

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Лепехова Анфиса Александровна

**Разработка диагностических биомаркеров для персонифицированной
терапии больных тяжелыми буллезными дерматозами**

3.1.23. Дерматовенерология

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация

на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор

Теплюк Наталия Павловна

доктор медицинских наук, профессор

Духанин Александр Сергеевич

Москва – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	13
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	26
1.1. Современные аспекты патогенетических механизмов стероидной резистентности, клиники, дифференциальной диагностики и лечения тяжелых аутоиммунных буллезных дерматозов	26
1.2. Акантолитическая пузырчатка. Эпидемиология. Этиология и механизмы патогенеза. Клинические формы пузырчатки. Стероидная резистентность. Цитокиновый и хемокиновый состав пузырной жидкости. Диагностика. Современные методы терапии	26
1.2.1. Эпидемиология и клинические формы акантолитической пузырчатки	26
1.2.2. Этиология и генетические механизмы патогенеза пузырчатки. Ассоциация с главным комплексом гистосовместимости HLA	28
1.2.2.1. Несвязанные с HLA гены иммунной системы, влияющие на развитие пузырчатки	31
1.2.3. Механизмы развития стероидной резистентности у пациентов с акантолитической пузырчаткой	32
1.2.3.1. Роль внутриклеточных рецепторов в развитии стероидной резистентности.....	34
1.2.3.2. Геномные и негеномные механизмы связывания системных глюкокортикостероидов с клеточным рецептором.....	34
1.2.3.3. Экспрессия β -изоформ глюкокортикоидного рецептора, активация транскрипционных факторов NF- κ B и AP-1	35
1.2.3.4. Генетические механизмы стероидной резистентности. Полиморфизм NR3C1 гена, кодирующего глюкокортикоидный рецептор	37
1.2.4. Пузырная/блистерная жидкость и сыворотка как потенциальные источники биомаркеров тяжести и рефрактерного течения пузырчатки	38
1.2.5. Современные методы диагностики акантолитической пузырчатки.....	41
1.2.6. Современные методы лечения акантолитической пузырчатки	43
1.2.6.1. Первая линия терапии акантолитической пузырчатки	43

1.2.6.2. Адьювантная терапия пузырчатки.....	43
1.2.6.3. Перспективные экспериментальные методы терапии акантолитической пузырчатки	44
1.3. Буллезный пемфигоид Левера. Эпидемиология. Этиология. Механизмы патогенеза. Стероидная резистентность. Цитокиновый и хемокиновый состав пузырной жидкости. Диагностика. Современные методы терапии	46
1.3.1. Эпидемиология буллезного пемфигоида Левера	46
1.3.2. Механизмы патогенеза буллезного пемфигоида.....	47
1.3.2.1. Ассоциация с HLA аллелями I и II классов и другими генами.....	47
1.3.2.2. Факторы, влияющие на расщепление и истощение ВР180	50
1.3.2.3. Изменения в цитокиновом профиле	50
1.3.2.4. Дисфункция регуляторных Т- и В-клеток.....	51
1.3.3. Исследование пузырной жидкости у больных буллезным пемфигоидом Левера	51
1.3.4. Механизмы формирования стероидной резистентности у больных буллезным пемфигоидом Левера на уровне глюкокортикоидных рецепторов.....	54
1.3.5. Клиническая картина и современные методы диагностики буллезного пемфигоида Левера.....	55
1.3.6. Современные методы терапии буллезного пемфигоида Левера.....	55
1.3.6.1. Перспективные методы терапии буллезного пемфигоида Левера	57
1.4. Синдром Стивенса-Джонсона и токсический эпидермальный некролиз. Эпидемиология и этиология. Механизмы патогенеза. Цитокиновый и хемокиновый состав пузырной жидкости. Диагностика. Современные методы терапии.....	59
1.4.1. Эпидемиология и этиология синдрома Стивенса-Джонсона и токсического эпидермального некролиза	59
1.4.2. Механизмы патогенеза синдрома Стивенса-Джонсона и токсического эпидермального некролиза. Связь с HLA аллелями гистосовместимости I и II классов. Цитотоксичность	60

1.4.3. Сыворотка и пузырьная жидкость – источники потенциальных биомаркеров тяжести течения синдрома Стивенса-Джонсона и токсического эпидермального некролиза	65
1.4.4. Клиническая картина и особенности течения, диагностика и дифференциальная диагностика синдрома Стивенса-Джонсона и токсического эпидермального некролиза	67
1.4.5. Современные методы лечения синдрома Стивенса-Джонсона и токсического эпидермального некролиза	69
1.5. Применение методов машинного обучения в дерматологии	72
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	76
2.1. Дизайн исследования. Краткая характеристика типов исследований.....	76
2.1.1. Критерии включения, исключения и невключения в исследование	80
2.2. Общая характеристика больных буллезными дерматозами, включенных в исследование случай-контроль, направленного на оценку распространенности HLA-DRB1 и HLA-DQB1 аллелей, полиморфизма A3669G β -изоформы глюкокортикоидного рецептора, а также экспрессии его α - и β -изоформ	82
2.2.1. Распределение больных по диагнозам	82
2.2.2. Распределение больных по полу для различных диагнозов и контрольной группы.....	83
2.2.3. Распределение больных по возрасту в зависимости от диагноза	84
2.2.4. Индексы для оценки степени тяжести буллезных дерматозов	85
2.2.4.1. Распределение больных акантолитической пузырьчаткой в зависимости от степени тяжести согласно индексу PDAI	85
2.2.5. Критерии стероидной резистентности для больных акантолитической пузырьчаткой и буллезным пемфигоидом Левера	86
2.2.6. Распределение больных акантолитической пузырьчаткой в зависимости от степени тяжести и половой принадлежности	87
2.2.6.1. Распределение больных акантолитической пузырьчаткой в зависимости от наличия или отсутствия стероидной резистентности для разных степеней тяжести заболевания.....	88

2.2.7. Распределение больных буллезным пемфигоидом Лёвера в зависимости от степени тяжести согласно индексу BPDAI и возрасту	89
2.2.7.1. Распределение больных буллезным пемфигоидом Лёвера в зависимости от степени тяжести и половой принадлежности	91
2.2.7.2. Распределение больных буллезным пемфигоидом Лёвера в зависимости от наличия или отсутствия стероидной резистентности для разных степеней тяжести заболевания.....	92
2.2.8. Распределение больных синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом в зависимости от степени тяжести заболевания согласно индексу BSA, SCORTEN и возрасту	92
2.2.8.1. Распределение больных синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом в зависимости от наличия или отсутствия стероидной резистентности и степени тяжести заболевания.....	95
2.2.9. Оцениваемые исходы. Конечные точки исследования случай-контроль по оценке распространенности HLA-DRB1, HLA-DQB1 аллелей, гаплотипов, частоты встречаемости A3669G (rs6198) полиморфизма гена NR3C1 β -изоформы глюкокортикоидного рецептора, а также экспрессии его α - и β -изоформ	95
2.2.9.1. Первичные конечные точки.....	95
2.2.9.2. Вторичные конечные точки.....	96
2.3. Распределение больных для наблюдательного когортного исследования случай-контроль по оценке цитокинового и хемокинового профилей, а также уровня гранулизина в сыворотке и пузырьной жидкости у больных с буллезными дерматозами	97
2.3.1. Конечные точки когортного обсервационного исследования случай-контроль.....	100
2.3.1.1. Первичные конечные точки.....	100
2.3.1.2. Вторичные конечные точки.....	100
2.3.1.3. Дополнительные конечные точки.....	101

2.4. Характеристика больных для проспективного неконтролируемого одноцентрового когортного исследования по оценке эффективности и переносимости комбинированной терапии плазмаферезом, внутривенным человеческим иммуноглобулином и системными глюкокортикостероидами у стероид-резистентных больных пузырчаткой	102
2.4.1. Конечные точки для проспективного неконтролируемого одноцентрового когортного исследования по оценке эффективности и переносимости комбинированной терапии плазмаферезом, внутривенным человеческим иммуноглобулином и системными глюкокортикостероидами у стероид-резистентных больных пузырчаткой	105
2.4.1.1. Первичные конечные точки.....	105
2.4.1.2. Вторичные конечные точки.....	106
2.5. Распределение больных для проспективного когортного исследования по оценке концентрации IL10, IL15, IL4, TNF- α , CCL11, CXCL8, гранулизина и динамики данных показателей у стероид-резистентных и -чувствительных больных АП в сыворотке до и после лечения монотерапией системными глюкокортикостероидами и комбинированной терапией плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином.....	106
2.5.1. Конечные точки и исходы для проспективного когортного исследования по оценке концентрации IL10, IL15, IL4, TNF- α , CCL11, CXCL8, гранулизина и динамики показателей у стероид-резистентных и -чувствительных больных акантолитической пузырчаткой в сыворотке до и после лечения монотерапией системными глюкокортикостероидами и комбинированной терапией плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином.....	108
2.5.1.1. Первичные конечные точки.....	108
2.6. Распределение триггерных факторов буллезных дерматозов.....	109
2.7. Расчет доли сопутствующих заболеваний в зависимости от типа буллезного дерматоза	111
2.7.1. Расчет доли сопутствующих заболеваний у больных пузырчаткой.....	111

2.7.2. Расчет доли сопутствующих заболеваний у больных буллезным пемфигоидом Левера.....	112
2.7.3. Расчет доли сопутствующих заболеваний у больных синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом	113
2.8. Расчёт средней начальной дозы системных глюкокортикостероидов и предшествующей адъювантной терапии у больных пузырчаткой, буллезным пемфигоидом Левера, синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом.....	114
2.9. Характеристика частоты встречаемости опухолевых процессов у больных паранеопластической пузырчаткой	116
2.10. Характеристика больных буллезными дерматозами, перенесших новую коронавирусную инфекцию (SARS-CoV-2) за период 2019-2020 гг.....	116
2.11. Методы исследования	117
2.11.1. HLA-типирование	117
2.11.2. Методика для оценки экспрессии α - и β - глюкокортикоидных рецепторов моноклеаров периферической крови.....	120
2.11.3. Методика, требуемая для оценки частоты встречаемости полиморфизма A3669G (rs6198) β -изоформы глюкокортикоидного рецептора у больных буллезными дерматозами	123
2.11.4. Оценка цитокинового и хемокинового профилей у больных буллезными дерматозами и здоровых доноров методом иммуноферментного анализа	124
2.11.4.1. Методика забора блистерной/пузырной жидкости	124
2.12. Статистическая обработка данных	126
2.12.1. Математические основы анализа данных	133
2.12.2. Основные концепции машинного обучения	134
2.12.3. Используемые алгоритмы для машинного обучения.....	135
2.12.3.1. Логистическая регрессия	135
2.12.3.2. Метод опорных векторов	137
2.12.3.3. Решающее дерево	138
2.12.3.4. Случайный лес	140

2.12.3.5. Градиентный бустинг	141
2.12.3.6. Матрица ошибок	143
2.13. Операционный анализ	145
2.14. Логистическая регрессия	145
2.15. Тест на независимость хи-квадрат	147
2.16. Дисперсионный анализ ANOVA	147
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	149
3.1. Анализ распределения HLA-DRB1 и HLA-DQB1 аллелей на разных уровнях разрешения у больных буллезными дерматозами	149
3.1.1. Анализ распределения HLA-DRB1 аллелей на разных уровнях разрешения у больных акантолитической пузырчаткой и здоровых доноров	149
3.1.2. Анализ распределения HLA-DQB1 аллелей на разных уровнях разрешения у больных акантолитической пузырчаткой и здоровых доноров	152
3.1.3. Анализ распределения HLA-DRB1 аллелей на разных уровнях разрешения у больных буллезным пемфигоидом Левера, синдромом Стивенса-Джонсона, токсическим эпидермальным некролизом и здоровых доноров	155
3.1.4. Анализ распределения HLA-DQB1 аллелей на разных уровнях разрешения у больных буллезным пемфигоидом Левера, синдромом Стивенса-Джонсона, токсическим эпидермальным некролизом и здоровых доноров	159
3.2. Анализ влияния HLA-DRB1*04:02, DRB1*14:05 и DQB1*03:02 аллелей на стероидную резистентность и тяжелое течение акантолитической пузырчатки и буллезного пемфигоида Левера	162
3.3. Анализ распространенности HLA-DRB1 и HLA-DQB1 аллелей на разных уровнях разрешения у стероид-резистентных больных акантолитической пузырчаткой в зависимости от тяжести заболевания	168
3.4. Анализ распространенности HLA-DRB1 и HLA-DQB1 аллелей на разных уровнях разрешения у больных буллезным пемфигоидом Левера в зависимости от тяжести заболевания и стероидной резистентности	172

3.5. Анализ распространенности HLA-DRB1 и HLA-DQB1 аллелей на разных уровнях разрешения у больных синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом в зависимости от тяжести заболевания.....	178
3.6. Анализ распределения гаплотипов у больных буллезными дерматозами.....	181
3.6.1. Распределение гаплотипов у больных акантолитической пузырьчаткой и здоровых доноров.....	181
3.6.2. Распределение гаплотипов у больных буллезным пемфигоидом Левера и здоровых доноров.....	185
3.6.3. Распределение гаплотипов у больных синдромом Стивенса-Джонсона, токсическим эпидермальным некролизом и здоровых доноров.....	187
3.6.4. Анализ распределения гаплотипов у больных акантолитической пузырьчаткой в зависимости от тяжести заболевания.....	189
3.6.5. Анализ распределения гаплотипов у больных буллезным пемфигоидом Левера в зависимости от тяжести заболевания.....	190
3.6.6. Анализ распределения гаплотипов у пациентов с синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом в зависимости от тяжести заболевания.....	191
3.6.7. Анализ распределения гаплотипов у пациентов с акантолитической пузырьчаткой в зависимости от наличия или отсутствия стероидной резистентности.....	192
3.7. Оценка экспрессии α - и β -изоформ глюкокортикоидных рецепторов у больных буллезными дерматозами и здоровых доноров.....	193
3.8. Оценка экспрессии α - и β -изоформ глюкокортикоидных рецепторов у стероид-резистентных и стероид-чувствительных больных акантолитической пузырьчаткой.....	197
3.9. Оценка частоты встречаемости полиморфизма (rs6198; A3669G) гена NR3C1 β -изоформы глюкокортикоидного рецептора у больных акантолитической пузырьчаткой и его ассоциации со стероидной резистентностью и тяжестью заболеваний.....	198

3.10. Оценка частоты встречаемости генотипов AA, AG и GG и аллелей A и G у больных акантолитической пузырчаткой и здоровых доноров	199
3.11. Оценка частоты встречаемости полиморфизма (rs6198; A3669G) гена NR3C1 β -изоформы глюкокортикоидного рецептора у больных буллезным пемфигоидом Лёвера.....	203
3.12. Оценка частоты встречаемости полиморфизма (rs6198 A3669G) гена NR3C1 β -изоформы глюкокортикоидного рецептора у больных синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом	204
3.13. Машинные методы обучения как инструмент создания прогностических моделей для классификации больных акантолитической пузырчаткой по наличию стероидной резистентности и предсказания вероятности развития буллезных дерматозов.....	205
3.13.1. Разработка прогностической модели для оценки риска развития буллезного дерматоза.....	205
3.13.2. Разработка прогностической модели для прогнозирования наличия стероидной резистентности у больных тяжелыми буллезными дерматозами	211
3.14. Оценка цитокинового и хемокинового профилей в сыворотке и пузырной жидкости у больных буллезными дерматозами различной степени тяжести	213
3.14.1. Оценка уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизина в сыворотке больных акантолитической пузырчаткой и здоровых доноров	213
3.14.2. Оценка уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизина в сыворотке больных буллезным пемфигоидом Лёвера и здоровых доноров	216
3.14.3. Оценка уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизина в сыворотке больных токсическим эпидермальным некролизом, синдромом Стивенса-Джонсона и здоровых доноров	219
3.14.4. Сравнительный анализ уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизина в сыворотке больных акантолитической пузырчаткой, буллезным пемфигоидом Лёвера и синдромом Стивенса-Джонсона/токсическим эпидермальным некролизом.....	222

3.14.5. Сравнительный анализ уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизына в пузырьной жидкости у больных акантолитической пузырьчаткой, буллезным пемфигоидом Левера и синдромом Стивенса-Джонсона/токсическим эпидермальным некролизом.....	224
3.14.6. Сравнительный анализ уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизына в сыворотке и пузырьной жидкости у больных акантолитической пузырьчаткой, буллезным пемфигоидом Левера и синдромом Стивенса-Джонсона/токсическим эпидермальным некролизом.....	226
3.14.7. Сравнительный анализ уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизына в сыворотке и пузырьной жидкости у больных буллезными дерматозами в зависимости от тяжести заболеваний	228
3.14.7.1. Сравнительный анализ уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизына в сыворотке и пузырьной жидкости у больных акантолитической пузырьчаткой в зависимости от тяжести заболевания	228
3.14.7.2. Сравнительный анализ уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизына в сыворотке и пузырьной жидкости у больных буллезным пемфигоидом Левера в зависимости от тяжести заболевания.....	231
3.14.7.3. Сравнительный анализ уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизына в сыворотке и пузырьной жидкости у больных синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом в зависимости от тяжести заболевания.....	232
3.14.8. Сравнительный анализ уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизына в сыворотке у больных акантолитической пузырьчаткой, буллезным пемфигоидом Левера и синдромом Стивенса-Джонсона/токсическим эпидермальным некролизом в зависимости от стероидной резистентности	235
3.15. Методы машинного обучения для прогнозирования наличия или отсутствия стероидной резистентности у больных буллезными дерматозами на негеномном уровне.....	238

3.16. Оценка эффективности и переносимости комбинированной терапии человеческим иммуноглобулином и плазмаферезом у больных стероид-резистентной формой пузырчатки на основании длительности, типов ремиссии и индекса PDAI	240
3.17. Оценка уровня IL10, IL15, IL4, TNF- α , CCL11, CXCL8 и гранулизина, а также динамики данных показателей у стероид-резистентных и стероид-чувствительных больных акантолитической пузырчаткой в сыворотке до и после лечения монотерапией системными глюкокортикостероидами и комбинированной терапией плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином	244
ГЛАВА 4. КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ	248
4.1. Клинический случай №1	248
4.2. Клинический случай №2	251
4.3. Клинический случай №3	255
ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ	258
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	285
ВЫВОДЫ	286
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	290
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	291
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	293
ПРИЛОЖЕНИЕ А. Дополнительные материалы к результатам исследования и клиническим данным	337

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Буллезные дерматозы (БД) представляют собой тяжелые, жизнеугрожающие, органоспецифические, мультифакториальные заболевания, в основе которых лежит генетическая предрасположенность.

К группе БД относятся: акантолитическая пузырчатка (АП), буллезный пемфигоид Левера (БП), буллезный эпидермолиз, герпетиформный дерматит Дюринга, токсический эпидермальный некролиз (ТЭН), а также синдром Стивенса-Джонсона (ССД) и другие.

Известно, что при АП различные эпигенетические факторы могут индуцировать формирование аутоантител против адгезивных компонентов в коже и слизистых оболочках с одной стороны, а с другой, основой формирования тяжелых аллергических реакций, например, ТЭН, является CD8⁺ Т-клеточная цитотоксичность, приводящая к тотальной отслойке эпидермиса [1, 2].

В основе развития БД лежит ассоциация с HLA-антигенами гистосовместимости I и II классов [3]. По данным литературы у носителей DR4 и DR14 аллелей вероятность развития АП была выше [4]. Однако наличие предрасполагающих аллелей зависело от этноса пациентов. Следует отметить, что HLA-аллели II класса в российской популяции изучались на небольшой выборке пациентов [5]. Разные популяции могут иметь свои уникальные аллели, что связано с историческими, экологическими и этническими факторами [6].

Именно HLA-аллели II класса по данным многих источников ассоциированы с антитело-опосредованными заболеваниями. При БП, в частности, активация антиген-специфичных В-клеток и секреция IgG антител зависит от взаимодействия между Т-клеточными рецепторами и классическими молекулами HLA II класса [7]. Известно, что в развитии тяжелых лекарственно-индуцированных аллергических реакций HLA-аллели I и II классов также играют важную роль. Большинство лекарственных препаратов и их метаболитов являются проаптанами [8]. В связи с

этим фактом возникновение заболевания связано с иммуногенностью, опосредованной ковалентным связыванием с белками-носителями (гаптенным антигеном). Гаптенные антигены формируют комплекс с HLA в антиген-презентирующих клетках и затем распознаются Т-клеточными рецепторами [9, 10].

Системные глюкокортикостероиды (СГК) являются препаратами первой линии для лечения БД. Однако в настоящее время участились случаи развития стероидной резистентности (СР) к терапии высокими дозами СГК у больных АП и БП, что подчеркивает необходимость проведения целенаправленных исследований по изучению причин ее возникновения при данных заболеваниях [11, 12]. Так, СР может выявляться не только на уровне внутриклеточных α - и β -изоформ глюкокортикоидных рецепторов (ГР), но также на уровне полиморфизмов генов, в частности гена NR3C1, кодирующего ГР [13, 14]. Данный полиморфизм исследовался при бронхиальной астме, ревматоидном артрите, системной красной волчанке и АП на небольшой выборке больных [15, 16, 17]. При АП Fang S et al. 2017 выявили полиморфизмы SNP rs 11745958 C/T и rs17209237 A/G, которые были связаны с развитием СР [18]. Однако следует отметить, что именно полиморфизм A3669G (rs6198) гена NR3C1 β -изоформы ГР, а также его влияние на тяжесть и развитие СР при БД, в частности, при АП не исследовался. В литературных источниках не было представлено научных работ о возможной ассоциации HLA-DRB1 и DQB1 аллелей II класса с тяжелым течением БД и недостаточным ответом на базовую терапию СГК.

Исследование пузырьной жидкости у больных БД имеет важное значение для диагностики и понимания их патогенеза. Kowalski EH et al. 2019 в мета-анализе исследовали различия в цитокиновом профиле в пузырьной жидкости и сыворотке у больных АП и БП с целью оценки каскада механизмов воспаления непосредственно в месте формирования пузыря. Авторы выявили статистически значимые различия в сыворотке у больных АП и БП по уровню цитокинов и интерлейкинов. Так, IL5, IL6, IL8, IL17, CCL17 и CCL26 были статистически значимо выше в сыворотке у больных БП, тогда как пузырьная жидкость больных АП преимущественно была представлена высоким уровнем IL10, IL17 и CCL17. У больных БП в пузырьной жидкости чаще встречались высокие уровни IL5, IL6, IL8,

CCL11 и TNF- α [19, 20]. Интересно также, что IL17 находился на высоком уровне в сыворотке у больных с частыми рецидивами БП даже после лечения высокими дозами СГК [21]. Таким образом, клеточный состав пузырьной жидкости при разных БД значительно отличается и может быть использован в качестве источника маркеров тяжести течения этих заболеваний и для дифференциальной диагностики [22]. Следует отметить, что возможная корреляция уровней цитокинов IL4, IL10, TNF- α , IL15, хемокинов CCL11 и CXCL8, а также гранулизина в пузырьной жидкости с тяжестью течения, а также развитием СР у больных БД не исследовалась. Кроме того, не оценивалось влияние комбинированной терапии с введением иммуноглобулина (IVIg) и плазмафереза на цитокиновый и хемокиновый профили, а также уровень гранулизина в сыворотке у стероид-резистентных больных АП.

Степень разработанности темы исследования

Тяжелые буллезные дерматозы (БД) представляют собой жизнеугрожающие заболевания, в основе которых лежат аутоиммунные механизмы (АП и БП) или Т-клеточная цитотоксичность (ССД/ТЭН).

Небольшая, но достаточно существенная часть пациентов с данными заболеваниями и, в частности, чаще всего с АП не отвечают адекватно на проводимую терапию СГК. Механизмы СР изучались на уровне рецепторов при бронхиальной астме, ревматоидной артрите, красной волчанке, АП и БП. Однако на геномном уровне, механизм СР в связи с полиморфизмом A3669G гена NR3C1 (кодирующего ГР), у больных с различными БД до сих пор не изучался. Изменения в структуре ГР могут повлиять на активацию или подавление различных сигнальных путей, связанных с воспалением, что может привести к недостаточной реакции на лечение. Полиморфизм A3669G мог бы использоваться в качестве потенциального предиктора ответа таких пациентов на проводимую терапию. Также в литературе не было работ по оценке взаимосвязи определенных HLA аллелей II класса, в частности, DRB1 и DQB1 с тяжестью течения БД, а также СР.

Таким образом, все это диктует необходимость определения комплекса потенциальных предикторов/биомаркеров СР у больных БД на геномном и негеномном уровнях. Такое исследование позволит выявить СР на ранних этапах развития заболевания, что обеспечит своевременное назначение адьювантной терапии, ускорит регресс высыпаний и существенно снизит риск развития потенциальных побочных эффектов и рецидивов.

Исследование пузырьной жидкости у больных АП, БП и ССД/ТЭН также позволило бы выявить некоторые различия при данных заболеваниях на уровне формирования пузыря (ранняя стадия заболевания), что могло бы быть использовано в качестве диагностических маркеров на ранних этапах дифференциальной диагностики БД, включая такие тяжелые аллергодерматозы, как ССД/ТЭН. Пузырная жидкость с точки зрения ассоциации ее различий в цитокиновом, белковом и хемокиновом профилях у стероид-резистентных больных БД также в нашей стране не исследовалась. Кроме того, получение пузырьной жидкости представляет собой малоинвазивную методику, что делает ее достаточно удобным и практичным методом для диагностики, дифференциальной диагностики, оценки тяжести БД разной этиологии на ранних этапах заболевания, а также прогноза ответа на терапию у данных больных.

Наряду с этим, применение методов машинного обучения на основании анализа базы данных по геномным и негеномным механизмам чувствительности пациентов к проводимой терапии также позволило бы классифицировать больных БД по риску развития заболевания и формированию резистентности к СГК.

Цель и задачи исследования

Цель исследования – разработать комплекс диагностических биомаркеров при буллезных дерматозах на геномном и негеномном молекулярном уровне, определяющих их тяжесть течения и позволяющих классифицировать эти заболевания по стероидной резистентности и прогнозу развития, а также

разработать новый метод терапии стероид-резистентных больных пузырчаткой плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином.

Для реализации цели исследования были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать распространенность HLA-DRB1 и DQB1 аллелей, а также гаплотипов у больных буллезными дерматозами различной степени тяжести на уровне низкого и высокого разрешений, а также их возможную взаимосвязь со стероидной резистентностью и степенью тяжести течения заболевания.

2. Оценить экспрессию α - и β - изоформ глюкокортикоидных рецепторов у больных тяжелыми буллезными дерматозами.

3. Исследовать полиморфизм гена NR3C1 β -изоформы глюкокортикоидного рецептора у больных буллезными дерматозами и оценить его роль в развитии стероидной резистентности.

4. Создать прогностическую модель с помощью методов машинного обучения на основании полученных данных по геномным и негеномным механизмам для осуществления прогноза развития стероидной резистентности у больных буллезными дерматозами.

5. Оценить уровень IL10, IL15, IL4, TNF- α , CCL11, CXCL8 и гранулизина у стероид-резистентных и стероид-чувствительных больных буллезными дерматозами различной степени тяжести в пузырной жидкости и сыворотке, а также динамику этих показателей в сыворотке до и после лечения монотерапией СГК и комбинированной терапией СГК, плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином.

6. Оценить клиническую эффективность комбинированной терапии СГК, плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином у стероид-резистентных больных пузырчаткой.

Научная новизна

Впервые проведено сравнительное исследование случай-контроль на большой выборке больных редкими тяжелыми буллезными дерматозами (150 пациентов) для оценки ассоциации различных HLA аллелей DRB1 и DQB1, а также гаплотипов с развитием стероидной резистентности и тяжелым течением заболеваний.

Впервые исследовался полиморфизм A3669G гена β -изоформы глюкокортикоидного рецептора у больных буллезными дерматозами, а также его взаимосвязь с тяжестью течения этих заболеваний и стероидной резистентностью.

Впервые разработана инновационная модель машинного обучения, интегрирующая геномные (HLA-DRB1/DQB1, полиморфизм A3669G β -изоформы ГР, экспрессия α/β -изоформ) и негеномные (цитокины, хемокины, гранулизин) биомаркеры для осуществления прогноза развития стероидной резистентности у больных буллезными дерматозами.

Впервые в России получены данные по различиям в цитокиновом, хемокиновом профилях и уровню гранулизина в сыворотке и пузырьной жидкости у больных буллезными дерматозами, а также их корреляции с тяжестью течения и стероидной резистентностью.

Впервые представлена оценка эффективности комбинированной терапии с применением плазмафереза и человеческого иммуноглобулина на основании исследования цитокинового, хемокинового профилей и уровня гранулизина в сыворотке у стероид-резистентных больных акантолитической пузырьчаткой.

Впервые метод машинного обучения позволил классифицировать буллезные дерматозы на стероид-резистентные и стероид-чувствительные на геномном и негеномном молекулярном уровне.

Теоретическая и практическая значимость работы

Разработан комплекс диагностических биомаркеров тяжести течения и рефрактерности к СГК у больных тяжелыми буллезными дерматозами на основании методов машинного обучения (метод «опорных векторов»), включавшего следующие параметры: HLA аллели DRB1 и DQB1 II класса, экспрессию α - и β -изоформ ГР, полиморфизм A3669G β -изоформы ГР, а также исследование цитокинового, хемокинового профилей и гранулизина в сыворотке и пузырьной жидкости.

Пузырная жидкость может быть использована для диагностики и дифференциальной диагностики пузырных дерматозов, а также для прогнозирования тяжести течения и рефрактерности больных к проводимой терапии. Результаты гистологического исследования кожи и анализ пузырьной жидкости могут также представить комплиментарную информацию и должны интерпретироваться вместе. Кроме того, необходимо при проведении биопсии оценивать уровень формирования пузыря (эпидермальный, субэпидермальный), а также уровень воспаления и лейкоцитарной инфильтрации.

Разработана комбинированная схема терапии плазмаферезом и человеческим внутривенным иммуноглобулином стероид-резистентных больных пузырчаткой на фоне снижения малых доз СГК, которая позволяет в 94% случаев достичь полной ремиссии заболевания, ускорить снижение дозы преднизолона, а также предотвратить возникновение рецидивов в среднем на 2,87 года.

Методология и методы исследования

- Исследование «случай-контроль» – оценка распространенности аллелей и гаплотипов HLA-DRB1 и HLA-DQB1 у пациентов с буллезными дерматозами различной степени тяжести и здоровых доноров.
- Проспективное сравнительное когортное нерандомизированное исследование – анализ цитокинового и хемокинового профилей, а также

концентрации гранулизина в сыворотке крови и пузырьной жидкости у больных буллезными дерматозами.

- Проспективное одноцентровое, когортное неконтролируемое исследование – оценка клинической эффективности и безопасности комбинированной терапии СГК, плазмаферезом и внутривенным человеческим иммуноглобулином у стероид-резистентных больных пузырчаткой.

- Проспективное, нерандомизированное, сравнительное клиническое исследование (интервенционное, наблюдательное) с двумя когортами – оценка иммуномодулирующего действия внутривенного человеческого иммуноглобулина на основании цитокинового и хемокинового профиля, а также уровня гранулизина в сыворотке у стероид-резистентных и стероид-чувствительных больных пузырчаткой.

В ходе выполнения работы использованы теоретический анализ, наблюдение и сравнение с последующей статистической обработкой материала. Протокол исследования зарегистрирован в системе clinicaltrials.gov под номером clinicaltrials.gov NCT05284929 и был одобрен локальным этическим комитетом (протокол №03-22 от 03.02.2022).

Личный вклад автора

Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления диссертационного исследования. Планирование работы, поиск и анализ литературы по теме диссертации, набор пациентов, формирование базы данных, статистическая обработка, обобщение и анализ полученных результатов, формулировка выводов, написание статей и текста диссертации выполнены автором лично. Вклад Лепеховой А.А. является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: от определения цели и постановки задач до клинической реализации исследования, анализа результатов, представления их на мероприятиях международного уровня и предложений практических рекомендаций.

Положения, выносимые на защиту

1. С буллезным пемфигоидом ассоциированы аллели HLA-DRB1*14, DRB1*04, DRB1*04:02 и DQB1*03:02. Предиктором развития синдрома Стивенса-Джонсона и токсического эпидермального некролиза является аллель HLA-DRB1*14. HLA-DRB1*4, DRB1*14, DRB1*04:02, DRB1*14:05, DQB1*03:02 аллели и гаплотипы DRB1*04/DQB1*05, DRB1*14/DQB1*03, DRB1*04:02/DQB1*05:03, DRB1*04:02/DQB1*05:01, DRB1*04:02/DQB1*03:02, DRB1*14:05/DQB1*03:02, DRB1*14:04/DQB1*03:02 предрасполагают к развитию акантолитической пузырчатки. DRB1*11, DRB1*16, DRB1*3, DRB1*11:04 и DQB1*03:01 аллели исключали ее развитие.

2. Равнозначное повышение уровней α - и β -изоформ глюкокортикоидных рецепторов у больных пузырчаткой, буллезным пемфигоидом, синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом по сравнению с группой контроля связано с компенсаторным ответом на воспаление, вызванным аутоиммунной и цитотоксическими реакциями и тенденцией к увеличению экспрессии β -изоформ глюкокортикоидных рецепторов у стероид-резистентных больных акантолитической пузырчаткой. На основе логистической регрессии была разработана формула, свидетельствующая о том, что вероятность развития буллезного дерматоза превышает 50% при увеличении экспрессии α -изоформы глюкокортикоидного рецептора до уровня 36,7 единиц и выше.

3. Полиморфизм A3669G β -изоформы глюкокортикоидного рецептора предрасполагает к развитию пузырчатки и является генетическим предиктором стероидной резистентности, а также более тяжелого течения заболевания. Аллель А ассоциируется с адекватным ответом на терапию СГК, тогда как аллель G является предиктором развития стероидной резистентности.

4. Метод «опорных векторов» демонстрирует более высокую вероятность развития стероидной резистентности у больных буллезными дерматозами, особенно у больных пузырчаткой, при наличии DQB1*05:02, DRB1*13:02,

DQB1*02:01, DQB1*05:01, DQB1*03:01 аллелей, тогда как присутствие аллелей DQB1*06:02, DQB1*01:01, DQB*04:03, и DQB1*06:03 повышает вероятность адекватного ответа на терапию СГК, что позволяет на геномном уровне классифицировать больных буллезными дерматозами на стероид-резистентных и стероид-чувствительных.

5. Метод машинного обучения с учетом категориальных признаков (CatBoost) и «случайный лес» наиболее точно предсказывают вероятность стероидной резистентности у больных буллезными дерматозами при наличии следующих наиболее значимых признаков: высокий уровень IL15, IL4 и CXCL8 в пузырьной жидкости, высокий уровень гранулизына в сыворотке, диагноз акантолитическая пузырчатка, тяжесть пузырчатки и наличие сахарного диабета 2 типа в качестве сопутствующего заболевания.

6. Анализ пузырьной жидкости (IL4, IL10, TNF- α , CCL11, CXCL8, гранулизын) может быть использован в качестве экспресс-диагностики, дифференциальной диагностики тяжелых буллезных дерматозов, а также прогноза тяжести течения и ответа на терапию при данных заболеваниях.

7. Комбинированная терапия плазмаферезом и человеческим внутривенным иммуноглобулином в процессе снижения малых доз СГК демонстрирует высокую клиническую эффективность, иммуномодулирующее и адъювантное действие у больных стероид-резистентной формой акантолитической пузырчатки.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук соискателя кафедры кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова Института клинической медицины им. Н. В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) соответствует паспорту научных специальностей: 3.1.23. Дерматовенерология (пункты №2, 3, 4, 5, 6, 8), 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (пункты №1, 9, 12, 13, 17, 20).

Степень достоверности и апробация результатов

Автором обследованы 150 больных тяжелыми буллезными дерматозами. Выводы и практические рекомендации диссертации основаны на результатах обследования большой выборки. План обследования пациентов соответствовал цели и задачам исследования. Результаты работы научно обоснованы. Достоверность полученных результатов подтверждена проведенным статистическим анализом. Первичная документация (протоколы исследований, компьютерные базы данных, анкеты) проверена и соответствует материалам, включенным в диссертацию.

Материалы диссертации изложены на юбилейной научно-практической конференции Московского общества дерматовенерологов и косметологов (Москва, октябрь 2021 г.); третьем мировом конгрессе по дерматологии и эстетической медицине (3-d World Congress on Dermatology and Aesthetic Medicine, Париж, Франция, март 2021 г.); 31-м конгрессе Европейской академии дерматологии и венерологии (31st EADV Congress, Милан, Италия, сентябрь 2022 г.); международной конференции «Проблемы и инновации в практике врача-дерматовенеролога» (ноябрь 2022 г.); 25-м Всемирном конгрессе дерматологии (25th World Congress of Dermatology, Сингапур, июль 2023 г.); XXII, XXIV и XXV Всероссийских съездах дерматовенерологов и косметологов (Москва, сентябрь 2022, 2024 и 2025 гг.); весеннем симпозиуме Европейской академии дерматологии и венерологии (EADV Spring Symposium 2025, Прага, Чехия, май 2025 г.); 34-м конгрессе Европейской академии дерматологии и венерологии (34th EADV Congress, Париж, Франция, сентябрь 2025 г.); VII Международной научно-практической конференции «Новые технологии и методы терапии в медицине» (Ташкент, Узбекистан, ноябрь 2025 г.);

Апробация работы состоялась 23 декабря 2025 года на совместной научно-практической конференции кафедры кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской

Федерации (Сеченовский Университет) и кафедры молекулярной фармакологии и радиобиологии им. академика П.В. Сергеева медико-биологического факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Пироговский Университет).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты, полученные в ходе исследования, используются в работе клиники кожных и венерических болезней УКБ№2 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), в учебном процессе на кафедре кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова Института клинической медицины им. Н. В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и в учебном процессе кафедры молекулярной фармакологии и радиобиологии им. Академика П.В. Сергеева медико-биологического факультета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 35 работ, в том числе 5 научных статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук; 7 статей в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science Scopus, 11 иных публикаций по результатам исследования, 1 учебное пособие, 3 главы в книге «Clinical Cases in Exfoliative Dermatitis» (на английском языке), 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ, 7 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 5 зарубежных конференций).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 355 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, глав «Материалы и методы исследования», «Результаты», «Обсуждение», заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложения. Работа иллюстрирована 3 клиническими примерами, 94 таблицами и 116 рисунками. Список литературы содержит 403 источника, из которых 35 отечественных и 368 зарубежных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современные аспекты патогенетических механизмов стероидной резистентности, клиники, дифференциальной диагностики и лечения тяжелых аутоиммунных буллезных дерматозов

Буллезные дерматозы (БД) представляют собой жизнеугрожающие, антителоиндуцированные, органоспецифические тяжелые заболевания, в основе которых лежит генетическая предрасположенность, а именно: ассоциация с HLA комплексом гистосовместимости II класса [3]. Известно, что различные эпигенетические факторы индуцируют формирование аутоантител против адгезивных компонентов кожи и слизистых оболочек при АП и БП, а с другой, в основе формирования тяжелых аллергических реакций лежит CD8⁺ Т-клеточная цитотоксичность [23]. К группе БД относятся: акантолитическая пузырчатка (АП), буллезный пемфигоид Левера (БП), буллезный эпидермолиз, герпетиформный дерматит Дюринга, токсический эпидермальный некролиз (ТЭН), а также синдром Стивенса-Джонсона (ССД) и другие.

1.2. Акантолитическая пузырчатка. Эпидемиология. Этиология и механизмы патогенеза. Клинические формы пузырчатки. Стероидная резистентность. Цитокиновый и хемокиновый состав пузырной жидкости. Диагностика. Современные методы терапии

1.2.1. Эпидемиология и клинические формы акантолитической пузырчатки

АП остается самым тяжелым аутоиммунным жизнеугрожающим заболеванием кожи и/или слизистых оболочек, характеризующееся формированием аутоантител к собственным антигенам - десмоглеинам 1 и 3 (Дсг1, 3), экспрессируемых на поверхности кератиноцитов с последующим формированием акантолиза – нарушению связей между кератиноцитами [24, 25].

В настоящее время на основании клинических, патоморфологических, иммуногистохимических данных выделяют следующие основные клинические формы АП: вульгарная (ВП), малый вариант – вегетирующая (ВеП); листовидная (ЛП), малые варианты – эритематозный и герпетиформный пемфигус, паранеопластическая пузырчатка (ПНП) [26].

В отдельную группу выделены редкие и атипичные клинические варианты АП (IgA пемфигус, нейтрофильный IgA дерматоз, лекарственно-индуцированный пемфигус и др.) [27, 28].

Заболевание поражает пациентов в возрасте от 45 до 65 лет, а также чаще встречается среди евреев-ашкенази и пациентов из средиземноморских регионов [29]. Вне эндемичных по АП областях, согласно исследованиям, около 30% больных были моложе 20 лет [30].

Заболеваемость АП значительно варьирует в разных популяциях. Так, наиболее высокая ежегодная заболеваемость встречалась в Иране и составляла 5 случаев на 100,000 населения, тогда как в Германии она была значительно меньше и составила 0,098 случаев на 100,000 населения. Таким образом, наиболее высокий уровень заболеваемости регистрировался на Ближнем Востоке [31]. В Европе ежегодная заболеваемость АП варьирует от 0,8 до 6,8 случаев на 1000,000 населения в Финляндии и Великобритании соответственно [32].

В Российской Федерации, в 2014 году заболеваемость АП составила 1,9 случаев на 100,000 взрослого населения (в возрасте 18 лет и старше), а распространенность – 4,8 случаев на 100,000 взрослого населения [33].

До «стероидной эры» в начале 50-х годов XX века смертность от АП составляла 75% [34]. Кроме того, летальный исход при АП зависит от множества факторов, к которым относятся возраст старше 65 лет, распространенные поражения слизистых оболочек и кожи, тяжелая степень заболевания, коморбидности, включающие поражение сердечно-сосудистой системы и сахарный диабет [35].

В США, например, смертность среди больных с рецидивами АП (3,2%) была достоверно выше по сравнению с теми пациентами, кому диагноз устанавливался

впервые (1,6%) [36]. В израильской популяции уровень смертности был в 2,6 раз выше, чем ожидалось в сопоставленной по возрасту и полу общей популяции (стандартизированное отношение смертности было равным 2,6) [37]. В британской же популяции смертность была в 3,3 раза выше у больных АП по сравнению с сопоставимой по полу и возрасту популяционной группой контроля [32].

1.2.2. Этиология и генетические механизмы патогенеза пузырчатки.

Ассоциация с главным комплексом гистосовместимости HLA

В настоящее время существуют следующие гипотезы развития АП: десмоглеиновая, «сжатие» базальных клеток, антитело-индуцированная теория апоптоза и апоптолиза [38]. Однако следует отметить, что механизмы возникновения АП недостаточно изучены [39]. АП является заболеванием мультифакториальной природы, с преимущественно генетическими механизмами, лежащими в основе её развития.

Система тканевой совместимости человека (Human Leukocyte Antigens, HLA) представляет собой группу антигенов гистосовместимости, численность которых составляет более 150. Известно, что на 6-й хромосоме расположено большое количество генов, ассоциированных с иммунитетом. Так, молекулы HLA II класса участвуют в представлении антигенов из внеклеточного пространства Т-лимфоцитам, а также стимулируют деление Т-хелперов, которые в свою очередь стимулируют В-клетки к выработке антител. Полиморфизмы HLA-DRB1 ассоциированы с рядом аутоиммунных заболеваний, таких как ревматоидный артрит, системная красная волчанка и диабет 2-го типа. Известно, что разные аллели могут предрасполагать к более тяжелому течению аутоиммунных заболеваний [40, 41].

За счёт своей полиморфности HLA II класса кодируют различные молекулы с разной связывающей аффинностью, что обеспечивает более высокий уровень связывания переменного антигенного пептида с CD4+ клетками. Вариации в генах HLA могут влиять на активацию Т-клеток и Т-регуляторных клеток, что, в

свою очередь, определяет выработку провоспалительных цитокинов, включая IL10 [41, 42, 43].

Этот интерлейкин играет ключевую роль в регуляции иммунного ответа и переключении на выработку IgG4 антител, которые тропны к Дсг1 и Дсг3. В частности, было показано, что Т-клетки, которые непосредственно регулировались HLA-DRB1*04:02 аллелем, показали более высокую тропность к десмоглеинам 1 и 3, что непосредственно и запускало механизмы акантолиза. Известно, что повышение частоты встречаемости различных HLA аллелей II класса у больных пузырчаткой обнаруживалось во многих популяциях [42, 43].

На сегодняшний день в научной литературе представлено около 145 исследований по оценке распространённости HLA-DRB1 и DQB1 аллелей в различных популяциях. Так, повышение их частоты встречалось в еврейской, турецкой, итальянской, словацкой, тунисской, японской, марокканской, иранской, индо-азиатской, индийской, вьетнамской, бразильской, пакистанской, корейской, испанской, аргентинской, сирийской, немецкой, английской, голландской, мексиканской и египетской популяциях [42, 43].

Положительные ассоциации с АП в большинстве своём наблюдались у носителей DR4 и DR14 аллелей. Однако наличие предрасполагающих аллелей зависит от этноса пациентов. Следует отметить, что HLA аллели II класса исследовались в недавних работах и в российской популяции [42, 43, 44]. Однако корреляции определенных аллелей с неадекватным ответом на СГК и тяжелым течением БД не оценивались.

Разные популяции могут иметь свои уникальные аллели, что связано с историческими, экологическими и этническими факторами. Например, высокая частота встречаемости DRB1*08 аллеля в египетской популяции может указывать на специфические генетические адаптации или исторические события [45].

Высокая распространенность аллеля DRB1*04:06 среди больных АП в японской популяции (n=525) подчеркивает его значимость в развитии данного заболевания в исследуемой группе [46].

В иранской популяции с развитием АП ассоциировались HLA-DRB1*04, DRB1*14:01, DRB4, DQA1*01:04, DQA1*03:11, DQB1*03:02, и DQB1*05:02 аллели. В Индии DRB1*14:04, DQA1*01:01 и DQB1*05:03 аллельные варианты являлись факторами риска развития АП [47].

Повышенная частота встречаемости DRB1*14:01:01/15:54 аллелей в Германии и DRB1*14:54 в словацкой популяции (n=113), также подтверждают, что определенные варианты генов могут быть связаны с повышенным риском развития пузырчатки. Подобный анализ смог бы способствовать созданию подходов для ранней диагностики и персонализированной терапии АП в будущем.

Интересно, что во французской популяции у больных ВП и ЛП были выявлены ассоциации с другими аллелями – DRB1*01:02 и DRB1*04:06, что подчеркивает необходимость учитывать этнические и географические различия при изучении генетических факторов аутоиммунных заболеваний [48, 49].

Следует отметить, что HLA-DRB1*04:01, HLA-DRB1*04:06, HLA-DRB1*14, DRB1*01:01 аллели ассоциировались с более высоким риском развития ЛП [50, 51].

В бразильской популяции аллелями риска для развития «Fogo selvagem» являлись HLA-DRB1*04:04, 14:02, 14:06 и 01:02 [52].

Таким образом, в настоящее время по всему миру проводятся множественные исследования, направленные на изучение биологии HLA антигенов, всевозможных взаимодействий между их молекулами, для определения их ключевой роли в развитии и прогрессировании различных аутоиммунных заболеваний. В перспективе множественные HLA аллели, их молекулы и рецепторы, взаимодействующие с различными антигенами, могут быть использованы в качестве потенциальных терапевтических мишеней [42, 43].

Кроме того, Т-клеточные $\alpha\beta$ рецепторы (ТКР) способны распознавать комплексы HLA-пептидов. Особенности этих взаимодействий могут объяснять различия в предрасположенности различных популяций к определенным заболеваниям. Например, вариации в аллелях HLA могут определять, каким

образом Т-клетки идентифицируют и реагируют на аутоантигены, влияя на развитие патологических процессов [53].

Выявление специфических HLA-пептидных комбинаций открывает новые возможности для разработки методов лечения, направленных на модуляцию иммунного ответа. Это может включать в себя создание вакцин, направленных на специфические пептиды, или использование методов, таких как CAR-T клеточная терапия, для создания более целенаправленных подходов к лечению аутоиммунных заболеваний.

1.2.2.1. Несвязанные с HLA гены иммунной системы, влияющие на развитие пузырчатки

В научной литературе упоминались и другие, несвязанные с HLA гены, инициирующие развитие АП. Например: гены, кодирующие TNF- α и IL10 могут влиять на иммунный ответ при данном заболевании. Так, в египетской, аргентинской и польской популяциях ген, кодирующий TNF- α ассоциировался с пузырчаткой, тогда как в Словакии такой взаимосвязи не наблюдалось [54, 55].

Упоминалось также, что ген NFkB1 сигнального пути киназы, ассоциированной с рецептором интерлейкина-1 ((IRAK-1)/ядерный фактор каппа В (NF- κ B)) оказывает влияние на развитие пузырчатки [56].

В китайской (n=1031) и еврейской (n=37) популяциях также был обнаружен ген TAP2, отвечающий за кодирование белка, участвующего в сборке пептидов и их транспортировке к антигенам HLA класса I гистосовместимости [57, 58].

Генетические варианты гена IGHV3, кодирующего переменную область тяжелой цепи иммуноглобулинов, могут играть важную роль в патогенезе различных заболеваний, включая АП и БП. Исследования показывают, что определенные полиморфизмы в этом гене могут предрасполагать к развитию аутоиммунных заболеваний, включая АП или их прогрессирование [59]. Zitouni M et al. 2002 исследовали этот ген у больных АП на небольшой выборке пациентов (n=12).

Другие авторы изучали влияние некодирующих РНК (lncRNA) на развитие пузырчатки, которые посредством взаимодействия с ДНК и белками способствовали активации различных генов и модифицировали хроматин, который затем оказывал влияние на экспрессию соседних генов. lncRNA также участвовали в процессе сплайсинга мРНК, изменяя состав белков и влияли на процесс перевода мРНК в белок. Этот ген может быть рассмотрен в качестве потенциальной мишени для терапии АП в будущем [60].

Sarig et al. 2012 выявили популяционный специфический геномный сегмент 8q11.23, включающий ген ST18, который с высокой статистической значимостью чаще встречался у больных АП в египетской и еврейской популяциях. Известно, что ген ST18 регулирует апоптоз клеток и индуцирует воспаление в тканях посредством выброса кератиноцитами провоспалительных цитокинов [61].

Два различных гаплотипа, находящихся в области гена DSG3, кодирующего десмоглеин 3, были обнаружены у больных АП из Северной Индии и Великобритании [62]. Недавнее исследование показало, что ген ST18 напрямую связывался и активировал промотор (участок ДНК) TNF, способствуя усилению экспрессии TNF- α в коже больных АП и тем самым дестабилизировал адгезию кератиноцитов [63]. Кроме того, гиперэкспрессия ST18 усиливала утрату десмоглеина 3 (Дсг3) в кератиноцитах, вызывая компенсаторную активацию p53 через сигнальный путь p38 митоген-активированной протеинкиназы (p38МАРК), что клинически проявлялось более тяжёлым течением пузырчатки [64].

1.2.3. Механизмы развития стероидной резистентности у пациентов с акантолитической пузырчаткой

СГК традиционно считаются препаратами первой линии в лечении АП. До «стероидной эры» смертность при пузырчатке составляла 75%. Их применение с 1950 гг. XX века позволило снизить летальный исход в среднем до 30%. В недавних исследованиях смертность снизилась до 0%, и ремиссия у больных составила около 6 лет. В комбинации с СГК для повышения эффективности лечения используют

адьювантные препараты, которые снижают потребность в применении высоких суточных доз СГК, уменьшая тем самым их побочные эффекты, позволяют более активно проводить снижение СГК. Они включают в себя такие иммуносупрессивные препараты, как ритуксимаб, циклофосфамид, азатиоприн, циклоспорин, метотрексат и мофетил микофенолат, внутривенный иммуноглобулин (IVIg), плазмаферез [65, 66].

К сожалению, у некоторых больных АП отмечается низкая чувствительность к терапии высокими дозами СГК, проявляющаяся в отсутствии выраженного положительного терапевтического эффекта, а также возникновении частых рецидивов и осложнений; в научной литературе появился термин – стероидная резистентность (СР) [67].

В 2008 году Murrell et al. представили клинические критерии не-ответа больных пузырчаткой на терапию СГК. К ним относятся:

1. Появление новых высыпаний, увеличением старых элементов;
2. Отсутствие заживления уже существующих высыпаний, несмотря на 3-недельное лечение больных СГК в дозе 1,5 мг/кг/день в монотерапии или в комбинации с адьювантными препаратами.

Изучение причин СР при тяжёлых БД остаётся актуальным в связи с увеличением частоты её развития у данной категории пациентов в последние годы [68].

Механизмы СР исследовались на рецепторном и пострецепторном молекулярных уровнях, а также в системе вторичных мессенджеров. На рецепторном уровне к ним относились: десенситизация (синонимы: рефрактерность, даун-регуляция), которая возникала за счет снижения количества внутриклеточных рецепторов, их стабильности или чувствительности к СГК, нарушение димеризации и гетеродимеризации рецепторов, межбелковые взаимодействия и мутации генов рецепторов [69].

1.2.3.1. Роль внутриклеточных рецепторов в развитии стероидной резистентности

Глюкокортикоидные рецепторы (ГР) кодируются геном NR3C1, который располагается на пятой хромосоме в области (5q31.3) [70].

ГР представляет собой белок, состоящий из трех основных доменов: N-терминальный трансактиваторный домен (NTD), центральный ДНК-связывающий домен (DBD), и C-терминальный лиганд-связывающий домен (LBD). DBD домен состоит из двух «цинковых пальцев», которые распознают и связывают ДНК-мишени, так называемые – глюкокортикоид реагирующие элементы (GREs). Существует три разновидности ГР – α , β и γ . Наиболее значимыми для развития СР являются α и β -изоформы ГР. Следует отметить, что α и β -изоформы имеют 727 идентичных аминокислотных остатков. Однако β -изоформа ГР содержит 15 дополнительных аминокислот. α -изоформа ГР представляет собой классический рецептор, который взаимодействует с СГК и содержит 50 дополнительных аминокислот. β -изоформа ГР является доминантным ингибитором α -изоформы ГР и не способна связываться с СГК [71].

1.2.3.2. Геномные и негеномные механизмы связывания системных глюкокортикостероидов с клеточным рецептором

При связывании с СГК происходит изменение конформации рецептора, диссоциация от белков-шаперонов и перемещение в ядро клетки. В ядре ГР подавляет экспрессию провоспалительных генов или усиливает экспрессию противовоспалительных генов [72]. Это осуществляется благодаря связыванию ГР с элементом глюкокортикоидной регуляции (GRE) промоторной области гена, чувствительного к глюкокортикоидам, или путем взаимодействия между ДНК-связанным ГР и коактиватором транскрипции [73]. Отрицательный GRE (nGRE) опосредует глюкокортикоид-зависимую репрессию специфических генов [72, 74]. Основное противовоспалительное действие СГК обусловлено белок-белковым

взаимодействием ГР и транскрипционных факторов, модулирующих экспрессию провоспалительных генов: белка активатора-1 (AP-1), ядерного фактора kB (NF-kB) [72, 75]. Гены-мишени включают большинство медиаторов воспаления, таких как хемокины, цитокины, факторы роста и их рецепторы [72, 76]. Гены, активируемые SGK, кодируют β 2-адренергические рецепторы и противовоспалительные рецепторы, секреторный ингибитор лейкопротеазы и митоген-активированный белок (MAP) киназы фосфатазы 1 (MKP1) [72, 73].

Кроме классического геномного действия SGK, существует негеномный механизм, который не предполагает изменения экспрессии генов и вызывает достаточно быстрый клеточный ответ [72, 74]. К быстрым эффектам SGK относятся: повышение частоты возбуждающих постсинаптических потенциалов в гиппокампе, кардиопротекторное и иммуномодулирующее действие, связанное с нарушением T-передачи сигналов клеточного рецептора, а также ингибирование выделения из гипофиза АКТГ [72, 77].

1.2.3.3. Экспрессия β -изоформ глюкокортикоидного рецептора, активация транскрипционных факторов NF-kB и AP-1

Повышенная экспрессия мРНК β -изоформы ГР у больных является одной из причин возникновения СР. Многие исследования показали, что избыточная экспрессия β -изоформы ГР вызывает уменьшение чувствительности ингибирующих эффектов SGK на экспрессию генов [74].

По-видимому, наличие полиморфизма одного нуклеотида в нетранслируемой области 3' мРНК β -изоформы ГР (rs6198G аллель) приводит к увеличению синтеза белка. Таким образом, β -изоформа ГР подавляет транскрипцию α -изоформы ГР, приводя тем самым к возникновению СР.

Было также показано, что β -изоформа ГР имеет собственную транскрипционную активность. Интересно, что в предыдущих работах авторы сравнивали два исследования и изучили смодулированную избыточную экспрессию β -изоформы ГР у 78 генов с помощью микрочипов. У 29 из 78 генов наблюдалась опосредованная β -изоформой

даун-регуляция (снижение количества внутриклеточных рецепторов на поверхности клетки при повышенной концентрации лиганда), в то время как у 8 наблюдалась повышенная регуляция. Интересно, что 41 ген в исследованиях показал различный ответ на β -изоформу ГР; авторы предположили, что она модулирует мРНК экспрессию у чувствительных генов в клетке или культуре клеток. Следует отметить, что транскрипционная активность β -изоформы ГР не опосредуется связыванием с глюкокортикоид-чувствительными элементами [78]. Charmandari E et. al. 2005 обнаружили, что β -изоформа также может подавлять транскрипционную активность α -изоформы ГР посредством связывания с P160 коактиваторами и с глюкокортикоид-связывающими белками 1 (CRIP1) [79]. Следовательно, снижение экспрессии α -изоформы ГР может быть связано с повышенной активностью β -изоформы ГР.

Транскрипционный фактор NF- κ B обладает посттрансляционной активностью и может активировать значительное количество генов в ядре, ассоциированных с иммунным ответом. Например, NF- κ B играет важную роль в экспрессии генов множества провоспалительных цитокинов: IL1, γ -интерферона, IL2, IL6, IL8, IL12p40 в лимфоцитах, моноцитах и эпителиальных клетках, что также является причиной возникновения нечувствительности к СГК [80]. Известно, что α -изоформа ГР является ингибитором NF- κ B индуцированных ферментов – гистон-ацетилтрансфераз. Однако транскрипционный нуклеарный фактор NF- κ B способен подавлять транскрипцию мРНК α -изоформы ГР, и, судя по всему, его повышенная экспрессия является одной из причин возникновения СР [81].

Авторы также указывали на роль MAPK c-Jun N терминальной киназы, которая активируется TNF- α и другими провоспалительными цитокинами, в фосфорилировании ГР (на уровне Ser-226) и ингибировании связывания с GRE (глюкокортикоид-отвечающими элементами) [82].

Также была исследована роль AP-1 в возникновении СР. AP-1 представляет собой гетеродимер Fos и Jun протеинов, который может быть активирован посредством JNK пути и провоспалительных цитокинов - TNF- α . Повышенная активация AP-1 приводила к возникновению СР у больных бронхиальной астмой, поскольку AP-1 связывается с ГР

и таким образом, препятствует связыванию СГК с GRE и другими факторами транскрипции [83].

Таким образом, существенная часть эффектов СГК, воздействующих на иммунную систему, может быть объяснена взаимодействием между α -изоформой ГР с нуклеарным провоспалительным фактором NF- κ B, повышенной экспрессией β -изоформы ГР, вторичными мессенджерами (цАМФ, цГМФ, ионы Ca^{2+} , IP_3), а также генетическими нарушениями, что требует дальнейшего углубленного изучения [84].

Анализ экспрессии изоформ ГР был продемонстрирован во многих исследованиях. Так, Kubin M et al. 2016 при оценке экспрессии α - и β -изоформ ГР в лимфоцитах у больных БП не обнаружили статистически значимых различий в вариабельности их значений до и после лечения СГК и сделали вывод, что повышенная экспрессия β -изоформ ГР не может быть значимым биомаркером СР при данном заболевании [85].

В литературе также представлены описания исследований, доказывающих роль ГР в развитии резистентных форм бронхиальной астмы, ревматоидного артрита [86, 87, 88]. У таких пациентов наблюдалось нарушение связывания лиганда (глюкокортикоида) с мембранными рецепторами и α -изоформой ГР, а также снижение и увеличение экспрессии α - и β -ГР [89].

1.2.3.4. Генетические механизмы стероидной резистентности. Полиморфизм NR3C1 гена, кодирующего глюкокортикоидный рецептор

Все изоформы ГР кодируются геном NR3C1, который локализуется на 5-й хромосоме (в области участка 5q31.3). Полиморфизм и мутации в гене данного рецептора могут приводить к плохому ответу на терапию СГК. Так, например, Fang S et al. 2017 исследовали полиморфизм данного гена у 92 больных пузырьчаткой. Оценивалось генотипирование однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в BCL1, Arg23Lys, Asn363Ser, 1548 t-insert, le747Met и tag-SNP в сайтах гена NR3C1 [90]. Авторы не обнаружили статистически значимых результатов по частотам аллелей и генотипов, связанных с данными полиморфизмами. Однако авторы также

отметили, что SNP rs 11745958 C/T (ОШ: 8,95) и rs17209237 A/G (ОШ: 4,07) могли бы быть связаны с повышенным риском развития СР, тогда как rs33388 A/T (ОШ: 0,45) и rs7701443 A/G (ОШ: 0,51), наоборот, может указывать на снижение риска ее развития у больных АП. Таким образом, был сделан вывод, что вариации гена NR3C1 могут быть связаны с нечувствительностью этих больных к системной гормональной терапии [90].

Le TVT et al. 2021 также исследовали ответ больных пузырьчаткой на СГК на генном уровне. В гене NR3C1 были обнаружены 6 полиморфизмов: rs17209237, rs11745958, rs7701443, rs41423247, rs33388 и rs6196. Авторы показали, что генотипы rs17209237 AA, rs11745958 CC и rs6196 AG отвечали за более высокую чувствительность больных к СГК. У пациентов с генотипами rs17209237 AA и rs6196 AG время снижения СГК было значительно более короткое. rs17209237 AA и rs11745958 CC генотипы были связаны с более коротким временем достижения улучшения кожного процесса – 50 и 25% баллов от индекса PDAI (periphigus disease area index/индекс степени тяжести АП). Таким образом, авторы сделали вывод, что вариации гена NR3C1 могут предсказать реакцию пациентов на лечение СГК [91].

Механизм СР также исследовался и при семейной бронхиальной астме. Авторы оценивали лимфоциты с помощью микрочипов у резистентных и чувствительных к СГК больных и обнаружили 11 различающихся генов между этими группами, подтверждая тем самым необходимость разработки геномного теста для выявления плохого ответа на терапию СГК [92].

1.2.4. Пузырная/блистерная жидкость и сыворотка как потенциальные источники биомаркеров тяжести и рефрактерного течения пузырьчатки

Исследование пузырьной/блистерной жидкости у больных БД и, в частности, пузырьчаткой имеет важное значение для диагностики и понимания патогенеза заболевания.

Несмотря на то, что клеточный состав пузырьной жидкости имеет сходство с периферической кровью, она также отражает локальное воспаление и микроокружение непосредственно в коже. Локальное высвобождение провоспалительных медиаторов, хемокинов и цитокинов может не обнаруживаться в периферической крови, поскольку ее клеточный состав несколько отличается от такового в пузырьной жидкости.

Kowalski EH et al. 2019 в мета-анализе исследовали различия в цитокиновом профиле в пузырьной жидкости и сыворотке у больных АП и БП с целью оценки каскада механизмов воспаления непосредственно в месте формирования пузыря. Авторы обнаружили различия между данными дерматозами. Так, например, IL10 был значимо на более высоком уровне у больных АП по сравнению с БП, что подтверждает его важную роль в патогенезе заболевания, поскольку именно он запускает пролиферацию и дифференцировку В-клеток, которые затем продуцируют IgG к Дсг 1 и/или 3, запуская механизм акантолиза [19, 93]. Повышение уровня IL10 в пузырьной жидкости также указывало на более тяжелое течение пузырчатки. Кроме того, у этих же пациентов уровень IL10 был выше именно в пузырьной жидкости по сравнению с сывороткой [19, 94].

Tamaki K et al 2006 исследовали уровень хемокинов в сыворотке у больных АП. Было показано, что некоторые хемокины, относящиеся к Th1 и Th2 клеткам стимулировали аутоиммунный процесс посредством селективного привлечения различных классов лейкоцитов в процесс воспаления [95]. Авторы продемонстрировали более высокий уровень хемокинов CXCL9 и TARC/CCL17 в сыворотке больных АП и БП. Известно, что CXCL9 стимулирует хемотаксис посредством рецептора CXCL9/CXCR3, который регулирует миграцию иммунных клеток, их активацию и дифференцировку. Данный хемокин также участвует в рекрутинге цитотоксических лимфоцитов, натуральных киллеров, НКТ клеток и макрофагов. CCL17 известен в качестве одного из наиболее мощных хемокинов, продуцируемых тимусом, а также антиген-презентирующими клетками, такими как: дендритные клетки, макрофаги и моноциты [95].

Хемокин CCL17 также играет большую роль в канцерогенезе. Он индуцирует хемотаксис, а также отвечает за коммуникацию между клетками посредством рецептора CCR4, экспрессируемого Т-лейкоцитами у больных Т-клеточными лимфомами. Данный рецептор можно рассмотреть в качестве потенциальной точки приложения для таргетной терапии АП в будущем [95].

В другом исследовании у больных пузырчаткой также было зафиксировано повышение уровня воспалительных цитокинов в сыворотке, связанных с Th1/Th17, таких как IFN- γ , IL17 и IL23. Кроме того, у этих же больных наблюдалось увеличение уровня CXCL8 и снижение уровня хемокинов, ассоциированных с Th1/Th2, включая IL10 и CCL11 [96].

