспечивающего максимальную радикальность вмешательства, наиболее целесообразно при ликвидации глубокоинвазивных, но ограниченных по площади образований. Фотодинамическую терапию следует назначать для удаления распространенных злокачественных опухолей.

Таким образом, при клинико-морфологическом анализе представляется рациональным выделять, по крайней мере, три гистотопографических варианта (типа роста) БКРК, отличающихся по своим макро-, микроскопическим характеристикам. К ним относятся поверхностный, нодулярный и инфильтративный БКРК.

Гистотопографический вариант является определяющим в классификации БКРК, максимально отвечая современному клинико-морфологическому принципу патоморфологии. Гистологическая форма БКРК самостоятельного прогностического значения не имеет.

Наиболее агрессивным вариантом БКРК является инфильтративный, сочетающийся с рядом морфологических маркёров, имеющих прогностическое значение. К неблагоприятным признакам относятся: прорастание опухоли в подлежащие ткани и вовлечение в опухолевый рост периферических нервов, повышение экспрессии пролиферативного маркёра p53 и снижение — антиапоптотического маркёра bcl-2.

Фотодинамическая терапия и лазеротерапия являются наиболее оправданными методами лечения БКРК с последующим назначением антипролиферативного препарата геля (крема) «Эгаллохита», так как данный препарат весьма целесообразно ис-

пользовать для профилактики и фармакологической коррекции заболеваний, в основе развития которых лежат процессы патологического клеточного роста и воспаления.

Литература

1. Снарская Е.С., Молочков В.А., Базалиома. М: Медицина 2003, 324.
2. Хлебникова А.Н. Клинико-морфологические и иммуногистохимические особенности различных форм базально-клеточного рака кожи и комплексный метод его лечения: Автореф. дис. . . д-ра мед. наук. М. 2007, 35 с.
3. Pathology and genetics of skin tumors. WHO classification of tumors. Ed. by P.E. LeBoit, G. Burg, D. Weedon, A. Sarasin. Lyon 2006, 357.
4. Хлебникова А.Н., Казанцев И.А. Гистологические варианты базально-клеточного рака кожи//Рос. журн. кожн. и вен. бол. 2000; № 2. С. 4—8.
5. Молочков В.А., Снарская Е.С., Франк Г.А., Завалишина Л.Э. Иммуногистохимические особенности базально-клеточного и метатипического рака кожи//Рос. журн. кожн. и вен. бол. 2005; № 1. С. 4—8.
6. Ansarin H., Daliri M., Soltani-Arabshahi R. Expression of p53 in aggressive and non-aggressive histologic variants of basal cell carcinoma//Eur. J. Dermatol. 2006. Vol. 5. P. 543—547.
7. Bozdogan O., Erkek E., Atasoy P. et al. Bcl-2-related proteins, alpha-smooth muscle actin and amyloid deposits in aggressive and non-aggressive basal cell carcinomas//Acta Derm. Venereol. 2002. Vol. 6. P. 423—427.
8. Cernea C.R., Ferraz A.R., de Castro I.V. et al. p53 and skin carcinomas with skull base invasion: a case-control study//Otolaryngol. Head. Neck. Surg. 2006. Vol. 3. P. 471—475.
9. Asilian A. Aggressive and neglected basal cell carcinoma // Dermatol. Surg. 2005. Vol. 11. P. 1468—71.
10. Сидорова И.С., Коган Е.А. и др. Эпигаллат и репродуктивное здоровье. Практич. рекомендации. М. 2008, 48 с.

ЭГАЛЛОХИТ®

Улучшает эпителизацию и предотвращает образование патологических рубцов после любых повреждений кожи

Заживление без рубцов и воспаления!

30 г ЭГАЛЛОХИТ®

30 г ЭГАЛЛОХИТ®

Телефон горячей линии:
8-500-555-55-82
Звонок по России бесплатный

MIRAX PHARMA

ЗАО «МираксФарма»
121059, Москва, ул. Брянская, д. 5
Тел. + 7 (495) 721 20 58
www.mirax-pharma.ru
www.egalohit.ru

ОСОБЕННОСТИ НАРУШЕНИЙ Т-КЛЕТОЧНЫХ ИММУННЫХ ПРОЦЕССОВ В КОЖЕ БОЛЬНЫХ ОГРАНИЧЕННОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ И ИХ ДИНАМИКА В ПРОЦЕССЕ УФА-1 ТЕРАПИИ

В.А. ВОЛНУХИН, Н.Л. МУРАДЯН, О.Р. КАТУНИНА

CHARACTERISTICS OF THE PHENOTYPIC PROFILE OF LYMPHOCYTES IN THE FOCI OF CIRCUMSCRIBED SCLERODERMA AND ITS CHANGES IN THE COURSE OF THE UVA-1 THERAPY

V.A. VOLNUKHIN, N.L. MURADYAN, O.R. KATUNINA

Об авторах:

В.А. Волнухин — ведущий научный сотрудник ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий», д.м.н.

Н.Л. Мурадян — младший научный сотрудник ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий»

О.Р. Катунина — заведующая лабораторией патоморфологии ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий», к.м.н.

У 17 больных бляшечной склеродермией и 10 здоровых добровольцев проведено иммуногистохимическое исследование содержания в пораженной коже субпопуляций CD4+ и CD8+ лимфоцитов, а также активированных CD25+ и HLA-DR+ клеток; у 10 пациентов изучена динамика этих показателей до и после УФА-1 терапии. В эпидермисе больных обнаружено повышенное по сравнению с контрольной группой содержание CD8+ лимфоцитов, в периваскулярных инфильтратах выявлен повышенный уровень всех исследованных показателей. Улучшение клинических симптомов склеродермии в процессе УФА-1 терапии сопровождалось частичной элиминацией из пораженной кожи CD8+ лимфоцитов, а также уменьшением количества активированных CD25+ и HLA-DR+ клеток в периваскулярных инфильтратах, однако полной нормализации иммунных нарушений не наблюдалось. Полученные результаты свидетельствуют о важной роли в патогенезе заболевания активации Т-клеточных иммунных реакций в очагах поражения и корригирующем влиянии на них УФА-1 терапии.

Ключевые слова: ограниченная склеродермия, УФА-1 терапия, иммуногистохимические исследования, CD4+ лимфоциты, CD8+ лимфоциты, CD25+ клетки, HLA-DR+ клетки.

Our study was an immunomorphology study of 17 morphea guttata patients and 10 healthy volunteers aimed at measuring the concentrations of major subpopulations of T-cells (CD4+ and CD8+ lymphocytes) as well as activated HLA-DR+ and CD25+ lymphocytes in perivascular skin infiltrates in the course of the UVA-1 therapy. An increased derma concentration of CD8+ lymphocytes and CD25+ cells vs. the control group was discovered. A reduced concentration of CD8+, CD25+ and HLA-DR+ cells was detected in the course of UVA-1 therapy. However, an increased concentration of CD4+, CD8+ and CD 25+ cells vs. concentrations in healthy volunteers was discovered after the treatment. These results confirm that T-cell immunoreactions become activated in the skin of the patients suffering from circumscribed scleroderma.

Key words: circumscribed scleroderma, UVA-1 therapy, immunomorphology studies, CD4+ lymphocytes, CD8+ lymphocytes, CD25+ cells, HLA-DR+ cells.

В патогенезе ограниченной склеродермии большое значение придаётся различным иммунным нарушениям, выявляемым как в крови, так и в коже больных [1—3]. Вместе с тем роль клеточно-опосредованных иммунных реакций в формировании патологического процесса в очагах поражения окончательно не установлена. Известно, что клеточная инфильтрация кожи лимфоцитами, плазматическими клетками и гистиоцитами является одним из ранних признаков склеродермии. Некоторые исследователи рассматривают наличие в инфильтра-

тах кожи плазматических клеток как подтверждение важной роли в развитии заболевания В-клеточного звена иммунной системы, однако другие авторы ведущую роль отводят активации Т-клеточных иммунных реакций [4, 5].

Существующие методы терапии ограниченной склеродермии недостаточно эффективны, что обуславливает поиск более совершенных терапевтических подходов. В последние годы в клиническую практику предложен новый эффективный метод лечения склеродермоподобных заболеваний, основанный на облучении кожи больных длинноволновым ультрафиолетовым светом УФА-1 диапазона (340—400 нм) [6—9]. Установлено, что одним из основных механизмов действия УФА-1 излучения на скле-

ротические изменения кожи является увеличение количества интерстициальной коллагеназы — матричной металлопротеиназы MMP-1, вызывающей деградацию коллагена [10—12]. В то же время механизмы действия этого вида излучения на иммунное воспаление в коже остаются невыясненными.

Целью настоящей работы явилось изучение содержания в пораженной коже больных ограниченной склеродермией основных субпопуляций Т-клеток: CD4+ и CD8+ лимфоцитов, активированных CD25+ и HLA-DR+ клеток, а также оценка динамики данных показателей под действием ультрафиолетовой терапии УФА-1 диапазона.

Материал и методы

Материалом для исследования служили иммуногистохимические препараты кожи 10 здоровых добровольцев (контрольная группа) и 17 больных ограниченной склеродермией (12 женщин и 5 мужчин) в возрасте от 18 до 63 лет (медиана 34 года), с продолжительностью болезни от 5 мес. до 17 лет (медиана 1,5 года). У 16 больных диагностирована бляшечная форма заболевания, у 1 — линейная форма. У всех пациентов очаги склеродермии находились в стадии эритемы и индурации. У 10 больных исследования препаратов кожи проведены до и после курса УФА-1 терапии. Группа больных не отличалась по возрасту и полу от группы здоровых добровольцев ($p > 0,05$).

Биоптаты кожи у больных брали до лечения из очагов эритемы и/или индурации кожи, после лечения — из участков ранее поражённой кожи, расположенных рядом с местом предыдущей биопсии. У здоровых добровольцев кожу для исследования забирали при хирургической коррекции косметических дефектов.

Иммуногистохимические исследования проводили на парафиновых срезах по стандартной методике с предварительной обработкой в СВЧ-печи и применением проявляющей системы Novostain super ABC Kit (universal). Для иммунофенотипирования использовали мышинные моноклональные антитела (Novocastra Laboratories Ltd, Великобритания), специфичные к антигенам CD4 — маркеру субпопуляции Т-хелперов/индукторов, CD8 — маркеру субпопуляции супрессорно-цитотоксических Т-клеток, CD25 — маркеру α -цепи рецептора ИЛ-2, HLA-DR — молекуле главного комплекса гистосовместимости II класса. Для определения содержания CD4+ и CD8+ клеток использовали моноклональные антитела, готовые к употреблению; для определения CD25+ клеток антитела применяли в разведении 1:150, HLA-DR+ клеток — в разведении 1:40. Подготовленные препараты изучали в световом микроскопе «Leica DM 4000B», изображение документировали цифровой камерой «Leica DFC 320».

Содержание CD4+, CD8+ и CD25+ клеток в эпидермисе определяли в поле зрения из расчета на 100 эпителиоцитов базального слоя. При оценке содержа-

ния CD4+, CD8+ и CD25+ клеток в дерме в 5 периваскулярных инфильтратах произвольно выбирали по 20 клеток, среди которых проводили подсчет количества клеток, меченных указанными антителами, после чего для каждого биоптата рассчитывали средние значения их относительного содержания. Содержание HLA-DR+ клеток определяли с помощью программы «Adobe Photoshop CS» (версия 8). Для этого в пикселях измеряли площадь поля зрения и площадь окрашенных клеток, затем высчитывали процентное отношение площади окрашенных клеток к площади поля зрения. Подсчет осуществляли в 5 выбранных полях зрения, после чего для каждого препарата рассчитывали среднее значение.

Фототерапию пациентов осуществляли в ультрафиолетовой кабине Waldmann UV 7001K «Herbert Waldmann GmbH & Co. KG» (Германия) с использованием ламп F85/100W-TL10R, генерирующих излучение в диапазоне волн 340—400 нм с максимумом эмиссии на длине волны 370 нм. Облучения начинали с дозы 5—20 Дж/см², последующие разовые дозы повышали на 5—10 Дж/см² до максимальной разовой дозы 20—40 Дж/см². Процедуры проводили в виде монотерапии, из дополнительных средств применяли увлажняющий крем.

Для оценки динамики кожного статуса больных в процессе УФА-1 терапии в очагах склеродермии до и после курса лечения определяли площадь индурации кожи (в см²), а также интенсивность основных клинических симптомов заболевания — эритемы и индурации кожи, которую выражали в баллах от 0 до 3 (0 баллов — отсутствие признака, 1, 2 и 3 балла — соответственно минимальная, средняя и максимальная выраженность признака). При оценке эффективности лечения у каждого пациента в процентах рассчитывали индексы относительного уменьшения указанных клинических признаков, после чего по разработанной нами формуле выводили суммарный индекс уменьшения поражения кожи:

$$I_k = \frac{I_3 + (I_n + I_n)}{2},$$

где: I_k , I_3 , I_n и I_n — соответственно индексы относительного уменьшения поражения кожи, интенсивности эритемы, площади индурации и интенсивности индурации.

О результатах лечения судили по количеству больных, у которых наступило клиническое выздоровление, значительное улучшение, улучшение или эффект от терапии отсутствовал. Если I_k составлял 95% и более, констатировали клиническое выздоровление, 51—94% — значительное улучшение, 25—50% — улучшение, менее 25% — отсутствие эффекта.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программ

Statistica 6.1 (StatSoft, Inc., США). Описательную статистику количественных признаков представляли медианами и квартилями (в формате $Me [Q_1; Q_3]$), качественных признаков — абсолютными и относительными частотами. Сравнение несвязанных групп по количественным признакам осуществляли с использованием теста Манна—Уитни, по качественным признакам — с помощью точного критерия Фишера. Для сравнения связанных групп применяли тест Вилкоксона. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

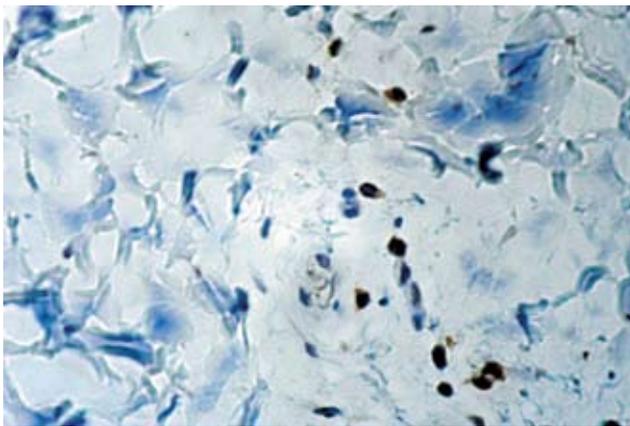
Результаты и обсуждение

Исследование иммуногистохимических препаратов кожи показало, что в контрольной группе CD4+ и CD8+ лимфоциты в эпидермисе отсутствовали, а в дерме встречались лишь единичные клетки (рис. 1 а, 2 а). В эпидермисе больных CD4+ лимфо-

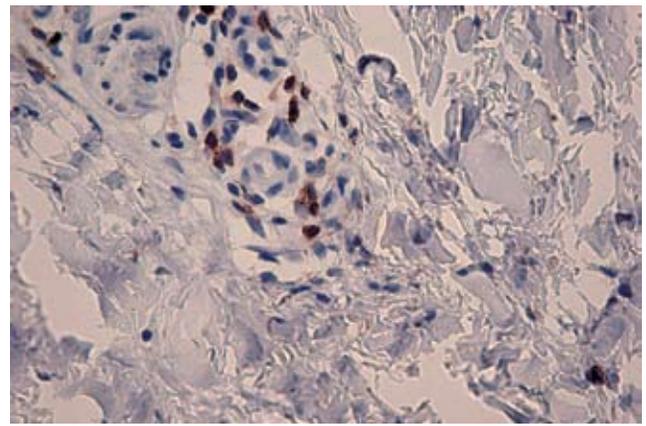
циты также не обнаруживали, тогда как отдельные CD8+ лимфоциты находили в большинстве исследованных препаратов, нередко они располагались вблизи базального слоя эпидермиса в тесном контакте с эпителиоцитами (рис. 2 б). При статистическом анализе установлено более высокое содержание CD8+ лимфоцитов в эпидермисе по сравнению с таковым в группе здоровых добровольцев (табл. 1; $p < 0,001$).

В периваскулярных инфильтратах кожи больных выявлено повышенное содержание как CD4+ лимфоцитов ($p = 0,016$), так и CD8+ лимфоцитов ($p < 0,001$). CD4+ клетки находили лишь в периваскулярных инфильтратах (рис. 1 б), CD8+ лимфоциты встречались как в составе периваскулярных инфильтратов, так и в виде отдельных клеток, располагавшихся в сосочковом слое дермы (см. рис. 2 б).

У здоровых добровольцев сумма CD4+ и CD8+ лимфоцитов составляла 15% клеточного состава перива-

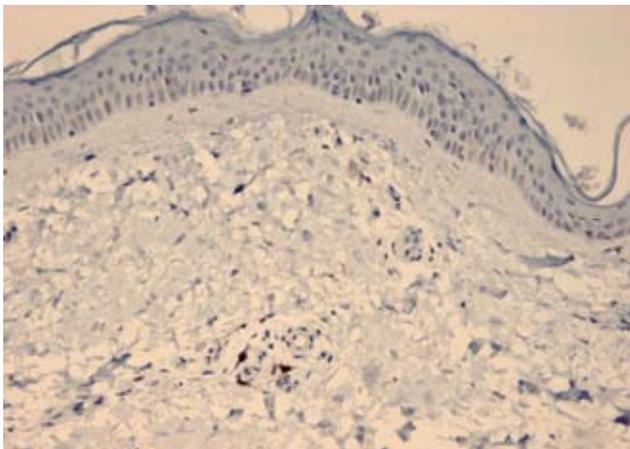


а

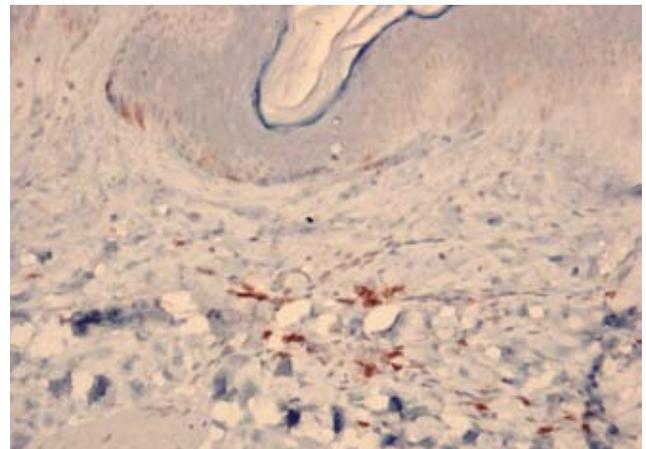


б

Рис. 1. CD4+ лимфоциты в периваскулярных инфильтратах кожи. $\times 400$. Здесь и на рис. 2—4: а — у здоровых добровольцев; б — у больных ограниченной склеродермией



а



б

Рис. 2. CD8+ лимфоциты в эпидермисе и периваскулярных инфильтратах кожи. $\times 200$ (а); $\times 400$ (б)

скулярных инфильтратов, тогда как у больных ограниченной склеродермией — почти половину всех клеток (41%). Содержание CD4+ и CD8+ клеток в инфильтратах превышало значения аналогичных показателей в группе здоровых лиц соответственно в 2 и 3,2 раза. Количество CD8+ лимфоцитов в очагах склеродермии было в 2,4 раза выше количества CD4+ клеток, в результате чего отношение CD4+/CD8+ лимфоцитов было пониженным (см. табл. 1).

Реакция к антигену CD25 (рецептору ИЛ-2) в коже здоровых лиц была отрицательной как в эпидермисе, так и в дерме (рис. 3 а). В эпидермисе больных CD25+ клетки также отсутствовали, однако в периваскулярных инфильтратах их количество оказалось значительно увеличенным (см. табл. 1; $p=0,005$). Положительная реакция наблюдалась

в основном в клетках периваскулярных инфильтратов поверхностного сосудистого сплетения, единичные окрашенные клетки встречались среди коллагеновых волокон (рис. 3 б).

HLA-DR+ клетки и в группе здоровых добровольцев, и в группе больных выявляли как в эпидермисе, так и в дерме в виде конгломератов клеток с переплетающимися отростками (рис. 4). Различий в количестве HLA-DR+ клеток в эпидермисе в группах здоровых лиц и больных не обнаружено, однако в периваскулярных инфильтратах в группе больных оно почти в 4 раза превышало таковое в контрольной группе (см. табл. 1; $p<0,001$).

При проведении УФА-1 терапии больные получали на курс от 20 до 40 процедур (медиана 30 процедур). Максимальные дозы облучения варьировали

Таблица 1

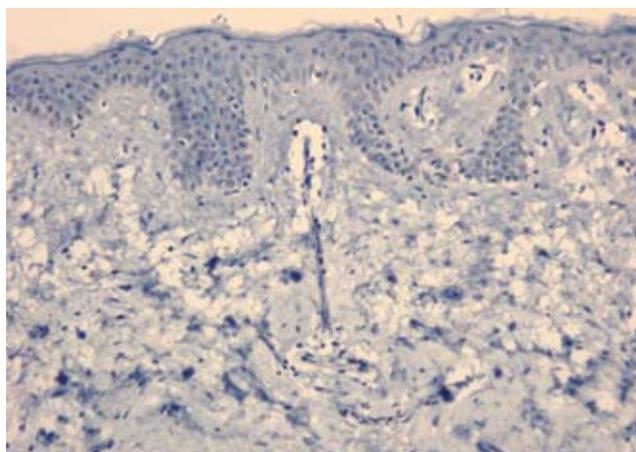
Содержание популяций клеток в эпидермисе и периваскулярных инфильтратах кожи здоровых добровольцев и больных ограниченной склеродермией (медианы и квартили)

Популяция клеток	Здоровые добровольцы (n=10)	Больные ограниченной склеродермией (n=17)	p
Эпидермис*			
CD8+	0	0,6 (0,2; 1,0)	<0,001
Периваскулярные инфильтраты (%)			
CD4+	6,0 (5,0; 8,0)	12,0 (7,0; 19,0)	0,016
CD8+	9,0 (7,0; 13,0)	29,0 (25,0; 34,0)	<0,001
CD4+/CD8+	0,65 (0,60; 0,71)	0,44 (0,30; 0,73)	0,097
CD25+	0	31,5 (27,0; 50,0)**	<0,001
HLA-DR+	1,8 (1,5; 2,4)	7,1 (4,8; 10,4)**	<0,001

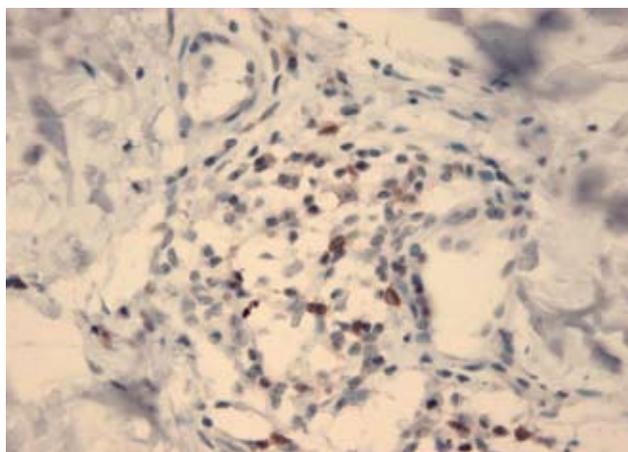
Примечание. p — уровень статистической значимости различий при сравнении показателей у здоровых добровольцев и больных с использованием теста Манна—Уитни.

* Количество окрашенных клеток на 100 эпителиоцитов базального слоя.

** n=10.



а



б

Рис. 3. CD25+ клетки в периваскулярных инфильтратах кожи. ×200 (а); ×400 (б)

от 20 до 40 Дж/см² (медиана 30 Дж/см²), курсовые дозы — от 510 до 1939 Дж/см² (медиана 648 Дж/см²). В результате терапии положительный эффект констатирован у 9 из 10 больных: клиническое выздоровление достигнуто у 1 пациента, значительное улучшение — у 4, улучшение — у 4. В процессе лечения в очагах склеродермии наблюдали уменьшение интенсивности как эритемы ($p=0,005$), так и индур-

рации кожи ($p=0,011$); площадь индукции уменьшилась на 22% ($p=0,011$; табл. 2).

После курса УФА-1 терапии CD8+ лимфоциты в эпидермисе больных встречались значительно реже (рис. 5), статистический анализ выявил двукратное снижение их содержания после лечения, однако полной нормализации данного показателя не наблюдалось (табл. 3; $p<0,001$). Экспрессия молекул

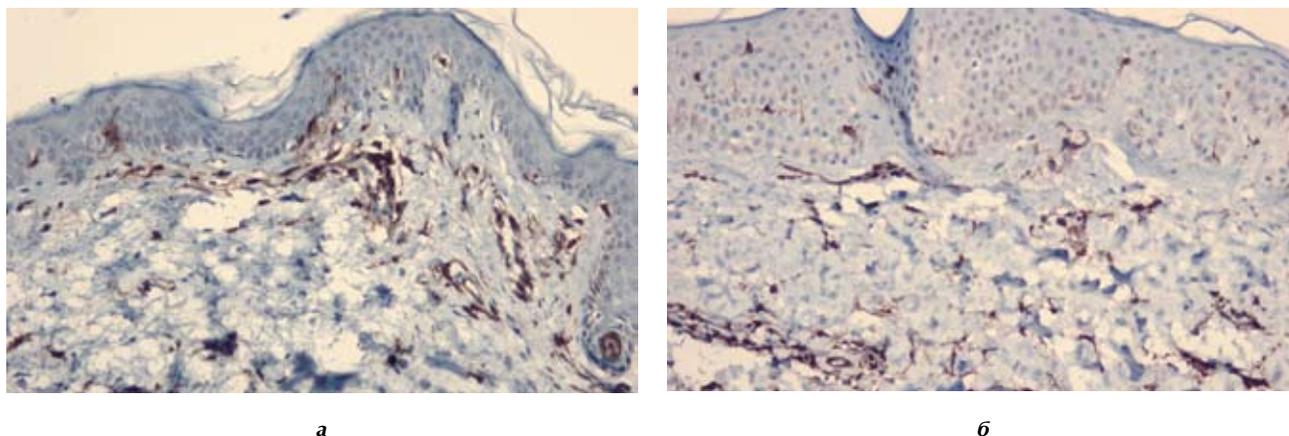


Рис. 4. HLA-DR+ клетки в эпидермисе и периваскулярных инфильтратах кожи. $\times 400$

Таблица 2

Динамика клинических симптомов в очагах ограниченной склеродермии в процессе УФА-1 терапии ($n=10$, медианы и квартили)

Клинический симптом	До УФА-1 терапии	После УФА-1 терапии	p
ИЭ	1,1 (0,7; 1,4)	0,3 (0,1; 0,8)	0,005
ИИ	0,3 (0,1; 1,5)	0,1 (0; 0,8)	0,011
ПИ	21,0 (7,0; 96,0)	16,5 (4,0; 58,0)	0,011

Примечание. ИЭ — интенсивность эритемы (баллы); ИИ — интенсивность индукции (баллы); ПИ — площадь индукции (см²). p — уровень статистической значимости различий при сравнении показателей до и после УФА-1 терапии с использованием теста Вилкоксона.

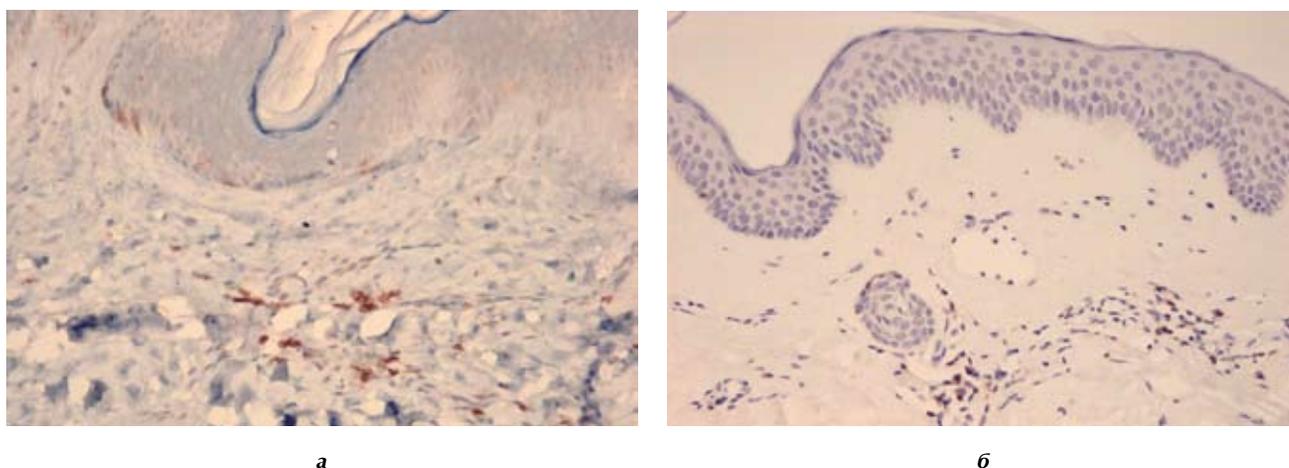


Рис. 5. CD8+ лимфоциты в эпидермисе и периваскулярных инфильтратах кожи больных ограниченной склеродермией. $\times 400$ (а); $\times 200$ (б). Здесь и на рис. 6: а — до лечения; б — после курса УФА-1 терапии

Таблица 3

Содержание популяций клеток в эпидермисе и периваскулярных инфильтратах кожи здоровых добровольцев и больных ограниченной склеродермией, получавших курс УФА-1 терапии (медианы и квартили)

Популяция клеток	Здоровые добровольцы (n=10)	Больные ограниченной склеродермией (n=10)		p	p ₁	p ₂
		до лечения	после лечения			
Эпидермис*						
CD8+	0	0,8 (0,6; 1,0)	0,4 (0; 0,8)	<0,001	0,066	0,002
Периваскулярные инфильтраты (%)						
CD4+	6,0 (5,0; 8,0)	11,5 (5,0; 18,0)	17,0 (16,0; 18,0)	0,154	0,173	<0,001
CD8+	9,0 (7,0; 13,0)	26,5 (21,0; 30,0)	18,5 (17,0; 20,0)	<0,001	0,022	<0,001
CD4+/CD8+	0,65 (0,60; 0,71)	0,45 (0,19; 0,63)	0,86 (0,69; 0,94)	0,058	0,047	0,069
CD25+	0	31,5 (27,0; 50,0)	17,0 (16,0; 20,0)	<0,001	0,005	<0,001
HLA-DR+	1,8 (1,5; 2,4)	7,1 (4,8; 10,4)	4,9 (3,7; 6,4)	<0,001	0,009	0,001

Примечание. p и p₂ — уровень статистической значимости различий при сравнении показателей у здоровых добровольцев и больных соответственно до и после лечения (тест Манна—Уитни). p₁ — уровень статистической значимости различий при сравнении показателей у больных до и после лечения (тест Вилкоксона).

* Количество окрашенных клеток на 100 эпителиоцитов базального слоя.

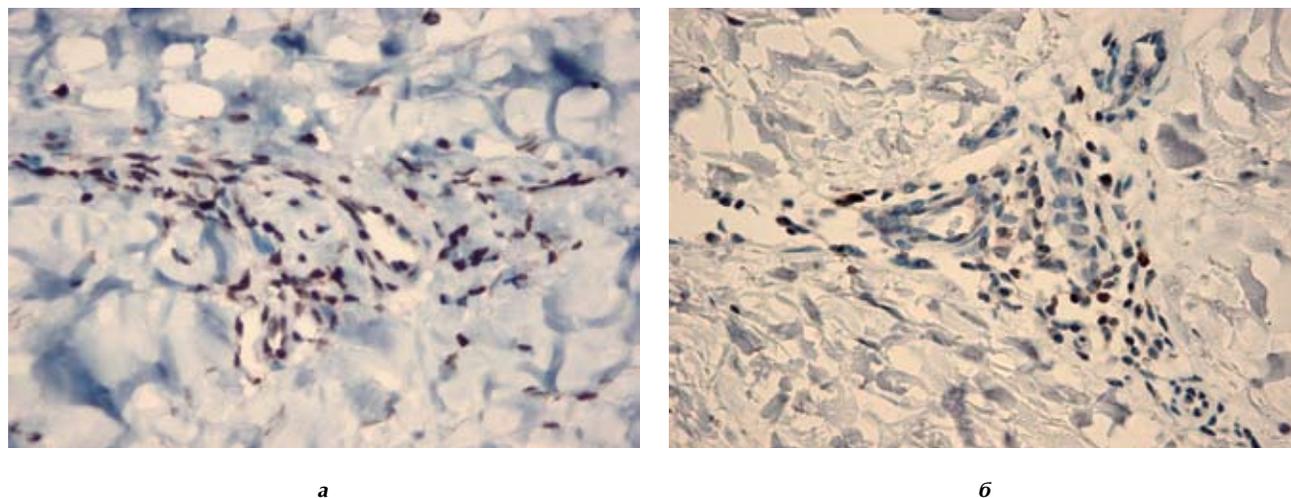


Рис. 6. CD25+ клетки в периваскулярных инфильтратах кожи больных ограниченной склеродермией. ×400

HLA-DR в эпидермисе значительной динамике под действием лечения не подвергалась.

Проведение УФА-1 терапии не влияло на количество CD4+ лимфоцитов в периваскулярных инфильтратах, но в то же время приводило к статистически значимому уменьшению содержания CD8+ лимфоцитов (p=0,022) и увеличению отношения CD4+/CD8+ лимфоцитов (p=0,047). Тем не менее после лечения в периваскулярных инфильтратах больных оставалось повышенным содержание как CD4+ лимфоцитов, так и CD8+ лимфоцитов (см. табл. 3). Количество CD25+ клеток в периваскулярных инфильтратах кожи после лечения значительно уменьшалось (рис. 6), как и количество HLA-DR+

клеток, но оставалось более высоким, чем в группе здоровых добровольцев.

Следует подчеркнуть, что отмеченные изменения иммунологических показателей у 9 из 10 больных наблюдались на фоне улучшения клинических симптомов заболевания.

Известно, что формирование фиброза в очагах склеродермии сопровождается хроническим воспалением [4, 13, 14], одним из проявлений которого служит периваскулярная и/или диффузная клеточная инфильтрация кожи. Вместе с тем роль Т-клеточного звена иммунной системы в патогенезе ограниченной склеродермии окончательно не установлена. Известно, что CD4+ и CD8+ субпопуляции лимфоци-

тов в коже здоровых людей содержатся примерно в одинаковых количествах [15]. У. Хие и соавт. выявили повышенное содержание в коже больных ограниченной склеродермией CD1a+, CD3+, CD4+, CD8+ и CD57+ клеток, что подтверждает полученные нами данные об увеличении в очагах поражения количества иммунокомпетентных клеток [16].

А.М. Farrell и соавт. обнаружили, что дермальный клеточный инфильтрат в пораженной коже больных склероатрофическим лихеном состоит в основном из CD3+ клеток, 50% из которых составляют CD8+ лимфоциты [2]. Т. Gross и соавт. нашли, что в инфильтратах кожи больных склероатрофическим лихеном CD8+ лимфоциты доминируют, причем большинство этих клеток обнаруживали цитотоксическую активность и экспрессировали маркеры TIA-1 и Granzyme B [5]. Результаты нашего исследования согласуются с данными авторов о доминировании CD8+ лимфоцитов в инфильтратах кожи больных ограниченной склеродермией и важной роли этой субпопуляции в развитии заболевания.

В доступной литературе нам не встретилось публикаций о влиянии УФА-1 терапии на фенотипический профиль лимфоцитов и активность Т-клеточных иммунных реакций в пораженной коже больных ограниченной склеродермией. В нескольких статьях имеются лишь указания на регрессирование в процессе УФА-1 терапии клеточных инфильтратов, выявлявшихся при гистологическом исследовании биоптатов кожи в очагах поражения больных системной и ограниченной склеродермией, а также склероатрофическим лихеном [8, 17–20].

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о важной роли в патогенезе ограниченной склеродермией нарушений Т-клеточного звена иммунной системы, а также о нормализующем влиянии УФА-1 терапии как на субпопуляционный состав лимфоцитов, так и на активность клеточных иммунных процессов в коже больных. Однако для подтверждения полученных результатов необходимо проведение дополнительных, более масштабных исследований.

Выводы

1. В пораженной коже больных ограниченной склеродермией в отличие от здоровых добровольцев обнаружено повышенное содержание основных субпопуляций Т-клеток: CD4+ и CD8+ лимфоцитов с преобладанием супрессорно-цитотоксических лимфоцитов. Увеличенное количество CD4+ лимфоцитов выявлялось только в периваскулярных инфильтратах кожи, тогда как в эпидермисе эти клетки отсутствовали. Содержание CD8+ лимфоцитов было значительно повышено как в периваскулярных инфильтратах, так и в эпидермисе пораженной кожи.

2. В очагах ограниченной склеродермии установлено повышенное содержание клеток, экспрессирующих активированные маркеры CD25 и HLA-DR,

что свидетельствует о важной роли в патогенезе заболевания активации Т-клеточного звена иммунной системы.

3. Улучшение клинических симптомов заболевания в процессе УФА-1 терапии сопровождалось снижением активности иммунного воспаления в очагах поражения: частичной элиминацией CD8+ лимфоцитов из эпидермиса и дермы, а также уменьшением количества активированных CD25+ и HLA-DR+ клеток в периваскулярных инфильтратах кожи, однако полной нормализации иммунных нарушений не отмечено.

Литература

1. Ihn H., Sato S., Fujimoto M. et al. Demonstration of interleukin 8 in serum samples of patients with localized scleroderma // Arch. Dermatol. 1994. Vol. 130, № 10. P. 1327–1328.
2. Farrell A.M., Marren P., Dean D., Wojnarowska F. Lichen sclerosus: evidence that immunological changes occur at all levels of the skin // Br. J. Dermatol. 1999. Vol. 140. P. 1087–1092.
3. Amento E.P. Immunologic abnormalities in scleroderma // Semin. Cutan. Med. Surg. 1998. Vol. 17, № 1. P. 18–21.
4. Fleishmajer R., Lebowitz M. Scleroderma. Pathogenesis of skin disease. Eds. Thiers B.H., Dobson R.L. / Churchill Livingstone. 1986. Vol. 3. P. 233–247.
5. Gross T., Wagner A., Ugurel S. et al. Identification of TIA-1+ and Granzyme B+ cytotoxic T cells in lichen sclerosus et atrophicus // Dermatol. 2001. Vol. 202. P. 198–202.
6. Kerscher M., Dirschka T., Volkenandt M. Treatment of localised scleroderma by UVA₁ phototherapy // Lancet. 1995. Vol. 346, № 28. P. 1166.
7. Stege H., Berneburg M., Humke S. et al. High-dose UVA₁ radiation therapy for localized scleroderma // J. Am. Acad. Dermatol. 1997. Vol. 36, № 6 (Pt 1). P. 938–944.
8. Gruss C.J., Kobyletzki G., Behrens-Williams S.C. et al. Effects of low dose ultraviolet A-1 phototherapy on morphea // Photodermatol Photoimmunol Photomed. 2001. Vol. 17. P. 149–155.
9. de Rie M.A., Enomoto D.N.H., de Vries H.J.C., Bos J.D. Evaluation of medium-dose UVA₁ phototherapy in localized scleroderma with the cutometer and fast fourier transform method // Dermatology. 2003. Vol. 207. P. 298–301.
10. Scharffetter K., Wlaschek M., Hogg A. et al. UVA irradiation induces collagenase in human dermal fibroblasts in vitro and in vivo // Arch. Dermatol. Res. 1991. Vol. 283. P. 506–511.
11. Wlaschek M., Heinen G., Poswig A. et al. UVA-induced autocrine stimulation of fibroblast-derived collagenase/MMP-1 by interrelated loops of interleukin-1 and interleukin-6 // Photochem. Photobiol. 1994. Vol. 59, № 5. P. 550–556.
12. Gruss C., Reed J.A., Altmeyer P. et al. Induction of interstitial collagenase (MMP-1) by UVA-1 phototherapy in morphea fibroblasts // Lancet. 1997. Vol. 350. P. 1295–1296.
13. Vierra E., Cunningham B.B. Morphea and localized scleroderma in children // Semin. Cutan. Med. Surg. 1999. Vol. 17, № 3. P. 210–225.
14. Mauch C., Eckes B., Hunzelmann N. et al. Control of fibrosis in systemic scleroderma // J. Invest. Dermatol. 1993. Vol. 100, № 1. P. 92S–96S.
15. Ярилин А.А. Кожа и иммунная система. Косметика и медицина. 2001. № 2. С. 5–13.
16. Xie Y., Zhang X., Wakasugi S. et al. Immunohistochemical characterization of the cellular infiltrate in localized scleroderma // Int J. Dermatol. 2008. Vol. 47. P. 438–442.
17. Kerscher M., Volkenandt M., Gruss C. et al. Low-dose UVA₁ phototherapy for treatment of localized scleroderma // J. Am. Acad. Dermatol. 1998. Vol. 38, № 1. P. 21–26.
18. Kreuter A., von Kobyletzki G., Happe M. et al. UVA₁-Phototherapie bei Lichen sclerosus et atrophicus // Hautartz. 2001. Vol. 52. P. 878–881.
19. Kreuter A., Gambichler T., Avermaete A. et al. Low-dose ultraviolet A1 phototherapy for extragenital lichen sclerosus: results of a preliminary study // J. Am. Acad. Dermatol. 2002. Vol. 46. P. 251–255.
20. Kreuter A., Breuckmann F., Uhle A. et al. Low-dose UVA₁ phototherapy in systemic sclerosis: effects on acrosclerosis // J. Am. Acad. Dermatol. 2004. Vol. 50. P. 740–747.

ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ГРИБОВ РОДА CANDIDA ПРИ МИКОЗАХ КОЖИ И ОНИХОМИКОЗАХ

Н.В. ШЕБАШОВА, И.А. КЛЕМЕНОВА, А.В. РЕЗАЙКИН

SPECIES DIVERSITY OF CANDIDA FUNGI IN DERMAL MYCOSES AND ONYCHOMYCOSES

N.V. SHEBASHOVA, I.A. KLEMENOVA, A.V. REZAIKIN

Об авторах:

Н.В. Шебашова — заведующая микологическим отделением Нижегородского научно-исследовательского кожно-венерологического института, к.м.н.

И.А. Клеменова — заместитель директора по науке Нижегородского научно-исследовательского кожно-венерологического института, д.м.н., профессор

А.В. Резайкин — заведующий отделением ультразвуковой диагностики ГУ «Городская поликлиника № 220» Департамента здравоохранения г. Москвы, к.м.н.

Представлены данные о видовом составе грибов рода *Candida* при онихомикозах и заболеваниях кожи дрожжевой этиологии. Приведены результаты собственных исследований о чувствительности выделенных колоний грибов *Candida* к различным антимикотическим препаратам.

Ключевые слова: онихомикоз, паронихия, *Candida*, фунгитест.

The article provides data on the species composition of *Candida* fungi at onychomycoses and skin diseases of the yeast etiology. The results of the authors' studies on the sensitivity of *Candida* fungi colonies to different antimycotic drugs are also presented.

Key words: onychomycosis, paronychia, *Candida*, fungitest.

Преодоление резистентности микроорганизмов к лекарственным препаратам — проблема номер один в современной медицине. За последнее десятилетие наблюдается повсеместный рост заболеваемости микозами, особенно вызванными дрожжевыми грибами. Причинами этого процесса являются широкое использование антибактериальных, гормональных и других химиотерапевтических препаратов, увеличение числа больных с иммунодефицитными состояниями, нарушениями углеводного обмена, гиповитаминозами [1—3].

Несмотря на использование современных системных антимикотиков, во многих случаях не удается получить полного регресса микотического процесса. В настоящее время сообщается о неудачах лечения кандидозных поражений кожи, ногтей пластин и слизистых оболочек и о большом проценте рецидивов заболевания. Возможной причиной этого является рост устойчивости грибов к антимикотическим препаратам [4—7].

Целью настоящего исследования была видовая идентификация грибов рода *Candida*, выделенных с очагов поражения у больных с заболеваниями кожи и ногтей дрожжевой этиологии с последую-

щим определением чувствительности возбудителей к основным антифунгальным препаратам.

Материал и методы

На базе дерматомикологического отделения и микробиологической лаборатории ФГУ «Нижегородский научно-исследовательский кожно-венерологический институт Росздрава» в течение последних 6 лет проводились исследования по видовой идентификации и определению чувствительности к антимикотикам дрожжевых грибов рода *Candida* у пациентов с кандидозными поражениями кожи и ногтей. Под наблюдением находились 317 больных с клиническими признаками кандидоза гладкой кожи, кандидоза кожных складок и кандидозными онихиями и паронихиями. Всем больным выполнено микроскопическое исследование. Диагноз кандидозного поражения ногтей и гладкой кожи устанавливался при обнаружении псевдомицелия и почкующихся дрожжевых клеток в патологическом материале при наличии клинических проявлений кандидоза. Проводилась культуральная диагностика: посев материала на среду Сабуро и на селективные дифференцированные среды для выделения и предварительной идентификации видов *Candida* (Кандиселект-4 и Biggy agar). Проведена биохимическая видовая идентификация дрожжей с помощью колориме-

трического ферментного теста Ауксоколор-2 и системы «Фунгистрин».

Для предотвращения неудач в лечении дрожжевых поражений кожи, кандидозных онихий и паронихий и с целью предупреждения развития рецидивов заболевания перед назначением системного антимикотика определяли чувствительность грибов рода *Candida* к антифунгальным препаратам с помощью набора Фунгитест.

Фунгитест — это микропанель, в которой методом разведений исследуется чувствительность грибов к 6 системным антимикотикам: 5-флюороцитозину, амфотерицину В, миконазолу, кетоконазолу, итраконазолу, флуконазолу в двух различных концентрациях (рис. 1). Среда содержит цветной индикатор, меняющий свой цвет в случае роста грибов с голубого на красный.

Результаты

По данным культурального исследования, рост грибов отсутствовал у 129 (40,7%) пациентов, рост *Candida* spp. выявлен у 177 (55,8%) больных, сочетанный рост *Candida* spp. с плесневыми грибами — у 11 (3,5%). Рост *Candida parapsilosis* был получен у 36% больных, *Candida tropicalis* — у 11%, *Candida famata* — у 8%, *Candida laurentii* — у 5%, *Candida glabrata* — у 3%.

По нашим данным, штаммы *C. albicans* имели маркеры промежуточной устойчивости или были устойчивы к итраконазолу в 31% случаев, к кетоконазолу — в 16,7% случаев, к флуконазолу — только в 7%, к миконазолу — в 65% (рис. 2).

Если рассматривать отдельно группу кандиды не-альбиканс, то штаммы *C. parapsilosis* обладали умеренной чувствительностью или были нечувстви-

тельны к итраконазолу в 30% случаев, к флуконазолу в 22%, к миконазолу в 68% случаев (рис. 2, б). В 16% случаев *C. Parapsilosis* имели маркеры промежуточной устойчивости к кетоконазолу, однако полного отсутствия чувствительности выявлено не было.

Штаммы *C. tropicalis* имели маркеры промежуточной устойчивости или были устойчивы к итраконазолу почти в 30% случаев, в 16% случаев имели маркеры промежуточной устойчивости к кетоконазолу, чувствительность к флуконазолу была сохранена (рис. 2, в).

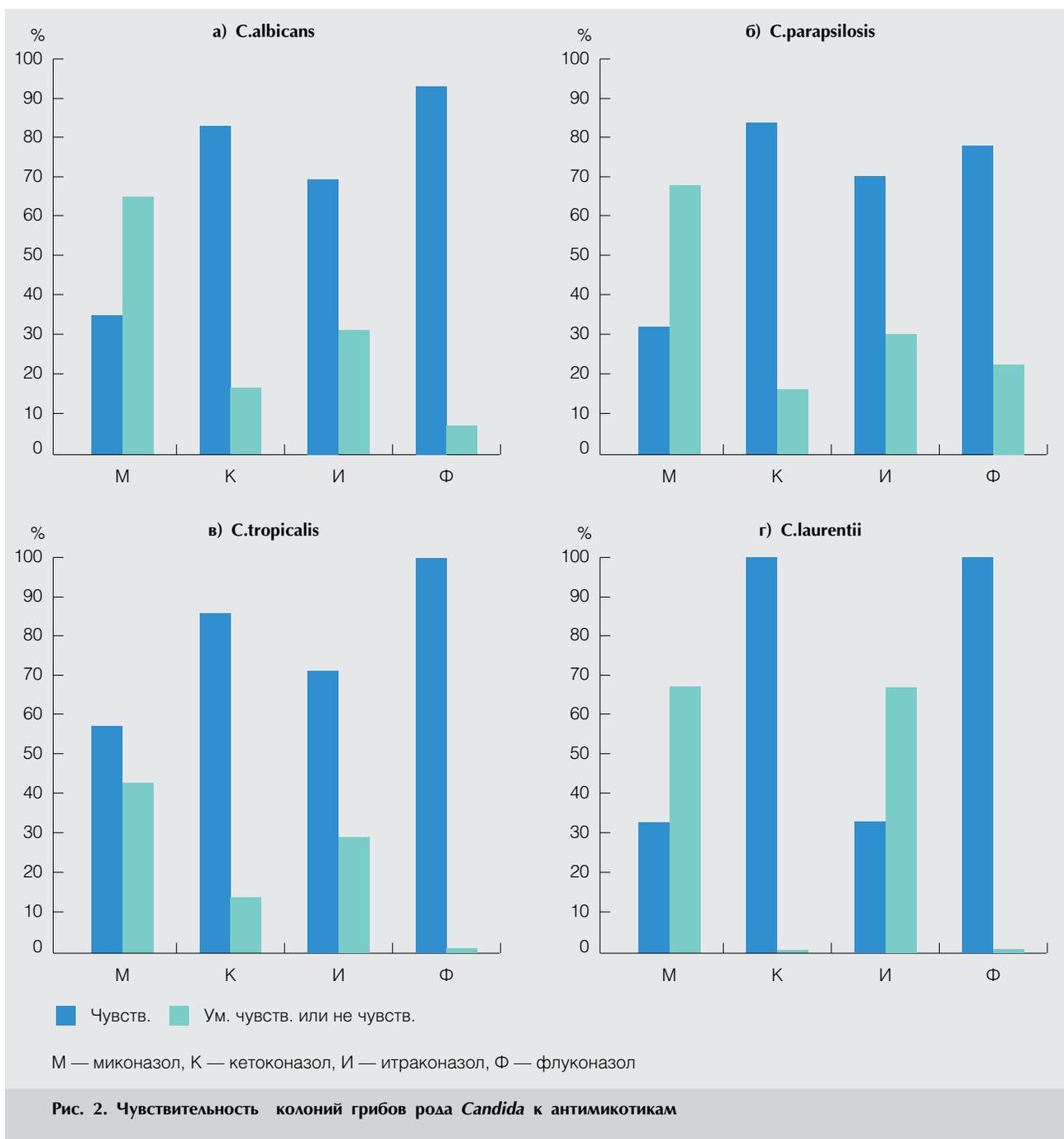
Чувствительность *C. laurentii* к итраконазолу была умеренной в 67% случаев, к кетоконазолу и флуконазолу чувствительность выявлена в 100% случаев (рис. 2, г).

Редкие виды дрожжевых грибов проявляли различную чувствительность. *C. famata* были в 100% случаев чувствительны к итраконазолу, флуконазолу, кетоконазолу, а к миконазолу сохраняли чувствительность в 60% случаев. Штаммы *C. Lusitaniae* не имели чувствительности к итраконазолу в 65% случаев, но были чувствительны ко всем другим изученным препаратам. Штаммы *C. zeylanoides* в половине случаев имели чувствительность к миконазолу, итраконазолу и флуконазолу и во всех случаях — к кетоконазолу. Такие редко встречающиеся виды дрожжевых грибов, как *C. inconspicua*, *C. glabrata*, *C. krusei*, были в 100% чувствительны ко всем имеющимся в панели антимикотикам. Однако следует отметить, что редкие виды грибов *Candida* выделены в небольшом количестве, поэтому требуется продолжение исследований по определению их чувствительности.

Среди обследованных пациентов у 3 больных с онихомикозом кистей кандидозной этиологии полностью отсутствовала чувствительность идентифицированных грибов ко всем антимикотикам. Ранее им неоднократно проводились курсы терапии итраконазолом и флуконазолом дерматологом по месту жительства без эффекта. У 39 больных эффект от использования системных антимикотиков отсутствовал либо после проведенной терапии ногтевые пластины вырастали видимо здоровыми, однако через некоторое время возникал рецидив заболевания. Контрольного микроскопического и бактериоскопического исследования у них не проводилось. Именно у этой группы больных было выявлено полное отсутствие или снижение чувствительности *Candida* spp. к данным лекарственным препаратам. При детальном сборе анамнеза были выявлены следующие недостатки в диагностике и предшествующем лечении онихомикоза: терапия проводилась в большинстве случаев без культуральной диагностики с назначением системного антимикотика с более узким спектром действия; в лечении использовались генерики итраконазола и флуконазола; не учитывалась длительность курса терапии в зависимости от клинической формы онихомикоза (при величине индекса КИОТОС более 20



Рис 1. Фунгитест



с тотальным поражением всех ногтевых пластин на стопах и кистях пациентам назначался неоправданно короткий курс терапии — недостаточное количество пульсов итраконазола или раннее прекращение терапии флуконазолом, без полного отрастания ногтевых пластин) и анатомо-конституциональных особенностей пациента (большая масса тела, пожилой возраст и др.). В некоторых случаях пациенты не соблюдали режим приема препарата. Рецидивы заболевания чаще наблюдались у больных с сопутствующими заболеваниями, такими как сахарный

диабет, системная склеродермия с синдромом Рейно, ревматоидный артрит (на фоне приема цитостатиков и глюкокортикостероидов). Ни в одном случае до назначения системного антимикотика не проводилось исследование чувствительности выделенных колоний дрожжей к антифунгальным препаратам.

Назначение нами системных антимикотиков (итраконазола или флуконазола) с учетом чувствительности к ним полученных штаммов дрожжевых грибов позволило добиться полного клинико-лабораторного излечения. Прослежены отдаленные

результаты терапии в течение от 1 года до 3 лет: рецидивов заболевания не отмечено.

Выводы

В настоящее время возрастает роль грибов *Candida non-albicans* в патогенезе заболеваний кожи и ногтей дрожжевой этиологии, причем многие представители рода *Candida* устойчивы к действию современных системных и местных антимикотиков. Проведение видовой идентификации выделяемых культур грибов рода *Candida* и определение их чувствительности к антифунгальным препаратам позволяют своевременно назначить больному соответствующий антимикотический препарат и в результате повысить эффективность лечения, снизить число неудач терапии и предотвратить рецидивы заболевания.

Литература

1. Кудрина М.И. Вульвовагинальный кандидоз. М., 2005.
2. Потекаев Н.С., Гаджиев М.Н. Кандидоз // *Consilium Medicum*. 2002. Т. 4, № 5. С. 230—233.
3. Кунгуров Н.В., Прилепская В.Н., Герасимова Н.В. и др. Вульвовагинальный кандидоз (Руководство для врачей). М., 2005.
4. Оркин В.Ф., Завьялов А.И. Кандидаинфекция кожи и слизистых оболочек. Саратов, 2003. 92 с.
5. Анкирская А.С., Муравьева В.В., Фирсова С.А. и др. Чувствительность к флуконазолу и другим новым антибиотикам дрожжеподобных грибов, выделенных при вагинитах у женщин репродуктивного возраста // *Вестн. Росс. ассоц. акушеров-гинекологов*. 2000, № 1. С.106—109.
6. Кисина В.И., Брагина Е.Е., Беликова З.Ф. и др. Особенности клинических проявлений и терапии урогенитального кандидоза у женщин репродуктивного возраста // *Вестн. дерматол. и венерол.* 1999. № 6. С. 51—55.
7. Хамаганова И.В., Карамова А.Э., Кальменсон В.В. Резистентность к противогрибковым препаратам: решение проблемы. Учебно-методическое пособие. 2006. С. 20.

ЗАЩИТНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО ДЛЯ КОЖИ

КАРТАЛИН®

«Карталин» разрешен к медицинскому применению как защитно-профилактическое средство. Он обладает противовоспалительным, кератопластическим, антисептическим действием. «Карталин» производится ООО «Астрофарма».



Показания к применению:

- Псориаз
- Нейродермит
- Хроническая экзема
- Кератодермии
- Атопический дерматит

Эффективность «Карталина» обеспечивается комплексом натуральных биологически активных веществ, входящих в его состав.

«Карталин» не содержит гормональных компонентов.

Применяется для лечения хронических дерматозов. Препарат абсолютно не токсичен, хорошо сочетается с другими средствами и методами лечения. Может применяться у взрослых и детей. В среднем лечение длится от 1,5 до 3-х месяцев, в зависимости от давности и распространенности заболевания. Использование средства «Карталин» позволяет производить лечение в амбулаторных условиях, что значительно снижает стоимость курсового лечения и повышает качество жизни.

Средство «Карталин» прошло клинические испытания на базе клиники кожных болезней Сибирского государственного медицинского университета, а также во многих дермато-венерологических диспансерах России и специализированных учреждениях ближнего и дальнего зарубежья.

По завершении клинических испытаний защитно-профилактическое средство «Карталин» получило положительную оценку, как исследователей, так и пациентов, что позволяет рекомендовать средство «Карталин» к использованию в дерматологической практике.