Alescu M et al. 1999 исследовали концентрацию TNF- α в пузырной жидкости и сравнивали с таковым у больных опоясывающим герпесом. Уровень TNF- α был значительно выше в пузырной жидкости у больных пузырчаткой. TNF- α , как известно, стимулирует активацию и пролиферацию Т-лимфоцитов, которые играют ключевую роль в развитии аутоиммунных заболеваний и, в частности, АП [97].

Echigo T et al. 2006 исследовали Th1 и Th2 хемокины в сыворотке больных АП методом проточной цитометрии и выявили снижение Treg-клеток и увеличение уровня и Th17-ассоциированных молекул (IL17A, CCL-20, ROR γ t, CCR6) в сыворотке больных АП соответственно. Авторы также выявили дефектный лиганд-рецептор CCR4-CCL22, который не мог подавить локальное воспаление в коже. Таким образом, полиморфизм данного лиганда требует дальнейшего изучения и может выступить в качестве потенциальной мишени для разработки новых методов лечения [98].

Интересно также, что металлопротеиназы, которые представляют собой ферменты, поражающие молекулы адгезии при БД проявили свою активность в экспериментальной модели АП и БП и непосредственно принимали участие во формировании пузырей на коже и слизистых оболочках [99].

Chriguer RS et. al 2012 при исследовании цитокинового профиля больных АП обнаружили более высокий уровень IL6 и TNF- α , секретируемых

моноклеарными клетками крови у больных АП по сравнению с группой контроля даже после стимуляции клеток конкавалином-А и дексаметазоном ($p < 0,001$), что косвенно может свидетельствовать о их роли в развитии СР [100].

Существуют исследования о роли IL4 в развитии неадекватно ответа на СГК. Механизм действия IL4 заключается в стимуляции В-клеток к продукции IgE, а также других классов антител, которые затем атакуют структурные белки кожи и способствует миграции и активации эозинофилов и других воспалительных клеток. Кроме того, IL4 также принимает участие в дифференцировке Т-клеток в Th2-клетки, которые играют важную роль в формировании не только аллергических реакций, но и усилении воспалительных процессов посредством влияния на ГР, приводя к рефрактерному течению заболевания [101].

Так, например, Goleva E et al. 2008 в проводимом исследовании продемонстрировали, что комбинация IL2/IL4 ингибировала ядерную транслокацию α -изоформы ГР в Т-клетках. Следует отметить, что данный эффект устранялся с помощью IFN- γ посредством ингибирования активации сигнальный путей митоген-активируемых протеинкиназ (p38 MAPK), контролирующих транскрипцию генов и пролиферацию клеток [101].

IL15 также согласно исследованиям менял экспрессию ГР на лимфоцитах. Авторами было продемонстрировано, что СГК в сочетании с IL15 в культурах клеток CD56+, полученных из периферической крови, индуцировали повышенную экспансию клеток CD56+CD3-, проявляя высокую цитолитическую активность и высокую продукцию IFN- γ , приводя к активации экспрессии рецепторов, включая NKp30, NKp44, NKp46, 2B4, NKG2D и DNAM-1. Более того, СГК защищали НК-клетки от гибели, вызванной IL15 [102].

1.2.5. Современные методы диагностики акантолитической пузырчатки

Диагноз АП основывается на данных анамнеза, клинической картины и лабораторных методах. К ним относятся гистологическое исследование, реакция прямой (РИФ) и непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ), которые

демонстрируют фиксацию IgG и C3 компонента комплемента в шиповатом или зернистом слое эпидермиса (в зависимости от формы АП) в коже и тканях мочевого пузыря крысы и/или пищевода обезьяны соответственно. Следует отметить, что при интерпретации серологических методов возможны также расхождения между ИФА и непрямой РИФ, или ложноотрицательные результаты серологических методов диагностики у пациентов с подтверждённым гистологически диагнозом АП или, напротив, ложноположительные результаты при отсутствии других лабораторных или клинических признаков заболевания [103].

Для оценки состояния больного также могут быть использованы индекс площади поражения при пузырчатке (Pemphigus Disease Area Index, PDAI), балльная оценка тяжести аутоиммунных буллёзных заболеваний кожи (Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity Score, ABSIS), индекс активности ВП (Pemphigus Vulgaris Activity Score, PVAS) и шкала общей оценки врача (Physician's Global Assessment, PGA). Однако следует отметить, что чувствительность и специфичность представленных индексов невысока. Это свидетельствует о том, что они не позволяют обобщить клинические данные в единую картину и не образуют единой универсальной системы оценки тяжести заболевания, аналогичной PASI и SCORAD при псориазе и атопическом дерматите соответственно [103].

Для оценки уровня антител в сыворотке пациентов используют метод ИФА. Его используют для оценки эффективности терапии. Однако и данный метод также может давать ложноположительные результаты, поскольку титр антител может оставаться высоким и при клинической ремиссии [103, 104, 105].

Наиболее чувствительными и специфичными методами диагностики ПНП являются РНИФ и иммуноблоттинг. Гистологически при ПНП будет наблюдаться супрабазальный акантолиз по типу «raw of tombstones» или «надгробных памятников» [106]. Для оценки эффективности терапии при АП может быть использован иммуноферментный анализ (ИФА) [107, 108].

В перспективе в качестве нового метода диагностики АП могут применяться микроРНК, представляющие собой малые некодирующие РНК, контролируемые

экспрессию генов на посттранскрипционном уровне, а также участвующие в регуляции врожденного и адаптивного иммунного ответа, клеточной пролиферации и апоптоза [103]. Так, N. Lin et al. 2018 в проводимом исследовании показали, что экспрессия miR-338-3p в мононуклеарных клетках коррелировала со степенью тяжести АП, которая оценивалась с помощью индексов PDAI и ABSIS [103, 109, 110]. Усовершенствование данного метода диагностики позволило бы спрогнозировать течение заболевания и спланировать дальнейшую тактику лечения АП [103]. Дифференцировать заболевание следует с БП, ССД/ТЭН, герпетическим дерматитом Дюринга, афтозным стоматитом, многоформной экссудативной эритемой и доброкачественной семейной пузырчаткой Хейли-Хейли [25, 111, 112, 113, 114].

1.2.6. Современные методы лечения акантолитической пузырчатки

1.2.6.1. Первая линия терапии акантолитической пузырчатки

СГК являются первой линией терапии АП и, как правило, назначаются в высокой дозе – 0,5-1,0 мг/кг/день per os с постепенным медленным снижением до 10 мг/сут, которую пациенты получают длительно [33]. Больным АП средней и тяжелой степени тяжести также могут быть назначены два курса ритуксимаба в дозе 1000 мг в/в каждые две недели или четыре вливания в дозе 375 мг/м² еженедельно. При обострении заболевания курс повторяют. Механизм действия ритуксимаба заключается в том, что препарат является моноклональным антителом к CD20 и таким образом, стимулирует истощение В-клеток, ответственных за выработку IgG антител к мембранам клеток шиповатого слоя [33, 115].

1.2.6.2. Адьювантная терапия пузырчатки

В качестве адьювантной терапии АП применяют стероид-сберегающие препараты, такие как азатиоприн в начальной дозе 50 мг/день с постепенным

повышением до 150 мг/день, в зависимости от активности фермента тиопуринометилтрансферазы и мофетил микофенолат в дозе 30-40 мг/кг/день. Хорошо себя зарекомендовал человеческий внутривенный иммуноглобулин (IVIg) в суммарной дозе 2 мг/кг на один курс, длительностью в 2-5 дней [33]. Механизм действия IVIg сложный и включает в себя регуляцию Fc-рецепторов, цитокинового взаимодействия, а также дифференцировку и функцию Т- и В-клеток [116]. Начальная доза IVIg быстро повышает общий уровень циркулирующих иммуноглобулинов, что затем стимулирует гомеостатические механизмы катаболизма антител, приводя к снижению уровня IgG1 и IgG4 десмоглеинам 1 и 3 в сыворотке. В то же время антитела пациента заменяются антителами IVIg. Таким образом, комбинированная терапия ритуксимабом и IVIg может быть эффективным методом лечения рефрактерной формы АП, приводя по результатам исследований к долгосрочной полной ремиссии и минимизируя риск развития инфекционных осложнений [117, 118].

При тяжелых резистентных формах АП в комбинации с СГК и адъювантной терапией может быть назначен плазмаферез – три процедуры в неделю на протяжении 1-3 месяцев, а также экстракорпоральная фотохимиотерапия, которая продемонстрировала стероид-сберегающий эффект [33, 119].

1.2.6.3. Перспективные экспериментальные методы терапии акантолитической пузырчатки

В недавних исследованиях Lim YL 2022 и Yuan H 2022 показали высокую эффективность моноклональных антител второго и третьего поколений к CD20 – велтузумаба, окрелизумаба в качестве лечения АП по сравнению с ритуксимабом [120]. Ellebrecht CT et al. 2014 продемонстрировали высокую эффективность велтузумаба у рефрактерных к СГК больных АП [121].

В настоящее время, разрабатываются антитела для лечения АП с высокой аффинностью к неонатальному Fc-рецептору (FcRn), определяющему функции IgG

[122]. Препараты, нацеленные на FcRn, блокируют связывание IgG и иммунных комплексов IgG с FcRn, тем самым ускоряя распад патогенных аутоантител [123].

Werth VP et al 2021 продемонстрировали высокую эффективность и безопасность гуманизованного усовершенствованного моноклонального антитела IgG4-каппа – ALXN1830 с высокой афинностью к Fc рецептору у больных АП в виде отсутствия побочных эффектов и полного регресса высыпаний [124].

Сообщалось также о применении эфгартигимода – препарата для лечения тяжелой миастении, модифицированного с целью увеличения аффинности к FcRn IgG. Он представляет собой Fc-фрагмент человеческого IgG1 и естественный лиганд FcRn [125]. В настоящее время закончена третья фаза исследования (NCT04598451) по оценке эффективности и безопасности внутрикожного введения эфгартигимода больным АП. Авторы продемонстрировали его хорошую переносимость и достижение быстрого контроля активности заболевания по сравнению с исходными параметрами, что подтверждает необходимость дальнейшей оценки его применения в качестве терапии АП [126].

В некоторых исследованиях хорошо себя зарекомендовали малые молекулы – ингибиторы тирокиназы Брутона (ИТБ), которая является компонентом сигнальных путей пре-B-клеточного и B-клеточного рецепторов. Yamagami J, et al 2021 оценивали эффективность тирабрутиниба у 16 рефрактерных больных АП, который они получали в суточной дозе 80 мг в течение 52 недель. Полная ремиссия наблюдалась у 50% больных, частичная – у 14,3% [127]. Еще один препарат PRN1008 (рилзабрутиниб) в проводимых исследованиях способствовал снижению регуляции множества функций В-клеток, а также Fc рецептора IgG1, что делает тирозинкиназу перспективной терапевтической мишенью при АП [128].

Был также зарегистрирован случай лечения больной ПНП, ассоциированной с хроническим лимфоцитарным лейкозом ибрутинибом – ковалентным селективным ИТБ, который показал свою эффективность в виде полного регресса высыпаний [129].

У резистентных к ритуксимабу пациентов в перспективе могут быть назначены анти-CD25 антитела (даклизумаб и базиликсимаб) или таргетная терапия, направленная на взаимодействие Т- и В-клеточного иммунитета [130].

Кроме того, существуют новые исследования, посвященные разработке химерных аутоантител-рецепторов (CAAR)-Т клеток, которые позволят более точно распознавать домены десмоглеинов [130].

Таким образом, в перспективе лечение АП должно включать персонализированные подходы, направленные на генетические особенности заболевания, что даст возможность эффективно контролировать активность заболевания.

1.3. Буллезный пемфигоид Левера. Эпидемиология. Этиология. Механизмы патогенеза. Стероидная резистентность. Цитокиновый и хемокиновый состав пузырной жидкости. Диагностика. Современные методы терапии

1.3.1. Эпидемиология буллезного пемфигоида Левера

Буллезный пемфигоид Левера (БП) представляет собой тяжелое, генетически детерминированное, аутоиммунное заболевание кожи, реже – слизистых оболочек, характеризующееся выработкой аутоантител IgG (реже IgA, IgM и IgE) к базальной мембране, а именно гемидесмосомальному адгезивному комплексу, протеину из семейства плакинов – BP230 и неколлагеновому домену 16 (NC16A) – BP180, что приводит к возникновению субэпидермальных пузырей без признаков акантолиза [131, 132, 133].

Частота БП в Европе составляет 6-7 случаев на один миллион в год. В Российской Федерации заболеваемость БП на 2014 год составила 1,1 случай на 100,000 взрослого населения, а распространенность – 2,6 случаев на 100,000 взрослого населения [134]. Заболевание поражает одинаково часто как мужчин, так и женщин. Средний возраст пациентов составляет более 70 лет [134].

К этиологическим факторам, способствующим развитию БП относят физические ффакторы (травма, лучевая терапия, УФ облучение, антриалин), прием лекарственных препаратов (фуросемид, спиронолактон, омепразол, моноклональные антитела к PD-1 и PD-L1 (например, дурвалумаб, ниволумаб, пембролизумаб), сульфасалазин, пенициллин, пеницилламин, этанерцепт, антипсихотики, ингибиторы дипептидилпептидазы-4), дерматологические заболевания (псориаз, красный плоский лишай), а также коморбидные состояния – сахарный диабет, ревматоидный артрит, язвенный колит и рассеянный склероз [133].

1.3.2. Механизмы патогенеза буллезного пемфигоида

1.3.2.1. Ассоциация с HLA аллелями I и II классов и другими генами

С патогенетической точки зрения, при БП определенный набор аллелей риска способствует нарушению регуляции иммунных процессов. Взаимодействуя с пока еще не идентифицированными факторами окружающей среды, эти аллельные варианты приводят к утрате иммунной толерантности к собственным антигенам, что влечет за собой образование аутоантител класса IgG к базальной мембране с последующем формированием субэпидермального пузыря.

Некоторые провоцирующие факторы, такие как лекарственные препараты, термические или электрические ожоги, хирургические вмешательства, травмы, ультрафиолетовое облучение, лучевая терапия, химические агенты, трансплантация и различные инфекционные процессы могут вызывать или усугублять течение заболевания [135].

HLA-аллели на сегодняшний день являются наиболее значимыми генетическими факторами, предрасполагающими к развитию заболевания. Активация антигенспецифичных В-клеток и секреция IgG-антител, напрямую зависит от взаимодействия между Т-клеточными рецепторами и классическими

молекулами HLA II класса, поскольку главный комплекс гистосовместимости (МНС) является чрезвычайно важным компонентом иммунного ответа [136].

Взаимосвязь между HLA-аллелями II класса и развитием БП была обнаружена в британской, немецкой, китайской, японской и иранской популяциях [136, 137, 138, 139, 140].

Так, например, в китайской популяции авторы выявили более высокую частоту встречаемости HLA-DQB1*03:01, DQB1*05:01 и DQB1*10:01 аллелей у больных БП по сравнению со здоровыми донорами [141]. Некоторые компьютерные модели показали, что аллель DQB1*03:01 усиливал Т-клеточную тропность к различным эпитопам ВР180, в частности ВРNC16А домену, и, следовательно, играл ключевую роль в индукции иммунного ответа к различным антигенным доменам в области базальной мембраны и формировании субэпидермального пузыря [136, 142].

Среди пациентов, принадлежавших к этнической группе Хань северного Китая наличие аллелей DQA1*01:05, DQA1*05:05, DQA1*05:08, DQB1*03:01, DQB1*05:01, DRB1*10:01 увеличивало восприимчивость к БП. Напротив, HLA-DQA1*01:02, DQA1*01:03, DQB1*02:02, DRB1*07:01, DRB1*08 и DRB1*08/DQB1*06 аллели являлись «протективными» и снижали восприимчивость популяции к развитию заболевания [142, 143, 144]. Исследование Sun Y et al. 2018 также показало, что аллель DQB1*03:01 являлся единственным значимо ассоциированным с риском возникновения БП фактором в китайской популяции, тогда как DQB1*03:03 и DQB1*06:01, напротив, снижали восприимчивость популяции к его развитию [145].

Интересно, что HLA DQB1*03:01 аллель встречался у больных с различными формами БП [146]. Это также подтверждается систематическим обзором, в котором было проанализировано 20 исследований (1485 случаев БП и 28,117 здоровых доноров). Было продемонстрировано, что DQB1*03:01, DRB1*11:01 и DQA1*05:05 аллели II класса являлись факторами риска развития БП, в то время как DQA1*02:01 аллель носил протективный характер в отношении его развития [147].

У больных БП в японской популяции достоверно чаще встречались HLA аллели DRB1*04, DRB1*11:01 и DQB1*03:02, подчеркивая вариабельность HLA аллелей II класса у таких больных в различных популяциях [148].

Аллели DQB1*03:01, DQA1*01:03, DQA1*05:05 являлись значимыми факторами риска развития БП в бразильской популяции [149].

Наличие HLA-DQA1*05:05, HLA-DRB1*07:01 аллелей показало наибольшую взаимосвязь с БП среди жителей Германии [144]. Следует отметить, что при проведении генетического анализа HLA аллелей II класса в иранской популяции было продемонстрировано, что гаплотип DRB1*11:01/DQA1*05:01/DQB1*03:01 достоверно чаще встречался у пациентов с БП по сравнению со здоровыми донорами [141].

У европейцев также была обнаружена ассоциация с локусами II класса главного комплекса гистосовместимости (МНС), а именно - HLA-DRB1 и DQB1 аллелями. Авторы установили, что аллель HLA-DQA1*05:05 был связан с повышенным риском развития БП, в то время как HLA-DQA1*02:01, наоборот, ассоциировалась с более низкой вероятностью развития заболевания [150]. Авторы указывали на то, что HLA-DQA1 аллель также повышал вероятность развития БП [150]. Так, Hesari R et al. 2023 при оценке аллелей риска у больных БП на большой выборке пациентов (n=707) обнаружили предрасполагающие к развитию заболевания аллели. К ним относился HLA-DQA1*05:05 аллель (ОШ = 2,25). В то время, как HLA-DQA1*02:01 встречался (ОШ = 0,50) достоверно чаще у здоровых доноров, что говорит о его протективной роли по отношению к развитию БП [150].

К таргетным генам БП также относятся COL17A1, DST, C3, C5, HLA-DRB1, HLA-DQB1, IL3, IL3RA, IL4, IL4R, IL5, IL5RA, IL6, IL6R, IL7, IL7R, IL8, IL10, IL10RA, IL10RB, IL15, IL15RA, TNF, CCL2, CCL5, CCL11, CCL13, CCL18, FIGF, ICAM1, DSP, DSG1, PPL, EVPL, ITGB4 и ген ITGA6 [151, 152, 153, 154].

1.3.2.2. Факторы, влияющие на расщепление и истощение BP180

Воздействие IgG на один из главных антигенов BP180 приводит к его истощению и последующему нарушению адгезивных свойств клеток [151]. IgG ассоциированная инфильтрация тучными клетками, эозинофилами и нейтрофилами может вызвать продукцию различных воспалительных факторов и протеаз, способствующих образованию пузырей.

У больных БП в коже, сыворотке и пузырьной жидкости наблюдалось увеличение экспрессии и концентрации таких цитокинов, как IL1 β , IL2, IL4, IL5, IL6, IL8, IL10, IL13, IL17, IL22, IL23, IL31, IL36, INF γ , TNF- α , трансформирующий фактор роста- β , моноцитарный хемотаксический белок 1, 10 и CCL17 [151, 155, 156, 157, 158]. Кроме того, наблюдалась повышенная экспрессия лигандов хемокиновых рецепторов в сыворотке и коже у этих пациентов, таких как CCL11, CCL13, CCL18, CCL26, и CCL28 [151, 159].

1.3.2.3. Изменения в цитокиновом профиле

Согласно данным литературы, механизмы, регулирующие рекрутирование воспалительных клеток в пораженной коже при БП не до конца изучены. Однако недавнее исследование подчеркнуло ключевую роль интерлейкина IL17A в рекрутинге воспалительных клеток, что подтверждалось повышенной экспрессией мРНК IL17A в гистологических срезах у больных БП [160, 161].

Кроме того, используя криосрезы нормальной человеческой кожи и экспериментальные модели на мышах, было показано, что блокирование интерлейкина-17 с помощью антител против IL17 эффективно предотвращало образование пузырей, вызванных IgG к BP180 [160, 161]. Кроме того, в данной экспериментальной модели значимо высокий уровень IL17A коррелировал с тяжестью заболевания [160, 161].

Кроме того, исследование, проведенное Liu et al. 2017, сосредоточилось на роли TWEAK (TNF-связанный индуктор апоптоза) в индукции формирования

пузырей при данном заболевании. Было продемонстрировано, что уровни TWEAK в сыворотке крови обратно коррелировали с экспрессией BP180 и уровнем клеточной адгезии. Более того, активация TWEAK инициировала воспалительные процессы через экстрацеллюлярные сигнальные пути, регулируемые киназами, управляемыми экстрацеллюлярными сигналами, а также ядерным фактором NF- κ B [162].

1.3.2.4. Дисфункция регуляторных T- и B-клеток

Известно, что T-регуляторные клетки (T_{reg}) предотвращают спонтанную выработку IgG к антигенам базальной мембраны при БП. Исследователи в экспериментальной модели на мышах продемонстрировали быстрое формирование субэпидермальных пузырей за счет поражения BP230 в условиях полного отсутствия T_{reg} [163].

В другом исследовании T_{reg} понижали миграционные функции миелоидных клеток, посредством снижения экспрессии β 2-интегрина, что облегчало течение заболевания [164].

Liu et al. продемонстрировали, что B регуляторные клетки (B_{reg}), у больных БП обладают провоспалительным цитокиновым профилем и не способны к подавлению пролиферации CD4⁺ T-клеток и продукции аутоантител к BP180, указывая на то, что B_{reg} играют именно про-воспалительную, а не регуляторную роль при БП [165].

1.3.3. Исследование пузырной жидкости у больных буллезным пемфигоидом Левера

Пузырная жидкость представляет собой источник потенциальных биомаркеров тяжелого и рефрактерного течения БД. Она может предоставить информацию как о системных, так и о локальных реакциях непосредственно в месте формирования пузыря.

Solimani et al 2022 провели анализ протеома пузырьной жидкости у больных БП с использованием метода жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии [166]. Всего было идентифицировано 339 белков. Для увеличения точности исследования исследователи извлекали экзосомы - небольшие мембранные везикулы размером от 30 до 150 нм, которые обычно выделяются из клеток в окружающую среду [166]. В результате было получено 192 белка в пузырьной жидкости у больных БП, которые отражали следующие ключевые биологические процессы: врожденный иммунный ответ, дегрануляция нейтрофилов и тромбоцитов, а также активация комплемента. Далее блистерную жидкость больных БП сравнивали с пузырями от укусов змей, насекомых и термических ожогов и обнаружили 76 уникальных для заболевания белков. К ним относились – основной белок, пероксидаза эозинофилов, галектин-10 и тяжелая цепь иммуноглобулина E, что соответствует тканевой эозинофилии. Авторы сделали вывод о том, что пузырьная жидкость у больных БП отражает множество отличных от других пузырных дерматозов, специфических биологических процессов [166].

Kagami S et al. 2012 при оценке уровня CCL26 в пузырьной жидкости у больных БП обнаружили статистически значимое увеличение данного показателя по сравнению с ожоговой блистерной жидкостью ($p < 0,005$) [159]. Следует отметить, что показатель CCL26 также был достоверно выше в сыворотке у пациентов с БП по сравнению со здоровыми донорами ($p < 0,0001$) [159]. Таким образом, CCL26 можно рассматривать с точки зрения биомаркера для оценки тяжести течения заболевания и потенциальной терапевтической мишени [159].

Следует отметить, что гистологические образцы при БП на ранних стадиях формирования пузырей демонстрируют наличие эозинофилов и экстрацеллюлярные депозиты гранулоподобного белка. В блистерной жидкости БП также в большом количестве обнаруживались эозинофилы ($2,6 \pm 0,8 \times 10^6$ эозинофлов/мл), эотоксин, эозинофильный катионный белок и IL5 [167, 168, 169].

Кроме того, хемокин CCL11 усиливал иммунный ответ при БД. По данным исследований высокий уровень данного хемокина достоверно чаще встречался у больных БП с распространенными высыпаниями. CCL11 также участвовал в

рекрутинге эозинофилов в место воспаления посредством связывания с рецептором CCR3 (C-C chemokine receptor type 3), экспрессируемом на их поверхности [19, 170, 171].

В исследовании de Graauw et al. 2018 с использованием модели БП *ex vivo* было показано, что моноциты усиливали продукцию матриксной металлопротеиназы-9 (ММР-9) нейтрофилами, что ускорило процесс формирования субэпидермального пузыря посредством усиления деградации коллагена во внеклеточном матриксе [172].

Кроме того, другие авторы подчеркнули роль сериновой протеазы – гранзима В, вырабатываемого цитотоксическими Т-лимфоцитами и естественными киллерами (NK-клетками) в дермо-эпидермальном сочленении при различных аутоиммунных пузырьных дерматозах, включая БП [173]. У больных БП, герпетиформным дерматитом Дюринга и приобретенном буллезном эпидермолизе исследователи с помощью масс-спектрометрии выявили повышенную экспрессию гранзима В в дермо-эпидермальном сочленении по сравнению с группой контроля. Кроме того, уровень интегринов $\alpha 6/\beta 4$, коллагенов VII и XVII был низок или вовсе отсутствовал в области формирования пузыря у этих пациентов. Авторы сделали вывод, что гранзим В ассоциированный путь патогенеза БП может явиться важной и основной терапевтической мишенью [173].

В исследовании Fang et al. 2018 были получены убедительные данные, свидетельствующие о значимой роли экзосом, выделенных из пузырьной жидкости больных БП. Экзосомы представляют собой внеклеточные везикулы, играющие ключевую роль в межклеточной коммуникации и передаче воспалительных сигналов. В частности, было установлено, что они способствовали усилению воспалительного процесса, стимулируя хемотаксис нейтрофилов к очагу формирования субэпидермальных пузырей. Этот эффект достигался за счет повышения уровня CXCL8 (также известного как IL8), который является мощным медиатором привлечения нейтрофилов и тем самым способствует усилению локального воспаления в коже у таких пациентов [174].

1.3.4. Механизмы формирования стероидной резистентности у больных буллезным пемфигоидом Лёвёра на уровне глюкокортикоидных рецепторов

Первой линией терапии БП средней и тяжелой степени тяжести попрежнему являются СГК [134]. Однако небольшая, но существенная часть таких больных также может не давать адекватного ответа на гормональную терапию [175]. Следует отметить, что научных работ по оценке механизмов развития СР у больных БП недостаточно.

В исследовании Kubin et al. 2016 анализировалась экспрессия α - и β -изоформ ГР у 16 больных БП до начала лечения СГК и 17 пациентов с немеланомным раком кожи, служивших группой контроля. Экспрессия мРНК α -изоформы ГР обнаруживалась во всех исследуемых образцах, тогда как β -изоформа ГР – только у 13 больных БП и 12 участников контрольной группы [72, 175]. Интересно, что при применении иммуноблотинга повышенная экспрессия β -изоформы ГР наблюдалась только у четырех больных БП, что может быть связано с различной чувствительностью методов исследования. Экспрессия α -изоформы во время терапии преднизолоном носила переменный характер. Так, на 60-й день у девяти больных уровень ее экспрессии α -изоформы ГР увеличился, у четырех – снизился, у одного пациента остался на прежнем уровне [72, 175]. Более того, экспрессия β -изоформы ГР активировалась на начальных этапах лечения СГК, на 60-й день приёма преднизолона она оставалась повышенной у пяти больных, пониженной – у семи, на исходном уровне – у одного пациента. Таким образом, было установлено, что экспрессия изоформ ГР у больных БП менялась в процессе терапии СГК. Однако данное исследование имело ограничения в виде небольшой выборки пациентов [72, 175].

Следует отметить, что на генном уровне работ по исследованию механизмов СР у больных БП еще не проводилось.

1.3.5. Клиническая картина и современные методы диагностики буллезного пемфигоида Лёвера

Клиническая картина БП характеризуется двумя периодами развития – небуллезным и буллезным. Небуллезная фаза характеризуется интенсивным зудом, эритематонызми, папулезными и уртикарными элементами. Высыпания, как правило, локализуются на коже верхних и нижних конечностей, животе, пахово-бедренных складок и внутренней поверхности бедер. Слизистые оболочки поражаются редко. Небуллезная фаза характеризуется формированием плотных, супэпидермальных пузырей с плотной покрывкой, склонных к быстрой эпителизации. Пузыри, как правило, располагаются на эритематозном фоне [134].

Существуют несколько клинических вариантов БП. К ним относятся: везикуло-буллезный, эритродермический, пруригинозный и паранеопластический. Последний вариант может мимикрировать под АП и ССД/ТЭН [134].

Диагноз БП устанавливается на основании гистологического метода и прямой РИФ, которые выявляют наличие субэпидермального пузыря и отложение IgG и C3 компонента комплемента в области базальной мембраны (lamina lucida). Это позволяет провести дифференциальную диагностику с приобретенным буллезным эпидермолизом [130]. Для оценки эффективности терапии используют метод ИФА, который оценивает титр антител IgG к ВР180 и ВР230 в сыворотке больных БП. Для проведения дифференциальной диагностики БП с ПНП дополнительно может использоваться метод иммуноблоттинга [176].

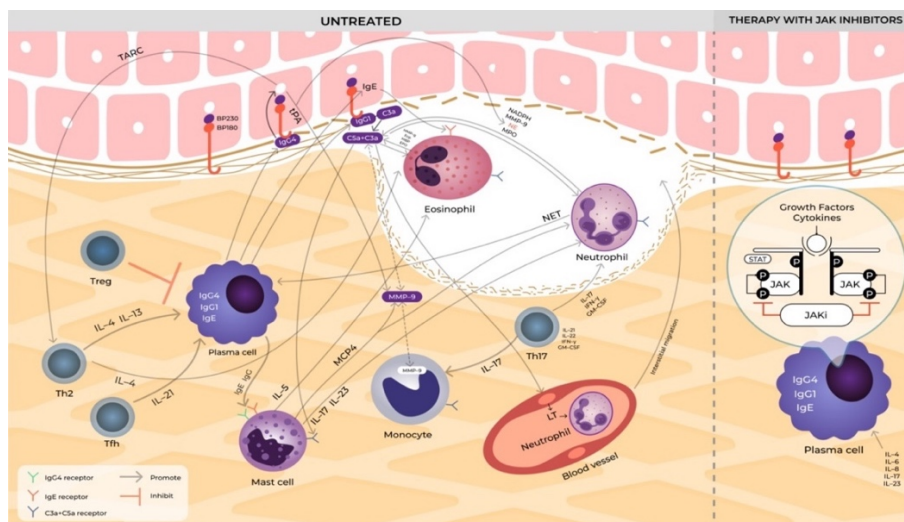
1.3.6. Современные методы терапии буллезного пемфигоида Лёвера

Терапия БП зависит от степени тяжести заболевания. Больным БП легкой степени тяжести назначаются топические глюкокортикостероиды (ГКС) сильного действия (клобетазола пропионат 0,05%); при БП средней и тяжелой – системные СГК в дозе 0,5-0,75 мг/кг массы тела [134]. Следует отметить, что согласно многим исследованиям

наиболее эффективным методом терапии БП в активную стадию процесса являлись именно топические ГКС [177, 178, 179].

В качестве адьювантной терапии в случае развития СР при БП применяют азатиоприн в дозе 2-5 мг/кг/сут, дапсон – 50-200 мг/сут, циклоспорин – более 6 мг/кг/сут, циклофосфамид – 100 мг/сут, метотрексат – 5-12 мг/неделю, мофетил микофенолат – 0,5-1 г 2 р/сут, внутривенный IVIG – 0,5 мг/кг/сут, хлорамбуцил – 0,1 – 0,15 мг/кг/сут. СГК и топические стероиды являются наиболее эффективными препаратами при лечении БП, в то время как, согласно данным ряда исследований, стероид-сберегающий эффект адьювантных препаратов при терапии этого заболевания демонстрирует ограниченную эффективность [180].

В качестве дополнительных методов терапии больных БД легкой и средней степени тяжести могут быть использованы тетрациклины (0,5-2 г/сутки) и никотинамид (500 мг – 2,5 г/сутки) [181]. Кроме того, некоторым больным могут быть назначены препараты сульфонового ряда в начальной дозе – 50 мг/сутки, а также ингибиторы янус киназы (JAK) [182]. Так, барицитиниб у больных БП, резистентных к СГК показал высокую эффективность и безопасность, а также длительную ремиссию. Клинический ответ связан с мощным ингибированием JAK1/JAK2 и блокадой STAT-сигнального пути, что приводит к подавлению IL4, IL6, IL31 и IFN- γ -опосредованного воспаления, снижению эозинофильной инфильтрации и аутоантитело-зависимой цитотоксичности в коже (Рисунок 1) [182, 183].



Примечание: C3 – комплемент 3; C3a – активированный третий компонент комплемента; C5a – активированный пятый компонент комплемента; C3aRs и C5aRs – рецепторы C3a и C5a соответственно; ECP – эозинофильный катионный белок; EETs – внеклеточные ловушки эозинофилов; MMP-9 – матриксная металлопротеиназа-9; NE – нейтрофильная эластаза; NETs – внеклеточные ловушки нейтрофилов; MCP-4 – протеаза-4 тучных клеток; EOS – эозинофил; EPO – эозинофильная пероксидаза; GM-CSF – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор; MBP – основной основной белок; RBC – эритроцит; Th – Т-хелперная клетка; Tfh – Т-фолликулярная хелперная клетка; TARC – тимус- и активационно-регулируемый хемокин; tPA – тканевый активатор плазминогена

Рисунок 1 – Буллезный пемфигоид Лёвера. Иммуный путь патогенеза и механизм JAK (авторский рисунок)

1.3.6.1. Перспективные методы терапии буллезного пемфигоида Лёвера

В качестве перспективных методов лечения БП могут быть использованы моноклональные антитела. Так, например, в некоторых исследованиях говорится о применении авдоралимаба – мишенью которого является C5aR1 – компонент комплемента, который непосредственно принимает участие в дегрануляции тучных клеток, участвующих в формировании субэпидермального пузыря [184, 185].

Известно, что некоторые эотоксины и хемокиновые рецепторы, в частности CCR3, который относится к семейству рецепторов, связанных с G-протеинами, и в основном экспрессируется на поверхности различных типов клеток, включая Т-лимфоциты, эозинофилы и базофилы играют важную роль в патогенезе заболевания. Например, в проводимых исследованиях (NCT02226146), препарат

бертилимумаб – антагонист эотоксина-1 показал свою эффективность в отношении лечения БП [186].

Согласно данным литературы, завершено двойное слепое клиническое исследование, в котором оценивалась эффективность препарата АКST4290 – ингибитора CCR3 у 30 больных БП в дозе 400 мг 2 р/сут в комбинации с мометазоном фуроатом (NCT04499235). Авторы отметили достижение пациентами положительного эффекта в виде полного регресса высыпаний и длительной ремиссии [180].

В некоторых исследованиях в качестве перспективного метода терапии у больных различными дерматологическими заболеваниями хорошо себя зарекомендовал дупилумаб, мишенью которого является IL4R α – субъединица IL4 и IL13. Помимо применения данного препарата у больных атопическим дерматитом, также проводились исследования по оценке его эффективности и безопасности и у пациентов с БП. Препарат назначался в начальной дозе 600 мг подкожно с последующим введением 300 мг каждые две недели с увеличением частоты дозирования по мере необходимости. Авторы отметили статистически значимое снижение зуда у больных БП, а также полное прекращение появления пузырей у 7 из 13 пациентов. Время ответа на терапию в среднем составило два месяца [187, 188, 189].

Хорошо себя зарекомендовали ритуксимаб и омализумаб. В одном из систематических обзоров было продемонстрировано, что применение ритуксимаба у 70,5% больных БП приводило к полной (n=86/122) и частичной ремиссии заболевания у 23,8% (n=29/122), средняя длительность которой составила 5,7 месяцев. Частота рецидивов БП достигала 20,5% (n=25/122).

Омализумаб способствовал достижению полной ремиссии у 67,9% пациентов (n=36/53) и частичной ремиссии у 20,8% (n=11/53) в течение 6,6 месяцев. Уровень рецидивов составил 5,7% (n=3/53). Однако у одного пациента (1,9%, n=1/53) наблюдался летальный исход, а тромбоцитопения (1,9%, n=1 из 53) была зарегистрирована как наиболее распространенное побочное явление [190].

1.4. Синдром Стивенса-Джонсона и токсический эпидермальный некролиз. Эпидемиология и этиология. Механизмы патогенеза. Цитокиновый и хемокиновый состав пузырной жидкости. Диагностика. Современные методы терапии

1.4.1. Эпидемиология и этиология синдрома Стивенса-Джонсона и токсического эпидермального некролиза

ССД и ТЭН представляют собой тяжелые, жизне-угрожающие заболевания кожи и слизистых оболочек, причиной развития которых являются лекарственные средства или реже – инфекции, нередко приводящие к летальному исходу [191]. ССД и ТЭН представляют собой иммунологическую реакцию замедленного типа. Т-клеточные рецепторы, связываясь с лекарственными комплексами, способствуют образованию CD8 цитотоксических Т-клеток, НК-клеток и экспрессии цитокинов, в частности – TNF- α [192].

Заболеваемость ССД, ТЭН составляет 1,5-2 случая на 1 млн человек. В Великобритании показатель заболеваемости ТЭН и ССД составил 5,76 случаев на 1 млн населения. У больных вирусом иммунодефицита человека частота встречаемости ССД и ТЭН составляет 0,95-1 случаев на 1000 человек. Смертность при ССД составляет 5-12% в то время как при ТЭН этот показатель достигает 40%. У женщин ТЭН диагностируется в два раза чаще, чем у мужчин [191, 192].

Часть больных ССД и практически все случаи ТЭН возникают в связи с применением таких лекарственных препаратов как: сульфаниламиды, антиконвульсанты (фенитоин и карбамазепин), пироксикам и аллопуринол. В некоторых случаях причиной возникновения заболеваний могут быть: бактериальные инфекции, вакцинация и т.д. [22].

1.4.2. Механизмы патогенеза синдрома Стивенса-Джонсона и токсического эпидермального некролиза. Связь с HLA аллелями гистосовместимости I и II классов. Цитотоксичность

Генетические факторы, такие как аллотипы человеческого лейкоцитарного антигена (HLA), играют роль в увеличении риска развития синдрома ССД и ТЭН у больных, принимающих ароматические противосудорожные препараты и аллопуринол [193].

В исследовании Roujeau et al. 1987 впервые было установлено, что определенные молекулы HLA способны распознавать лекарственные препараты, вызывающие патологическую иммунную реакцию. В частности, была обнаружена связь между аллелем HLA-B*12 у европейцев с развитием ТЭН, спровоцированного приемом оксикамов и сульфаниламидов [194].

Аллели риска развития данных тяжелых и жизнеугрожающих аллергических реакций разнятся в зависимости от популяции. Так, аллель HLA-B*15:02 являлся фактором риска развития заболевания, у пациентов принимавших ароматические противосудорожные препараты по поводу эпилепсии в индийской, китайской и малазийской популяциях. У больных, получавших аллопуринол с наличием HLA-B*5801 аллеля также увеличивался риск развития ССД/ТЭН [195]. В европейской популяции HLA-B*57:01 и HLA-A*31:01 аллели предрасполагали к развитию заболевания, в особенности у тех, кто получал абакавир и карбамазепин по поводу ВИЧ инфекции и эпилепсии соответственно [195, 196]. Наличие у больных HLA-A*31:01 и HLA-B*11:01 аллелей при приеме карбамазепина также было связано с риском возникновения ССД/ТЭН в испанской популяции, в то время как HLA-A*31:01, HLA-B*15:11, HLA-B*15:21 аллели преобладали в корейской, японской и филиппинской популяциях соответственно [197, 198, 199, 200].

Противосудорожный препарат фенитоин по данным литературы также мог стимулировать развитие ССД/ТЭН при наличии у больных HLA-B*15:02 и HLA-B*15:13 аллелей в малазийской и HLA-A*33:03, HLA-B*38:02, HLA-B*51:01,

HLA-B*56:02, HLA-B*58:01, HLA-C*14:02 аллельных вариантов в тайской популяциях соответственно [201, 202].

Согласно проводимым исследованиями ССД/ТЭН также может быть индуцирован приемом аллопуринола, используемого для лечения гиперурикемии и подагры. Например, в китайской, корейской, японской и европейской популяциях у носителей HLA-B*58:01 аллеля риск возникновения тяжелых кожных реакций, в частности, ССД/ТЭН был значительно выше по сравнению с теми, у кого данного варианта гена не наблюдалось [203, 204, 205, 206].

Исследования продемонстрировали, что абакавир – нуклеозидный ингибитор обратной транскриптазы, используемый для лечения ВИЧ-инфекции, вызывал ССД/ТЭН у пациентов с аллелем HLA-B*57:01 [207, 208, 209].

Основной механизм развития ССД/ТЭН опосредован индуцированной Т-клеточной цитотоксичностью или реакцией гиперчувствительности IV типа [210]. Ключевым событием патогенеза ССД/ТЭН является трехстороннее взаимодействие между главным комплексом гистосовместимости (МНС) на антигенпрезентирующей клетке (АПК), и Т-клеточным рецептором (ТКР), экспрессированным на CD8⁺ (цитотоксической) Т-клетке. Предшественниками Т-клеток могут быть Т-клетки памяти (TRM) и/или циркулирующие CD8⁺ Т-клетки [211].

В настоящее время существует три гипотезы активации Т-клеток при ССД/ТЭН: 1) модель гаптена/прогаптена, 2) концепция фармакологического взаимодействия (p-i концепция), 3) модель измененного пептида [210]. Модель гаптена/прогаптена заключается в том, что большинство лекарственных препаратов или их метаболитов относится к прогаптенам и ковалентно связываются с белком-носителем (гаптовый антиген) для инициации иммунного ответа. Гаптовые антигены образуют комплекс с HLA в АПК и распознаются ТКР. Эта стимуляция запускает специфическую для препарата активацию Т-клеток [210, 212].

Одним из примеров этой модели является связывание метаболитов пенициллина с сывороточным альбумином, которое приводит к образованию

химически модифицированного пептида и запуск иммунной реакции [213]. Как было описано выше существует тесная связь между экспрессией определенного HLA и восприимчивостью к лекарственной гиперчувствительности.

Однако некоторые препараты могут нековалентно связываться с HLA и/или ТКР напрямую. Этот тип связывания называется концепцией p-i (Pharmacological Interaction with Immune Receptors), объясняющая, что лекарства и их метаболиты могут напрямую взаимодействовать с рецепторами иммунных клеток (например, Т-клеточными рецепторами и HLA молекулами) без необходимости образования ковалентных связей с белками, как это происходит в классической модели гаптенов. Примерами такого типа связывания являются карбамазепин, ламотриджин, сульфаметоксазол и целекоксиб [212].

Третья гипотеза представляет собой концепцию измененного пептида (модель измененного пептидного репертуара), которая утверждает, что препараты связываются с антигенсвязывающей частью молекул HLA, изменяя ее структуру и химические свойства. Это приводит к презентации новых пептидных лигандов, что вызывает активацию цитотоксических Т-клеток [214, 215]. Примером этой модели является абакавир. Препарат менял связывающую часть HLA-B*57:01 аллеля, что индуцировало реакции гиперчувствительности и приводило к генерации поликлонального ответа Т-клеток [10].

Некоторые исследователи выделяют четвертую гипотезу – модель измененного репертуара ТКР. В отличие от третьей модели, некоторые препараты могут связываться напрямую с ТКР без комплекса пептид-HLA на АПК. Одним из примеров является сульфаметоксазол, который напрямую вызывал изменение конформации ТКР [216].

Повреждение кожи при ССД/ТЭН, вызванное гибелью кератиноцитов, имеет апоптотическое происхождение. Процесс апоптоза включает два основных механизма: 1) активация пути Fas-Fas (FasL) лиганда, 2) механизм, опосредованный перфорином, гранзимом и гранулизином [210, 212]. TNF- α также являются одним из наиболее важных медиаторов, участвующих в патогенезе ССД/ТЭН [214].

Цитотоксические CD8 + Т-клетки и естественные клетки-киллеры (NK) продуцируют FasL, который связывается с Fas-рецепторами на кератиноцитах. Он представляет собой белок программируемой клеточной смерти [217]. Белковый комплекс Fas лиганда включает в себя адаптерный белок, связанный с доменом смерти Fas (FADD), проапоптотическую протеазу и прокаспазу-8. Прокаспазу-8 первая вовлекается в апоптотический процесс, переходит в активную форму и затем высвобождается из смерти-индуцированного сигнального комплекса в цитоплазму клетки. Далее активированная каспаза-8 расщепляет в ней различные белковые субстраты, включая прокаспазы-3 и -7, приводя к активации нуклеаз и последующей деградации хромосомной ДНК и апоптозу клетки [217, 218].

В нормальных условиях Fas присутствует на поверхности кератиноцитов, а FasL экспрессируется внутриклеточно. FasL перемещается на поверхность клеточной мембраны, сигнализируя о необходимости запуска апоптоза [219]. Viard et al. 1998 продемонстрировали выраженную экспрессию FasL на кератиноцитах у больных ТЭН по сравнению с другими разновидностями лекарственных реакций [220].

Кроме того, в сыворотке больных ТЭН были обнаружены высокие уровни растворимого FasL (sFasL). sFasL вырабатывается мононуклеарными клетками периферической крови при воздействии характерных для данной тяжелой лекарственной реакции препаратов, вызывая апоптоз клеток [210, 221]. Однако корреляция между уровнями sFasL и тяжестью заболевания не установлена [222, 223].

Важность механизма, связанного с активацией белков перфорины и/или гранзима при ССД/ТЭН, была подчеркнута во многих исследованиях [224, 225]. Активированные цитотоксические Т-клетки и NK-клетки связываются с клетками-мишенями, активируя эффекторные клетки, которые высвобождают цитоплазматические гранулы – перфорины и гранзим В. Гранзим В высвобождается вместе с перфорином, который встраивается в плазматическую мембрану клетки-мишени, образуя пору. Несколько мономеров перфорины полимеризуются, образуя в клетке трансмембранные каналы диаметром 5-20 нм. Аминокислотные остатки

гидрофильного мономера располагаются внутри этих каналов, в то время как гидрофобные локализуются по направлению к фосфолипидному бислою [226]. После того, как канал теряет ионную селективность, вода, ионы и другие небольшие молекулы могут свободно перемещаться через созданный «туннель» в клетки-мишени, вызывая осмотический шок, который в конечном итоге приводит к разрыву клеточной мембраны или апоптозу [214].

Последующие исследования установили, что гранулизин является ключевым медиатором апоптоза в патогенезе заболевания. При анализе blisterной жидкости у больных ССД/ТЭН было обнаружено, что уровни гранулизина были в 2-4 раза выше, по сравнению с перфорином, гранзимом В и sFasL. Следует отметить, что снижение уровней гранулизина в пузырьной жидкости снижало цитотоксичность [22]. Другие авторы также подчеркнули, корреляцию значимо высокого уровня гранулизина в пузырьной жидкости с тяжестью заболевания [227, 228].

TNF- α также играет важную роль в гибели кератиноцитов при ССД/ТЭН. Данный цитокин связывается с рецептором TNF-1 и вызывает запуск внешнего пути апоптоза при активации каспазы 8 [229]. Авторы отметили, что повышенная экспрессия TNF- α в коже и пузырьной жидкости способствовала отслойке эпидермиса при ССД/ТЭН [230].

Одним из важных патогенетических механизмов, запускающих ССД/ТЭН является некроптоз. Он представляет собой запрограммированную клеточную гибель и демонстрирует морфологические признаки, сходные с некрозом. Некроптоз инициируется взаимодействием аннексина А1 с формил-пептидным рецептором 1 типа (FPR1), который приводит к гибели кератиноцитов при ССД/ТЭН [231]. Некроптозные клетки высвобождают молекулы, связанные с повреждением тканей, включая ряд провоспалительных цитокинов, что приводит к воспалению, в отличие от апоптоза [212]. Некроптоз активируется TNF- α в условиях, когда апоптоз подавлен. При стимуляции TNF- α , киназы RIP1 (Receptor-Interacting Protein Kinases 1, 3) и RIP3 фосфорилируются, формируя некрсому. Далее псевдокиназа MLKL (Mixed Lineage Kinase Domain-Like) присоединяется к некрсоме, подвергается фосфорилированию киназой RIP3 и в форме

фосфорилированного pMKLK, перемещается к плазматической мембране, инициируя клеточную гибель [229]. Таким образом, при ССД/ТЭН кератиноциты экспрессируют FPR1, в то время как моноциты секретируют аннексин А1. Подобное взаимодействие способствует формированию некрсомы [212].

Недавние исследования указывают на ключевую роль врожденного иммунитета в патогенезе ССД/ТЭН, наряду с участием ТК-клеток, моноцитов и макрофагов. Нейтрофилы на ранних стадиях ССД/ТЭН усиливают воспалительный процесс, инициируя нетоз – форму клеточной гибели, отличную от апоптоза и некроза, – с выделением медиаторов, которые способствуют некроптозу кератиноцитов. Новые данные свидетельствуют о дополнительном механизме некроптоза кератиноцитов, в котором участвуют CD8⁺ Т-клетки, нейтрофилы и моноциты [212, 232].

Zhang et al. 2020 выявили повышенную экспрессию микроРНК – miR-375-3p в экзосомах плазмы крови у больных ССД/ТЭН, которые индуцировали апоптоз клеток эпидермиса посредством даун-регуляции экспрессии X-связанного протеина, ответственного за ингибирование апоптоза [233].

1.4.3. Сыворотка и пузырьная жидкость – источники потенциальных биомаркеров тяжести течения синдрома Стивенса-Джонсона и токсического эпидермального некролиза

Пузырная жидкость у больных ССД/ТЭН содержит различные молекулы, включая иммунные медиаторы, метаболиты, мРНК, цитокины, хемокины, маркеры апоптоза и т.д., которые могут отражать различные патогенетические процессы при данном заболевании.

Stewart T. J. et al. 2024 в систематическом обзоре выявили потенциальные биомаркеры тяжелого течения ССД/ТЭН. Авторы исследовали достаточно большую выборку больных – 96 клинических случаев. Так, в пузырьной жидкости и коже было обнаружено достоверное увеличение уровня Fas лиганда, IL8, IL2, IL6, TNF- α , TRAIL, IFN γ и матриксной металлопротеиназы по сравнению с группой

контроля. Тогда, как в коже у пациентов с ССД/ТЭН наблюдалась повышенная экспрессия гранулизины, IL33, TGF- β -1, IF γ , IL13, IL2 и IL5 по сравнению с больными красным плоским лишаем и многоформной экссудативной эритемой [234]. Полученные данные подчеркивают различия в цитокиновом профиле у больных ССД/ТЭН в коже и пузырьной жидкости.

Chung W. H. 2008 et al. в проводимом исследовании установили, что клетки, выделенные из blisterной жидкости в большинстве своем состояли из цитотоксических Т-лимфоцитов и NK-киллеров. Кроме того, введение белка гранулизины в кожу мышей приводило к формированию субэпидермальных пузырей, характерных для ССД/ТЭН. Имеющиеся данные свидетельствуют, что гранулизин может рассматриваться в качестве ключевого медиатора, ответственного за диссеминированную гибель кератиноцитов при данном заболевании [22]. Авторы также отметили, что уровень гранулизины в пузырьной жидкости у больных ССД/ТЭН был в четыре раза выше по сравнению с другими медиаторами – перфорином, гранзимом В и Fas лигандом [22].

Значимую роль в патогенезе заболевания играет TNF- α . Wang F et al. 2018 установили, что достоверно высокий уровень TNF- α и CCL27 в сыворотке коррелировал с прогрессированием кожного процесса у больных ССД/ТЭН [230].

Более того, авторы продемонстрировали, что на фоне терапии больных ССД/ТЭН антагонистом TNF- α – этанерцептом наблюдалось снижение уровня гранулизины и TNF- α в пузырьной жидкости и плазме, а также снижение вероятности летального исхода по шкале SCORTEN (предсказываемый уровень – 17,7%, фактический – 8,3%) [230].

Согласно недавним исследованиям IL6 может принимать непосредственное участие в развитии воспалительных процессов и некроптоза при ССД/ТЭН и тем самым вызывать системное воспаление и, следовательно, увеличивать риск развития потенциальных опасных осложнений [235]. Повышенные уровни IL8 и IL10 были связаны с более выраженным поражением слизистой оболочки полости рта и кожи [236].

Помимо вышеперечисленных цитокинов в коже, пузырной жидкости и сыворотке у больных ССД/ТЭН обнаруживалась повышенная экспрессия IL2, IL5, IL6, IL10, IL12, IL13, IL15, IL18, хемокиновых (C–C мотив) рецепторов CCR3, CXCR3, CXCR4 и CCR10, которые отвечают за пролиферацию, отслеживание, а также активацию Т-клеток при данном заболевании [237].

Nassif A 2002 et al. в проводимом исследовании сделали вывод, что Т-лимфоциты пузырной жидкости без какой-либо стимуляции проявляли специфическую цитотоксичность к аутологичным клеткам [224]. Пузырная жидкость в этой выборке пациентов состояла преимущественно из CD8+, DR+, CLA+, CD56+, Т-лимфоцитов и перфорины [224].

1.4.4. Клиническая картина и особенности течения, диагностика и дифференциальная диагностика синдрома Стивенса-Джонсона и токсического эпидермального некролиза

Первые симптомы ССД/ТЭН начинаются в среднем спустя 4-28 дней от начала приема лекарственного препарата, реже – в течение нескольких часов. Вначале заболевание может имитировать симптомы ОРВИ, такие как: головная боль, миалгия, ринит и кашель. Заболевание, как правило, поражает, слизистую оболочку полости рта, туловище, лицо, проксимальную часть верхних и нижних конечностей, а также кожу ладоней и стоп. Первичным элементом ССД/ТЭН являются воспалительные пятна пурпурно-розоватого цвета, неправильных очертаний и резкими границами, имеющие тенденцию к слиянию [191]. В центре некоторых элементов также могут наблюдаться мелкие очаги некроза. Постепенно процесс прогрессирует в виде формирования субэпидермальных пузырей за счет тотальной отслойки эпидермиса. Пузыри достаточно быстро вскрываются и формируются обширные эрозии ярко-красного цвета с обрывками эпидермиса по периферии. Феномен Никольского обычно резко положительный [237]. Слизистая оболочка полости рта и гениталий, а также конъюнктивы поражаются у 80% пациентов. В тяжелых случаях может наблюдаться изъязвление роговицы, увеит и

гноный конъюнктивит [238]. Реже может поражаться легочная ткань (в 25% случаев) и желудочно-кишечный тракт [239]. Симптомы поражения легких включает затруднение дыхания, кашель, бронхиальная обструкция и респираторный дистресс-синдром. В одном из ретроспективных исследований было показано, что 39% больных ССД/ТЭН имели специфические эндобронхиальные поражения [240]. Со стороны желудочно-кишечных осложнений редко может наблюдаться перфорация кишечника [241]. Однако достаточно часто у таких пациентов может наблюдаться анемия, повышение уровня печеночных трансаминаз в крови. Нейтропения встречается редко и может быть маркером тяжелого течения заболевания [237]. К жизне-угрожающим осложнениям ССД/ТЭН относится сепсис, который возникает в результате тотальной отслойки эпидермиса. *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas* являются наиболее распространенными патогенами, обитающими на коже человека. Таким образом, полиорганная недостаточность и пневмонит являются наиболее частыми причинами летального исхода у больных ССД/ТЭН (24% и 23,1% соответственно) [237, 240]. Согласно европейскому регистру RegiSCAR уровень смертности спустя 6 месяцев и год от начала заболевания составил 23% и 34% соответственно [192]. К дерматологическим осложнениям заболевания относятся постэруптивная длительная гипо- или гиперпигментация, гипертрофические рубцы и ониходистрофии [237, 242]. К отдаленным осложнениям ССД/ТЭН также относятся фотофобия, ухудшение зрения, гиперсальвация, облитерирующий бронхиолит [243].

Для оценки тяжести заболевания используют шкалу SCORTEN, включающую следующие показатели: возраст старше 40 лет, ЧСС > 120 ударов/минуту, наличие онкологического процесса или гематологического заболевания, степень поражения кожных покровов по BSA > 10%, уровень мочевины, бикарбоната и глюкозы в сыворотке более 10 ммоль/л, менее 20 ммоль/л и более > 14 ммоль/л соответственно [244].

Для диагностики ССД/ТЭН используют классификацию, разработанную S. Bastuji-Garin et al. 1993, которая основывается на определенной величине площади

поражения эпидермиса – индекса BSA (Body Surface Area; $BSA = 0,007184 \times (\text{вес в кг})^{(0,425)} \times (\text{рост в см})^{(0,725)}$). Так, например, при ССД поражается менее 10% поверхности BSA, а также отмечаются диссеминированные воспалительные пятна; при перекрестном синдроме ССД/ТЭН как правило поражается 10-30% площади поверхности тела; при ТЭН – более 30% соответственно [245]. Кроме того, для оценки тяжести процесса также применяется метод девяток, где голова и шея составляют 9% от общей поверхности тела; каждая рука – 9%; каждая нога, передняя и задняя поверхности туловища по 18% соответственно; промежность – 1% [237].

Гистологический метод, а также реакция прямой иммунофлюоресценции являются ключевыми методами диагностики ССД/ТЭН. Гистологическое заболевание характеризуется выраженным апоптозом и некрозом кератиноцитов, а также периваскулярной лимфоцитарной инфильтрацией с участием CD8+ Т-лимфоцитов, вакуольной дистрофией и сепарацией эпидермиса от дермы. Метод прямой иммунофлюоресценции, как правило, демонстрирует отрицательный результат и используется для дифференциальной диагностики АП и БП [215]. Также могут быть использованы лабораторные тесты по выявлению специфических HLA аллелей, связанных с тяжелой степенью тяжести заболевания [246].

1.4.5. Современные методы лечения синдрома Стивенса-Джонсона и токсического эпидермального некролиза

Согласно Европейским рекомендациям, по лечению ТЭН и ССД, СГК применяются для лечения данных заболеваний на протяжении многих лет. К первой линии терапии заболевания относятся СГК, циклоспорин А, этанерцепт и поддерживающая терапия. Авторы из Германии проводили ретроспективный анализ базы данных EuroSCAR и выявили низкую смертность у больных, получавших терапию СГК по сравнению группой контроля, которая находилась только лишь на поддерживающей терапии [247]. Kardaun S. H. et al. 2007 отметили снижение смертности у больных ТЭН, получавших 1,5 мг дексаметазона

внутривенно в течение 3 дней по сравнению с контрольной группой [248]. В проводимом исследовании Hirahara et al. 2013 продемонстрировали высокую эффективность пульс-терапии метилпреднизолоном, которую больные получали в дозе 1000 мг/ежедневно, внутривенно в течение 3-х дней с последующим постепенным снижением до $\frac{1}{4}$ таблетки, которую пациенты принимали в качестве поддерживающей терапии в течение 1 года. Ни у одного пациента не наблюдалось летального исхода несмотря на высокую вероятность смерти по шкале SCORTEN [249]. При применении метипреднизолона в дозе 250-1000 мг/сутки у больных ССД/ТЭН с последующим переходом на пероральную форму терапии летальность составила 28% [250].

Однако другие авторы указывали, что СГК увеличивали риск развития сепсиса у пациентов с ССД/ТЭН [248].

Циклоспорин А в ряде исследований показал хорошую эффективность у больных ССД/ТЭН с отсутствием коморбидных заболеваний со стороны почек. Valeyrie-Allanore et al. 2010 продемонстрировали хороший терапевтический эффект циклоспорина А в дозе 3 мг/кг/сут в течение 10 дней у 29 пациентов с ССД/ТЭН [251]. Другие авторы также показали быструю эпителизацию эрозий в группе больных, получавших циклоспорин, по сравнению с группой контроля, находившейся на терапии СГК [191, 252]. Gonzalez-Herrada C et al. 2017 также выявили высокую эффективность препарата, достоверное снижение показателя прогностической смертности по индексу SCORTEN (~60%), а также ускорение эпителизации эрозий на фоне дозы 5 мг/кг/сут у больных ССД/ТЭН [253, 254]. Тем не менее, в другом исследовании у 12,5% пациентов с ССД/ТЭН, получавших 3-5 мг/кг/сут наблюдался летальный исход [255].

Применение ингибиторов TNF- α в рутинной практике у больных ССД/ТЭН ограничено в связи с недостаточным количеством релевантных исследований. Однако авторы указывали на выраженное ускорение заживления эрозий у больных, получавших этанерцепт по сравнению с пациентами, находившимися на терапии СГК (среднее время заживления – 14 и 19 дней соответственно; $p=0,01$) [256, 257].

В качестве второй линии терапии ССД/ТЭН используют внутривенный IVIG и плазмаферез [210]. Так, в проводимом исследовании положительный эффект наблюдался у больных ТЭН, получавших комбинированную терапию внутривенным IVIG и инфликсимабом [258, 259]. В проспективном исследовании общий коэффициент смертности у 221 больных ТЭН, которым назначался IVIG составлял 19,9%. У пациентов, применявших высокие дозы препарата, уровень смертности был достоверно ниже по сравнению с малыми дозировками (18,9% и 50% соответственно; $p=0,02$). Тем не менее, в ходе многомерного логистического анализа было установлено, что высокие дозы IVIG не имели значимой корреляции с летальными исходами. Отношение шансов (ОШ) для высоких и низких доз составило 0,494 (95% доверительный интервал: 0,106-2,300; $p=0,37$) [260].

Vamichas et al. 2002 и Furubacke et al. 1999 в проводимых исследованиях отметили хороший эффект от комбинированной терапии плазмаферезом с внутривенным IVIG и циклоспорином А [261, 262]. Однако в другом проспективном рандомизированном исследовании монотерапия плазмаферезом была эффективнее по сравнению с комбинированной терапией СГК и IVIG [263]. Другие авторы также отметили положительную динамику у больных ССД/ТЭН, получавших плазмаферез в виде значительной эпителизации эрозий [264].

Важным этапом лечения ССД/ТЭН также является восстановление электролитного (солевые растворы 0,7 мл/кг/%) и белкового (5% раствор человеческого альбумина, 1 мл/кг/%) баланса, а также обработка высыпаний раствором хлоргексидина, антибактериальными аэрозолями, кремами, эмолентами (в область гениталий с целью избежания стриктур и т.д.) с возможным применением биоактивной искусственной кожи [237, 265].

К перспективным методам терапии ССД/ТЭН относятся человеческие моноклональные антитела РС111, направленные на ингибирование FasL [266]. В перспективе могут также быть рассмотрены антагонисты формилпептидного рецептора 1 - FPR1, отвечающего за апоптоз и некроптоз клеток. Большим терапевтическим потенциалом обладают ингибиторы JAK. Так, например, ряд авторов продемонстрировал повышенную активацию сигнального пути JAK/STAT

в биопсийном материале у пациентов с ССД/ТЭН [267]. Доклинические модели и использование препаратов «off-label» у отдельных пациентов показали перспективные результаты, что подчеркивает необходимость дальнейших исследований [267].

Ряд исследователей изучали возможность применения моноклональных антител, направленных против CD38+ Т-клеточных клонов, которые в настоящее время используются для лечения пациентов с множественной миеломой. В частности, было показано, что даратумумаб в экспериментальной мышинной модели вызывал истощение цитотоксических CD8+ и CD38+, гранизим В+ и гранулизин + Т-клеток [210].

ССД/ТЭН продолжают оставаться серьезной проблемой в области аллергологии и дерматологии. Тем не менее, за последние десять лет достигнут значительный прогресс в изучении патогенеза, клинических проявлений и подходов к лечению этих заболеваний. Полученные результаты способствуют улучшению диагностики, включая раннее выявление ССД/ТЭН с помощью HLA-типирования, а также дифференциальной диагностики на основе специфических молекулярных и генетических маркеров, связанных с патогенезом. Эти достижения открывают перспективы для разработки персонализированных подходов к терапии.

1.5. Применение методов машинного обучения в дерматологии

Совсем недавно искусственный интеллект (ИИ) и методы машинного обучения (МО) нашли свое применение во многих сферах медицины, включая дерматологию. МО могут использоваться для прогнозирования ответа пациентов на проводимое лечение, а также степень тяжести различных дерматозов. Данные методы также применялись с целью стратификации дерматоскопических признаков в дерматоонкологии, а также у больных иммунозависимыми дерматозами (псориаз, атопический дерматит, экзема и т.д.). В частности, МО нашли свое применение в анализе дерматоскопических изображений, а также

фотографий прямой и не прямой реакции иммунофлюоресценции у больных БД [268, 269].

Так, например, нейронные сети позволили создать компьютерные диагностические системы, которые с высокой точностью анализируют клинические и дерматоскопические изображения. К таким системам относится «FotoFinder», который позволил автоматизировать анализ различных изображений невусов и других дерматологических элементов, позволяя упростить выявление даже самых незначительных изменений в коже с течением времени. Подобная технология уже в настоящее время позволяет идентифицировать меланому и другие онкологические заболевания кожи на ранних стадиях, что оптимизирует медицинскую помощь в данном направлении, уменьшает время постановки диагноза, а также улучшает клинический исход заболевания [270].

ИИ и МО также могут быть использованы в помощь дерматологу с целью диагностики таких заболеваний как псориаз, акне и т.д. посредством анализа и классификации большого количества дерматологических изображений. Более того, методы глубокого обучения могут также применяться не только для диагностики, но и для оптимизации проводимой терапии. Для этого МО также интегрируют различные важные клинические параметры, такие как история заболевания, информация о предыдущем лечении, демографические данные пациента и наличие сопутствующих заболеваний, что также позволяет врачу назначить более эффективную персонализированную терапию [270].