За справками и приобретением препарата обращаться в ООО «Астрофарма»

адрес: 634055, г. Томск, а/я 3923
телефон: (3822) 50-68-19, 50-68-59
e-mail: kmg@mail.tomsknet.ru
www.kartalin.ru

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РАЗЛИЧИЯ ШТАММОВ *M. HOMINIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ЖЕНЩИН С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ОРГАНОВ МАЛОГО ТАЗА*

Н.П. ЕВСТИГНЕЕВА, Ю.Н. КУЗНЕЦОВА, Н.М. ГЕРАСИМОВА, А.Г. СЕРГЕЕВ, О.О. МИХАЙЛОВА, А.В. РЕЗАЙКИН

POSSIBLE REGISTRATION OF MYCOPLASMA HOMINIS MUTATION IN PATIENTS WITH INFLAMMATORY DISEASES OF SMALL PELVIS ORGANS

N.P. YEVSTIGNEYEVA, YU.N. KUZNETSOVA, N.M. GERASIMOVA, A.G. GERASIMOVA, O.O. MIKHAILOVA, A.V. REZAIKIN

Об авторах:

Н.П. Евстигнеева — руководитель экспериментального лабораторного отдела ФГУ «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии Росмедтехнологий», г. Екатеринбург, д.м.н.

Ю.Н. Кузнецова — руководитель научно-поликлинического отдела ФГУ «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии Росмедтехнологий», г. Екатеринбург, к.м.н.

Н.М. Герасимова — заместитель директора по науке ФГУ «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии Росмедтехнологий», г. Екатеринбург, д.м.н., профессор

А.Г. Сергеев — заведующий кафедрой микробиологии Уральской государственной медицинской академии, д.м.н., профессор

О.О. Михайлова — младший научный сотрудник ФГУ «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии Росмедтехнологий», г. Екатеринбург

А.В. Резайкин — заведующий отделением ультразвуковой диагностики ГУ «Городская поликлиника № 220» Департамента здравоохранения г. Москвы, к.м.н.

При исследовании отделяемого урогенитального тракта у 59 женщин с воспалительными заболеваниями, ассоциированными с *M. hominis*, примерно у половины штаммов была обнаружена ранее не описанная мутация — замена тимина на цитозин (Т→С) в консервативной области гена рибосомальной РНК. При сравнительном анализе результатов клинического и лабораторного обследования в группах женщин, инфицированных штаммами *M. hominis*, имеющими и не имеющими указанную мутацию, было обнаружено, что мутантные штаммы *M. hominis* в большинстве случаев ассоциировались с воспалительными заболеваниями верхних отделов урогенитального тракта: эндометритом, сальпингоофоритом и/или спаечным процессом. Штаммы *M. hominis*, у которых данная мутация отсутствовала, достоверно чаще выявлялись у пациентов с воспалительными заболеваниями нижнего отдела урогенитального тракта.

Ключевые слова: микоплазмы, мутации, воспалительные заболевания органов малого таза.

A study of the discharge from the urogenital system of 59 females with *M. hominis* associated inflammatory diseases revealed a previously unknown thymine to cytosine mutation (T→C) in the conserved region of ribosomal RNA in about a half of the strains. The comparative assessment of the results of clinical and laboratory tests performed in groups of women infected with *M. hominis* strains revealed that mutated *M. hominis* strains were associated with inflammatory diseases of the upper urogenital tract in most cases: endometritis, adnexitis and/or adhesive process. Non-mutated *M. hominis* strains were more often detected in patients with inflammatory diseases of the lower urogenital tract.

Key words: mycoplasmas, mutations, inflammatory diseases of small pelvis organs.

По данным статистики Минздравсоцразвития, на протяжении последних лет наблюдается рост гинекологических заболеваний, особенно воспалительных заболеваний органов малого таза (ВЗОМТ), а также привычного невынашивания беременности. Общепризнано, что одной из главных причин

развития ВЗОМТ являются инфекции, передаваемые половым путем.

Предметом дискуссий является роль микоплазм и других условно-патогенных микроорганизмов в этиологии ВЗОМТ. Однако считается, что своевременная и точная диагностика, а также адекватное лечение способны предотвратить развитие осложнений.

Среди возбудителей инфекционно-воспалительных заболеваний мочеполовых органов особое

© Н.П. Евстигнеева и соавт., 2009
Vestn Dermatol Venerol 2009; 6: 85–90
Контактная информация: 8-916-159-78-22

* *Примечание редакции.* Проблема мутантных генов *M. hominis* является дискуссионной и нуждается в дальнейшем изучении.

место занимают микроорганизмы семейства *Mycoplasmataceae* [1], удельный вес которых, по данным ВОЗ, возрос с 28,4 до 37,6 % [2].

M. genitalium считают патогенным видом, так как ее редко удается выделить от пациентов с отсутствием признаков воспаления органов мочеполовой системы, в то время как *M. hominis* и *U. urealyticum* являются условно-патогенными возбудителями и обнаруживаются в урогенитальном тракте практически здоровых мужчин и женщин в 30—50% случаев [3, 4]. Описаны многочисленные наблюдения, при которых микоплазмы изолированы или в сочетании с другими микроорганизмами обнаруживались у женщин при уретрите, вагините, цервиците, эндометрите, сальпингоофорите, преждевременных родах, самопроизвольных выкидышах, мертворождениях [3, 5, 6]. Если в случаях подтвержденной инфекции, вызванной *M. genitalium*, рекомендуется назначение антибактериальной терапии, то вопрос о клинической значимости *M. hominis* в развитии воспалительных заболеваний органов мочеполовой системы у женщин и таких серьезных осложнений, как ВЗОМТ, до настоящего времени остается предметом дискуссий в научно-медицинской литературе.

До сих пор неясно, какие условия являются решающими для реализации патогенного потенциала условно-патогенных микоплазм. Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что об этиологической роли указанных возбудителей можно с той или иной долей вероятности судить только по результатам количественного анализа [7, 8]. По общему мнению, диагностическое значение имеет обнаружение микоплазм в концентрации более 10^4 КОЕ в 1 мл. При этом подразумевается, что все штаммы *M. hominis* обладают одинаковым патогенным потенциалом и решающая роль в развитии воспалительного заболевания принадлежит неким «условиям».

В то же время в доступной литературе отсутствуют данные о внутривидовой гетерогенности *M. hominis* по степени вирулентности, т. е. способности вызывать патологический процесс.

Целью исследования явилось определение генетических различий штаммов *M. hominis*, выделенных от женщин с воспалительными заболеваниями репродуктивных органов различной степени тяжести.

Материал и методы

Материалом для исследования являлось отделяемое уретры, заднего свода влагалища и цервикального канала 59 женщин с воспалительными заболеваниями гениталий, ассоциированными с *M. hominis*. Возраст пациенток составил от 16 до 52 лет (средний возраст $28,3 \pm 8,7$ года). Обратились самостоятельно на прием с различными жалобами 44,1 % пациенток, по направлению специалистов

(акушеров-гинекологов, урологов) — 25,4 %, для профилактического обследования и при планировании беременности — 30,5 % женщин.

Обследование пациенток проводилось по следующей схеме: сбор анамнеза в соответствии со стандартизированной анкетой, общеклинический осмотр и бимануальное исследование, общий анализ крови и мочи, диагностика инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), в соответствии с протоколами ведения больных с ИППП [9—11], бактериологическое исследование микрофлоры урогенитального тракта с определением количества и видов микроорганизмов и их чувствительности к антибактериальным препаратам стандартными методами [12, 13], а также ультразвуковое исследование органов малого таза.

Для выделения штаммов *M. hominis* из исследуемого материала использовали твердую питательную среду Хейфлика ЗАО НИЦФ (Санкт-Петербург).

Выделение бактериальной ДНК из чистой культуры *M. hominis* проводили методом сорбции на силикагелевом носителе с помощью набора реагентов «ДНК-сорб-А» (ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва). Для идентификации и последующего молекулярно-генетического анализа была выбрана начальная часть (около 800 пар оснований) гена 16S рибосомальной РНК (рРНК).

Аmplификацию выбранного участка проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с олигонуклеотидными праймерами Bak11W — 5' AGA GTT TGA TCA TGG CTC AG 3' и Bak2 — 5' GGA CTA CCA GGG TAT CTA AT 3' [14]. Синтез олигонуклеотидных праймеров произведен в ЗАО «Синтол» (Москва).

Для проведения ПЦР готовили 25 мкл реакционной смеси, включающей: 2 ед. ДНК-полимеразы (ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва), 0,2 мМ смесь dNTP, по 5 пмоль праймеров Bak11W и Bak2, реакционный буфер (67 мМ трис-HCl (pH 8,3), 2,0 мМ MgCl₂), 10 мкл ДНК. ПЦР проводили по следующей схеме: 1 цикл: 95°C — 3 мин.; 30 циклов: 95°C — 10 с, 62°C — 10 с, 72°C — 30 с; заключительный цикл: 72°C — 5 мин.

Для анализа продуктов амплификации использовали электрофорез в 2 % агарозном геле с последующим окрашиванием бромидом этидия (0,5 мг/мл) и детекцией в ультрафиолетовом трансиллюминаторе.

Первичную структуру ДНК определяли методом прямого секвенирования по прямой и обратной последовательностям с праймерами Bak11W и Bak2 на автоматическом генетическом анализаторе ABI Prism 310 (Applied Biosystems, США) с использованием реакционной смеси ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit v.3.0 (Applied Biosystems, США), следуя рекомендациям производителя.

Выравнивание последовательностей нуклеотидов, их сравнение между собой и с последовательно-

стями прототипных штаммов *M. hominis* проводили с использованием компьютерной программы MEGA, версия 3.1 [15].

Из полученных нуклеотидных последовательностей часть была депонирована в базе данных GenBank под номерами EU443618 — EU443622.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием автоматизированного программного средства «VORTEX» (версия 7.0), разработанного для линейного и многомерного анализа качественных признаков прикладных социологических исследований (Уральский государственный университет, 2001). Для установления достоверности различий между группами использовался критерий Стьюдента. Корреляционные коэффициенты считались значимыми при $p < 0,05$. При небольшом числе наблюдений качественные признаки сравнивали с помощью точного критерия Фишера.

Результаты и обсуждение

В результате молекулярно-генетического анализа штаммов *M. hominis*, выделенных в диагностически значимых титрах (104 КОЕ/мл и более) от 59 пациенток, в 29 (49,2 %) случаях была выявлена ранее не описанная мутация — замена тимина на цитозин в позиции 179 гена 16S рРНК.

В соответствии с полученными результатами пациентки были разделены на две группы: 1-ю группу составили 29 женщин, у которых были обнаружены мутантные штаммы *M. hominis*, 2-ю группу — 30 пациенток, от которых были выделены штаммы *M. hominis*, не имеющие указанной мутации. Сравнительный анализ показал, что 27,6 % пациенток 1-й группы были в возрасте 16—25 лет, 51,8 %

женщин — в возрасте 25—35 лет и 20,6 % — старше 35 лет. В то время как во 2-й группе 50,0 % пациенток были в возрасте 16—25 лет, 36,7 % — в возрасте 25—35 лет и лишь 13,3 % — старше 35 лет.

Основными жалобами пациенток обеих групп было наличие патологических выделений из влагалища и зуд наружных половых органов различной степени выраженности. Структура жалоб представлена в табл. 1.

Как видно из табл. 1, пациентки 2-й группы достоверно чаще указывали на выраженный абдоминальный болевой синдром, болезненные менструации и диспареунию.

Отмечено, что длительное (более 1 года) наличие симптомов заболевания было характерно для 21,4 % пациенток 1-й группы и лишь для 6,7 % пациенток 2-й группы. В то же время в первые несколько суток заболевания обратились за помощью 16,7 % женщин 2-й группы, что, вероятнее всего, было связано с выраженными клиническими проявлениями воспалительного процесса, и лишь 3,6 % пациенток 1-й группы. Эти наблюдения подтверждает и тот факт, что пациентки 2-й группы в большинстве случаев обратились на прием самостоятельно, в то время как женщины, в отделяемом урогенитального тракта которых были выявлены мутантные штаммы *M. hominis*, были направлены на обследование акушерами-гинекологами или урологами.

Пациентки 1-й группы достоверно чаще (24,1%) по сравнению с пациентками 2-й группы (6,6%) указывали на перенесенные медицинские аборт (от 2 до 5), что могло быть связано с большим количеством пациенток старшего возраста в этой группе. На наличие внематочной беременности в анамнезе указали лишь 2 (6,9 %) пациентки из 1-й группы.

Таблица 1

Жалобы, предъявляемые пациентками с воспалительными заболеваниями репродуктивных органов, ассоциированными с *M.hominis*

Жалобы	Всего пациенток (n=59)		1-я группа (n=29)		2-я группа (n=30)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Патологические выделения из влагалища	41	69,5	20	69,0	21	70,0
Зуд вульвы	11	18,6	5	17,2	6	20,0
Жжение вульвы	8	13,6	4	13,7	4	13,3
Дизурия	4	6,8	1	3,4	3	10,0
Диспареуния	7	11,9	1	3,4	6	20,0*
Абдоминальный болевой синдром	7	11,9	1	3,4	5	16,7*
Нарушение менструального цикла	5	8,5	3	10,3	2	6,7
Болезненные менструации	18	30,5	5	17,2	13	43,3*
Отсутствие беременности в течение 2 лет и более	10	16,9	5	17,2	5	16,7

Примечание. * Здесь и в табл. 2: достоверные различия ($p \leq 0,05$).

При сборе анамнеза установлено, что 68,9 % пациенток 1-й группы и 43,3% пациенток 2-й группы ранее обследовались на ИППП, у 80 и 76,9 % женщин соответственно были выявлены различные возбудители урогенитальных инфекций, все женщины получали терапию различными антибактериальными препаратами. Одинаково часто у пациенток обеих групп ранее выявлялась хламидийная инфекция (40,0 и 38,5% соответственно), урогенитальный кандидоз (10,0 и 7,7%). Бактериальный вагиноз и воспалительные заболевания, обусловленные генитальными микоплазмами (*U. urealyticum*, *M. genitalium*, *M. hominis*), достоверно чаще отмечены в анамнезе у пациенток 2-й группы (10,0 и 30,8 %; 20,0 и 61,6 % соответственно). Сифилис (5,0 %), трихомониаз (15,0 %), аногенитальные бородавки (10,0%) ранее диагностировались только у пациенток с выявленными мутациями штаммов *M. hominis*, выделенных из урогенитального тракта.

Данные клинического осмотра и бимануального обследования показали, что выраженные симптомы воспаления (гиперемия слизистой оболочки шейки матки, слизисто-гнойные выделения из цервикального канала и в сводах влагалища, контактная кровоточивость при заборе патологического материала) достоверно чаще отмечались у пациенток 2-й группы (табл. 2). Более частое выявление эктопий цервикального эпителия у пациенток данной группы (53,3%) могло быть связано с высоким удельным весом женщин молодого возраста.

При клиническом и ультразвуковом обследовании 59 пациенток с выявленной урогенитальной микоплазменной инфекцией эндоцервицит был обнаружен у 13 (43,3 %) женщин 2-й группы и только у 2 (6,9 %) пациенток 1-й группы.

В то же время сальпингоофорит, эндометрит и/или спаечный процесс органов малого таза (ВЗОМТ) были диагностированы у 15 (51,7 %) женщин 1-й группы и только у 1 (3,3 %) пациентки из 2-й группы. Таким образом, воспалительные заболевания органов малого таза у пациенток, от которых были выделены мутантные штаммы *M. hominis*, диагностировались в 15 раз чаще, чем у женщин, от которых были изолированы штаммы, не имеющие мутации.

При бактериоскопическом исследовании окрашенных по Граму мазков отделяемого заднего свода влагалища выраженный лейкоцитоз отмечен у 26,3 и 8,0 % пациенток 1-й и 2-й групп соответственно. Повышенное количество лейкоцитов в цервикальном канале наблюдалось у половины пациенток в обеих группах.

При бактериологическом исследовании влагалищного отделяемого с количественной оценкой титра *M. hominis* было установлено, что высокие титры возбудителя (10^5 — 10^9 КОЕ/мл) одинаково часто отмечались у пациенток как 1-й, так и 2-й группы (86,2 и 86,7 % соответственно). Различий по чувствительности/устойчивости к антибиотикам между штаммами микоплазм, имеющими и не имеющими мутацию в области гена 16S рРНК, не выявлено.

При комплексном клинико-лабораторном обследовании молекулярно-генетическим и бактериологическим методами у 26 (89,7 %) женщин 1-й группы и 28 (93,3 %) женщин 2-й группы, кроме *M. hominis* в диагностически значимых титрах, были выявлены и другие урогенитальные инфекции (табл. 3), причем у 50,0 % пациенток 1-й группы и 32,1 % пациенток 2-й группы с инфекционным индексом 2, у 30,8 и 46,4 % пациенток 1-й и 2-й групп соответственно

Таблица 2

Данные клинического осмотра и бимануального обследования пациенток исследуемых групп

	Всего пациенток (n=59)		1-я группа (n=29)		2-я группа (n=30)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Гиперемия слизистой оболочки вульвы	15	25,4	6	20,7	9	30,0
Слизисто-гнойные выделения из цервикального канала	18	30,5	6	20,7	12	40,0*
Контактная кровоточивость	9	15,3	2	6,9	7	23,3*
Гиперемия слизистой оболочки шейки матки	18	30,5	5	17,2	13	43,3*
Эктопия цервикального эпителия	23	38,9	7	24,1	16	53,3*
Гиперемия слизистой оболочки влагалища	17	28,8	7	24,1	10	33,3
Слизисто-гнойное влагалищное отделяемое	3	5,1	0	0	3	10,0*
Сливкообразное влагалищное отделяемое	12	20,3	5	17,2	7	23,3
Пенистое влагалищное отделяемое	11	18,6	5	17,2	6	20,0
Неприятный запах влагалищного отделяемого	28	47,5	10	34,5	18	60,0*

Таблица 3

Урогенитальные инфекции у пациенток исследуемых групп

	Первая группа (n=29)		Вторая группа (n=30)	
	абс.	%	абс.	%
Сифилис	0	0	0	0
Гонококковая инфекция	0	0	1	3,3
Трихомониаз	0	0	3	10,0
Хламидийная инфекция	4	13,8	6	20,0
Урогенитальный кандидоз	3	10,3	0	0
Бактериальный вагиноз	17	58,6	24	80,0
Аногенитальные бородавки	1	3,4	2	6,7
Воспалительные заболевания, обусловленные <i>Ureaplasma urealyticum</i>	9	31,0	10	33,3
Воспалительные заболевания, обусловленные <i>Mycoplasma genitalium</i>	3	10,3	2	6,7
Аэробный вагинит	5	17,2	5	16,7
Генитальный герпес (вирус простого герпеса 2-го типа)	1	3,4	2	6,7
Цитомегаловирусная инфекция	1	3,4	0	0
ВПЧ 16,18	0	0	4	13,3
Не выявлялись	3	10,3	2	6,7

с инфекционным индексом 3, у 19,2 и 10,7 % пациенток 1-й и 2-й групп соответственно с инфекционным индексом 4. Инфекционный индекс 5 и более встречался лишь у 10,7 % пациенток 2-й группы.

У пациенток обеих групп (62,1 и 46,7% соответственно) наиболее часто встречались воспалительные заболевания урогенитального тракта, обусловленные условно-патогенной микрофлорой *G. vaginalis*, *U. urealyticum*, *Candida spp*, *E.coli*, *Enterobacterium spp*, *Staph. aureus*, *Klebsiella spp*, *Corynebacteriae spp*.

В то же время у пациенток с выявленными мутациями штаммов *M. hominis* в большинстве случаев (81,8%) отсутствовали или были в недостаточном количестве (менее 10³ КОЕ/мл) лактобактерии. У пациенток с отсутствием мутаций штаммов *M. hominis* лактобактерии не выделялись или были в недостаточном количестве в 58,3% случаев.

До настоящего времени *M. hominis* считается условно-патогенным возбудителем, способным относительно редко вызывать патологический процесс. Проведенные исследования выявили генетическую неоднородность циркулирующих штаммов *M. hominis*. Примерно у половины штаммов, выделенных от женщин с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта, нами была обнаружена ранее не описанная мутация Т→С в консервативной области гена рибосомальной РНК.

При сравнительном анализе результатов клинического и лабораторного обследования в группах

женщин, инфицированных штаммами *M. hominis*, имеющими и не имеющими указанную мутацию, было, в частности, обнаружено, что мутантные штаммы *M. hominis* в большинстве случаев ассоциировались с воспалительными заболеваниями верхних отделов урогенитального тракта: эндометритом, сальпингоофоритом и/или спаечным процессом. Штаммы *M. hominis*, у которых данная мутация отсутствовала, достоверно чаще выявлялись у пациенток с воспалительными заболеваниями нижнего отдела урогенитального тракта.

Полученные результаты позволяют сделать обоснованное предположение о том, что штаммы *M. hominis*, имеющие мутацию в гене 16S рРНК, обладают более высоким патогенным потенциалом по сравнению со штаммами, не имеющими указанной мутации, что требует дифференцированного подхода к лечению.

Вопрос о том, можно ли использовать найденную мутацию в качестве «маркера патогенности» при диагностике микоплазменной инфекции, нуждается в дальнейшем исследовании. Несомненный интерес для последующего изучения представляют вопросы разработки более простых и экономичных методов индикации мутантных штаммов *M. hominis*.

Выводы

1. У 49,2% штаммов *M. hominis*, выделенных от женщин с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта, обнаружена ранее не описан-

ная мутация — замена тимина на цитозин в позиции 179 гена рибосомальной РНК (решение о выдаче патента № 2008117941/13 от 26 июня 2009 г.)

2. При сопоставлении клинических данных с результатами лабораторных исследований было установлено, что мутантные штаммы *M. hominis* чаще выявлялись у пациенток старшего репродуктивного возраста, с малосимптомным течением воспалительного процесса уrogenитального тракта.

3. Штаммы, имеющие упомянутую мутацию, достоверно чаще обнаруживались у больных с воспалительными заболеваниями органов малого таза, в то время как штаммы, не имеющие мутации, в большинстве случаев были ассоциированы с воспалительным процессом нижнего отдела уrogenитального тракта.

4. По чувствительности/устойчивости к антибиотикам мутантные штаммы *M. hominis* не отличались от штаммов, не имеющих мутации.

Литература

- Кубанова А.А., Забиров К.И., Васильев М.М., Абудуев Н.К. Некоторые механизмы патогенеза репродуктивных нарушений у мужчин с уrogenитальным хламидиозом и микоплазмозом // Вестник последипломного медицинского образования. 1999. Спец. вып. С. 53—54.
- Короткий Н.Г., Воробьев С.В., Царев В.Н. Сравнительная клинико-лабораторная оценка эффективности антибиотиков при лечении больных с микоплазменной инфекцией // Вестн. дерматол. и венерол. 2002. № 4. С. 58—61.
- Карамова А.Э., Поляков А.В., Хамаганова И.В. Значение *U. urealyticum* и *M. genitalium* как возбудителей воспалительных заболеваний уrogenитального тракта // Клини. микробиол. антимикроб. химиотер. 2004. Т. 6, № 4. С. 365—370.
- Раковская И.В. Микоплазмы человека и микоплазменные инфекции // Клини. лаб. диагностика. 2005. № 3. С. 25—32.
- Абидов А.М., Эшбаев Э.Х., Файзиева Г.Б. О роли хламидийно-уреаплазменной инфекции в возникновении бесплодия. Российский конгресс дерматовенерологов, 1-й: Тезисы. Санкт-Петербург. 2003. Т. 2. С. 87—88.
- Акышбаева К.С., Джусупалиева М.Х., Калоиди И.А. Роль микоплазм у больных с нарушением репродуктивной функции. Российский конгресс дерматовенерологов, 1-й: Тезисы. Санкт-Петербург, 2003. Т. 2. С. 90—91.
- Кисина В.И., Прилепская В.Н., Соколовский Е.В. и др. Дискутабельные вопросы клинического значения генитальных микоплазм // Клини. дерматол. и венерол. 2007. № 1. С. 71—77.
- Анكيرская А.С., Демидова Е.М., Земляная А.А. Генитальные микоплазмы как фактор риска развития акушерской и перинатальной патологии // Вестн. АМН СССР. 1991. № 6. С. 17—19.
- Методические материалы по диагностике и лечению наиболее распространенных инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), и заболеваний кожи. Протоколы ведения больных. Лекарственные средства / Под ред. А.А. Кубановой. М.: ГЭОТАР-МЕД. 2003. 448 с.
- Клинические рекомендации. Дерматовенерология / Под ред. А.А. Кубановой. М.: ДЭКС-Пресс, 2007. 300 с.
- Клинические рекомендации. Акушерство и гинекология. Выпуск 2 / Под ред. В.И. Кулакова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. 560 с.
- Приказ № 535 от 22.04.85 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». 126 с.
- Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания 4.2.1890-04 — М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России. 2004. 91 с.
- Zucol F Real-time quantitative broad-range PCR assay for detection of the 16S rRNA gene followed by sequencing for species identification [Text] / F. Zucol, R.A. Ammann, C. Berger, C. Aebi, M. Altwegg, F.K. Niggli, D. Nadal // Journal of clinical microbiology. 2006. Vol. 44, № 8 (Aug). P. 2750—9.
- Kumar S MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment [Text] / S. Kumar, K. Tamura, M. Nei // Briefings in Bioinformatics. 2004. Vol. 5 P. 150—163.

ОПТИМИЗАЦИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТОКСИНА БОТУЛИЗМА ТИПА А (ДИСПОРТ) В ЭСТЕТИЧЕСКОЙ НЕВРОЛОГИИ

М.В. НАПРИЕНКО

OPTIMIZING THE APPLICATION OF BOTULINUM TOXIN TYPE A (DYSPOORT) IN COSMETIC NEUROLOGY

M.V. NAPRIYENKO

Об авторах:

М.В. Наприенко — врач-невролог Клиники головной боли и вегетативных расстройств академика А. Вейна, г. Москва, к.м.н.

Первичные головные боли это самостоятельные, нозологические формы, среди которых чаще всего встречаются хроническая мигрень и хроническая головная боль напряжения. Большая распространенность и трудности лечения постоянно приводят к поиску новых методов лечения. В исследование было включено 17 пациентов с хронической мигренью. Пациентам 1й группы вводили 500 ЕД Диспорта в мышцы лица и шеи, пациентам 2й группы вводилось 100-120 ЕД Диспорта только в мышцы лица. В результате исследования было показано, что расширенное инъецирование Диспортом перикраниальных мышц приводит к более выраженному клиническому и эстетическому эффекту у женщин, страдающих хронической мигренью.

Ключевые слова: диспорт, хроническая мигрень, эстетические проблемы.

Primary headaches are independent disease entities with chronic migraine and chronic tension headache being the most frequent ones. Their prevalence and refractory nature make researchers search for new treatment methods. Our study involved 17 subjects suffering from chronic migraine. Patients from Group 1 received 500 IU Dysport injections in the facial and neck muscles while patients from Group 2 were administered 100—120 IE Dysport injections in the facial muscles only. The study showed that extended Dysport injections in pericranial muscles resulted in a more evident clinical and esthetic effect in women suffering from chronic migraine.

Key words: Dysport, chronic migraine, beauty problems.

Использование в медицинской практике новых лекарственных средств создает предпосылки для успешного внедрения в практику интегративных методов лечения. Одним из таких средств является ботулинический токсин типа А (БТ-А). Сегодня в распоряжении практических врачей имеется четыре препарата БТ-А — Диспорт (Ipsen, Франция), Ботокс (Allergan, США), Ксеомин (Merz, Германия), Лантокс (Китай).

Одним из новых перспективных направлений, воплощающим в себе комплементарные подходы в медицине, является эстетическая неврология. На сегодняшний день эстетическая неврология [1, 2, 4] занимается решением большого количества клинических проблем, возникающих на стыке медицинских специальностей, и объединяет неврологов, дерматокосметологов, стоматологов и других специалистов. По эстетическим показаниям БТ-А применяется для лечения гиперфункциональных мимических морщин, коррекции овала лица, улуч-

шения приживаемости кожно-мышечных лоскутов при реконструктивных операциях на голове и лице. Вводится БТ-А при наличии двигательных нарушений — гемифациальном спазме, блефароспазме, оромандибулярной дистонии, контрактуре мимических мышц при нейропатии лицевого нерва, гиперактивности жевательных мышц, косоглазии. Широко используется БТ-А для создания защитногоптоза, коррекции вегетативных расстройств в области лица — гиперсаливации, гипергидроза, слезотечения, синдрома «сухого глаза», а также лечения хронических болевых синдромов: хронической ежедневной головной боли, хронической мигрени и головной боли напряжения, цервикогенной головной боли, миофасциального болевого синдрома лица, невралгии тройничного и затылочного нервов [5].

Препарат Диспорт содержит БТ-А и используется в клинической практике с 1991 г. для лечения кривошеи, гемифациального спазма, блефароспазма, эквинуварусной деформации стопы при детском церебральном параличе, спастичности после инсульта, а также в косметологии для устранения избыточной активности мимических морщин [6, 7]. За

последнее время наметилась устойчивая тенденция к расширению как официальных, так и потенциальных показаний к терапии БТ-А.

В одном флаконе препарата Диспорт содержится активный компонент, представленный комплексом ботулинический токсин типа А — гемагглютинин 500 ЕД (одна единица эквивалентна LD_{50} дозы для мышей при внутривенном введении), и неактивный компонент, включающий 125 мкг альбумина и 2,5 мг лактозы. Действующим началом является токсин *Clostridium botulinum* типа А, который блокирует высвобождение ацетилхолина из пресинаптической нервно-мышечной терминали путем расщепления синапсомембранного протеина SNAP-25 и таким образом препятствует транспорту и слиянию везикул, содержащих ацетилхолин, с пресинаптической мембраной. Это приводит к снятию мышечного спазма в области введения препарата. Восстановление передачи нервного импульса происходит постепенно по мере образования новых нервных окончаний и восстановления контактов с постсинаптической моторной концевой пластинкой. Кроме того, выявлено влияние ботулотоксина на вегетативную нервную систему, ведутся активные исследования по изучению влияния БТ-А на афферентные пути, ЦНС и антиноцицептивную систему.

Инъекции БТ-А применялись A.Scott [1] с 1980 г. для лечения патологических сокращений мышц лица и J.D.A. Carruthers [10] с 1982 г. с целью коррекции морщин лба и области вокруг глаз. Впервые эффективность БТ-А при головной боли была отмечена пластическим хирургом William Binder в 1992 г., когда пациенты, получавшие инъекции БТ-А для коррекции мимических морщин межбровной области, отмечали уменьшение частоты и тяжести головной боли. Было проведено мультицентровое открытое исследование по использованию БТ-А для лечения и профилактики мигренозных головных болей, и в 1999 г. Всемирной организации по изучению головной боли были представлены обнадеживающие результаты [8].

Наиболее сложной проблемой является лечение хронических форм первичной головной боли. Первичные головные боли являются самостоятельными нозологическими формами. Среди хронических форм чаще всего встречаются хроническая мигрень и хроническая головная боль напряжения. Эти формы встречаются у 5% популяции.

При головной боли БТ-А обычно вводят в межбровную область, в височные, лобные, трапециевидные мышцы и задние мышцы шеи. При введении препарата используют методики «фиксированных точек» или «следуя за болью» и их комбинации. Последнюю методику чаще используют при смешанных головных болях, к которым относятся хронические формы первичной головной боли — хроническая мигрень и хроническая головная боль напряжения, а также хроническая ежедневная головная

боль. При введении БТ-А удается воздействовать на важнейшую причину головной боли — мышечный спазм, что ведет к полному исчезновению приступов головной боли или значительному уменьшению их частоты, длительности, интенсивности и снижению количества принимаемых анальгетиков. Показано положительное влияние инъекций БТ-А на мозговой кровоток путем улучшения как артериального притока, так и венозного оттока из полости черепа [3].

Таким образом, если по истечении срока действия ботулотоксина приступы и возвращаются, то они уже не достигают былой остроты и при повторном введении препарата требуется меньшая доза.

Перед процедурой специалист уточняет локализацию боли и проводит пальпацию мышц головы, задних мышц шеи и мышц плечевого пояса для выявления зон мышечного напряжения. При введении препарата в зону лица доза определяется площадью и глубиной морщины. В целом доза пропорциональна массе и объему мышцы. Выбор метода введения БТ-А зависит от жалоб пациента и данных врачебного осмотра.

Инъекции проводят после заполнения «протокола информированного согласия пациента» на введение препарата, в котором описано, что собой представляет препарат, каково его действие, указываются возможные побочные эффекты, включая боль и микрогематомы в месте инъекций в течение 1—2 дней. Указываются сроки наступления эффекта (при головной боли, как правило, в течение 2 нед.), показания и противопоказания для проведения процедуры.

Препарат разводится стерильным физиологическим раствором, чаще используется разведение 2,5 мл на 1 флакон препарата. При использовании БТ-А побочные эффекты редки и преходящи.

С учетом сказанного выше нами было проведено исследование, целью которого являлась оптимизация использования БТ-А у пациентов с головной болью.

Материал и методы

В исследование были включены 17 пациентов Клиники головной боли и вегетативных расстройств академика А.М. Вейна, все женщины, средний возраст 43 ± 2 года. У всех пациенток была диагностирована хроническая мигрень в соответствии с критериями Международной классификации головных болей II пересмотра 2003 г. — головная боль в течение 15 дней и более в месяц на протяжении 3 мес. без злоупотребления лекарственными препаратами. Все пациентки до включения в исследование были обследованы для исключения других видов головной боли.

Критериями исключения пациенток из исследования были наличие воспаления кожи в месте инъекций, аллергия на вводимый препарат или его компоненты, наличие гемофилии. Исключались пациенты с осложненными формами мигрени (ге-

мигренная, офтальмическая или базилярная мигрень) и высоким уровнем депрессии, больные, получавшие ботулинотерапию менее 3 мес. до исследования или злоупотребляющие алкоголем. В исследование не включались беременные, кормящие грудью и женщины, планирующие беременность в ближайшие 3 мес. Исключалось применение антибиотиков, аминогликозидов и миорелаксантов.

Все пациентки, находившиеся под наблюдением, были разделены на две группы, сопоставимые по всем клинико-диагностическим показателям. Пациенткам 1-й группы ($n=9$) вводили 500 ЕД Диспорта в *m.corrugator*, *m.procerus*, *m.frontalis*, *m.temporalis*, *m.occipitalis* и *m.trapezius*, пациенткам 2-й группы ($n=8$) вводили 100—120 ЕД Диспорта в *m.corrugator*, *m.procerus*, *m.frontalis*.

Обследование больных проводили до лечения, а также через 4, 12 и 36 нед. после введения Диспорта в мышцы головы и шеи методом «следуя за болью». Использовалась схема лечения, предложенная А. Blumenfeld и соавт. [9]. Число точек для инъекций в нужную мышцу определялось локализацией боли, состоянием и конституцией пациента, размером мышцы и тяжестью боли в определенной зоне.

При недостаточном анальгетическом эффекте препарата допускался дополнительный прием анальгетиков, что регистрировалось в дневнике головной боли.

Методы исследования: проводилось клинико-неврологическое обследование, заполнение дневников головной боли (регистрация частоты, длительности, интенсивности головной боли по визуальной

аналоговой шкале — ВАШ; исследование эмоциональной сферы по госпитальной шкале тревоги и депрессии HADS, представляющей собой самоопросник для больных; оценка качества жизни; определение степени напряжения мышц по накожному электромиографическому (ЭМГ) мониторингу мышц лица и шеи (височные мышцы, лобные, шейные и трапециевидные); субъективная оценка эффективности терапии; исследование состояния мозгового кровотока с помощью ультразвуковой доплерографии экстра- (УЗДГ) и интракраниальных сосудов (транскраниальная доплерография — ТКД) (оценивались скоростные параметры кровотока по позвоночным (V_3 и V_4 сегменты) и основной артериям, наличие признаков экстравазального влияния на кровотоки по позвоночным артериям, а также состояние венозного оттока по позвоночным сплетениям).

Статистическая обработка данных проводилась при помощи компьютерной программы STATISTICA for Windows. Применялись параметрические и непараметрические методы статистического анализа (Стьюдента, Уилкоксона, Манна — Уитни). При сравнении вариационных рядов учитывались достоверные различия ($p<0,05$).

Результаты

До лечения клинические характеристики пациенток (см. таблицу) соответствовали параметрам больных хронической мигренью. Число приступов головной боли в месяц составляло $15,7\pm 4,8$, в среднем приступы длились $5,87\pm 2,1$ ч. в день, интенсивность боли по ВАШ — $8,9\pm 1,3$ балла, у всех больных

Таблица

Основные клинические характеристики обследуемых пациенток

	1-я и 2-я группы	1-я группа ($n=9$)			2-я группа ($n=8$)		
		4 нед.	12 нед.	36 нед.	4 нед.	12 нед.	36 нед.
Количество приступов ГБ в месяц	$15,7\pm 4,8$	$7,3\pm 1,7^*$	$5,1\pm 0,8^{***}$	$4,2\pm 1,3^{***}$	$8,5\pm 3,1^*$	$7,6\pm 2,4^*$	$7\pm 1,8^*$
Длительность приступа ГБ в день, ч.	$5,87\pm 2,1$	$3,7\pm 0,92^*$	$3,5\pm 1,2^*$	$3\pm 1,6^*$	$4,2\pm 1,1^*$	$4,1\pm 0,8^*$	$4\pm 1,2^*$
Интенсивность ГБ по шкале ВАШ, баллы	$8,9\pm 1,3$	$6,6\pm 0,87$	$4,5\pm 1,2^{***}$	$4,2\pm 1,7^{***}$	$6,7\pm 1,07$	$6\pm 2,3$	$6,5\pm 1,4$
ЭМГ височные Dex	$24,7\pm 9,8$	$20\pm 4,6^*$			$22,6\pm 5,1$		
Sin	$26,5\pm 10,5$	$19\pm 4,4^*$			$25,1\pm 0,9$		
ЭМГ лобные Dex	$22\pm 5,6$	$16\pm 5,6^*$			$16\pm 5,5^*$		
Sin	$20,4\pm 6,9$	$16\pm 5,6^*$			$15\pm 4,7^*$		
ЭМГ шейные Dex	$21\pm 6,6$	$14,5\pm 3,5^*$			$20\pm 3,5$		
Sin	$20\pm 6,9$	$14,5\pm 3,5^*$			$20\pm 2,8$		
ЭМГ трапециевидные Dex	$25\pm 9,7$	$17\pm 4^*$			$25\pm 8,3$		
Sin	$26\pm 8,9$	$16,8\pm 3,7^*$			$25\pm 3,6$		
Качество жизни, баллы	$42,75\pm 14,17$	$28,4\pm 13,5^*$	$28,4\pm 11,1^{***}$	$26,4\pm 9,2^{***}$	$32,46\pm 11,7^*$	$33,2\pm 9,6^*$	$33,2\pm 9,6^*$

Примечание. ГБ — головная боль; Dex — правые; Sin — левые. Показатели ЭМГ — в баллах.

* Достоверные различия между группами $p<0,05$ до и после лечения.

** Достоверные различия между 1-й и 2-й группой.

отмечалось значительное напряжение перикраниальных мышц, в большей степени височных и трапециевидных. Заболевание субъективно оценивалось как тяжелое — отмечалось значительное снижение качества жизни ($42,75 \pm 14,17$ балла), самооценка тревоги и депрессии по шкале HADS составляла $16,15 \pm 1,5$ балла, что соответствовало выраженной тревоге и депрессии.

При анализе данных УЗДГ и ТКД выявлены следующие результаты: до лечения у всех пациенток было отмечено экстравазальное влияние на кровоток по позвоночным артериям — у 75% выраженное и у 25% умеренное. Данные изменения у 13 пациенток были двусторонними и у 4 — односторонними. Венозная дисциркуляция до лечения отмечалась у 80% пациенток (у 45% — выраженные нарушения венозного оттока, у 55% — умеренные нарушения).

Активный расспрос позволил выявить жалобы больных на большую пастозность тканей лица, выраженность отека нижнего века, усиление носогубной борозды и проявления гравитационного птоза мягких тканей лица со стороны боли, что отмечалось у всех пациенток. На момент осмотра у 80% пациенток отмечались вышеописанные внешние проявления.

Через 4 нед. после введения препарата клинические показатели у пациенток 1-й и 2-й групп достоверно ($p < 0,05$) улучшались, а именно: снижались количество приступов мигрени в месяц и их длительность; достоверного уменьшения интенсивности приступов не отмечено. Снижалось достоверно ($p < 0,05$) напряжение всех инъецированных мышц у пациенток 1-й группы, во 2-й группе снижалось напряжение лобной мышцы. Показатели качества жизни достоверно ($p < 0,05$) улучшались в обеих группах. Самооценка тревоги и депрессии по шкале HADS снижалась и составила $6,5 \pm 1,1$ балла в 1-й

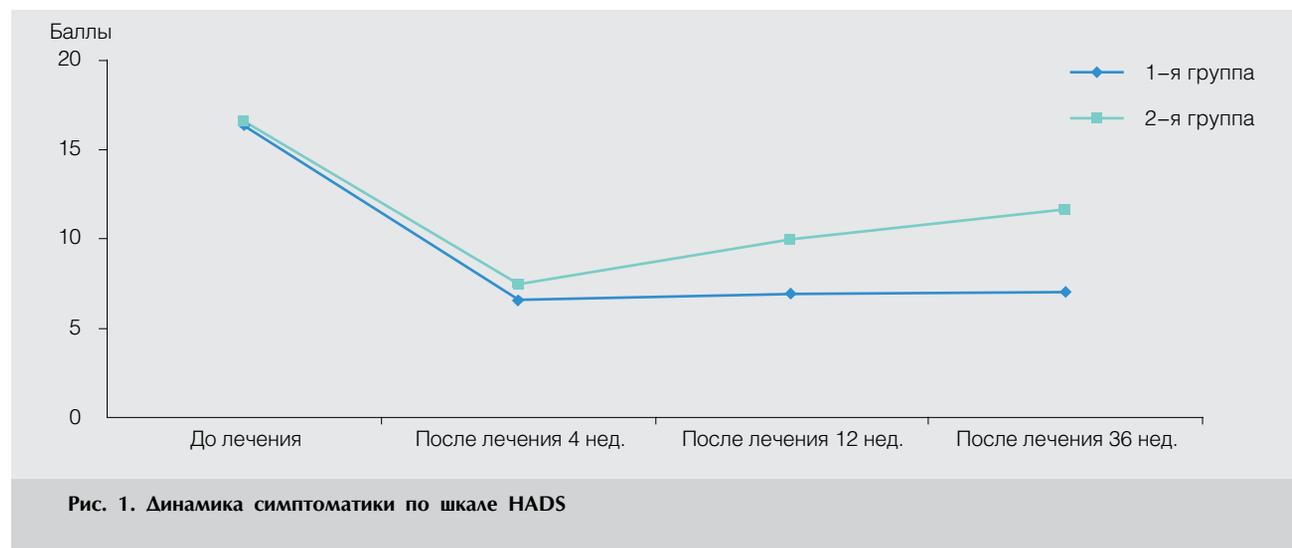
группе и $7 \pm 0,5$ балла во 2-й (рис. 1). Субъективно все пациентки были удовлетворены результатом лечения (рис. 2).

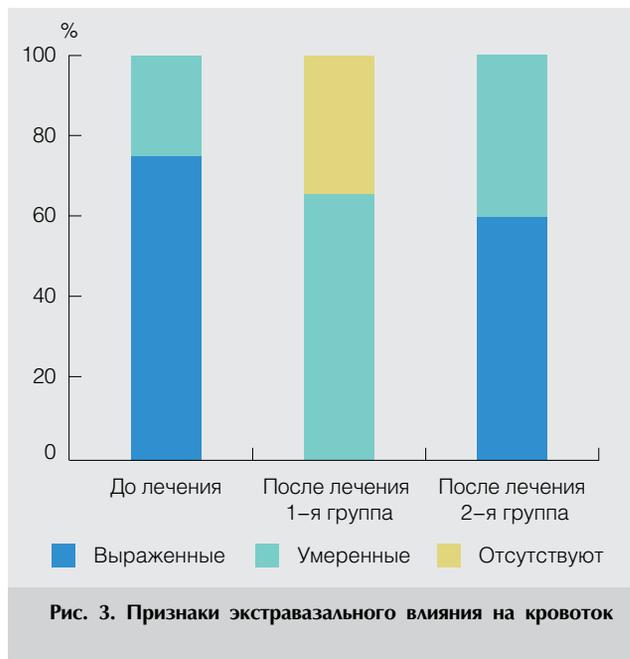
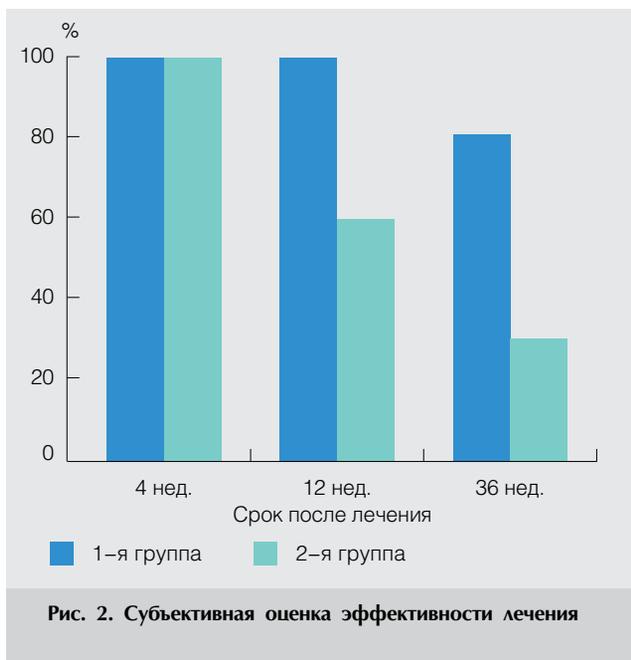
При анализе результатов УЗДГ экстракраниальных и интракраниальных сосудов через 4 нед. во 2-й группе были отмечены минимальные изменения, в то время как в 1-й группе у 34% пациенток экстравазальное влияние на кровоток по позвоночным артериям не выявлялось, а у 66% оно стало умеренным ($p < 0,05$) (рис. 3). После лечения отмечена нормализация венозного оттока по позвоночным сплетениям у 58% пациенток ($p < 0,05$), и только у 10% больных изменения оставались выраженными (рис. 4).

Через 12 нед. после введения препарата у всех пациенток наблюдалось дальнейшее снижение частоты и длительности приступов головной боли, интенсивность приступов головной боли уменьшалась только у пациенток 1-й группы ($p < 0,05$). Показатель качества жизни в 1-й группе был достоверно ниже ($p < 0,05$), чем во 2-й группе (см. таблицу). Показатели тревоги и депрессии сохранялись низкими в 1-й группе, но повышались во 2-й группе (см. рис. 1). Субъективно результатами лечения были удовлетворены 100% пациенток 1-й группы и 60% пациенток 2-й группы (см. рис. 2).

Таким образом, через 12 нед. после введения Диспорта отмечались различия эффективности лечения в 1-й и 2-й группах.

Через 36 нед. наблюдения у пациенток 1-й группы регистрировались достоверно ($p < 0,05$) более низкие показатели частоты приступов, их интенсивности, а также качества жизни по сравнению с пациентками 2-й группы (см. таблицу). Показатели тревоги и депрессии оставались низкими у пациенток 1-й группы, а у пациенток 2-й группы они продолжали повышаться (см. рис. 1). Субъективно результатами лечения были удовлетво-





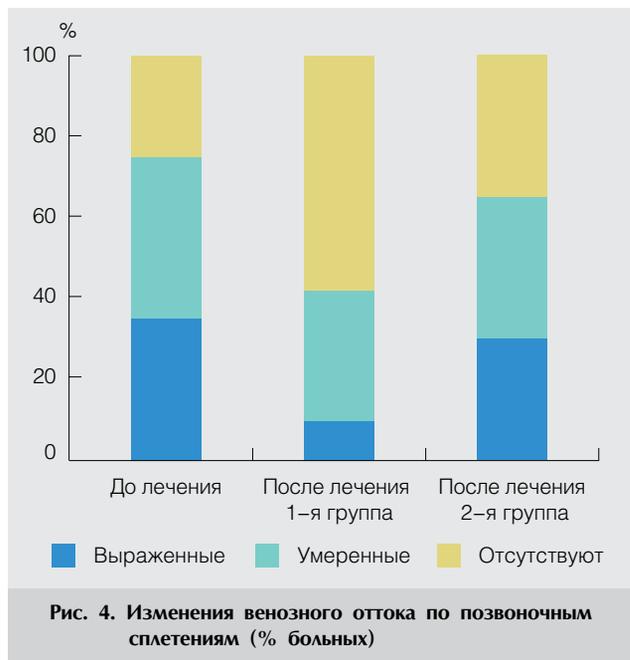
ны 80% пациенток 1-й группы и 30% пациенток 2-й группы (см. рис. 2).

После завершения исследования пациентки 1-й группы отмечали отсутствие внешних проявлений в виде пастозности тканей лица, отечности нижнего века, усиления носогубной борозды и проявления гравитационногоптоза мягких тканей лица на стороне боли, тогда как во 2-й группе вышеописанные жалобы сохранялись у 5 из 8 пациенток.

Обсуждение

В результате проведенной терапии достоверно снизились частота и длительность приступов головной боли у пациенток 1-й и 2-й групп и интенсивности головной боли у пациенток 1-й группы. В обеих группах достоверно снижалось напряжение во всех инъецированных мышцах, улучшалось качество жизни пациентов, уменьшались проявления тревоги и депрессии. Субъективно результатами лечения были удовлетворены 80% пациенток 1-й группы и 30% больных 2-й группы. В результате проведенного исследования показано, что расширенное инъецирование БТ-А перикраниальных мышц, включая немимические височные мышцы и задние мышцы шеи, приводит к более выраженному и более стойкому клиническому эффекту у женщин, страдающих хроническими формами первичной головной боли, по сравнению с инъецированием только мимической мускулатуры.

Коллектив авторов предполагает, что эффект более выраженного и более длительного снижения тонуса мимических мышц может быть обусловлен не только непосредственным местным действием



БТ-А, но и центрально-рефлекторным влиянием, в первую очередь на уровне ствола головного мозга (тригеминофациальный рефлекс). Известно, что снижение возбуждения нейронов ядер тройничных нервов, являющегося ключевым патофизиологическим звеном головной боли, а также моторных ядер тройничных нервов, иннервирующих височные мышцы, приводит к уменьшению возбуждения нейронов ядер лицевых нервов, иннервирующих мимические мышцы лица.

Помимо тригеминофациальных отношений следует учитывать центральные тригеминоспинальные рефлекторные связи на уровне двух верхних шейных сегментов спинного мозга. Снижение тонуса задних мышц шеи может приводить к снижению возбуждения нейронов чувствительных ядер этих сегментов вследствие уменьшения болевых и проприоцептивных афферентных потоков.

Также следует учитывать, что боль как эмоциональное переживание приводит непосредственно к повышению тонуса мимических мышц и формированию в конечном итоге «гримасы боли». Последняя характерна не только для сильных и острых болевых ощущений, но и для менее выраженных по силе, но более длительных, хронических, «мучительных» болей. Это обусловлено тесной связью нейронов моторных ядер лицевых нервов и отделов головного мозга, ответственных за формирование эмоциональных переживаний (лимбико-ретикулярный комплекс). Прерывание пути: боль → эмоциональное переживание → повышение тонуса мимических мышц вследствие устранения боли как таковой дополнительно приводит к снижению тонуса мимической мускулатуры.

По данным нашего исследования, дополнительное инъекционное немимических перикраниальных и шейных мышц приводило к снижению отека лица и век преимущественно на стороне боли. Этот эффект может быть связан с нормализацией гемодинамических показателей во внечерепных и внутричерепных сосудах головы и шеи, выявленной нами методом УЗДГ (см. рис. 3). Данные положительные сдвиги обусловлены сосудистой декомпрессией вследствие снижения мышечного тонуса перикраниальных и задних шейных мышц. Нормализация артериального притока и венозного оттока привела к улучшению кровообращения в области лица, что в свою очередь сопровождалось снижением отека тканей лица и улучшением их метаболизма.

Таким образом, пациенты, страдающие хронической мигренью, нуждаются в назначении расширенного инъекционного инъецирования мышц (включая по-

мимо мимических мышц немимические височные мышцы и задние мышцы шеи) токсином ботулизма типа А для достижения более стойкого клинического и эстетического эффектов. С целью комплексной коррекции этим пациентам также рекомендовано назначение нелекарственных методов лечения, нормализующих тонус перикраниальных мышц и задних мышц шеи и улучшающих кровообращение в области головы и шеи: массаж, рефлексотерапия, физиотерапия и гирудотерапия.

Литература

1. Артеменко А.Р., Куренков А.Л., Мингазова Л.Р., Орлова О.Р., Сойхер М.И., Сойхер М.Г. Комплексная реабилитация пациентов с эстетическими проблемами в области лица (с применением ботулотоксина типа А «Лантокс») // Эксперим. и клин. дерматокосметол. 2008. № 5. С. 26—31.
2. Артеменко А.Р., Орлова О.Р. Ботулинотерапия — новый подход к профилактическому лечению мигрени и других первичных головных болей // Эстетическая медицина. 2008. Т. VII, № 2. С. 205—214.
3. Наприенко М.В., Окнин В.Ю., Сазонова А.Г., Кудаева Л.М. Ботулотоксин типа А (Диспорт) в лечении хронических форм первичной головной боли // Бюлл. сибирской медицины. 2008. № 5. С. 270—275.
4. Орлова О.Р. Применение ботулотоксина в неврологии и косметологии // Нувель эстетик (Русское издание). 1998. № 7. С. 25—27.
5. Орлова О.Р., Яхно Н.Н. Применение ботокса в клинической практике. М.: Каталог, 2001. 208 с.
6. Ascher B., Zakine B., Kestemont P., Baspeyras M. A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study of efficacy and safety of 3 doses of botulinum toxin A in the treatment of glabellar lines // J. Am. Acad. Dermatol. 2004. Vol. 51, № 2. P. 224—233.
7. Ascher B., Zakine B., Kestemont P., Baspeyras M., Bougarg A., Niforos F., Malet T., Santini J. Botulinum toxin A in the treatment of glabellar lines: scheduling the next injection // Aesthetic. Surgery. Journal. 2005. Vol. 25, № 4. P. 365—375.
8. Binder W.J., Brin M.F., Blitzer A., Schoenrock L.D. Botulinum toxin type A (Botox) for treatment of migraine headaches: An open-label study // Otolaryngology-Head and Neck Surgery. 2000. Vol. 123, № 6. P. 669—676.
9. Blumenfeld AM, Binder W, Silberstein SD, Blitzer A. Procedures for administering botulinum toxin type A for migraine and tension-type headache // Headache. 2003. Vol. 43. P. 884—891.
10. Carruthers J.D., Carruthers J.A. Treatment of glabellar lines with Clostridium botulinum A Exotoxin // Dermatol. Surg. Oncol. 1992. Vol. 18. P. 17—21.
11. Scott A.B. Botulinum toxin injection in the extraocular muscles as an alternative to strabismus surgery // Ophthalmology. 1980. Vol. 87. P. 1044—1049.



НАШ ОПЫТ
ваше решение

Инструкция

Активный компонент:

Комплекс ботулинический токсин типа А –
гемагглютинин 500 ЕД

Вспомогательные компоненты:

Альбумин человека 125 мкг
Лактоза 2,5 мг

Лекарственная форма

Лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного и подкожного введения, 500 ЕД

Биологическое действие

Действующим началом является токсин *Clostridium botulinum* тип – А, который блокирует высвобождение ацетилхолина в нервно-мышечном соединении, что приводит к снятию мышечного спазма в области введения препарата. Восстановление передачи нервного импульса происходит постепенно, по мере образования новых нервных окончаний и восстановления контактов с постсинаптической моторной концевой пластинкой.

Показания к применению

Лечение блефароспазма, гемифациального спазма, спастической кривошеи, спастичности руки после инсульта, гиперкинетических складок (мимических морщин) лица у взрослых.

Лечение динамической деформации стопы, вызванной спастичностью, у детей с церебральным параличом с 2-х летнего возраста.

Противопоказания

Диспорт противопоказан при беременности. При острых заболеваниях введение препарата осуществляют после выздоровления.

Предупреждения и меры предосторожности

Лечение препаратом Диспорт должно проводиться специалистами, имеющими опыт в диагностике и лечении подобных состояний и прошедшими подготовку по проведению лечения препаратом Диспорт. Единицы действия препарата Диспорт являются специфическими и не могут сравниваться с таковыми других препаратов, содержащих ботулотоксин.

Форма выпуска

По 500 ЕД во флакон из прозрачного нейтрального стекла типа I (Евр.Ф.) вместимостью 3 мл, укупоренный резиновой пробкой под алюминиевой обкаткой с отверстием для иглы в центре и закрытый защитной пластмассовой крышечкой контроля первого вскрытия. Флакон в пластиковой коробке или флакон, зафиксированный в держателе из картона, вместе с инструкцией по применению помещают в пачку картонную.

Срок годности

2 года.
Не использовать по истечении срока годности, указанного на упаковке.

Условия хранения и транспортирования

Диспорт хранят и транспортируют при температуре от 2°C до 8°C.
Не замораживать!

Специальные меры предосторожности при хранении

Препарат отпускается, хранится и применяется исключительно в специализированных медицинских учреждениях при наличии квалифицированного и обученного медперсонала. Диспорт хранят в отдельной закрытой промаркированной коробке в холодильнике лечебного учреждения, где осуществляется проведение инъекций препарата. Диспорт нельзя выдавать на хранение пациенту.



КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ДИОИДНОГО ЛАЗЕРА В ЛЕЧЕНИИ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ КОЖИ

Ю.Ю. ШТИРШНАЙДЕР, В.А. ВОЛНУХИН

EFFICACY OF USING DIODE LASERS IN THE TREATMENT OF BENIGN SKIN NEOPLASMS

YU.YU. SHTIRSHNEIDER, V.A. VOLNUKHIN

Об авторах:

Ю.Ю. Штиршнайдер — младший научный сотрудник ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий»

В.А. Волнухин — ведущий научный сотрудник ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий», д.м.н.

Представлены результаты лечения 95 больных доброкачественными новообразованиями кожи диодным лазерным излучением с длиной волны 0,81 мкм. Данный метод лечения позволил радикально удалить новообразования у 94 (98,9%) больных. Средние сроки эпителизации послеоперационной раны составили у больных обыкновенными бородавками 15,5 дня, папилломами — 10,3 дня, меланоцитарными невусами — 12,3 дня, паукообразными гемангиомами — 12,2 дня. Хорошие косметические результаты достигнуты соответственно у 76, 96, 91 и 95,5% пациентов.