Кроме того, в настоящее время изучается применение сверточных нейросетей – программного обеспечения Moleanalyzer Pro v3.8.0 с искусственным интеллектом (FotoFinder Systems GmbH, Бад-Бирнбах, Бавария, Германия), которые бы позволили понизить уровень некорректного лечения злокачественных новообразований кожи с 58,8% до 4,1%, предотвратив неверную постановку диагноза на 94%, а также количество ненужных иссечений с 43,9% до 31,7% [271].

Что касается БД, то исследование 2021 года показало, что ИИ с глубоким обучением может автоматически классифицировать данные заболевания с точностью, сравнимой с дерматологами при диагностике распространенных видов

рака кожи. В работе использовалась таксономия с тремя основными классами (АП, БП и дифференциальные диагнозы) и восемью подклассами. Таким образом, модель сверточной нейронной сети, обученная на более чем 6500 изображениях, достигла точности 67,5% для основных классов и 56,7% для подклассов, что сопоставимо с 66% и 55% у дерматологов. Несмотря на ограниченные данные, модель показала большой потенциал для правильной диагностики аутоиммунных БД и других редких дерматозов [272].

Другое исследование 2020 года продемонстрировало, что мобильное приложение с МО для диагностики 40 распространенных кожных заболеваний, включая АП и БП, у пациентов с IV и VI фототипами кожи при использовании сверточной нейросети, обученную на 12350 изображениях и протестированную на 5014 пациентах, достигло чувствительности 68% и 35,3% для АП и БП соответственно при общей точности 75,1% [273].

В следующем исследовании использовалась крупнейшая китайская база данных Xiangya-Derm, в которую входило 150000 клинических изображений. Данная система классификации на основании ИИ для шести заболеваний, включая пемфигус, псориаз и экзему, достигла достаточно высокой точности – 75% для АП [274].

Однако ИИ в дерматологии имеет ряд этических проблем, к которым относятся конфиденциальность данных, (неправильное хранение данных может нанести вред их приватности; смещение в датасетах (недостаточное количество изображений в различных популяциях, что может привести к неправильной постановке диагноза); ответственность за ошибки (например, если ИИ пропускает меланому, то неизвестно кто будет нести ответственность – разработчик ИИ, врач или производитель программного обеспечения, что усложняет юридическую и этическую стороны применения ИИ [268].

Таким образом, ИИ и МО предпочтительнее использовать в научных исследованиях в области медицины и, в частности, дерматологии, где они могут способствовать анализу достаточно больших баз данных, выявлению закономерностей (характеристика заболеваний, определение факторов, влияющих

на развитие и тяжесть течения БД, оценка эффективности проводимой терапии, обнаружение новых биомаркеров различных аутоиммунных и иммунозависимых дерматозов с помощью анализа изображений, а также генетических данных) и разработке новых диагностических и дифференциально-диагностических подходов, минимизируя риски, связанные с их применением в клинической практике.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Дизайн исследования. Краткая характеристика типов исследований

Проведено открытое, простое, проспективное сравнительное, нерандомизированное исследование случай-контроль с элементами проспективного когортного наблюдения, которое включало 4 вложенных исследования. Для оценки частоты встречаемости HLA-DRB1, HLA-DQB1 аллелей, полиморфизма A3669G β -изоформы ГР, экспрессии α - и β -ГР у больных БД и здоровых доноров проводилось исследование случай-контроль; для сравнительной оценки хемокинового и цитокинового профилей в пузырной жидкости и сыворотке у больных тяжелыми БД выполнялось проспективное нерандомизированное, сравнительное, когортное исследование; проспективное, нерандомизированное, неконтролируемое, одноцентровое, когортное клиническое исследование проводилось для оценки эффективности и безопасности комбинированной терапии плазмаферезом, человеческим внутривенным IVIG и СГК у стероид-резистентных больных АП на основании валидизированной шкалы PDAI, а также длительности и типов ремиссии заболевания до и после полного курса терапии; для оценки иммуномодулирующего действия внутривенного человеческого IVIG на основании цитокинового и хемокинового профилей, а также уровня гранулизина в сыворотке проводилось проспективное, нерандомизированное, сравнительное клиническое исследование (интервенционное, наблюдательное) с двумя когортами – стероид-резистентными и стероид-чувствительными больными АП.

В качестве объекта исследования рассматривались больные БД (АП, БП, ССД/ТЭН). В качестве предмета исследования – особенности клинко-лабораторных, иммуногенетических, цитокиновых и молекулярно-биологических показателей при данных тяжелых и жизне-угрожающих заболеваниях, а также возможность прогнозирования тяжести течения патологического процесса, СР и

оптимизации адьювантной терапии (комбинированная терапия плазмаферезом и IVIG).

Проведено обследование 252 человек (160 больных буллезными дерматозами и 92 здоровых доноров). В соответствии с критериями включения и исключения было отобрано и детально обследовано 150 пациентов. Выполнены исследования цитокинового и хемокинового профиля, а также оценка эффективности комбинированной терапии СГК, плазмаферезом и внутривенным человеческим иммуноглобулином.

В общей сложности были проанализированы 7 основных групп пациентов: АП, БП, ССД/ТЭН (согласно патоморфологической и клинической картине); стероид-резистентные (по консенсусу Murrell 2008) и стероид-чувствительные; группа пациентов получавших монотерапию СГК и группа больных получавших комбинированную терапию СГК, плазмаферезом и IVIG. Среди исследуемых пациентов также были выделены подгруппы с учетом тяжести заболевания (по шкалам PDAI, BPDAI, BSA, SCORTEN).

Протокол исследования зарегистрирован в системе clinicaltrials.gov под номером NCT05284929.

Работа выполнена в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинской Декларации. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом (протокол №03-21 от 03.02.2022).

Исследование проводилось в три этапа. На первом этапе проводился отбор больных с диагнозами АП, БП, ССД/ТЭН. Диагноз устанавливался на основании жалоб пациентов, данных анамнеза, клинической картины, гистологического, иммуногистохимического методов исследования, а также иммуноферментного анализа (ИФА). Больные АП и БП наблюдались в клинике кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) с 2017 по 2025 гг, при этом проспективный набор пациентов, обследование и лечение проводились с 2022 по

2025 гг. Больные ССД/ТЭН проходили терапию и обследование в городской клинической больнице №24 департамента здравоохранения города Москвы с 2022 по 2024 гг. Забор крови здоровых доноров проводился в Центре Крови ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). Всего в исследовании принимали участие 92 здоровых донора с отсутствием тяжелых сопутствующих заболеваний, например – онкологии, сердечно-сосудистых заболеваний, диабета, заболеваний печени и почек. Донор также не должен был иметь активных инфекционных заболеваний (например, грипп, ОРВИ и т.д.), а также принимать определенные лекарственные средства (например, антибиотики, противовирусные средства, вакцины) за месяц до забора крови.

Анализ образцов сыворотки и пузырьной жидкости проводился на кафедре молекулярной фармакологии и радиобиологии им. П.В. Сергеева в ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. У всех больных проводился забор крови из кубитальной вены в активную фазу и ремиссию заболевания. Все больные АП получали начальную дозу СГК в преднизолоновом эквиваленте – 80-100 мг/сут с последующим медленным снижением до $\frac{2}{3}$ от максимальной начальной дозы (65-70 мг/сут), затем через 3 недели – до 55-60 мг/сут, еще через неделю – до 37,5-40 мг/сут, далее еженедельно по 10 мг до достижения 20 мг/сут, которую больные получали в течение месяца. После чего еженедельно дозировка преднизолона снижалась на $\frac{1}{4}$ таблетки с постепенным увеличением кратности снижения. Стероид-резистентным пациентам назначался азатиоприн в начальной дозе 150 мг/сут, которую больные, согласно клиническим рекомендациям, получали как минимум в течение 1,5 месяцев. Далее, начиная с 40-50 мг преднизолона в день дозу азатиоприна снижали до 100 мг/сут и при достижении дозировки СГК 20 мг/сут – до 50 мг/день [33, 275, 276]. Больным БП назначалось 40-60 мг СГК (в преднизолоновом эквиваленте) в сутки. Дозировку снижали медленно по 10 мг/неделю до достижения 20 мг/сутки, которую больные

получали в течение месяца после чего доза СГК снижалась на $\frac{1}{4}$ таблетки с еженедельным увеличением кратности снижения препарата [134]. Больные ССД/ТЭН получали пульс-терапию метилпреднизолоном в дозе 1000 мг/внутривенно 1 раз в день в течение трех последующих дней. Также проводилось внутривенное введение раствора, содержащего хлорид калия, натрия и магния в объеме 400,0 мл, курсом от 5 до 10 инфузий. Для обработки эрозий на коже и слизистых оболочек использовался 0,05% раствор хлоргексидина 2 раза в день утром и вечером. В качестве стимуляции эпителизации эрозий применялась нанокристаллическая марля [134, 190, 277, 278].

Второй этап состоял из лабораторной части, которая включала взятие сыворотки с целью проведения ПЦР в реальном времени (количественный ПЦР) для оценки частоты встречаемости HLA-DRB1 и HLA-DQB1 аллелей II класса на уровне высокого и низкого разрешений у больных БД, полиморфизма A3669G β -ГР, а также экспрессии α - и β изоформ ГР (n=150). Далее проводилась оценка уровней цитокинов TNF- α , IL15, IL10, IL4, хемокинов CCL11, CXCL8 и гранулизина (n=67) в сыворотке и пузырной жидкости у больных АП, БП, ССД/ТЭН методом ИФА. Оценку эффективности и переносимости комбинированной терапии плазмаферезом, человеческим иммуноглобулином и СГК у стероид-резистентных больных АП (n=32) проводили на основании изменения индекса PDAI до и после курса терапии, а также длительности ремиссии заболевания и ее разновидностей согласно консенсусу Murrell et al. 2008 [67]. Иммуномодулирующее действие комбинированной терапии плазмаферезом и внутривенным человеческим иммуноглобулином оценивалось на основании изменения цитокинового (TNF- α , IL15, IL10, IL4) и хемокинового профилей (CCL11, CXCL8), а также уровня гранулизина методом ИФА в сыворотке стероид-резистентных больных АП (n=32), получавших комбинированную терапию плазмаферезом, внутривенным иммуноглобулином и СГК и стероид-чувствительных пациентов (n=70), получавших монотерапию СГК до и после лечения соответственно.

На третьем этапе исследования проводилась статистическая обработка полученных данных с применением корреляционного анализа, логистической регрессии, методов МО для выявления предикторов стероидной резистентности и тяжелого течения БД (Рисунок 2).

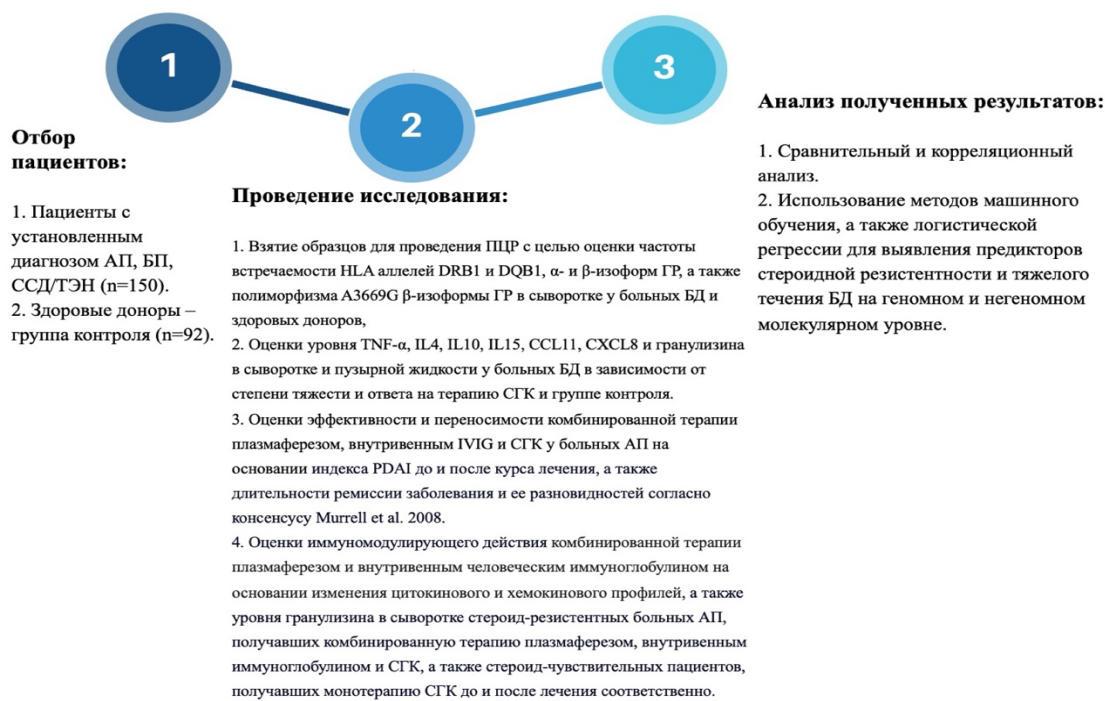


Рисунок 2 – Общий дизайн исследования (авторский рисунок)

2.1.1. Критерии включения, исключения и невключения в исследование

Критерии включения пациентов в исследование:

1. Подписанное пациентом информированное согласие на участие в исследовании (забор биоматериалов) и использование анамнестических данных;
2. Мужчины и женщины старше 18 лет;
3. Подтвержденные гистологически и иммуногистохимически диагнозы АП, БП, ССД/ТЭН.

Критерии невключения пациентов в исследование:

1. Возраст младше 18 лет;
2. Несоответствие диагнозу. Например, выявление ошибочного диагноза после включения пациента в исследование при повторной гистологической и

иммуногистохимической верификации, исключающей диагноза АП, БП и ССД/ТЭН;

3. Отсутствие возможности получения биоматериала: пациенты, у которых невозможно было получить сыворотку и пузырьную жидкость для анализа (отсутствие пузырей, недостаточный объем биоматериала);

4. Пациенты, которые по какой-либо причине не смогли завершить участие в исследовании (отсутствие комплаенса и другие);

5. Отказ больного предоставить письменное информированное согласие на забор биоматериалов, а также участие в исследовании;

6. Аллергические реакции на человеческий внутривенный иммуноглобулин.

Критерии включения в исследования для группы контроля:

1. Здоровые добровольцы независимо от пола возраста старше 18 лет;

2. Отсутствие диагностированных хронических или острых заболеваний, включая аутоиммунные патологии, онкологические, сердечно-сосудистые (гипертоническая болезнь, ИБС и т.д.), хронические заболевания печени (цирроз, гепатит) и почек (хроническая почечная недостаточность), а также различные инфекции (ОРВИ, ВИЧ, грипп, гепатиты В, С, туберкулез);

3. Анамнестические данные по поводу лекарственных препаратов;

4. Исключение приема системных и топических антибиотиков, противовирусных, иммуномодулирующих и иммуносупрессивных препаратов, а также вакцин за месяц до забора крови;

5. Подписанное здоровым добровольцем информированное согласие на участие в исследовании и забор крови.

Критериями невключения для группы контроля явились беременность и лактация.

Критерии исключения для пациентов и здоровых добровольцев:

1. Добровольный отказ пациента или здорового добровольца от дальнейшего участия в исследовании по любой причине после первоначального включения.

2. Отсутствие возможности получения достаточного объема сыворотки крови или пузырной жидкости (для экспериментальной группы) для анализа биомаркеров после включения (например, из-за технических трудностей при заборе или недостаточного объема пузырей).

3. Невозможность дальнейшего наблюдения участника из-за потери связи или невыполнения протокола (например, пропуск визитов для забора биоматериалов).

2.2. Общая характеристика больных буллезными дерматозами, включенных в исследование случай-контроль, направленного на оценку распространенности HLA-DRB1 и HLA-DQB1 аллелей, полиморфизма A3669G β -изоформы глюкокортикоидного рецептора, а также экспрессии его α - и β -изоформ

2.2.1. Распределение больных по диагнозам

В представленном исследовании принимали участие 150 больных буллезными дерматозами (БД): 107 больных АП, из них – 86 (80,4%) – вульгарной пузырчаткой (ВП), 13 (12,1%) – листовидной (ЛП), 6 (5,6%) – паранеопластической (ПНП) и 2 (1,9%) – вегетирующей (ВегП); 29 (19,3%) – буллезным пемфигоидом (БП); и 14 (9,33%) – из группы тяжелых буллезных аллергических реакций – синдромом Стивенса-Джонсона (ССД)/токсическим эпидермальным некролизом (ТЭН) (Рисунок 3).

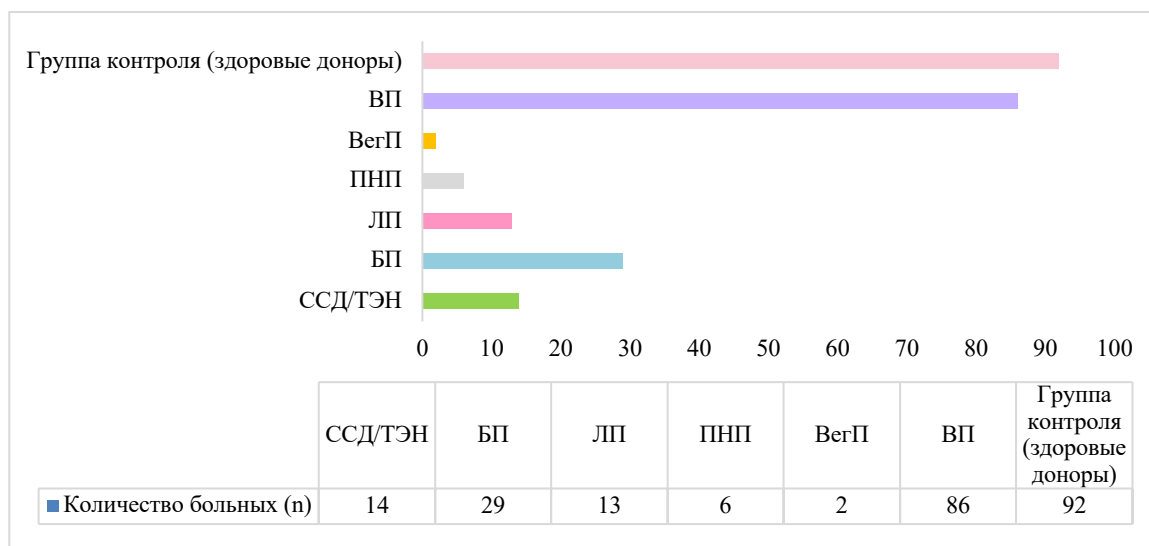


Рисунок 3 – Распределение больных по диагнозам (авторский рисунок)

2.2.2. Распределение больных по полу для различных диагнозов и контрольной группы

Для всех без исключения диагнозов среди больных преобладали женщины, что в свою очередь может указывать на большую уязвимость именно женщин в случае данных видов заболеваний и согласуется с данными литературы [28]. Все шесть больных ПНП были женского пола, в то время как в группе больных ЛП соотношение мужчин и женщин было практически одинаковым (Таблица 1, Рисунок 4).

Таблица 1 – Распределение женщин и мужчин для различных диагнозов и контрольной группы в процентном соотношении

Диагноз	Пол			
	Женщины		Мужчины	
Вульгарная пузырчатка	56	65%	30	35%
Буллезный пемфигоид	19	65,52%	10	34,48%
ССД/ТЭН	10	71,43%	4	28,57%
Листовидная пузырчатка	7	53,85%	6	46,15%
Паранеопластическая пузырчатка	6	100%	0	0%
Вегетирующая пузырчатка	2	100%	0	0%
Контрольная группа	52	56,52%	40	43,48%

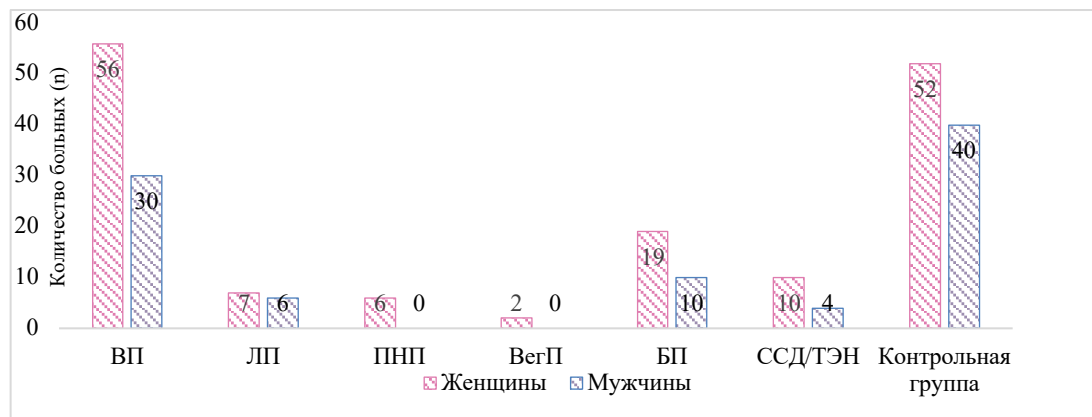


Рисунок 4 – Столбчатая диаграмма распределения женщин и мужчин для различных диагнозов и контрольной группы (авторский рисунок)

2.2.3. Распределение больных по возрасту в зависимости от диагноза

Наиболее старшими по возрасту в исследуемой выборке оказались больные ПНП и БП. Средний возраст больных в группе БП составил 60 лет, медианный – 59 лет. У больных ПНП средний возраст был 63,5 года, медианный возраст – 67 лет. Для пациентов с ЛП было характерно бимодальное распределение возраста пациентов в двух интервалах: 30-44 года и 58-72 года. Средний возраст больных ВП составлял 53 года. Наиболее вариабельной по возрасту группой являлась ССД/ТЭН. Возраст самого молодого пациента в этой группе составил 19 лет, а наиболее пожилого – 92 года соответственно. В среднем возраст всех пациентов составлял 55 лет (Рисунок 5).

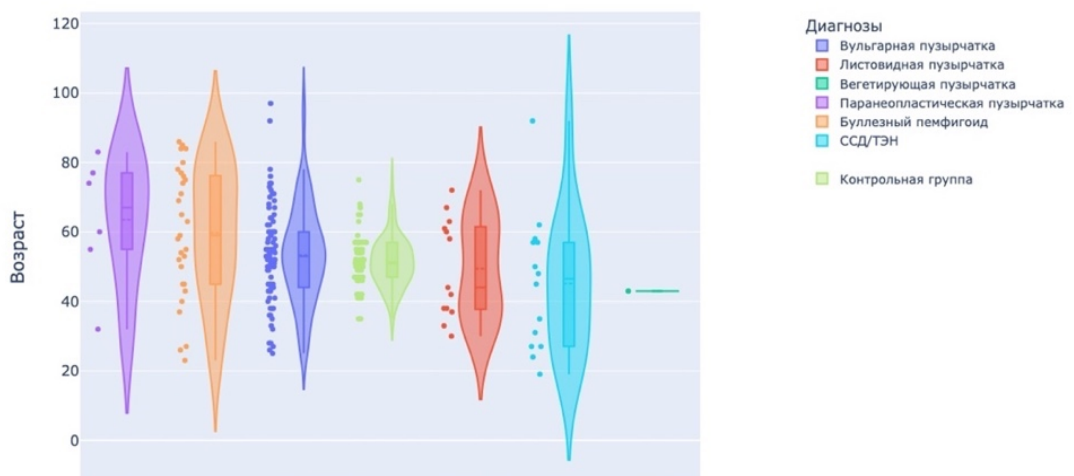


Рисунок 5 – Скрипичная диаграмма распределения возраста пациентов и здоровых доноров в зависимости от диагноза (авторский рисунок)

Таблица 2 – Основные статистические показатели для возраста относительно диагнозов и контрольной группы

Диагноз	Количество больных	Min.	Max.	Среднее	Медиана	СКО
Вульгарная пузырчатка	86	25	97	~ 54	53	~17
Вегетирующая пузырчатка	2	31	43	37	37	6
Паранеопластическая пузырчатка	6	32	83	63	67	~17
Листовидная пузырчатка	13	30	72	~ 49	44	~13
Буллезный пемфигоид	29	23	86	~ 63	59	~21
ССД/ТЭН	14	19	92	~ 45	46,5	~19
Группа контроля	92	35	67	~ 52	52	~9
Сокращения: Min. – минимальное значение; Max. – максимальное значение; СКО – среднеквадратичное отклонение						

2.2.4. Индексы для оценки степени тяжести буллезных дерматозов

2.2.4.1. Распределение больных акантолитической пузырчаткой в зависимости от степени тяжести согласно индексу PDAI

Для оценки степени тяжести АП использовался валидизированный индекс PDAI (PDAI, Pemphigus Disease Area Index) предложенный D. Murrell в 2008 г. (Приложение А, Таблица А.1) [67, 279]. PDAI складывался из суммы баллов активности поражения волосистой части головы, кожи, слизистых оболочек и вторичных изменений [110]. Легкая степень АП характеризовалась диапазоном до 15 баллов, средняя – от 15 до 45, тяжелая – более 45.

В проводимом исследовании у 21 (20%) больного наблюдалась легкая степень тяжести пузырчатки, у 59 (55%) и 27 (25%) пациентов – средняя и тяжелая соответственно (Таблица 3, Рисунок 6).

Таблица 3 – Суммарный индекс PDAI у больных АП разной степени тяжести

Группы больных по степени тяжести АП	Количество больных (n/%)	Суммарный средний показатель индекса PDAI	Средний возраст
Легкая степень	21 (20%)	10,71 ± 2,89	50 ± 12,40
Средняя степень	59 (55%)	31,05 ± 10,08	54,07 ± 13,70
Тяжелая степень	27 (25%)	63,63 ± 13,30	54,78 ± 13,67

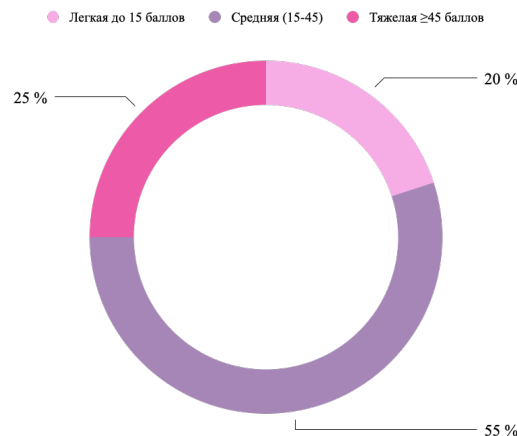


Рисунок 6 – Распределение больных АП в зависимости от степени тяжести заболевания (авторский рисунок)

Из полученных результатов следует, что наиболее распространённой степенью тяжести АП являлась средняя. Она наблюдалась у 59 (55%) больных пузырчаткой.

2.2.5. Критерии стероидной резистентности для больных акантолитической пузырчаткой и буллезным пемфигоидом Лёвера

Наличие СР у больных АП оценивалось с помощью консенсуса Murrell et al. 2008, согласно которому она характеризовалась появлением новых высыпаний, продолжением увеличения старых элементов или отсутствием заживления старых высыпаний, несмотря на трехнедельную монотерапию преднизолоном в дозе 0,75-1,5 мг/кг/день или в сочетании со следующими препаратами [67]:

- Циклофосфамид 2 мг/кг/день в течение 12 недель,

- Азатиоприн 2,5 мг/кг/день в течение 12 недель (если уровень тиопурина S-метилтрансферазы ТРМТ был в норме),
- Метотрексат 20 мг/неделю в течение 12 недель, или
- Микофенолата мофетил 3 г/день в течение 12 недель.

Следует отметить, что в проводимом исследовании СР преобладала в группе ВП – 30 больных из 86. Реже она наблюдалась у больных ЛП, БП и ССД/ТЭН. Так, в группе ЛП только двое больных из 13 были стероид-резистентными; в группах БП и ССД/ТЭН СР отмечалась у трех из 29 больных и одного из 14 больных соответственно (Рисунок 7).

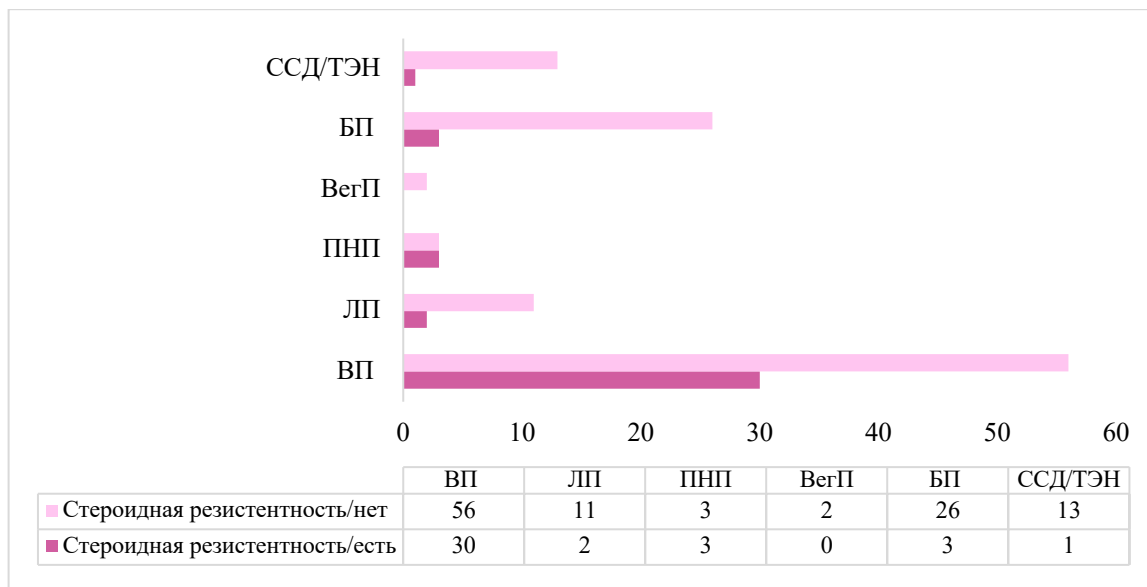


Рисунок 7 – Распространенность стероидной резистентности у пациентов в зависимости от установленного диагноза (авторский рисунок)

2.2.6. Распределение больных акантолитической пузырьчаткой в зависимости от степени тяжести и половой принадлежности

Из полученных результатов видно, что чем выше степень тяжести заболевания, тем более было сбалансированно соотношение мужчин и женщин (Рисунок 8).

Так, если женщины преобладали в группе легкой (71%) и средней (69,5%) степени тяжести АП, то для тяжелой соотношение было близко к равенству (55,5% составляли женщины, 44,5% – мужчины) (Таблица 4).

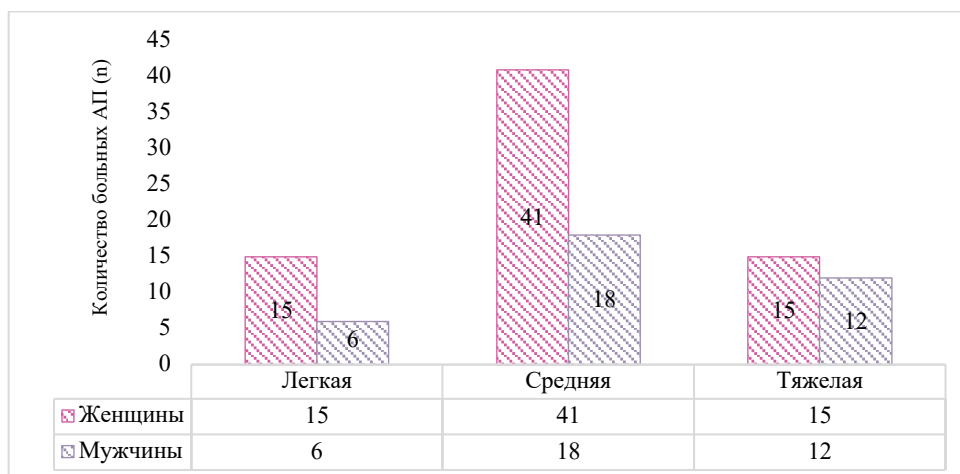


Рисунок 8 – Распределение больных АП в зависимости от половой принадлежности для разной степени тяжести заболевания (авторский рисунок)

Таблица 4 – Распределение больных в зависимости от половой принадлежности для групп разной степени тяжести пузырчатки

Степень тяжести	Женщины		Мужчины	
Легкая (до 15 баллов)	15	71%	6	29%
Средняя (15-45 баллов)	41	69,5%	18	30,5%
Тяжелая (≥ 45)	15	55,5%	12	44,5%

2.2.6.1. Распределение больных акантолитической пузырчаткой в зависимости от наличия или отсутствия стероидной резистентности для разных степеней тяжести заболевания

Из полученных результатов следует, что СР была более выражена у больных АП тяжелой степени тяжести (45%; $p > 0,05$) (Рисунок 9, Таблица 5). Средний индекс PDAI у стероид-чувствительных больных легкой, средней и тяжелой степени тяжести составлял $10,25 \pm 3,11$; $31 \pm 9,66$ и $74,14 \pm 12,32$ балла соответственно. У стероид-резистентных больных АП легкой степени тяжести PDAI был равен $12,2 \pm 1,48$. При средней и тяжелой степени тяжести у СР пациентов индекс PDAI составлял $37,0 \pm 5,64$ и $63,95 \pm 14,62$ балла соответственно.

Таким образом, можно предположить, что при СР наблюдалась тенденция к тяжелому течению заболевания.

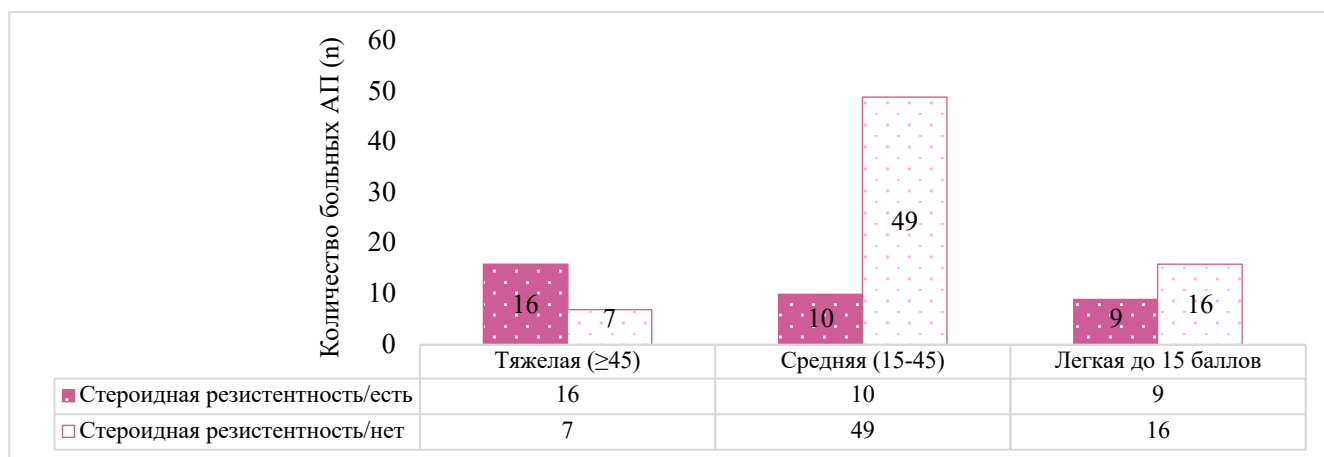


Рисунок 9 – График распределения пациентов в зависимости от наличия стероидной резистентности для разной степени тяжести пузырчатки (авторский рисунок)

Таблица 5 – Количество и доля пациентов с АП для каждой степени тяжести с наличием стероидной резистентности

Степень тяжести	Число пациентов со стероидной резистентностью	
Лёгкая (до 15 баллов)	9	25,3%
Средняя (15-45 баллов)	10	29%
Тяжелая (≥45 баллов)	16	45,7%

2.2.7. Распределение больных буллезным пемфигоидом Лёвера в зависимости от степени тяжести согласно индексу ВРДАИ и возрасту

Степень тяжести БП определялась с помощью международного валидизированного индекса ВРДАИ (Bullous Pemphigoid Disease Area Index), разработанного Murrell et al. 2012 (Приложение А, Таблица А.2) [280]. Разброс ВРДАИ составляет от 0 до 360 баллов.

ВРДАИ складывался из баллов в зависимости от типа высыпаний – пузыри/эрозии (120 баллов) и волдыри/эритема (120 баллов), а также степени поражения (количества высыпаний) той или иной локализации: волосистая часть головы, шея, грудная клетка, верхние и нижние конечности, ладони, стопы, живот, гениталии и ягодицы.

БП легкой степени тяжести характеризовался ВРДАИ равным ≤ 19 баллам, средней – 20-56 и тяжелой – ≥ 57 баллам [281].

В проводимом исследовании легкая степень тяжести БП наблюдалась у двух пациентов (7%), средняя и тяжелая у 17 (59%) и 10 (34%) больных соответственно (Рисунок 10). Таким образом, в проводимом исследовании средняя степень тяжести БП встречалась чаще чем легкая и тяжелая (Рисунок 10).

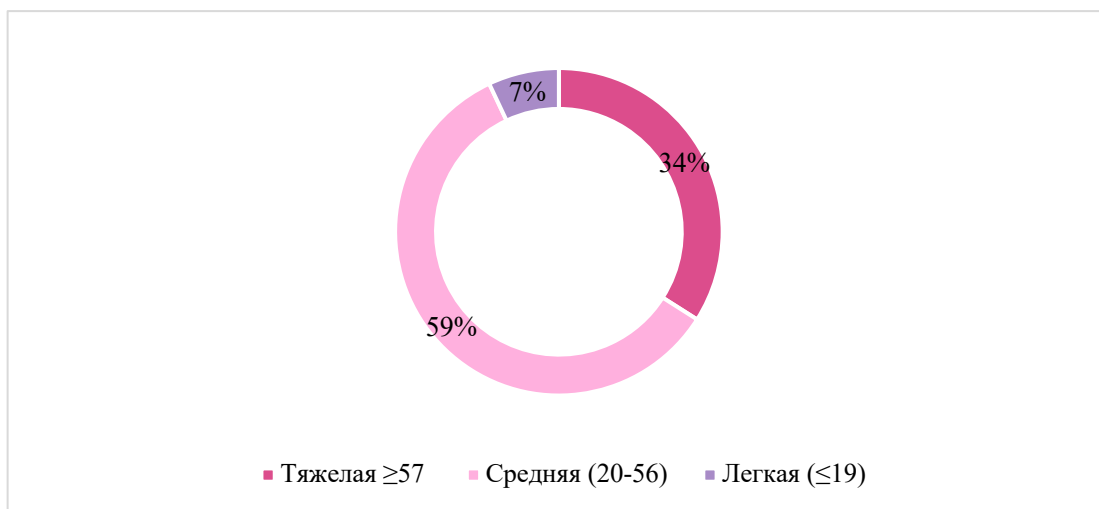


Рисунок 10 – Распределение больных БП в зависимости от степени тяжести заболевания (авторский рисунок)

У больных легкой степенью тяжести суммарный показатель ВРДАИ составил $12,5 \pm 2,5$ баллов; у пациентов средней и тяжелой – $43,41 \pm 9,63$ и $71,5 \pm 8,38$ баллов соответственно (Таблица 6).

Таблица 6 – Суммарный индекс ВРДАИ у больных БП разной степени тяжести

Группы больных по степени тяжести БП	Количество больных (n/%)	Суммарный показатель индекса ВРДАИ	Средний возраст
Легкая степень	2 (7%)	$12,5 \pm 2,5$	$42,5 \pm 16,5$
Средняя степень	17 (59%)	$43,41 \pm 9,63$	$57,53 \pm 17,56$
Тяжелая степень	10 (34%)	$71,5 \pm 8,38$	$67,1 \pm 13,9$

На основании полученных результатов установлено, что с увеличением степени тяжести БП средний возраст пациентов был выше (Таблица 6, Рисунок 11).

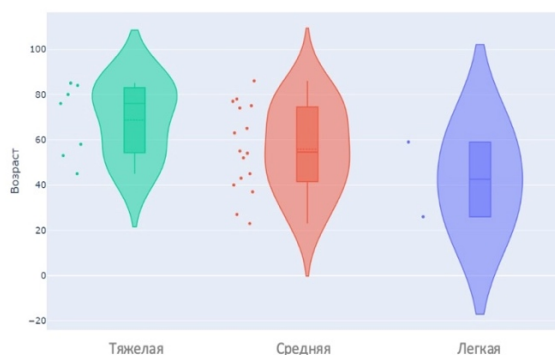


Рисунок 11 – Скрипичная диаграмма распределения пациентов в зависимости от возраста для разной степени тяжести БП (авторский рисунок)

2.2.7.1. Распределение больных буллезным пемфигоидом Лёвера в зависимости от степени тяжести и половой принадлежности

У больных БП женского пола наблюдалась тенденция к более тяжелому течению заболевания (Рисунок 12, Таблица 7).

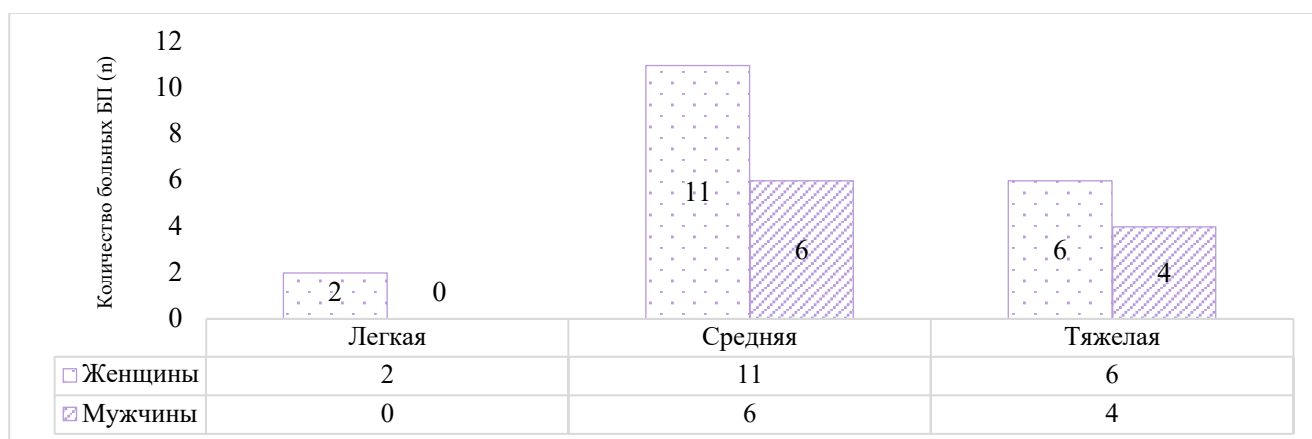


Рисунок 12 – График распределения пациентов в зависимости от половой принадлежности для разной степени тяжести БП (авторский рисунок)

Таблица 7 – Распределение пациентов в зависимости от половой принадлежности для разной степени тяжести БП

Степень тяжести	Женщины		Мужчины	
	Число	Процент	Число	Процент
Тяжелая (≥ 57)	6	60%	4	40%
Средняя (20-56)	11	64,7%	6	35,3%
Лёгкая (≤ 19)	2	100 %	0	0 %

2.2.7.2. Распределение больных буллезным пемфигоидом Лёвера в зависимости от наличия или отсутствия стероидной резистентности для разных степеней тяжести заболевания

При анализе частоты встречаемости СР было установлено, что у больных БП она наблюдалась только у трех пациентов; два пациента страдали тяжелой степенью тяжести БП, один – средней (Рисунок 13).

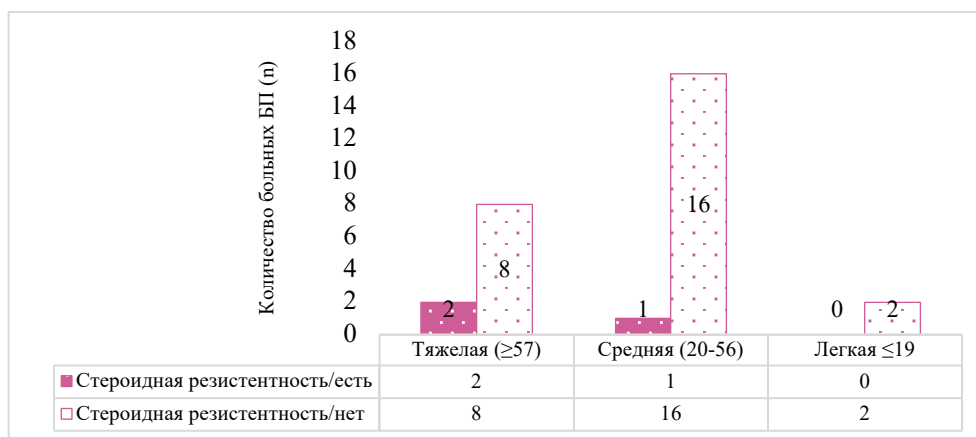


Рисунок 13 – График распределения пациентов в зависимости от наличия стероидной резистентности для разной степени тяжести БП (авторский рисунок)

2.2.8. Распределение больных синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом в зависимости от степени тяжести заболевания согласно индексу BSA, SCORTEN и возрасту

Тяжесть ССД, ССД-ТЭН и ТЭН оценивалась с помощью международного индекса BSA (Body Surface Area). Индекс измерялся в процентах, при котором площадь ладони пациента равна 1% площади поверхности тела. Таким образом, шесть ладоней были равны 6% поверхности кожи. Для ССД индекс BSA составлял менее 10%, для ССД-ТЭН – 10-30% и ТЭН – более 30% соответственно (Приложение А, Таблица А.3).

В проводимом исследовании у шести (43%) больных наблюдался перекрестный ССД-ТЭН, по 4 (28,5%) пациента приходилось на ССД и ТЭН соответственно (Рисунок 14, Таблица 8).

Следует сделать вывод, что именно перекрестная разновидность ССД-ТЭН являлась наиболее распространенной в данной выборке больных (Рисунок 14, Таблица 8).

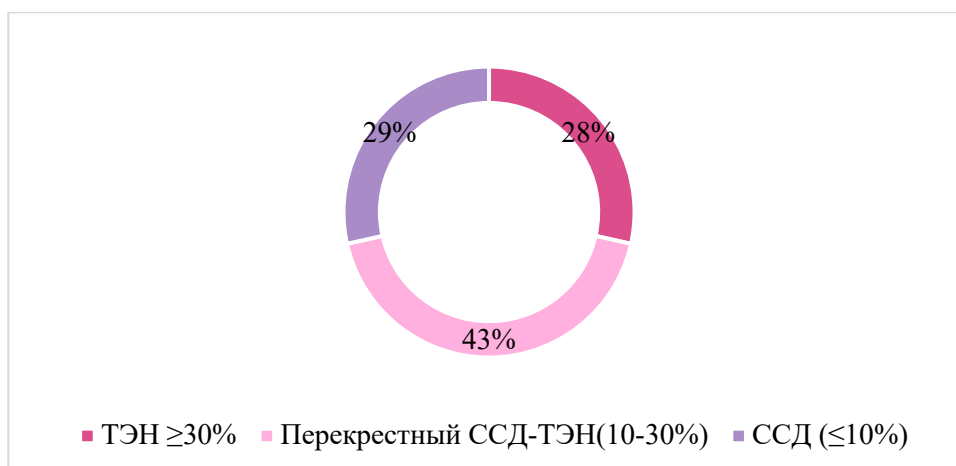


Рисунок 14 – Количественная характеристика больных ССД/ТЭН в зависимости от степени тяжести заболевания (авторский рисунок)

Группа ТЭН характеризовалась более молодым возрастом по сравнению с ССД-ТЭН и ССД (Таблица 8, Рисунок 15).

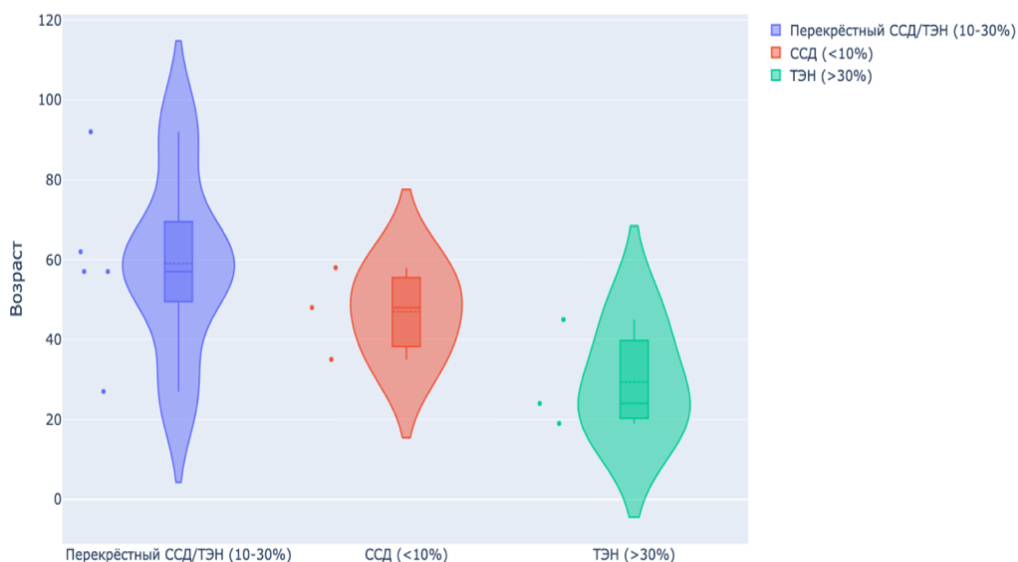


Рисунок 15 – Распределение пациентов ССД, ССД-ТЭН и ТЭН в зависимости от возраста (авторский рисунок)

Таблица 8 – Суммарный индекс BSA у больных ССД, ССД-ТЭН и ТЭН

Группы больных по степени тяжести	Количество больных (n/%)	Суммарный показатель индекса BSA (%)	Средний возраст (лет) Mean \pm SD

ССД	4 (28,5%)	$7 \pm 1,63$	$47,75 \pm 9,42$
ССД-ТЭН	6 (43%)	$22 \pm 5,10$	$59 \pm 20,64$
ТЭН	4 (28,5%)	$40 \pm 4,8$	$29,33 \pm 11,27$

Степень тяжести больных ТЭН также оценивалась с помощью международного валидизированного индекса SCORTEN (Приложение А, Таблица А.3) [244].

Индекс включает следующие показатели: возраст более 40 лет (1 балл); число сердечных сокращений более 120 уд./мин (1 балл); злокачественная опухоль (1 балл); площадь пораженной поверхности тела более 10 % (1 балл); уровень мочевины в сыворотке более 10 ммоль/л (1 балл); концентрация бикарбоната в сыворотке менее 20 ммоль/л (1 балл); уровень глюкозы в сыворотке более 14 ммоль/л (1 балл).

При суммировании баллов, индекс SCORTEN может спрогнозировать вероятность летального исхода у больного ТЭН. Так, если у пациента наблюдается 0–1 балла, то вероятность летального исхода составит 3,2 %; 2 балла – 12,1%; 3 балла – 35%; 4 балла – 58,3%; 5 баллов – 90% [282].

У двух больных ТЭН индекс SCORTEN составлял 2 балла, по одному пациенту приходилось по 1 и 4 баллам соответственно (Таблица 9).

Таблица 9 – Суммарный индекс SCORTEN у больных ТЭН

Количество больных (n/%)	Суммарный показатель индекса SCORTEN	Средний возраст
1	1	45
2	2	37,5
1	4	19

2.2.8.1. Распределение больных синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом в зависимости от наличия или отсутствия стероидной резистентности и степени тяжести заболевания

Из полученных результатов следует, что СР встречалась только у одного больного ТЭН (BSA>30%; индекс SCORTEN=4). Остальные пациенты адекватно отвечали на терапию СГК (Рисунок 16).

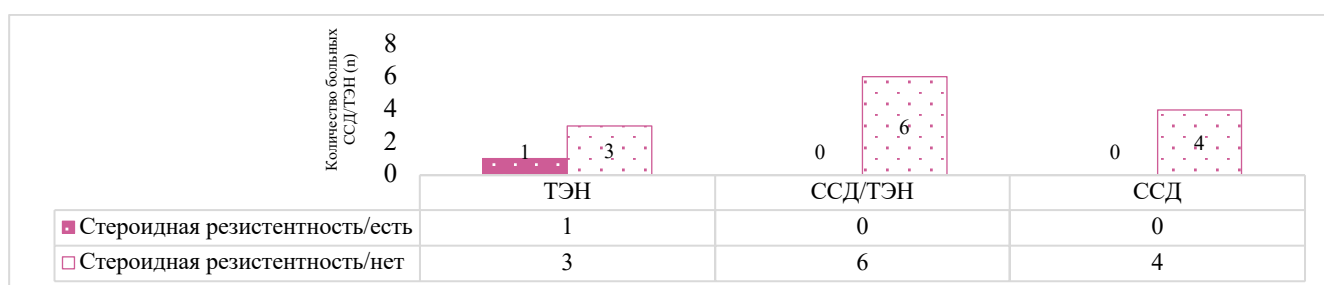


Рисунок 16 – График распределения пациентов в зависимости от наличия стероидной резистентности у больных ССД, ССД-ТЭН и ТЭН (авторский рисунок)

2.2.9. Оцениваемые исходы. Конечные точки исследования случай-контроль по оценке распространенности HLA-DRB1, HLA-DQB1 аллелей, гаплотипов, частоты встречаемости A3669G (rs6198) полиморфизма гена NR3C1 β-изоформы глюкокортикоидного рецептора, а также экспрессии его α- и β-изоформ

2.2.9.1. Первичные конечные точки

Производилась оценка распространенности HLA аллелей:

1. Оценка частоты встречаемости HLA-DRB1, HLA-DQB1 аллелей и гаплотипов в низком и высоком разрешениях у больных АП, БП, ССД/ТЭН по сравнению с группой контроля с использованием теста χ^2 и критерия Фишера;

2. Оценка ассоциации специфических HLA-DRB1, HLA-DQB1 аллелей и гаплотипов с риском развития указанных заболеваний в российской популяции.

Выполнялся анализ экспрессии глюкокортикоидных рецепторов:

1. Измерение уровня экспрессии α - и β -изоформ ГР в периферической крови у больных БД и здоровых доноров.
2. Количественная оценка экспрессии ГР на уровне мРНК методом ПЦР.
3. Сравнение уровней экспрессии между группами с использованием статистических тестов (t-тест, ANOVA).

Осуществлялась оценка A3669G (rs6198) полиморфизма β -изоформы ГР:

1. Генотипирование A3669G (rs6198) полиморфизма гена NR3C1 у здоровых доноров и больных АП, БП и ССД/ТЭН.
2. Определение частоты генотипов (AA, AG и GG) и аллелей (A и G) в группе пациентов и контроля.
3. Анализ ассоциации A3669G (rs6198) полиморфизма гена NR3C1 β -изоформы ГР с риском развития АП.

2.2.9.2. Вторичные конечные точки

Оценивалась корреляция с тяжестью заболеваний:

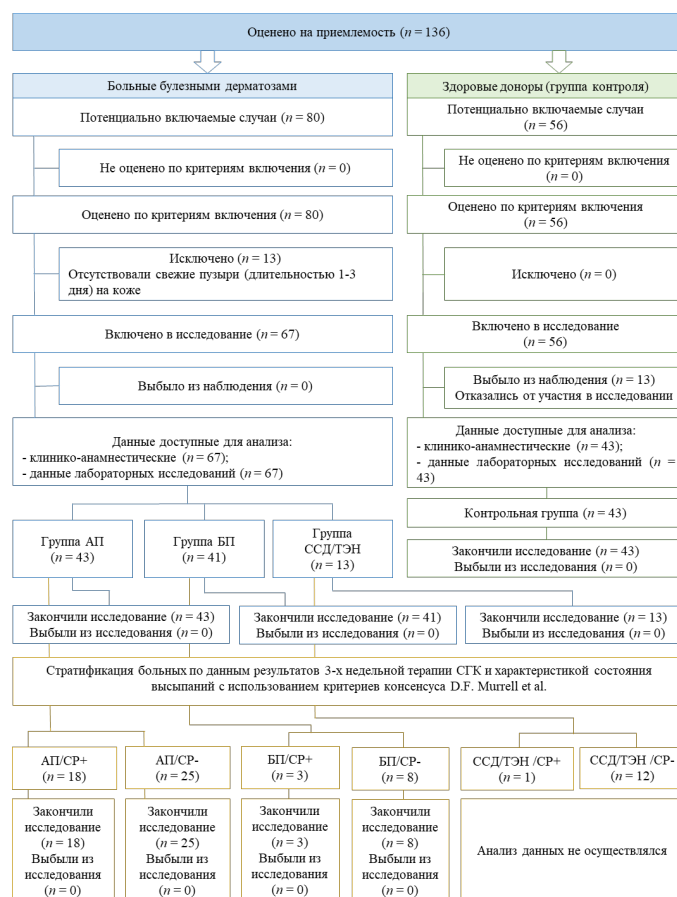
1. Оценка связи между выявленными HLA аллелями, а также гаплотипами и тяжестью течения заболеваний, измеряемой с использованием клинических шкал PDAI, BPDAI, BSA;
2. Анализ корреляции с использованием коэффициента корреляции Спирмена или Пирсона;
3. Оценка связи между A3669G полиморфизмом гена NR3C1 β -изоформы ГР с тяжестью АП, измеряемой с помощью индекса PDAI.

Выполнялся анализ ассоциации со стероидной резистентностью:

1. Определение стероидной резистентности у больных на основании критериев Murrell et al. 2008.
2. Анализ взаимосвязи HLA аллелей, уровней экспрессии α - и β -изоформ ГР, а также полиморфизма A3669G гена NR3C1 β -изоформы ГР со стероидной резистентностью у больных БД.

2.3. Распределение больных для наблюдательного когортного исследования случай-контроль по оценке цитокинового и хемокинового профилей, а также уровня гранулизина в сыворотке и пузырной жидкости у больных с буллезными дерматозами

В группу, в которой оценивался уровень цитокинового и хемокинового профилей в сыворотке и пузырной жидкости, а именно TNF- α , IL15, IL10, IL4, CXCL8, CCL11 и гранулизина, было включено 67 больных БД. Из них 43 больных АП, 11 – БП, 13 – ССД/ТЭН и 43 здоровых донора. Данное распределение было связано с тем, что на момент включения в исследование не у всех пациентов на коже наблюдались свежие пузыри, являясь критерием включения в исследование (Рисунок 17).



Примечания: блок-схема выполнена согласно рекомендациям STROBE. Сокращения: АП - акантолитическая пузырчатка; БП - буллезный пемфигоид; ССД - синдром Стивенса-Джонсона; ТЭН - токсический эпидермальный некролиз; СГК - системные глюкокортикостероиды; СР+ - стероид-резистентные; СР- - стероид-чувствительные

Рисунок 17 – Дизайн исследования (авторский рисунок)

Забор крови и пузырьной жидкости у больных производился в активную стадию заболевания (обострение процесса, появление новых, свежих пузырей) и в период ремиссии на фоне снижения малых доз СГК (<20 мг/сут) [283]. Всего было оценено 80 больных БД согласно критериям включения. Тринадцать больных из этой выборки были исключены ввиду отсутствия на коже свежих пузырей (пузыри, существующие 1-3 дня) (Рисунок 17).

Больные были разделены на три группы (Рисунок 17). В первую группу входили больные АП (n=43), во вторую и третью – БП (n=11) и ССД/ТЭН (n=13) соответственно. Группа контроля состояла из 43 здоровых доноров. Далее каждая группа пациентов делилась на стероид-резистентных и стероид-чувствительных, а также по степени тяжести заболеваний согласно клиническим индексам PDAI, BPDAI, BSA и SCORTEN (Рисунок 17) [283].

Средний возраст больных АП, БП и ССД/ТЭН в данном когортном исследовании составил 55 лет, группы контроля – 51 год соответственно. Группу АП составляли 10 мужчин и 33 женщины, БП – 4 мужчины и 7 женщин, ССД/ТЭН – 3 мужчин и 10 женщин и группу здоровых доноров 19 мужчин и 24 женщины соответственно [283].

Согласно критерию Краскела-Уоллиса и тесту Фишера можно сделать вывод, что группы АП и БП по полу и возрасту были сопоставимы ($p>0,05$; $\alpha=0,05$). Пациенты с ССД/ТЭН были на 10 лет моложе. По степени тяжести группы были не сопоставимы из-за различий распределения категорий (Таблица 10) [283].

Таблица 10 – Характеристика больных буллезными дерматозами и контрольной группы по возрасту, полу и степени тяжести заболевания

Группа	АП (n = 43)	БП (n = 11)	ССД/ТЭН (n = 13)	Контрольная группа (n = 43)	p
Показатель					
Средний возраст, годы, Mean \pm SD	54,4 \pm 13,0	55,4 \pm 17,2	45,15 \pm 20,5	51,0 \pm 2,0	0,073**
Пол (мужской / женский); абс.	10/33	4/7	3/10	19/24	0,177*
Степень тяжести заболевания, %					
Легкая	28	0	23	-	0,11***

Средняя	58	36	31		0,13***
Тяжелая	14	64	46		0,001***
Примечания: * - критерий Хи-квадрат, ** анализ ANOVA, *** критерий Фишера					

В группе больных АП у 12 (28%) отмечена легкая степень тяжести заболевания согласно индексу PDAI, у 25 (58%) – средняя, у 6 (14%) – тяжелая. Четверо больных БП страдали средней степенью тяжести согласно индексу BDAI (36%), у семи пациентов (64%) диагностирована тяжелая форма заболевания. Из группы ССД/ТЭН у трех (23%) больных наблюдался ССД, у четырех – перекрестный синдром ССД-ТЭН (31%) и у шести – ТЭН (46%) соответственно [283] (Рисунок 18).

Наибольшее количество стероид-резистентных больных зафиксировано в группе АП – 42% (n=18). В когорте БП СР встречалась у 7% (n=3) пациентов. Только у одного больного ССД/ТЭН был зарегистрирован плохой ответ на терапию СГК (Рисунок 17). У пациентов с АП неадекватно отвечавших на терапию СГК чаще всего наблюдалась средняя (n=11) степень тяжести заболевания. Легкая и тяжелая встречались у двух и пяти больных соответственно. Все стероид-резистентные больные БП страдали тяжелой формой заболевания [283].

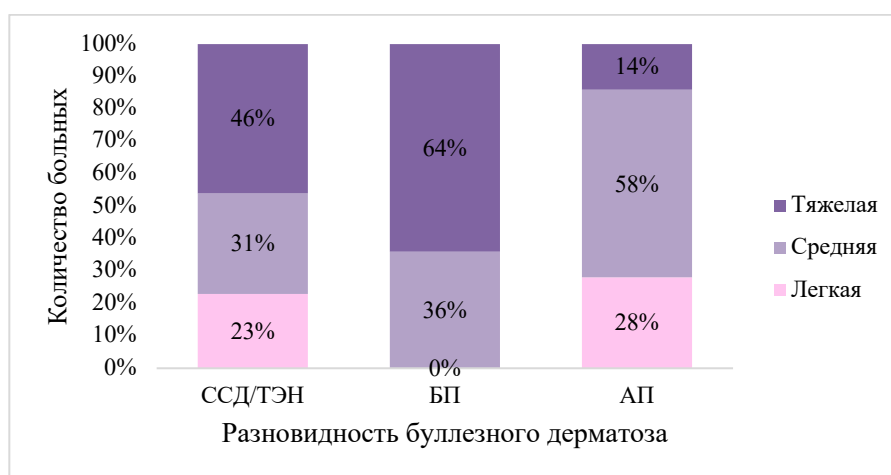


Рисунок 18 – Распределение доли больных БД в когортном наблюдательном исследовании по степени тяжести заболевания (авторский рисунок)

2.3.1. Конечные точки когортного observationalного исследования случай-контроль

2.3.1.1. Первичные конечные точки

Определялись уровни маркеров в сыворотке и пузырной жидкости:

1. Количественная оценка уровней IL10, IL15, IL4, TNF- α , CXCL8, CCL11 и гранулизына в пузырной жидкости и сыворотке у больных АП, БП, ССД/ТЭН в активную фазу заболевания и здоровых доноров (группа контроля);

2. Выявление статистически значимых различий ($p < 0,05$) в уровнях биомаркеров между группой больных БД и здоровыми донорами.

Оценивалась ассоциация со стероидной резистентностью:

1. Сравнительная оценка концентрации IL10, IL15, IL4, TNF- α , CXCL8, CCL11 и гранулизына в сыворотке и пузырной жидкости у стероид-резистентных и стероид-чувствительных больных в каждой группе заболеваний;

2. Определение маркеров, ассоциированных со СР.

2.3.1.2. Вторичные конечные точки

Выполнялся сравнительный анализ уровня биомаркеров в группах АП, БП и ССД/ТЭН:

1. Сравнительная оценка уровней IL10, IL15, IL4, TNF- α , CXCL8, CCL11 и гранулизына в сыворотке и пузырной жидкости в группах больных АП, БП и ССД/ТЭН;

2. Идентификация специфических дифференциально-диагностических биомаркеров буллезных дерматозов. Например, идентификация более высокого уровня IL15 и гранулизына у больных ССД/ТЭН по сравнению с АП и БП ($p < 0,001$).

Проводилась оценка корреляции с клиническими характеристиками:

1. Определение корреляции между уровнями биомаркеров и тяжестью течения буллезных дерматозов (АП, БП, ССД/ТЭН), измеряемой клиническими шкалами: PDAI для АП, BPDAI для БП и BSA и SCORTEN для ССД/ТЭН.

2.3.1.3. Дополнительные конечные точки

Определялись потенциальные предикторы ответа на терапию:

1. Идентификация биомаркеров в пузырьной жидкости (гранулизин, CXCL8), которые могут служить потенциальными предикторами ответа на терапию СГК;

2. Оценка возможности использования пузырьной жидкости для диагностики, дифференциальной диагностики и мониторинга ответа на терапию в режиме реального времени.