Ключевые слова: доброкачественные новообразования кожи, диодное лазерное излучение 0,81 мкм, эффективность лечения.

The article presents the results of treatment of 90 patients with benign skin neoplasms by using a diode laser irradiation with the wavelength of 0.81 micron. This treatment method made it possible to radically remove neoplasms in 89 cases (98.9%). The average duration of the post-surgery tissue cuticularization was 16.9 days in patients with common warts, 10.3 days in patients with papillomas, 14.3 days in patients with melanocytic naevi, and 12.2 days in patients with spider angiomas. Good cosmetic results were achieved for 56%, 96%, 87% and 95.5% patients, respectively.

Key words: benign skin neoplasms, 0.81 micron diode laser irradiation, treatment efficacy.

В последние годы наблюдается рост заболеваемости различными новообразованиями кожи, которые заставляют пациентов всё чаще обращаться за медицинской помощью и прибегать к удалению возникшего косметического дефекта [1, 2]. Существует несколько методов оперативного лечения новообразований кожи: хирургическое иссечение, криотерапия, электрокоагуляция, радиохirurgия, лазерная деструкция и др. Однако ни один из них не обеспечивает оптимальный терапевтический и косметический эффект.

Одним из широко известных методов лечения данной патологии является лазерная хирургия, при которой применяют различные типы высокоинтенсивных лазеров: углекислотные, неодимовые, гольмиевые и др. Особое место среди них занимают диодные лазеры, обладающие некоторыми достоинствами. Они сочетают деструктивное действие с минимальным термическим повреждением окружающей здоровой кожи и подлежащих тканей, позволяют проводить лечение с использованием гибкого

световода, экономичны и надежны в эксплуатации, компактны и относительно дешевы.

В клинической практике успешно используются диодные лазеры с длиной волны 0,81 мкм, которые применяют для удаления волос и поверхностных кожных вен [3—11]. В то же время возможность лечения данным видом лазерного излучения доброкачественных новообразований кожи изучена недостаточно. В связи с вышеизложенным целью настоящей работы явилось изучение эффективности лечения диодным лазерным излучением с длиной волны 0,81 мкм ряда доброкачественных новообразований кожи: обыкновенных бородавок, папиллом, меланоцитарных невусов и звездчатых гемангиом.

Материал и методы

Для удаления новообразований кожи применяли лазерный хирургический аппарат «КРИСТАЛЛ» (Россия) (рег. номер МЗ РФ 29/01101100/213903 от 17.02.2003, сертификат соответствия РОСС RU.ИМО2.В10686), генерирующий излучение с длиной волны 0,81 мкм и мощностью от 1 до 5 Вт. Все больные получали лечение в амбулаторных условиях. Процедуры проводили с использованием гибкого светоптического волокна (диаметр 0,6 мм),

а также аппарата для эвакуации/фильтрации дыма и газов «VAPOR-VAC II» (США) (рег. номер МЗ РФ 2000/581 от 20.10.2000). Перед удалением большим бородавками, папилломами и меланоцитарными невусами проводили инфильтрационную анестезию 2% раствором лидокаина.

При удалении обыкновенных бородавок, папиллом и меланоцитарных невусов воздействие лазерным излучением осуществляли контактным способом, в непрерывном режиме работы аппарата, сканирующими движениями световода, при мощности излучения от 1,5 до 2,5 Вт. Время воздействия зависело от размеров новообразования и составляло от 2—3 с. до 1—2 мин. Лечение паукообразных гемангиом проводили с мощностью излучения от 2 до 2,5 Вт и экспозицией 1—2 с., без анестезии, поскольку воздействие было кратковременным и не вызывало у пациентов болезненных ощущений. Воздействию подвергали только центральную узелковоподобную часть гемангиомы, поскольку окружающие веерообразно расходящиеся сосуды после облучения центральной части исчезали самостоятельно.

По окончании процедуры разрушенные ткани удаляли марлевым тампоном, смоченным спиртом или раствором перекиси водорода, что позволяло провести ревизию основания удаляемого элемента и удостовериться в его полной деструкции. Если новообразование было разрушено не полностью, проводили повторное облучение до полного удаления патологической ткани. В послеоперационном периоде пациентам рекомендовали смазывать рану раствором фукорцина 2—4 раза в сутки, избегать инсоляции, контакта с водой и травматизации кожи.

Ближайшие результаты лечения оценивали по наличию болезненности в период наблюдения, радикальности удаления новообразований, срокам эпителизации послеоперационной раны, частоте развития и интенсивности побочных реакций (воспалительных явлений, кровотечения, вторичного инфицирования). Отдаленные результаты оценивали через 6 мес. после удаления новообразований по частоте и срокам развития рецидивов, а также косметическому эффекту — характеру сформировавшегося рубца (гипер-, нормо- или атрофического рубца) и наличию/отсутствию диспигментаций

(гипо- или гиперпигментаций). При формировании на месте новообразования нормотрофического рубца и отсутствии диспигментации кожи косметический эффект расценивали как хороший. При образовании гипертрофического/атрофического рубца и/или наличии диспигментации кожи эффект расценивали как удовлетворительный. При радикальном удалении эффект расценивали как неудовлетворительный.

Результаты и обсуждение

Всего под наблюдением находились 95 больных доброкачественными новообразованиями кожи: 25 — обыкновенными бородавками на ладонной и тыльной поверхностях кистей, 23 — меланоцитарными невусами, 25 — папилломами и 22 — звездчатыми (паукообразными) гемангиомами (табл. 1). Возраст больных варьировал от 18 до 77 лет (средний возраст 31 год), длительность заболевания — от 2 нед. до 53 лет (в среднем 8,5 лет). Ни у одного из пациентов не было выявлено заболеваний, отрицательно влиявших на процессы заживления послеоперационной раны (сахарного диабета, гипертонической болезни, болезней соединительной ткани, нарушений системы свертывания крови, психических расстройств).

Облучение диодным лазером позволило радикально удалить новообразования у 89 (98,9%) больных (рис. 1—5). У одной больной паукообразной гемангиомой не удалось произвести полноценную деструкцию центральной части новообразования. Сроки эпителизации послеоперационной раны варьировали при лечении обыкновенных бородавок от 7 до 20 дней (в среднем составили 15,5 дня), папиллом — от 7 до 20 дней (в среднем — 10,3 дня), меланоцитарных невусов — от 7 до 28 дней (в среднем — 14,3 дня), паукообразных гемангиом — от 7 до 18 дней (в среднем — 12,3 дня).

Из побочных реакций наиболее часто наблюдались болезненность и воспалительные явления (табл. 2). Капиллярное кровотечение зарегистрировано лишь у 2 больных папилломами, что могло быть связано с недостаточной коагуляцией сосудов основания; присоединения вторичной инфекции отмечено не было.

Таблица 1

Клиническая характеристика больных

Показатель	Обыкновенные бородавки (n=25)	Меланоцитарные невусы (n=23)	Папилломы (n=25)	Паукообразные гемангиомы (n=22)
Возраст, годы	24	36	35	32
Пол (муж./жен.)	7/18	5/18	13/12	5/17
Длительность болезни, годы	2	26	2	5

Примечание. Возраст и длительность болезни приведены в виде средних значений, пол указан в абсолютных частотах.



а



б



в

Рис. 1. Обыкновенные бородавки до (а), непосредственно после процедуры (б) и через 6 мес. после удаления (в)

Рецидив заболевания развился через 4 мес. после полной эпителизации послеоперационной раны у 2 больных бородавками. Хороший косметический эффект констатирован у 76% больных обыкновенными бородавками, 96% больных папилломами, 91% больных меланоцитарными невусами и 95,5% больных паукообразными гемангиомами (табл. 3). У 7 пациентов достигнут удовлетворительный эффект. Среди них у 4 пациентов (2 больных меланоцитарными

невусами, 1 больной папилломами и 1 больной бородавками) после процедур лазерной деструкции вокруг рубца возник ободок гиперпигментации светлокоричневого цвета, который сохранялся в течение всего времени наблюдения. У 7 больных обыкновенными бородавками при локализации их на тыльной поверхности кистей образовались гипертрофические рубцы. Развития депигментации или атрофических рубцов не отмечено ни в одном случае.



Рис. 2. Околоногтевые бородавки до (а) и через 6 мес. после удаления (б)

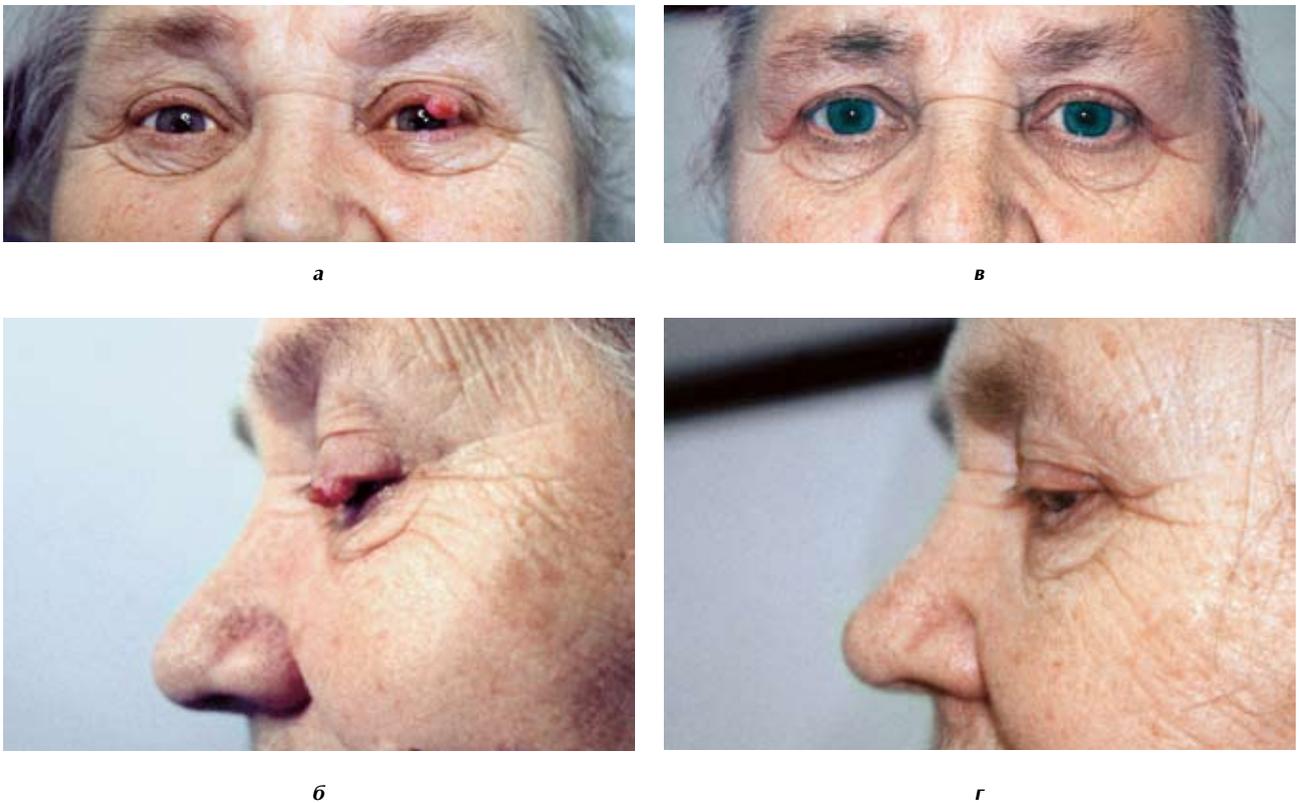


Рис. 3. Меланоцитарный невус верхнего века левого глаза до (а, б) и через 6 мес. после удаления (в, г)



Рис. 4. Паукообразная гемангиома до (а) и через 6 мес. после удаления (б)



Рис. 5. Папиллома в области пупка до (а) и через 6 мес. после удаления (б)

Таблица 2

Побочные реакции лечения доброкачественных новообразований кожи диодным лазером с длиной волны 0,81 мкм (абсолютные частоты)

Клинический признак	Обыкновенные бородавки (n=25)	Меланоцитарные невусы (n=23)	Папилломы (n=25)	Паукообразные гемангиомы (n=22)
Болезненность	3	3	0	0
Отек	3	0	0	1
Гиперемия	3	0	0	0
Мокнутие	6	6	2	4
Кровотечение	0	0	2	0
Вторичная инфекция	1	0	0	0

Таблица 3

Косметические результаты лечения доброкачественных новообразований кожи диодным лазером

Результат лечения	Обыкновенные бородавки <i>n</i> =25	Меланоцитарные невусы <i>n</i> =23	Папилломы <i>n</i> =25	Паукообразные гемангиомы <i>n</i> =22
Хороший	19 (76)	21 (91)	24 (96)	21 (95,5)
Удовлетворительный	4 (16)	2 (9)	1 (4)	
Неудовлетворительный	2 (8)			1 (4,5)

Примечание. Данные приведены в виде абсолютных частот, в скобках проценты.

Заключение

Проведенные исследования свидетельствуют об эффективности применения диодного лазера с длиной волны 0,81 мкм для удаления доброкачественных новообразований кожи. Хороший косметический эффект лечения был достигнут у 76% больных обыкновенными бородавками, 96% больных папилломами, 91% больных меланоцитарными невусами и 95,5% больных паукообразными гемангиомами. Данный метод лечения является малоблезненным и в большинстве случаев бескровным, хорошо переносится пациентами и легко выполним в амбулаторных условиях, что позволяет рекомендовать его для клинического применения.

Литература

- Кубанова А.А., Мартынов А.А. Место злокачественных новообразований кожи в структуре онкологической заболеваемости населения Российской Федерации // *Вестн. дерматол. и венерол.* 2007. Т. 6. С. 19—24.
- Дубенский В.В., Дубенский Вл.В. Новообразования кожи в практике дерматовенеролога. Вопросы эпидемиологии, этиологии и патогенеза, диагностики // *Вестн. дерматол. и венерол.* 2008. Т. 6. С. 22—40.
- Campos V.B., Dierickx C.C., Farinelli W.A. et al. Hair removal with an 800-nm pulsed diode laser // *J. Am. Acad. Dermatol.* 2000 Sep. Vol. 43, № 3. P. 442—447.
- Rogachefsky AS, Silapunt S, Goldberg DJ. Evaluation of a super long pulsed 810-nm diode hair removal laser in suntanned individuals // *J. Cutan. Laser. Ther.* 2001. Vol. 3, № 2. P. 57—62.
- Handrick C, Alster TS. Comparison of long-pulsed diode and long-pulsed alexandrite lasers for hair removal: a long-term clinical and histologic study // *Dermatol. Surg.* 2001 Jul. Vol. 27, № 7. P. 622—6.
- Baugh W.P., Trafeli J.P., Barnette D.J.Jr., Ross E.V. Hair reduction using a scanning 800 nm diode laser // *Dermatol. Surg.* 2001. Vol. 27, № 4. P. 358—364.
- Liew S.H. Laser hair removal: guidelines for management // *Am. J. Clin. Dermatol.* 2002. Vol. 3. № 2. P. 107—15.
- Rogachefsky A.S., Silapunt S., Goldberg D.J. Evaluation of a new super-long-pulsed 810 nm diode laser for the removal of unwanted hair: the concept of thermal damage time // *Dermatol Surg.* 2002. Vol. 28, № 5. P. 410—414.
- Wollina U., Konrad H., Schmidt W.D. et al. Response of spider leg veins to pulsed diode laser (810 nm): a clinical, histological and remission spectroscopy study // *J. Cosmet. Laser. Ther.* 2003. Vol. 5, № 3—4. P. 154—162.
- Eremia S., Li C., Umar S.H. A side-by-side comparative study of 1064 nm Nd:YAG, 810 nm diode and 755 nm alexandrite lasers for treatment of 0.3-3 mm leg veins // *Dermatol. Surg.* 2002. Vol. 28, № 3. P. 224—230.
- Sadick N.S., Wasser S. Combined endovascular laser plus ambulatory phlebectomy for the treatment of superficial venous incompetence: a 4-year perspective // *J. Cosmet. Laser. Ther.* 2007. Vol. 9, № 1. P. 9—13.

СЛУЧАЙ ХРОНИЧЕСКОГО ГРАНУЛЕМАТОЗНОГО КАНДИДОЗА

М.К. БАЛТАБАЕВ, А.А. КАЙБАГАРОВА, Д.А. САДЫКОВА

SUMMARY THE CASE OF UNUSUAL FORM OF MUCOCUTANEOUS CANDIDIASIS

M.K. BALTABAYEV, A.A. KAYBAGAROVA, D.A. SADYKOVA

Об авторах:

М.К. Балтабаев — профессор кафедры дерматовенерологии Кыргызско-Российского славянского университета им. Б.Н. Ельцина, г. Бишкек

А.А. Кайбагарова — доцент кафедры дерматовенерологии и фтизиопульмонологии Кыргызско-Российского славянского университета им. Б.Н. Ельцина, г. Бишкек, к.м.н.

Д.А. Садыкова — старший преподаватель кафедры дерматовенерологии фтизиопульмонологии Кыргызско-Российского славянского университета им. Б.Н. Ельцина, г. Бишкек

Описан случай тяжелого хронического гранулематозного кандидоза у шестилетнего ребенка с поражением волосистой части головы, лица, туловища, кистей, протекавшего на фоне сопутствующей железодефицитной анемии и аскаридоза. Получен хороший эффект от проведения противогрибкового лечения флуконазолом, эскадермом, общеукрепляющей и антигельминтной терапии.

Ключевые слова: хронический гранулематозный кандидоз, железодефицитная анемия, аскаридоз.

A case-report of heavy form of mucocutaneous candidiasis in six age's boy with involvement to pathologic process of the hair part of head, face, trunk, upper extremities and nails had presented. The disease accompanied by iron-deficiently anemia and ascari-dosis. Mucocutaneous candidiasis was successfully treated by antifungal, antiintestinal worm therapy.

Key words: mucocutaneous candidiasis, iron-deficiently anemia, ascari-dosis.

Хронический гранулематозный кандидоз (ХГК) — особая разновидность хронического кандидоза, отмечаемая чаще у детей на фоне различных иммунных нарушений [12]. Заболевание встречается у лиц, страдающих эндокринными расстройствами, пиодермиями, диссеминированной туберкулезной инфекцией, недостаточностью микроэлементов [11].

Микоз был выделен в самостоятельную нозологическую форму в 1930 г. В.Ю. Мронговиусом и М.С. Башкевичем под названием «распространенный дрожжевой дерматит». Его синонимами являются хронический кожно-слизистый кандидоз, кандидозная гранулема, эндокринно-кандидозный синдром [11]. Показано, что у больных ХГК имеются нарушения иммунного ответа на антигены грибов *Candida*, включающие в себя снижение уровня интерлейкина-2 и гамма-интерферона, отмечается увеличение секреции клетками лимфоидной системы интерлейкина-6 [1]. Установлено, что лица, имеющие дефицит Т-клеточного иммунитета, больные синдромом Ди Джорджи, ВИЧ-инфицированные, также подвержены хронической кандидозной инфекции [1, 2]. Нарушения В-клеточного иммунитета у больных ХГК встречаются значительно реже [2].

В литературе описаны сочетания кожно-слизистого кандидоза с микотической аневризмой, злокачественной тимомой, раком слизистой оболочки полости рта и гастроинтестинального тракта, особенно у больных, страдающих так называемым синдромом АРЕСЕД (множественной аутоиммунной кандидозо-эндокринно-эктодермальной дистрофией) [3]. Аутосомно-рецессивный синдром АРЕСЕД обусловлен мутацией гена, называемого аутоиммунным регулятором (AIRE) [3, 10].

Р. Ahopen и соавт. [3] отмечают следующую частоту эндокринопатий у больных ХГК: гипопаратиреоз — 79%, гипокортицизм — 72%, овариальная и гонадная недостаточность — 60 и 14 % соответственно, сочетание с сахарным диабетом в 12% и гипотиреозом в 3% случаев. Описаны случаи ХГК в сочетании с апластической, пернициозной анемией, тромбоцито- и нейтропениями [8, 9].

С. Kirkpatrick и соавт. [6] описали локализованную форму ХГК у больного с наличием массивного гиперкератоза в виде кожного рога на обеих руках, неассоциированную с эндокринными нарушениями и встречающуюся с одинаковой частотой у лиц обоих полов. ХГК может сочетаться с алопецией, витилиго и патологией зубов [8]. Описаны случаи сочетания ХГК с КИД синдромом: кератитом, ихтиозом и глухотой [4, 5].

С. Kirkpatrick предложил использовать для оценки состояния больных ХГК следующие методы

исследования: лабораторные — исследование клеточного и гуморального звеньев иммунной системы с оценкой продукции лимфокинов Т-клетками, стимулированными различными митогенами, в том числе и грибами *Candida albicans*, определение содержания иммуноглобулинов в периферической крови больных. Исследование эндокринного статуса больных — определение уровня кортизола, фосфатов, ионов кальция. Проведение компьютерной томографии органов грудной клетки для исключения тимомы [7].

Приводим клиническое наблюдение.

Больной 2002 г. рождения поступил в ДКО РКВД 28.11.08 г. с жалобами на наличие зудящих роговых разрастаний в области лица, волосистой части головы, туловища, кистей. Мальчик болен с двухмесячного возраста, часто страдал простудными заболеваниями, фурункулезом, отставал в физическом развитии.

Родился от второй беременности, вторых родов; мать во время беременности страдала анемией, отеками нижних конечностей. Ребенок родился в срок в легкой асфиксии с массой тела 3000 г. На 2-м месяце жизни во время патронажа участковым педиатром выявлен кандидоз в виде творожистого налета на слизистой оболочке полости рта.

В пятимесячном возрасте больной лечился в стационаре по поводу двусторонней бронхопневмонии тяжелой формы с обструктивным синдромом. В шестимесячном возрасте ребенок был отнят от груди, так как у матери, со слов отца, была тяжелая форма ОРВИ. В этом возрасте у ребенка стали появляться роговые разрастания на волосистой части головы, лице, туловище и верхних конечностях.

По поводу рецидивирующего кожного процесса ребенок долгое время лечился у народных целителей, но без особого эффекта. Больной плохо питался, отставал в развитии, неоднократно лечился у дерматолога, хирурга и онколога по поводу множественных роговых разрастаний без определенного диагноза и терапевтического эффекта. По поводу гиперкератоза кожи неясного генеза пациенту была оформлена инвалидность второй группы. Роговые разрастания периодически отпадали, но появлялись новые элементы. В возрасте 2 лет 7 мес. ребенок переболел вирусным гепатитом А.

Объективный осмотр: ребенок пониженного питания. Плохо вступает в контакт, плаксив. Рост при поступлении 100 см, масса 14 кг. Температура тела 36,6°C. При физикальном исследовании внутренних органов патологии не выявлено. Физиологические отправления регулярны. Локальный статус: на волосистой части головы, щеках, носу, подбородке, спине, груди и кистях имеются множественные разрастания коричнево-черного цвета в виде массивных очагов гиперкератоза, плотно сидящих на основании (рис. 1—3). Роговые элементы располагаются также на ушных раковинах и веках. В местах отсутствия гиперкератоза наблюдаются



Рис. 1. Больной в день поступления. Имеются крупные роговые наслоения в области лица и волосистой части головы



Рис. 2. Множественные роговые элементы на волосистой части головы и лице, диффузная алопеция (крупный план)



Рис. 3. Элементы в виде кожного рога на тыльной поверхности левой кисти

яркие воспалительные эритематозные пятна, сопровождающиеся незначительным зудом. На волосистой части головы имеется диффузная алопеция. Ногтевые пластины на пальцах кистей отсутствуют, наблюдаются колбовидное утолщение фаланг и выраженная гиперемия кожи околоногтевых валиков, из которых при надавливании выделяются капельки гноя.

Результаты лабораторных исследований. Исследование уровня гормонов в крови:

T_3 — 3,40 нмоль/л; T_4 — 105 нмоль/л, ТТГ — 0,763 мМЕ/л, тестостерон — 0,07 нмоль/л, кортизол — 363 нмоль/л, СТГ — 13,5 МЕ/л. Биохимический анализ крови: общий белок — 75,0 г/л, общий билирубин — 12,7 мкмоль/л, холестерин — 3,0 ммоль/л, аланинаминотрансфераза — 15,9 ЕД/л, аспаратаминотрансфераза — 61,3 ЕД/л, α -амилаза — 21,0 ЕД/л, креатинин — 39,2 мкмоль/л, мочевины — 2,9 ммоль/л, щелочная фосфатаза — 409,0 ЕД/л, железо — 9,6 мкмоль/л, остаточный азот — 13,1 ммоль/л, реакция Така — Ара — положительная, тимоловая проба — 8,97 ЕД. Кровь на стерильность — кровь стерильная. Бактериальный посев на среде Сабуро с очагов поражений на волосистой части головы — выделена культура грибов *Candida albicans* (рис. 4, 5). Анализ крови на ВИЧ-инфекцию отрицательный, общий анализ мочи — без особенностей. Общий анализ крови: Нв — 94,3 ч/л, эр. — $3,0 \cdot 10^{12}$ /л, цв. пок. — 0,9, л. — $3,6 \cdot 10^9$ /л, с. — 50%, э. — 4%, лимф. — 36%, мон. — 10%; СОЭ — 10 мм/ч. Анализ кала — обнаружены оплодотворенные яйца *Ascaris lumbricoides*. При бактериологическом исследовании гнойных выделений выделен *Staphylococcus aureus*, устойчивый к азитромицину, цефтазидиму, ампициллину, но чувствительный к пefлоксацину, клиндамицину, моксифлоксацину, амикацину.

УЗИ органов брюшной полости и щитовидной железы — без особенностей. При рентгенологическом исследовании органов грудной клетки и турецкого седла патологии не выявлено.

Гистологическое исследование биоптата кожи с очага поражения: гиперкератоз, местами акантоз, воспалительный инфильтрат в дерме, состоящий из лимфоцитов, плазмочитов, гистиоцитов с примесью нейтрофилов (рис. 6, 7).

На основании клинико-лабораторного обследования больному поставлен клинический диагноз: *хронический гранулематозный кандидоз*.

Проведено следующее лечение: флунол (флуконазол) по 50 мг ежедневно в течение 2 нед.; витамин B_1 5% по 0,5 мл внутримышечно, через день № 10; витамин B_6 — 5% 0,5 мл внутримышечно, через день № 10; калия йодид 3% по 1 чайной ложке 3 раза в день 14 дней; микстура Павлова по 1 чайной ложке 3 раза в день в течение 10 дней; ретинола ацетат 33 000 МЕ по 1 капсуле 2 раза в день; ранферон — 12% по 5 мл 3 раза в день на протяжении



Рис. 4. Культура грибов *Candida albicans*, выделенная с очагов поражений на среде Сабуро

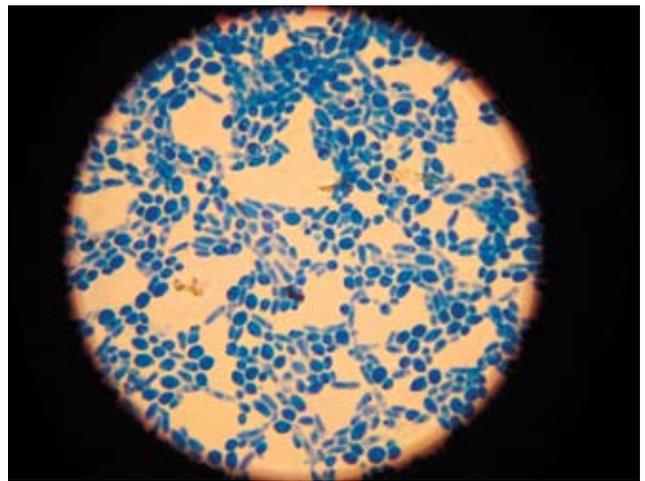


Рис. 5. Грибы *Candida albicans*, выделенные от больного, под световым микроскопом. Окраска метиленовым синим. $\times 280$

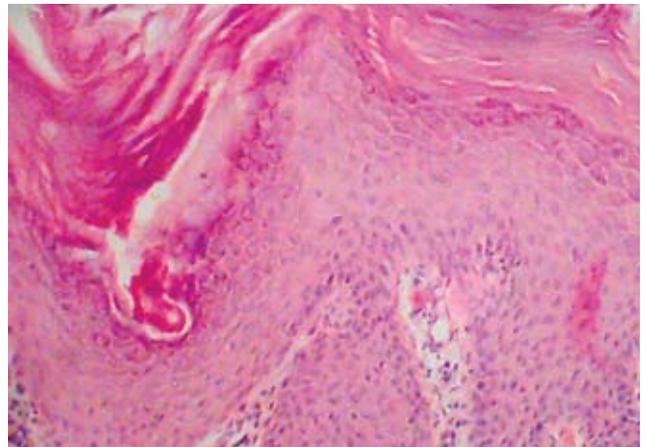


Рис. 6. Гиперкератоз, явления акантоза эпидермиса, папилломатоз, наличие воспалительного инфильтрата в дерме. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$

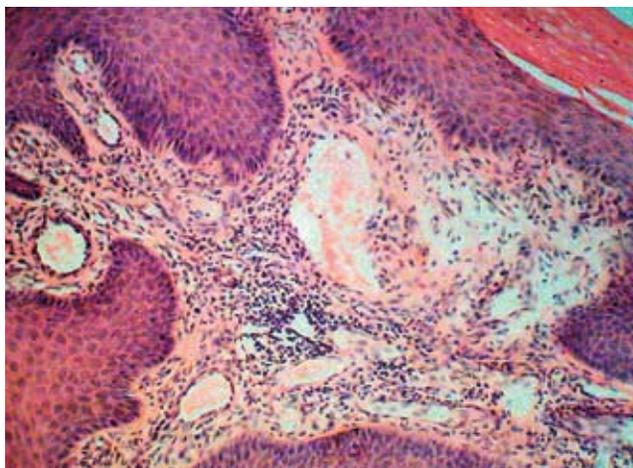


Рис. 7. Лимфогистоцитарная инфильтрация с примесью нейтрофилов в сосочковом и сетчатом слоях дермы, явления ангиоматоза. Окраска гематоксилином и эозином. x 400

13 дней; декарис по 50 мг на протяжении 3 дней, в дальнейшем повторный трехдневный курс в той же дозировке. Наружное лечение: 5% салициловая мазь + мазь эскадерм (в пропорции 1 столовая ложка и 1 чайная ложка). С 4-го дня лечения (рис. 8) роговые элементы на коже волосистой части головы, кистей и туловища начали отпадать. На местах отпавших элементов обнажалась гиперемизированная кожа (рис. 9). К 17-му дню лечения кожные покровы полностью очистились от роговых наслоений. На волосистой части головы сохранялась диффузная алопеция (рис. 10). Ребенок стал жизнерадостным, физически активным, с окружающими легко вступал в контакт. Появился аппетит. В результате проведенного лечения констатировано значительное клиническое улучшение. Спустя 5 мес. после курса терапии (рис. 11) больной вновь поступил на стационарное лечение. Кожные покровы при повторном осмотре оставались свободными от вы-



Рис. 8. Больной на 4-й день лечения



Рис. 10. Больной на 17-й день лечения. Кожные покровы очистились от роговых элементов. Сохраняются воспалительные гиперемизированные пятна в области лица и волосистой части головы



Рис. 9. Очищение кожных покровов от роговых наслоений на 10-й день лечения



Рис. 11. Больной спустя 5 мес. после стационарного лечения

сыпаний. На волосистой части головы сохранялась алопеция с неравномерным ростом волос. Веррукозные разрастания на кистях полностью регрессировали. Клинические и биохимические анализы крови патологии не выявили. Больному был проведен повторный курс общеукрепляющей терапии (витамины группы А и В, ранферон, ферментные препараты). Ребенок выписан в удовлетворительном состоянии под наблюдение дерматолога по месту жительства.