Производилась оценка предсказательной способности моделей:

1. Сравнение производительности моделей «Random Forest Classifier», Logistic Regression, «SVC», «Decision Tree Classifier» и «CatBoost» по следующим метрикам: F1-метрика, «ROC AUC», «Recall» и «Precision» при прогнозировании СР у больных БД на основании следующих признаков: концентрация IL10, IL15, IL4, TNF- α , CXCL8, CCL11 и гранулизина в сыворотке и пузырьной жидкости, диагноз АП, БП или ССД/ТЭН, степень тяжести АП, БП и ССД/ТЭН, сопутствующие заболевания, прием адъювантной терапии;

2. Определение стабильности предсказательной способности моделей при использовании кросс-валидации (например, 5-кратной и 10-кратной кросс-валидации).

Оценивалось влияние наличия сопутствующих заболеваний на прогноз развития СР:

1. Оценка вклада определенных сопутствующих заболеваний в вероятность развития СР у больных буллезными дерматозами.

Производилась оценка чувствительности и специфичности моделей:

1. Расчет чувствительности (Recall) и специфичности моделей для идентификации пациентов со СР;

2. Определение оптимального порога классификации на основании ROC-кривой для максимизации баланса между чувствительностью и специфичностью.

Определялась прогностическая ценность для клинического применения:

1. Оценка возможности использования моделей для классификации пациентов на стероид-резистентных и стероид-чувствительных с целью раннего назначения адъювантной терапии.

2.4. Характеристика больных для проспективного неконтролируемого одноцентрового когортного исследования по оценке эффективности и переносимости комбинированной терапии плазмаферезом, внутривенным человеческим иммуноглобулином и системными глюкокортикостероидами у стероид-резистентных больных пузырчаткой

В группу стероид-резистентных больных, получавших комбинированную терапию СГК, плазмаферезом и человеческим IVIG входило 32 больных – из них 30 (94%) страдали ВП, у двух пациентов наблюдалась ЛП (6%) (Рисунок 19). Следует отметить, что три стероид-резистентных больных ПНП были исключены из исследования ввиду прохождения терапии по поводу основного онкологического процесса.

Из 30 больных ВП 19 пациентов были женского пола, 11 – мужского. Группа ЛП состояла из двух мужчин. Средний возраст больных составил 55 лет (Таблица 11). У 7 (23%) больных данной группы наблюдалась легкая степень тяжести АП, у 8 (27%) и 15 (50%) средняя и тяжелая соответственно.

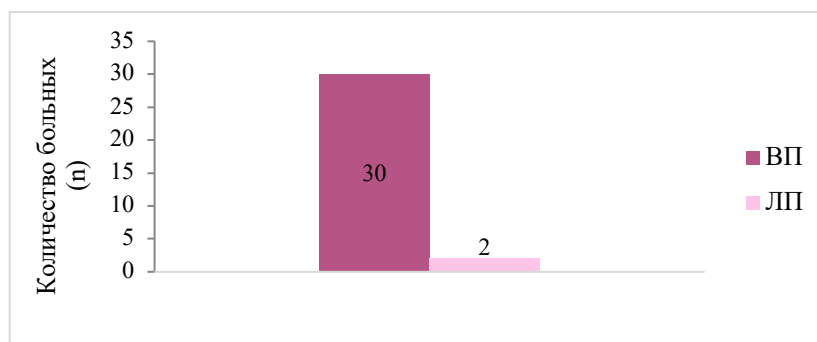


Рисунок 19 – Характеристика больных, получавших комбинированную терапию плазмаферезом, внутривенным человеческим иммуноглобулином и СГК (авторский рисунок)

Таблица 11 – Распределение групп по диагнозу, полу и возрасту

	Диагноз ВП		Диагноз ЛП		Средний возраст
	Пол				
	Ж	М	Ж	М	
Основная группа	19	11	0	2	55

До начала введения плазмафереза и внутривенного человеческого IVIG все больные получали максимальную дозу среднюю дозу СГК ($72,7 \pm 10,4$ мг/сут) с последующим медленным снижением от максимальной начальной дозы в течение трех недель до 60 мг/сут, затем через 3 недели дозу препарата снижали до 50 мг/сут и через неделю до 40 мг/сут, затем каждую неделю – по 10 мг до 20 мг/сут, которую больные получали в течение месяца согласно клиническим рекомендациям [33, 66].

Наличие стероидной резистентности оценивалось с помощью консенсуса Murrell 2008 [67]. В течение 3-х недель от начала терапии СГК при появлении новых высыпаний и увеличением старых элементов к проводимому лечению 30 (94%) стероид-резистентным больным АП назначался азатиоприн в начальной дозе 150 мг/сут с постепенным снижением до 50 мг/сут [33, 66]

Больным ($n=2$; 6%), у которых отмечалась непереносимость азатиоприна, назначался ритуксимаб в дозе 500 мг внутривенно один раз в неделю (всего 4 процедуры) с премедикацией преднизолоном (90 мг внутривенно), парацетамолом и антигистаминными препаратами (Рисунок 20) [33, 66].

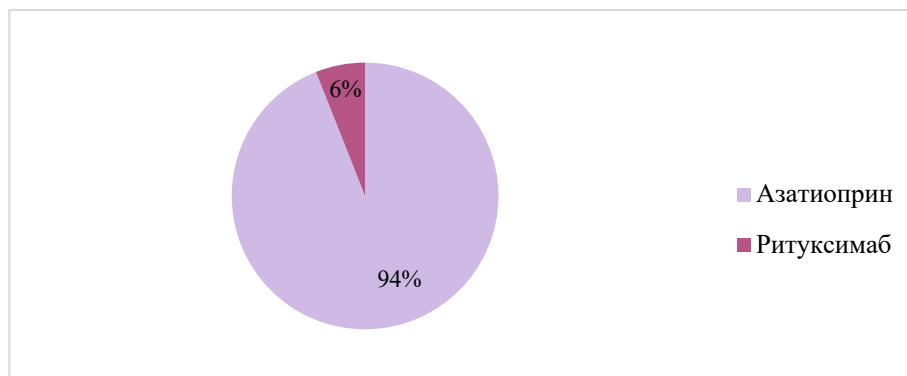


Рисунок 20 – Характеристика предшествующей адъювантной терапии в основной группе больных (авторский рисунок)

Однако на фоне проводимой терапии высокими дозами СГК и азатиоприном спустя в среднем $10,2 \pm 0,84$ недель от начала лечения у пяти стероид-резистентных больных контроль над заболеванием достигнут не был. Это характеризовалось рецидивом АП на фоне снижения малых доз СГК (≤ 20 мг/сут) в виде появления трех или более высыпаний на коже и/или слизистых оболочках полости рта и отсутствием заживления старых элементов в течение недели согласно консенсусу Murrell DF et al 2008 [67]. Средний PDAI у данных пациентов составил $24,8 \pm 6,34$ балла. У 25 пациентов наблюдалась частичная ремиссия на фоне средней минимальной дозы СГК ($15,95 \pm 4,11$ мг/сут) и азатиоприна ($57,81 \pm 18,44$ мг/сут), которая характеризовалась наличием перманентных единичных эрозий, эпителизирующихся в течение одной недели на фоне минимальной дозы СГК (≤ 20 мг/сут) и азатиоприна.

Далее всем стероид-резистентным больным назначали комбинированную терапию плазмаферезом и внутривенным человеческим IVIG в процессе снижения малых доз СГК, начиная с дозировки преднизолона ≤ 20 мг/сут. Протокол лечения включал четыре сеанса дискретного плазмафереза в неделю через день. Проводился забор 600-650 мл цельной крови в двоянный пластиковый контейнер с 4% цитратом натрия. Затем проводилось центрифугирование в течение 12-15 минут при 4800 об/минуту с отделением плазмы и лейко-тромбоцитарного слоя. После чего удалялось 300-400 мл плазмы. Далее полученную эритроцитарную массу разводили 400-500 мл 0,9% раствора натрия хлорида, тщательно перемешивали и немедленно реинфузировали пациентам. Цикл повторяли дважды

за одну процедуру. Таким образом, удалялось 600-800 мл плазмы. Сразу после завершения курса дискретного плазмафереза к проводимому лечению добавлялся внутривенный человеческий IVIG, который вводился в дозе 0,04 г/кг ежедневно в течение 5 последовательных дней (общая доза на курс – 0,2 г/кг). Каждая доза препарата извлекалась из флакона и вводилась разведённой 0,9% раствором натрия хлорида из расчета 1:1 (препарат/раствор). Общий объём инфузии на одну процедуру составлял 0,8-2,0 мл/кг и вводился в течение 3-4 часов.

84% больных АП получали три курса комбинированной терапии с периодичностью один раз в 6 месяцев. У 16% больных, у которых контроль над заболеванием не был достигнут согласно консенсусу Murrell et al. 2008 было рекомендовано назначение двух дополнительных курсов терапии [67]. Период наблюдения составил три года.

2.4.1. Конечные точки для проспективного неконтролируемого одноцентрового когортного исследования по оценке эффективности и переносимости комбинированной терапии плазмаферезом, внутривенным человеческим иммуноглобулином и системными глюкокортикостероидами у стероид-резистентных больных пузырчаткой

2.4.1.1. Первичные конечные точки

Выполнялись:

1. Оценка эффективности комбинированной терапии на основании разновидности и длительности ремиссии, а также индекса PDAI;
2. Оценка индекса PDAI до начала терапии, а также в первый, 3, 6 и 12, 18 и 24 месяцы от начала лечения комбинированной терапией плазмаферезом, внутривенным IVIG и СГК согласно консенсусу Murrell et al 2008 [67];
3. Доля пациентов, достигших полной ремиссии АП, которая характеризовалась отсутствием появления новых высыпаний и роста старых при отсутствии системной терапии СГК как минимум в течение 2-х месяцев [67];

4. Доля пациентов, достигших полной ремиссии на фоне терапии минимальными дозами СГК (10 мг/сутки и менее), которая характеризовалась отсутствием появления новых высыпаний в течение как минимум двух месяцев [67];

5. Доля пациентов, достигших частичной ремиссии на фоне минимальной терапии СГК (10 мг/сутки и менее) и топическими стероидами, которая характеризовалась наличием перманентных, а также появлением новых высыпаний, которые заживали в течение одной недели [67].

2.4.1.2. Вторичные конечные точки

Оценивалась переносимость терапии:

1. Частота и характер побочных эффектов, связанных с плазмаферезом (например: гипотензия, гипокальциемия) и внутривенным человеческим IVIG (например: аллергические реакции, головная боль);

2. Доля пациентов, прекративших терапию из-за непереносимости.

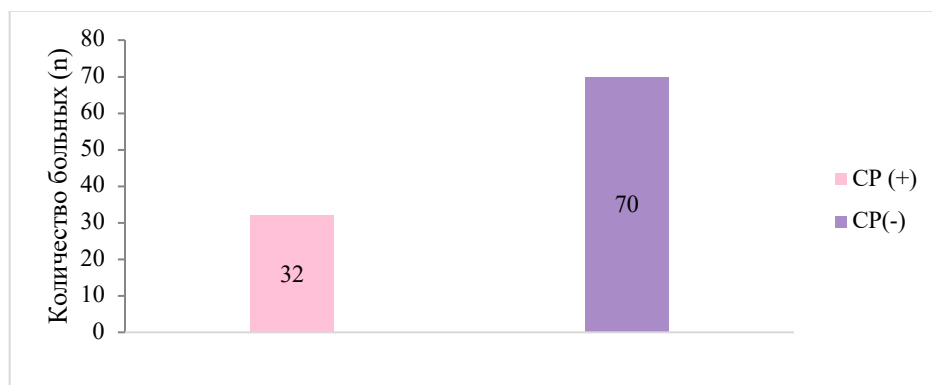
Также оценивались долгосрочные исходы:

1. Частота рецидивов заболевания в течение трех лет после достижения ремиссии.

2.5. Распределение больных для проспективного когортного исследования по оценке концентрации IL10, IL15, IL4, TNF- α , CCL11, CXCL8, гранулизина и динамики данных показателей у стероид-резистентных и -чувствительных больных АП в сыворотке до и после лечения монотерапией системными глюкокортикостероидами и комбинированной терапией плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином

Всего в исследовании участвовало 102 больных АП (Рисунок 21). Из них группа стероид-резистентных пациентов включала 32 (31,4%) человека (см. Главу 2.4). (Таблица 12). Такое распределение было связано с тем, что стероид-

резистентные больные составляют меньшинство среди больных БД и АП, в частности. Примерно 60-80% больных АП, согласно данным литературы, демонстрируют адекватный ответ на лечение СГК [284]. Таким образом, соотношение 32:70 (31,4%/68,6%) отражает естественную распространенность этих групп в клинической практике, что повышает надежность проводимого исследования. Кроме того, увеличение числа пациентов в стероид-чувствительной группе (n=70) позволило обеспечить достаточную статистическую мощность исследования.



Примечание: CP(-) – стероид-чувствительные больные; CP(+)
Рисунок 21 – Количественное распределение больных АП, вошедших в исследование (авторский рисунок)

Группа стероид-чувствительных больных, получавших монотерапию СГК состояла из 70 больных АП (группа контроля). Из них 56 пациентов страдали ВП, 11 – ЛП, 2 – ВегП и один – ПНП соответственно (Рисунок 22).

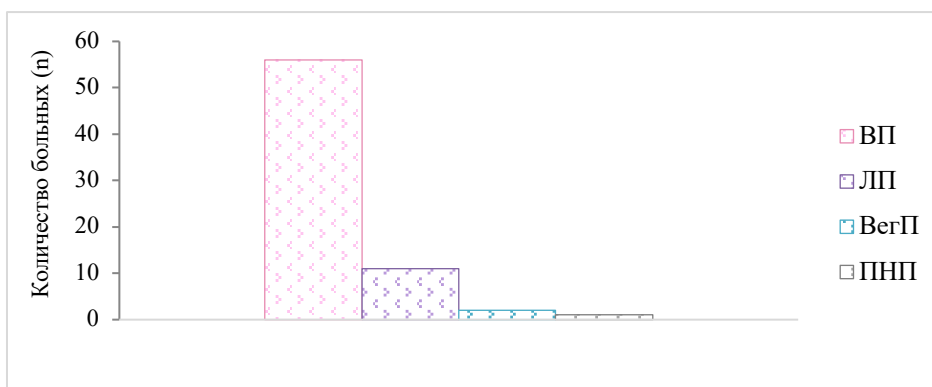


Рисунок 22 – Характеристика больных, получавших монотерапию СГК (контрольная группа; стероид-чувствительные больные) (авторский рисунок)

Средний возраст больных группы стероид-чувствительных больных составил $54 \pm 16,82$ года (Таблица 12). Группа ВП состояла из 36 женщин и 20 мужчин. В группу ЛП входило семь женщин и четыре мужчины, в группу ВегП – две женщины. Одна пациентка страдала ПНП (рак мочевого пузыря) (Рисунок 22). По полу и возрасту группы были сопоставимы.

У 30 стероид-резистентных больных был установлен диагноз ВП. У двух мужчин с ЛП наблюдался неадекватный ответ на терапию SGK (Таблица 12).

Таблица 12 – Распределение групп по диагнозу, полу и возрасту

	Диагноз								Средний возраст
	ВП		ЛП		ВегП		ПНП		
	Пол								
	Ж	М	Ж	М	Ж	М	Ж	М	
Основная группа (стероид-резистентные больные)	19	11	0	2	0	0	0	0	$55 \pm 9,98$
Контрольная группа (стероид-чувствительные больные)	36	20	7	4	2	0	1	0	$54 \pm 16,82$

2.5.1. Конечные точки и исходы для проспективного когортного исследования по оценке концентрации IL10, IL15, IL4, TNF- α , CCL11, CXCL8, гранулизина и динамики показателей у стероид-резистентных и -чувствительных больных акантолитической пузырчаткой в сыворотке до и после лечения монотерапией системными глюкокортикостероидами и комбинированной терапией плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином

2.5.1.1. Первичные конечные точки

Оценивалось:

1. Изменение уровня цитокинового (IL10, IL4, IL15, TNF- α) профиля в сыворотке стероид-резистентных больных АП до начала терапии и спустя 3 месяца после завершения последнего курса комбинированной терапии; у стероид-

чувствительных – на фоне снижения малых доз СГК (≤ 20 мг/сут; в период частичной ремиссии) и в ремиссии заболевания.

2. Изменение уровня хемокинового (CCL11, CXCL8) профиля в сыворотке стероид-резистентных больных АП до начала терапии и спустя 3 месяца после завершения последнего курса комбинированной терапии; у стероид-чувствительных – на фоне снижения малых доз СГК (≤ 20 мг/сут; в период частичной ремиссии) и в ремиссии заболевания.

3. Изменение уровня гранулизина в сыворотке стероид-резистентных больных АП до начала терапии и спустя 3 месяца после завершения последнего курса комбинированной терапии; у стероид-чувствительных – на фоне снижения малых доз СГК (≤ 20 мг/сут; в период частичной ремиссии) и в ремиссии заболевания.

2.6. Распределение триггерных факторов буллезных дерматозов

При оценке распространенности различных факторов, инициировавших развитие БД было обнаружено, что у 55 (51,4%) больных АП из 107 фактор дебюта заболевания оставался неизвестным (Рисунок 23). У 25 (23,3%) больных начало АП ассоциировалось со стрессом и контактом с химическими реагентами (отбеливатели, хлор, дезодоранты) (Рисунок 23).

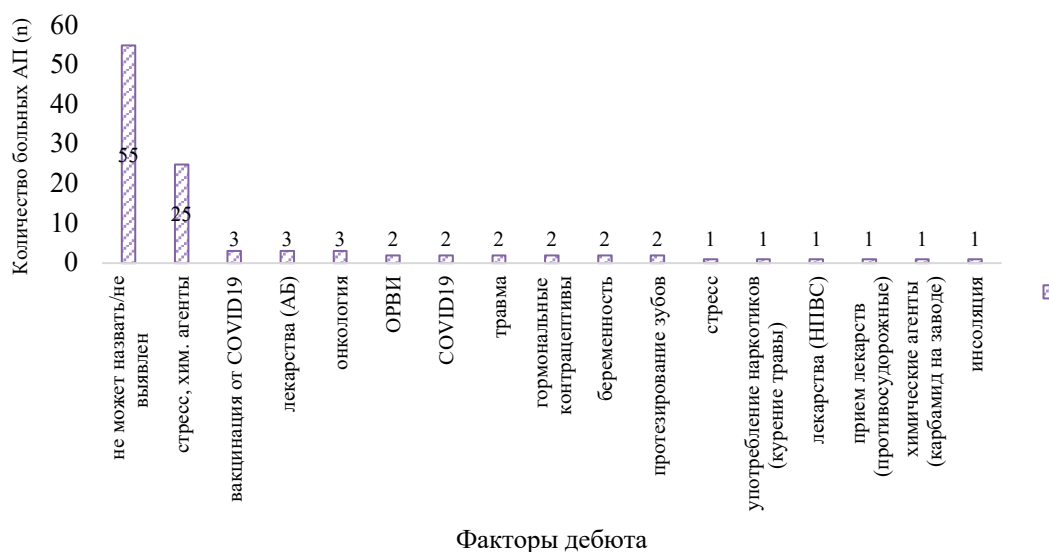


Рисунок 23 – Распределение факторов дебюта у больных АП (авторский рисунок)

Десять (34%) больных БП из 29 не могли назвать фактор дебюта заболевания. Шесть (20%) пациентов связывали начало заболевания с приемом противодиабетического препарата (ингибиторы дипептидилпептидазы 4-го типа). По три (10%) пациента ассоциировали дебют БП со стрессом и беременностью соответственно (Рисунок 24).

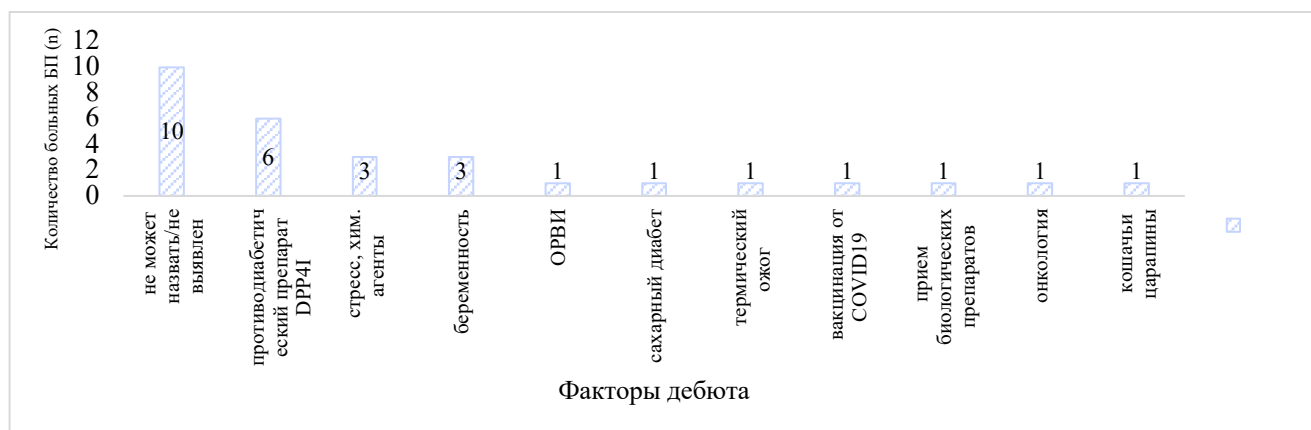


Рисунок 24 – Распределение факторов дебюта у больных БП (авторский рисунок)

При оценке факторов дебюта ССД/ТЭН следует отметить, что у четырех (28,6%) из 14 больных начало заболевания было связано с приемом НПВС. У 2 (14,3%) пациентов триггерный фактор заболевания выявлен не был. По данным анамнеза, у 2 (14,3%) пациентов начало ССД/ТЭН ассоциировалось с приемом противосудорожных средств, у 2 (14,3%) других – с антибиотиками пенициллинового ряда (Рисунок 25). По одному пациенту (7,1%) указывали на химические агенты, биологические препараты и аллопуринол соответственно. В среднем заболевание развивались через 2,5 недели после начала приема противосудорожных препаратов, НПВС и антибиотиков.

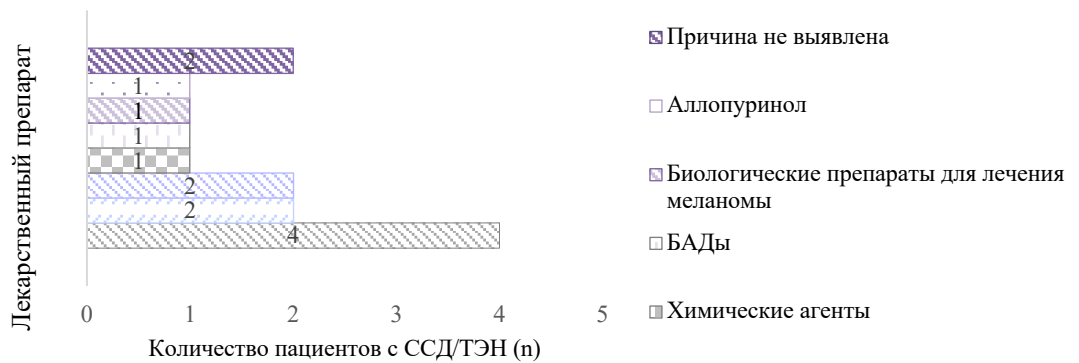


Рисунок 25 – Распределение факторов дебюта у больных ССД/ТЭН (авторский рисунок)

2.7. Расчет доли сопутствующих заболеваний в зависимости от типа буллезного дерматоза

2.7.1. Расчет доли сопутствующих заболеваний у больных пузырчаткой

Наиболее часто встречающимся сопутствующим заболеванием у больных АП была гипертоническая болезнь – 21 (19,6%) пациент. По 9 (8,4%) случаев приходилось на ишемическую болезнь сердца (ИБС), хронический тонзиллит и кандидоз. По 6 (5,6%) пациентов имели хронический лимфолейкоз, хронический гастрит, аутоиммунный тиреоидит и сахарный диабет 2-го типа. По три (2,8%) случая приходилось на язвенную болезнь двенадцатиперстной кишки, поллиноз, аритмию, псориатический артрит, хронический гепатит С, доброкачественную гиперплазию предстательной железы, сахарный диабет 1-го типа, ожирение, постинфарктный кардиосклероз, узловой нетоксический зоб и хронический цистит. У двух больных не было зарегистрировано сопутствующих заболеваний (Рисунок 26).

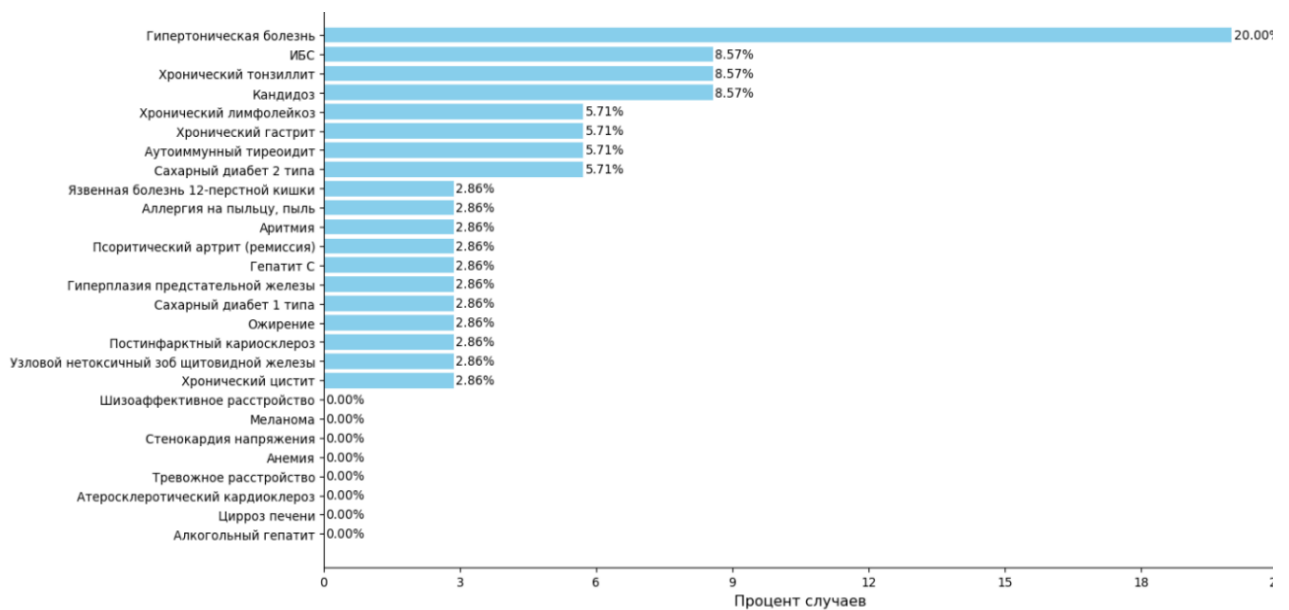


Рисунок 26 – Доля (%) сопутствующих заболеваний у больных АП (авторский рисунок)

2.7.2. Расчет доли сопутствующих заболеваний у больных буллезным пемфигоидом Лёвера

При анализе сопутствующих заболеваний было обнаружено, что гипертоническая болезнь также чаще всего встречалась у 6 больных БП (20,7%). Кроме того, 4 (13,8%) пациента указывали на наличие сахарного диабета 2-го типа в анамнезе. Постинфарктный кардиосклероз, атеросклеротический кардиосклероз, аритмия и стенокардия напряжения регистрировались по 3 (10,3%) случая каждое. Таким образом, сопутствующие заболевания указанной группы были выявлены у большинства пациентов с БП (Рисунок 27).



Рисунок 27 – Доля (%) сопутствующих заболеваний у больных БП (авторский рисунок)

2.7.3. Расчет доли сопутствующих заболеваний у больных синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом

Самым частым сопутствующим заболеванием при диагнозе ССД/ТЭН являлось тревожное расстройство – 3 пациента (21,43%). Далее следовали сахарный диабет 1-го типа и цирроз печени – по 2 пациента (по 14,29%). По одному пациенту (по 7,14%) приходилось на атеросклеротический кардиосклероз, анемию, шизоаффективное расстройство, меланому и алкогольный гепатит. Два пациента не имели сопутствующих заболеваний (Рисунок 28).

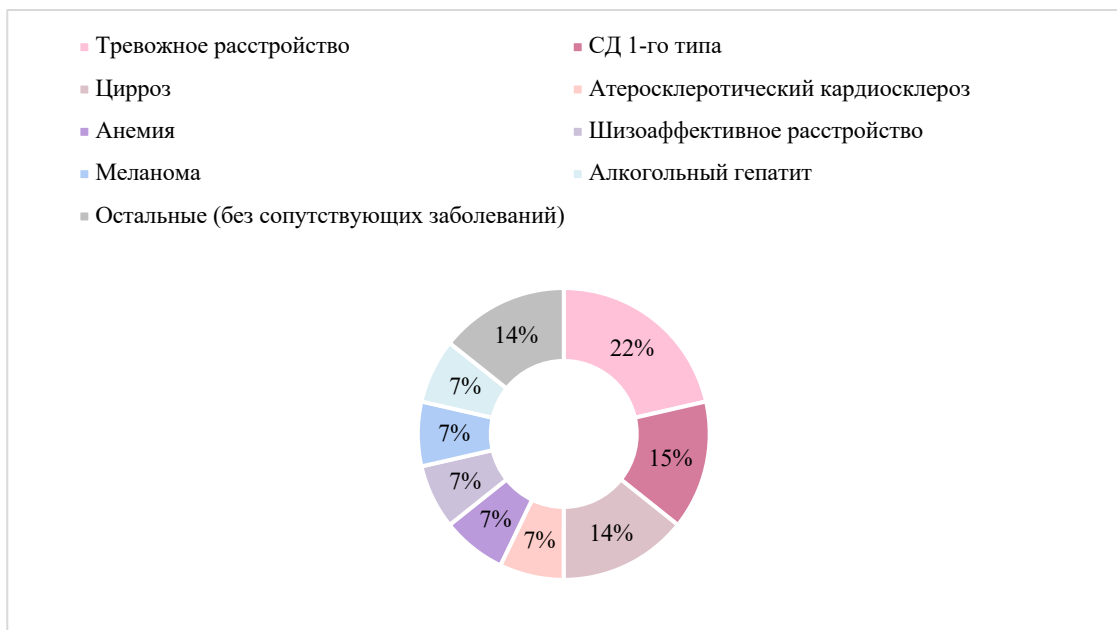


Рисунок 28 – Доля (%) сопутствующих заболеваний у больных ССД/ТЭН (авторский рисунок)

2.8. Расчёт средней начальной дозы системных глюкокортикостероидов и предшествующей адъювантной терапии у больных пузырьчаткой, буллезным пемфигоидом Лёвера, синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом

Средняя начальная доза СГК у больных АП и БП составляла 74,41 и 57,27 мг/сутки соответственно. Больные ССД/ТЭН получали пульс-терапию метилпреднизолоном 1000 мг/сут внутривенно №3 с последующим переходом на пероральный преднизолон. Среднесуточная доза СГК за весь период стационарного лечения у этих больных составила $509,61 \pm 184,23$ мг/сут в преднизолоновом эквиваленте. Большое стандартное отклонение ($\pm 184,23$ мг) отражает вариабельность длительности лечения, степени тяжести заболевания и скорости снижения препарата.

За все время наблюдения больных АП согласно данным анамнеза 46% (n=50) пациентов из 107 в качестве адъювантной терапии получали азатиоприн; 9% (n=10) – метотрексат; 3% (n=3) – ритуксимаб; 2% (n=2) – циклоспорин. 40% (n=42) больных, у которых наблюдалась стойкая длительная ремиссия не получали адъювантную терапию (Рисунок 29). Таким образом, 33 стероид-чувствительных

больных АП также получали адъювантную терапию в связи с наличием ранее в анамнезе рецидивов кожного процесса. Кроме того, в последующем адъювантная терапия назначалась таким пациентам с целью минимизации риска побочных эффектов, более быстрого снижения кумулятивной дозы СГК, а также вероятности рецидивов заболевания в будущем.

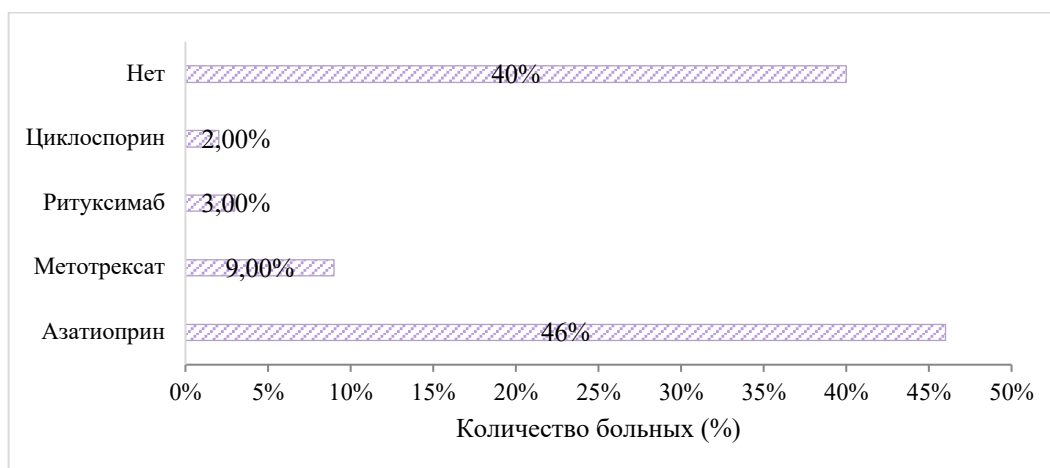


Рисунок 29 – Распределение адъювантной терапии у больных АП в % соотношении (авторский рисунок)

16 (55%) больных БП из 29 в качестве адъювантной терапии получали азатиоприн (Рисунок 30).



Рисунок 30 – Распределение адъювантной терапии у больных БП в % соотношении (авторский рисунок)

Трое (21,4%) больных ССД/ТЭН в качестве адъювантной терапии получали азатиоприн. Одному пациенту (7,14%) в связи с тяжелым (меланома в анамнезе) и торпидным к монотерапии СГК течением заболевания последовательно назначались азатиоприн, метотрексат, плазмаферез и циклоспорин (Рисунок 31).

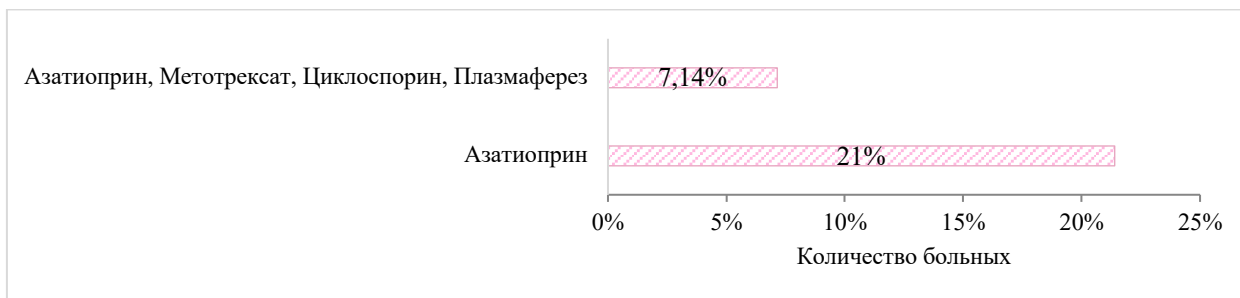


Рисунок 31 – Распределение адъювантной терапии у больных ССД/ТЭН в % соотношении (авторский рисунок)

2.9. Характеристика частоты встречаемости опухолевых процессов у больных паранеопластической пузырчаткой

В проводимом исследовании 6 больных страдали ПНП. У двух (33%) больных наблюдался рак почки, у одного (17%) – рак легкого, у двух (33%) – хронический лимфлейкоз, у одного (17%) – рак желудка (Рисунок 32) [285, 286].

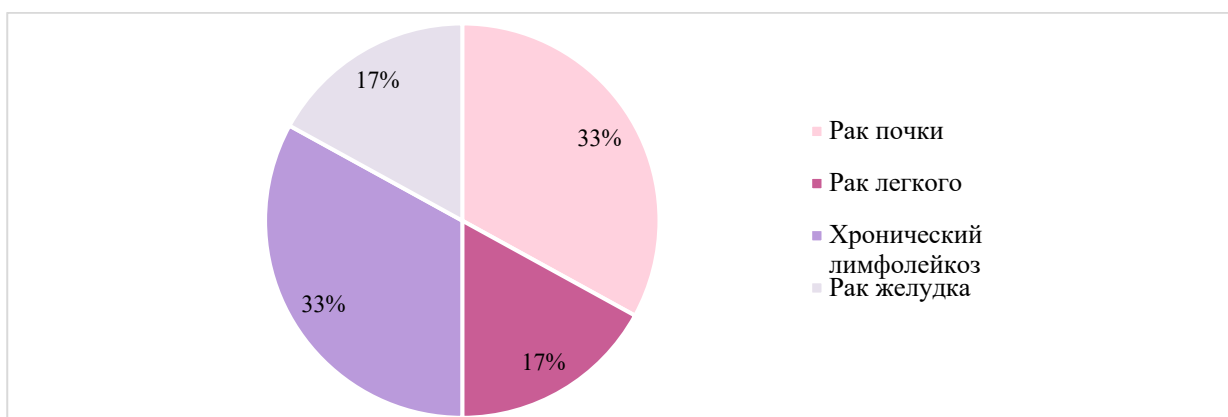


Рисунок 32 – Характеристика онкологических процессов у больных ПНП (авторский рисунок)

2.10. Характеристика больных буллезными дерматозами, перенесших новую коронавирусную инфекцию (SARS-CoV-2) за период 2019-2020 гг.

Под наблюдением находилось девять больных БД в возрасте ≥ 40 лет (в среднем 57 лет) в период пандемии COVID-19. Для оценки степени тяжести БД использовались шкалы PDAI и BPDAI; для оценки тяжести COVID-19 применялась

шкала Brescia-COVID Respiratory Severity Scale. ПЦР-тест на COVID-19 был положительным у всех пациентов. У четырех больных была легкая степень тяжести COVID-19, у трех – умеренная, и у двух – тяжелая соответственно (Приложение А, Таблица А.4) [287]

У троих пациентов наблюдалась легкая степень тяжести БД, у 2 и 4 – умеренная и тяжелая соответственно. Шесть пациентов страдали ВП, 2 – ЛП, и один – БП. У пяти из девяти пациентов наблюдались сопутствующие заболевания: хронический гастрит, гипертоническая болезнь, пароксизмальная суправентрикулярная тахикардия и сахарный диабет. Продолжительность БД варьировала от 1 до 13 лет [287].

Следует отметить, что у больных COVID-19 (n=7), которые продолжали получать поддерживающую системную иммуносупрессивную терапию в дозе 10 мг/день, рецидивов БД в течение 2-х лет не наблюдалось, тогда как у двух больных тяжелой формой COVID-19 не находившихся на поддерживающей дозе СГК наблюдалось прогрессирование кожного процесса и летальный исход (Приложение А, Таблица А.4) [287].

2.11. Методы исследования

2.11.1. HLA-типирование

У всех больных и доноров проводился забор венозной крови из кубитальной вены в пробирки с ЭДТА в объеме 5-8 мл для HLA типирования DRB1 и DQB1 аллелей в низком и высоком разрешениях. Оценивалась частота следующих HLA-DRB1 и HLA-DQB1 аллелей, представленных в таблице (Таблица 13).

Таблица 13 – распределение HLA аллелей DRB1 и DQB1 в высоком и низком разрешениях

Аллели в низком разрешении		Аллели в высоком разрешении	
DRB1	DQB1	DRB1	DQB1

DRB1*04, DRB1*14, DRB1*13, DRB1*11, DRB1*01, DRB1*07, DRB1*15, DRB1*03, DRB1*16	DQB1*05, DQB1*03, DQB1*06, DQB1*02	DRB1*04:02, DRB1*14:05, DRB1*13:01, DRB1*11:04, DRB1*14:04, DRB1*15:01, DRB1*04:03, DRB1*07:01, DRB1*01:02, DRB1*13:02, DRB1*04:04, DRB1*14:01, DRB1*03:01, DRB1*16:01, DRB1*11:01, DRB1*01:01	DQB1*03:02, DQB1*05:03, DQB1*05:01, DQB1*03:01, DQB1*05:02, DQB1*02:01, DQB1*06:03, DQB1*06:04, DQB1*06:02, DQB1*02:02
---	---	---	---

В низком разрешении также оценивались следующие возможные гаплотипы:

DRB1*7/DQB1*6, DRB1*7/DQB1*5, DRB1*7/DQB1*3, DRB1*7/DQB1*2,
 DRB1*4/DQB1*6, DRB1*4/DQB1*5, DRB1*4/DQB1*4, DRB1*4/DQB1*3,
 DRB1*4/DQB1*2, DRB1*3/DQB1*5, DRB1*3/DQB1*3, DRB1*3/DQB1*2,
 DRB1*16/DQB1*6, DRB1*16/DQB1*5, DRB1*16/DQB1*4, DRB1*16/DQB1*3,
 DRB1*16/DRB1*2, DRB1*15/DQB1*6, DRB1*15/DQB1*5, DRB1*15/DQB1*3,
 DRB1*15/DQB1*2, DRB1*14/DQB1*6, DRB1*14/DQB1*5, DRB1*14/DQB1*3,
 DRB1*14/DQB1*2, DRB1*13/DQB1*6, DRB1*13/DQB1*5, DRB1*13/DQB1*3,
 DRB1*12/DQB1*6, DRB1*12/DQB1*5, DRB1*12/DQB1*3, DRB1*12/DQB1*2,
 DRB1*11/DQB1*6, DRB1*11/DQB1*5, DRB1*11/DQB1*3, DRB1*11/DQB1*2,
 DRB1*1/DQB*6, DRB1*1/DQB*5, DRB1*1/DQB*3, DRB1*1/DQB*2. К наиболее
 редко встречающимся гаплотипам в низком разрешении относились:
 DRB1*7/DQB1*6, DRB1*7/DQB1*5, DRB1*4/DQB1*2, DRB1*3/DQB1*5,
 DRB1*16/DQB1*6, DRB1*16/DQB1*4, DRB1*16/DRB1*2, DRB1*15/DQB1*2,
 DRB1*14/DQB1*6, DRB1*14/DQB1*2, DRB1*13/DQB1*5, DRB1*12/DQB1*6,
 DRB1*12/DQB1*2, DRB1*11/DQB1*6, DRB1*11/DQB1*2, DRB1*1/DQB*6 и
 DRB1*1/DQB*2.

В высоком разрешении у больных БД оценивались следующие гаплотипы: DRB1*01:01/DQB1*05:02, DRB1*04:02/DQB1*02:01, DRB1*04:02/DQB1*03:02, DRB1*04:02/DQB1*05:01, DRB1*04:02/DQB1*05:02, DRB1*04:02/DQB1*05:03, DRB1*04:03/DQB1*03:02, DRB1*04:03/DQB1*05:03, DRB1*07:01/DQB1*03:02, DRB1*11:04/DQB1*03:01, DRB1*11:04/DQB1*05:03, DRB1*12:02/DQB1*05:03, DRB1*13:01/DQB1*03:02, DRB1*13:01/DQB1*05:02, DRB1*14:04/DQB1*03:02, DRB1*14:04/DQB1*05:02, DRB1*14:04/DQB1*05:03, DRB1*14:05/DQB1*02:01, DRB1*14:05/DQB1*03:01, DRB1*14:05/DQB1*03:02, DRB1*15:01/DQB1*03:01, DRB1*15:01/DQB1*03:02, DRB1*15:01/DQB1*06:04, DRB1*16:01/DQB1*02:02. К редким гаплотипам (гетерогенная группа уникальных или единичных комбинаций) в высоком разрешении относились: DRB1*01:01/DQB1*05:01 (АН8.1 вариант, распространён в североευропейской популяции), DRB1*03:01/DQB1*02:01 (часть АН8.1), DRB1*07:01/DQB1*02:02 или 03:03 (вариант, распространён в южноевропейской популяции), DRB1*08:01/DQB1*04:02 (редкий, но встречается у европейцев), DRB1*09:01/DQB1*03:03 (распространён в азиатской популяции), DRB1*10:01/DQB1*05:01, DRB1*12:01/DQB1*03:01, DRB1*16:01/DQB1*05:02.

Выделение геномной ДНК из цельной крови проводили с использованием коммерческого набора QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Германия) в соответствии с инструкцией производителя. Концентрацию и чистоту полученной ДНК определяли спектрофотометрически на приборе NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, США); требуемая чистота составляла $A_{260}/A_{280} \geq 1,8$ и $A_{260}/A_{230} \geq 2,0$.

HLA-типирование по локусам DRB1 и DQB1 выполняли методом полимеразной цепной реакции с последовательно-специфичными праймерами (PCR-SSP) с использованием двух коммерческих наборов:

1. HISTO TYPE SSP Kits (BAG Health Care GmbH, Германия);
2. AllSet+™ Gold SSP HLA Typing Kits (One Lambda Inc., часть Thermo Fisher Scientific, США; ранее Invitrogen Corp., Madison, WI, США).

Для каждой реакции использовали 50-100 нг геномной ДНК. Амплификацию проводили на термоциклере Veriti или ProFlex (Applied Biosystems, США) по

следующим параметрам: начальная денатурация 94 °C – 2 мин; затем 10 циклов: 94 °C – 10 с, 65 °C – 60 с; далее 20 циклов: 94 °C – 10 с, 61 °C – 50 с, 72 °C – 30 с; финальная элонгация 72 °C – 5 мин.

Продукты амплификации разделяли методом горизонтального электрофореза в 2%-ном агаровом геле (Agarose LE, Roche, Германия) в 1× TBE-буфере при напряжении 10 В/см в течение 12-15 мин. В качестве маркера молекулярной массы использовали 100 bp DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific). Гели окрашивали бромистым этидием (0,5 мкг/мл) в течение 15 мин и визуализировали в проходящем ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе UVT-312 (Herolab, Германия) или системе Gel Doc XR+ (Bio-Rad, США).

Интерпретацию результатов проводили с помощью специализированного программного обеспечения:

1. HISTO MATCH версии 5.2 и выше (BAG Health Care GmbH, Германия);
2. HLA Fusion версии 4.5 и выше (One Lambda Inc., США).

Программы автоматически определяли наличие или отсутствие специфических ампликонов и выдавали аллельную принадлежность в формате NMDP-кодов с последующим переводом в номенклатуру WHO (HLA nomenclature 2023 и более поздние обновления). При неоднозначных результатах выполняли повторное типирование или дополнительное высокое разрешение методом секвенирования нового поколения (NGS) на платформе MiSeq (Illumina, США) с использованием наборов TruSight HLA v2 Sequencing Panel (CareDx, США).

Все этапы лабораторных исследований проводились в условиях, исключающих контаминацию ДНК, с использованием негативных и позитивных контролей в каждой серии.

2.11.2. Методика для оценки экспрессии α - и β - глюкокортикоидных рецепторов мононуклеаров периферической крови

Мононуклеары периферической крови (МПК) (лимфоциты) были изолированы методом центрифугирования в градиенте плотности (Ficoll–Paque) на

400 оборотах в течение 40 минут при комнатной температуре. Затем клетки были промыты дважды в фосфатно-солевом буфере с 0,5% сывороткой телят (СТ). Свежеизолированные клетки были немедленно заморожены в жидком азоте и хранились при температуре $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ или ресуспендированы в среде RPMI 1640, дополненной L-глутамином (Life Technologies, Carlsbad, CA), 10% FCS, 100 U/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина (Life Technologies) до концентрации 10^6 клеток/мл. Клетки инкубировались с или без дексаметазона (Sigma-Aldrich, St Louis, MO) при концентрациях 10^{-7} и 10^{-8} моль/л в течение 19 часов при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ во влажной среде с добавлением 5% CO_2 . В некоторых экспериментах клетки также инкубировались с 100 нг/мл липополисахарида (LPS) из *E. coli* (Sigma-Aldrich, St Louis, MO). Далее отбирались супернатанты клеток и непосредственно сами клетки и хранились при температуре $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Тотальную мРНК выделяли из МПК с помощью мини-набора Oligotex Direct mRNA (Qiagen, Crawley, UK), как описано производителем, и подвергали обратной транскрипции с использованием обратной транскриптазы M-MuLV (Fermentas, Helsinki, Финляндия). Использовалась система обнаружения ПЦР в реальном времени IQ5 (Bio-Rad, Hercules, Калифорния, США) и iQTM SYBR® Green Supermix (Bio-Rad, Геркулес, Калифорния, США) использовали для количественной оценки ГР (GenBank номер X03225) и транскрипты ГР (X03348.1). Транскрипт человеческой глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (GAPDH, NM_002046) служил контролем загрузки и целостности образца. ПЦР проводили с праймерами, приведенными в таблице 14. Анализ кривой плавления проводили для подтверждения амплификации одного продукта. Вода служила «контролем без шаблона» и не вызывала амплификации. Образцы обрабатывали в трех экземплярах. Уровни экспрессии оценивали методом нормализованной экспрессии ($\Delta\Delta\text{Ct}$) согласно инструкциям производителя (BioRad).

Таблица 14 – Праймеры, используемые для ПЦР

Общий восходящий праймер для α - и β -ГР	5'-CCTAAGGACGGTCTGAAGAGC-3'
Нисходящий праймер h- α -ГР	5'-GCCAAGTCTTGGCCCTCTAT-3'

Нисходящий праймер h-β-ГР	5'-CCACGTATCCTAAAAGGGCAC-3'
GAPDH восходящий праймер	5'-GGAGCCAAAAGGGTCATCATC-3'
GAPDH нисходящий праймер	5'-GTCATGAGTCCTTCCACGATA-3'

МПК лизировали в белковом буфере додецилсульфата натрия. Был проведен вестерн-блот-анализ, с применением стандартных методов. Использовалось ГР-специфическое антитело (Eurogentec, Seraing, Бельгия) к пептиду, соответствующему аминокислотам 728-742 на карбокси-конце человеческого ГР. Специфическое антитело, выявляющее обе изоформы ГР (Santa Cruz Biotechnology, Санта-Крус, Калифорния, США) использовалось в разведении 1:200, а анти-β-изоформа ГР – в разведении 1:500. В качестве вторичного антитела использовали конъюгированные с пероксидазой антикроличьи иммуноглобулины класса G (IgG) (Sigma-Aldrich, Сент-Луис, Миссури, США). Иммунореактивность визуализировали с помощью усиленной хемилюминесценции (ECL Prime, GE Healthcare, Бакингемшир, Великобритания), как указано производителем. GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; ген «домашнего хозяйства»; разведение 1:500; Santa Cruz Biotechnology, Санта-Крус, Калифорния, США) использовали в качестве контроля нагрузки.

Экспрессию α- и β-ГР рассчитывали с помощью сравнительного дельта метода, где количество мишени, нормализованное к эндогенному эталону и относительно калибратора, определялось как $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Life Technologies). Для обнаружения β-изоформы ГР использовали 6 мл кДНК вместо 1 мкл. Значения СТ для данного вида рецептора 33,6 (33-34,5) были намного выше, чем для α-изоформы (27,3 (26,7-28,2)). Каждый образец анализировался в двух экземплярах, допускалось максимальное отклонение на 15% [288].

2.11.3. Методика, требуемая для оценки частоты встречаемости полиморфизма A3669G (rs6198) β-изоформы глюкокортикоидного рецептора у больных буллезными дерматозами

Образцы крови (по 20 мл каждый) были собраны у больных БД, которые на момент взятия крови не получали СГК (пациенты с впервые установленным диагнозом до назначения СГК) и другие иммуносупрессивные препараты. Образцы были взяты у всех пациентов в промежутке между 10:00 и 11:00 утра, чтобы избежать вариаций, связанных с суточным ритмом активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, что потенциально могло бы повлиять на экспрессию ГР. Затем образцы были помещены в гепаринизированные пробирки [289].

Периферические мононуклеарные клетки крови (ПММК) были изолированы методом плотностной центрифугации (Ficoll-Paque) при 400 оборотах в течение 40 минут при комнатной температуре. Затем ПММК были промыты дважды в фосфатно-солевом буфере с 0,5% фетальной телячьей сывороткой (ФТС). Свежесобранные клетки немедленно замораживались в жидком азоте и хранились при температуре -80°C или ресуспендировались в среде RPMI 1640, дополненной L-глутамином (Life Technologies, Carlsbad, CA), 10% ФТС, 100 Ед/мл пенициллина и 100 мг/мл стрептомицина (Life Technologies) до концентрации 10^6 клеток/мл. Супернатанты клеток и сами клетки были собраны и хранились при температуре -80°C [289].

Присутствие полиморфизма A3669G (в результате которого происходит замена TCGTT на TCATT) определялось с помощью анализа кривых плавления с высокой разрешающей способностью (High Resolution Melting, HRM), а затем подтверждалось прямым секвенированием [289].

Использовались следующие праймеры на основе последовательности ДНК гена ГР (референсная последовательность NCBI: NG_009062.1) – прямой 5'-CAGACTGTAACCTTGTGTGGA-3' и обратный – 5'-CTGCCAATTCGGTACAAATC-3', что позволило получить продукт длиной 102

пар нуклеотидов. Данные HRM анализировались с использованием программного обеспечения «Precision Melt Analysis» (Bio-Rad). Реакции ПЦР проводились в дубликатах. В конечном объеме реакции 15 мкл использовалось 30 нг геномной ДНК, 7,5 мкл «SsoFast EvaGreen Supermix» (Bio-Rad) и 2,5 мкМ каждого праймера. Продукты нагревались до 95°C в течение 30 секунд и охлаждались до 60°C для формирования гетеродуплексов; этап HRM состоял из начального денатурирования при 95°C в течение 2 минут, за которым следовала программа, состоящая из 45 циклов (денатурирование при 95°C в течение 5 секунд и отжиг при 60°C в течение 5 секунд). Данные HRM собирались в диапазоне от 65°C до 90°C с шагом 0,2°C. Кривые для каждого дубликата проверялись по форме и высоте пика (максимальное значение интенсивности флуоресценции на данной производной кривой) для обеспечения воспроизводимости [289].

2.11.4. Оценка цитокинового и хемокинового профилей у больных буллезными дерматозами и здоровых доноров методом иммуноферментного анализа

2.11.4.1. Методика забора блистерной/пузырной жидкости

У всех больных до начала лечения был получен образец пузырной жидкости (0,2-0,5 мл) с помощью стерильного шприца, который помещался в эппендорф и переносился в морозильную камеру (-80°C). Уровень цитокинов TNF- α (пг/мл), IL4 (пг/мл), IL15 (пг/мл), IL10 (пг/мл), гранулизина (нг/мл), а также хемокинов CXCL8 (пг/мл), CCL11 (пг/мл) оценивался с помощью метода СВА (Cytometric Bead Array) и иммуноферментного анализа (ИФА; ELISA) [290].

Проводился также забор крови (5 мл) из кубитальной вены. Кровь помещалась в пробирки с 4-мл K2-EDTA, ее оставляли при комнатной температуре на 15 минут, после чего центрифугировали при 4°C на 2000 оборотах в течение 15 минут, затем алиquotы помещались в криопробирки и замораживались при температуре -80°C [291].

Цитокины анализировали с использованием системы анализа, состоящей из наборов и панелей для иммуноанализа (Millipore MILLIPLEX Human Cytokine Panel I Premixed 7 Plex [НСУТОМАG60K07], США). Затем образцы инкубировали с гранулами, покрытыми антителами при температуре 4 °С. Далее их инкубировали вместе с мечеными биотином антителами, направленных на цитокины человека с последующей их инкубацией со стрептавидином и фикоэритрином. Образцы считывали на приборе «Luminex 200» (Immucor Transplant Diagnostics, США) с программным обеспечением «xPONENT» (xPONENT® Software, США). Для перевода единиц флуоресценции в концентрации (пг/мл) использовали стандартные кривые концентраций рекомбинантных цитокинов человека. Для расчета концентрации цитокинов в образцах сыворотки проводился анализ данных средней интенсивности флуоресценции, используя 5-параметрический логистический метод или метод аппроксимации сплайновой кривой.

В пузырьной жидкости, полученной от пациентов, уровни TNF- α , IL4, IL15, IL10, гранулизина, а также хемокинов CXCL8, CCL11 измеряли методом ИФА с использованием антител, распознающих эпитопы в зависимости от молекулярного веса исследуемых цитокинов и хемокинов. Пластины были покрыты 2 мг/мл m-антителами RB-1 (MBL International Corporation, США) в стерильном фосфатно-буферном солевом растворе, в течение ночи при комнатной температуре.

Планшеты блокировались 1% бычьим сывороточным альбумином в промывочном буфере (PBS, содержащем 0,1% Tween-20) для предотвращения неспецифического связывания. Последующие реакции проводились при комнатной температуре с промежуточными этапами промывания между каждым шагом. Процесс включал: инкубацию образцов или стандартов в блокирующем буфере в течение 2 часов, затем добавление биотинилированного моноклонального антитела RC-8 (распознающего эпитопы гранулизина) в концентрации 1 мг/мл в блокирующем буфере на 1 час и, наконец, инкубацию со стрептавидином, конъюгированным с пероксидазой хрена (R&D Systems, США), в концентрации 2 мг/мл в промывочном буфере. Планшеты инкубировали с раствором субстрата, содержащим H₂O₂ и тетраметилбензидин (R&D System, США), в течение 5-10

минут с инкубацией при 37 °С в отсутствии света. После данного этапа постановки реакции с помощью микропланшет-ридера «Multiskan FC» (Thermo scientific, США) определяли оптическую плотность каждой лунки (620 нм). Каждый образец пузырьной жидкости и сыворотки больных АП, БП и ССД/ТЭН анализировали в трех технических повторах (тройные лунки на планшете) с использованием набора «Human Granulysin ELISA Kit» (R&D Systems, США, кат. № DY313).

2.12. Статистическая обработка данных

Для анализа использованы современные универсальные непараметрические (рандомизационно-перестановочные) алгоритмы построения доверительных интервалов (ДИ) и статистических сравнений на основе метода бутстрап и Монте-Карло.

Для ДИ использована компактная форма записи, при которой нижняя и верхняя границы ДИ указываются в виде подстрочных индексов слева и справа от точечной оценки [292].

Для статистического описания количественных показателей оценивали средние и медианные значения с 95% ДИ, проверяли согласие распределения с нормальным законом. Рассчитаны также показатели вариации вокруг среднего значения – стандартное отклонение и коэффициент вариации.

Для проверки согласия наблюдаемых распределений каждого с нормальным (гауссовым) распределением использованы критерии Андерсона-Дарлинга, Лиллиефорса, Харке-Бера с вычислением для всех критериев р-значений по методу Монте-Карло. Нулевая гипотеза при каждой проверке распределения для каждого показателя: распределение изучаемого показателя согласуется с нормальным законом. Альтернативная гипотеза – распределение изучаемого показателя отличается от нормального. Для показателей, распределение которых в каждой группе согласовалось с нормальным, при сравнениях групп использовался параметрический критерий. Для показателей, распределение которых отличалось

от нормального, дополнительно рассчитывался также непараметрический критерий.

Сравнение двух групп по количественным признакам выполнены с помощью параметрического t-критерия Стьюдента для независимых выборок (в случае неоднородности дисперсий использовался критерий Уэлча, проверка однородности дисперсий выполнялась по критерию Левина) и непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Для t-критерия Стьюдента нулевая гипотеза для каждого признака – средние значения соответствующего признака в группах 1 и 2 не различались. Альтернативная гипотеза – средние значения различны. Для U-критерия Манна-Уитни нулевая гипотеза – распределения соответствующего признака (и значит, медианные значения) в группах с наличием/отсутствием определенного категориального признака не различались. Альтернативная гипотеза – распределения признака (и медианные значения) различны. Если нулевая гипотеза отклонялась, то можно было сделать вывод, что имелась взаимосвязь между данным количественным фактором и бинарным показателем (наличием/отсутствием данного признака).

Для параметрического критерия показана разность средних с 95% ДИ, для непараметрического – разность медиан Ходжеса-Лемана с 95% ДИ. По результатам сравнения двух групп рассчитывался стандартизированный эффект различий по Коэну или по Хеджесу (для групп с численностью менее 16) или бисериальный коэффициент корреляции. Интерпретация эффекта выполнялась по нижней границе ДИ эффекта.

Сравнение трех групп по количественному признаку выполнены с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA one-way (F-критерий или критерий Уэлча при неоднородности дисперсий в группе; проверка однородности дисперсий выполнялась по критерию Левина). Нулевая гипотеза – средние значения количественного признака в разных группах равны. Альтернативная гипотеза – хотя бы в одной группе среднее значение отличается от остальных. Для дисперсионного анализа приводится также эффект различий – ω^2 .

Анализ взаимосвязи категориальных признаков выполнялся с помощью точного критерия Фишера (для таблиц сопряженности размера 2×2) или Фишера – Фримана – Холтона (для таблиц $r \times c$). Альтернативная гипотеза – частота встречаемости определенных уровней первого признака в группах второго признака различны. Для статистически значимых различий использовался также V – коэффициент сопряженности Крамера, характеризующий силу связи между изучаемыми категориальными признаками. Для таблиц 2×2 приводится также ОШ с 95% ДИ.

Наблюдаемое p -value для каждой нулевой гипотезы указывало на вероятность получения по имеющейся выборке столь же большого или еще большего эффекта по сравнению с найденным в ходе исследования, при условии, что верна нулевая гипотеза (т.е. в популяции различий средних/медиан/долей, коэффициентов корреляции нет). Чем меньше наблюдаемое p -value, тем менее данные согласуются с нулевой гипотезой. Согласно рекомендациям А.Н. Колмогорова и подтвержденным около 50 лет спустя, а также обоснованным с бейзовской точки зрения, в качестве критического (порогового) уровня значимости использовано значение 0,005, поскольку преодоление 0,05 следует рассматривать как очень слабое доказательство против нулевой гипотезы [293, 294, 295].

При попадании наблюдаемого p -значения в «серую зону» ($0,005 < p < 0,05$) дополнительно рассчитан «SV-MPR» – максимальный фактор Бейза BF_{10} по Селлке (Vovk-Sellke Maximum p -Ratio), характеризующий соотношение шансов в пользу альтернативной гипотезы. Фактор Бейза BF_{10} показывает, во сколько раз наблюдаемые данные более вероятны при альтернативной гипотезе (при наличии различий), чем при нулевой гипотезе (отсутствии различий) [296].

Кроме p -значения, в соответствии с современными рекомендациями обязательным являлся расчет ДИ разности сравниваемых параметров и стандартизированного эффекта. Для выражения клинической значимости результатов был использован так называемый «размер эффекта» [297].

В случае использования параметрического t -критерия Стьюдента рассчитан стандартизированный эффект по Коэну.

В соответствии с современными рекомендациями были также использованы средства наглядного графического представления исходных данных и результатов их статистического анализа: описательные графики с доверительными интервалами, ящичные диаграммы с вырезами и усами, вероятностные графики.

Качественная оценка наблюдаемого р-значения, размера стандартизированного эффекта, фактора Бейза представлена в таблицах, представленных ниже (Таблица 15, 16, 17, 18) [298].

Таблица 15 – Калибровка р-значений и вербальная шкала

p_{obs} – наблюдаемое значение	Нижняя граница для $P_L (H_0 p_{obs})$ при p_{obs}	Верхняя граница для $P^U (H_1 p_{obs})$ при p_{obs}	Вербальная шкала статистической значимости
0,05	>0,29	<0,71	Ничтожная
0,01	>0,11	<0,89	
0,005	>0,067	<0,933	Низкая
0,001	>0,018	<0,982	Средняя
0,0001	>0,0025	<0,9975	Высокая
0,00001	>0,00031	<0,99969	

Таблица 16 – Сводная вербальная шкала для интерпретации стандартизированного размера эффекта по Коэну d_c

d_c	Интерпретация эффекта
0-0,5	Пренебрежимо малый, ничтожный, не заслуживающий внимания, практически бесполезный
0,5-1,0	Малый, слабый
1,0-1,5	Средний, умеренный
1,5-2,0	Большой, сильный
2,0-3,0	Очень большой, очень сильный
>3,0	Исключительно, чрезвычайно, невероятно большой, сильный

Таблица 17 – Сводная консенсусная вербальная шкала для интерпретации бейзовых факторов

BF_{01}	Свидетельство в пользу гипотезы H_0 против гипотезы H_1
>100	Убедительное
30-100	Очень сильное
10-30	Сильное
3-10	Умеренное (слабое)

1-3	Пренебрежимо малое
BF_{10}	Свидетельство в пользу гипотезы H_1 , против гипотезы H_0

Таблица 18 – Коэффициент Крамера

Min (Rows – 1; Cols – 1)	Слабый	Средний	Сильный
1	0,10	0,30	0,50
2	0,07	0,21	0,35
3	0,06	0,17	0,29
4	0,05	0,15	0,25
5	0,04	0,13	0,22

Ниже в таблице 19 представлены программные обеспечения (ПО), использованные в расчетах.

Таблица 19 – Программные обеспечения, использованные в расчетах

ПО	Версия	Использованные процедуры и методы	URL
IBM SPSS Statistics	27	ДИ для частот и для долей. Сравнение групп по бинарным признакам (точный критерий Фишера, Фишера-Фримана-Холтона)	https://www.ibm.com/products/spss-statistics
JASP (свободное)	0.16.7	Сравнение двух групп по количественным признакам; VS-MPR	https://jasp-stats.org/
PAST (свободное)	4.12	Описательный анализ. Проверка нормальности распределения. Статистические оценки и сравнения на основе алгоритмов бутстрапа и Монте-Карло, перестановочные и точные критерии. Графики долей с 95% ДИ	https://www.nhm.uio.no/english/research/resources/past/
AtteStat	13.2	Графики медиан с 95% ДИ	https://analytera.ru/Attestat/

Продолжение таблицы 19

G*Power (свободное)	3.1.9.7	Расчет наблюдаемой мощности и необходимого размера выборки	https://www.psychologie.hhu.de/arbeitsgruppen/allgemeine-psychologie-und-
---------------------	---------	--	---

			arbeitspsychologie/ gpower.html
Калькулятор расчета отношения шансов	-	Расчет отношения шансов с 95% ДИ	https://medstatistic.ru/calculators/calcodds.html
Калькулятор расчета ДИ для долей скорректированным методом Вальда	-	Расчет ДИ для 0% и 100%	https://measuringu.com/calculators/wald/

Частоты HLA аллелей подсчитывались непосредственно на основе данных генотипирования, что позволило максимально точно оценить частоты генов [299]. Для сравнения различий между частотами в группе доноров и больных был проведен анализ таблицы сопряженности 2x2 с использованием точного критерия Фишера. Силу связи между аллелями HLA и БД оценивали по ОШ и 95% доверительным интервалам. Статистически значимым считалось $p < 0,01$. Значения p были скорректированы для множественных сравнений в соответствии с методом Беньямини-Хохберга. Анализ мощности апостериорного исследования с использованием веб-приложения «Genetic Power Calculator» был выполнен при условии, что $\alpha = 0,05$, соотношение случая и контроля – 1,63 и наличия различий частот аллелей DRB1, DQB1 в качестве основного результата. Мощность исследования: 70-90% для обнаружения эффекта с ОШ 1,5-2,0 при частоте аллеля $\geq 20\%$. Частоту антигенов у пациентов и здоровых доноров сравнивали с использованием точного критерия Фишера, а силу ассоциаций оценивали по ОШ с помощью теста χ^2 .

Тест Пирсона χ^2 с первой степенью свободы также использовался для сравнения частот генотипов полиморфизма A3669G гена β -изоформы ГР у больных и здоровых доноров. Отклонения от равновесия Харди-Вайнберга среди случаев и контроля проверялись с помощью точного теста Фишера, реализованного в «PLINK» – компьютерной программе с открытым исходным кодом,

предназначенным для полногеномных ассоциативных исследований и анализа генотипа и фенотипа.

При оценке хемокинового и цитокинового профилей, а также уровня гранулизины у больных АП, БП и ССД/ТЭН в сыворотке и пузырьной жидкости в зависимости от степени тяжести заболевания, а также наличия или отсутствия стероидной резистентности для нормального распределения данных (например, уровни TNF- α в сыворотке контрольной группы, $p > 0,05$ по Шапиро-Уилку) применялся t-тест Стьюдента для независимых выборок, с представлением разности средних и 95% доверительного интервала (ДИ). Размер эффекта определялся с помощью индекса Коэна (d) с 95% ДИ; для выборок $n < 20$ использовалась поправка Ходжеса. Если дисперсии неравны (гетероскедастичность): использовался t-критерий Уэлча с поправкой на неравные дисперсии; размер эффекта оценивался через дельту Гласса (аналог индекса Коэна); 95% ДИ для эффекта рассчитывался методом бутстрепа (5000 повторов) [300].

При отсутствии нормальности распределения данных: данные представлялись в виде медианы и квартилей Me [Q1; Q3]; разница между группами оценивалась через разницу медиан по Ходжесу-Леману с 95% ДИ (бутстреп, 5000 повторов); для проверки значимости использовался U-критерий Манна-Уитни. Для сравнения частот при анализе категориальных данных использовался точный критерий Фишера. Для каждой группы рассчитывались медиана (Me) и квартили [Q1; Q3] [300].

Для оценки эффективности комбинированной терапии СГК, плазмаферезом и внутривенным человеческим IVIG у больных стероид-резистентной формой АП использовались методы описательной статистики, такие как: среднее, медиана, стандартное отклонение, межквартильный размах, минимум, максимум. Для категориальных переменных (типы ремиссий) применялись частоты, проценты и диаграммы размаха (box plots) для PDAI до и после лечения, а также круговые или столбчатые диаграммы для распределения типов ремиссий. Для проверки нормальности распределения индекса PDAI использовался индекс Шапиро-Уилка.

Рассчитывалась также доля пациентов, у которых развились побочные эффекты. Для расчета ДИ для долей пациентов с различными типами ремиссий в когортном исследовании с выборкой 32 больных АП использовался биномиальный доверительный интервал с использованием точного метода Клоппера-Пирсона или метод Уилсона для расчета 95% ДИ, так как они наиболее точны для небольших выборок и долей, близких к 0 или 1. Расчеты проводились в программе R-studio.

2.12.1. Математические основы анализа данных

Среднее арифметическое:

$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i = \frac{1}{n} (x_1 + \dots + x_n)$, где x – значение случайной величины, n – размер выборки.

Среднеквадратичное отклонение:

$S = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$, где \bar{x} – среднее-арифметическое выборки.

Диаграмма размаха:

Позволяет очень компактно и наглядно представлять порядковые статистики одномерного закона распределения: квартили, медиану, наблюдаемые минимальное и максимальное значение выборки, а также отобразить выбросы.

Составляющими диаграммы размаха являются:

Q1 – первый квартиль – число отделяющее первую четверть выборки: 25% элементов меньше, а 75% – больше него;

Медиана (Q2) – второй квартиль, половина элементов больше и половина меньше неё;

Q3 – третий квартиль – это отсечка трёх четвертей: 75% элементов меньше и 25% элементов больше него;

IQR – межквартильный размах – расстояние между Q1 и Q3 (Рисунок 33).



Рисунок 33 – График диаграммы размаха (авторский рисунок)

Скрипичная диаграмма:

Состоит из двух графических элементов: диаграммы размаха и графика плотности вероятности.

Плотность вероятности задаётся следующим образом:

$$f_X(x) = F'_X(x) = \lim_{\Delta \rightarrow 0} \frac{F_X(x+\Delta) - F_X(x)}{\Delta}, \text{ где } F_X(x) \text{ – функция распределения}$$

непрерывной случайной величины X .

Столбчатая диаграмма:

Построение данного вида диаграмм предполагает подсчёт каждой категории и построение столбца соответствующей высоты. Упорядочивание столбцов осуществляется либо в зависимости от высоты столбца, либо в зависимости от категории.

2.12.2. Основные концепции машинного обучения

Модель – это математическая функция f_θ , которая отображает входные данные X в предсказания \hat{Y} :

$$f_\theta: X \rightarrow \hat{Y}$$

Компоненты модели включают:

$X \subseteq \mathbb{R}^p$ – признаковое пространство (например, медицинские показатели);

\hat{Y} – пространство ответов (для бинарной классификации $Y = \{0,1\}$);

$\theta \subseteq \mathbb{R}^d$ – вектор параметров модели.

Пример линейной модели:

$$f_{\theta}(x) = \theta_0 + \sum_{j=1}^p \theta_j x_j$$

Обучение моделей представляет собой нахождение параметров θ^* , минимизирующих функцию потерь $\mathcal{L}(\theta; \mathcal{D})$:

$$\theta^* = \arg \min_{\theta} \mathcal{L}(\theta; \mathcal{D})$$

Функция потерь – функция $\mathcal{L}(\theta; \mathcal{D})$, оценивающая ошибку предсказания:

$$\mathcal{L}(\theta; \mathcal{D}) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n l(f_{\theta}(x_i), y_i) + \lambda R(\theta)$$

l – функция потерь для единичного примера;

$R(\theta)$ – регуляризатор (например: $\|\theta_2^2\|$);

λ – коэффициент регуляризации.

Обучающая выборка:

$$\mathcal{D} = \{x_i, y_i\}_{i=1}^n$$

$x_i \in \mathbb{R}^p$ – вектор признаков i -ого пациента,

$y_i \in Y$ – целевая переменная.

2.12.3. Используемые алгоритмы для машинного обучения

2.12.3.1. Логистическая регрессия

Логистическая регрессия представляет собой статистический метод классификации, используемый для предсказания вероятности принадлежности объекта к определённому классу. Несмотря на название «регрессия», данный метод относится к бинарной или многоклассовой классификации. Кроме того, он моделирует вероятность $P(y = 1|x)$ с помощью логистической (сигмоидной) функции:

$$P(Y = 1|x) = \sigma(z) = \frac{1}{1 + e^{-z}}$$

где:

$z = \omega_0 + \omega_1 x_1 + \omega_2 x_2 + \dots + \omega_n x_n$ – линейная комбинация признаков;

ω – веса модели;

$\sigma(z)$ – сигмоидная функция, преобразующая z в диапазон $(0,1)$.

Для отнесения объекта (пациента) к соответствующему классу, на основе полученной оценки вероятности, применяют решающее правило:

Если $P(Y = 1|x) \geq 0,5$, объект относится к классу 1;

Если $P(Y = 1|x) < 0,5$, объект относится к классу 0.

Для обучения модели используется логистическая функция потерь (кросс-энтропия):

$$\mathcal{L}(w) = -\frac{1}{N} \sum_{i=1}^n [y_i \log(P(y_i = 1|x_i)) + (1 - y_i) \log(1 - P(y_i = 1|x_i))]$$

Во время обучения, обновление весов ω для минимизации функции потерь, происходит за счёт градиентного спуска:

$$\omega_j := \omega_j - \alpha \frac{\partial \mathcal{L}}{\partial \omega_j}$$

Полученные коэффициенты логистической регрессии интерпретируемы через ОШ, которое показывает, во сколько раз изменяются шансы наступления события ($y = 1$) при изменении признака x_j на 1 единицу.

Шансы (Odds) для логистической регрессии:

$$Odds = \frac{P(y = 1|x)}{1 - P(y = 1|x)} = e^{\omega_0 + \omega_1 x_1 + \dots + \omega_n x_n}$$

ОШ

для коэффициента ω_j :

$$OR_j = e^{\omega_j}$$

Интерпретация:

$OR_j = 1$: признак x_j не влияет на вероятность;

$OR_j > 1$: увеличение x_j повышает шансы $y = 1$;

$OR_j < 1$: увеличение x_j снижает шансы $y = 1$.

Значимость коэффициентов логистической регрессии проверяется с помощью расчёта p-value:

$$p_j = 2 \cdot (1 - \Phi(|z_j|)),$$

где Φ – функция распределения стандартного нормального закона.

Z-статистика:

$$z_j = \frac{\omega_j}{SE(\omega_j)},$$

где $SE(\omega_j)$ – стандартная ошибка коэффициента ω_j .

Доверительный интервал (CI) для OR строится на основе нормального распределения оценок коэффициентов:

$$CI(OR_j) = [e^{\omega_j - z_{\alpha/2} \cdot SE(\omega_j)}, e^{\omega_j + z_{\alpha/2} \cdot SE(\omega_j)}],$$

где $z_{\alpha/2}$ – квантиль стандартного нормального распределения.

2.12.3.2. Метод опорных векторов

Метод «опорных векторов» (SVM – Support Vector Machine) – алгоритм МО для классификации и регрессии, основанный на построении оптимальной разделяющей гиперплоскости в пространстве признаков. SVM ищет гиперплоскость, которая:

- максимально разделяет классы (для классификации);
- минимизирует ошибку (для регрессии).

Для нелинейно разделимых данных SVM использует ядерные функции для преобразования в пространство более высокой размерности.

Задача оптимизации для классификации:

$$\min_{\omega, b} \frac{1}{2} \|\omega\|^2 + C \sum_{i=1}^n \xi_i$$

при условии: $y_i(\omega^T x_i + b) \geq 1 - \xi_i, \xi_i > 0$, где:

ω – вектор весов;

b – смещение;

ξ_i – переменные «мягкого» запаса (для неидеальной разделимости);

C – параметр регуляризации (баланс между точностью и запасом).

«Опорные векторы» – это точки данных, лежащие на границах разделяющего промежутка:

$$y_i(\omega^T x_i + b) = 1$$

Если данные нелинейно разделимы, SVM применяет ядерные функции $K(x_i, x_j)$, которые преобразуют данные в пространство более высокой размерности, где они становятся линейно разделимыми.

Наиболее популярные ядра:

Линейное: $K(x_i, x_j) = x_i^T x_j$;

Полиномиальное: $K(x_i, x_j) = (x_i^T x_j + c)^d$;

RBF (Гауссово): $K(x_i, x_j) = \exp(-\gamma \|x_i - x_j\|^2)$.

2.12.3.3. Решающее дерево

«Решающее дерево» (Decision Tree) является алгоритмом МО, используемым для решения задач классификации и регрессии. Он представляет собой древовидную структуру, где каждый внутренний узел соответствует признаку (пол, возраст, резистентность и т.д.), каждая ветвь приравнивается к правилу принятия решения, а каждый лист – к результату (классу или численному значению).

В процессе обучения «решающее дерево» рекурсивно разделяет данные, точно выбирая на каждом шаге признак и порог, которые минимизируют индекс Джини (или максимизируют информационный прирост), увеличивая однородность дочерних узлов. В идеальном случае (при отсутствии шума и перекрытия классов) в листьях оставались бы только объекты одного класса, но на практике из-за шумов и нелинейных зависимостей это недостижимо. Алгоритм стремится максимально уменьшить неопределённость (снизить энтропию или индекс Джини). Чем выше неопределённость в листе, тем меньше уверенность модели в прогнозе. Однако

чрезмерное углубление дерева (например, до полного разделения обучающих данных) ведёт к переобучению и снижению обобщающей способности.

Индекс Джини:

$$G(S) = 1 - \sum_{i=1}^c p_i^2$$

где: p_i – доля объектов класса i в S .

Для каждого признака A и каждого возможного порога t разделяем данные на две группы:

$$S_{left} = \{x \in S \mid x_A \leq t\}$$

$$S_{right} = \{x \in S \mid x_A > t\}$$

Вычисление уменьшения Джини при разделении в узле:

$$\Delta G = G(S) - \sum_j \frac{|S_j|}{|S|} G(S_j)$$

Для борьбы с переобучением используется алгоритм «cost-complexity pruning». Сначала строится дерево максимальной глубины, которое идеально (и часто переобученно) описывает обучающие данные.

Для каждого поддеревя T вычисляется функция стоимости:

$$C_\alpha(T) = Err(T) + \alpha \cdot |T|,$$

где: $Err(T)$ – ошибка классификации/регрессии на данных (например, доля неправильных предсказаний или MSE);

$|T|$ – количество листьев в поддереве T .

α (параметр сложности) – регулирует компромисс между точностью и размером дерева:

- Чем больше α , тем сильнее обрезаются дерево (упрощается модель);
- При $\alpha = 0$, дерево остаётся максимальным (переобученным).

Последовательное обрезание:

- Начиная с максимального дерева, алгоритм рекурсивно удаляет узлы, дающие наименьший вклад в уменьшение $C_\alpha(T)$;
- После каждого удаления получается новое поддерево;

- Процесс продолжается, пока не останется только корневой узел.

Из полученной последовательности поддеревьев выбирается то, которое даёт минимальную ошибку на валидационной выборке или оптимизирует кросс-валидацию.

2.12.3.4. Случайный лес

«Случайный лес» (Random Forest) – алгоритм МО, который относится к ансамблевым методам (Ensemble learning) и используется для задач классификации и регрессии. Он строится на основе множества «решающих деревьев» (Decision Trees), причем каждое дерево обучается на разных подмножествах данных и разных подмножествах признаков. Итоговый прогноз формируется путем усреднения (регрессия) или голосования (классификация) всех деревьев.

Принципы работы алгоритма «случайный лес»:

1. Бутстрэп-агрегирование (Bagging) – из обучающей выборки D размера N генерируется B бутстрэп-выборок D_1, D_2, \dots, D_B (выбор с повторением). Каждое дерево T_b обучается на своей выборке D ;

2. Случайный выбор признаков (Feature Randomness) – при каждом разделении узла рассматривается не все признаки, а случайное подмножество m , что уменьшает корреляцию между деревьями и улучшает обобщение;

3. Прогноз «случайного леса» (классификация) – каждое дерево T_b «голосует» за класс k . Итоговый прогноз – мода (наиболее частый класс):

$$\hat{y} = \text{mode}\{T_1(x), T_2(x), \dots, T_B(x)\}$$

4. Важность признаков (Feature importance):

$$\text{Importance}(j) = \frac{1}{B} \sum_{b=1}^B \sum_{t \in T_b} \mathbb{I}(j \text{ использован в } t) \cdot \Delta \text{Criterion}(t)$$

2.12.3.5. Градиентный бустинг

«Градиентный бустинг» (Gradient Boosting) – ансамблевый метод, который строит последовательность слабых моделей (обычно деревьев решений), минимизируя функцию потерь через градиентный спуск.

Основные формулы и алгоритм:

1. Инициализация. Начальное предсказание – логарифм отношения правдоподобия (логит):

$$F_0(x) = \arg \min_{\gamma} \sum_{i=1}^n L(y_i, \sigma(\gamma))$$

где: $\sigma(z) = \frac{1}{1+e^{-z}}$ – сигмоидная функция;

$L(y, p) = -y \cdot \log(p) - (1 - y) \cdot \log(1 - p)$ – логистическая функция потерь (LogLoss);

2. Оптимальное начальное значение:

$$F_0(x) = \log\left(\frac{\sum_{i=1}^n y_i}{\sum_{i=1}^n y_i (1 - y_i)}\right)$$

3. Последовательное обучение деревьев. На каждой итерации $m = 1, \dots, M$;

4. Вычисление псевдо-остатков (антиградиент):

$$r_{im} = - \left[\frac{\partial L(y_i, F_{m-1}(x_i))}{\partial F_{m-1}(x_i)} \right] = y_i - \sigma(F_{m-1}(x_i))$$

5. Обучение дерева $h_m(x)$ на остатках. Дерево строится так, чтобы приближать r_{im} :

$$h_m(x) = \arg \min_h \sum_{i=1}^n (r_{im} - h(x_i))^2$$

6. Оптимизация шага обучения γ_m (линейный поиск):

$$\gamma_m = \arg \min_{\gamma} \sum_{i=1}^n L(y_i, \sigma(F_{m-1}(x_i) + \gamma h_m(x_i)))$$

7. Обновление модели:

$$F_m(x) = F_{m-1}(x_i) + \vartheta \cdot \gamma_m h_m(x),$$

где: ϑ – темп обучения;

8. Финальное предсказание.

После M итераций:

$$F(x) = F_o(x) + \vartheta \sum_{m=1}^M \gamma_m h_m(x)$$

Вероятность класса 1:

$$\hat{p}(x) = \sigma(F(x))$$

«CatBoost» – улучшенная версия «градиентного бустинга» с автоматической обработкой категориальных признаков, упорядоченным «бустингом» для борьбы со смещением, регуляризацией для уменьшения переобучения.

Особенности «CatBoost» в бинарной классификации:

1. «Ordered Target Encoding» для категориальных признаков:

Категории кодируются усреднением таргета на «предыдущих» объектах (в случайной перестановке):

$$encoded_i = \frac{\sum_{j=1}^{i-1} [x_j = x_i] \cdot y_j + a \cdot P}{\sum_{j=1}^{i-1} [x_j = x_i] \cdot y_j + a}$$

где:

a – параметр сглаживания;

P – априорное среднее (например, общая доля класса 1);

2. «Ordered Boosting» (уменьшение смещения):

Каждое дерево обучается на новой перестановке данных. Это помогает избежать переобучения на «шумных» объектах;

3. Регуляризация. L2-регуляризация в листьях:

$$Gain = \frac{(\sum_{i \in Leaf} r_{im})^2}{\sum_{i \in Leaf} r_{im} (p_i(1 - p_i)) + \lambda}$$

«Симметричные деревья» (Oblivious Trees): все ветки дерева имеют одинаковую глубину, таким образом обеспечивая более скорое предсказание.

2.12.3.6. Матрица ошибок

В основе оценки качества работы алгоритмов МО для задачи классификации лежит понятие «матрицы ошибок» (Confusion matrix), которая представляет собой таблицу, показывающую соответствие между реальными и предсказанными диагнозами. Для бинарной классификации (например, здоров/болен) она имеет вид:

1. TP – True Positive (истинно положительные ответы) – все случаи верной классификации моделью класса 1;
2. TN – True Negative (истинно отрицательные ответы) – все случаи верной классификации моделью класса 0;
3. FP – False Positive (ложно положительные ответы) – все случаи ошибочной классификации моделью класса 1;
4. FN – False Negative (ложно отрицательные ответы) – все случаи ошибочной классификации моделью класса 0 (Рисунок 34).

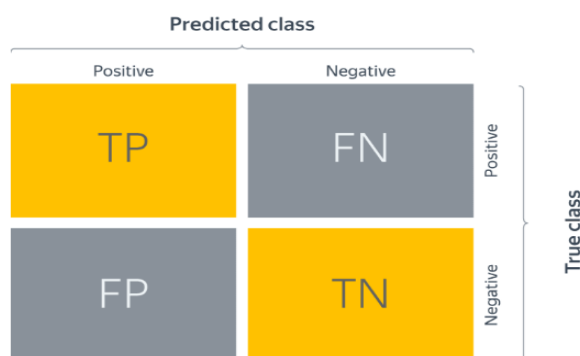


Рисунок 34 – Матрица ошибок (авторский рисунок)

$$\text{Recall} = \frac{\text{TP}}{\text{TP} + \text{FN}}$$

Метрика «Recall» – характеризует долю установленных моделью объектов целевого класса 1. Значения данной метрики находятся в диапазоне от 0 до 1. Чем ближе показатель к 1, тем большую долю объектов класса 1 алгоритм корректно идентифицирует из всех объектов класса 1, находящихся в исследуемой выборке.

$$\text{Recall}_{\text{weighted}} = \sum_{i=1}^c \left(\frac{n_i}{N} \cdot \frac{TP_i}{TP_i + FN_i} \right)$$

Метрика «Recall_{weighted}» – характеризует долю установленных моделью объектов целевого класса 1, с учётом веса каждого класса. Используется для оценки работы модели в случае наличия дисбаланса классов. Значения данной метрики находятся в диапазоне от 0 до 1. Чем ближе показатель к 1, тем большую долю объектов класса 1 алгоритм корректно идентифицирует из всех объектов класса 1, находящихся в исследуемой выборке.

$$\text{Precision} = \frac{TP}{TP + FP}$$

Метрика «Precision» – характеризует корректность прогнозов целевого класса 1. Значения данной метрики находятся в диапазоне от 0 до 1. Чем ближе показатель к 1, тем точнее прогноз модели. То есть больше доля объектов, для которых прогноз алгоритмом принадлежности к классу 1 является корректным.

$$\text{Precision}_{\text{weighted}} = \sum_{i=1}^c \left(\frac{n_i}{N} \cdot \frac{TP_i}{TP_i + FP_i} \right)$$

«Precision_{weighted}» – характеризует корректность прогнозов целевого класса 1, с учётом веса каждого класса. Используется для оценки работы модели в случае наличия дисбаланса классов. Значения данной метрики находятся в диапазоне от 0 до 1. То есть больше доля объектов, для которых прогноз алгоритмом принадлежности к классу 1 является корректным.

2.13. Операционный анализ

Операционный анализ – площадь под ROC-кривой (метрика «ROC-AUC», от англ. Receiver Operating Characteristic – Area Under Curve) – важный инструмент для оценки качества бинарных классификаторов.

Метрика отражает площадь под ROC-кривой, осями для которой являются значения TPR и FPR:

$$TPR = \frac{TP}{TP + FN}$$

«TPR» (True Positive Rate) – доля объектов класса 1, которые модель корректно классифицировала класс 1 (чувствительность, полнота).

$$FPR = \frac{FP}{FP + TN}$$

«FPR» – (False Positive Rate) – доля объектов класса 0, которые модель ошибочно классифицировала как класс 1 (1 – специфичность).

Сам график строится для множества классификаторов с различными пороговыми значениями, в зависимости от уровня которых алгоритм относит объект либо к классу 1, либо к классу 0.

Метрика «ROC-AUC» (площадь под ROC-кривой) является мерой качества модели бинарной классификации. Значение данной метрики лежит в диапазоне от 0 до 1. Чем выше значение ROC-AUC, тем лучше модель классифицирует объекты.

2.14. Логистическая регрессия

В отличие от обычной регрессии в методе логистической регрессии не производится предсказание значения числовой переменной исходя из выборки исходных значений. Вместо этого значением функции является вероятность того, что данное исходное значение принадлежит к определенному классу.

Обозначим вероятность положительного события через P_+ . Вероятность противоположного класса тогда равна $(1 - P_+)$. Составим величину, называемую odds ratio (OR; отношение шансов):

$$OR = \frac{P_+}{(1 - P_+)}$$

OR показывает отношение вероятностей того, произойдёт предполагаемое событие или не произойдёт. При этом величины P_+ и OR содержат одинаковую информацию. Но если $P_+ \in (0; 1)$, то $OR \in (0; +\infty)$. Рассмотрим логарифм $-\log OR$. Поскольку $\log OR \in (-\infty; +\infty)$, это позволяет моделировать вероятность через предсказание величины, принимающей значения в диапазоне от минус до плюс бесконечности. В свою очередь, такую величину удобно прогнозировать с использованием регрессионной модели.

Теперь прогнозируем $\log OR$ с помощью линейной регрессии:

$$\log OR = w^T x$$

Получим из этой величины P_+ :

$$P_+ = \frac{OR}{(1+OR)} = \frac{e^{\log OR}}{1 + e^{\log OR}} = \frac{e^{w^T x}}{1 + e^{w^T x}} = \frac{1}{1 + e^{-w^T x}}$$

Таким образом, получается логистическая функция (Рисунок 35):

$$\sigma(z) = \frac{1}{1 + e^{-z}}$$

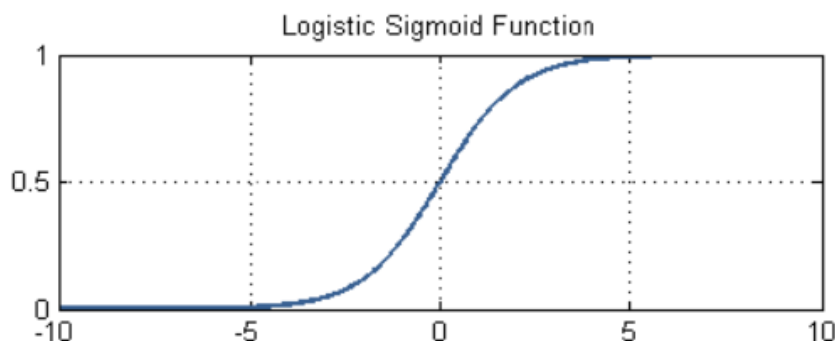


Рисунок 35 – Логистическая сигмоидная функция (авторский рисунок)

$$P_+ = \sigma(w^T x)$$

Для подсчёта ошибки в случае бинарной классификации используется логистическая функция потерь, которую можно представить в виде минимизации функционала:

$$Q(w) = \sum_{i=1}^l \log(1 + e^{-y_i w^T x_i}) \rightarrow \min_w$$

Часть данного функционала под знаком суммы и есть логистическая функция потерь:

$$L_{\log}(z) = \log(1 + e^{-z})$$

2.15. Тест на независимость хи-квадрат

Значение критерия статистики равно:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^c \frac{(O_{i,j} - E_{i,j})^2}{E_{i,j}} = N \sum_{i,j} p_i p_j \left(\frac{(O_{i,j} / N) - p_i p_j}{p_i p_j} \right)^2$$

Где:

$E_{i,j} = N p_i p_j$ – теоретическая частота;

$p_i = \frac{O_i}{N} = \sum_{j=1}^c \frac{O_{i,j}}{N}$ – доля наблюдений типа i ;

$p_j = \frac{O_j}{N} = \sum_{i=1}^r \frac{O_{i,j}}{N}$ – доля наблюдений типа j ;

N – общий размер выборки.

Решение о независимости принимается на основании расчёта критерия статистики и уровня статистической значимости.

2.16. Дисперсионный анализ ANOVA

Модель дисперсионного анализа включает в себя среднее значение, эффект эксперимента и случайную ошибку:

$$y = \mu + \tau + \varepsilon$$

Где:

τ – эффект эксперимента;

ε – случайная ошибка;

μ – среднее значение.

Квадрат ошибок внутри групп:

$$SS_W = \sum_i \sum_j (y_{ij} - \mu_i)^2$$

Квадрат ошибок между группами:

$$SS_b = \sum_i (\mu_i - \mu)^2$$

Учитывая степени свободы, ожидаемое среднее:

$$MS_w = \frac{SS_W}{a(n-1)}$$

$$MS_b = \frac{SS_b}{a-1}$$

Значение $F_{\text{крит}}$:

$$F_0 = \frac{MS_b}{MS_w}$$

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Анализ распределения HLA-DRB1 и HLA-DQB1 аллелей на разных уровнях разрешения у больных буллезными дерматозами

3.1.1. Анализ распределения HLA-DRB1 аллелей на разных уровнях разрешения у больных акантолитической пузырьчаткой и здоровых доноров

Первичной конечной точкой было определение различий в частоте HLA-аллелей DRB1 и DQB1 II класса у больных АП и здоровых доноров. Основным исходом исследования стало выявление различий по частоте этих аллелей с использованием HLA-типирования в высоком и низком разрешениях [43].

На уровне низкого разрешения в группе ВП DRB1*04 (41,86%) и DRB1*14 (24,4%) аллели встречались статистически значимо чаще по сравнению с контрольной группой ($p=7,35 \times 10^{-7}$). Следует отметить, что в группе ЛП статистически значимо чаще выявлялись DRB1*14 (46,15%) и DRB1*04 (38,46%) аллели по сравнению со здоровыми донорами ($p < 2,0 \times 10^{-4}$, $p=0,009$). У больных ПНП также чаще фиксировали аллельный вариант DRB1*04 (50%; $p=0,015$). В группе контроля достоверно чаще наблюдались DRB1*11 (21,74%), DRB1*16 (10,87%) и DRB1*03 (8,70%) аллели по сравнению с группой ВП ($p < 0,01$, $p=0,017$; $p < 0,05$) (Рисунок 36, Таблица 20) [43].

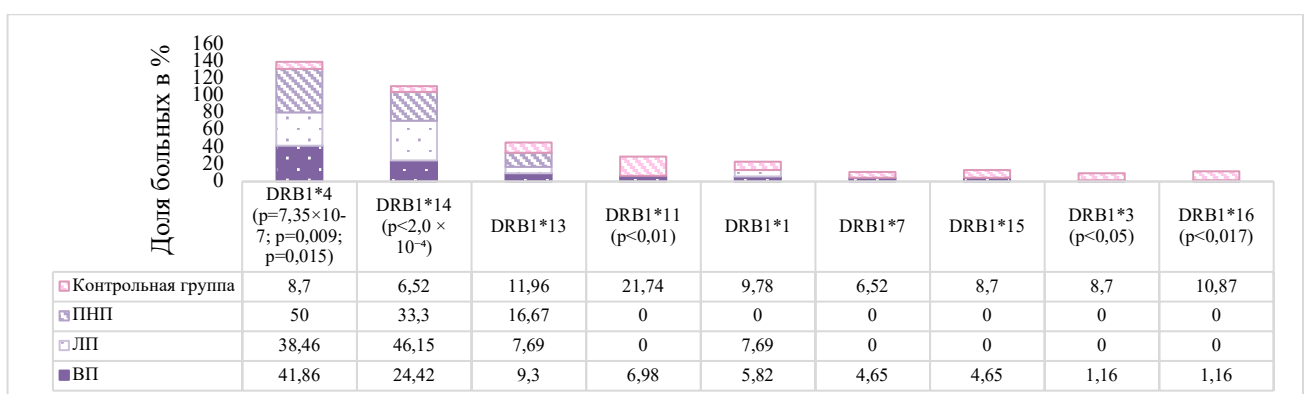


Рисунок 36 – Частотное распределение (%) HLA-DRB1 аллелей на уровне низкого разрешения у больных разными формами АП и здоровых доноров (авторский рисунок)

Таблица 20 – Распределение HLA-DRB1 аллелей в низком разрешении у больных с различными формами АП (абс.)

DRB1	Пациенты	Контрольная группа	Отношение шансов	Доверительный интервал	p
Вульгарная пузырьчатка					
4	36	8	7,56	3,25–17,55	$7,35 \times 10^{-7}$ *
14	21	6	4,63	1,77–12,13	0,002*
13	8	11	0,75	0,29–1,97	0,74
11	6	20	0,27	0,10–0,71	0,01*
1	5	9	0,57	0,18–1,77	0,48
7	4	6	0,70	0,19–2,57	0,83
15	4	8	0,51	0,15–1,77	0,44
3	1	8	0,12	0,02–1,01	0,05*
16	1	10	0,10	0,01–0,77	0,017*
Листовидная пузырьчатка					
14	6	6	12,29	3,12–48,30	0,0002*
4	5	8	6,56	1,73–24,86	0,009*
13	1	11	0,61	0,07–5,18	1
1	1	9	0,77	0,09–6,62	1
Паранеопластическая пузырьчатка					
4	3	8	10,5	1,81–60,85	0,015*
14	2	6	7,17	1,08–47,36	0,12
13	1	11	1,47	0,16–13,80	1
Примечание: * - значимые межгрупповые различия (p-value <0,05)					

На уровне высокого разрешения частота аллеля DRB1*11:04 у больных ВП была в 3,13 (1/0,32; p=0,048) раза ниже, чем для контрольной группы. У больных ВП статистически значимо чаще встречались DRB1*04:02 и DRB1*14:05 аллели по сравнению с группой контроля (34,88% против 5,43%, p=2,02 x 10⁻⁶; 16,28% против 3,26%, p=0,007, соответственно). В группе ЛП также статистически значимо чаще выявлялись DRB1*04:02 (30,77% против 5,43%; p <0,01) и DRB1*14:05 (23,08% против 3,26%; p=0,02) аллели по сравнению с группой контроля (Рисунок 37, Таблица 21) [43, 43].

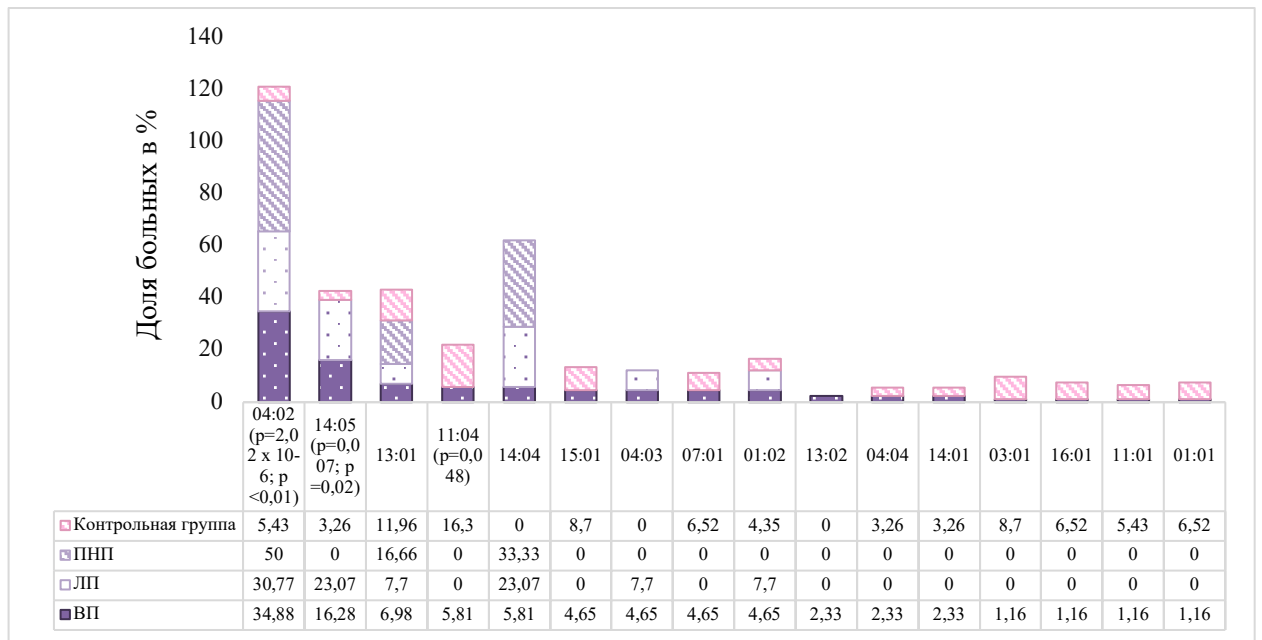


Рисунок 37 – Частотное распределение (%) HLA-DRB1 аллелей на уровне высокого разрешения у больных разными формами АП и здоровых доноров (авторский рисунок)

Таблица 21 – Распределение HLA-DRB1 аллелей в высоком разрешении у больных с различными формами АП (абс.)

DRB1	Пациенты	Контрольная группа	Отношение шансов	Доверительный интервал	p
Вульгарная пузырчатка					
DRB1*04:02	30	5	9,32	3,41–25,45	$2,02 \times 10^{-6}$ *
DRB1*14:05	14	3	5,77	1,60–20,85	0,007*
DRB1*13:01	6	11	0,55	0,19–1,57	0,38
DRB1*11:04	5	15	0,32	0,11–0,91	0,048*
DRB1*14:04	5	0	–	–	–
DRB1*15:01	4	8	0,51	0,15–1,77	0,44
DRB1*04:03	4	0	–	–	–
DRB1*07:01	4	6	0,70	0,19–2,57	0,83
DRB1*01:02	4	4	1,07	0,26–4,43	1
DRB1*13:02	2	0	–	–	–
DRB1*04:04	2	3	0,71	0,12–4,33	1
DRB1*14:01	2	3	0,71	0,12–4,33	1
DRB1*03:01	1	8	0,12	0,015–1,01	0,051*
DRB1*16:01	1	6	0,17	0,020–1,43	0,15
DRB1*11:01	1	5	0,20	0,023–1,79	0,24
DRB1*01:01	1	6	0,17	0,020–1,43	0,15
Листовидная пузырчатка					
DRB1*04:02	4	5	7,73	1,75–34,08	0,01*
DRB1*14:04	3	0	–	–	–

Продолжение таблицы 21

DRB1*14:05	3	3	8,9	1,58–50,14	0,02*
DRB1*13:01	1	11	0,57	0,07–4,76	0,94
DRB1*01:02	1	4	1,69	0,18–16,34	1
DRB1*04:03	1	0	–	–	–
Остальные аллели	–	69	–	–	–
Паранеопластическая пузырьчатка					
DRB1*04:02	3	5	17,4	2,78–109,20	0,002*
DRB1*14:04	2	0	–	–	–
DRB1*13:01	1	11	1,47	0,16–13,80	1
Остальные аллели	0	76	–	–	–
Примечание: * - значимые межгрупповые различия (p-value <0,05)					

Таким образом, DRB1*04 аллельный вариант в низком разрешении значительно чаще встречался у больных ВП, ЛП и ПНП, тогда как аллели DRB1*04:02 и DRB1*14:05 выявлялись только у больных ВП и ЛП. DRB1*11:04 аллель носил протективную роль в отношении развития АП.

3.1.2. Анализ распределения HLA-DQB1 аллелей на разных уровнях разрешения у больных акантолитической пузырьчаткой и здоровых доноров

Для всех значений HLA-типирования DQB1 на уровне низкого разрешения в случае пациентов с диагнозами ВП, ЛП и ПНП статистически значимых результатов выявлено не было (Рисунок 38; Таблица 22) [43].

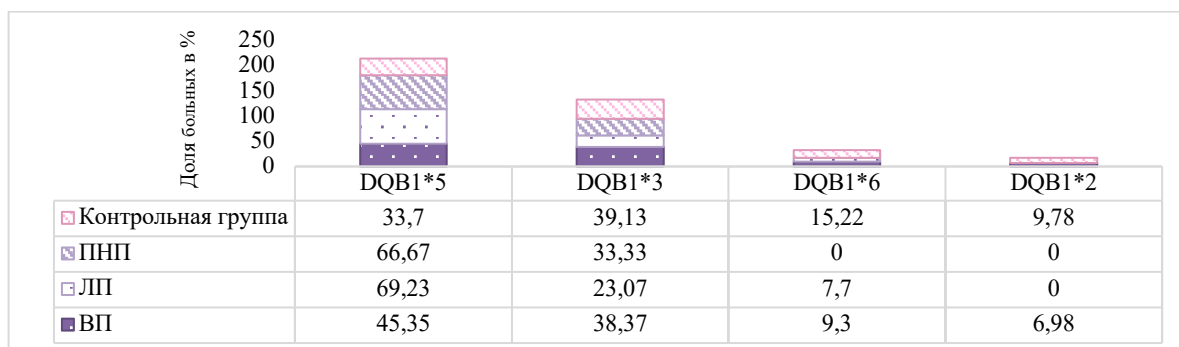


Рисунок 38 – Частотное распределение (%) HLA-DQB1 аллелей на уровне низкого разрешения у больных разными формами АП и здоровых доноров (авторский рисунок)

Таблица 22 – Распределение HLA-DQB1 аллелей на уровне низкого разрешения у больных с различными видами пузырчатки и контрольной группы (абс.)

DQB1	Пациенты	Контрольная группа	Отношение шансов	Доверительный интервал	p
Вульгарная пузырчатка					
5	39	31	1,63	0,89–2,99	0,15
3	33	36	0,97	0,53–1,77	1
6	8	14	0,57	0,23–1,44	0,33
2	6	9	0,69	0,24–2,03	0,69
Остальные аллели	0	2	–	–	–
Листовидная пузырчатка					
3	9	36	2,8	0,87–9,03	0,14
5	3	31	0,54	0,14–2,07	0,54
6	1	14	0,43	0,05–3,54	0,69
Остальные аллели	0	11	–	–	–
Паранеопластическая пузырчатка					
5	4	31	3,94	0,68–22,68	0,23
3	2	36	0,78	0,14–4,47	1
Остальные аллели	0	25	–	–	–

В высоком разрешении у больных ВП статистически значимо чаще выявлялись DQB1*03:02 (29,07% против 14,13%) и DQB1*05:03 аллели (26,74 против 10,87%) по сравнению с группой контроля ($p=0,03$, $p<0,01$), тогда как DQB1*03:01 аллель встречался достоверно чаще в группе контроля (19,57%) по сравнению с ВП (8,14%) ($p=0,048$). DQB1*05:03 в 8,2 раза чаще наблюдался у больных ПНП (50,00 против 10,87%; $p=0,034$), тогда как DQB1*03:02 аллель в 7,09 раза статистически значимо чаще обнаруживался у больных ЛПП по сравнению с группой контроля (53,85% против 14,13%; $p=0,002$) (Рисунок 39; Таблица 23) [42, 43].

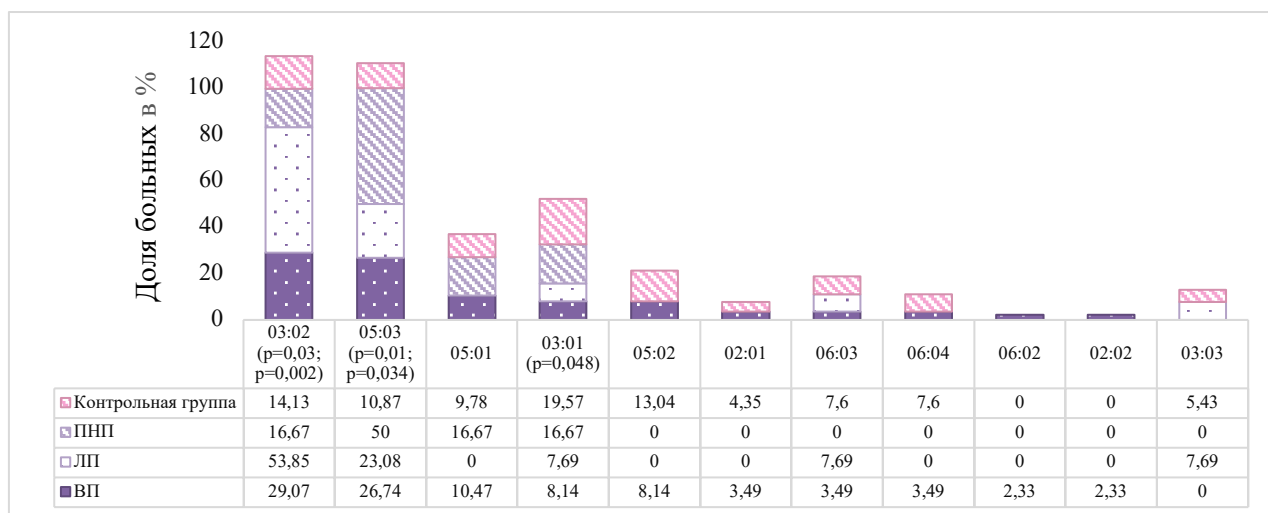


Рисунок 39 – Частотное распределение (%) HLA-DQB1 аллелей на уровне высокого разрешения у больных разными формами АП и здоровых доноров (авторский рисунок)

Таблица 23 – Распределение HLA-DQB1 аллелей на уровне высокого разрешения у больных с различными формами пузырчатки и контрольной группы (абс.)

DQB1	Пациенты	Контрольная группа	Отношение шансов	Доверительный интервал	p
Вульгарная пузырчатка					
DQB1*03:02	25	13	2,49	1,18–5,27	0,03*
DQB1*05:03	23	10	2,99	1,33–6,74	0,01*
DQB1*05:01	9	9	1,08	0,41–2,86	1
DQB1*03:01	7	18	0,36	0,14–0,92	0,048*
DQB1*05:02	7	12	0,59	0,22–1,57	0,41
DQB1*02:01	3	4	0,80	0,17–3,66	1
Продолжение таблицы 23					
DQB1*06:03	3	7	0,44	0,11–1,75	0,39
DQB1*06:04	3	7	0,44	0,11–1,75	0,39
DQB1*06:02	2	0	–	–	–
DQB1*02:02	2	0	–	–	–
Остальные аллели	2	12	НП	НП	НП
Листовидная пузырчатка					
DQB1*03:02	7	13	7,09	2,06–24,46	0,002*
DQB1*05:03	3	10	2,46	0,58–10,46	0,42
DQB1*03:03	1	5	1,45	0,16–13,49	1
DQB1*03:01	1	18	0,34	0,04–2,81	0,51
DQB1*06:03	1	7	1,01	0,11–8,96	1
Остальные аллели	0	39	НП	НП	НП
Паранеопластическая пузырчатка					

DQB1*05:03	3	10	8,2	1,45–46,24	0,034*
DQB1*03:01	1	18	0,82	0,09–7,48	1
DQB1*05:01	1	9	1,84	0,19–17,58	1
DQB1*03:02	1	13	1,22	0,13–11,26	1
Остальные аллели	0	42	НП	НП	НП
Примечание: НП – не применимо; * - значимые межгрупповые различия (p-value <0,05)					

Таким образом, аллель DQB1*03:02 статистически значимо чаще встречался среди пациентов с ВП и ЛП, в то время как DQB1*05:03 аллель достоверно преобладал у больных ВП и ПНП. Аллель DQB1*03:01 обладал протективным эффектом в отношении развития ВП.

3.1.3. Анализ распределения HLA-DRB1 аллелей на разных уровнях разрешения у больных буллезным пемфигоидом Лёвёра, синдромом Стивенса-Джонсона, токсическим эпидермальным некролизом и здоровых доноров

На уровне низкого разрешения, аллельный вариант DRB1*04 в 4 раза чаще встречался в группе больных БП (27,59%) по сравнению с группой контроля (8,7%; $p=0,02$). Вероятность обнаружения DRB1*14 аллеля у больных БП (31,03%) была в 6,45 раз выше, чем для группы здоровых доноров (6,52%; $p=0,0015$) (Рисунок 40; Таблица 24). Для значений DRB1*13, DRB1*11, DRB1*7, DRB1*1, DRB1*15, DRB1*3 и DRB1*16 на уровне низкого разрешения, учитывая уровень статистической значимости 5%, достоверных различий выявлено не было (Таблица 24) [136].

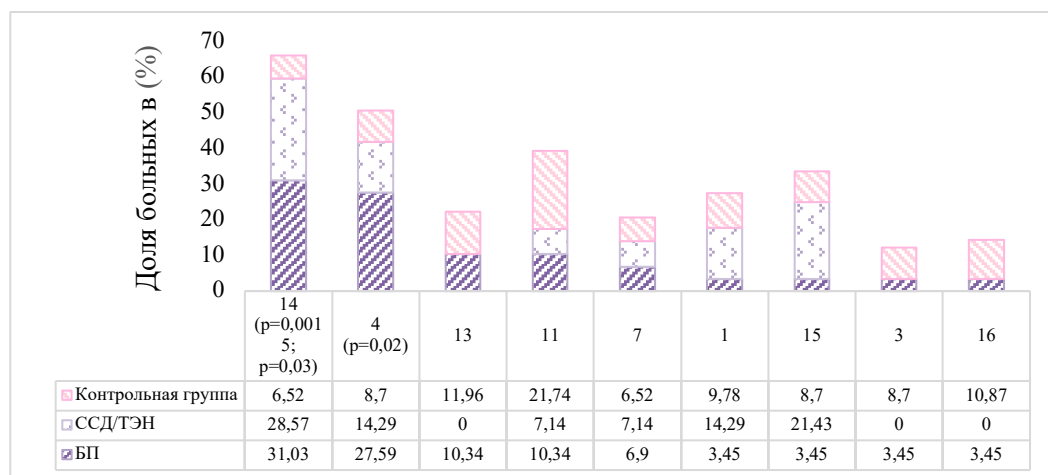


Рисунок 40 – Частотное распределение (%) HLA-DRB1 аллелей на уровне низкого разрешения у больных БП, ССД/ТЭН и контрольной группы (авторский рисунок)

Таблица 24 – Распределение HLA-DRB1 аллелей на уровне низкого разрешения у больных БП и контрольной группы (абс.)

DRB1	Участники исследования, n (%)		Статистическая обработка		
	Пациенты	Контрольная группа	Отношение шансов (ОШ)	Доверительный интервал (ДИ)	p
14	9	6	6,45	2,06–20,21	0,0015*
4	8	8	4,00	1,34–11,90	0,02*
13	3	11	0,85	0,22–3,28	1
11	3	20	0,42	0,11–1,51	0,27
7	2	6	1,06	0,20–5,57	1
1	1	9	0,33	0,04–2,72	0,49
15	1	8	0,38	0,04–3,13	0,59
3	1	8	0,38	0,04–3,13	0,59
16	1	10	0,29	0,04–2,39	0,40
Остальные аллели	0	6	НП	НП	НП

Примечание: НП – не применимо; * - значимые межгрупповые различия (p-value <0,05)

У больных ССД/ТЭН статистически значимо чаще встречался DRB1*14 аллель (28,57%; p=0,03) по сравнению со здоровыми донорами (6,52%). Для остальных значений DRB1 на уровне низкого разрешения в случае пациентов с диагнозом ССД статистически значимых различий не обнаружено (Рисунок 40; Таблица 25) [136].

Таблица 25 – Распределение HLA-DRB1 аллелей на уровне низкого разрешения у больных ССД/ТЭН и контрольной группы (абс.)

DRB1	Участники исследования, n		Статистическая обработка		
	Пациенты	Контрольная группа	Отношение шансов (ОШ)	Доверительный интервал (ДИ)	p
14	4	6	5,73	1,38–23,83	0,03*
15	3	8	2,86	0,66–12,43	0,32
1	2	9	1,54	0,30–7,98	0,96
4	2	8	1,75	0,33–9,24	0,86
12	1	6	1,10	0,12–9,91	1
11	1	20	0,28	0,03–2,25	0,36
7	1	6	1,10	0,12–9,91	1
Остальные аллели	-	29	НП	НП	НП

Примечание: НП – не применимо; * - значимые межгрупповые различия (p-value <0,05)

На уровне высокого разрешения у больных БП статистически значимо чаще встречался аллель DRB1*04:02 (n=7; 24,13%) по сравнению со здоровыми донорами (n=5; 5,43%; p<0,01) (Рисунок 41; Таблица 26). По другим показателям статистически значимых различий выявлено не было [136].

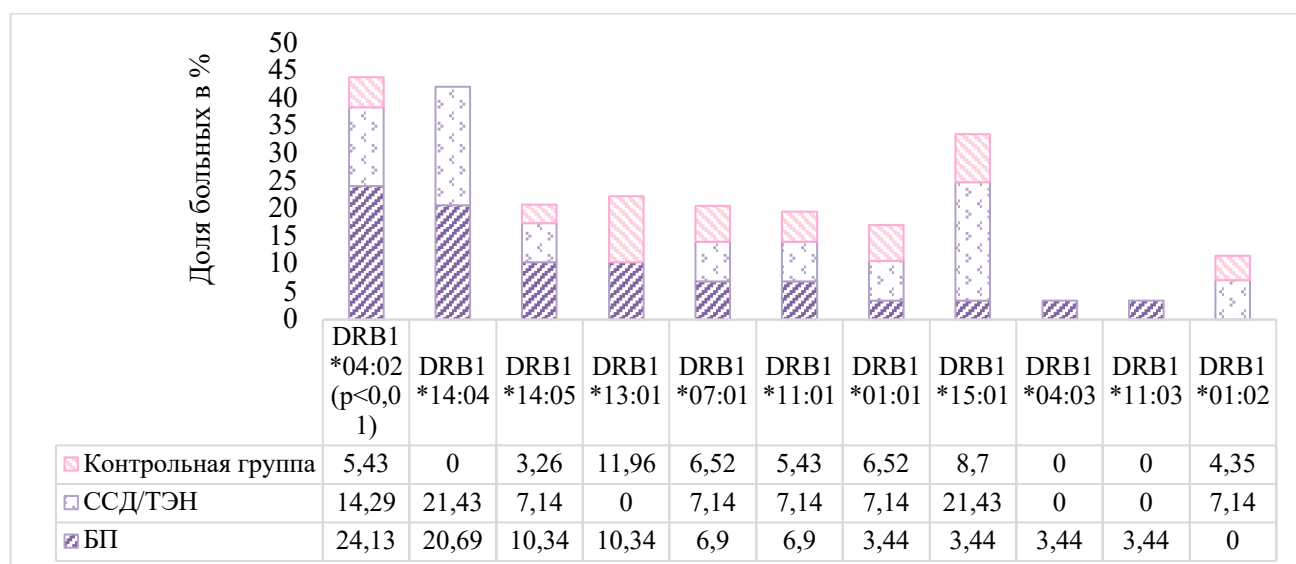


Рисунок 41 – Частотное распределение (%) HLA-DRB1 аллелей на уровне высокого разрешения у больных БП, ССД/ТЭН и контрольной группы (авторский рисунок)

Таблица 26 – Распределение HLA-DRB1 аллелей на уровне высокого разрешения у больных БП и контрольной группы (абс.)

DRB1	Участники исследования, n		Статистическая обработка		
	Пациенты	Контрольная группа	Отношение шансов (ОШ)	Доверительный интервал (ДИ)	p
DRB1*04:02	7	5	5,54	1,66–18,46	0,01
DRB1*14:04	6	0	-	-	-
DRB1*14:05	3	3	3,42	0,69–16,93	0,29
DRB1*13:01	3	11	0,85	0,23–3,16	1
DRB1*07:01	2	6	1,06	0,21–5,24	1
DRB1*11:01	2	5	1,29	0,29–5,73	1
DRB1*01:01	1	6	0,51	0,06–4,36	0,87
DRB1*15:01	1	8	0,38	0,04–3,23	0,59
DRB1*04:03	1	0	–	–	–
DRB1*11:03	1	0	–	–	–
Остальные аллели	2	48	НП*	НП	НП

Примечание: НП – не применимо

У больных ССД/ТЭН наблюдалась тенденция к более высокой частоте встречаемости DRB1*15:01 аллеля (n=3; 21,43%) по сравнению с группой контроля (n=8; 8,7%; p=0,32) (Рисунок 41; Таблица 27) [136].

Таблица 27 – Распределение HLA-DRB1 аллелей на уровне высокого разрешения у больных с ССД/ТЭН и контрольной группы (абс.)

DRB1	Участники исследования, n		Статистическая обработка		
	Пациенты	Контрольная группа	Отношение шансов (ОШ)	Доверительный интервал (ДИ)	p
DRB1*14:04	3	0	–	–	–
DRB1*15:01	3	8	2,86	0,66–12,43	0,32
DRB1*04:02	2	5	2,9	0,51–16,65	0,51
DRB1*14:05	1	3	2,28	0,22–23,62	1
DRB1*07:01	1	6	1,1	0,12–9,91	1
DRB1*01:02	1	4	1,69	0,18–16,34	1
DRB1*11:01	1	5	1,34	0,14–12,38	1
DRB1*01:01	1	6	1,1	0,12–9,91	1

Остальные аллели	1	55	НП	НП	НП
Примечание: НП – не применимо					

3.1.4. Анализ распределения HLA-DQB1 аллелей на разных уровнях разрешения у больных буллезным пемфигоидом Лёвера, синдромом Стивенса-Джонсона, токсическим эпидермальным некролизом и здоровых доноров

Для всех значений HLA-типирования DQB1, включая DQB1*01, DQB1*02, DQB1*03, DQB1*04, DQB1*05 и DQB1*06 аллели на уровне низкого разрешения у больных БП и ССД/ТЭН статистически значимых различий выявлено не было (Рисунок 42; Таблица 28) [136].

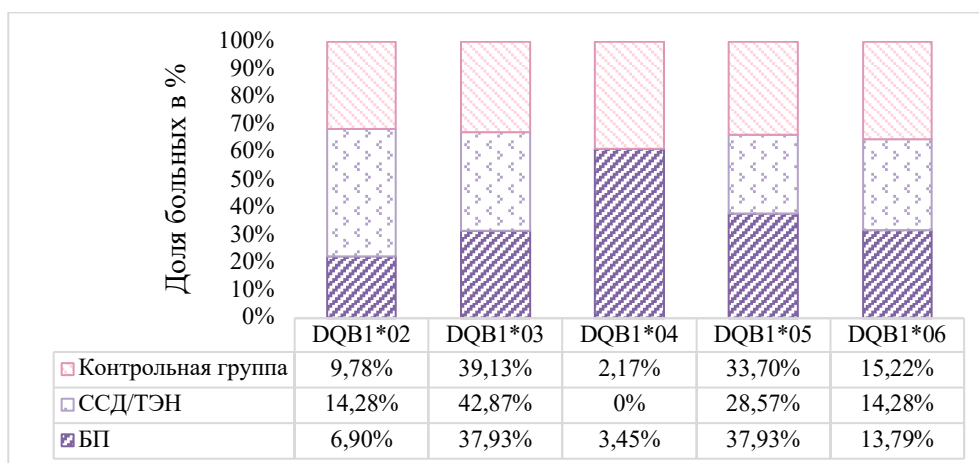


Рисунок 42 – Частотное распределение (%) HLA-DQB1 аллелей на уровне низкого разрешения у больных БП и контрольной группы (авторский рисунок)

Таблица 28 – Распределение HLA-DQB1 аллелей на уровне низкого разрешения у больных БП, ССД/ТЭН и контрольной группы (абс.)

DQB1	Пациенты	Контрольная группа	Отношение шансов (ОШ)	Доверительный интервал (ДИ)	p
	Количество человек (%)				
БП					
DQB1*02	2	9	0,70	0,16–3,14	1,000
DQB1*03	11	36	0,98	0,44–2,18	1,000
DQB1*04	1	2	1,64	0,18–15,33	0,593
DQB1*05	11	31	1,24	0,56–2,75	0,706

DQB1*06	4	14	0,91	0,28–2,95	1,000
ССД/ТЭН					
DQB1*02	2	9	1,54	0,33–7,17	0,618
DQB1*03	6	36	1,17	0,39–3,53	0,317
DQB1*05	4	31	0,79	0,24–2,61	0,295
DQB1*06	2	14	0,93	0,19–4,60	0,720
Остальные аллели	0	2	–	–	–

На уровне высокого разрешения у больных БП (n=11; 37,93%) статистически значимо чаще встречался HLA-DQB1*03:02 аллель по сравнению с группой контроля (n=13; 14,13%) ($p < 0,01$). Для остальных видов HLA-DQB1 аллельных вариантов статистически значимых различий не зарегистрировано (Рисунок 43; Таблица 29) [136].

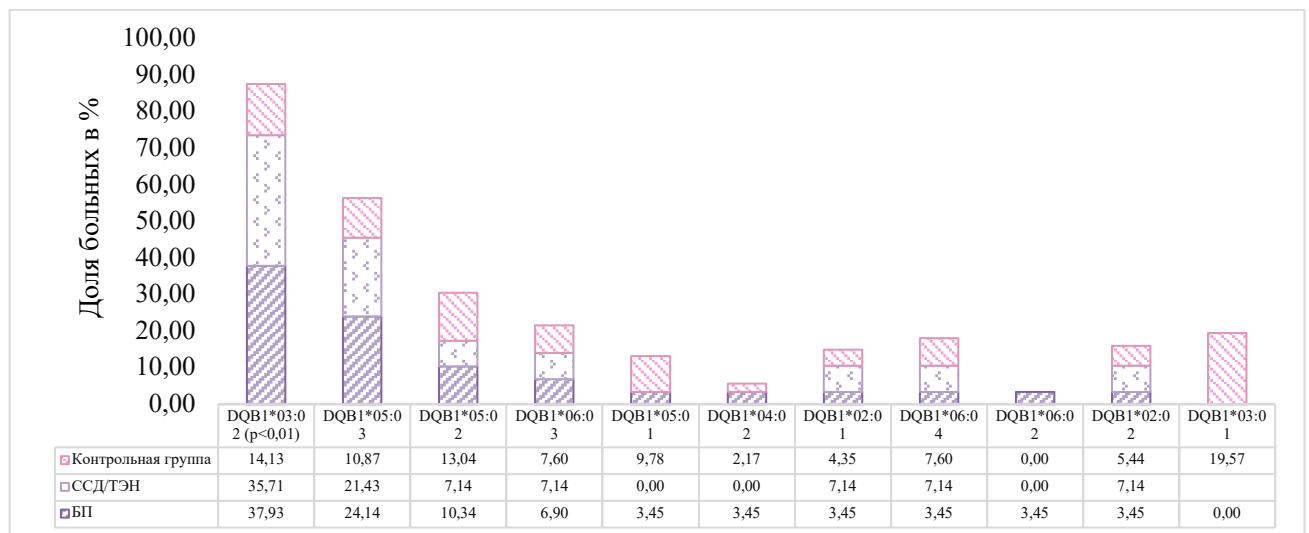


Рисунок 43 – Частотное распределение (%) HLA-DQB1 аллелей на уровне высокого разрешения для больных БП, ССД/ТЭН и контрольной группы (авторский рисунок)

Таблица 29 – Распределение HLA-типирования DQB1 аллелей на уровне высокого разрешения для больных БП и контрольной группы (абс.)

DQB1	Пациенты (БП)	Контрольная группа	Отношение шансов (ОШ)	Доверительный интервал (ДИ)	p-value
	Количество человек	(%)			
DQB*03:02	11	13	3,71	1,43–9,62	<0,01*
DQB*05:03	7	10	2,61	0,89–7,64	>0,05
DQB*05:02	3	12	0,77	0,2–2,94	1,0
DQB*06:03	2	7	0,90	0,18–4,59	1,0
DQB*02:01	1	4	0,79	0,08–7,32	1,0
DQB*02:02	1	5	0,62	0,07–5,55	1,0

DQB*03:01	–	18	–	–	–
DQB*03:03	–	5	–	–	–
DQB*04:02	1	2	1,61	0,14–18,40	> 0,05
DQB*05:01	1	9	0,33	0,04–2,72	> 0,05
DQB*06:02	1	–	–	–	–
DQB*06:04	1	7	0,43	0,05–3,68	> 0,05
Примечание: * - значимые межгрупповые различия (p-value <0,05)					

Для всех видов HLA-типирования DQB1 на уровне высокого разрешения у больных ССД/ТЭН статистически значимых результатов зарегистрировано не было (Рисунок 43; Таблица 30) [136].

Таблица 30 – Распределение HLA-типирования DQB1 аллелей на уровне высокого разрешения для больных ССД/ТЭН и контрольной группы (абс.; %)

DQB1	Пациенты	Контрольная группа	Отношение шансов (ОШ)	Доверительный интервал (ДИ)	p
	Количество человек (%)				
DQB1*03:02	5	13	3,38	0,98–11,67	0,1
DQB1*05:03	3	10	2,24	0,53–9,40	0,49
DQB1*05:02	1	12	0,51	0,06–4,28	0,85
DQB1*06:03	1	7	0,93	0,11–8,22	1
DQB1*03:01	1	18	0,32	0,04–2,58	0,45
DQB1*02:01	1	4	1,69	0,18–16,34	1
DQB1*06:04	1	7	0,93	0,11–8,22	1
DQB1*02:02	1	0	–	–	–

Таким образом, на уровне низкого разрешения HLA-DRB1*04 и DRB1*14 аллели ассоциировались с ВП и ЛП.

На уровне высокого разрешения DRB1*04:02 аллель являлся предрасполагающим для всех разновидностей пузырчатки, включая ПНП, тогда как DRB1*14:05 HLA аллель ассоциировался только с ВП и ЛП. DRB1*11:04 аллель обладал протективным эффектом против развития пузырчатки в российской популяции.

Вероятность выявления DQB1*03:02 аллеля была в 7,09 раза выше у больных ЛП и в 2,49 – для группы ВП по сравнению со здоровыми донорами. DQB1*05:03

аллель являлся предрасполагающим для ВП и ПНП. Протективную роль в отношении развития ВП выполнял аллель DQB1*03:01.

На уровне низкого разрешения такие диагнозы, как БП, а также ССД/ТЭН были ассоциированы с HLA аллелями DRB1*14. При БП аллель DRB1*04 встречался в 4 раза чаще по сравнению с группой контроля.

По HLA-DQB1 типированию на уровне низкого и высокого разрешений у больных БП наблюдалась ассоциация с DQB1*03:02 аллелью. У больных ССД/ТЭН также наблюдалась тенденция к более высокой частоте встречаемости DQB1*03:02 аллеля. Следует отметить, что аллельный вариант DQB1*01 не ассоциировался с развитием ССД/ТЭН.