Особенность приведенного клинического наблюдения хронического гранулематозного кандидоза заключалась в поздней (на 6-м году жизни ребенка) диагностике заболевания, наличии множественных бляшек с роговыми наслоениями на коже головы, туловища и конечностей, поражении ногтевых пластинок на пальцах кистей.

Причиной возникновения кандидоза могли стать дефицит железа в организме и, возможно, иммунные нарушения, о чем свидетельствует наличие в анамнезе частых простудных заболеваний и фурункулеза.

Тяжесть течения болезни усугублялась наличием глистной инвазии. Несвоевременная диагностика привела к развитию диффузной алопеции, явившейся результатом рубцовой атрофии кожи, возникшей после разрешения гранулем. Получен хороший терапевтический эффект от проведения этиотропной терапии флуконазолом, общеукрепляющего и антигельминтного лечения.

Литература

1. Lilic D. New perspectives on the immunology of chronic mucocutaneous candidiasis // *Curr. Opin. Infect. Dis.* Apr 2002. Vol. 15, № 2. P. 143–7.
2. Lilic D, Gravenor I, Robson N, Lammas DA, Drysdale P, Calvert JE, et al. Deregulated production of protective cytokines in response to *Candida albicans* infection in patients with chronic mucocutaneous candidiasis // *Infect Immun.* Oct 2003. Vol. 71, № 10. P. 5690–9.
3. Ahonen P, Myllarniemi S., Sipila I., and Perheentupa J. Clinical variation of autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED) in a series of 68 patients. *N Engl J Med.* 1990.322:1829–36.
4. Harms M., Gilardi S., Levy P.M., and Saurat J.H. KID syndrome (keratitis, ichthyosis, and deafness) and chronic mucocutaneous candidiasis: case report and review of the literature. *Pediatr. Dermatol.* 1984.2:1–7.
5. Shiraishi S., Murakami S., and Miki Y. 1994. Oral fluconazole treatment of fungating candidiasis in the keratitis, ichthyosis and deafness (KID) syndrome. *Br. J Dermatol.* 131:904–906.
6. Kirkpatrick C.H., Rich R.R., Graw R.G., et al. Treatment of chronic mucocutaneous moniliasis by immunologic reconstitution. *Clin. Exp Immunol.* 1971.9:733–48.
7. Kirkpatrick CH. Chronic mucocutaneous candidiasis. *Pediatr Infect Dis J.* Feb 2001. Vol. 20, № 2. P. 197–206.
8. Blizzard, R.M., and Gibbs J.H. Candidiasis: studies pertaining to its association with endocrinopathies and pernicious anemia. *Pediatrics* 1968. P. 231–237.
9. Herrod HG. Chronic mucocutaneous candidiasis in childhood and complications of non-*Candida* infection: a report of the Pediatric Immunodeficiency Collaborative Study Group. *J Pediatr.* Mar 1990. Vol. 116. № 3. P. 377–82.
10. Ahonen P. Autoimmune polyendocrinopathy—candidosis—ectodermal dystrophy (APECED): autosomal recessive inheritance. *Clin Genet.* 1985. Vol. 27. P. 535–42.
11. Суворова К.Н. Детская дерматовенерология. Казань, 1996. С. 202–206.
12. Скрипкин Ю.К., Зверькова Ф.А., Шарапова Г.Я., Студницин А.А. Руководство по детской дерматовенерологии. Медицина, 1983. 477 С.

ИММУНОТРОПНАЯ ТЕРАПИЯ ДЕТЕЙ С ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ ПРЕПАРАТОМ ЛИКОПИД

М.Р. РАХМАТУЛИНА, И.А. НЕЧАЕВА

IMMUNOTROPIC THERAPY WITH LICOPID FOR CHILDREN SUFFERING FROM PAPILLOMA VIRAL INFECTION

M.R. RAKHMATULLINA, I.A. NECHAYEVA

Об авторах:

М.Р. Рахматулина — ведущий научный сотрудник ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий», г. Москва, к.м.н.
И.А. Нечаева — младший научный сотрудник ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий»

Представлены данные по изучению особенностей иммунного статуса у несовершеннолетних с папилломавирусной инфекцией (ПВИ) аногенитальной области. В периферической крови 30 детей с ПВИ аногенитальной области исследовано содержание цитокинов — интерферона- γ , фактора некроза опухолей α , интерлейкинов-4 и -12 в сравнении с группой здоровых детей, а также в динамике после лечения препаратом ликопид.

Ключевые слова: папилломавирусная инфекция, дети, лимфоциты, цитокины, ликопид.

The article describes problems related to studying particular features of the immune status in underage patients with anogenital papilloma viral infection. Cellular immunity factors and cytokines such as INF- γ , TNF- α , IL-4 and IL-12 were analyzed in the peripheral blood samples taken from 30 children with anogenital papilloma viral infection vs. healthy children as well as in the dynamics after using Licopid as an immunomodulating drug.

Key words: papilloma viral infection, children, cytokines, cellular immunity factors, Licopid.

Папилломавирусная инфекция (ПВИ) аногенитальной области занимает одну из ведущих позиций в структуре инфекций, передаваемых половым путем. В 2006 г. в России в возрастной популяции от 0 до 14 лет было зарегистрировано 0,8 случая заболевания аногенитальными бородавками на 100 000 детского населения, в популяции от 15 до 17 лет — 42,1 случая на 100 000 населения данной возрастной группы. В 2007 году показатели заболеваемости составили соответственно 0,6 и 33,7 на 100 000 детского населения.

Высокие показатели заболеваемости ПВИ имеют важное социальное значение, так как инфицирование вирусом папилломы человека (ВПЧ) лиц молодого репродуктивного возраста и несовершеннолетних может привести к значительному росту рака шейки матки в данной возрастной популяции. Согласно исследованиям ряда авторов при раке шейки матки в опухолевом материале ВПЧ обнаруживается в 90—98% наблюдений, при этом развитие злокачественного опухолевого процесса слизистой оболочки шейки матки у 5% женщин,

инфицированных ВПЧ 16-го и 18-го типов, происходит в течение 5—6 лет [1, 6].

В последнее время исследователями уделяется значительное внимание вопросам иммунопатогенеза ПВИ. Клинические наблюдения, а также данные экспериментальных исследований свидетельствуют о ведущей роли иммунной системы в контроле за возникновением, течением и исходом инфекционного процесса [1—3]. При заражении ВПЧ, как правило, развивается патологический процесс, клинические проявления которого обусловлены типом вируса, а степень их выраженности зависит от индивидуальных особенностей пациента. Одним из наиболее важных факторов риска возникновения ПВИ является неспособность иммунной системы распознавать ВПЧ как чужеродный агент. Возникновение иммунного ответа на вирусы, как и на другие антигены, связано с активацией иммунокомпетентных клеток с продукцией цитокинов, в первую очередь Th1. Известно, что цитокиновый ответ Т-хелперов CD4 1-го типа (Th1) характеризуется экспрессией интерферона- γ (INF- γ) и отсутствием экспрессии интерлейкина-4 (IL-4), являющихся необходимыми факторами элиминации вируса из организма человека. IL-12, продуцируемый макрофагами, дендритными клетками и В-лимфоцитами, повы-

шает активность Th1 и цитотоксических клеток и тем самым обеспечивает противовирусную защиту. Поэтому изучение цитокинового профиля у детей приобретает особую важность для прогнозирования исхода заболевания и своевременного предупреждения развития неопластических процессов на самом раннем этапе ПВИ. Другой цитокин — фактор некроза опухоли α (TNF- α), основными продуцентами которого являются макрофаги, моноциты и активированные Th1, способен лизировать клетки, инфицированные вирусом, и опухолевые клетки [1, 3].

Диссеминации ВПЧ в организме противостоят различные факторы естественной противовирусной защиты, среди которых наибольшее значение имеют: способность клеток многослойного плоского эпителия мочевого тракта к постоянному слущиванию и обновлению, продукция интерферонов, способность макрофагальной системы ограничивать процесс распространения вирусов в пределах зоны поражения, а также активность натуральных киллеров (NK-клеток) [3, 4]. Взаимодействие ВПЧ и организма человека при разных формах поражения гениталий происходит по-разному и при этом в процесс вовлекаются многие компоненты иммунитета на системном и локальном уровнях, включая пролиферацию и активацию иммунокомпетентных клеток, изменения экспрессии цитокинов [7—9]. В настоящее время в клинко-лабораторной практике большое значение придается исследованию субпопуляционного состава лимфоцитов, а также синтезируемых ими цитокинов [4, 7, 8].

Тактика лечения ПВИ у детей до сих пор не разработана. В современной научной литературе предлагается множество методов лечения клинических проявлений ПВИ (криодеструкция, электродеструкция, лазерная вапоризация, радиохирургическое удаление), но ни один из них не является оптимальным терапевтическим средством в силу высокого риска побочных эффектов и осложнений, технической сложности выполняемых манипуляций [5, 6].

Наряду с широким применением деструктивных методов предлагается использование в терапии ПВИ у детей иммуномодулирующих препаратов, действующих на механизмы противовирусной защиты, однако эффективность и безопасность их применения в детском возрасте малоизучены [5, 6].

Цель настоящего исследования: изучение в сыворотке крови несовершеннолетних с проявлениями ПВИ в аногенитальной области уровня цитокинов INF- γ , TNF- α , IL-4, IL-12 относительного содержания Т-популяции (CD3+), В-популяции (CD19+) лимфоцитов, Т-хелперной (CD3+CD4+) и Т-цитотоксической (CD3+CD8+) субпопуляций лимфоцитов, естественных клеток-киллеров (CD3-CD16+CD56+), Т-киллеров (CD3+CD16+CD56+), лимфоцитов, экс-

прессурующих HLA-DR-антиген (CD3+HLA-DR+), а также оценка влияния на данные показатели лечения препаратом ликолипид.

Материал и методы

В исследование были включены 60 несовершеннолетних: 30 детей (23 девочки и 7 мальчиков) с проявлениями ПВИ в аногенитальной области (основная группа) и 30 здоровых детей (контрольная группа). Возраст детей в анализируемых группах от 14 до 15 лет. Все пациенты основной группы имели клинические проявления ПВИ в виде аногенитальных бородавок. Диагноз подтверждался обнаружением ДНК ВПЧ методом полимеразной цепной реакции.

Методом иммуноферментного анализа в сыворотке крови детей с ПВИ был изучен уровень четырех цитокинов (INF- γ , TNF- α , IL-4 и IL-12). Оценку субпопуляционного состава лимфоцитов крови проводили методом лазерной проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител («Beckman Coulter») к дифференцировочным антигенам лимфоцитов.

Результаты исследования

При исследовании цитокинов в сыворотке крови в обеих группах детей IL-4, TNF- α и IL-12 определялись на уровне чувствительности тест-системы. У детей с ПВИ (основная группа) выявлен более низкий уровень INF- γ $7,3 \pm 3,3$ пг/мл по сравнению с группой здоровых детей ($17,1 \pm 2,4$ пг/мл, $p < 0,01$; см. рисунок).

Изучение субпопуляционного состава лимфоцитов показало, что у детей основной группы наблюдалось достоверное снижение уровня активированных Т-лимфоцитов (CD3+HLA-DR+) по сравнению с детьми контрольной группы II ($p < 0,05$), а также имелась тенденция к повышению уровня Т-киллеров (CD3+CD16+CD56+). Среднее значение относительного количества активированных Т-лимфоцитов (CD3+HLA-DR+) в основной группе составило $2,98 \pm 1,81\%$, в контрольной — $11,16 \pm 2,42\%$, Т-киллеров (CD3+CD16+CD56+) — $13,33 \pm 6,17$ и $4,32 \pm 1,78\%$ соответственно (табл. 1). Различий в относительном содержании В-клеток (CD3-CD19+), Т-клеток (CD3+CD19-), Т-хелперов (CD3+CD4+), Т-цитотоксических (CD3+CD8+) лимфоцитов, а также в величине иммунорегуляторного индекса Th/Tcyt, Т+В+NK и Th+Tcyt между основной контрольной и группой не выявлено.

С целью изучения эффективности применения препарата ликолипид у детей с ПВИ было проведено сравнительное исследование субпопуляционного состава лимфоцитов крови до лечения и через 3 нед. после лечения. Препарат назначался в дозе 2 мг в сутки в течение 6 дней, курс лечения повторяли трехкратно с 2-недельным перерывом.



Рис. 1. Результаты исследования уровня цитокинов в крови (в пг/мл) у детей с ПВИ

Таблица 1

Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови (в %)

Фенотип лимфоцитов	Основная группа (n=30)	Контрольная группа (n=30)
B-клетки (CD3-CD19+)	13,37±5,41	12,46±4,13
T-клетки (CD3+CD19-)	70,05±5,67	72,43±3,92
T-хелперы (CD3+CD4+)	42,67±5,79	46,37±4,38
T-цитотоксические (CD3+CD8+)	26,09±4,98	27,87±3,56
T-NK (CD3+CD16+CD56+)	13,33±6,17	4,32±1,78
T-активированные (CD3+HLA-DR+)	2,98±1,81	11,16±2,42*
NK-клетки (CD3+CD16+CD56-)	14,86±5,53	16,31±3,18
Th/Tcyt	1,72±0,52	1,7±0,4
T+B+NK	98,56±3,31	100,36±3,47
Th+Tcyt	68,74±5,56	69,58±4,17

Примечание. * $p < 0,05$. В остальных случаях различие недостоверно ($p > 0,05$).

В результате анализа полученных данных установлено некоторое стимулирующее влияние препарата ликолипид на активированные T-лимфоциты (CD3+HLA-DR+) и NK-клетки (CD3+CD16+CD56-). Данный аспект особенно важен в связи со снижением уровня активированных T-лимфоцитов (CD3+HLA-DR+) при данной патологии. Через 3 нед. после окончания лечения относительное количество активированных T-лимфоцитов (CD3+HLA-DR+) увеличилось с 2,98±1,81 до 6,99±2,92%, а NK-клеток (CD3+CD16+CD56-) — с 14,86±5,53 до 18,95±4,24%

(табл. 2). Изменений других показателей после применения препарата ликолипид не выявлено.

Таким образом, проведенными исследованиями установлено, что у подростков с ПВИ отсутствуют признаки активации иммунной системы.

Выявлено некоторое стимулирующее влияние препарата ликолипид на активированные T-лимфоциты (CD3+HLA-DR+) и NK-клетки (CD3+CD16+CD56-), что может обуславливать его положительный клинический эффект при лечении данной патологии.

Таблица 2

Динамика субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови после лечения препаратом ликопид
(в %, $n=30$; $p>0,05$)

Фенотип лимфоцитов	До лечения	После лечения
В-клетки (CD3–CD19+)	13,37+5,41	12,09+4,8
Т-клетки (CD3+CD19–)	70,05+5,67	68,35+4,69
Т-хелперы (CD3+CD4+)	42,67+5,79	41,52+5,03
Т-цитотоксические (CD3+CD8+)	26,09+4,98	25,81+3,92
Т-NK (CD3+CD16+CD56+)	13,33+6,17	13,71+6,04
Т-активированные (CD3+HLA–DR+)	2,98+1,81	6,99+2,92
NK-клетки (CD3+CD16+CD56–)	14,86+5,53	18,95+4,24
Th/Тсyt	1,72+0,52	1,62+0,35
Т+В+NK	98,56+3,31	98,05+3,74
Th+Тсyt	68,74+5,56	67,37+5,41

Литература

1. Киселев В.И., Киселев О.И. Этиологическая роль вируса папилломы человека в развитии рака шейки матки: генетические и патогенетические механизмы // Цитокины и воспаление. 2003. Т. 2, № 4. С. 31–38.
2. Богатова И.К., Сотникова Н.Ю., Соколова Е.А., Астраух Н.В. Особенности иммунного ответа у девочек-подростков с эктопией шейки матки // Репродуктивное здоровье детей и подростков. 2006. № 6. С. 31–35.
3. Долгушин И.И., Телешева Л.Ф., Савочкина А.Ю., Маркина О.В. Провоспалительные цитокины цервикального секрета и сыворотки крови у женщин с генитальной инфекцией // Журн. микробиол., 2004. № 4. С. 43–45.
4. Логинова Н.С. Повышение эффективности терапии папилломавирусной инфекции с помощью коррекции индивидуальных особенностей интерферонового статуса // Terra Medica. 2003. № 1. С. 8–12.
5. Асламазян Л.К., Мазитова Л.П. Современные особенности течения и лечения папилломавирусной инфекции у детей // Репродуктивное здоровье детей и подростков. 2006. № 6. С. 69–72.
6. Коколина В.Ф., Харьбина Е.И., Картелишев А.В. Эффективность комбинированного лазерного воздействия и противовирусной терапии в комплексном лечении аногенитальных кондилом у девочек // Росс. вестн. акушера-гинеколога. 2005. Т. 5. № 4. С. 49–51.
7. Cheng Y.W., Lee H., Shiao M.Y., Wu T.C., Huang T.T., Chang Y.H. Human papillomavirus type 16/18 up-regulates the expression of interleukin-6 and antiapoptotic Mcl-1 in non-small cell lung cancer // Clin Cancer Res. 2008. № 14. P. 4705–4712.
8. Kim K.Y., Blatt L., Taylor M.W. The effects of interferon on the expression of human papillomavirus oncogenes // J. Gen. Virol. 2000. № 81. P. 695–700.
9. Obalek S., Jablonska S. Anogenital warts in children // Clin. Dermatol. 1997. № 15. P. 369–376.

ВУЛЬОВОАГИНАЛЬНЫЙ КАНДИДОЗ — ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

А.В. ИГНАТОВСКИЙ, Е.В. СОКОЛОВСКИЙ

VULVOVAGINAL CANDIDOSIS: PRACTICAL ASPECTS

A. V. IGNATOVSKY, YE. V. SOKOLOVSKY

Об авторах:

А.В. Игнатовский — ассистент кафедры дерматовенерологии с клиникой Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, к.м.н.

Е.В. Соколовский — заведующий кафедрой дерматовенерологии с клиникой Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, д.м.н., профессор

Анализ амбулаторных карт показал, что предпочтение при лечении вульвовагинального кандидоза отдается препаратам флуконазола. В то же время повторное назначение флуконазола не повышает эффективность терапии, так как некоторые виды *Candida* нечувствительны к флуконазолу или эффект имеет дозозависимый характер, что может приводить к селекции устойчивых штаммов *Candida*. Назначение итраконазола (итразола) позволяет улучшить результаты терапии.

Ключевые слова: вульвовагинальный кандидоз, итраконазол, флуконазол.

A study of extracts from patient medical records revealed that fluconazole-based drugs are the preferred treatment for vulvovaginal candidosis. At the same time, multiple doses of fluconazole fail to improve the treatment efficacy because some *Candida* species are insensitive to fluconazole or the effect is dose-independent, which can result in the selection of resistant *Candida* strains. Prescription of Itraconazole (Itrazole) improves the treatment results.

Key words: vulvovaginal candidosis, Itraconazole, fluconazole

Урогенитальная кандидозная инфекция относится к числу наиболее актуальных проблем в группе заболеваний репродуктивного тракта, а кандидозный вульвовагинит (ВВК) является наиболее часто встречающейся инфекцией урогенитального тракта как в России, так и в мировой практике. Так, по данным ряда авторов [4, 5], на долю ВВК приходится до 20—30 % в структуре инфекций влагалища. При этом почти у каждой второй пациентки наблюдаются повторные эпизоды заболевания, у 15—20 % пациенток — число эпизодов ВВК достигает 4 и более в год, что принято относить к хроническим рецидивирующим формам заболевания. Вместе с тем грибы рода *Candida* входят в состав нормальной микрофлоры влагалища и обычно не вызывают заболевания [1,2]. Относительно кандиданосительства данные разных исследователей варьируют. По данным одних авторов, кандиданосительство обнаруживается примерно у 10—20 % женщин при отсутствии жалоб и клинических проявлений заболевания, дрожжеподобные грибы выявляются в низком титре (менее 103 КОЕ/мл), по сведениям других авторов, — у 3—5% обследованных, причем как у беременных, так и у небере-

менных. В США ежегодно регистрируется 13 млн случаев ВВК. Кандидоз не является инфекцией, передаваемой половым путем, но серьезно влияет на качество жизни пациенток.

Известно, что проявления заболевания возникают при нарушении иммунного и/или гормонального статуса больных. Кандидоз справедливо называют «болезнью больных».

Согласно имеющимся клиническим рекомендациям для лечения ВВК могут быть использованы как топические, так и системные формы антимикотиков. В связи с чем особый интерес представляет анализ выбора практическими врачами противокандидозных препаратов. Анализ амбулаторных карт, проведенный в различных лечебных учреждениях (женские консультации, молодежные консультации, кожно-венерологические диспансеры, частные медицинские центры) в трех федеральных округах Российской Федерации, показал, что в 96% случаев пациенткам при обращении к гинекологам или дерматовенерологам по поводу ВВК назначались препараты флуконазола в однократной дозировке 150 мг. При этом в анамнезе у подавляющего большинства этих женщин (78%), несмотря на лечение каждого рецидива флуконазолом, кандидозная инфекция имела рецидивирующий характер — от 4 до 8 рецидивов в течение года.

Для клинического применения нам был предоставлен препарат итразол (итраконазол), Вертекс, Санкт-Петербург.

Цель исследования: изучение эффективности и переносимости препарата итразол при лечении больных ВВК.

Материалы и методы

Группу наблюдения составили 47 женщин с диагнозом вульвовагинального кандидоза, однако полностью выполнили условия протокола 35 пациенток. У 21 больной диагностирована рецидивирующая кандидозная инфекция, у 14 пациенток — острая кандидозная инфекция.

Все женщины в предшествующих курсах лечения получали препараты флуконазола. До начала лечения все пациентки предъявляли жалобы на чувство зуда, жжения и выделения из влагалища.

Препарат итразол назначался по следующим схемам: 200 мг 2 раза в сутки (однодневная схема) — 10 пациенток с диагнозом острого течения ВВК; 200 мг 1 раз в сутки в течение 3 дней (трехдневная схема) — 15 пациенток, в том числе 5 — с острым течением инфекционного процесса и 10 — с рецидивирующим течением кандидоза (группа 2Б); женщинам последней подгруппы после достижения улучшения в результате лечения был рекомендован прием итразола в дозе 200 мг 1 раз в месяц в 1-й день каждого менструального цикла в течение 6 мес. в соответствии с инструкцией к препарату.

При назначении препарата каждой пациентке объяснялась необходимость приема препарата итразол после еды.

До начала лечения и через 4 нед. после окончания терапии всем пациенткам были выполнены следующие исследования:

- опрос и осмотр;
- биохимический анализ крови (аланин-, аспаратаминотрансферазы, общий билирубин, щелочная фосфатаза, глюкоза);
- микроскопическое исследование материала из влагалища (нативный препарат);
- исследование микробиоценоза влагалища;
- исследование соскобов из урогенитального тракта для выявления хламидий, мико- и уреаплазм методом ПЦР-RT;
- исследование сыворотки крови на сифилис; исследование на ВИЧ (после проведения собеседования);
- культуральное исследование отделяемого влагалища для выделения грибов рода *Candida* (у 16 пациенток).

Результаты исследования

Лечение закончили 35 женщин. Эффективность препарата (уменьшение чувства зуда, жжения, прекращение выделений из влагалища) женщины отмечали уже в 1—2-й день от начала лечения.

В процессе наблюдения не отмечено достоверных различий ($p=0,34$) в сроках разрешения клинических симптомов при назначении одно- и трехдневной схемы лечения пациенткам при остром течении процесса. При рецидивирующем течении кандидоза отмечался быстрый, выраженный и стойкий терапевтический эффект — рецидивы отсутствовали в течение последующих 4 нед. наблюдения, чего, как указывали пациентки, не было при предшествующих курсах лечения препаратами флуконазола. При проведении супрессивной терапии в течение последующих 6 мес. ни у одной из пациенток ($n=10$) не было отмечено клинического рецидива заболевания.

Все женщины хорошо переносили лечение. Биохимические анализы крови у наблюдавшихся пациенток сохранялись в пределах нормы на протяжении всего курса лечения. Из зарегистрированных побочных эффектов у 1 пациентки отмечалось незначительное чувство тошноты и неприятный привкус во рту при трехдневной схеме приема препарата.

Обсуждение

При исследовании вагинального отделяемого наиболее часто (около 90%) выделялся вид *Candida albicans*, реже — другие виды этого рода: *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondi* и грибы рода *Torulopsis* — *T. glabrata*. В настоящее время *T. glabrata* признаны составной частью нормального биоценоза влагалища. При выборе препаратов следует помнить, что *C. krusei* имеют генетическую устойчивость к флуконазолу, а в отношении *C. glabrata* эффект флуконазола носит дозозависимый характер, и только при его применении в дозе 400—800 мг в сутки возможна элиминация возбудителя [3]. Таким образом, можно предположить, что при рецидивирующем течении ВВК следует избегать повторного назначения препаратов флуконазола. Кроме того, следует учитывать, что согласно классификации вульвовагинального кандидоза (CDC, 2002 г.) кандидоз, вызванный не *Candida albicans*, относится к осложненным формам, а значит, при лечении таких пациенток, а также больных с рецидивирующим кандидозом, вызванным любым видом *Candida*, следует ограничивать назначение препаратов флуконазола и избегать применения антимикотиков в однократных дозировках. Среди факторов, которые могут негативно влиять на результаты лечения, также следует отметить безрецептурный отпуск флуконазола, в результате чего возможно самолечение. В то же время итраконазол, имеющий широкий спектр антимикотического действия, несмотря на хорошую комплаентность больных, практические врачи выбирают редко — в нашем наблюдении не более чем в 4% случаев.

Таким образом, при ведении пациенток с рецидивирующим течением ВВК наряду с выявлением экзо- и эндогенных провоцирующих факторов при выборе системной терапии следует учитывать анти-

микотический спектр препаратов, чтобы избежать селекции устойчивых штаммов и, как следствие, рецидивов инфекционного процесса, а также трансформации кандидоза в осложненную форму.

Выводы

1. Установлено, что применение препарата итраконазол (итразол) высокоэффективно при лечении больных вульвовагинальным кандидозом как при остром течении патологического процесса, так и при рецидивирующем.

2. При рецидивирующем течении вульвовагинального кандидоза применение итраконазола (итразола) с учетом его широкого антимикотического спектра предпочтительнее лечения другими антимикотиками, так как, вероятно, позволяет избежать селекции устойчивых к флуконазолу штаммов.

3. Супрессивная терапия итраконазолом (итразолом) позволяет избежать рецидивов кандидозной инфекции и полностью согласуется с Европейскими рекомендациями по ведению пациентов с ИППП.