3.2. Анализ влияния HLA-DRB1*04:02, DRB1*14:05 и DQB1*03:02 аллелей на стероидную резистентность и тяжелое течение акантолитической пузырьчатки и буллезного пемфигоида Лёвера

Следующим этапом исследования была оценка взаимосвязи наиболее часто встречающихся в российской популяции HLA-DRB1*04:02, DRB1*14:05, DQB1*03:02 аллелей у больных АП и БП со СР и тяжелым течением заболевания.

Аллель DRB1*04:02 отсутствовал у 70 (65,42%) пациентов и обнаруживался у 37 (34,58%) больных АП. Наблюдалась тенденция к ассоциации аллеля DRB1*04:02 с резистентностью к терапии СГК (ОШ=2,361; 95% ДИ 0,99-5,64; точный тест Фишера, $p=0,053$). При наличии данного аллеля шанс развития СР был в 2,36 раза выше, чем при ее отсутствии. Полученный результат является погранично значимым (Рисунок 44).

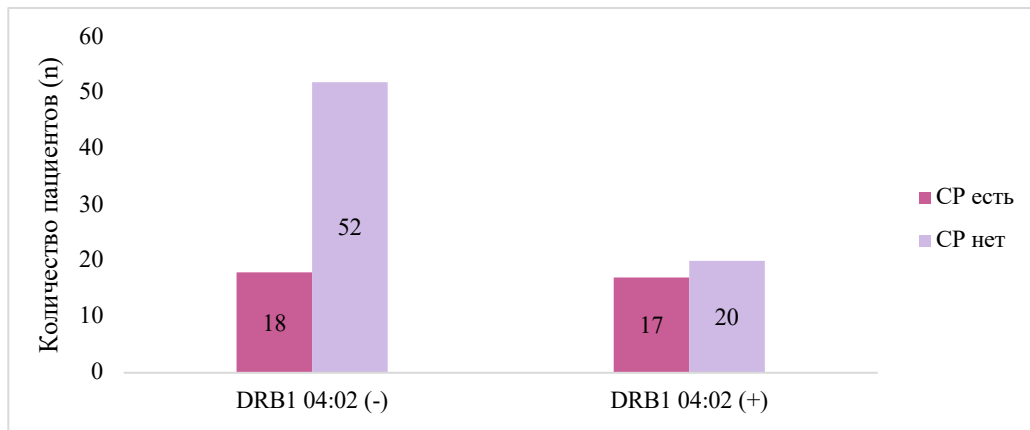


Рисунок 44 – Распределение стероид-резистентных и стероид-чувствительных больных АП в зависимости от наличия HLA-DRB1*04:02 аллеля (авторский рисунок)

При оценке возможной взаимосвязи между HLA-DRB1*04:02 и тяжелым течением АП по результатам графического анализа и теста на независимость χ^2 , можно сделать вывод, что данный аллель не оказывал влияния на степень тяжести заболевания (схожие распределения в обеих группах; $p > 0,05$; $p = 0,758$). Тяжелое течение заболевания отмечалось у 32,43% ($n = 12$) носителей аллеля DRB1*04:02 и у 21,42% пациентов, не являющихся носителями данного аллельного варианта (Рисунок 45).

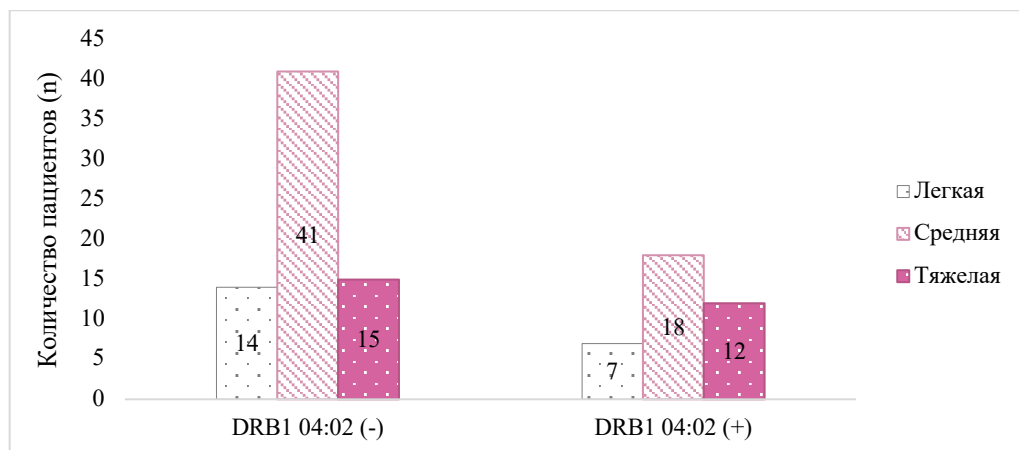


Рисунок 45 – Распределение больных АП по степени тяжести заболевания в зависимости от наличия HLA-DRB1*04:02 аллеля (авторский рисунок)

При оценке взаимосвязи между наличием HLA-DRB1*14:05 аллеля и СР у больных АП не было получено статистически значимых различий между группами пациентов с наличием и отсутствием СР соответственно ($p > 0,05$; $p = 0,57$). Частота

СР среди носителей аллеля составила 23,53% (4 из 17), среди неносителей – 34,44% (31 из 90). Однако из соотношения шансов следует, что вероятность развития резистентности к СГК была в 1,707 раза выше при отсутствии HLA-DRB1*14:05 аллеля (ОШ=0,586; 95% ДИ 0,18-1,90), что указывает на тенденцию к его протективному эффекту в отношении развития АП (Рисунок 46).

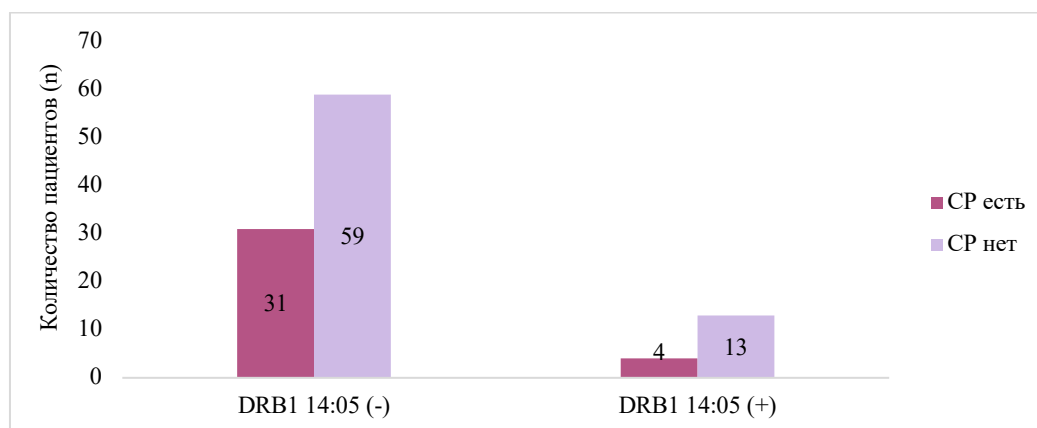


Рисунок 46 – Распределение стероид-резистентных и стероид-чувствительных больных АП в зависимости от наличия HLA-DRB1*14:05 аллеля (авторский рисунок)

По результатам графического анализа и теста на независимость χ^2 нет оснований говорить ни о существенном влиянии наличия HLA-DRB1*14:05 аллеля на степень тяжести пузырчатки, ни о статистической значимости возможных различий ($p > 0,05$). Распределение по степеням тяжести оказалось практически идентичным независимо от наличия аллеля HLA-DRB1*14:05. Среди 90 неносителей аллеля тяжелое течение наблюдалось в 22 случаях (24,44%), среднетяжелое – в 50 (55,56%), легкое – в 18 (20,00%). У 17 пациентов, имевших аллель HLA-DRB1*14:05, тяжелое течение зарегистрировано в 5 случаях (29,41%), среднетяжелое – в 9 (52,94%), легкое – 3 (17,65%) (точный критерий Фишера, $p = 0,993$) (Рисунок 47).

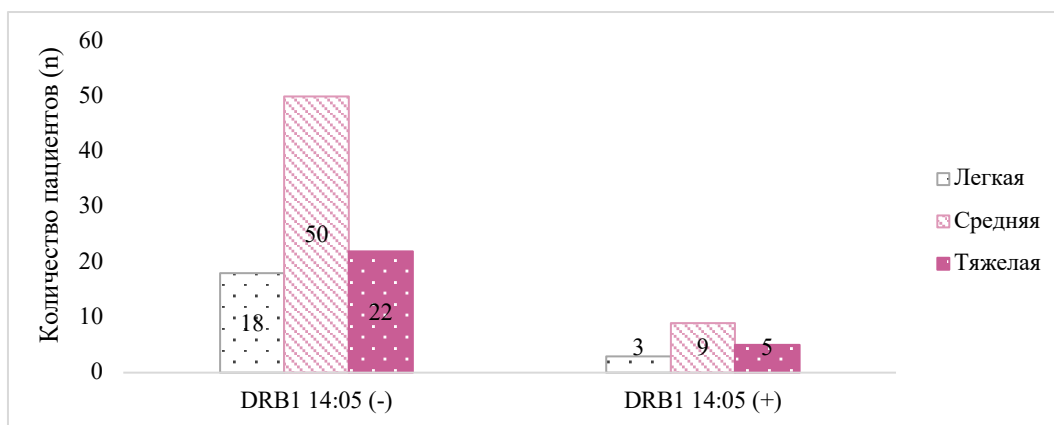


Рисунок 47 – Распределение больных АП по степени тяжести заболевания в зависимости от наличия HLA-DRB1*14:05 аллеля (авторский рисунок)

При оценке ассоциации аллеля HLA-DQB1*03:02 со СР у больных АП статистически значимых различий выявлено не было (точный тест Фишера, $p=0,282$) (Рисунок 47). Частота СР среди носителей аллеля составила 24,4% (8 из 33 пациентов), среди пациентов без данного аллеля – 36,49% (27 из 74). ОШ развития резистентности к СГК при наличии аллеля HLA-DQB1*03:02 составило 0,556 (95% ДИ 0,22-1,39), что указывает на тенденцию к протективному эффекту аллеля. При его отсутствии вероятность СР была в 1,8 раз выше, однако различия не достигли статистической значимости (Рисунок 48).

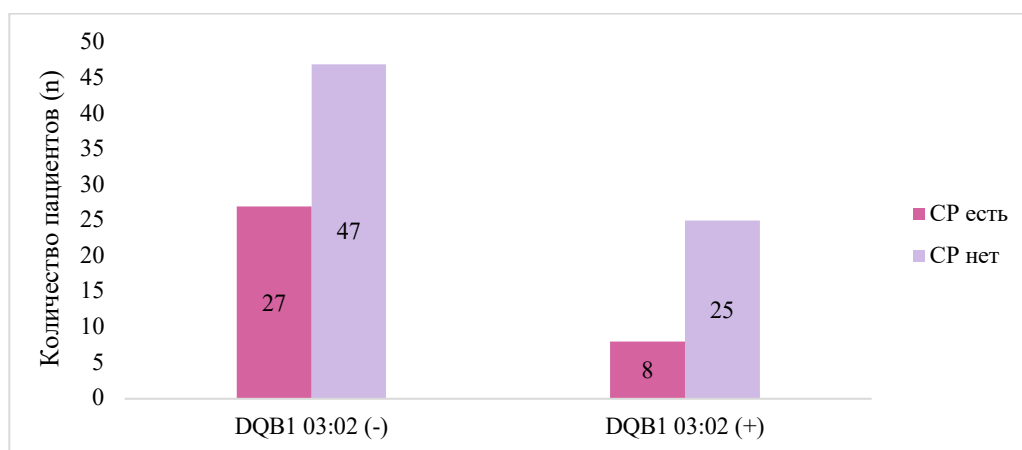


Рисунок 48 – Распределение стероид-резистентных и стероид-чувствительных больных АП в зависимости от наличия HLA-DQB1*03:02 аллеля (авторский рисунок)

По результатам теста на независимость χ^2 , также не было обнаружено влияния наличия HLA-DQB1*03:02 аллеля на степень тяжести АП ($p>0,05$; $p=0,876$) (Рисунок 49).

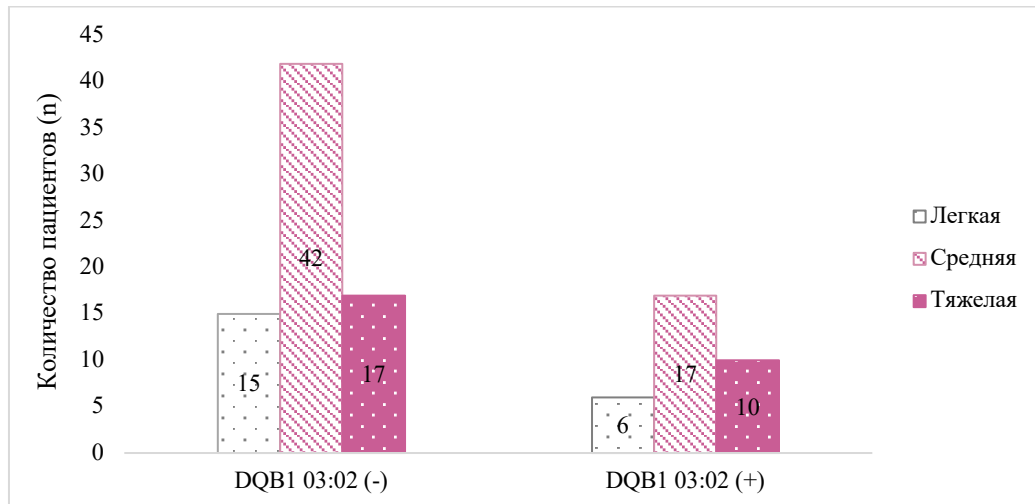


Рисунок 49 – Распределение больных АП по степени тяжести заболевания в зависимости от наличия HLA-DQB1*03:02 аллеля (авторский рисунок)

Далее проводилась оценка влияния HLA-DRB1*04:02 и HLA-DQB1*03:02 аллелей на развитие СР у больных БП. Из графика следует, что HLA-DRB1*04:02 и HLA-DQB1*03:02 аллели не коррелировали со СР у таких пациентов (Рисунок 50).

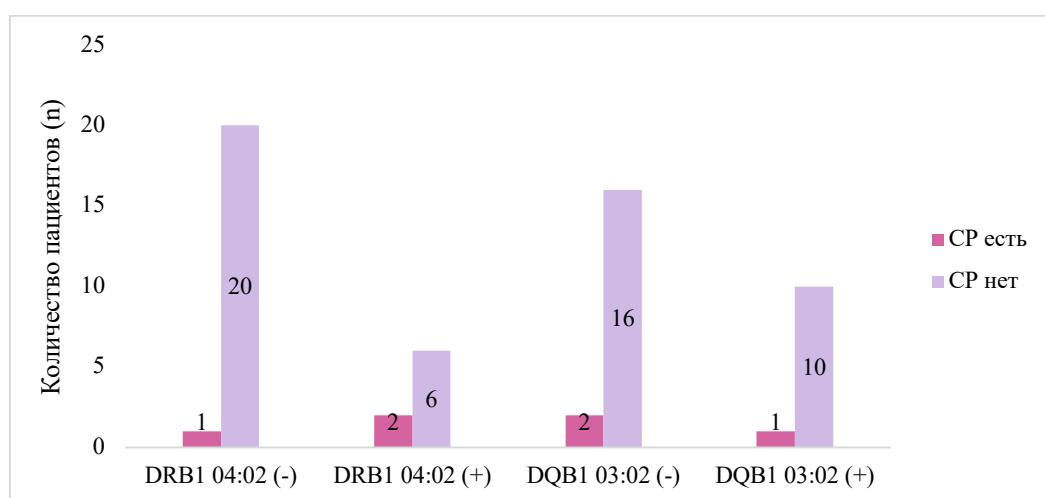


Рисунок 50 – Распределение стероид-резистентных и стероид-чувствительных больных БП в зависимости от наличия HLA-DRB1*04:02 и HLA-DQB1*03:02 аллелей (авторский рисунок)

По результатам графического анализа и теста на независимость χ^2 , не было обнаружено статистически значимого влияния наличия HLA-DRB1*04:02 и DQB1*03:02 аллелей на степень тяжести БП ($p>0,05$; $p=0,481$, $p=0,580$). Среди носителей аллелей HLA-DRB1*04:02 и DQB1*03:02 легкая степень тяжести заболевания не наблюдалась, а тяжелая форма регистрировалась в 28,6% (2 из 7 пациентов-носителей DRB1*04:02 аллеля) и 36,4% (4 из 11 носителей DQB1*03:02 аллеля) случаев соответственно (против 14,0% и 16,2% у не-носителей) (Рисунок 51).

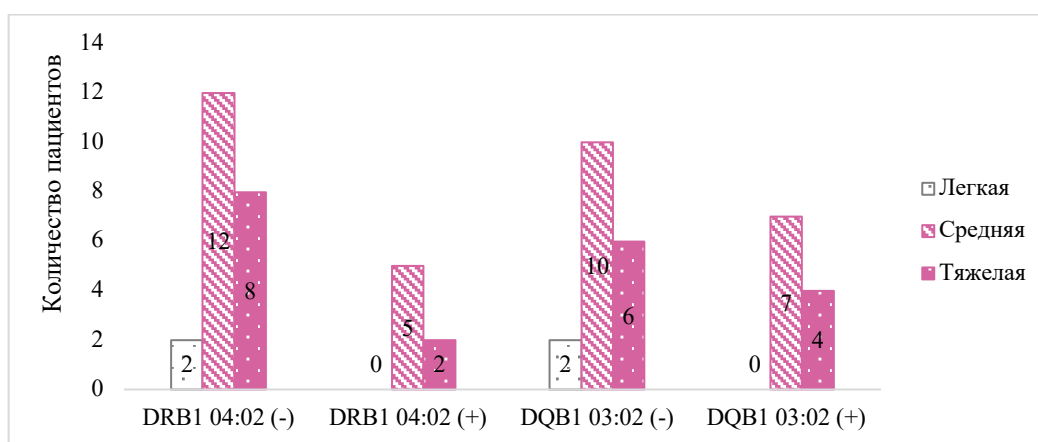


Рисунок 51 – Распределение больных БП по степени тяжести заболевания в зависимости от наличия HLA-DRB1*04:02 и DQB1*03:02 аллелей (авторский рисунок)

Таким образом, выявлена тенденция к увеличению риска СР при наличии аллеля DRB1*04:02 при пузырчатке (ОШ=2,36; ДИ 0,99-5,64; $p=0,053$) и, напротив, к его снижению при наличии аллелей DRB1*14:05 и DQB1*03:02 ($p>0,05$). Для остальных аллелей (HLA-DRB1*14:05 и HLA-DQB1*03:02) при БП достоверных ассоциаций со СР или тяжестью заболевания зафиксировано не было.

3.3. Анализ распространенности HLA-DRB1 и HLA-DQB1 аллелей на разных уровнях разрешения у стероид-резистентных больных акантолитической пузырчаткой в зависимости от тяжести заболевания

При проведении HLA типирования по аллелям DRB1 и DQB1 в низком разрешении у стероид-резистентных больных АП в зависимости от степени тяжести с помощью метода χ^2 Пирсона не удалось установить статистически значимых различий ввиду малой выборки больных (по аллелям DRB1*13 и DRB1*15) ($p=0,845$) (Таблица 31; Рисунок 51). Наблюдалась тенденция к более высокой частоте встречаемости аллеля HLA-DRB1*04 у больных АП тяжелой степени тяжести (47,1%; 8 пациентов из 17) (Таблица 31, Рисунок 52).

Таблица 31 – Распределение стероид-резистентных больных АП по степени тяжести заболевания в зависимости от HLA-DRB1 типирования в низком разрешении (n)

Показатель	Категории	HLA-типирование DRB1 аллелей в низком разрешении					p
		1 (n=4)	4 (n=17)	13 (n=4)	14 (n=8)	15 (n=2)	
Тяжесть пузырчатки (PDAI) у больных со СР	Легкая	2	5	0	2	0	0,85
	Средняя	1	4	2	2	1	
	Тяжелая	1	8	2	4	1	

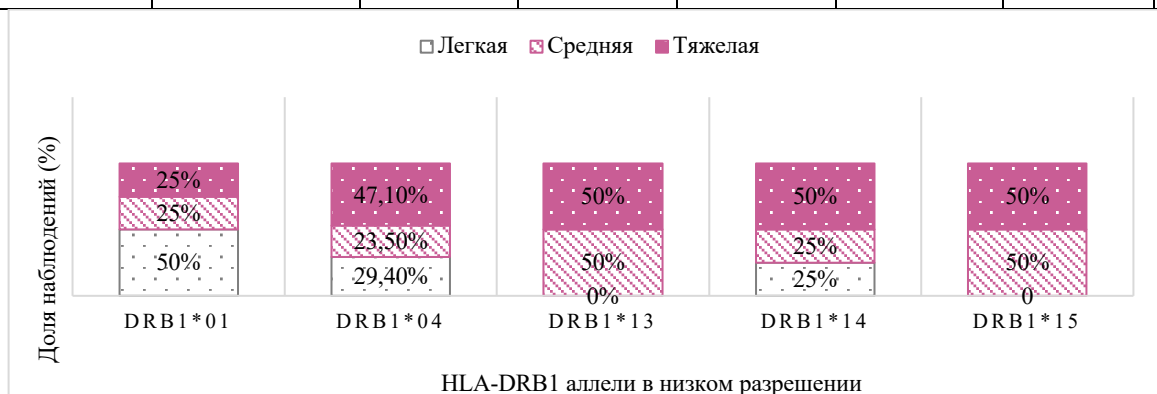


Рисунок 52 – Распределение доли (%) стероид-резистентных больных АП различной степени тяжести в зависимости от HLA-DRB1 типирования в низком разрешении (авторский рисунок)

Следует отметить, что при использовании метода χ^2 Пирсона у СР больных АП на уровне HLA-DRB1 типирования в высоком разрешении не было обнаружено корреляции со степенью тяжести заболевания согласно индексу PDAI ($p=0,88$). Следует отметить, что HLA-DRB1*04:02 аллель чаще встречался у больных АП тяжелой степени тяжести, а именно: у восьми пациентов (50%; 8 из 16 пациентов) соответственно (Таблица 32, Рисунок 53). Однако полученные данные не достигли статистически значимых различий ($p>0,01$).

Таблица 32 – Распределение стероид-резистентных больных АП по степени тяжести заболевания в зависимости от HLA-DRB1 типирования в высоком разрешении (n)

DRB1 аллели	Степень тяжести (PDAI)				p
	Лёгкая	Средняя	Тяжёлая	Всего (n)	
04:02	4	4	8	16	0,88
04:03	1	0	0	1	
01:02	2	1	1	4	
13:01	0	2	1	3	
13:02	0	1	0	1	
14:01	0	0	1	1	
14:04	1	0	2	3	
14:05	1	1	1	3	
03:01	0	1	0	1	
16:01	0	0	1	1	
11:01	0	0	1	1	
Всего	9	10	16	35	

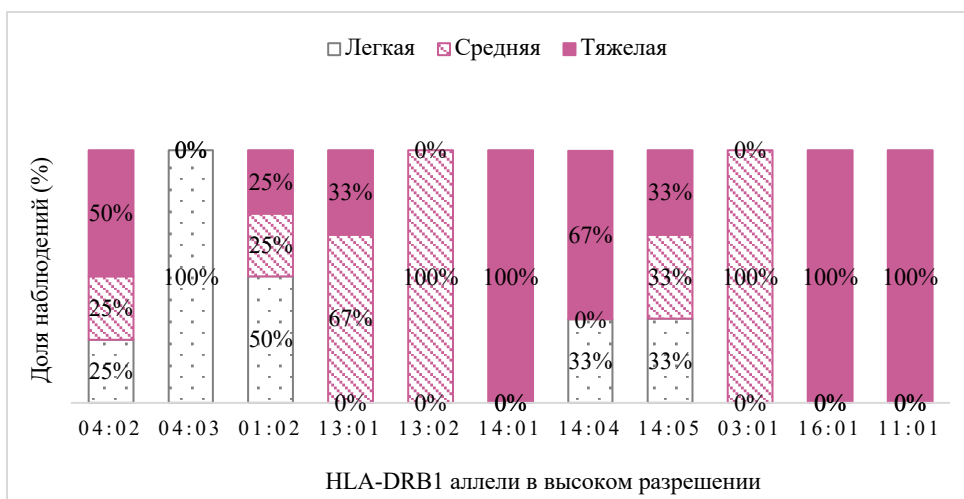


Рисунок 53 – Распределение доли (%) больных АП с наличием стероидной резистентности в зависимости от HLA-DRB1 типирования в высоком разрешении в процентном соотношении (авторский рисунок)

При использовании метода χ^2 Пирсона у СР больных АП на уровне HLA-DQB1 типирования в низком разрешении не было обнаружено корреляции со степенью тяжести заболевания согласно индексу PDAI ($p=0,18$) ($n=34$) (Таблица 33). Для аллелей с малой выборкой (DQB1*02 и DQB1*06) применен точный критерий Фишера (после поправки Бонферрони). Однако следует отметить, что у девяти (69,2%) стероид-резистентных больных АП тяжелой степени тяжести отмечалась тенденция к более высокой частоте встречаемости DQB1*03 аллеля ($p=0,078$) (Таблица 33, Рисунок 54).

Таблица 33 – Распределение стероид-резистентных больных АП по степени тяжести заболевания в зависимости от HLA-DQB1 типирования в низком разрешении (n)

Показатель	Категории	HLA-типирование DQB1 аллелей в низком разрешении				p
		2 ¹ (n=1)	3 ² (n=13)	5 ³ (n=18)	6 ⁴ (n=2)	
Тяжесть пузырчатки (индекс) PDAI у больных со СР	Легкая	1	1	6	1	0,18
	Средняя	0	3	6	1	
	Тяжелая	0	9	6	1	

Примечание: 1, $p \approx 0,029$ (значимо, но ненадежно из-за $n=1$, низкая мощность); 2, $p \approx 0,078$ (тенденция к тяжелой степени тяжести); 3, $p \approx 0,626$; 4, $p \approx 0,581$ (ненадежно из-за малой выборки)

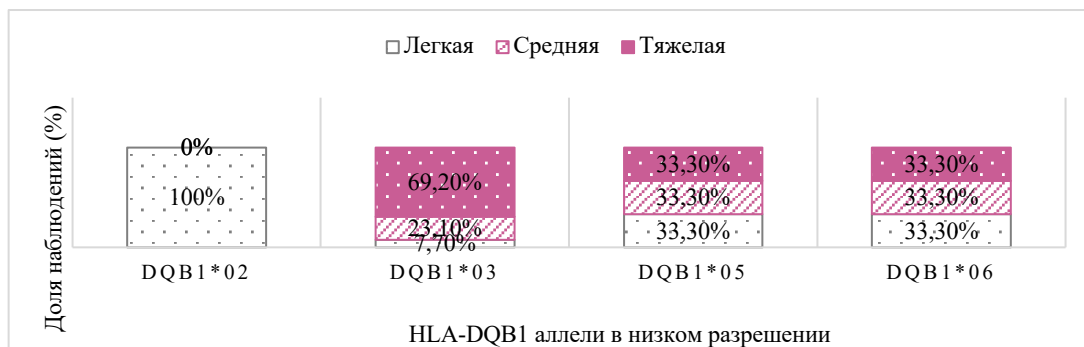


Рисунок 54 – Распределение доли (%) больных АП с наличием стероидной резистентности в зависимости от HLA-DQB1 типирования в низком разрешении в процентном соотношении (авторский рисунок)

Следует отметить, что при применении статистического метода χ^2 Пирсона было обнаружено, что HLA-DQB1*03:01 аллель (среди аллелей 02:01, 03:01 и 03:02) одновременно ассоциировался с тяжелым и рефрактерным к терапии СГК течением АП (89%; n=8) (общее значение $p=0,004$ подтверждало связь с тяжелым течением заболевания) в то время, как аллель DQB1*03:02 преобладал у больных АП средней степени тяжести (75%) (Таблица 34, Рисунок 55). В анализ были включены аллели с достаточной частотой, чтобы соблюсти условия применимости χ^2 теста (ожидаемые частоты ≥ 5 в большинстве ячеек). Редкие аллели (n=1, n=2) создавали бы ячейки с ожидаемым значением < 1 , что делает тест ненадежным.

Таблица 34 – Распределение стероид-резистентных больных АП по степени тяжести заболевания в зависимости от HLA-DQB1 типирования в высоком разрешении (n)

Показатель	Категории	HLA-типирование DQB1 аллелей в высоком разрешении			p (общий)*	p (попарное) ¹
		02:01	03:01	03:02		
Тяжесть пузырчатки (индекс PDAI) у больных со СР	Легкая	1	1	0	0,004*	02:01 против 03:01 (p=0,2)
	Средняя	0	0	3		02:01 против 03:02 (p=0,4)
	Тяжелая	0	8	1		03:01 против 03:02 (p=0,013)

Примечание: *p-value (общий) = 0,004 получено с использованием критерия (χ^2), указывает на статистически значимые различия в распределении степеней тяжести между аллелями (* $p < 0,05$); 1 p-values попарных сравнений рассчитаны с использованием критерия (χ^2) (df=2); значения до коррекции Бонферрони (уровень значимости 0,0167 после поправки на 3 сравнения)

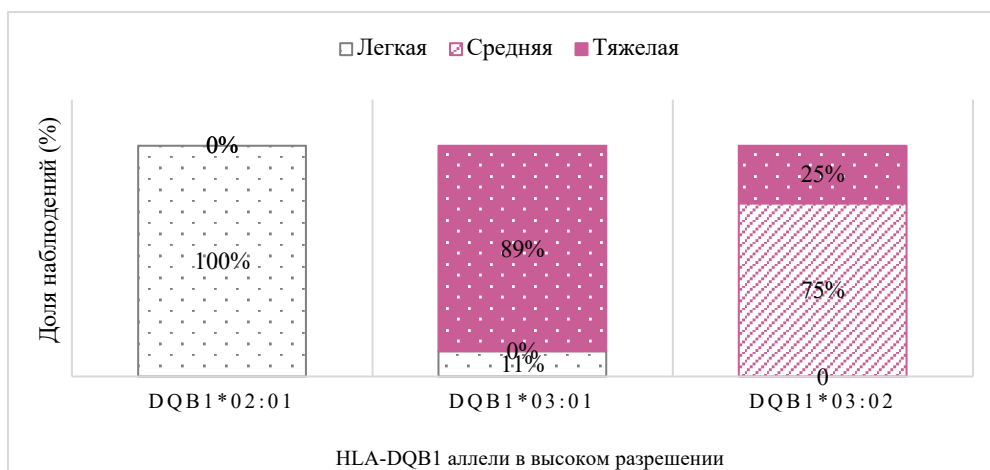


Рисунок 55 – Распределение доли (%) стероид-резистентных больных АП различной степени тяжести в зависимости от HLA-DQB1 типирования в высоком разрешении в процентном соотношении (авторский рисунок)

Таким образом, HLA-DQB*03:01 аллель одновременно ассоциировался с тяжелым и рефрактерным течением АП, что позволяет классифицировать больных АП на геномном уровне на стероид-резистентных и стероид-чувствительных.

3.4. Анализ распространенности HLA-DRB1 и HLA-DQB1 аллелей на разных уровнях разрешения у больных буллезным пемфигоидом Левера в зависимости от тяжести заболевания и стероидной резистентности

При использовании метода χ^2 Пирсона у больных БП на уровне HLA-DRB1 типирования в низком разрешении среди всех аллелей для DRB1*14 обнаружено статистически значимое различие в распределении степеней тяжести (8 из 9 пациентов; 88,8%) ($p=0,008$), с явным преобладанием средней (Таблица 35, Рисунок 56).

Таблица 35 – Распределение HLA-DRB1 аллелей в низком разрешении у больных БП в зависимости от степени тяжести заболевания (BPDAI) (n)

Показатель	Категории	HLA-типирование DRB1 аллелей в низком разрешении ¹									p*
		1	3	4	7	11	13	14	15	16	
		(1)	(1)	(8)	(2)	(3)	(3)	(9)	(1)	(1)	

Продолжение таблицы 35

Степень тяжести БП (индекс ВРДАИ)	Легкая	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0,04
	Средняя	0	0	5	1	2	1	8	0	0	
	Тяжелая	0	1	3	1	1	1	1	1	1	
	р внутри аллеля	НП	НП	0,74 3	0,87 6	0,87 6	0,24 7	0,00 8	НП	НП	
Примечание: ¹ – данные представлены в формате «аллель (n)» НП - не применимо; * - общий p-value											

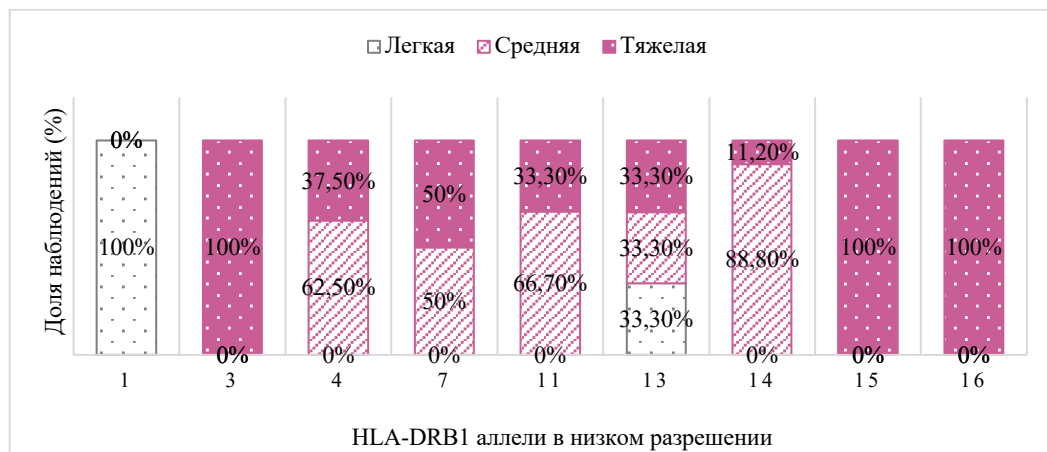


Рисунок 56 – Распределение доли (%) больных БП различной степени тяжести в зависимости от HLA-DRB1 типирования в низком разрешении в процентном соотношении (авторский рисунок)

В высоком разрешении не удалось выявить корреляцию между HLA-DRB1 аллелями и степенью тяжести БП ($p=0,212$) (Таблица 36).

Таблица 36 – Распределение HLA-DRB1 аллелей в высоком разрешении у больных БП в зависимости от степени тяжести заболевания (ВРДАИ) (n/%)

DRB1 аллели	Степень тяжести (индекс ВДАИ)				p*
	Лёгкая (n, %)	Средняя (n, %)	Тяжёлая (n, %)	Всего (n) ¹	
01:01	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	1	0,212
04:02	0 (0%)	5 (71,4%)	2 (28,6%)	7	
04:03	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	1	
07:01	0 (0%)	1 (50%)	1 (50%)	2	
11:01	0 (0%)	1 (50%)	1 (50%)	2	
11:03	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)	1	
13:01	1 (33,3%)	1 (33,3%)	1 (33,3%)	3	

Продолжение таблицы 36

14:04	0 (0%)	5 (83,3%)	1 (16,7%)	6	
14:05	0 (0%)	3 (100%)	0 (0%)	3	

15:01	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	1	
Всего	2 (7,4%)	17 (63,0%)	8 (29,6%)	27	
Примечание: * - p-value (0,212) получено с использованием критерия (χ^2) для таблицы сопряженности, отражающего общую значимость различий в распределении степеней тяжести БП между группами HLA-DRB1 в высоком разрешении; 1-n (количество пациентов)					

При оценке корреляции между степенью тяжести БП и HLA-DQB1 аллелями в низком разрешении, не удалось выявить значимых различий ($p=0,167$). Однако наблюдалась незначительная тенденция к более высокой частоте встречаемости DQB1*03 (72,7%) и DQB1*05 (45%) аллелей у больных БП средней степени тяжести ($p=0,871$) (Таблица 37, Рисунок 57).

Таблица 37 – Распределение HLA-DQB1 аллелей в низком разрешении у больных БП в зависимости от степени тяжести заболевания (BPAI) (n)

DQB1 Аллели	Степень тяжести (индекс BPAI)			Всего (n)	p*
	Лёгкая	Средняя	Тяжёлая		
2	0	2	0	2	0,167
3	0	8	3	11	
4	0	0	1	1	
5	2	5	4	11	
6	0	2	2	4	
Всего	2	17	10	29	
Примечание: * - общий p-value 0,167 получен с использованием критерия (χ^2) для таблицы сопряженности. Он отражает общую значимость различий в распределении степеней тяжести БП между группами HLA-DQB1 в низком разрешении					

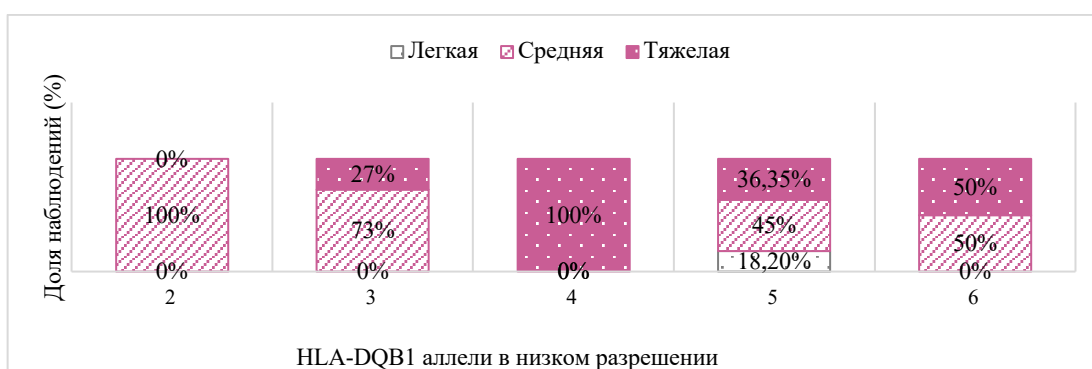


Рисунок 57 – Распределение доли (%) больных БП различной степени тяжести в зависимости от HLA-DQB1 типирования в низком разрешении в процентном соотношении (авторский рисунок)

Проведенный анализ обнаружил тенденции к различиям в распределении аллелей HLA-DQB1 в высоком разрешении у больных БП в зависимости от тяжести заболевания ($p=0,089$; точный критерий Фишера). Аллель DQB1*03:02 преобладал у пациентов средней степени тяжести (72%; 8 пациентов из 11) и был представлен у 28% ($n=3$) больных тяжелой. DQB1*05:03 аллель доминировал также при тяжелой (57%; 4 пациента из 7) форме заболевания (Таблица 38, Рисунок 58).

Попарные сравнения аллелей (DQB1*02:01 против DQB1*03:02, DQB1*02:01 против DQB1*05:03, DQB1*03:02 против DQB1*05:03, DQB1*05:02 против DQB1*03:02, DQB1*05:02 против DQB1*05:03) выявили p -value в диапазоне от 0,028 до 0,833. Однако после применения поправки Бонферрони ($\alpha=0,01$ для 5 сравнений) ни одно из попарных сравнений не достигло статистической значимости. Полученные данные подчеркивают потенциальную роль DQB1*03:02 и DQB1*05:03 аллелей в определении тяжести течения БП (Таблица 38, Рисунок 58).

Таблица 38 – Распределение HLA-DQB1 аллелей в высоком разрешении у больных БП в зависимости от степени тяжести заболевания (BPDAI) (n)

DQB1 аллели	HLA-типирование DQB1 аллелей в высоком разрешении			p^*	p попарные	
	Легкая	Средняя	Тяжелая			
				0,089	DQB1*02:01 против DQB1*03:02	$p \approx 0,833 > 0,01$
02:01	0	1	0		DQB1*02:01 против DQB1*05:03	$p \approx 0,375 > 0,01$
02:02	0	1	0		DQB1*03:02 против DQB1*05:03	$p \approx 0,037 > 0,01$
03:02	0	7	4		DQB1*05:02 против DQB1*03:02	$p \approx 0,028 > 0,01$
04:02	0	0	1		DQB1*05:02 против DQB1*05:03	$p \approx 0,057 > 0,01$
05:02	1	2	0			
05:03	1	2	4			
05:01	0	1	0			
06:03	0	1	1			
06:02	0	1	0			
06:04	0	0	1			

Продолжение таблицы 38

Всего	2 (7,0)	17 (58,6)	10 (34,4)		
Примечание: * - 0,089 (точный критерий Фишера), указывающее на статистически значимые различия в распределении аллелей между группами тяжести ($p > 0,01$)					

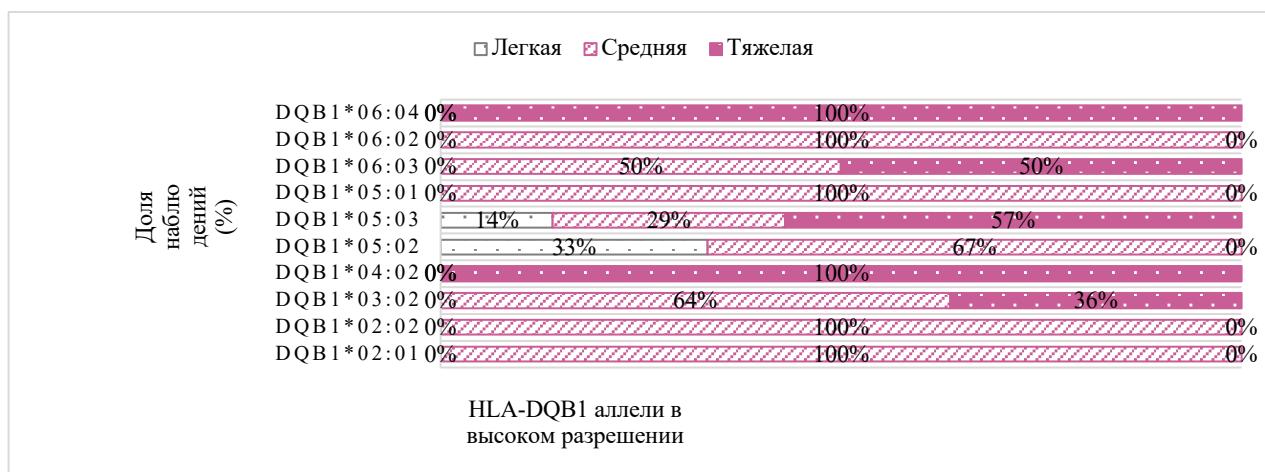


Рисунок 58 – Распределение доли (%) больных БП различной степени тяжести в зависимости от HLA-DQB1 типирования в высоком разрешении в процентном соотношении (авторский рисунок)

При использовании статистического метода χ^2 Пирсона и сопоставлении наличия СР у больных БП в зависимости от HLA-типирования DRB1 и аллелей в низком и высоком разрешении не удалось установить статистически значимых различий ($p=0,118$; $p=0,176$) (Таблица 39, 40).

Таблица 39 – Распределение HLA-DRB1 аллелей в низком разрешении у больных БП в зависимости от наличия стероидной резистентности (n/%)

DRB1 аллели	СР _{нет}	СР _{да}	Итого	p*
1	0 (0,0%)	1 (100,0%)	1	p≈0,118
3	1 (100,0%)	0 (0,0%)	1	
4	6 (75,0%)	2 (25,0%)	8	
7	2 (100,0%)	0 (0,0%)	2	
11	3 (100,0%)	0 (0,0%)	3	
13	3 (100,0%)	0 (0,0%)	3	
14	9 (100,0%)	0 (0,0%)	9	
15	1 (100,0%)	0 (0,0%)	1	
16	1 (100,0%)	0 (0,0%)	1	
Итого	26	3	29	

Примечание: * - общий p-value для связи между DRB1 аллелями в низком разрешении и наличием/отсутствием СР рассчитан с использованием точного теста Фишера и равен 0,436

Таблица 40 – Распределение HLA-DRB1 аллелей в высоком разрешении у больных БП в зависимости от наличия стероидной резистентности (n/%)

Аллели DRB1	СР _{нет}	СР _{да}	Итого	p*
01:01	0 (0,0%)	1 (100,0%)	1	p≈0,893
04:02	5 (71,4%)	2 (28,6%)	7	
04:03	1 (100,0%)	0 (0,0%)	1	
07:01	2 (100,0%)	0 (0,0%)	2	
11:01	2 (100,0%)	0 (0,0%)	2	
11:03	1 (100,0%)	0 (0,0%)	1	
13:01	3 (100,0%)	0 (0,0%)	3	
14:04	6 (100,0%)	0 (0,0%)	6	
14:05	3 (66,66%)	0 (0,0%)	3	
15:01	1 (100,0%)	0 (0,0%)	1	
Итого	24	3	27	

Примечание: * - общий p-value для связи между DRB1 аллелями в высоком разрешении и наличием/отсутствием СР рассчитан с использованием точного теста Фишера и равен 0,893

При анализе частоты встречаемости HLA-DQB1 аллелей в высоком и низком разрешении у стероид-резистентных больных также не было обнаружено статистически значимых различий (p≈0,797; p≈0,923) (Таблица 41, 42).

Таблица 41 – Распределение HLA-DQB1 аллелей в низком разрешении у больных БП в зависимости от наличия стероидной резистентности (n/%)

DQB1 аллели	СР _{нет}	СР _{да}	Итого	p*
2	2 (100,0%)	0 (0,0%)	2	p≈0,797
3	10 (91,0%)	1 (9,0%)	11	
4	1 (100,0%)	0 (0,0%)	1	
5	10 (91,0%)	1 (9,0%)	11	
6	3 (75,0%)	1 (25,0%)	4	
Итого	26	3	29	

Примечание: * - общий p-value для связи между DQB1 аллелями в низком разрешении и наличием/отсутствием СР рассчитан с использованием точного теста Фишера и равен 0,893

Таблица 42 – Распределение HLA-DQB1 аллелей в высоком разрешении у больных БП в зависимости от наличия стероидной резистентности (n/%)

Аллели DQB1	СР _{нет}	СР _{да}	Итого	p*
02:01	1 (100,0%)	0 (0,0%)	1	p≈0,923
02:02	1 (100,0%)	0 (0,0%)	1	
03:02	10 (91,0%)	1 (9,0%)	11	
04:02	1 (100,0%)	0 (0,0%)	1	
05:01	1 (100,0%)	0 (0,0%)	1	

Продолжение таблицы 42

05:03	6 (86,0%)	1 (14,0%)	7	
06:02	1 (100,0%)	0 (0,0%)	1	
06:03	1 (50,0%)	1 (50,0%)	2	
06:04	1 (100,0%)	0 (0,0%)	1	
Итого	26	3	29	

Примечание: * - общий p-value для связи между DQB1 аллелями в высоком разрешении и наличием/отсутствием СР рассчитан с использованием точного теста Фишера и равен 0,923

3.5. Анализ распространенности HLA-DRB1 и HLA-DQB1 аллелей на разных уровнях разрешения у больных синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом в зависимости от тяжести заболевания

При сопоставлении тяжести течения ССД/ТЭН с помощью метода Хи-квадрата Пирсона в зависимости от HLA-типирования DRB1 аллелей в низком разрешении не было обнаружено статистически значимых различий ($p=0,428$) между генами (Таблица 43, Рисунок 59).

Таблица 43 – Распределение HLA-DRB1 аллелей в низком разрешении у больных ССД/ТЭН в зависимости от степени тяжести (n)

DRB1 аллели	ССД	ССД-ТЭН	ТЭН	Итого	p*
1	1	1	0	2	p≈0,428
4	0	1	1	2	
7	0	0	1	1	
11	0	0	1	1	
12	1	0	0	1	
14	1	2	1	4	
15	1	2	0	3	
Итого	4	6	4	14	

Примечание: * - общий p-value для связи между DRB1 аллелями в низком разрешении и наличием/отсутствием СР рассчитан с использованием точного теста Фишера и равен 0,428

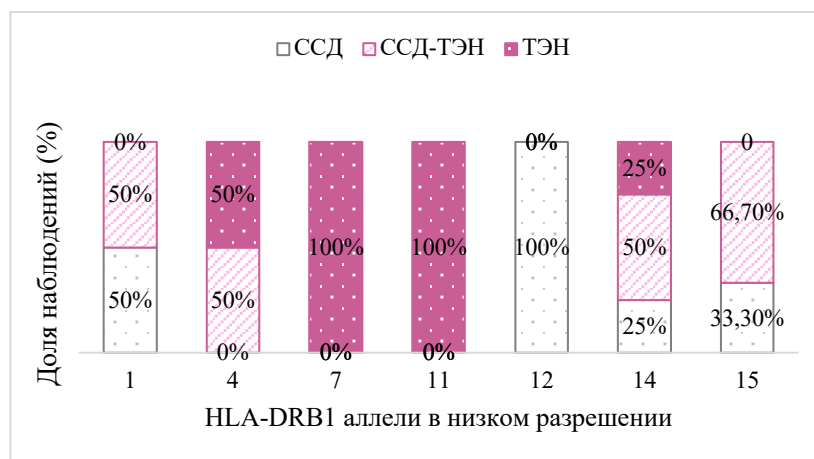


Рисунок 59 – Распределение доли (%) больных ССД, ССД-ТЭН и ТЭН в зависимости от HLA-DRB1 типирования в низком разрешении в процентном соотношении (авторский рисунок)

При оценке частоты встречаемости HLA-DRB1 аллелей в высоком разрешении у больных ССД/ТЭН различной степени тяжести также не удалось выявить статистически значимых различий ($p=0,52$) (Таблица 44).

Таблица 44 – Распределение HLA-DRB1 аллелей в высоком разрешении у больных ССД/ТЭН в зависимости от степени тяжести (n/%)

Аллели DRB1	ССД	ССД-ТЭН	ТЭН	Итого	p
01:01	1 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1	p=0,52*
01:02	0 (0,0)	1 (100,0)	0 (0,0)	1	
04:02	0 (0,0)	1 (50,0)	1 (50,0)	2	
07:01	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (100,0)	1	
11:01	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (100,0)	1	
14:04	0 (0,0)	1 (25,0)	2 (50,0)	3	
14:05	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (100,0)	1	
15:01	1 (33,3)	2 (66,7)	0 (0,0)	3	
Всего	2	5	6	13	

Примечание: * - тест Хи-квадрат, значимые межгрупповые различия

Учитывая редкость заболевания, было принято решение исследовать потенциальную корреляцию HLA-DQB1 аллелей с разной степенью тяжести ССД/ТЭН в высоком разрешении (Таблица 45, Рисунок 60).

При анализе возможной корреляции между HLA-DQB1 аллелями в высоком разрешении и степенью тяжести ССД/ТЭН также не удалось установить

статистически значимых различий или обнаружить потенциальные закономерности ($p=0,567$). Тем не менее наблюдалась незначительная тенденция к более высокой частоте встречаемости HLA-DQB1*03:02 аллеля у больных с перекрестным синдромом – ССД-ТЭН (60%) (Таблица 45, Рисунок 60).

Таблица 45 – Распределение HLA-DQB1 аллелей в высоком разрешении у больных ССД/ТЭН в зависимости от степени тяжести (n)

Аллели DQB1	ССД	ССД-ТЭН	ТЭН	Итого	p
02:01	0	0	1	1	p=0,71*
02:02	0	0	1	1	
03:01	1	0	0	1	
03:02	1	3	1	5	
05:02	1	0	0	1	
05:03	1	1	1	3	
06:03	0	1	0	1	
06:04	0	1	0	1	
Всего	4	6	4	14	

Примечание: * - тест Хи-квадрат, значимые межгрупповые различия

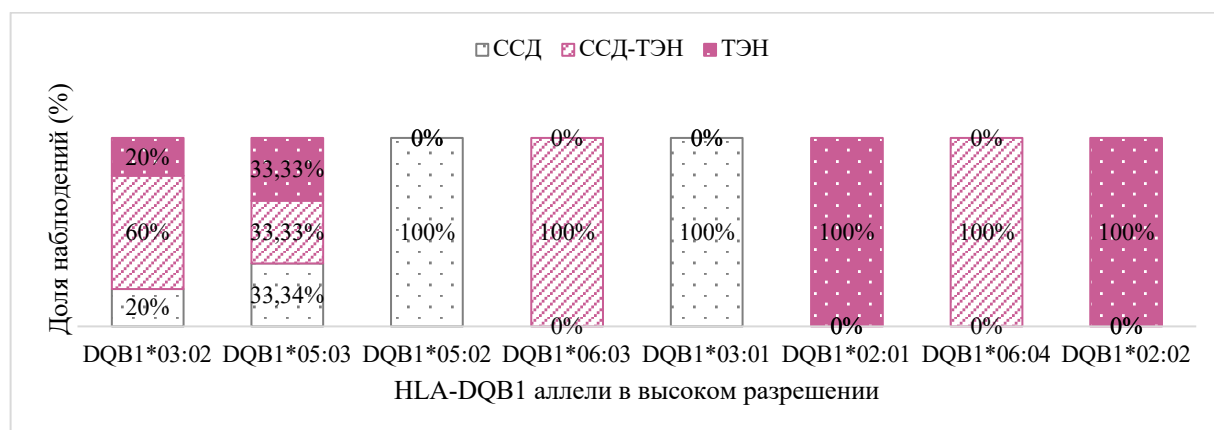


Рисунок 60 – Распределение доли (%) больных ССД, ССД-ТЭН и ТЭН в зависимости от HLA-DQB1 типирования в высоком разрешении в процентном соотношении (авторский рисунок)

В связи с тем, что СР наблюдалась только у одного больного ТЭН, статистический анализ ее частоты встречаемости у больных ССД/ТЭН был невозможен.

Таким образом, HLA-DRB1*14 и DQB1*03:02 аллели преобладали у больных БП средней степени тяжести ($p=0,008$; $p=0,0027$). DQB1*05:03 аллель несколько чаще выявлялся у больных тяжелой (57%) формой заболевания ($p>0,01$).

При оценке возможной взаимосвязи между HLA-DRB1 и HLA-DQB1 аллелями в низком и высоком разрешении и ССД/ТЭН различной степени тяжести не было выявлено достоверно значимых различий. Аллель HLA-DQB*03:02 обнаруживался чаще у больных с перекрестным синдромом ССД-ТЭН. Однако полученные результаты не достигли статистически значимых различий.

3.6. Анализ распределения гаплотипов у больных буллезными дерматозами

3.6.1. Распределение гаплотипов у больных акантолитической пузырчаткой и здоровых доноров

В связи с наличием сильного неравновесия по сцеплению в регионе HLA, не все возможные комбинации аллелей DRB1 и DQB1 встречались в изучаемой популяции у больных АП. Частоты рассчитаны в гаплоидном формате.

При оценке частоты встречаемости гаплотипов, представленных в таблице было выявлено, что гаплотипы DRB1*04/DQB1*05 (27/76; 35,5%), DRB1*14/DQB1*03 (20/76; 26,31%) в низком разрешении встречались среди больных АП значимо чаще, чем можно было ожидать по выборке здоровых доноров (2/92, 2,17%; 2/92, 2,17%; $p = 6,7 \times 10^{-4}$; $p=0,0086$) (Рисунок 61, 62; Приложение А, Таблица А.5). В то время, как гаплотип DRB1*11/DQB1*03, наоборот, наблюдался только у здоровых доноров, что подтверждает его защитный эффект в отношении развития АП (Рисунок 61, 62; Приложение А, Таблица А.5) [300].

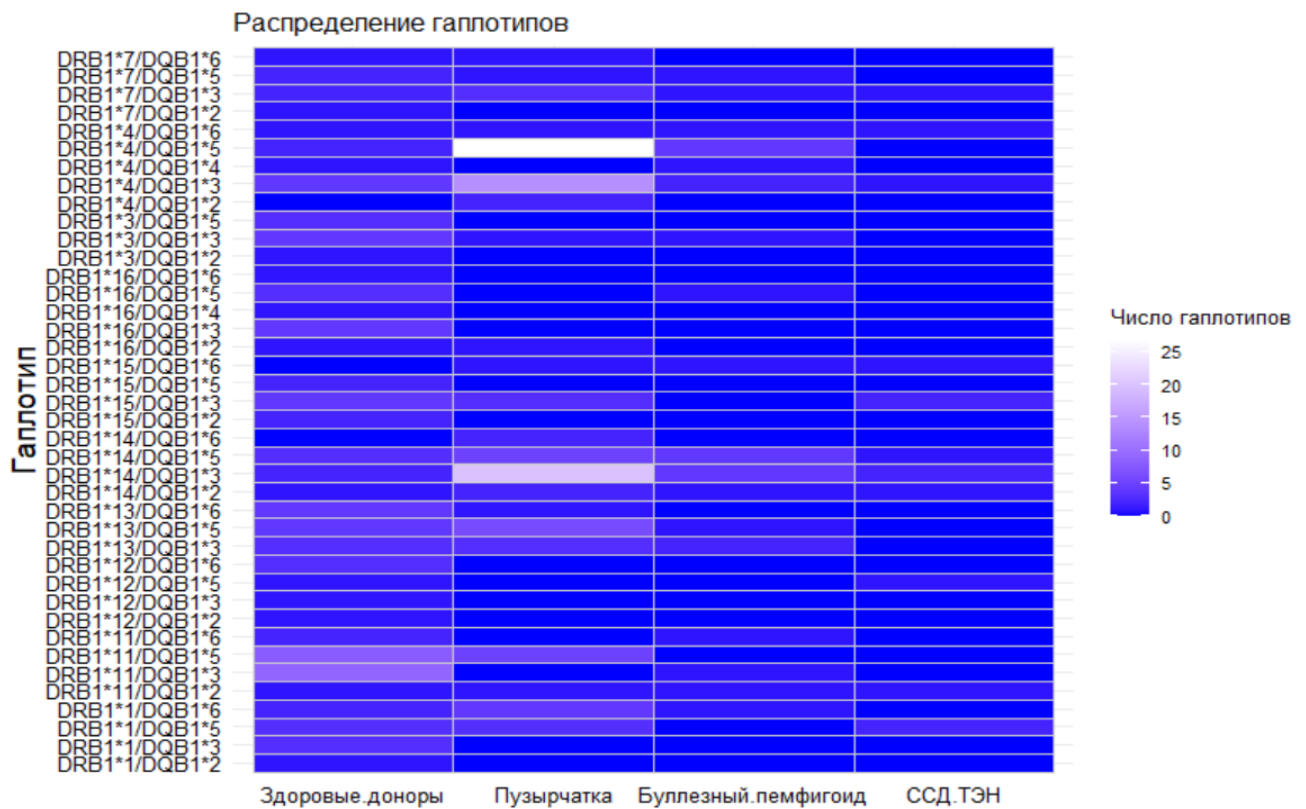


Рисунок 61 – Тепловая карта распределения гаплотипов у больных БД и здоровых доноров в зависимости от скорректированных p -value (авторский рисунок)

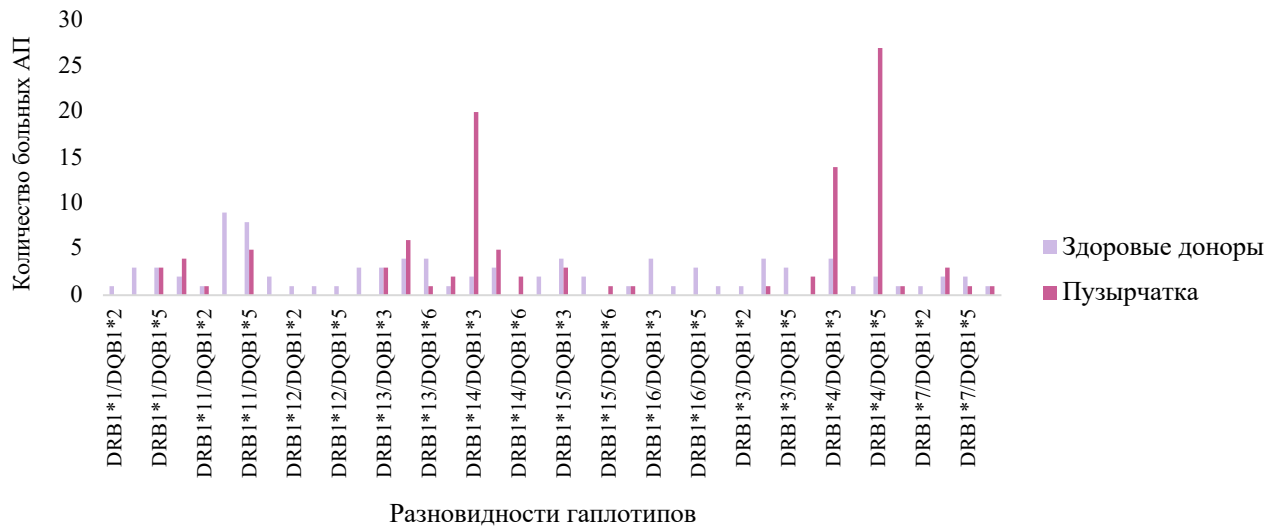


Рисунок 62 – Количественное распределение гаплотипов у здоровых доноров и больных АП (авторский рисунок)

Следует отметить, что p -value рассчитывали только для гаплотипов с достаточной частотой и литературным обоснованием, чтобы избежать низкой мощности теста и проблемы множественных сравнений.

Гаплотип DRB1*04:02/DQB1*05:03 в высоком разрешении обнаруживался у 15,89% больных АП (17/107) и отсутствовал в группе контроля (0/92), что указывает на достаточно сильную ассоциацию с заболеванием ($p=1,8 \times 10^{-5}$). Высокая разница в частоте (+15,89%) подтверждает, что данный гаплотип является значимым фактором риска развития АП. С заболеванием также ассоциировались гаплотипы DRB1*04:02/DQB1*05:01 и DRB1*04:02/DQB1*03:02, которые наблюдались у 9,34% (10/107) и 7,48% (8/107) пациентов соответственно по сравнению со здоровыми донорами (1,09%; 1/92; $p=0,0097$; $p=0,0002$). Потенциальными маркерами риска развития заболевания являлись гаплотипы DRB1*14:05/DQB1*03:02 (4,67%; 5/107 против 0/92; $p=0,002$) и DRB1*14:04/DQB1*03:02 (5,61%; 6/107 против 0/92; $p=0,006$).

К потенциально защитным гаплотипам относились DRB1*11:04/DQB1*03:01 (0% против 3,26% в группе контроля) и DRB1*15:01/DQB1*03:01 (0% против 2,17%). Однако полученные результаты не достигли статистически значимых различий (Таблица 46).

Таблица 46 – Распределение частот гаплотипов HLA-DRB1/DQB1 в высоком разрешении у больных АП и здоровых доноров (тест Фишера)

Гаплотип	АП (n)	Частота у пациентов (%)	Контроль (n)	Частота в контроле (%)	Разница (%)	p-value
DRB1*04:02/ DQB1*05:03	17	15,89	0	0,00	+15,89	$1,8 \times 10^{-5*}$
DRB1*04:02/ DQB1*05:01	10	9,34	1	1,09	+8,26	0,0097
DRB1*04:02/ DQB1*03:02	8	7,48	1	1,09	+6,39	0,0002
DRB1*14:04/ DQB1*03:02	6	5,61	0	0,00	+5,61	0,006
DRB1*14:05/ DQB1*03:02	5	4,67	0	0,00	+4,67	0,002
DRB1*14:05/ DQB1*03:01	5	4,67	1	1,09	+3,58	-
DRB1*13:01/ DQB1*05:02	4	3,74	2	2,17	+1,57	-

Продолжение таблицы 46

DRB1*11:04/ DQB1*05:03	4	3,74	4	4,35	-0,61	-
DRB1*04:03/ DQB1*05:03	3	2,80	0	0,00	+2,80	-
DRB1*15:01/ DQB1*03:02	3	2,80	0	0,00	+2,80	-
DRB1*13:01/ DQB1*03:02	3	2,80	3	3,26	-0,46	-
DRB1*04:03/ DQB1*03:02	2	1,87	0	0,00	+1,87	-
DRB1*04:02/ DQB1*02:01	2	1,87	0	0,00	+1,87	-
DRB1*04:02/ DQB1*05:02	1	0,93	0	0,00	+0,93	-
DRB1*16:01/ DQB1*02:02	1	0,93	2	2,17	-1,24	-
DRB1*15:01/ DQB1*03:01	0	0,00	2	2,17	-2,17	-
DRB1*11:04/ DQB1*03:01	0	0,00	3	3,26	-3,26	-
Остальные гаплотипы	31	28,97	74	80,43	-51,46	-
Примечание: * - значимые межгрупповые различия (p-value <0,05)						

Таким образом, из проводимого статистического анализа видно, что гаплотипы DRB1*04/DQB1*05, DRB1*14/DQB1*03 в низком разрешении, а также гаплотипы DRB1*04:02/DQB1*05:03, DRB1*04:02/DQB1*03:02, DRB1*14:05/DQB1*03:02, DRB1*14:04/DQB1*03:02 в высоком разрешении статистически значимо чаще встречались у больных АП по сравнению со здоровыми донорами ($p < 0,01$).

Кроме того, наблюдалась недостижимая статистической значимости тенденция к более высокой частоте встречаемости гаплотипов DRB1*04/DQB1*03 ($p_{over_adj} = 0,5374$), DRB1*13/DQB1*05 ($p_{over} = 0,4793$) и DRB1*14/DQB1*05 ($p_{over} = 0,4549$) в низком разрешении у больных АП по сравнению с группой контроля.

3.6.2. Распределение гаплотипов у больных буллезным пемфигоидом Лёвера и здоровых доноров

При применении теста Фишера не было обнаружено гаплотипов в низком разрешении, которые у больных БП встречались бы статистически значимо чаще или реже по сравнению с выборкой здоровых доноров. Наблюдалась недостижимая статистической значимости тенденция к более высокой частоте встречаемости у больных БП следующих гаплотипов: DRB1*04/DQB1*05 (4/28 (14,28%) против 2/86 (2,32%); $p_{adj}=0,7434$) и DRB1*14/DQB1*03 (4/28 (14,28%) против 2/86 (2,32%); $p_{adj}=0,7434$) по сравнению со здоровыми донорами (Рисунок 63; Приложение А, Таблица А.6).

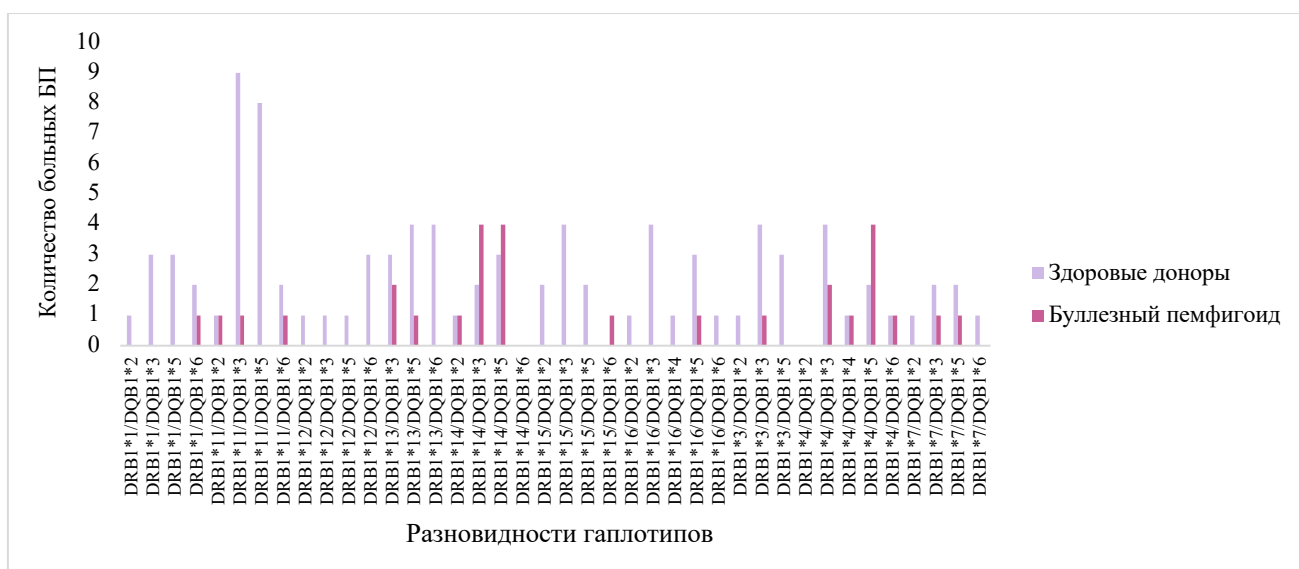


Рисунок 63 – Количественное распределение гаплотипов у здоровых доноров и больных БП (авторский рисунок)

При анализе частоты встречаемости гаплотипов HLA-DRB1/DQB1 в высоком разрешении у больных БП ($n=29$) и здоровых доноров ($n=92$) была обнаружена потенциальная ассоциация гаплотипа DRB1*14:04/DQB1*03:02 (10,34% против 0,00%, $p=0,016$) с риском развития БП. Кроме того, наблюдалась тенденция к более высокой частоте встречаемости гаплотипов DRB1*04:02/DQB1*05:03, DRB1*14:04/DQB1*05:02 и DRB1*14:05/DQB1*03:02 в группе больных БП (6,90% против 0,00%, $p=0,059$) по сравнению с группой

контроля (Таблица 47). Однако следует отметить, что после коррекции на множественное тестирование (Бонферрони) ни один гаплотип не продемонстрировал статистически значимых различий ($p_{adj} \geq 0,025$). Кроме того, другие редкие разновидности гаплотипов (см. материалы и методы) по большей части отсутствовали в группе БП по сравнению с группой контроля (48,28% против 77,17%, $p=0,0025$, $p_{adj}=0,025$), что также отражает генетическую специфику заболевания (Таблица 47; Рисунок 63; Приложение А, Таблица А.6).

Таблица 47 – Распределение частот гаплотипов HLA-DRB1/DQB1 в высоком разрешении у больных БП и здоровых доноров (тест Фишера)

Гаплотип	БП (n)	Частота встречаем ости у пациентов (%)	Контроль (n)	Частота встречаем ости в группе контроля (%)	Разница (%)	p
DRB1*14:04/ DQB1*03:02	3	10,34	0	0,00	+10,34	0,016*
DRB1*04:02/ DQB1*03:02	2	6,90	1	1,09	+5,81	0,165
DRB1*04:02/ DQB1*05:03	2	6,90	0	0,00	+6,90	0,059
DRB1*14:04/ DQB1*05:02	2	6,90	0	0,00	+6,90	0,059
DRB1*14:05/ DQB1*03:02	2	6,90	0	0,00	+6,90	0,059
DRB1*07:01/ DQB1*03:02	2	6,90	2	2,17	+4,73	0,238
DRB1*13:01/ DQB1*03:02	2	6,90	5	5,43	+1,47	0,672
DRB1*11:04/ DQB1*05:03	0	0,00	7	7,61	-7,61	0,199
DRB1*11:04/ DQB1*03:01	0	0,00	6	6,52	-6,52	0,344
Остальные гаплотипы	14	48,28	71	77,17	-28,89	0,0025

Примечание: * - значимые межгрупповые различия ($p\text{-value} < 0,05$)

3.6.3. Распределение гаплотипов у больных синдромом Стивенса-Джонсона, токсическим эпидермальным некролизом и здоровых доноров

При применении теста Фишера не было обнаружено гаплотипов, которые у больных ССД/ТЭН встречались статистически значимо чаще или реже по сравнению со здоровыми донорами (Рисунок 64; Приложение А, Таблица А.7). У больных ССД/ТЭН наблюдалась незначительная тенденция к повышенной частоте встречаемости гаплотипов в низком разрешении – DRB1*14/DQB1*03 (n=2; 14,2%), DRB1*1/DQB1*5 (n=2; 14,2%) и DRB1*15/DQB1*03 (n=2; 14,2%). Однако полученные результаты не продемонстрировали статистически значимых различий ($p>0,05$) (Приложение А, Таблица А.7).



Рисунок 64 – Количественное распределение гаплотипов у здоровых доноров и больных ССД/ТЭН (авторский рисунок)

Анализ HLA-DRB1/DQB1 в высоком разрешении продемонстрировал четыре уникальных гаплотипа, представленных в таблице, которые встречались только у больных ССД/ТЭН, каждый с частотой 7,14%. Однако полученные различия не достигли статистической значимости ($p=0,1538$, скорректированное $p=1,538$, точный тест Фишера) (Таблица 48). Полученная тенденция требует репликации на >100 пациентах, что весьма проблематично ввиду редкости заболевания.

Таблица 48 – Распределение частот гаплотипов HLA-DRB1/DQB1 в высоком разрешении у больных ССД/ТЭН и здоровых доноров (тест Фишера)

Гаплотип	ССД/ ТЭН (n)	Частота встречаем ости у пациентов (%)	Контр оль (n)	Частота встречае мости в группе контроля (%)	Разница (%)	p- value	Корр. p- value
DRB1*14:04/ DQB1*05:03	1	7,14	0	0,00	+7,14	0,1538	1,538
DRB1*15:01/ DQB1*06:04	1	7,14	0	0,00	+7,14	0,1538	1,538
DRB1*14:04/ DQB1*03:02	1	7,14	0	0,00	+7,14	0,1538	1,538
DRB1*14:05/ DQB1*02:01	1	7,14	0	0,00	+7,14	0,1538	1,538
DRB1*01:01/ DQB1*05:02	1	7,14	1	1,30	+5,84	0,3143	3,143
DRB1*12:02/ DQB1*05:03	1	7,14	1	1,30	+5,84	0,3143	3,143
DRB1*15:01/ DQB1*03:02	1	7,14	1	1,30	+5,84	0,3143	3,143
DRB1*04:02/ DQB1*03:02	1	7,14	1	1,30	+5,84	0,3143	3,143
DRB1*11:04/ DQB1*05:03	1	7,14	1	1,30	+5,84	0,3143	3,143
Остальные гаплотипы	5	35,71	72	93,51	-57,80	0,0001	0,001

Таким образом, у больных БП отмечалась слабая тенденция к повышению частоты гаплотипов DRB1*04/DQB1*05 и DRB1*14/DQB1*03 (14,3% против 2,3% в контроле; $p_{adj} > 0,7$) в низком разрешении. Гаплотип DRB1*14:04/DQB1*03:02 в высоком разрешении встречался только у пациентов с БП (10,34% против 0%; $p=0,016$), но после поправки Бонферрони статистическая значимость была утрачена. Три гаплотипа (DRB1*04:02/DQB1*05:03, DRB1*14:04/DQB1*05:02, DRB1*14:05/DQB1*03:02) также наблюдались только у больных БП (по 6,9% против 0%; $p=0,059$). Однако, после коррекции на множественные сравнения ни один отдельный гаплотип не достиг значимости ($p_{adj} \geq 0,025$). Статистически

значимо реже у больных БП встречались неперечисленные редкие гаплотипы (48,3% vs 77,2%; $p_{adj}=0,025$), что отражает более узкий спектр гаплотипов при БП.

При ССД/ТЭН ни в низком, ни в высоком разрешении не выявлено статистически значимых ассоциаций отдельных гаплотипов (все $p_{corr} > 1$), что, вероятно, связано с известной гетерогенностью триггеров заболевания. Однако, четыре гаплотипа (DRB1*14:04/DQB1*05:03, DRB1*15:01/DQB1*06:04, DRB1*14:04/DQB1*03:02 и DRB1*14:05/DQB1*02:01) встречались исключительно у больных ССД/ТЭН (по 7,14% против 0%; $p=0,1538$).

3.6.4. Анализ распределения гаплотипов у больных акантолитической пузырчаткой в зависимости от тяжести заболевания

При оценке распространенности гаплотипов у больных АП различной степени тяжести не было выявлено статистически значимых различий ($p_{under_adj}=0,9735$) (Приложение А, Таблица А.8).

Однако следует отметить, что наблюдалась незначительная тенденция к более высокой частоте встречаемости гаплотипов DRB1*14/DQB1*3 (61%; 11/18) и DRB1*04/DQB1*05 (52%; 13/25) в низком разрешении у больных АП средней степени тяжести ($p_{under_adj}=0,9062$; 0,9062) (Рисунок 65, 66; Приложение А, Таблица А.8).

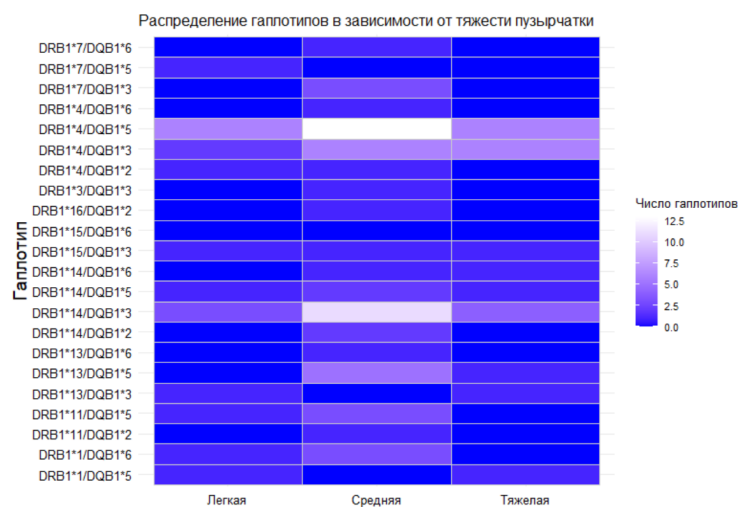


Рисунок 65 – Тепловая карта распределения гаплотипов у больных АП в зависимости от степени тяжести заболевания (индекс PDAI) (авторский рисунок)

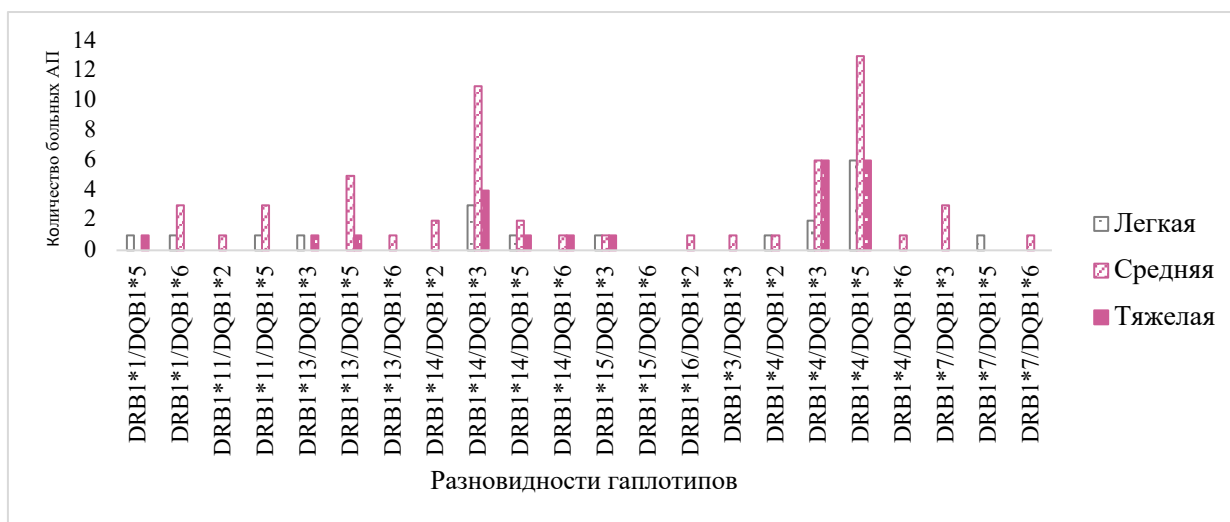


Рисунок 66 – Количественное распределение гаплотипов у больных АП в зависимости от степени тяжести заболевания (авторский рисунок)

3.6.5. Анализ распределения гаплотипов у больных буллезным пемфигоидом Левера в зависимости от тяжести заболевания

При оценке частоты встречаемости гаплотипов у больных БП в зависимости от степени тяжести не было выявлено значимых различий. Тем не менее, наблюдалась незначительная тенденция к более высокой частоте встречаемости гаплотипов DRB1*14/DQB1*03 ($n=3$; $p_{over_adj}=0,4464$) и DRB1*14/DQB1*05 ($3/4$; $p_{over_adj}=0,5612$) в низком разрешении у больных БП средней степени тяжести (Рисунок 67, 68; Приложение А, Таблица А.9).



Рисунок 67 – Тепловая карта распределения гаплотипов у больных БП в зависимости от степени тяжести заболевания (индекс ВРДАИ) (авторский рисунок)

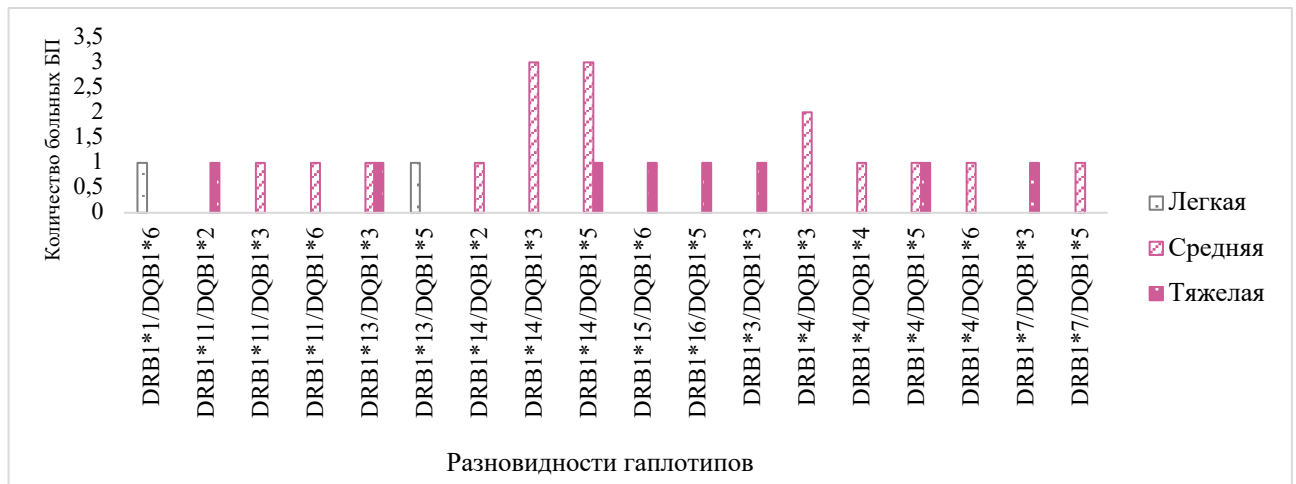


Рисунок 68 – Количественное распределение гаплотипов у больных БП в зависимости от степени тяжести заболевания (авторский рисунок)

3.6.6. Анализ распределения гаплотипов у пациентов с синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом в зависимости от тяжести заболевания

Ни для одной из степеней тяжести, а именно: больных с ССД, ССД-ТЭН и ТЭН не было обнаружено гаплотипов, частота которых статистически значимо отличалась бы от их общего распределения в объединенной группе пациентов с данным заболеванием ($p > 0,05$) (Рисунок 69; Приложение А, Таблица А.10).



Рисунок 69 – Тепловая карта распределения гаплотипов у больных ССД/ТЭН в зависимости от степени тяжести заболевания (индекс BSA, SCORTEN) (авторский рисунок)

3.6.7. Анализ распределения гаплотипов у пациентов с акантолитической пузырчаткой в зависимости от наличия или отсутствия стероидной резистентности

При анализе частоты встречаемости гаплотипов DRB1/DQB1 в низком разрешении у больных АП в зависимости от наличия или отсутствия СР не было выявлено статистически значимых различий (Приложение А, Таблица А.11) [300].

Тем не менее, наблюдалась незначительная тенденция к более высокой частоте встречаемости гаплотипов DRB1*14/DQB1*03 (65%; n=13), DRB1*04/DQB1*03 (71%; n=4) в низком разрешении у стероид-чувствительных больных АП по сравнению со стероид-резистентными (35%; n=7 и 28,6%; n=4) (Рисунок 70, 71) [300]. Однако полученные результаты не достигли статистически значимых различий ($p>0,05$) (Приложение А, Таблица А.11).



Рисунок 70 – Тепловая карта распределения гаплотипов у больных АП в зависимости от наличия или отсутствия стероидной резистентности (авторский рисунок)

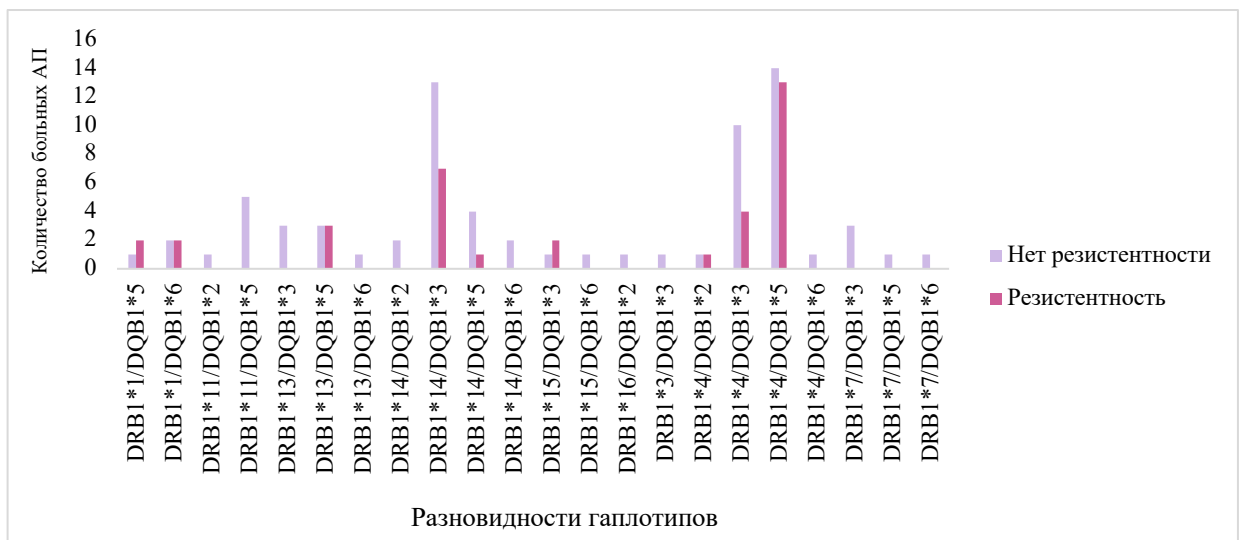


Рисунок 71 – Количественное распределение гаплотипов у больных АП в зависимости от наличия или отсутствия стероидной резистентности (авторский рисунок)

Необходимо подчеркнуть, что анализ распределения гаплотипов DRB1/DQB1 у больных БП и ССД/ТЭН не представлялся возможным, поскольку СР для этих заболеваний не является характерной в отличие от пациентов с АП.

3.7. Оценка экспрессии α - и β -изоформ глюкокортикоидных рецепторов у больных буллезными дерматозами и здоровых доноров

Для оценки экспрессии α - и β -изоформ ГР использовался дисперсионный анализ ANOVA, который показал, что экспрессия α - и β -изоформ ГР была достоверно выше у больных БД по сравнению со здоровыми донорами ($p=7,61 \times 10^{-37}$ и $p=1,09 \times 10^{-33}$ соответственно) (Рисунок 72). Забор крови у пациентов проводился до начала лечения в активную фазу воспалительного процесса.

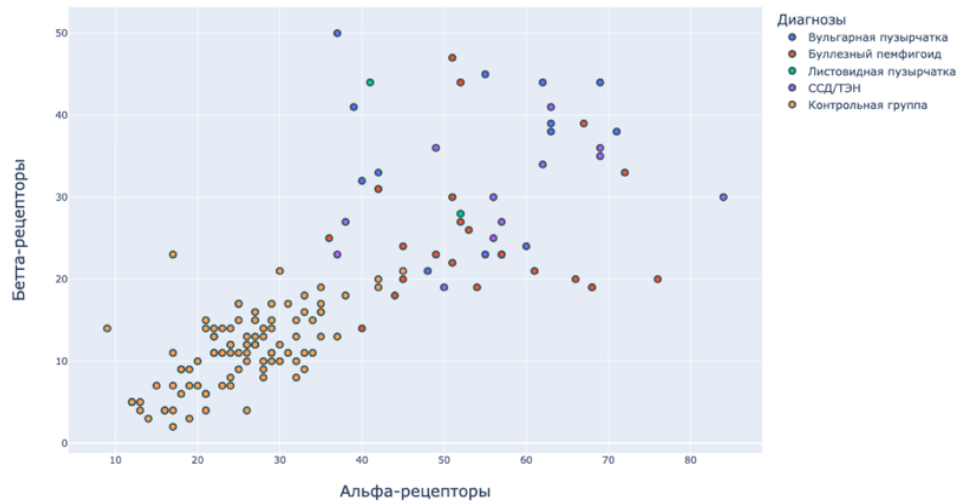


Рисунок 72 – Точечная диаграмма распределения значений α - и β -изоформ ГР для различных диагнозов (авторский рисунок)

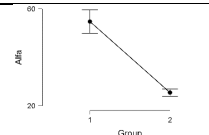
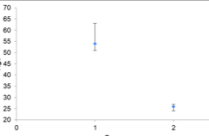
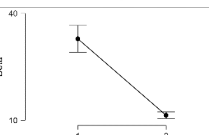
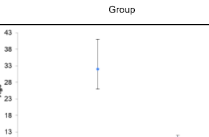
Экспрессия изоформ ГР была представлена в виде стандартного отклонения (СО) 10^6 копий кДНК ГР или 10^3 копий кДНК ГР на микрограмм от общей мРНК. Так, в группе здоровых доноров средние и медианные значения α -изоформ ГР ($24\ 25\ 27/24\ 26\ 27 \times 10^3$ копий кДНК ГР) были статистически значимо ниже, чем у больных БД ($50\ 55\ 59/51\ 54\ 63 \times 10^3$ копий кДНК ГР) ($p < 0,0001$) (Таблица 48).

Идентичная картина наблюдалась и по отношению к β -изоформе ГР. У больных БД ($29\ 33\ 56/26\ 32\ 41 \times 10^3$ копий кДНК ГР) экспрессия β -ГР была статистически значимо выше по сравнению с группой контроля ($10\ 11\ 12/11\ 11\ 13 \times 10^3$ копий кДНК ГР) ($p < 0,0001$) (Таблица 49).

Таблица 49 – Результаты расчета t-критерия Стьюдента/Уэлча для независимых выборок и U-критерия Манна-Уитни (группа здоровых доноров и группа больных буллезными дерматозами)

Показатель	Статистические оценки с 95%-ми ДИ			p-value двустороннее перестановочное	Средние / медианные * значения в группах с 95%-ДИ
	Среднее / медианное* значение в группе		Разность средних / медиан*		
	1, M_1	2, M_2			
			Стандартизированный эффект по Коэну / Бисериальный коэффициент корреляции*		

Продолжение таблицы 49

Рецепторы альфа	50 55 59	24 25 27	25 29 34	2,1 2,9 3,6	0,0001	
	51 54 63	24 26 27	24 29 34	1,0 1,0 1,0	0,0001	
Рецепторы бета	29 33 56	10 11 12	18 21 25	2,0 2,8 3,6	0,0001	
	26 32 41	11 11 13	17 21 26	1,0 1,0 1,0	0,0001	

Определены также пороговые значения, которые не встречались ни у одного добровольца из группы контроля. Показатели могли бы выступать в качестве потенциальных биомаркеров данных видов заболеваний либо указывать на более высокую вероятность их диагностики.

Пороговые значения α - и β -ГР:

1. Выше значений 45 и 23×10^3 копий кДНК ГР для α -ГР и β -ГР соответственно не встречалось ни у одного добровольца из контрольной группы;
2. Значения ниже 36 и 14×10^3 копий кДНК ГР для α -ГР и β -ГР соответственно наблюдались только у здоровых доноров.

Между значениями ниже 45 и выше 36×10^3 копий кДНК ГР для α -ГР, а также ниже 23 и выше 14×10^3 копий кДНК ГР для β -ГР были расположены как больные АП, БП, ССД/ТЭН, а также и здоровые доноры. Полученные данные указывают на перекрытие зон значений у больных и здоровых доноров и, следовательно, на возможную необходимость поиска дополнительных маркеров или применения дополнительных методов верификации диагноза (Рисунок 73, 74).

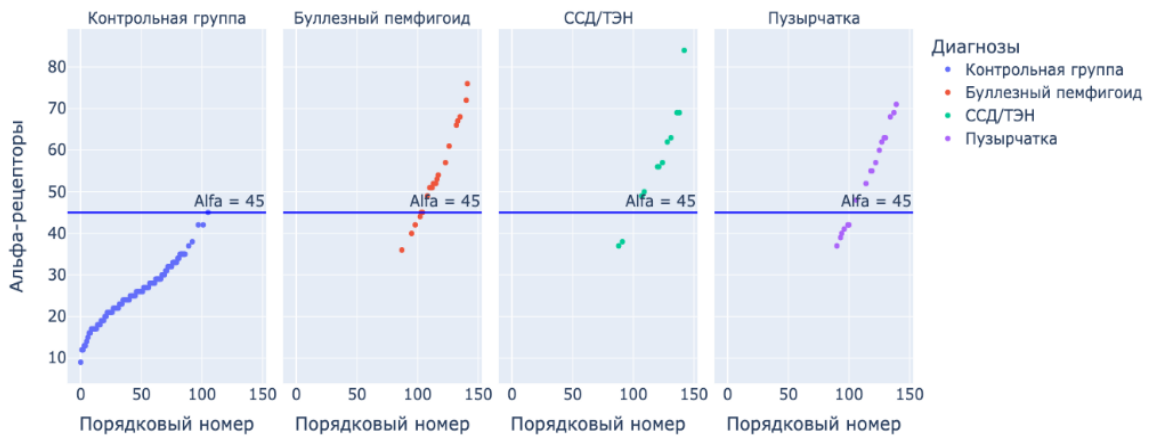


Рисунок 73 – Точечная диаграмма распределения упорядоченных значений α -изоформ ГР в зависимости от диагноза (авторский рисунок)

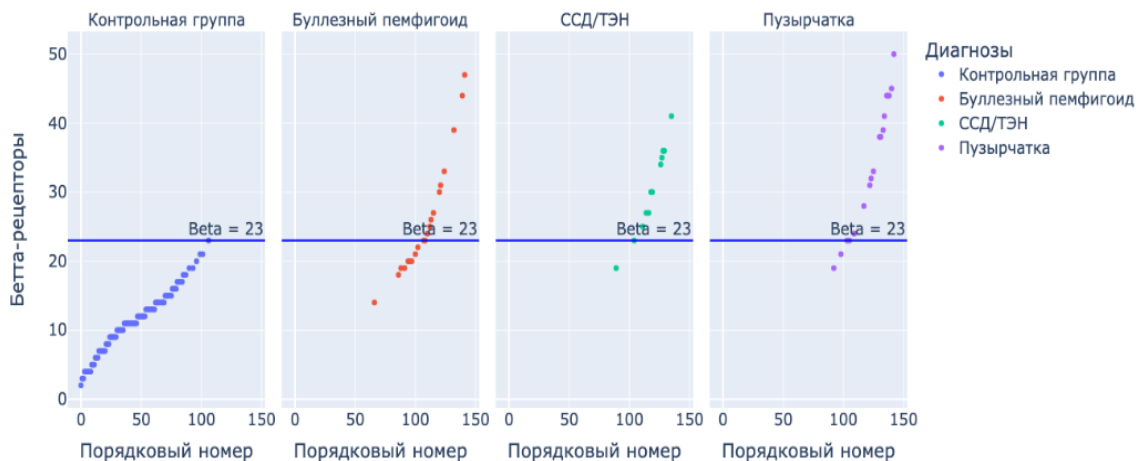


Рисунок 74 – Точечная диаграмма распределения упорядоченных значений β -изоформ ГР в зависимости от диагноза (авторский рисунок)

Таким образом, установленное равномерное увеличение экспрессии α - и β -изоформ ГР у больных АП, БП и ССД/ТЭН может быть интерпретировано как реакция на воспаление, направленная на компенсацию и регуляцию воспалительных процессов при аутоиммунных заболеваниях. Повышение экспрессии обеих изоформ ГР на лимфоцитах, вероятно, связано с адаптационным ответом организма на длительное воздействие воспалительных медиаторов.

3.8. Оценка экспрессии α - и β -изоформ глюкокортикоидных рецепторов у стероид-резистентных и стероид-чувствительных больных акантолитической пузырчаткой

В проводимом исследовании принимали участие 35 стероид-резистентных больных и 72 стероид-чувствительных пациента с АП. Из 35 больных, которые неадекватно отвечали на терапию СГК трое страдали ПНП, двое – ЛП и 30 – ВП. Из 72 пациентов с хорошим ответом на терапию у двух (2,8%) наблюдалась ВерП, у трех (4,16%) – ПНП, у 11 (15,27%) – ЛП и у 56 (77,77%) – ВП (Рисунок 75).

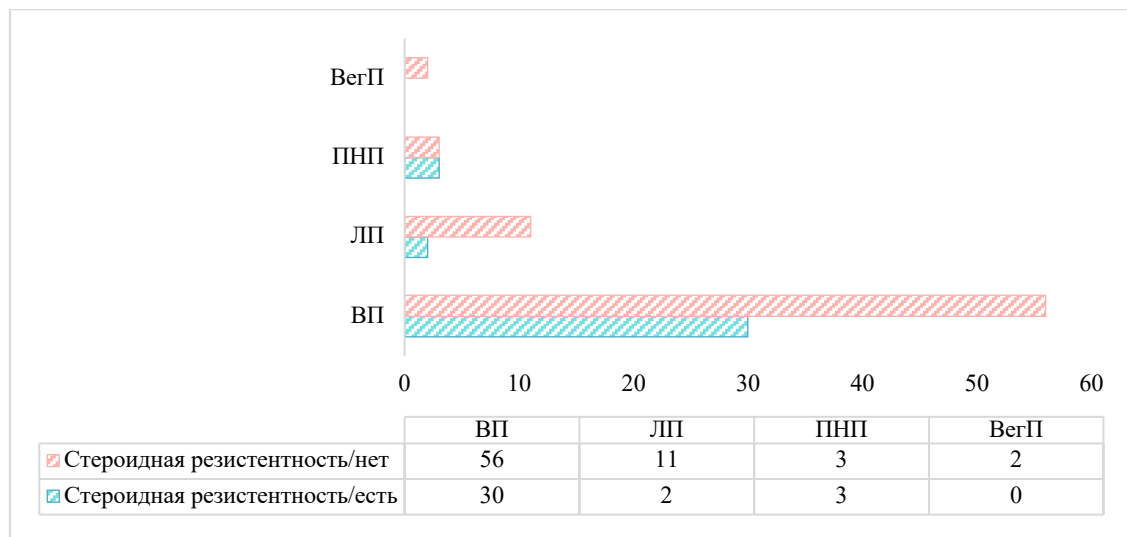


Рисунок 75 – Распределение больных АП в зависимости от наличия или отсутствия СР (авторский рисунок)

При использовании теста Манна–Уитни обе группы по количеству α - (63,0 (47,5; 68,5)/52,5 (45,0; 62,0) $\times 10^3$ копий кДНК ГР, $p=0,366$) и β -изоформ (36,0 (27,5; 38,5)/27,0 (22,8; 35,3) $\times 10^3$ копий кДНК ГР, $p=0,3955$) ГР не различались. Тем не менее, наблюдалась тенденция к более высокой экспрессии α - и β -изоформ ГР именно у стероид-резистентных больных (Рисунок 76).

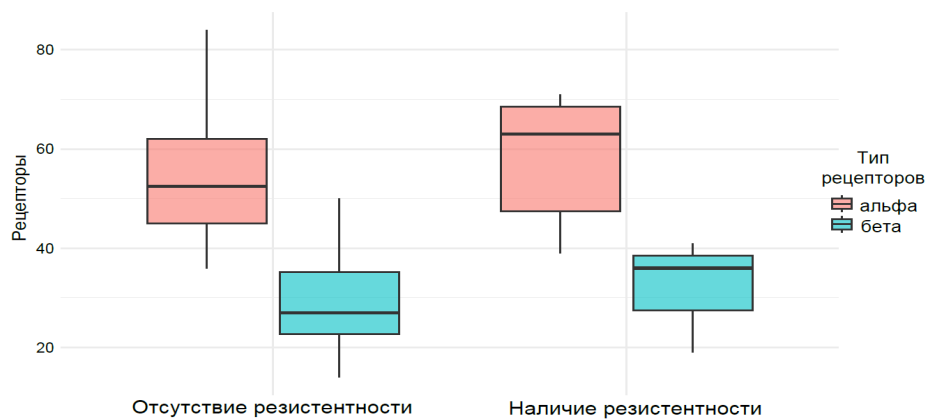


Рисунок 76 – Оценка экспрессии α - и β -изоформ ГР в зависимости от стероидной резистентности у больных АП (авторский рисунок)

Таким образом, уровни мРНК α - и β -изоформ ГР на периферических лимфоцитах у больных АП в целом были выше, чем в контроле. Существуют области значительного перекрыwania значений между больными и здоровыми донорами, однако выявленные пороговые значения (α -ГР: <45 и $>36 \times 10^3$; β -ГР: <23 и $>14 \times 10^3$ копий кДНК) могут служить ориентирами для выделения пациентов, требующих углубленного иммунологического обследования и дополнительной верификации диагноза.

У СР больных АП наблюдалась стойкая тенденция к более высокой экспрессии β -изоформы ГР на лимфоцитах, подтверждая ее роль в развитии неадекватного ответа на терапию СГК у таких пациентов.

3.9. Оценка частоты встречаемости полиморфизма (rs6198; A3669G) гена NR3C1 β -изоформы глюкокортикоидного рецептора у больных акантолитической пузырчаткой и его ассоциации со стероидной резистентностью и тяжестью заболеваний

Полученные данные продиктовали провести оценку полиморфизма A3669G гена NR3C1 β -изоформы ГР у больных АП для определения его взаимосвязи с развитием СР, а также более тяжелого течения заболевания у больных АП. Наличие полиморфизма оценивалось у 72 больных АП и 92 здоровых доноров. По возрасту и полу группы были сопоставимы.

Из графика следует, что в целом полиморфизм A3669G ГР у больных АП выявлялся статистически значимо чаще (25%) по сравнению с группой контроля (3,2%) ($p < 0,001$) (Рисунок 77) [289].

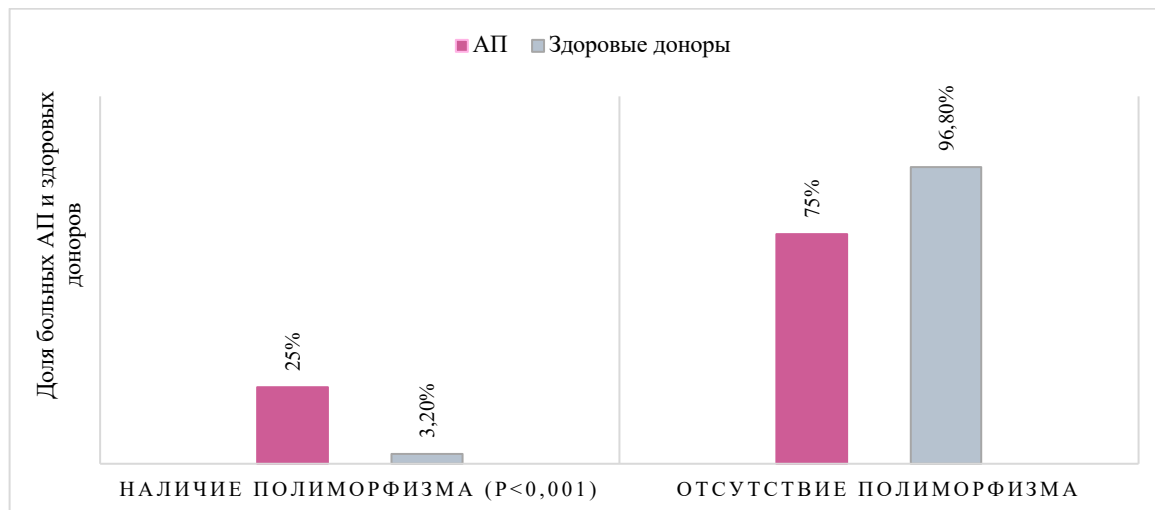


Рисунок 77 – Распределение больных АП и здоровых доноров по наличию полиморфизма (A3669G) гена NR3C1 β -изоформы ГР (авторский рисунок)

3.10. Оценка частоты встречаемости генотипов AA, AG и GG и аллелей A и G у больных акантолитической пузырчаткой и здоровых доноров

При расчете частоты встречаемости генотипов AA, AG, GG у больных АП было установлено, что гетерозиготный генотип AG ($n=18$; 0,25) достоверно чаще встречался у больных АП по сравнению с группой контроля ($n=3$; 0,03; $p < 0,001$). По гомозиготным генотипам AA и GG статистически значимых различий выявлено не было ($p < 0,001$; $p=0,073$) (Рисунок 78, Таблица 50). Следует отметить, что в группе АП и здоровых доноров среди всех генотипов преобладал гомозиготный – AA ($p < 0,001$) (Рисунок 78) [289].

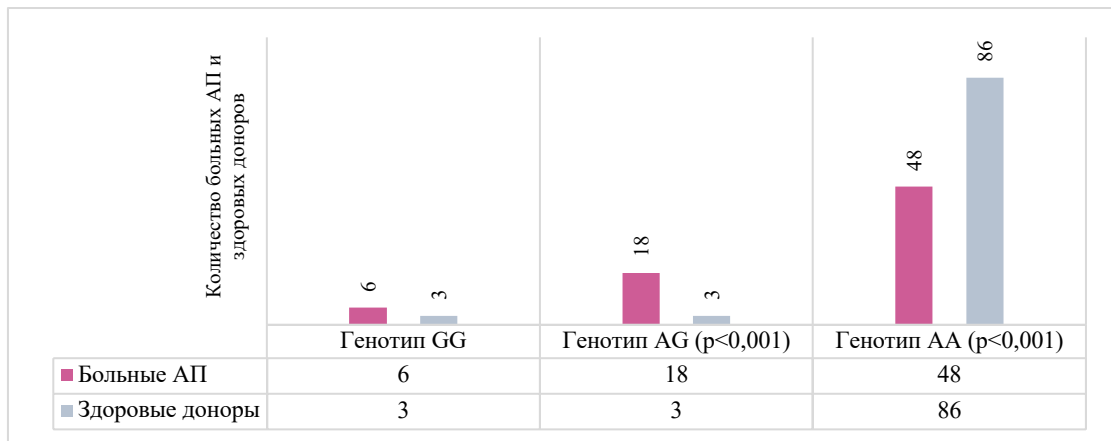


Рисунок 78 – Распределение частоты встречаемости генотипов у больных АП и здоровых доноров (авторский рисунок)

Таблица 50 – Распределение генотипов полиморфизма А3669G гена NR3C1 β-изоформы ГР у больных АП и здоровых доноров

Частота полиморфизма А3669G гена NR3C1 β-изоформы ГР у больных АП										
ref SNP	Название	Изменение на уровне ДНК	Последовательность	Ref аллель	Alt аллель	Частота генотипов (N)			Частота аллелей	
rs6198	A3669G	c.3833A>G	3'UTR Variant	A	G	GG ¹ 0,08 (6)	AG ² 0,25 (18)	AA ³ 0,67 (48)	G (0,2) ⁴	A (0,8)
Частота полиморфизма А3669G гена NR3C1 β-изоформы ГР у здоровых доноров										
ref SNP	Название	Изменение на уровне ДНК	Последовательность	Ref аллель	Alt аллель	Частота генотипов (N)			Частота аллелей	
rs6198	A3669G	c.3833A>G	3'UTR Variant	A	G	GG ¹ 0,03 (3)	AG ² 0,03 (3)	AA ³ 0,94 (86)	G (0,04) ⁴	A (0,96)

Продолжение таблицы 50

Примечание: Шанс обнаружения SNP A3669G у пациентов с пузырьчаткой был в 2,9 раза выше по сравнению с контрольной группой; Точный тест Фишера (Фишера-Фримена-Холтона)/VS-MPR: 1 $p=0,073$, 2 $p<0,001$, 3 $p<0,001$, 4 $p<0,001$; V Крамера=0,2674

Следует также отметить, что аллель G достоверно чаще встречался у больных АП (0,2) по сравнению с группой контроля (0,04; $p<0,001$) (Рисунок 79).

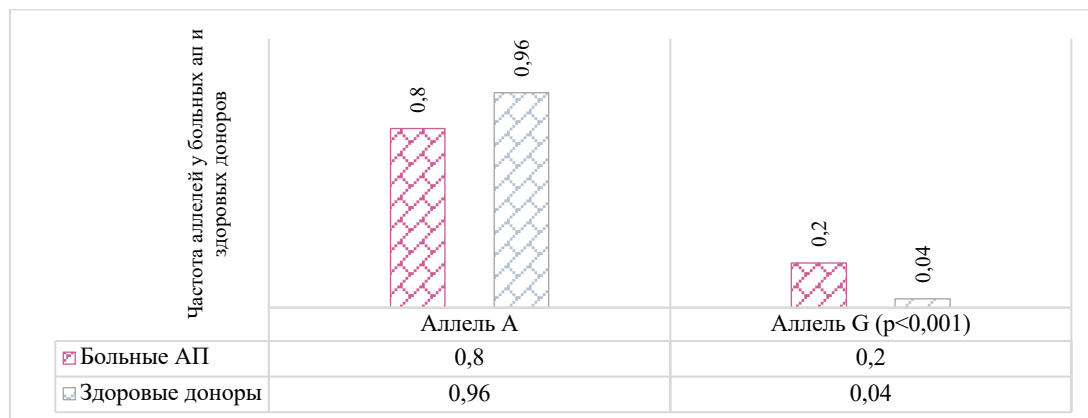


Рисунок 79 – Распределение частоты встречаемости аллелей А и G у больных АП и здоровых доноров (авторский рисунок)

Аллель А статистически значимо чаще встречался у больных с хорошим ответом на СГК и средней степенью тяжести заболевания (ДИ: 67,5% – 84,8%; $p<0,001$) по сравнению тяжелой (ДИ: 13% – 39,2%) соответственно (Рисунок 80, Таблица 51) [289].



Рисунок 80 – Распределение больных по аллелям в зависимости от степени тяжести АП и наличия/отсутствия стероидной резистентности (авторский рисунок)

Таблица 51 – Стратификация стероид-резистентных и стероид-чувствительных больных по генотипам в зависимости от тяжести заболевания

Тяжесть заболевания	Генотипы						Аллели			
	GG		AA		AG		A		G	
	Стероидная резистентность									
	Да	Нет	Да	Нет	Да	Нет	Да	Нет	Да	Нет
Легкая	0	0	0	6	0	2	2	12	0	2
Средняя	0	4	0	33	5	2	5	68	5	10
Тяжелая	0	2	6	3	6	3	18	9	6	5
p-value	НП		p =0,67		p =0,67		p<0,001*		p=0,412	
Примечание: НП - не применимо (точный тест Фишера); * - значимые межгрупповые различия (p-value <0,05)										

AG генотип встречался в 4,89 раз чаще у стероид-резистентных больных по сравнению со стероид-чувствительными пациентами (p<0,0001; ОШ: 3,1–36,3), тогда как адекватный ответ на СГК был в 4,96 раз выше у больных с гомозиготным AA генотипом (p=0,008; ОШ: 1,6–15,4) (Таблица 52) [289].

Таблица 52 – Распределение больных по генотипам в зависимости от стероидной резистентности

СР	Генотипы A3669G SNP					
	AG _{да}	AG _{нет}	GG _{да}	GG _{нет}	AA _{да}	AA _{нет}
Да	11	7	0	18	6	11
Нет	7	47	6	48	42	13
p-value	0,0001*		0,33		0,008*	
Отношения шансов	3,1-36,3		НП		1,6-15,4	
Примечание: НП – не применимо из-за малого размера выборки; да/нет - наличие или отсутствие определенного генотипа; * - значимые межгрупповые различия (p-value <0,05)						

Таким образом, полиморфизм (rs6198; A3669G) гена β-изоформы ГР статистически значимо чаще встречался у больных АП по сравнению со здоровыми донорами, что говорит о том, что его можно рассматривать в качестве генетического биомаркера данного заболевания.

Гетерозиготный генотип AG достоверно чаще наблюдался у больных АП по сравнению со здоровыми донорами. Кроме того, данный генотип статистически значимо чаще выявлялся именно у больных со стероид-резистентной формой АП, подтверждая его потенциальную роль в развитии неадекватного ответа на терапию СГК у таких больных.

Гомозиготный AA генотип, наоборот, значимо чаще встречался у стероид-чувствительных пациентов, что подтверждает протективную роль аллеля А по отношению к развитию СР.

У больных АП тяжелой степени тяжести с наличием (rs6198; A3669G) полиморфизма β -изоформы ГР также наблюдалась СР.

3.11. Оценка частоты встречаемости полиморфизма (rs6198; A3669G) гена NR3C1 β -изоформы глюкокортикоидного рецептора у больных буллезным пемфигоидом Лёвера

При оценке частоты встречаемости полиморфизма (rs6198; A3669G) гена NR3C1 β -изоформы ГР у больных БП по сравнению со здоровыми донорами достоверных различий выявлено не было ($p > 0,005$). Так, полиморфизм наблюдался только у пяти (17,2%) больных БП из 29 и у трех (3,2%) добровольцев из группы контроля (Рисунок 81).

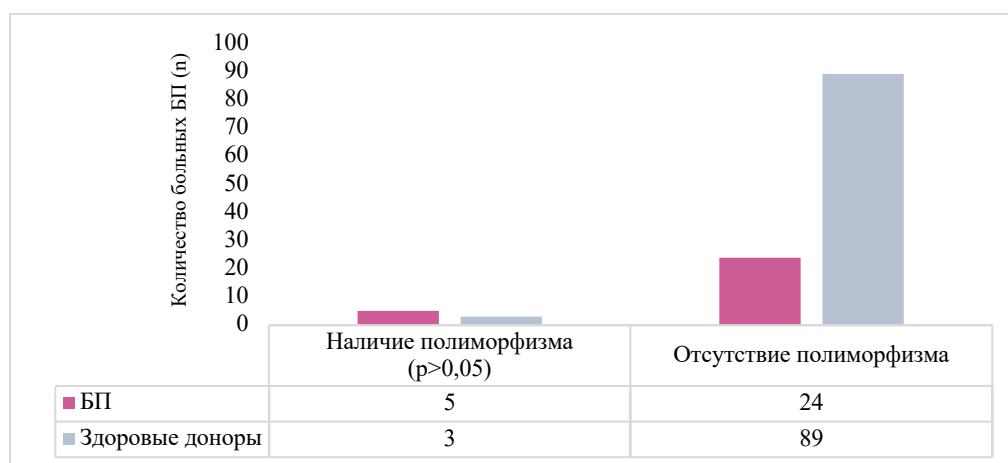


Рисунок 81 – Распределение больных БП и здоровых доноров по наличию полиморфизма (rs6198; A3669G) гена NR3C1 β -изоформы ГР (авторский рисунок)

При этом, следует отметить, что полиморфизм (rs6198; A3669G) встречался у четырех (13,7%) больных БП со средней степенью тяжести и у одного с тяжелой (3,4%) из 29 соответственно (Таблица 53).

Таблица 53 – Количество и доля пациентов для каждой степени тяжести БП с наличием полиморфизма A3669G гена NR3C1 β -изоформы ГР

Степень тяжести	Число пациентов с полиморфизмом A3669G	
Тяжелая (≥ 25)	1/10	10%
Средняя (9-24)	4/17	23%
Лёгкая (0-9)	0/2	0%

Таким образом, учитывая отсутствие статистически значимых различий по частоте встречаемости полиморфизма A3669G (rs6198) гена NR3C1 β -изоформы ГР у больных БП и здоровых доноров, можно сделать вывод, что его нельзя рассматривать с точки зрения потенциального генетического биомаркера данного заболевания.

Полиморфизм A3669G (rs6198) β -изоформы ГР чаще встречался у больных БП со средней степенью тяжести. Однако полученные результаты не достигли статистически значимых различий.

3.12. Оценка частоты встречаемости полиморфизма (rs6198 A3669G) гена NR3C1 β -изоформы глюкокортикоидного рецептора у больных синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом

При оценке частоты встречаемости полиморфизма гена NR3C1 (rs6198; A3669G) β -изоформы ГР статистически значимых различий выявлено не было ($p > 0,05$). A3669G полиморфизм наблюдался только у двух (14,2%) больных с перекрестным ССД/ТЭН из всей группы пациентов ($n=14$) (Рисунок 82).



Рисунок 82 – Распределение больных ССД/ТЭН и здоровых доноров в зависимости от наличия/отсутствия полиморфизма (rs6198; A3669G) гена NR3C1 β -изоформы ГР (авторский рисунок)

Таким образом, учитывая отсутствие достоверных различий по частоте встречаемости полиморфизма (rs6198; A3669G) гена NR3C1 β -изоформы ГР в выборке больных ССД, ССД-ТЭН и ТЭН и здоровых доноров можно сделать вывод, что его нельзя рассматривать в качестве потенциального генетического биомаркера данных заболеваний.

3.13. Машинные методы обучения как инструмент создания прогностических моделей для классификации больных акантолитической пузырчаткой по наличию стероидной резистентности и предсказания вероятности развития буллезных дерматозов

3.13.1. Разработка прогностической модели для оценки риска развития буллезного дерматоза

Для создания классификатора, позволяющего различать больных БД и здоровых, были использованы следующие алгоритмы МО:

1. «Решающее дерево» (Decision Tree Classifier);
2. «Случайный лес» (Random Forest Classifier);
3. Логистическая регрессия (Logistic Regression);

4. Метод «опорных векторов» (SVC);
5. Алгоритм «градиентного бустинга» (CatBoost).

Использовались следующие признаки: частота встречаемости DRB1 и DQB1 HLA аллелей II класса, полиморфизм (rs6198; A3669G) гена NR3C1 β -изоформы ГР, экспрессия α - и β -изоформ ГР на лимфоцитах, пол, возраст, диагноз, наличие или отсутствие СР, а также степень тяжести БД.

Для подбора наилучшей комбинации гиперпараметров классификаторов применялся алгоритм решётчатого поиска (GridSearchCV), а также метод кросс-валидации, позволяющий получить более точную метрическую оценку работы модели.

Для оценки качества работы классификаторов применялись метрики точности (Precision), полноты (Recall), F₁-меры и площади под ROC-кривой (ROC-AUC).

По результатам построения прогностической модели классификации были получены следующие результаты для каждого из алгоритмов (Таблица 54):

Таблица 54 – Значения метрик для классификаторов

Алгоритм	Recall	Precision	ROC-AUC
Random Forest Classifier	1,000	0,965	0,999
Decision Tree Classifier	0,980	0,987	0,990
Logistic Regression	0,961	0,946	0,992
SVC	0,902	0,946	0,997
CatBoost	0,961	0,946	0,998

По результатам создания и настройки классификаторов для оценки прогноза с помощью соответствующих метрик наилучшие результаты показал алгоритм МО «случайный лес» (Random Forest Classifier), достигший значения «ROC-AUC» = 0,999, «Recall» = 1,000 и «Precision» = 0,965.

Значения метрик «Recall» и «Precision» говорят о том, что построенная модель не только почти не ошибается при непосредственном прогнозе того, что у больного наблюдается БД, но и корректно определяет всех пациентов в заданной группе.

Высокое значение «Recall» = 1,000 свидетельствует о том, что модель правильно идентифицировала всех больных БД, не пропустив ни одного истинного положительного случая (отсутствие ложных отрицательных результатов). Одновременно высокий уровень «Precision» = 0,965 указывал на минимальное количество ложноположительных классификаций (менее 4% здоровых лиц были ошибочно отнесены к группе пациентов). Полученная модель позволяет с высокой точностью выявлять больных БД, а также надежно подтверждать отсутствие заболевания у здоровых лиц, что делает ее перспективным инструментом для дополнительной диагностики и стратификации пациентов в клинической практике.

Высокий показатель метрики «ROC-AUC» демонстрировал отличную способность классификатора различать классы, а именно: болен человек или здоров. В проводимом исследовании эта метрика равна 0,999, что говорит об очень высокой вероятности корректного определения алгоритмом наличия БД.

На рисунке представлены признаки, которые алгоритм выделял как наиболее важные для осуществления прогноза вероятности наличия БД (Рисунок 83).

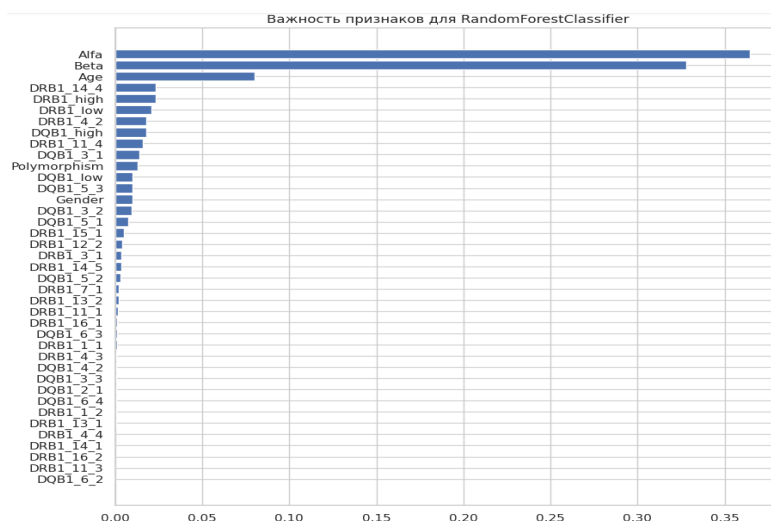


Рисунок 83 – График важности признаков для алгоритма «случайный лес» (авторский рисунок)

Далее в процессе разработки модели было установлено, что качество прогноза не снижалось при сокращении признакового пространства до двух переменных: экспрессия α - и β -изоформ ГР. В случае логистической регрессии оказалось достаточно одного признака: экспрессия α -изоформы ГР.

Для подбора наилучшей комбинации гиперпараметров классификаторов применялся алгоритм «решётчатого поиска» (GridSearchCV), а также метод «кросс-валидации», позволяющий получить более точную метрическую оценку работы модели.

Для оценки качества работы классификаторов применялись следующие метрики: «Precision», «Recall», «ROC-AUC».

По результатам построения прогностической модели классификации были получены следующие результаты для каждого из алгоритмов (Таблица 55).

Таблица 55 – Значения метрик для классификаторов:

Алгоритм	Используемые признаки	Recall	Precision	ROC-AUC
Logistic Regression	Alfa	1,000	0,938	0,992
SVC	Alfa + Beta	0,933	0,933	0,991
CatBoost		0,933	0,933	0,988
Random Forest Classifier		0,933	0,933	0,988
Decision Tree Classifier		0,933	0,933	0,949

Наилучшие значения метрик показал алгоритм МО – логистическая регрессия, при этом используя всего один признак для прогноза: экспрессия α -изоформы ГР (Alfa) [269].

Значения метрик «Recall» (1,000) и «Precision» (0,938) свидетельствовали о том, что построенная модель не только почти не ошибалась при непосредственном прогнозе того, что у больного наблюдается БД, но и точно определяла всех пациентов в заданной группе [269].

Показатель метрики «ROC-AUC» = 0,992 указывал на очень высокую дискриминационную способность модели (способность классификатора различать классы), то есть вероятность правильного ранжирования пары «больной – здоровый» достигала 99,2% [269].

Высокая экспрессия α -изоформы ГР ассоциирована с повышенной вероятностью развития БД, что подтверждено моделью логистической регрессии по представленной формуле:

$$P(Y=1)=1/(1+e^{(-(-4,0479+0,1102 \cdot \text{Alfa}))}),$$

Где: $P(Y=1)$ – вероятность наличия БД, а «Alfa» – уровень экспрессии α -изоформы ГР.

Данная модель демонстрирует, что увеличение экспрессии α -изоформы ГР существенно повышало риск развития заболевания, предоставляя ценный прогностический инструмент для клинической практики (Рисунок 84, Таблица 56) [269].

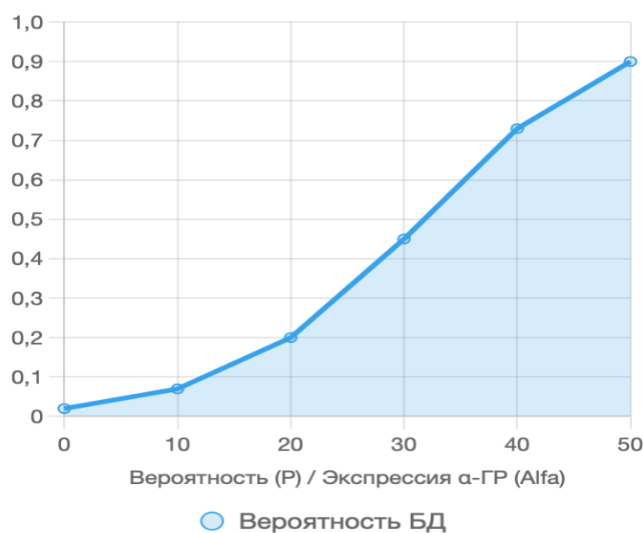


Рисунок 84 – Влияние уровня экспрессии α -изоформы ГР на вероятность развития буллезного дерматоза (авторский рисунок)

Таблица 56 – Отношение шансов для экспрессии α -изоформ ГР

Параметр	Значение	p-value	95% ДИ
ОШ (на 1 ед.)	1,116	<0,001	1,084 – 1,150

ОШ продемонстрировало, что рост экспрессии α -изоформы ГР на одну единицу повышало вероятность развития БД в 1,116 раза.

Таким образом, установлен диагностически значимый порог экспрессии α -изоформы ГР на уровне $36,7 \times 10^3$ копий кДНК, выше которого более половины пациентов относятся к группе больных БД (Таблица 57, Рисунок 85) [269].

Таблица 57 – Категории риска развития БД в зависимости от уровня экспрессии α -изоформ ГР

Уровень экспрессии α -изоформы ГР	Вероятность заболеваемости БД	Категория риска
< 30 ед	14 – 32%	Низкий
30 – 36,7 ед	32 – 50%	Умеренный
36,7 – 40 ед	50 – 59%	Высокий
> 40 ед	59 – 81%	Очень высокий

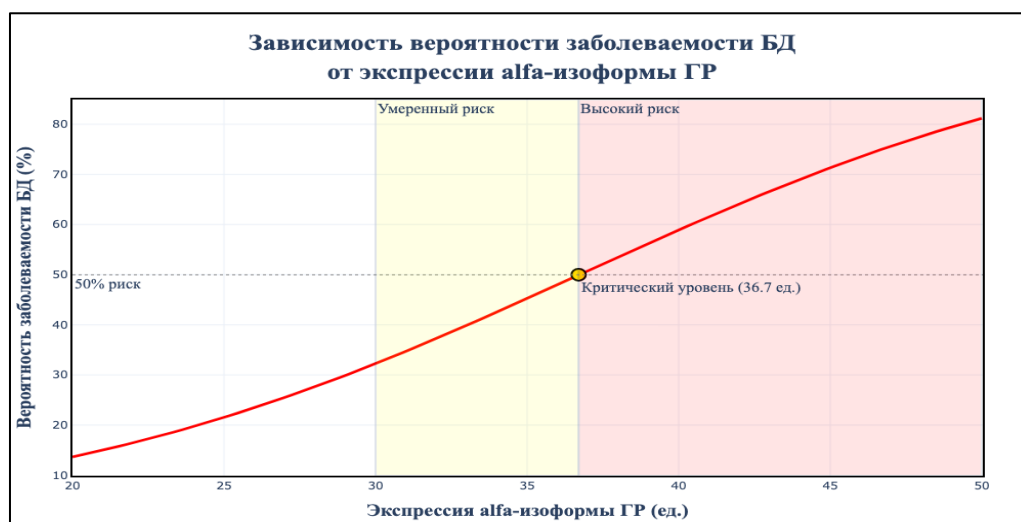


Рисунок 85 – График зависимости вероятности развития буллезного дерматоза в зависимости от экспрессии α -изоформы ГР (авторский рисунок)

На основании анализа признакового пространства и применения методов МО получена логистическая модель, количественно описывающая зависимость вероятности наличия БД от уровня экспрессии α -изоформы ГР. Данная модель позволяет рассчитывать индивидуальную посттестовую вероятность возникновения заболевания и ОШ для данного признака (Рисунок 85) [269].

Полученная формула позволяет не только установить направленность влияния признака на вероятность возникновения БД с помощью ОШ, но и с очень высокой точностью стратифицировать пациентов по группам риска развития заболеваний (Рисунок 85) [269].

При построении классификатора «случайный лес» (Random Forest Classifier) были автоматически отобраны наиболее информативные признаки (в порядке убывания значимости):

1. α -ГР;

2. β -ГР;
3. возраст;
4. DRB1*14:04;
5. DRB1_high resolution level.

Анализ значимости признаков показал, что наибольший вклад в точность классификации вносят уровни экспрессии α - и β -изоформ ГР (Рисунок 85). Таким образом, алгоритм выявил выраженную ассоциацию между количественной экспрессией обеих изоформ ГР на периферических лимфоцитах и принадлежностью пациента к группе БД [269].

3.13.2. Разработка прогностической модели для прогнозирования наличия стероидной резистентности у больных тяжелыми буллезными дерматозами

Для создания классификатора, позволяющего определять наличие или отсутствие СР, были использованы следующие алгоритмы МО:

1. «Решающее дерево» (Decision Tree Classifier);
2. «Случайный лес» (Random Forest Classifier);
3. Логистическая регрессия (Logistic Regression);
4. Метод «опорных векторов» (SVC);
5. Алгоритм «градиентного бустинга» (CatBoost).

Для подбора наилучшей комбинации гиперпараметров (настройки алгоритма) классификатора применялся алгоритм «решётчатого поиска» (GridSearchCV), а также метод кросс-валидации, позволяющий получить более точную метрическую оценку работы модели. Для оценки качества работы классификатора использовались следующие метрики: «Precision», «Recall» и «ROC-AUC». По результатам построения прогностической модели классификации были получены следующие значения метрик, представленные в таблице (Таблица 58).

Таблица 58 – Значения метрик для классификаторов

Алгоритм	Recall	Precision	ROC-AUC
SVC	0,793	0,655	0,894
Logistic Regression	0,763	0,564	0,817
CatBoost	0,598	0,552	0,747
Decision Tree Classifier	0,474	0,667	0,723
Random Forest Classifier	0,314	0,702	0,741

Наиболее чувствительным оказался метод «опорных векторов» (Support Vector Machines Classifier), который выбрал наиболее значимые признаки, прогнозирующие СР, а именно: DRB1 аллели в высоком разрешении в целом, а также DQB1*05:02, DQB1*02:01, DQB1*05:01 и DQB1*03:01 аллели. Особое значение среди DRB1-аллелей модель присвоила варианту DRB1*13:02.

Кроме того, данный метод также установил аллели, которые повышали вероятность отсутствия СР у больных БД. К ним относились аллельные варианты локуса DQB1 в низком разрешении в целом, а также DQB1*06:02, DQB1*01:01, DQB1*04:03 и DQB1*06:03 аллели (Рисунок 86).