4. Итразол хорошо переносится пациентками.

5. Побочные явления зарегистрированы у 1 пациентки, они носили легкий характер и не требовали прекращения лечения.

Литература

1. Прилепская В.Н., Байрамова Г.Р. Вульвовагинальный кандидоз — современные пути решения проблемы // Трудный пациент. 2006, № 9. С. 33—37.
2. Савичева А.М. Диагностика и лечение урогенитального кандидоза // Трудный пациент. 2006, № 9. С. 28—33.
3. Сравнительная оценка видового состава и чувствительности к антимикотикам грибов, выделенных из влагалища у женщин репродуктивного возраста // Современная микология в России. М., 2002. С. 328—329.

ИТРАЗОЛ® (Итраконазол)

ОПТИМАЛЬНЫЙ ВЫБОР ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВВК

- Максимально широкий спектр действия, активность в отношении резистентных возбудителей (*C. krusei*, *C. glabrata*)
- Возможность проведения терапии без предварительной культуральной диагностики
- Хорошая переносимость



ЗАО «Вертекс» Россия, 199026, Санкт-Петербург
В. О., 24-Линия, д. 27А, т./ф.: +7 (812) 329-3042



РЕГИСТРАЦИЯ

Горячая линия: 8-800-2000-305

РЕЗУЛЬТАТЫ ВСЕРОССИЙСКОГО МНОГОЦЕНТРОВОГО ОТКРЫТОГО НАБЛЮДАТЕЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ «ЭЛЛИПС» ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ЭФФЕКТИВНОСТИ, БЕЗОПАСНОСТИ И ПЕРЕНОСИМОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ АДВАНТАНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ЭКЗЕМОЙ

RESULTS OF AN ALL-RUSSIAN MULTICENTER OPEN-LABEL FOLLOW-UP STUDY «ELLIPSE» TO EVALUATE THE EFFICACY, SAFETY AND TOLERANCE OF TREATMENT WITH VARIOUS FORMS OF ADVANTAN IN ECZEMA PATIENTS

Полиэтиологичность и сложный патогенез экземы определяют необходимость комплексных мероприятий в терапии больных с обязательным включением топических глюкокортикостероидов (ТГКС). Фармакокинетические особенности и широкий ассортимент лекарственных форм метилпреднизолона ацепоната (МПА) отвечают современным требованиям, предъявляемым к ТГКС, и обеспечивают выраженное противовоспалительное действие на всех стадиях различных видов экзем. Результаты Всероссийского многоцентрового открытого наблюдательного исследования «ЭЛЛИПС» констатировали высокую эффективность и безопасность МПА у 800 больных экземой.

Ключевые слова: экзема, высокая заболеваемость, этиологии, патогенез, классификация, мультицентровое исследование, эпидемиологические особенности, метилпреднизолона ацепонат, индекс EASI, высокая эффективность, тестирование, безопасность.

The variety of causes and complexity of the pathogenesis of eczema stipulate the need for comprehensive procedures in the treatment of patients with the compulsory administration of topical glucocorticosteroids (TGCSs). The pharmacokinetic characteristics and wide range of drug forms of methylprednisolone aceponate (MPA) meet all current requirements set for TGCSs and produce an evident anti-inflammatory effect at all stages of different forms of eczema. The results of an all-Russian multicenter open-label follow-up study «ELLIPSE» demonstrated the high efficacy and safety of MPA in 800 eczema patients.

Key words: eczema, high morbidity, etiology, pathogenesis, classification, multicenter study, epidemiological characteristics, methylprednisolone aceponate, EASI, high efficacy, tests, safety.

Экзема — хроническое рецидивирующее заболевание с островоспалительными симптомами, обусловленными серозным воспалением эпидермиса и дермы. Термин «экзема» начали применять за два века до нашей эры, но для обозначения различных остро возникающих дерматозов. Лишь в первой половине XIX века R. Willan (1808) и другие учёные выделили экзему в отдельную нозологическую форму [5, 20].

Экзема относится к категории наиболее распространённых аллергодерматозов, характеризующихся мультифакториальностью генеза, вариабельностью клинического течения и рефрактерностью ко многим методам терапевтического воздействия [2, 3, 6]. По результатам эпидемиологических исследований, различные виды экземы являются самыми частыми заболеваниями в практике врача дерматовенеролога (от 9 до 35%), которые чаще регистрируются у женщин среднего возраста и у работников, имеющих профессиональный контакт

с пищевыми продуктами или химическими соединениями [12].

Заболеваемость экземой среди трудоспособного населения составляет от 2 до 10%, что не только значительно отражается на качестве жизни пациентов, но и существенно влияет на экономический потенциал семьи и общества [11, 14]. Так, в исследовании, проведённом в Швеции, было констатировано, что среди пациентов с истинной экземой кистей 8% больных сменили работу, 21% — находились в отпусках по причине наличия дерматоза, по крайней мере, 1 раз в год, а 81% — сообщили о различной степени ухудшения повседневной активности [17].

Этиологический и патогенетический аспекты развития экземы, освещённые в современных научных изданиях, носят весьма противоречивый характер. Так, до сих пор окончательно не определены механизмы развития иммунных отклонений в организме в целом и непосредственно в коже больных [1]. В то же время недостаточно изучены метаболические нарушения и их взаимосвязь с иммунной реактивностью, способствующие снижению активности факторов неспецифической защиты

при развитии различных форм экземы [15]. На сегодняшний день неоспорима роль в развитии этого дерматоза генетически обусловленных нарушений в центральной и вегетативной нервной системах. Снижение тонуса сосудистой стенки, повышение активности калликреин-кининовой системы, изменение уровня простагландинов и лейкотриенов поддерживают длительное воспаление и снижение пороговой чувствительности кожи к средовым факторам. Наиболее убедительным фактором, свидетельствующим о роли нервной системы в патогенезе экземы, является возможность её возникновения вследствие повреждения периферических нервов. В свете современных представлений о взаимосвязи иммунной системы с функциональным состоянием ЦНС, вегетососудистыми процессами следует признать, что патогенетический процесс формирования дерматоза включает комплекс не конкурирующих, а дополняющих друг друга нейроиммуноветодистонических, инфекционно-аллергических и метаболических механизмов. Таким образом, формирование предпосылок для возникновения экземы определяется наличием генетической предрасположенности и факторами, способствующими развитию реакций немедленно-замедленного типа [4, 6—8, 10, 13].

Клинические и патогенетические особенности экземы послужили основанием для классификации экземы в клинических вариантах. В Российской Федерации традиционно принято различать истинную (дисгидротическая, тилотическая), себорейную, микробную (нуммулярная, паратравматическая, микотическая, варикозная, экзема соска и околососкового кружка) и профессиональную разновидность экземы [3]. Однако по единой Международной классификации МКБ 10 выделяется только один вид экземы — монетовидная экзема (L 30.0). Формулировка других экзем в Международной классификации болезней кодируется под различными формами дерматитов — инфекционный дерматит (L 30.2), себорейный дерматит (L 21.8), эксфолиативный дерматит (L 26) или дерматит неуточнённый (L 30.9). В этой связи возникают определённые трудности в повседневной практике врача-дерматовенеролога при шифровании диагноза «экзема».

Прогноз при экземе благоприятный как для жизни, так и для реабилитации в процессе выздоровления, особенно при правильно используемых профилактических мероприятиях: устранении психоневрологических расстройств, снижении антигенной нагрузки, коррекции нарушений барьерных функций кожи. Рецидивы заболевания возможны при всех формах экземы. Прогноз значительно хуже, если экзема впервые развивается у пожилых лиц и людей, организм которых ослаблен хронической инфекцией и/или интоксикацией [19].

Учитывая полиэтиологичность дерматоза, лечение экземы, как правило, комплексное с применением психотропных, антигистаминных, десенсибилизирующих и иммунных препаратов. Неотъемлемой частью терапии экземы является наружное лечение, которое заключается прежде всего в использовании глюкокортикостероидных препаратов (ГКС) для местного применения. Топические ГКС оказывают иммунодепрессивное действие за счёт снижения продукции антител; предупреждают разрушение тучных клеток; оказывают действие, противоположное эффектам медиаторов аллергии, например уменьшают проницаемость сосудов, что приводит к противовоспалительному эффекту. Поэтому кортикостероиды уже более 60 лет являются приоритетными топическими препаратами в терапии экземы [9].

Современные требования к использованию местных препаратов диктуют выбор топических ГКС, обладающих высокой терапевтической потенцией, которые не содержат атомов различных галогенов. При относительной длительности терапии экземы (обычно не менее 14 дней) и постоянной локализации очагов поражения особое значение приобретает местная и системная безопасность применяемых ГКС. На российском фармацевтическом рынке уже более 10 лет первенство среди негалогенизированных ГКС из класса сильных препаратов занимает Адвантан (метилпреднизолона ацепонат — МПА), который представлен в широком ассортименте лекарственных форм: эмульсия, крем, мазь и жирная мазь [16].

Высокая липофильность позволяет Адвантану быстро проникать в очаг воспаления. Благодаря быстрой трансформации МПА в метилпреднизолона пропионат (МПП) с помощью лизосомальных ферментов обеспечивается прочная связь Адвантана с ГКС-рецепторами, которая обуславливает сильный и адекватный лечебный эффект при однократном применении в сутки данного топического глюкокортикостероида. Низкая абсорбционная способность (от 0,27% у эмульсии до 2,5% у жирной мази), а также быстрое и полное связывание с транспортными белками крови МПП и его инактивация в печени сводят риск развития побочных эффектов к минимуму [18].

Эффективность препарата Адвантан была подтверждена в многочисленных международных исследованиях при лечении алергодерматозов как у детей, так и взрослых [2, 19]. Однако на территории РФ масштабных исследований, отвечающих принципам доказательной медицины, по определению эффективности и безопасности Адвантана при экземах не проводилось, что и послужило поводом для организации настоящего научного поиска.

Целью настоящего открытого наблюдательного многоцентрового исследования «ЭЛЛИПС» являлась оценка эффективности, безопасности и переноси-

мости лечения больных экземой с использованием различных форм препарата Адвантан (0,1% метилпреднизолона ацепонат).

С целью систематизации отбора были разработаны следующие критерии включения и исключения в исследование пациентов.

Критерии включения в исследование:

1. Пациенты обоих полов в возрасте от 4 мес. до 70 лет.
2. Возможность проведения лечения пациента в амбулаторных условиях.
3. Комплаентность пациента.
4. Наличие одной из форм экземы: дисгидротическая, тилотическая, пруригинозная, нуммулярная, варикозная, себорейная.

Критерии исключения:

1. Значимые, по мнению врача-исследователя, сопутствующие заболевания/состояния, которые делают сложным/невозможным участие пациента в исследовании или делают сложной интерпретацию клинических данных, полученных на любом этапе исследования, но обязательно включая:

- психические заболевания;
 - тяжелые/хронически протекающие инфекционные и паразитарные заболевания;
 - хронические заболевания, требующие постоянного или эпизодического применения системных кортикостероидов, цитостатиков, иммуносупрессантов, антиметаболитов, антицитокининовых препаратов (диффузные заболевания соединительной ткани и т. п.);
 - анемия;
 - злокачественные новообразования на момент исследования и в течение 5 лет, предшествовавших его проведению;
 - индивидуальная непереносимость топических кортикостероидов, а также любых других препаратов и ингредиентов препаратов, применение которых предполагается программой исследования.
2. Использование следующих препаратов:
- другие топические кортикостероиды (гормональные препараты, применяемые местно);
 - ингибиторы кальциневрина;
 - другие местные противовоспалительные средства;
 - системные кортикостероиды;
 - иммуносупрессанты, цитостатики, антиметаболиты (метотрексат).

Участие в других клинических исследованиях или применение препарата, проходящего стадию изучения, в течение 6 мес., предшествовавших визиту 1, и на протяжении всего периода исследования.

Материал и методы

В результате скринингового отбора в 60 центрах 32 городов России в исследовании приняли участие 800 больных: 589 — с истинной экземой, в том числе

568 (мужчин — 297, женщин — 271) — с дисгидротической и 21 женщина с тилотической экземой; 182 больных с микробной экземой, в том числе 124 (мужчин — 63, женщин — 61) — с нуммулярной, 58 (мужчин — 28, женщин — 30) — с варикозной экземой, 29 пациентов (мужчин — 20, женщин — 9) с себорейной экземой (рис. 1).

Из представленных данных следует, что подавляющее большинство больных в результате отбора пациентов составили группу с дисгидротической экземой ($p < 0,001$). При этом половая принадлежность прослеживалась в группах больных тилотической экземой, которую составила 21 женщина, и с себорейной экземой, достоверно чаще регистрировавшейся у мужчин ($p < 0,05$). При остальных формах экземы соотношение мужчин и женщин было равнозначным.

Средний возраст всех больных экземой составил $40,9 \pm 16,53$ года. При некоторых формах дерматоза были зафиксированы различия возрастных характеристик (рис. 2).

При анализе полученных данных установлено, что микробная нуммулярная экзема чаще регистрировалась в молодом возрасте (средний возраст $26,7 \pm 8,5$ года; $p < 0,05$), а тилотическая и варикозная экземы чаще встречались в старшем возрасте (средний возраст $49,4 \pm 8,3$ и $49,5 \pm 12,1$ года соответственно). Необходимо отметить, что средний возраст пациентов с себорейной экземой составил $33 \pm 12,1$ года, это период, когда наблюдается пик активности половых гормонов.

В зависимости от локализации высыпаний и стадии воспалительной реакции кожи всем больным в качестве наружного терапевтического средства

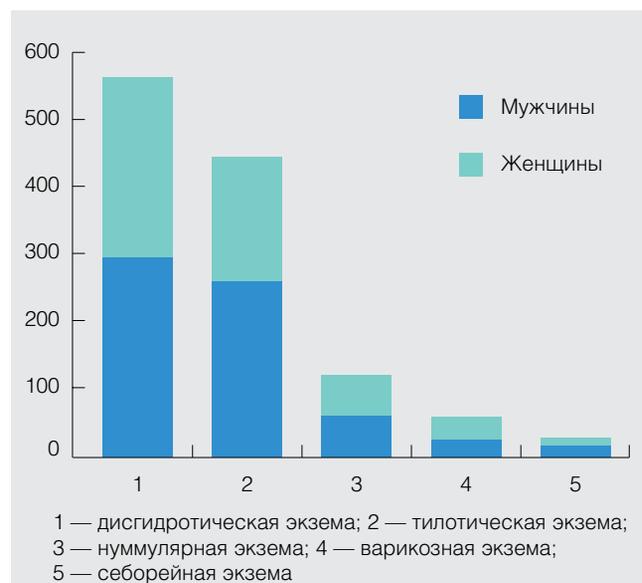


Рис. 1. Соотношение мужчин и женщин при различных формах экземы

были назначены различные формы препарата Адвантан 1 раз в день в течение 14—30 дней.

Из рис. 3 следует, что в большинстве случаев врачи-дерматовенерологи назначали больным экземой крем и мазь Адвантан (в 31,1 и 36% случаев соответственно), в 2 раза реже применялась эмульсия и жирная мазь. Необходимо отметить, что соотношение больных с острыми ($n=539$) и хроническими проявлениями дерматоза ($n=261$) составляло 2:1.

Помимо наружной терапии допускалось использование системной неспецифической терапии

с применением антигистаминных и десенсибилизирующих препаратов.

Последовательность обследования больных соответствовала общепринятой клинической практике (табл. 1).

Оценку тяжести течения экземы и эффективности терапии проводили с использованием дерматологического индекса EASI (Eczema Area and Severity Index), позволяющего оценить распространённость и тяжесть течения дерматоза.

При выборе статистических процедур и анализе достоверности полученных результатов

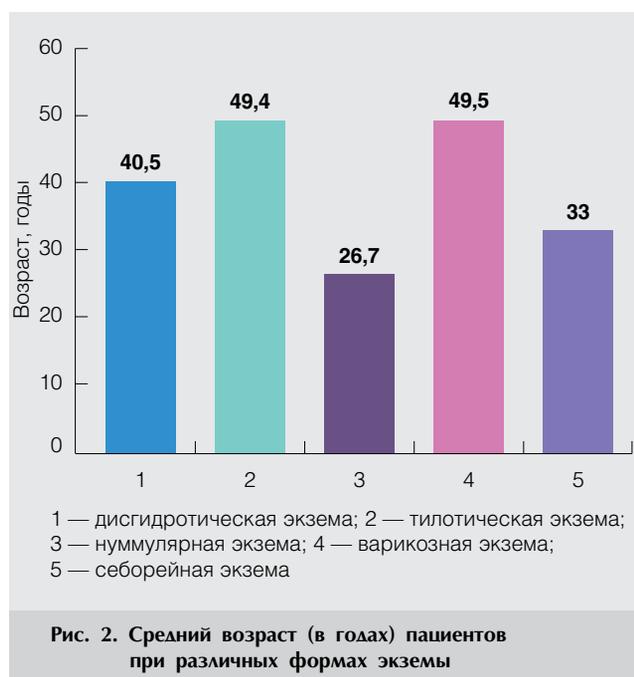


Рис. 2. Средний возраст (в годах) пациентов при различных формах экземы

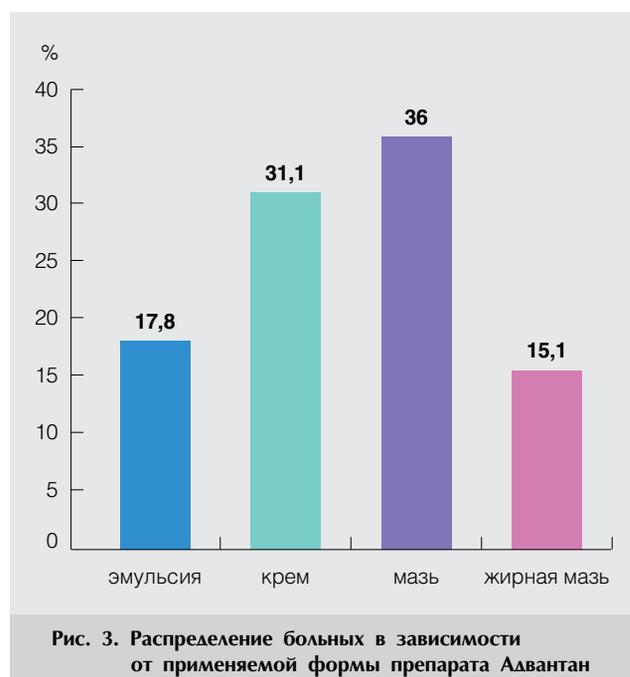


Рис. 3. Распределение больных в зависимости от применяемой формы препарата Адвантан

Таблица 1

Последовательность обследования больных

	ВИЗИТ			
	1	2	3	4
День терапии	1	4—7	12—14	21—30
Получение формы информированного согласия	X			
Анализ демографических данных	X			
Анализ сопутствующих заболеваний	X	X	X	X
Терапия основного заболевания	X	X	X	X
Оценка площади поражения	X	X	X	X
Оценка индекса EASI	X	X	X	X
ГОТЭ (глобальная оценка терапевтического эффекта)				X
Оценка нежелательных явлений		X	X	X
Тестирование пациентов и врачей об удовлетворённости терапией				X

учитывали методологические требования Международного конгресса по гармонизации GCP «Статистические принципы для клинических исследований».

Все вычисления проводили с помощью математических пакетов SPSS 17.00.

Результаты исследования

При клиническом наблюдении за больными различными формами экземы в течение 14—30 дней была достоверно установлена высокая эффективность терапии с использованием препарата Адвантан.

В группе больных с истинной экземой наблюдалась выраженная динамика клинических проявлений экземы в соответствии с регистрацией индекса EASI (табл. 2).

Результаты клинических наблюдений показали, что использование каждой из форм препарата Адвантан способствует быстрому купированию воспалительных проявлений на коже. При дисгидротической экземе ($n=568$) уже через неделю от начала лечения средние значения индекса EASI снизились на 40%, а уменьшение площади экзематозных очагов в среднем составило 18,7%. К концу наблюдательного периода в этой группе было зарегистрировано уменьшение выраженности клинических симпто-

мов на 92,9% ($p<0,001$) и площади очагов на 73,6% ($p<0,05$). У пациенток с тилотической экземой ($n=21$) разрешение патологического процесса происходило с несколько меньшей скоростью: средние значения индекса EASI через неделю снизились на 34,5%, через 20 дней — на 65,2% и к концу терапии — на 90,9% при уменьшении площади очагов на 41%.

При различных видах микробной экземы в ходе исследования также наблюдалась динамика как индекса EASI, так и величины очагов пораженной кожи (табл. 3).

Как видно из табл. 3, наилучшие результаты терапии с использованием всех форм Адвантана были достигнуты у пациентов с микробной нуммулярной экземой ($n=124$). Уменьшение признаков воспалительной реакции регистрировалось уже на первой неделе лечения. Средние значения EASI через 7 дней терапии снизились на 41,4%, через 20 дней — на 67,6%, через месяц — на 94,5%. Площадь поражения кожи к концу курса терапии уменьшилась на 80,9%. В результате лечения больных варикозной экземой, несмотря на достоверное снижение средних значений индекса EASI через 7 дней на 35,8%, через 20 дней на 58,2% и через 30 дней на 85,9%, уменьшение площади поражения зафиксировано лишь у 35,4% пациентов, что обусловлено стойкими

Таблица 2

Динамика клинических проявлений истинной экземы в результате лечения с использованием препарата Адвантан

№ визита	Дисгидротическая экзема		Тилотическая экзема	
	площадь поражения, см ²	индекс EASI, баллы	площадь поражения, см ²	индекс EASI, баллы
Визит 1	3,79±0,13	7,44±0,38	2,12±0,26	4,6±1,07
Визит 2	3,08±0,11	4,48±0,23	1,94±0,23	3,01±0,93
Визит 3	2,26±0,09	2,49±0,16	1,67±0,33	1,6±0,82
Визит 4	1,0±1,47	0,53±0,1	1,25±0,46	0,42±0,2

Таблица 3

Динамика клинических проявлений микробной экземы в результате лечения с использованием препарата Адвантан

№ визита	Нуммулярная экзема		Варикозная экзема	
	площадь поражения, см ²	индекс EASI, баллы	площадь поражения, см ²	индекс EASI, баллы
Визит 1	4,49±0,3	9,27±0,76	2,85±0,17	8,49±0,17
Визит 2	3,62±0,23	5,43±0,53	2,59±0,15	5,45±0,51
Визит 3	2,21±0,2	3,01±0,42	2,24±0,15	3,55±0,34
Визит 4	0,86±1,32	0,51±0,94	1,84±0,85	1,2±0,89

дистрофическими изменениями кожи нижних конечностей у этой группы больных.

В группе себорейной экземы были получены аналогичные результаты у больных как с тилотической, так и с варикозной экземой.

При динамическом наблюдении больных себорейной экземой констатировано снижение средних значений индекса EASI через неделю на 39,4%, через 20 дней на 55,5% и через месяц на 70,7%, что можно интерпретировать как улучшение. При этом площадь очагов поражения сократилась на 40,8% (табл. 4).

При глобальной оценке терапевтического эффекта (рис. 4) после окончания лечения было зарегистрировано полное разрешение кожного процесса более чем у половины пациентов (55,8%, $n=446$), значительное улучшение (уменьшение клинических симптомов на 75% и более) — у 42,6% ($n=341$), улучшение (уменьшение клинических симптомов на 50—75%) — только у 1,6% ($n=13$) больных. Отсутствие эффекта от проводимого лечения не отмечено. Таким образом, у абсолютного большинства обследуемых пациентов (98,4%) была констатирована высокая эффективность терапии различных видов экземы с использованием препарата Адвантан.

В результате тестирования врачей-исследователей и больных в соответствии с 5-балльной шкалой средний балл переносимости лечения составил $4,53 \pm 0,02$ и $4,56 \pm 0,02$ соответственно. При опросе пациентов об удобстве использования различных форм Адвантана также была дана высокая оценка — $4,53 \pm 0,02$ балла, что свидетельствует об одинаково позитивном восприятии качества терапии современным топическим глюкокортикостероидом Адвантаном и специалистами, и больными.

Выводы

1. Определены основные эпидемиологические характеристики экземы на территории Российской Федерации:

- основную долю пациентов с экземой на приеме врача-дерматовенеролога составляют больные с истинной дисгидротической экземой;
- половые различия достоверно установлены

в группах больных себорейной экземой (большинство мужчин) и тилотической экземой (только женщины);

- возрастные особенности выявлены у больных с нуммулярной экземой, среди которых преобладали лица молодого возраста, и у больных варикозной и тилотической экземой, которая чаще диагностировалась у пациентов старшего возраста.

2. Результаты Всероссийского многоцентрового открытого наблюдательного исследования «ЭЛЛИПС» подтвердили высокую эффективность каждой из форм Адвантана при терапии больных различными видами экземы, что сопровождалось полным разрешением воспалительной реакции кожи у 55,7% больных и снижением индекса EASI на 75% и более — у 42,6%.

3. Тестирование пациентов и врачей по окончании курса терапии позволило констатировать одинаково хорошую оценку эффективности, безопасности, переносимости и удобства использования Адвантана.



Рис. 4. Глобальная оценка терапевтического эффекта у больных экземой, получавших лечение препаратом Адвантан

Таблица 4

Динамика клинических проявлений себорейной экземы в результате лечения с использованием препарата Адвантан

№ визита	Себорейная экзема	
	площадь поражения, см ²	индекс EASI, баллы
Визит 1	$3,04 \pm 0,25$	$2,36 \pm 0,28$
Визит 2	$2,41 \pm 0,22$	$1,43 \pm 0,24$
Визит 3	$2,35 \pm 0,3$	$1,05 \pm 0,22$
Визит 4	$1,8 \pm 1,23$	$0,69 \pm 0,7$

Литература

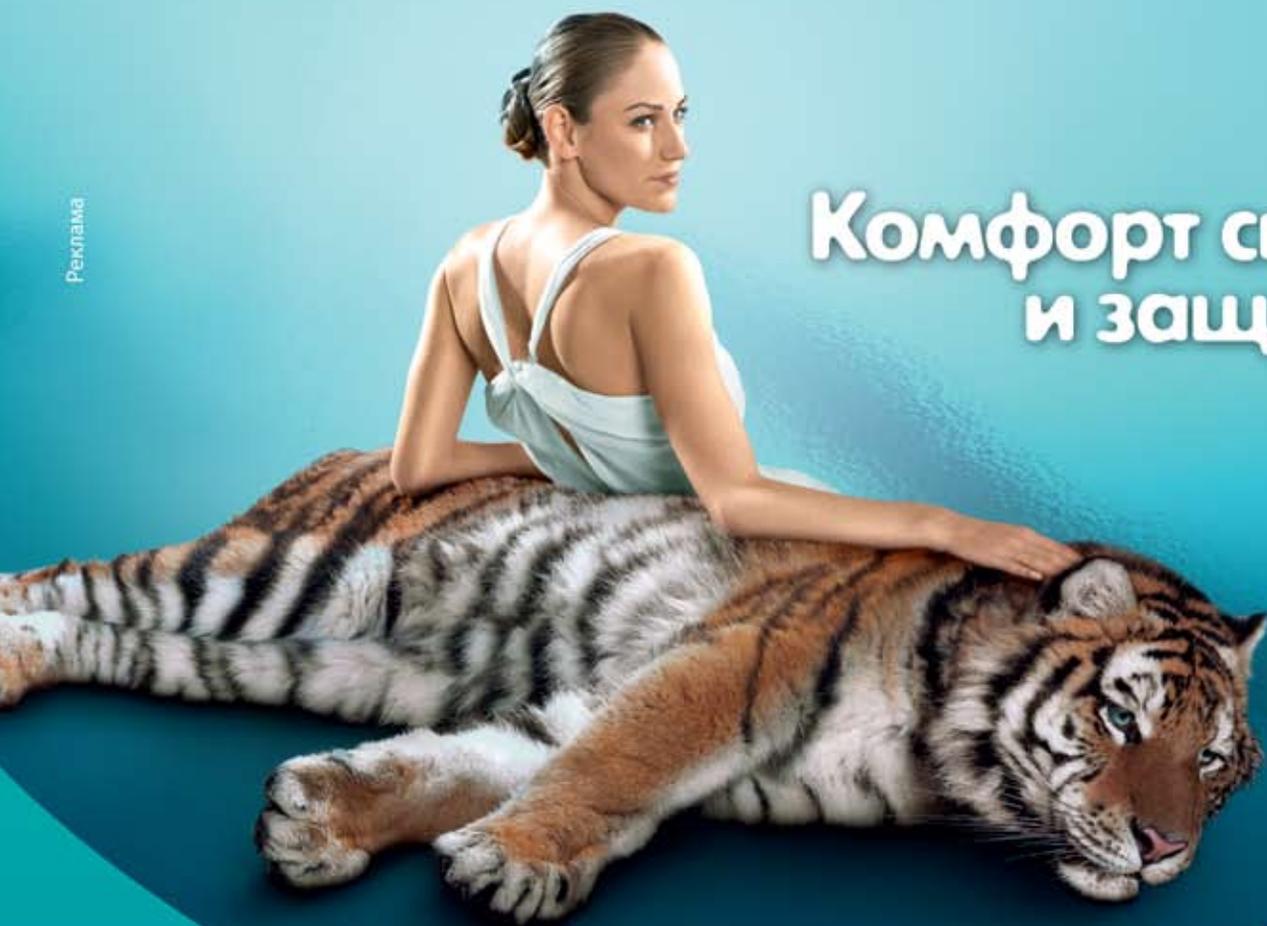
1. Барабанов А.Л. Некоторые вопросы патогенеза экземы / А.Л. Барабанов, В. Г. Панкратов // Медицинская панорама. 2004. № 6. С. 5—8.
2. Белоусова Т.А. Аллергодерматозы — болезни современной цивилизации // РМЖ. — 2003. Т. 11, № 27. С. 1538—1542.
3. Кожные и венерические болезни. // Справочник. Под ред. О.Л. Иванова. М: Медицина. 1997 С. 315—320.
4. Кошелева И.В., Куликов А.Г. Эффективность комплексного лечения больных экземой при использовании различных методик озонотерапии. // Вопр. курортол., физиотер. и ЛФК. 2001. Т. 5. С. 30—32.
5. Оспанова С.А. Совершенствование терапии экземы с учетом эндогенной интоксикации. Автореф. дисс. канд. мед. наук. Алматы, 2008.
6. Потекаев Н.С. Экзема: ремарки к современным представлениям // Клинич. дерматовенерол. 2009. Т. 1. С. 67—73.
7. Солошенко Э.Н. Экзема: современные представления об этиопатогенезе и методах рациональной терапии // Международ. мед. журн. 1997. Т. 3, № 3. С. 24—29.
8. Турчина И.П. Комплексное лечение больных экземой и нейродермитом с локализацией на нижних конечностях // Дерматовенерол., косметол., сексопатол. 2002. Т. 1, № 2 (5). С. 98—101.
9. Умеров Ж. Мнение специалиста. Экзема. // Фармац. вестн., 2008. № 31. С. 19—20.
10. Цветкова Г.М. Экзематозная реакция кожи. // В кн.: Патология кожи. Под ред. В.Н. Мордовцева, Г.М. Цветковой. М. 1993. Т. 1. С. 296—300.
11. Cvetkovski R.S., Zachariae R., Jensen H., Olsen J., Johansen J.D., Agner T. Quality of life and depression in a population of occupational hand eczemapatients // Contact Dermatitis. 2006. Vol. 54. P. 106—111.
12. Elston D.M., Ahmed DDF, Watsky K.L., Schwarzenberger K. Hand dermatitis // J. Am. Acad. Dermatol. 2002. Vol. 47. P. 291—299.
13. Fitzpatrick's. Dermatology in General Medicine. 6th ed. 2002. Vol. 1. P. 1164—1209.
14. Fowler JF, Ghosh A, Sung J, Emani S, Chang J, Den E, Thorn D, Person J, Duh MS. Impact of chronic hand dermatitis on quality of life, work productivity, activity impairment and medical costs // J. Am. Acad. Dermatol. 2006. Vol. 54. P. 448—57.
15. Homey B., Steinhoff M., Ruzicka T., Leung D.Y. Cytokines and chemokines orchestrate atopic skin inflammation // J. Allergy. Clin. Immunol. 2006. Vol. 118. P. 178—189.
16. Management of chronic hand eczema / T.L. Diepgen [et al.] // Contact. Dermatitis. 2007. Vol. 57. P. 203—210.
17. Meding B. Epidemiology of hand eczema in an industrial city // Acta Derm. Venereol. Suppl. 1990. Vol. 153. P. 1—43.
18. Meffert H., Schuppler J. Methylprednisolone aceponate lotion for treatment of acute eczema // Zeitschrift für Hautkrankheiten. 1999. Vol. 74. P. 88—94.
19. Ruzicka T. Hand eczema Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München vorgelegt von Oliver Philipp Guttman München 2008. P. 16—21.
20. Willan R. On Cutaneous Diseases. London, England: Johnson; 1808.

В многоцентровом наблюдательном исследовании принимали участие

Перламутров Ю.Н. — заведующий кафедрой дерматовенерологии Московского государственного медико-стоматологического университета, д.м.н., профессор
Ольховская К.Б. — доцент кафедры дерматовенерологии Московского государственного медико-стоматологического университета, к.м.н.
Самцов А.В. — начальник кафедры кожно-венерических болезней Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, д.м.н., профессор
Сухарев А.В. — заместитель начальника кафедры кожно-венерических болезней по клинической работе Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург,
Бондарь О.И. — начальник отделения кожно-венерических болезней Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург,
Молочков А.В. — главный врач Московского областного научно-исследовательского клинического института им.М.Ф. Владимирского, д.м.н., профессор
Монахов С.А. — Московская Медицинская академия им. И.М. Сеченова, к.м.н.
Белоусова Т.А. — доцент Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова, к.м.н.
Гладько В.В. — главный дерматолог Главного военного клинического госпиталя им. Академика Н.Н. Бурденко, д.м.н., профессор
Кениксфест Ю.В. — Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии, г. Екатеринбург, к.м.н.
Чеботарев В.В. — заведующий кафедрой дерматовенерологии и косметологии Ставропольской государственной медицинской академии, д.м.н., профессор
Есенин А.А. — доцент кафедры кожных и венерических заболеваний Ярославской государственной медицинской академии, к.м.н.
Клеменова И.А. — заместитель директора по научной работе Нижегородского научно-исследовательского кожно-венерологического института, д.м.н., профессор
Тарасова Е.К. — доцент кафедры внутренних болезней Белгородский государственный университет, к.м.н.
Саблинский М.П. — заведующий отделением поликлиники Гознак, г. Москва, к.м.н.
Волкова Е.Н. — заведующая кафедрой дерматовенерологии Московский факультет, Российского государственного медицинского университета, д.м.н., профессор
Бакулев А.Л. — профессор кафедры кожных и венерических болезней Саратовский государственный медицинский университет, д.м.н.
Хисматуллина З.Р. — заведующая кафедрой дерматовенерологии Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, д.м.н., профессор
Миннуллин И.К. — главный врач РКВД, г. Казань
Юцковский А.Д., заведующий кафедрой дерматовенерологии Владивостокского государственного медицинского университета, д.м.н., профессор

- Якубович А.И.* — заведующий кафедрой дерматовенерологии Иркутского государственного медицинского университета, д.м.н., профессор
Катцына Г.И. — главный врач ОКВД, г. Красноярск
Охлопков В.А. — заведующий кафедрой дерматовенерологии Омской государственной медицинской академии, д.м.н., профессор
Стрига Л.В. — заместитель главного врача ОКВД, г. Кемерово
Музыченко Ю.С. — заместитель главного врача ККВД, г. Хабаровск
Николашина О.Е. — заведующая поликлиническим отделением КВД, г. Пенза
Золотнова В.Ю. — заведующая поликлиническим отделением КВД, г. Ульяновск
Дворянкова Е.В. — главный врач КВД № 15, г. Москва
Исламов В.Г. — главный дерматолог госпиталя МВД, г. Москва, к.м.н.
Клюева О.Р. — госпиталь УВД г. Москва, полковник
Шамина Г.Е. — главный врач КВД, г. Королев
Шарышева О.В. — главный врач ОКВД, г. Пермь
Боаги Е.В. — врач-дерматолог ОКВД, г. Челябинск
Федоровская Е.Е. — врач-дерматовенеролог ОКВД, г. Тюмень
Дендюкоова В.П. — врач-дерматовенеролог ОКВД, г. Тюмень
Темников В.Е. — главный врач ОКВД, г. Ростов-на Дону
Немчианинова О.Б. — профессор кафедры дерматовенерологии Новосибирский государственный медицинский университет
Мурашкин Н.Н. — заведующий детским отделением ККВД, г. Краснодар
Вострикова О.В. — заведующая отделением ОКВД, г. Волгоград
Думченко В.В. — главный врач ОКВД, г. Астрахань
Гебель В.И. — заместитель главного врача ОКВД, г. Владимир
Тушинова И.А. — заведующая поликлиникой ОКВД, г. Воронеж, к.м.н.
Бугорский В.Н. — заместитель главного врача ОКВД, г. Тула
Письменная И.Н. — заместитель главного врача ОКВД, г. Брянск
Шакуров И.Г. — главный врач ОКВД, г. Самара, д.м.н., профессор
Камчаткина Ю.В. — главный врач КВД № 3, г. Санкт-Петербург
Кудряшов Ю.М. — главный врач КВД № 1, г. Санкт-Петербург
Лобзев Н.В. — главный врач КВД № 7, г. Санкт-Петербург
Кольчик Н.С. — главный врач КВД № 2, г. Санкт-Петербург
Соколовская А.В. — главный врач КВД № 6, г. Санкт-Петербург
Гнатюк И.И. — главный врач КВД № 12, г. Санкт-Петербург
Салахутдинова Е.А. — заведующая отделением КВД № 8, г. Санкт-Петербург
Гутка В.О. — главный врач КВД № 10, г. Санкт-Петербург
Котков В.В. — главный врач КВД № 11, г. Санкт-Петербург
Стримовская Н.К. — главный врач КВД № 9, г. Санкт-Петербург
Дудко В.Ю. — заместитель главного врача ГорКВД, г. Санкт-Петербург
Супрунович Н.Н. — врач-дерматовенеролог клиники «Медведь», г. Санкт-Петербург
Ерофеева И.М. — главный врач КВД № 5, г. Москва
Медедева О.В. — главный врач КВД № 6, г. Москва
Сосудина Е.И. — главный врач КВД № 12, г. Москва
Рассовская Н.Е. — главный врач КВД № 13, г. Москва
Пивень Н.П. — главный врач КВД № 14, г. Москва
Сергеева М.В. — главный врач КВД № 20, г. Москва
Бдайцев Р.В. — главный врач, КВД № 27, г. Москва
Махалова Е.Ф. — заведующая центром детских дерматозов, г. Тольятти, к.м.н.

Комфорт силы и защиты



Адвантан®

0,1 % метилпреднизолона ацепонат



Надёжность и безопасность в лечении экзем различной степени тяжести

-  Помогает избавиться от зуда и воспаления при экземах на различных участках кожи
-  Представлен в 4-х формах для лечения различных вариантов экзем
-  Применяется всего 1 раз в сутки

 **INTENDIS**
Intendis is part of Bayer HealthCare

www.intendis.ru

III ВСЕРОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГОВ

С 27 по 30 октября 2009 года в Республике Татарстан (г. Казань) состоялся III Всероссийский конгресс врачей-дерматовенерологов, организаторами которого выступили: Общероссийская общественная организация «Российское общество дерматовенерологов», Государственный научный центр дерматовенерологии, Министерство здравоохранения Республики Татарстан, Республиканский клинический кожно-венерологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Татарстан. В Казань приехали 672 делегата, представляющие более 60 субъектов Российской Федерации и свыше 150 медицинских учреждений.

Научная программа Конгресса включала пленарный доклад, 16 секционных заседаний (из них 7 посвящены дерматологии, 6 — инфекциям, передаваемым половым путем, 2 — вопросам эпидемиологии и организации здравоохранения, 1 — косметологии), 6 сателлитных симпозиумов, 2 «круглых стола», 4 обучающих семинара и специальные мероприятия: заседания Российского общества дерматовенерологов, Общества больных псориазом и совещание профильной комиссии Экспертного совета в сфере здравоохранения по дерматовенерологии.

К дням проведения Конгресса было приурочено торжественное открытие мемориальной доски памяти выдающегося профессора-дерматовенеролога Александра Генриховича Ге, которое состоялось 27 октября 2009 г. в здании Республиканского клинического кожно-венерологического диспансера Министерства здравоохранения Республики Татарстан. На мероприятии с приветственным словом выступили: первый заместитель министра здравоохранения Республики Татарстан А.Ю. Вафин; главный внештатный специалист-дерматовенеролог Минздравсоцразвития России, директор Государственного научного центра дерматовенерологии, академик РАМН А.А. Кубанова; ректор Казанского государственного медицинского университета профессор А.С. Созинов; главный врач Республиканского клинического кожно-венерологического диспансера, главный внештатный специалист-дерматовенеролог Министерства здравоохранения Республики Татарстан И.К. Минуллин. Приглашенные официальные лица побывали в кабинете профессора А.Г. Ге, где хранятся его личные вещи и предметы того времени.

Церемония открытия Конгресса состоялась 27 октября в торжественной обстановке в Бальном зале комплекса «Корстон». На церемонии открытия присутствовали министр здравоохранения Республики Татарстан Айрат Закиевич Фаррахов, Председатель Комитета по социальной политике Госсовета Республики Татарстан Светлана Михайловна

Захарова и др. официальные лица. Президент Российского общества дерматовенерологов А.А. Кубанова от Общероссийской общественной организации «Российское общество дерматовенерологов» наградила медалями «За заслуги в области дерматовенерологии» главного врача Самарского областного кожно-венерологического диспансера, профессора И.Г. Шакурова, главного врача Иркутского



Торжественное открытие III Всероссийского конгресса дерматовенерологов



Министр здравоохранения Республики Татарстан А.З. Фаррахов



Делегаты III Конгресса в зале заседаний

областного кожно-венерологического диспансера Н.А. Долженицину, заведующего кафедрой дерматовенерологии Новосибирского государственного медицинского университета, профессора С.Г. Лыкову, заведующего поликлиническим отделением кожно-венерологического диспансера Кабардино-Балкарской Республики Б.М. Сасикова.

Реализация научной программы Конгресса началась 28 октября 2009 года с пленарного заседания, где с докладом «Нормативно-правовое регулирование государственной политики в сфере здравоохранения в вопросах организации оказания специализированной помощи населению Российской Федерации» выступила академик А.А. Кубанова. В пленарном докладе были изложены основные направления развития специализированной дерматовенерологической помощи населению Российской Федерации, определенные Концепцией долгосрочного социально-экономического развития Российской Федерации на период до 2020 года. Одним из таких направлений развития является информатизация системы здравоохранения, целью которой Президентом Российской Федерации обозначено повышение качества медицинского обслуживания и социальной защиты населения на основе развития и использования информационных и телекоммуникационных технологий. В докладе А.А. Кубановой были приведены данные по крайне низкой обеспеченности медицинских учреждений компьютерами, недостаточному использованию медицинских информационных систем в деятельности ЛПУ, электронного документооборота, телемедицинских технологий. Показана необходимость перехода специализированных медицинских учреждений дерматовенерологического профиля к работе с современными информационными технологиями, позволяющими создавать системы персонализированного учета оказания медицинской помощи, оказывать информационную поддержку процесса оказания специализированной, в том числе высокотехноло-

гичной, медицинской помощи, в том числе на основе обеспечения доступа медицинских работников к нормативно-справочной информации, необходимой для профессиональной деятельности и др.

На секционном заседании, посвященном вопросам эпидемиологии и организации оказания специализированной медицинской помощи, А.А. Мартыновым (Москва), М.А. Уфимцевой (Екатеринбург) были освещены современные механизмы и организационные аспекты управления качеством специализированной медицинской помощи больным дерматозами и инфекциями, передаваемыми половым путем; вопросы нормативно-правового регулирования последипломного образования врачей-специалистов: дерматовенерологов, косметологов, клинических микологов Э.А. Баткаевым (Москва); И.К. Минуллин (Казань) поделился опытом организации предварительных и периодических медицинских осмотров на инфекции, передаваемые половым путем, и заразные кожные болезни в Республике Татарстан; И.О. Смирнова рассказала о работе психосоматического отделения в структуре городского кожно-венерологического диспансера Санкт-Петербурга.

Особый интерес специалистов вызвал доклад А.В. Самцова, И.Э. Белоусовой (Санкт-Петербург), посвященный вопросам клиники, диагностики и тактики ведения больных лимфомой кожи в условиях дерматологического учреждения, и сообщение Н.П. Малищевой (Екатеринбург) о первично множественных злокачественных новообразованиях кожи в практике дерматолога, прозвучавшие на секционном заседании «Опухолевые заболевания кожи. Тактика ведения пациентов. Решение клинических и диагностических задач».

На секционном заседании «Диагностика и терапия урогенитальных инфекционных заболеваний» Рахматулина М.Р. (Москва) доложила о результатах



Стена Оргкомитета и выставочный зал

многоцентрового эпидемиологического исследования по заболеваемости ИППП в Российской Федерации и современных представлениях о роли генитальных микоплазм в развитии патологических процессов уrogenитальной системы у детей. Батыршина С.В. (Казань) осветила терапевтические технологии коррекции иммунного статуса женщин, больных бактериальным вагинозом, кандидозом и ИППП. Доклад Дубенского В.В. (Тверь) был посвящен оценке эффективности лабораторно-инструментального обследования больных с урогенитальными инфекциями, а также комплексному подходу к лечению бактериальных и вирусных ИППП. Иванов А.М. (Санкт-Петербург) в своем докладе уделил внимание иммунопатогенезу и иммунотерапии хронического урогенитального трихомониаза у мужчин, показав высокую эффективность традиционного лечения в комплексе с иммуностимулирующими препаратами. Особый интерес вызвал доклад Бельковой Ю.А. (Смоленск), которая представила практику назначения антибактериальных препаратов при ИППП в России по результатам многоцентрового фармакоэпидемиологического исследования.

Обсуждая вопросы оказания специализированной дерматологической помощи детям, больным дерматозами, Кунгуров Н.В. (Екатеринбург) выделил основные этапы оказания специализированной медицинской помощи детям, больным хроническими дерматозами, с маршрутизацией пациентов. В докладе Прошутинской Д.В. (Москва) были отражены новые данные о патогенезе витилиго с учетом выявленных особенностей меланогенеза и клеточных иммунных реакций в очагах поражения. Большой интерес вызвали сообщения Тороповой Н.П. (Екатеринбург): «Факторы, приводящие к инвалидности детей, больных атопическим дерматитом. Дифференциация подходов к наружной терапии и уходу за кожей» и «Результаты диспансеризации детей с редко встречающимися дерматозами, особенности наружной терапии».

На секционном заседании «Сифилис: диагностика, лечение и профилактика. Современные направления в изучении возбудителя сифилиса» Китаева Н.В. (Москва) доложила об эпидемиологической ситуации по сифилису в Российской Федерации за период 2004—2008 годы. Иванов А.М. (Санкт-Петербург) поднял проблемы серологической диагностики сифилиса у беременных и новорожденных. О новейших разработках в лабораторной диагностике сифилиса и современных возможностях учета результатов анализа различных методов доложил Марданлы С.Г. (Москва). В докладе Родикова М.В. (Красноярск) были представлены данные о роли гематоэнцефалического барьера при нейросифилисе и показано, что снижение проницаемости гематоэнцефалического барьера при поздних паренхиматозных формах нейросифилиса способствует формиро-



Главный врач Казанского республиканского клинического кожно-венерологического диспансера Минуллин И.К.

ванию дегенеративно-дистрофических изменений в нервной ткани и является причиной серологической и лекарственной резистентности.

Большой интерес специалистов вызвала секция «Эстетическая и антивозрастная медицина». Президент Общества эстетической медицины России



Должинына Н.А. (Иркутск) и Тарасова М.А. (Рязань)



Новиков А.И.
Ректор Омской государственной медицинской академии,
д.м.н., профессор

О.С. Панова (Москва) доложила о правовых аспектах оказания косметологической помощи в Российской Федерации. Главный дерматовенеролог г. Москвы Ю.Н. Перламутров в своем выступлении акцентировал внимание на современных принципах наружной терапии розацеа. О новых возможностях применения IPL-технологий в трихологии доложила Харитоновна Е.Е. (Санкт-Петербург). Опытом по восстановлению и гидротации сухой кожи на различных участках тела поделилась И.А. Клейменова (Нижний Новгород).

На Конгрессе в формате проведения «круглого стола» состоялось обсуждение проекта Клинических рекомендаций по оказанию медицинской помощи больным атопическим дерматитом и акне. Основной целью обсуждения явилось обобщение мнения ведущих дерматологов страны по ключевым и наиболее принципиальным аспектам терапии атопического дерматита и акне применительно к клинической практике и разработка базовых рекомендаций по диагностике и лечению. По результатам проведения «круглых столов» было решено с учетом высказанных предложений рекомендовать разработчикам внести изменения в проекты представленных Клинических рекомендаций по ведению больных атопическим дерматитом и акне, создать рабочие группы из ведущих специалистов-дерматовенерологов по их проработке.

Много откликов вызвал обучающий семинар «Новые информационные и коммуникационные технологии, используемые в деятельности ЛПУ дерматовенерологического профиля». Такое внимание к новому источнику получения медицинской информации со стороны дерматовенерологов было проявлено впервые. Докладчиками — И.Н. Лесная, А.А. Мартынов, Л.Е. Мелехина (Москва) — были представлены современные возможности и перспективы дальнейшего развития информационных технологий в деятельности специализированных дерматовенерологических учреждений. Из выступления А.Ю. Сергеева (Москва) слушатели узнали о самых популярных профессиональных дерматологических сайтах, таких как ippp.ru, dermatology.ru и др.

В соответствии с п.1 плана работы главных внештатных специалистов Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, в рамках работы Конгресса 29 октября 2009 года, было проведено заседание профильной комиссии Экспертного совета в сфере здравоохранения Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации по специальности «дерматовенерология».

На совещании присутствовали члены постоянно действующей рабочей группы (11 человек) и члены профильной комиссии Экспертного совета в сфере здравоохранения Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации по специальности «дерматовенерология» из субъектов Российской Федерации (73 человека).

В повестку совещания были включены следующие вопросы:

- анализ эффективности медицинских технологий по профилю «дерматовенерология»;
- актуализация стандартов медицинской помощи по профилю «дерматовенерология»;
- предложения по развитию кадрового потенциала по профилю «дерматовенерология».

Участники совещания проинформированы, что в соответствии с п.5 Плана работы главных внештатных специалистов Министерства здравоохранения и социального развития было направлено письмо в адрес руководителя Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития Н.В. Юргеля о необходимости проведения анализа эффективности зарегистрированных медицинских технологий по профилю «дерматовенерология». В ответ специалистами Росздравнадзора был направлен Перечень медицинских технологий без описания их применения, что сделало невозможным проведение анализа эффективности указанных технологий.

При обсуждении вопроса актуализации стандартов медицинской помощи по профилю «дерматовенерология» был представлен новый электронный программный продукт в системе Microsoft

Access для подготовки и согласования проектов стандартов медицинской помощи в режиме *on-line*. В основу программного продукта для разработки и согласования проектов стандартов медицинской помощи заложена матрица, которая состоит из 5 разделов: модель пациента; медицинские услуги; консультации; лечебные процедуры; медикаментозное лечение.

Участникам совещания представлен справочник «Медицинские услуги», в котором предложено представить предложения по оптимизации с учетом современных методов лабораторной диагностики инфекций, передаваемых половым путем, и дерматозам. В выступлениях участников совещания отмечено, что привлечение к подготовке документов федерального уровня специалистов-практиков, хорошо знающих не только достижения, но и проблемы нашей профессиональной деятельности, позволит создавать правовую базу, отвечающую потребностям современной дерматовенерологии.

По вопросу развития кадрового потенциала по профилю «дерматовенерология» было указано, что число врачей-дерматовенерологов, работающих в специализированных дерматовенерологических учреждениях государственных форм собственности, составляет 7157 специалистов. Показатель обеспеченности врачами-дерматовенерологами на 10 000 населения в целом по Российской Федерации — 0,5. В Центральном ФО — 0,6, Северо-Западном ФО — 0,5; Южном ФО — 0,4; Приволжском ФО — 0,4; Уральском ФО — 0,5; Сибирском ФО — 0,6; Дальневосточном ФО — 0,5.

Обсудив состояние кадровой обеспеченности, члены Профильной комиссии сформулировали предложения по развитию кадрового потенциала по профилю «дерматовенерология»:

Необходимо укомплектование специализированных дерматовенерологических учреждений, находящихся в ведении органов управления здравоохранением субъектов Российской Федерации, врачами-дерматовенерологами. Всего по Российской Федерации потребность составляет 763 специалиста, из их числа: по Центральному федеральному округу — 404, Северо-Западному ФО — 144, Южному ФО — 70, Приволжскому ФО — 39, Уральскому ФО — 31, Сибирскому ФО — 58, Дальневосточному ФО — 17 специалистов.

Решить вопрос о подборе специалистов для работы в лабораторных подразделениях специализированных дерматовенерологических учреждений, находящихся в ведении органов управления здравоохранением субъектов Российской Федерации, врачами-дерматовенерологами. Общая потребность по Российской Федерации во врачах клиничко-лабораторной диагностики состав-



Президент РОДВ Кубанова А.А. (в центре) с делегатами Конгресса

ляет 553 человека, в том числе: по Центральному ФО — 272, Северо-Западному ФО — 143, Южному ФО — 34, Приволжскому ФО — 40, Уральскому ФО — 25, Сибирскому ФО — 25, Дальневосточному ФО — 14 специалистов.

Обеспечить подготовку врачей — клинических микологов для работы в условиях специализированных дерматовенерологических учреждений, находящихся в ведении органов управления здравоохранением субъектов Российской Федерации. Общая потребность по стране составляет 125 врачей — клинических микологов, из их числа: по Центральному ФО — 49, Северо-Западному ФО — 22, Южному ФО — 8, Приволжскому ФО — 7, Уральскому ФО — 5, Сибирскому ФО — 20, Дальневосточному ФО — 14 специалистов.

Повысить мотивацию руководителей специализированных медицинских учреждений и непосредственно врачей-дерматовенерологов к прохождению аттестации на присвоение профессиональной квалификационной категории.

III Конгресс завершился 30 октября 2009 года Торжественным заседанием. Главный дерматовенеролог Министерства здравоохранения Республики Татарстан И.К. Минуллин поблагодарил Оргкомитет Конгресса за возможность провести столь представительное профессиональное мероприятие в Республике. Академик РАМН А.А. Кубанова отметила, что закончен еще один этап развития российской дерматовенерологии, впереди стоят новые задачи по дальнейшему совершенствованию высокотехнологичной медицинской помощи по профилю «дерматовенерология», внедрению современных технологий в деятельность специализированных дерматовенерологических учреждений, развитию профессионального образования.

Принято решение провести XI съезд дерматовенерологов 7—10 сентября 2010 г. в Екатеринбурге.

Подготовили: И.Н. Лесная, А.А. Мартынов.

О.С. ПАНОВА

К 70-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ



25 ноября 2009 г. отметила свой юбилей заведующая отделением дерматоонкологии и лазерной хирургии ЦКБ РАН, Президент Общества эстетической медицины России и первый Вице-президент исполнительного комитета Международной ассоциации эстетической медицины, действительный член Совета Общества пластических реконструктивных и эстетических хирургов, эксперт судебно-медицинской комиссии по консервативной и хирургической косметологии Минздравсоцразвития РФ, член Американской академии дерматологов, д.м.н., профессор Ольга Сергеевна Панова.

В 1963 О.С. Панова окончила 2-й Московский государственный медицинский институт имени Пирогова по специальности лечебное дело. После окончания ординатуры по дерматовенерологии в кожной клинике МОНКИ им. Н.Ф. Владимирского была принята в Московский научно-исследовательский институт МЗ РСФСР, сначала врачом-дерматологом, а с 1968 года младшим научным сотрудником. С 1975 года по 1984 год после защиты кандидатской диссертации по специальности дерматовенерология работала заведующей косметическим отделением института.

В 1984 году была переведена на должность заместителя главного врача косметологической лечеб-

ницы УХЛУ ГУЗМ (Институт красоты), где работала до 1988 года. В 1988 году была принята на работу заведующей отделением косметологической коррекции ЦКБ ГМУ АН СССР, которое в последующем было реорганизовано в отделение дерматоонкологии и лазерной хирургии, где и продолжает работать по настоящее время.

Ольга Сергеевна — автор более 150 научных публикаций, а также методических рекомендаций, научно-практических статей и зарегистрированных новых медицинских технологий в области дерматологии и дерматокосметологии, имеет авторские свидетельства, патенты и изобретения. Проходила стажировку по лазерной хирургии в НИИ лазерной хирургии, на кафедре Академии последиplomного образования, в ряде клиник США, Франции, Германии

В практической деятельности О.С. Панова специализируется на исследовании различных видов новообразований кожи, рубцов, пигментаций, ведет большую консультативную деятельность по раннему выявлению злокачественных новообразований кожи, совершенствованию методов лечения, организации здравоохранения, постоянно сотрудничая в своей деятельности с другими ведущими специалистами, как России, так и за рубежом.

О.С. Панова награждена орденом «Знак Почета», медалью 850 лет Москвы, медалью Ордена «За заслуги перед Отечеством» II степени.

Приказом Российского общества дерматовенерологов от 27.10.2009 г. за многолетний добросовестный труд, заслуги в научно-исследовательской деятельности, высокий профессионализм и значительный вклад в развитие отечественной дер-

матовенерологии Ольга Сергеевна Панова была награждена медалью Российского общества дерматовенерологов «За заслуги перед Российской дерматовенерологией».

Редакция журнала поздравляет Ольгу Сергеевну с юбилеем и желает крепкого здоровья и дальнейших творческих успехов.

Юнидокс Солютаб®

доксциклина моногидрат, 100 мг

Когда третий не лишней!

Лекарственная форма доксициклина
в виде нейтральной соли моногидрата

- Хорошо переносится и не раздражает пищевод
- Обладает максимальной биодоступностью за счет диспергируемой лекарственной формы
- Удобен и прост в применении