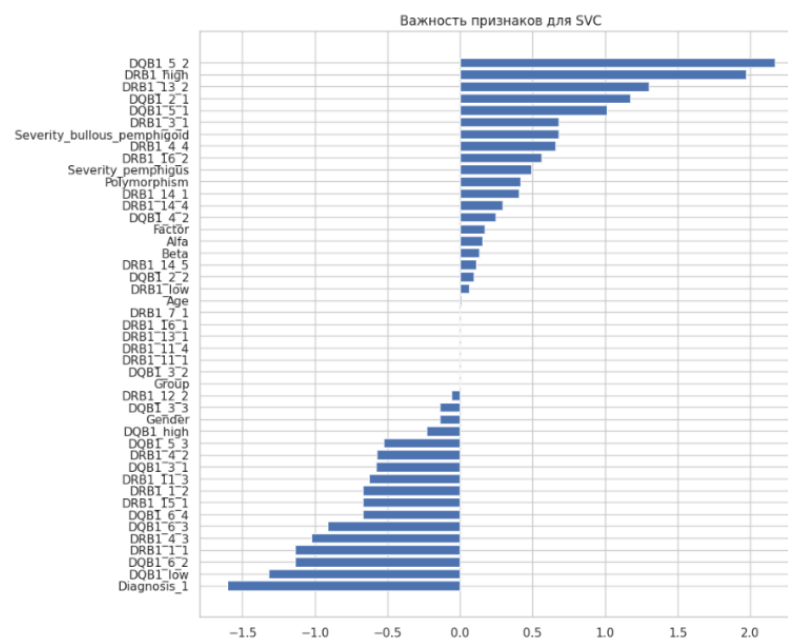


Рисунок 86 – График важности признаков для алгоритма метода опорных векторов в случае прогнозирования наличия у пациентов стероидной резистентности на уровне геномных механизмов (авторский рисунок)

Таким образом, алгоритм «случайный лес» и метод «опорных векторов» позволили классифицировать больных БД на стероид-резистентных и стероид-чувствительных на уровне HLA аллелей II класса.

3.14. Оценка цитокинового и хемокинового профилей в сыворотке и пузырной жидкости у больных буллезными дерматозами различной степени тяжести

3.14.1. Оценка уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизина в сыворотке больных акантолитической пузырчаткой и здоровых доноров

Из полученных данных можно сделать вывод, что в сыворотке у больных АП уровень IL10 (Me 50,0 пг/мл) и TNF- α (Me 25,0 пг/мл) был статистически значимо выше по сравнению с группой контроля (Me 2,9 пг/мл; Me 7,0 пг/мл; $p < 0,001$). В то время как, концентрация IL4 оказалась значимо выше в группе здоровых доноров по сравнению с группой АП (Таблица 59, Рисунок 87) [283].

Таблица 59 – Количественные показатели Me [Q1; Q3] и Mean \pm SD цитокинового профиля в сыворотке у больных АП и здоровых доноров

Показатель	АП (n=43)	Контрольная группа (n=43)	Разность (95% ДИ)	p-value	Размер эффекта (95% ДИ)
IL4 (пг/мл)	8,0 [6,0; 10,0]	15,0 [11,5; 20,0]	-7,0 [-10,0; -5,0]	<0,001	-
IL10 (пг/мл)	50,0 [43,0; 65,0]	2,9 [1,95; 3,7]	47,3 [43,2; 53,2]	<0,001	-
IL15 (пг/мл)	11,0 [8,0; 15,0]	13,0 [10,0; 19,5]	-2,0 [-5,0; 0,0]	0,09	-
TNF- α (пг/мл)	25,0 [19,0; 31,5]	7,0 [4,4; 9,15]	17,9 [14,6; 22,0]	<0,001	-

Сокращения: IL (interleukin) – интерлейкин; TNF (tumor necrosis factor) – фактор некроза опухоли; CCL (C-C motif chemokine ligand) - хемокиновый лиганд с мотивом C-C; CXCL (C-X-C motif chemokine ligand) - хемокиновый лиганд с мотивом C-X-C; ДИ – доверительный интервал

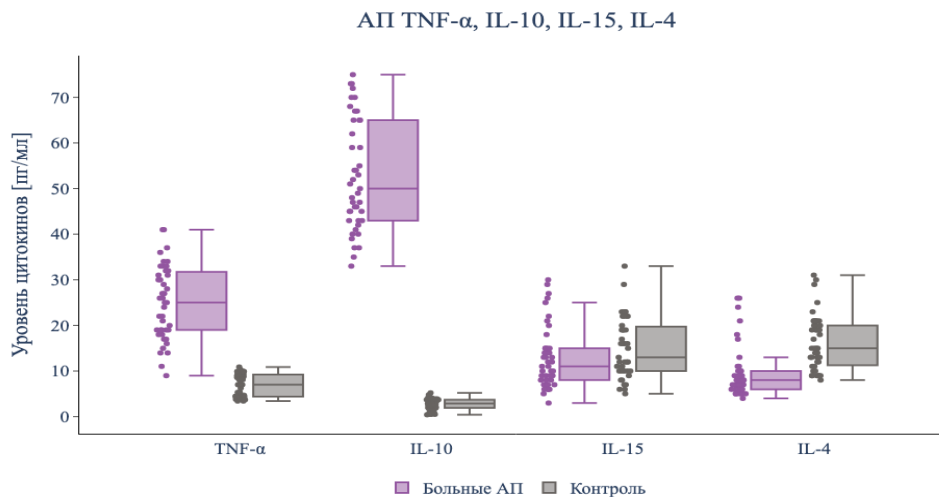


Рисунок 87 – Сравнительная характеристика уровня цитокинов IL4, IL10, IL15 и TNF- α в пг/мл в сыворотке больных АП и здоровых доноров (авторский рисунок)

При оценке хемокинового профиля, а именно: хемокинов CCL11 и CXCL8 у больных АП и здоровых доноров выявлялись статистически значимые различия. Значения показателя CCL11 в сыворотке (Me 76,0 пг/мл) были выше у больных АП по сравнению с контрольной группой ($50,3 \pm 13,4$ пг/мл) ($p < 0,001$). Уровень CXCL8 оказался достоверно повышен у пациентов с АП (медиана 53 пг/мл) по сравнению со здоровыми донорами (Me 28 пг/мл) ($p < 0,001$) (Таблица 60, Рисунок 88) [283].

Таблица 60 – Количественные показатели Me [Q1; Q3] и Mean \pm SD хемокинового профиля в сыворотке у больных АП и здоровых доноров

Показатель	АП (n = 43)	Контрольная группа (n = 43)	Разность (95% ДИ)	p-value	Размер эффекта (95% ДИ)
CCL-11 (пг/мл)	76,0 [65,5; 83,0]	$50,3 \pm 13,4$	25,7 [19,78; 31,62]	<0,001	1,86 [1,35; 2,38]
CXCL-8 (пг/мл)	53,0 [48,0; 59,5]	28,0 [23,0; 38,0]	24 [19,0; 28,0]	<0,001	-

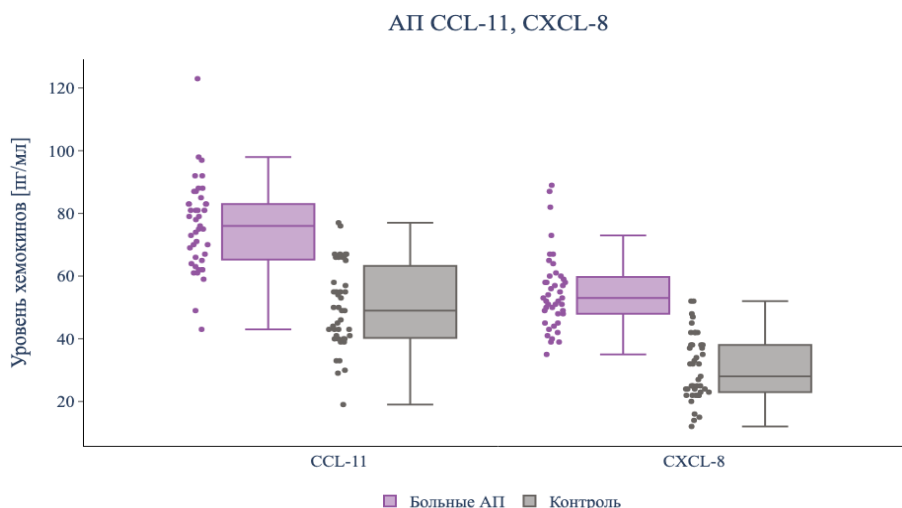


Рисунок 88 - Сравнительная характеристика уровня хемокинов CCL11 и CXCL8 в пг/мл в сыворотке больных АП и здоровых доноров (авторский рисунок)

Из полученных результатов видно, что значения гранулизина в сыворотке, (Me 5575 нг/мл) были статистически значимо выше у пациентов с диагнозом АП по сравнению с контрольной группой (Me 1088 нг/мл) ($p < 0,001$) (Таблица 61, Рисунок 89) [283].

Таблица 61 – Количественные показатели Me [Q1; Q3] и Mean \pm SD уровня гранулизина в сыворотке у больных АП и здоровых доноров

Показатель	АП (n=43)	Контрольная группа (n=43)	Разность (95% ДИ)	p-value	Размер эффекта (95% ДИ)
Гранулизин (нг/мл)	5575 [5156; 6355]	1088 [933; 1343]	4521 [4240; 4836]	<0,001	-

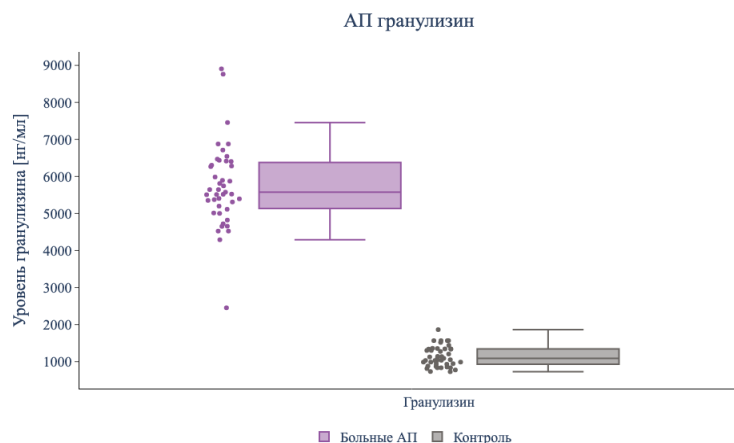


Рисунок 89 – Сравнительная характеристика уровня гранулизина в нг/мл в сыворотке у больных АП и здоровых доноров (авторский рисунок)

3.14.2. Оценка уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизина в сыворотке больных буллезным пемфигоидом Лёвера и здоровых доноров

При анализе уровня цитокинов TNF- α , IL15, IL4 и IL10 в сыворотке больных и здоровых доноров, используя непараметрический статистический U-критерий Манна-Уитни было установлено, что уровень TNF- α был достоверно выше у пациентов с БП (Me 28,0 пг/мл) по сравнению с группой контроля (Me 7,0 пг/мл) ($p < 0,001$). Однако в группе здоровых доноров, наоборот, уровень IL15 был статистически значимо выше (Me 13,0) по сравнению с больными БП, у которых данный показатель составлял 7,0 пг/мл ($p < 0,01$) (Таблица 62, Рисунок 90) [283].

Таблица 62 – Количественные показатели Me [Q1; Q3] и Mean \pm SD цитокинового профиля в сыворотке у больных БП и здоровых доноров

Показатель	БП (n=11)	Контрольная группа (n=43)	Разность (95% ДИ)	p-value	Размер эффекта (95% ДИ)
IL4 (пг/мл)	8,0 [5,5; 10,5]	15,0 [11,5; 20,0]	-7,0 [11,0; -4,0]	<0,001	-

Продолжение таблицы 62

IL10 (пг/мл)	60,0 [48,5; 72,5]	2,9 [1,95; 3,7]	57,9 [47,5; 68,3]	<0,001	*
IL15 (пг/мл)	7,0 [5,0; 12,0]	13,0 [10,0; 19,5]	-6,0 [-9,0; -3,0]	<0,01	-
TNF- α (пг/мл)	28,0 [18,0; 37,0]	7,0 [4,4; 9,15]	20,2 [10,6; 29,6]	<0,001	-

Примечания: * - при большом различии показателей групп и/или низкого SD контроля размер эффекта не рассчитывается, так как получаемые значения кратно превосходят интерпретируемые пороги

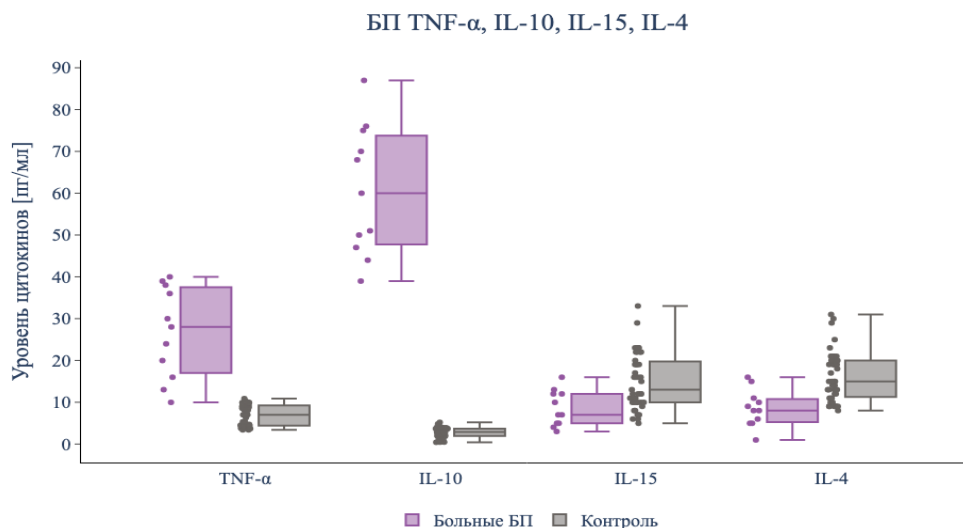


Рисунок 90 – Сравнительная характеристика уровня IL10, IL15, IL4 и TNF- α в пг/мл в сыворотке у больных БП и здоровых доноров (авторский рисунок)

Следует отметить, что концентрация IL4 в сыворотке была также достоверно выше у здоровых доноров (Me 15,0 пг/мл [11,5; 20,0]), чем у пациентов с БП (Me 8,0 пг/мл [5,5; 10,5]). Напротив, уровень IL10 у больных БП был достоверно выше (Me 60 пг/мл), чем в группе здорового контроля (Me 2,9 пг/мл) ($p < 0,001$) (Рисунок 90, Таблица 62) [283].

Уровень CCL11 в сыворотке был статистически значимо выше у пациентов с диагнозом БП по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$). Подобные изменения наблюдались и при оценке уровня CXCL8. Так его медианный уровень был значимо выше у больных БП и составил 58,0 пг/мл по сравнению со здоровыми донорами, у которых данный показатель был в два раза ниже ($p < 0,001$) (Таблица 63, Рисунок 91) [283].

Таблица 63 – Количественные показатели Me [Q1; Q3] и Mean \pm SD хемокинового профиля в сыворотке у больных БП и здоровых доноров

Показатель	БП (n=11)	Контрольная группа (n=43)	Разность (95% ДИ)	p-value	Размер эффекта (95% ДИ)
CCL11 (пг/мл)	77,0 [73,5; 84,5]	50,3 \pm 13,4	26,3 [17,4; 35,4]	<0,001	1,95 [1,18; 2,73]
CXCL-8 (пг/мл)	58,0 [57,0; 66,5]	28,0 [23,0; 38,0]	30,8 [23,8; 37,9]	<0,001	2,92 [2,04; 3,80]

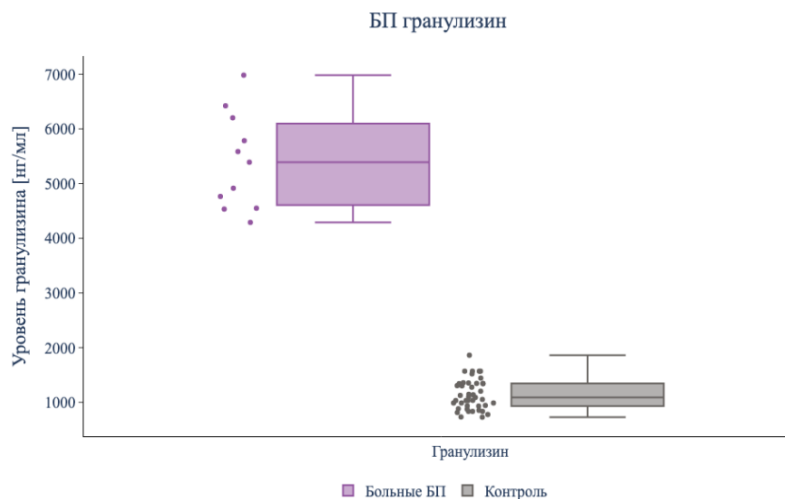


Рисунок 92 – Сравнительная характеристика уровня гранулизина в нг/мл в сыворотке у больных БП и здоровых доноров (авторский рисунок)

3.14.3. Оценка уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизина в сыворотке больных токсическим эпидермальным некролизом, синдромом Стивенса-Джонсона и здоровых доноров

Используя непараметрический статистический U-критерий Манна-Уитни следует сделать вывод, что значения показателя TNF- α в сыворотке (Me 24,0 пг/мл) были выше у больных с диагнозом ССД/ТЭН по сравнению с группой здоровых доноров (Me 7,0 нг/мл) ($p < 0,001$) (Таблица 65, Рисунок 93) [283].

Концентрация IL15 была статистически значимо ниже у пациентов с ССД/ТЭН (Me 9,0 [6,0; 13,0] пг/мл) по сравнению с группой контроля (Me 13,0 [10,0; 19,5] пг/мл) ($p < 0,01$) (Таблица 65, Рисунок 92). Уровень IL4 оказался достоверно выше в группе здоровых доноров (Me 15,0 пг/мл), чем у больных ССД/ТЭН (Me 9,0) ($p < 0,001$), тогда как уровень IL10 был значимо выше именно у пациентов ССД/ТЭН (Me 45,0 пг/мл) по сравнению со здоровыми добровольцами (Me 2,9 пг/мл; $p < 0,001$) (Таблица 65, Рисунок 93) [283].

Таблица 65 – Количественные показатели Me [Q1; Q3] и Mean \pm SD цитокинового профиля в сыворотке у больных ССД/ТЭН и здоровых доноров

Показатель	ССД/ТЭН (n=13)	Контрольная группа (n=43)	Разность (95% ДИ)	p-value	Размер эффекта (95% ДИ)
------------	-------------------	---------------------------------	----------------------	---------	-------------------------------

IL4 (пг/мл)	9,0 [6,0; 11,0]	15,0 [11,5; 20,0]	-7,0 [-10,0; -4,0]	<0,001	-
IL10 (пг/мл)	45,0 [24,0; 74,0]	2,9 [1,95; 3,7]	44,5 [26,2; 62,8]	<0,001	*
IL15 (пг/мл)	9,0 [6,0; 13,0]	13,0 [10,0; 19,5]	-4,0 [-8,0; -1,0]	<0,01	-
TNF- α (пг/мл)	24,0 [17,0; 39,0]	7,0 [4,4; 9,2]	17,9 [11,0; 33,6]	<0,001	-

Примечания: * - при большом различии показателей групп и/или низкого SD контроля размер эффекта не рассчитывается, так как получаемые значения кратно превосходят интерпретируемые пороги

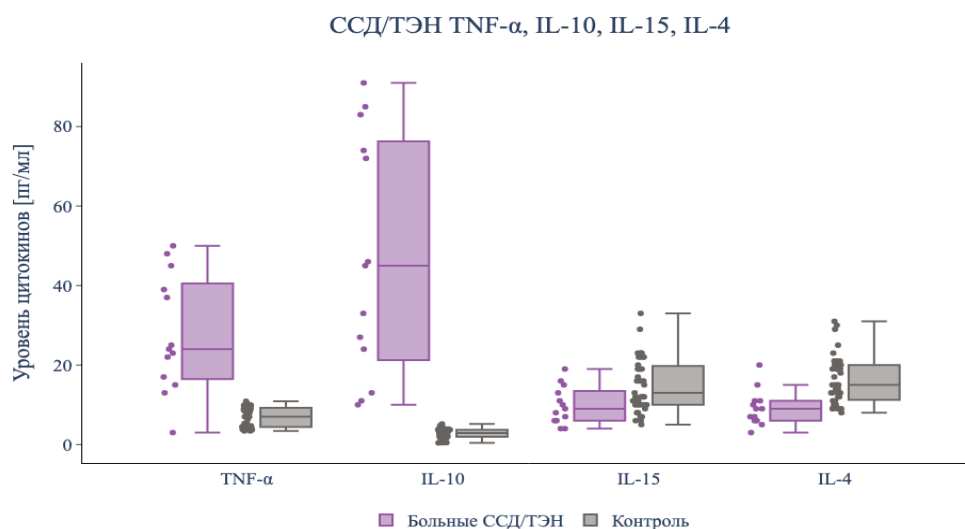


Рисунок 93 – Сравнительная характеристика уровня IL10, IL15, IL4 и TNF- α в пг/мл в сыворотке больных ССД/ТЭН и здоровых доноров (авторский рисунок)

У больных ССД/ТЭН концентрации CCL11 (Me 79,0 [64,0; 103,0] пг/мл) и CXCL8 (Me 52,0 [45,0; 57,0] пг/мл) значимо превышали контрольные значения ($50,3 \pm 13,4$ пг/мл и Me 28,0 [23,0; 38,0] пг/мл соответственно; $p < 0,01$ и $p < 0,001$) (Таблица 66, Рисунок 94) [283].

Таблица 66 – Количественные показатели Me [Q1; Q3] и Mean \pm SD хемокинового профиля в сыворотке у больных ССД/ТЭН и здоровых доноров

Показатель	ССД/ТЭН (n=13)	Контрольная группа (n=43)	Разность (95% ДИ)	p-value	Размер эффекта (95% ДИ)
CCL-11 (пг/мл)	79,0 [64,0; 103,0]	$50,3 \pm 13,4$	29,9 [12,2; 47,6]	<0,01	2,20 [1,07; 3,69]

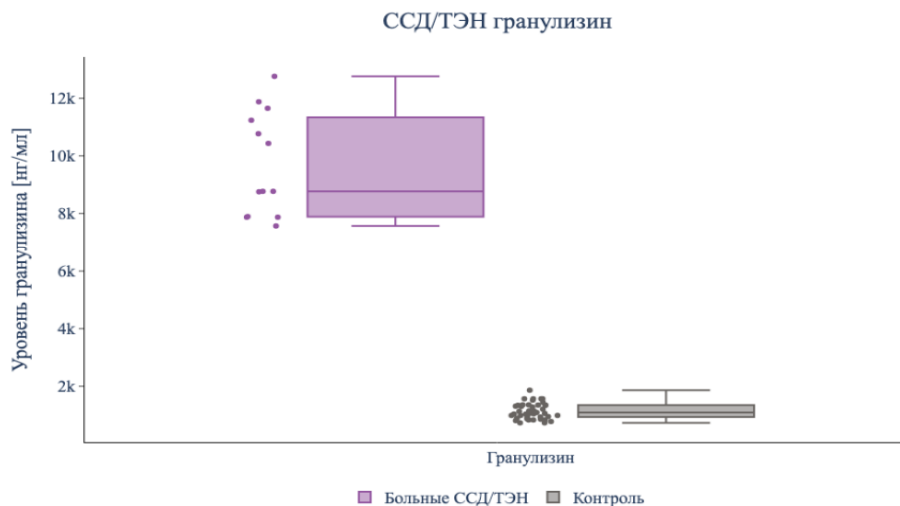


Рисунок 95 – Сравнительная характеристика уровня гранулизина в нг/мл в сыворотке больных ССД/ТЭН и здоровых доноров (авторский рисунок)

Таким образом, в сыворотке крови пациентов с АП, БП и ССД/ТЭН выявлено достоверное повышение TNF- α , IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизина ($p < 0,001$) при одновременном снижении IL15 и IL4 ($p < 0,01$) относительно здоровых доноров.

3.14.4. Сравнительный анализ уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизина в сыворотке больных акантолитической пузырчаткой, буллезным пемфигоидом Лёвера и синдромом Стивенса-Джонсона/токсическим эпидермальным некролизом

Используя непараметрический статистический критерий Краскела-Уоллиса для распределения показателей TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8, а также гранулизина в сыворотке больных АП, БП и ССД/ТЭН не удалось выявить статистически значимых различий ($p > 0,05$) (Таблица 68). Однако, уровень гранулизина в сыворотке был несколько выше у больных ССД/ТЭН по сравнению с АП и БП ($p = 0,045$).

Таблица 68 – Количественные показатели Me [Q1; Q3] уровня цитокинов, хемокинов и гранулизина у больных буллезными дерматозами в сыворотке с попарными сравнениями

Показатель	АП (n=43)	БП (n=11)	ССД/ТЭН (n=13)	p-value (Kruskal-Wallis) ¹	p-value ²
TNF- α (пг/мл)	20,0 [14,6; 25,4]	20,0 [12,6; 27,4]	23,0 [17,9; 28,1]	0,780	рАП-БП = 1 рАП-ССД/ТЭН = 0,882 рБП-ССД/ТЭН = 0,882
IL15 (пг/мл)	9,0 [6,8; 11,2]	8,5 [6,3; 10,7]	8,5 [6,1; 10,9]	0,650	рАП-БП = 0,95 рАП-ССД/ТЭН = 0,8 рБП-ССД/ТЭН = 1
IL4 (пг/мл)	7,0 [5,9; 8,1]	6,0 [4,3; 7,7]	6,5 [5,6; 7,4]	0,320	рАП-БП = 0,4 рАП-ССД/ТЭН = 0,6 рБП-ССД/ТЭН = 0,9
IL10 (пг/мл)	46,0 [38,0; 54,0]	50,0 [42,0; 58,0]	46,0 [37,2; 54,8]	0,540	рАП-БП = 0,7 рАП-ССД/ТЭН = 1 рБП-ССД/ТЭН = 0,8
ССЛ11 (пг/мл)	72,5 [66,0; 79,0]	77,0 [69,7; 84,3]	76,5 [71,2; 81,8]	0,670	рАП-БП = 0,85 рАП-ССД/ТЭН = 0,9 рБП-ССД/ТЭН = 1
СХСЛ8 (пг/мл)	52,5 [47,9; 57,1]	56,0 [52,6; 59,4]	52,0 [47,6; 56,4]	0,220	рАП-БП = 0,3 рАП-ССД/ТЭН = 0,095 рБП-ССД/ТЭН = 0,4
Гранулизин (нг/мл)	5517 [5067; 5967]	5490 [4951; 6029]	6008 [5450; 6566]	0,045	рАП-БП = 0,9 рАП-ССД/ТЭН = 0,06 рБП-ССД/ТЭН = 0,05

Примечания: ¹ - p-value (Kruskal-Wallis) отражает общую значимость различий между группами;
² - p-value попарных сравнений (АП против БП, АП против ССД/ТЭН, БП против ССД/ТЭН) получены с использованием пост-хок теста Данна с поправкой Холма

3.14.5. Сравнительный анализ уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулина в пузырьной жидкости у больных акантолитической пузырчаткой, буллезным пемфигоидом Лёвера и синдромом Стивенса-Джонсона/токсическим эпидермальным некролизом

Используя непараметрический статистический критерий Краскела-Уоллиса для распределения показателей TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8, а также гранулина в сыворотке больных АП, БП и ССД/ТЭН не удалось выявить статистически значимых различий ($p > 0,05$) (Таблица 69).

Следует отметить, что достоверные различия были обнаружены только для гранулина у больных ССД/ТЭН (Ме 12105 нг/мл) по сравнению с группой АП (Ме 10842 нг/мл; $p = 0,048$) и БП (Ме 10335 нг/мл; $p = 0,024$) (Таблица 69, Рисунок 96) [283].

Таблица 69 – Количественные показатели Ме [Q1; Q3] уровня цитокинов, хемокинов и гранулина у больных буллезными дерматозами в пузырьной жидкости с попарными сравнениями

Показатель	АП (n = 43)	БП (n = 11)	ССД/ТЭН (n = 13)	p-value (Kruskal-Wallis) ¹	p-value ²
IL4 (пг/мл)	15,0 [13,0; 20,0]	21,0 [10,0; 31,0]	12,0 [7,0; 18,0]	0,145	р _{АП-БП} = 0,425 р _{АП-ССД/ТЭН} = 0,229 р _{БП-ССД/ТЭН} = 0,181
IL10 (пг/мл)	106,0 [88,5; 154,5]	122,0 [98,0; 132,5]	106,0 [78,0; 131,0]	0,693	р _{АП-БП} = 1 р _{АП-ССД/ТЭН} = 1 р _{БП-ССД/ТЭН} = 1
IL15 (пг/мл)	22,0 [14,5; 27,5]	22,0 [11,5; 28,5]	18,0 [12,0; 24,0]	0,546	р _{АП-БП} = 1 р _{АП-ССД/ТЭН} = 0,882 р _{БП-ССД/ТЭН} = 1
TNF- α (пг/мл)	58,0 [46,5; 74,5]	54,0 [51,5; 61,5]	63,0 [44,0; 78,0]	0,975	р _{АП-БП} = 1 р _{АП-ССД/ТЭН} = 1 р _{БП-ССД/ТЭН} = 1
CCL11 (пг/мл)	173,0 [147,5; 187,5]	172,0 [147,0; 179,0]	167,0 [144,0; 210,0]	0,792	р _{АП-БП} = 1 р _{АП-ССД/ТЭН} = 1 р _{БП-ССД/ТЭН} = 1

Продолжение таблицы 69

СХСL8 (пг/мл)	150,0 [132,0; 162,5]	166,0 [150,5; 181,5]	150,0 [142,0; 167,0]	0,135	$p_{\text{АП-БП}} = 0,164$ $p_{\text{АП-ССД/ТЭН}} = 0,667$ $p_{\text{БП-ССД/ТЭН}} = 0,667$
Гранулизин (нг/мл)	10842 [9415; 13209]	10335 [9617; 10748]	12105 [10987; 20765]	0,050	$p_{\text{АП-БП}} = 0,55$ $p_{\text{АП-ССД/ТЭН}} = 0,048$ $p_{\text{БП-ССД/ТЭН}} = 0,024$
Примечания: ¹ - p-value (Kruskal-Wallis) отражает общую значимость различий между группами; ² - p-value попарных сравнений (АП против БП, АП против ССД/ТЭН, БП против ССД/ТЭН) получены с использованием пост-хок теста Данна с поправкой Холма					

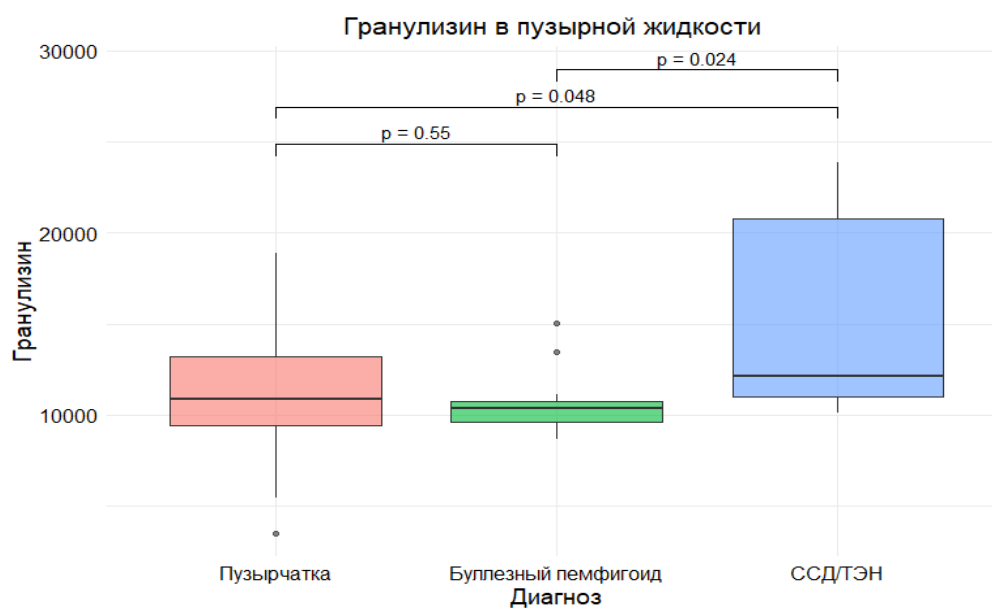


Рисунок 96 – Сравнительная характеристика уровня гранулизина в пузырной жидкости больных АП, БП и ССД/ТЭН (авторский рисунок)

Таким образом, уровень гранулизина был статистически значимо выше у больных ССД/ТЭН по сравнению с АП и БП. Полученные данные свидетельствуют о том, что гранулизин демонстрирует высокую дифференциально-диагностическую ценность и может быть использован в качестве биомаркера для разграничения указанных нозологий.

3.14.6. Сравнительный анализ уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизына в сыворотке и пузырьной жидкости у больных акантолитической пузырьчаткой, буллезным пемфигоидом Лёвера и синдромом Стивенса-Джонсона/токсическим эпидермальным некролизом

При всех заболеваниях наблюдался статистически значимо более высокий уровень цитокинов (TNF- α – 57 пг/мл (46,5; 76,5)/25 пг/мл (18,5; 33), IL4 – 15 пг/мл (11,5; 21)/ 8 пг/мл (6; 10), IL15 – 21 пг/мл (13; 27)/10 пг/мл (7; 14,5), IL10 – 107 пг/мл (88,5; 136)/ 50 пг/мл (43; 67,5), хемокинов (CCL11 – 172 пг/мл (145,5; 186)/77 пг/мл (65,5; 86) и CXCL8 – 152 пг/мл (137,5; 167,5)/54 пг/мл (48,5; 60), а также гранулизына 10987 нг/мл (10116; 13440,5)/5809 нг/мл (5254,5; 6932) в пузырьной жидкости по сравнению с сывороткой больных соответственно ($p < 0,001$) (Рисунок 97, 98, Таблица 70). Такая разница в показателях пузырьной жидкости и сыворотки была связана с ее более высоким уровнем разведения за счет форменных элементов.

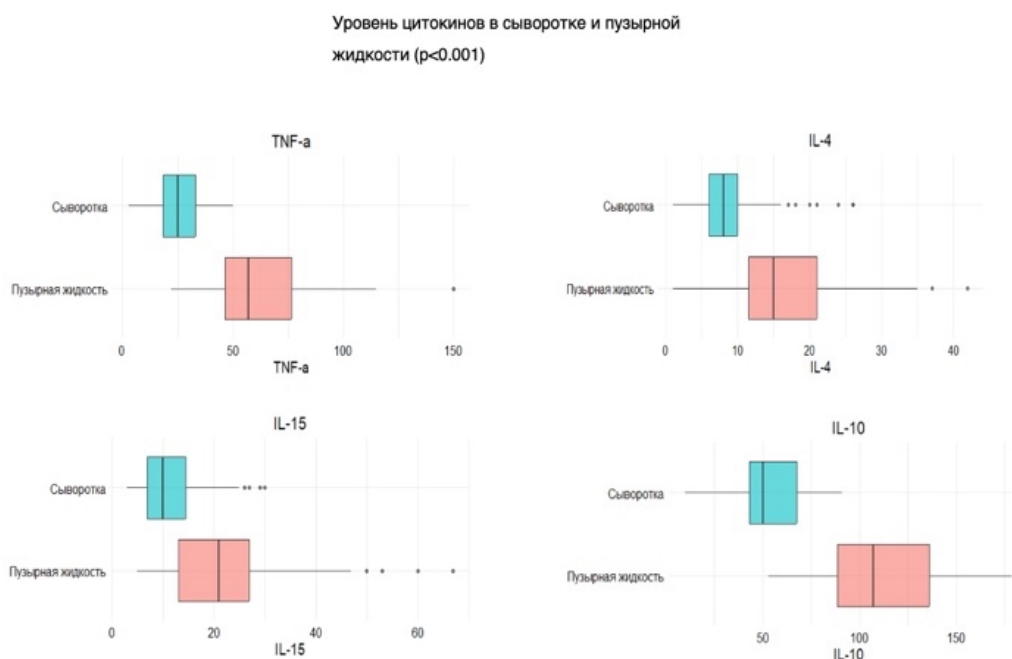


Рисунок 97 – Сравнительная характеристика уровня цитокинов у больных буллезными дерматозами в сыворотке и пузырьной жидкости (авторский рисунок)

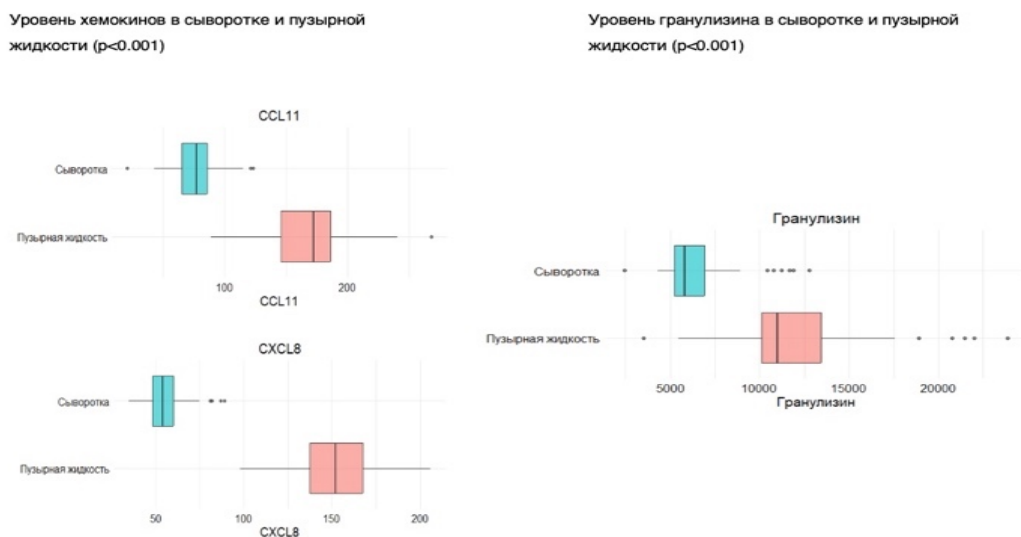


Рисунок 98 – Сравнительная характеристика уровня хемокинов и гранулизина у больных буллезными дерматозами в сыворотке и пузырной жидкости (авторский рисунок)

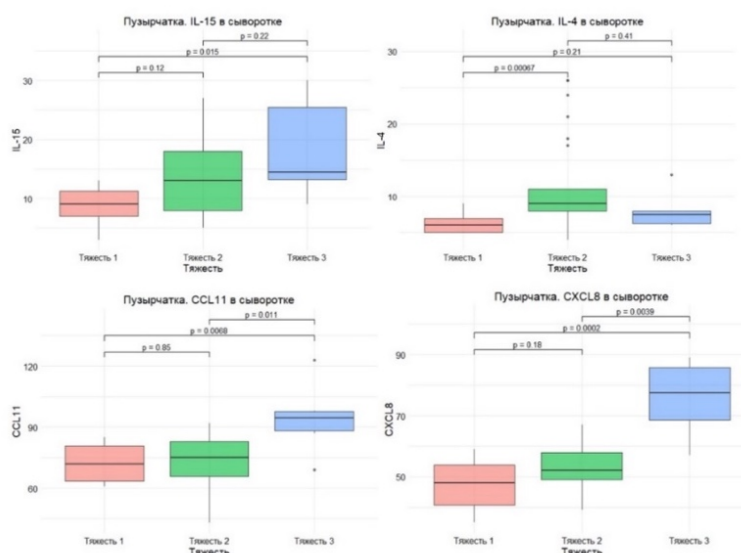
Таблица 70 – Сравнительная характеристика уровня цитокинов, хемокинов и гранулизина у больных БД в сыворотке и пузырной жидкости

Показатель	Пузырная жидкость Медиана [Q1; Q3]	Сыворотка Медиана [Q1; Q3]	p-value в парном тесте Уилкоксона
TNF- α	57 [46,5; 76,5]	25 [18,5; 33]	<0,001
IL15	21 [13; 27]	10 [7; 14,5]	<0,001
Гранулизин	10987 [10116; 13440,5]	5809 [5254,5; 6932]	<0,001
CCL11	172 [145,5; 186]	77 [65,5; 86]	<0,001
CXCL8	152 [137,5; 167,5]	54 [48,5; 60]	<0,001
IL4	15 [11,5; 21]	8 [6; 10]	<0,001
IL10	107 [88,5; 136]	50 [43; 67,5]	<0,001

3.14.7. Сравнительный анализ уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизина в сыворотке и пузырьной жидкости у больных буллезными дерматозами в зависимости от тяжести заболеваний

3.14.7.1. Сравнительный анализ уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизина в сыворотке и пузырьной жидкости у больных акантолитической пузырьчаткой в зависимости от тяжести заболевания

При исследовании цитокинового и хемокинового профилей сыворотки больных АП установлено, что уровень IL15 (Me 14,5 пг/мл), CCL11 (Me 94,5 пг/мл) и CXCL8 (Me 77,5 пг/мл) был статистически значимо выше у больных АП тяжелой степени тяжести по сравнению с легкой ($p=0,0306$, $p=0,0122$, $p=0,0007$) (Рисунок 99, таблица 71). Следует отметить, что в сыворотке у больных АП средней степени тяжести фиксировался достоверно более высокий уровень IL4 (Me 9 (8; 11 пг/мл) по сравнению с легкой (Me 6 (5; 7 пг/мл) и тяжелой (Me 7,5 (6,25; 8 пг/мл) соответственно ($p<0,0020$) (Рисунок 99, Таблица 71).



Примечание: * - тяжесть 1 – легкая степень тяжести АП, тяжесть 2 – средняя степень тяжести АП, тяжесть 3 – тяжелая степень тяжести АП. На графиках отмечена значимость между группами в критерии Данн с поправкой Бонферрони

Рисунок 99 – Сравнительная характеристика уровня IL15, IL4, CCL11 и CXCL8 в сыворотке у больных АП различной степени тяжести (авторский рисунок)

При анализе пузырной жидкости больных АП тяжелой степени тяжести концентрации TNF- α (Me 91,5 пг/мл), CCL11 (Me 192,5 пг/мл) и гранулизина (Me 10739,5 [10391,25; 15930,5 нг/мл]) были достоверно выше, чем при легкой и средней степени тяжести ($p=0,0028$, $p=0,0027$ и $p<0,001$ соответственно) (Таблица 71, Рисунок 100, 101).

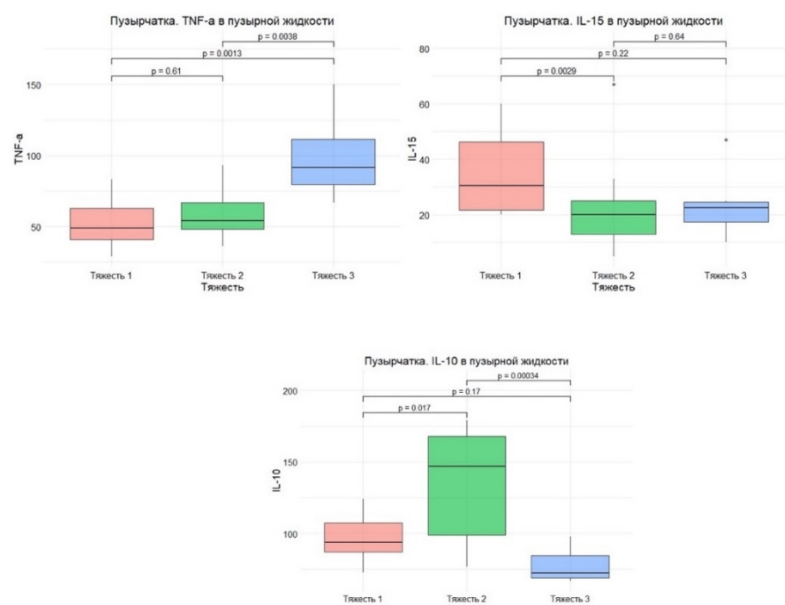
Таблица 71 – Сравнительная характеристика уровня цитокинов, хемокинов и гранулизина в сыворотке и пузырной жидкости у больных АП различной степени тяжести

Показатель	Легкая степень тяжести (n=12)	Средняя степень тяжести (n=25)	Тяжелая степень тяжести (n=6)	p*
Сыворотка				
TNF- α	25,5 [19; 30,5]	22 [18; 31]	26,5 [20,75; 33,75]	0,85
IL15	9 [7; 11,25]	13 [8; 18]	14,5 [13,25; 25,5]	0,03*
Гранулизин	5657,5 [5388; 6302,25]	5517 [4825; 5987]	7166 [6030; 8437,75]	0,05
CCL11	72 [63,5; 81]	75 [66; 83]	94,5 [88,25; 97,75]	0,01*
CXCL8	48 [40,75; 53,75]	52 [49; 58]	77,5 [68,5; 85,75]	<0,001*
IL4	6 [5; 7]	9 [8; 11]	7,5 [6,25; 8]	0,002*
IL10	45,5 [40,75; 48,5]	51 [43; 65]	66 [56,75; 69,25]	0,01
Пузырная жидкость				
TNF- α	49 [40,75; 62,75]	54 [48; 67]	91,5 [79,75; 111,5]	0,003*
IL15	30,5 [21,75; 46,25]	20 [13; 25]	22,5 [17,5; 24,5]	0,008*
Гранулизин	7386 [6278,5; 9523,25]	12581 [10573; 14557]	10739,5 [10391,25; 15930,5]	<0,001*
CCL11	145,5 [136,5; 155,75]	176 [156; 191]	192,5 [175; 228,75]	0,003*
CXCL8	133,5 [130; 155,75]	152 [140; 171]	152 [123,25; 175,5]	0,3

Продолжение таблицы 71

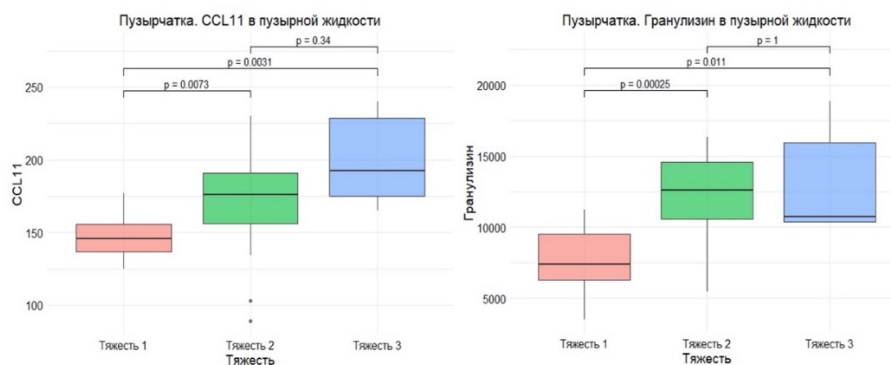
IL4	14,5 [11; 17,5]	18 [14; 23]	14,5 [12,5; 15,75]	0,05
IL10	94 [87,25; 107,5]	147 [99; 168]	72,5 [69,25; 84,75]	<0,001*

Примечание: * - p-value в критерии Крускала-Уоллиса; ** - значимые межгрупповые различия (p-value <0,05)



Примечание: * - тяжесть 1 – легкая степень тяжести АП, тяжесть 2 – средняя степень тяжести АП, тяжесть 3 – тяжелая степень тяжести АП. На графиках отмечена значимость между группами в критерии Данн с поправкой Бонферрони

Рисунок 100 – Сравнительная характеристика уровня TNF-α, IL15 и IL10 в пузырьной жидкости у больных АП различной степени тяжести (авторский рисунок)



Примечание: * - тяжесть 1 – легкая степень тяжести АП, тяжесть 2 – средняя степень тяжести АП, тяжесть 3 – тяжелая степень тяжести АП. На графиках отмечена значимость между группами в критерии Данн с поправкой Бонферрони

Рисунок 101 – Сравнительная характеристика уровня хемокина CCL11 и гранулизина в пузырьной жидкости у больных АП различной степени тяжести (авторский рисунок)

3.14.7.2. Сравнительный анализ уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизина в сыворотке и пузырьной жидкости у больных буллезным пемфигоидом Лёвера в зависимости от тяжести заболевания

У больных БП тяжелой степени тяжести в сыворотке уровни TNF- α (Ме 36 пг/мл), IL10 (Ме 70 пг/мл), хемокинов CCL11 (Ме 82 пг/мл) и CXCL8 (Ме 60 (58,5; 74 пг/мл) были статистически значимо выше, чем при средней степени тяжести ($p=0,0376$, $p=0,0376$, $p=0,0294$, $p=0,0462$ соответственно) (Таблица 72).

В пузырьной жидкости той же группы помимо статистически значимо более высоких концентраций CCL11 (Ме 178 пг/мл), CXCL8 (Ме 178 пг/мл) и IL10 (Ме 130 пг/мл) ($p=0,0140$, $p=0,0233$, $p=0,0233$) выявлено достоверное повышение IL4 (Ме 31 пг/мл; $p=0,0079$) по сравнению с больными средней степени тяжести ($p<0,0079$) (Таблица 72). При этом уровень IL15 в сыворотке, напротив, был статистически значимо выше при средней степени тяжести (Ме 12,5 пг/мл) по сравнению с тяжелой (Ме 5 пг/мл; $p=0,0363$) (Таблица 72).

Таблица 72 – Сравнительная характеристика уровня цитокинов, хемокинов и гранулизина в сыворотке и пузырьной жидкости у больных БП различной степени тяжести

Показатель	Средняя степень тяжести (n=4)	Тяжелая степень тяжести (n=7)	p-value в критерии Краскела–Уоллиса
Сыворотка			
TNF- α	16,5 [12,25; 22]	36 [27; 38,5]	0,0376*
IL15	12,5 [10,75; 13,75]	5 [4,5; 8,5]	0,0363*
Гранулизин	5250 [4876,75; 5740,25]	5393 [4543,5; 6105]	0,8501
CCL11	65 [54,5; 75,5]	82 [78,5; 88,5]	0,0294*
CXCL8	57 [54; 57,25]	60 [58,5; 74]	0,0462*
IL4	7 [4; 9,25]	8 [7; 13]	0,2964
IL10	48,5 [45; 50,25]	70 [64; 75,5]	0,0376*
Пузырная жидкость			
TNF- α	52,5 [47,5; 54,25]	58 [52,5; 73]	0,1859

Продолжение таблицы 72

IL15	18 [13,75; 24]	25 [10; 29,5]	1,0000
Гранулизин	9972 [9326; 10574,25]	10335 [9899,5; 11905]	0,5708
CCL11	137,5 [133,75; 144,75]	178 [173,5; 181,5]	0,0140*
CXCL8	147,5 [142,25; 154]	178 [163; 185,5]	0,0233*
IL4	9,5 [8,5; 10]	31 [25,5; 33]	0,0079*
IL10	89,5 [76,5; 104,5]	130 [125,5; 136]	0,0233*
Примечание: * - значимые межгрупповые различия (p-value <0,05)			

3.14.7.3. Сравнительный анализ уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизина в сыворотке и пузырной жидкости у больных синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом в зависимости от тяжести заболевания

При анализе цитокинового и хемокинового профиля сыворотки крови, а также концентрации гранулизина у пациентов с ССД/ТЭН установлено, что уровни IL10, IL4, CCL11 и гранулизина были статистически значимо выше при ТЭН по сравнению с ССД и перекрестным ССД-ТЭН (p=0,0456, p=0,0233, p=0,0079, p=0,0134 соответственно) (Таблица 73, Рисунок 102, 103).

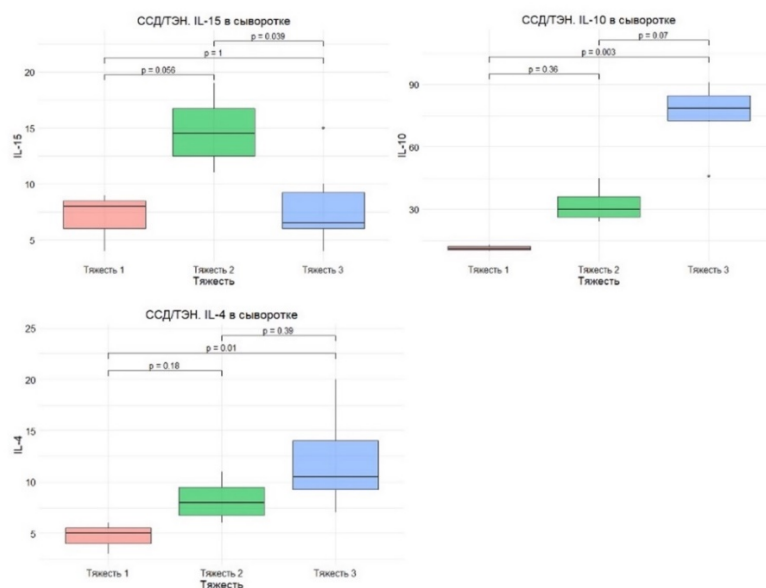
Достоверно высокий уровень IL15 в сыворотке отмечался у больных перекрестным ССД-ТЭН по сравнению с ССД и ТЭН (p=0,0456) (Рисунок 102).

Таблица 73 – Сравнительная характеристика уровня цитокинов, хемокинов и гранулизина в сыворотке и пузырной жидкости у больных ССД, ССД-ТЭН и ТЭН

Показатель	ССД (n=3)	ССД-ТЭН (n=4)	ТЭН (n=6)	Общее p-value в критерии Краскела–Уоллиса
Сыворотка				
TNF- α	15 [9; 20]	30,5 [22,25; 37,5]	34 [22,25; 47,25]	0,304
IL15	8 [6; 8,5]	14,5 [12,5; 16,75]	6,5 [6; 9,25]	0,046
Гранулизин	8765 [8330,5; 9765]	7867 [7792,3; 8089,3]	11445,5 [10633,3; 11820,5]	0,013*

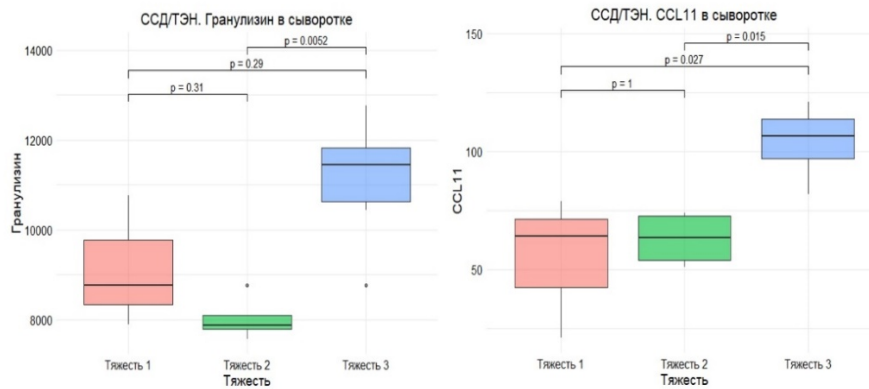
Продолжение таблицы 73

CCL11	64 [42,5; 71,5]	63,5 [54; 72,5]	106,5 [97; 113,75]	0,011*
CXCL8	55 [53,5; 58]	59 [52,75; 62]	47,5 [43,5; 50,75]	0,085
IL4	5 [4; 5,5]	8 [6,75; 9,5]	10,5 [9,25; 14]	0,025*
IL10	11 [10,5; 12]	30 [26,25; 36]	78,5 [72,5; 84,5]	0,006*
Пузырная жидкость				
TNF- α	25 [23,5; 34,5]	46 [41,25; 52,5]	79 [77,25; 95,75]	0,01*
IL15	13 [11,5; 20]	21,5 [18,75; 29,25]	14 [10,5; 22]	0,337
Гранулизин	11675 [11010; 11890]	17199,5 [13160,8; 20937,8]	11876 [10753; 19681,5]	0,343
CCL11	213 [211,5; 240,5]	171 [161,25; 182]	142 [137,5; 160]	0,031*
CXCL8	142 [120,5; 152]	142,5 [141,5; 144]	177 [164,75; 196]	0,017*
IL4	7 [4; 12,5]	6,5 [5,75; 7,25]	20 [15,5; 24,5]	0,033*
IL10	106 [92; 110,5]	66 [62; 76,75]	133 [115,25; 138,75]	0,027*
Примечание: * - значимые межгрупповые различия (p-value <0,05)				



Примечание: * - тяжесть 1 – ССД, тяжесть 2 – ССД-ТЭН, тяжесть 3 – ТЭН. На графиках отмечена значимость между группами в критерии Данн с поправкой Бонферрони

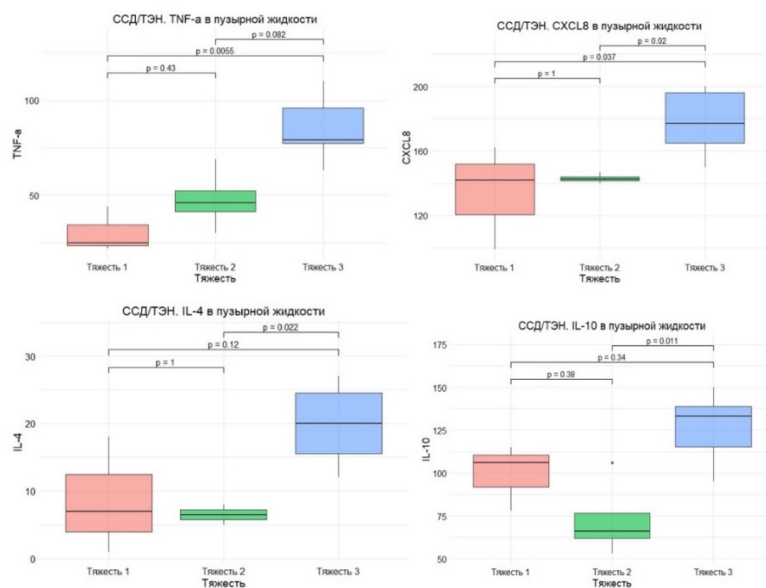
Рисунок 102 – Сравнительная характеристика уровня TNF- α , IL15 и IL10 в сыворотке у больных ССД, ССД-ТЭН и ТЭН (авторский рисунок)



Примечание: * - тяжесть 1 – ССД, тяжесть 2 – ССД-ТЭН, тяжесть 3 – ТЭН. На графиках отмечена значимость между группами в критерии Данн с поправкой Бонферрони

Рисунок 103 – Сравнительная характеристика уровня гранулизина и SCL11 в сыворотке у больных ССД, ССД-ТЭН и ТЭН (авторский рисунок)

В то же время в пузырьной жидкости у больных ТЭН наблюдался достоверно более высокий уровень TNF- α , IL4, IL10 и CXCL8 ($p=0,0095$, $p=0,0330$, $p=0,0272$, $p=0,0166$) по сравнению с больными преимущественно перекрестным ССД-ТЭН (Таблица 73, Рисунок 104). Интересно, что уровень SCL11 в пузырьной жидкости был статистически значимо выше у больных ССД по сравнению с ССД-ТЭН и ТЭН ($p=0,0309$) (Таблица 73).



Примечание: * - тяжесть 1 – ССД, тяжесть 2 – ССД/ТЭН, тяжесть 3 – ТЭН. На графиках отмечена значимость между группами в критерии Данн с поправкой Бонферрони

Рисунок 104 – Сравнительная характеристика уровня TNF- α , IL4, IL10 и CXCL8 в пузырьной жидкости у больных ССД, ССД-ТЭН и ТЭН (авторский рисунок)

3.14.8. Сравнительный анализ уровня TNF- α , IL15, IL4, IL10, CCL11, CXCL8 и гранулизина в сыворотке у больных акантолитической пузырчаткой, буллезным пемфигоидом Лёвера и синдромом Стивенса-Джонсона/токсическим эпидермальным некролизом в зависимости от стероидной резистентности

По хемокиновому профилю при анализе пузырной жидкости и сыворотки стероид-резистентных больных АП были обнаружены различия. Так, в сыворотке у стероид-резистентных больных отмечалось статистически значимо более высокая концентрация CCL11 (Me 76 (65,5, 83 пг/мл) по сравнению со стероид-чувствительными пациентами (Me 48 (39, 52 пг/мл; $p < 0,0001$) (Таблица 74) [283].

Таблица 74 – Количественные показатели Me [Q1; Q3] и Mean \pm SD уровня цитокинов, хемокинов и гранулизина в сыворотке у больных акантолитической пузырчаткой в зависимости от наличия/отсутствия стероидной резистентности

Показатель	АП/СР ⁺ (n = 18)	АП/СР ⁻ (n = 25)	Разность (95% ДИ)	p-value	Размер эффекта (95% ДИ)
IL4 (пг/мл)	8,0 [6,0; 9,75]	8,0 [6,0; 10,0]	0,0 [-2,0; 2,0]	0,93	-
IL10 (пг/мл)	46,5 [43,0; 57,25]	54,0 [46,0; 67,0]	-6,0 [-14,0; 2,0]	0,13	-
IL15 (пг/мл)	12,0 [8,25; 17,25]	11,0 [7,0; 15,0]	1,0 [-2,0; 5,0]	0,53	-
TNF- α (пг/мл)	25,8 \pm 7,6	24,1 \pm 8,6	1,7 [-3,27; 6,72]	0,49	0,21 [-0,41; 0,83]
CCL11 (пг/мл)	76 [65,5; 83]	48 [39; 52]	28,0 [20,9; 35,1]	0,0001*	0,59 [0,35; 0,76]
CXCL8 (пг/мл)	51,0 [44,25; 57,25]	57,0 [50,0; 61,0]	-6,0 [-11,0; 1,0]	0,11	-
Гранулизин (нг/мл)	5698 \pm 1192	5783 \pm 1050	-85 [-779; 608]	0,81	-0,08 [-0,69; 0,54]

Примечание: * – значимые межгрупповые различия (p -value $< 0,05$); СР⁺ – стероид-резистентные больные, СР⁻ – стероид-чувствительные

Тогда как в пузырьной жидкости наблюдался статистически значимо более высокий уровень CXCL8 у стероид-чувствительных больных ($157,8 \pm 22,4$ пг/мл) по сравнению со стероид-резистентными ($141,0 \pm 25,8$ $p < 0,05$) (Таблица 75) [283].

Таблица 75 – Количественные показатели Me [Q1; Q3] и Mean \pm SD уровня цитокинов, хемокинов и уровня гранулизина в пузырьной жидкости у больных акантолитической пузырьчаткой в зависимости от наличия/отсутствия стероидной резистентности

Показатель	АП/СР ⁺ (n = 18)	АП/СР ⁻ (n = 25)	Разность (95% ДИ)	p-value	Размер эффекта (95% ДИ)
IL4 (пг/мл)	16,5 [15,0; 20,75]	14,0 [12,0; 19,0]	3,0 [0,0; 6,0]	0,07	-
IL10 (пг/мл)	100,0 [91,5; 151,5]	108,0 [87,0; 156,0]	0,5 [-19,5; 21,0]	0,99	-
IL15 (пг/мл)	21,5 [14,25; 26,0]	22,0 [16,0; 28,0]	0,0 [-7,0; 7,0]	0,97	-
TNF- α (пг/мл)	55,5 [43,5; 65,75]	67,0 [50,0; 79,0]	-8,0 [-20,0; 4,0]	0,18	-
CCL11 (пг/мл)	$162,4 \pm 35,7$	$177,6 \pm 28,0$	-15,2 [35,0; 4,6]	0,13	-0,47 [-1,10; 0,15]
CXCL8 (пг/мл)	$141,0 \pm 25,8$	$157,8 \pm 22,4$	-16,8 [-31,8; -1,96]	<0,05*	-0,7 [-1,3; -0,06]
Гранулизин (нг/мл)	11164 ± 3663	11216 ± 3388	-53 [-2228; 2123]	0,96	-0,02 [-0,63; 0,60]

Примечание: * – значимые межгрупповые различия (p-value <0,05); СР⁺ – стероид-резистентные больные, СР⁻ – стероид-чувствительные

У рефрактерных к терапии больных БП в сыворотке выявлен статистически значимо повышенный уровень TNF- α в сыворотке крови (Me 38 (37; 39 пг/мл) по сравнению с группой, адекватно отвечавшей на терапию СГК (Me 22 (15,25; 28,5 пг/мл; $p = 0,0485$) (Таблица 76) [283].

Таблица 76 – Количественные показатели Me [Q1; Q3] уровня цитокинов, хемокинов и уровня гранулизина в сыворотке у больных буллезным пемфигоидом в зависимости от наличия/отсутствия стероидной резистентности

Показатель	БП/СР ⁺ (n = 3)	БП/СР ⁻ (n = 8)	Разность (95% ДИ)	p-value
IL4 (пг/мл)	8 [8; 12]	7,5 [5; 10,25]	3,0 [-2,00; 9,00]	0,4729

Продолжение таблицы 76

IL10 (пг/мл)	70 [69; 78,5]	50,5 [46,25; 63,75]	20,5 [1,50; 37,00]	0,1333
IL15 (пг/мл)	5 [4,5; 7,5]	9,5 [6,5; 12,25]	-2,5 [-8,00; 2,50]	0,3041
TNF- α (пг/мл)	38 [37; 39]	22 [15,25; 28,5]	16,0 [8,00; 24,50]	0,0485*
CCL11 (пг/мл)	77 [74,5; 86]	78,5 [70; 83,25]	3,5 [-10,00; 20,00]	0,8379
CXCL8 (пг/мл)	73 [66; 77]	57,5 [56,25; 58,5]	15,0 [1,00; 24,00]	0,0813
Гранулизин (нг/мл)	6424 [5488; 6704,5]	5153,5 [4707,5; 5636]	934,5 [-698,00; 2071,00]	0,2788
Примечание: p-value рассчитано по критерию Манна–Уитни; * – значимые межгрупповые различия (p-value < 0,05); CP ⁺ – стероид-резистентные больные, CP ⁻ – стероид-чувствительные				

В пузырьной жидкости, наоборот, у больных БП с наличием CP отмечалась склонность к более высокой концентрации IL15 – 32 (29,5; 33,5 пг/мл)/13,5 (10; 22,75 пг/мл), p=0,0317), гранулизины (13450 (11905; 14231,5 нг/мл)/9899,5 (9533,75; 10351,5 нг/мл), p=0,0485), CXCL8 (186 (185,5; 187,5 пг/мл)/154,5 [148,75; 166,5] пг/мл), p=0,0121) и IL4 (35 (33; 36 пг/мл)/13 (9,75; 23,25 пг/мл), p=0,0241) по сравнению с пациентами, адекватно отвечавшими на терапию СГК, соответственно (Таблица 77) [283].

Таблица 77 – Количественные показатели Me [Q1; Q3] уровня цитокинов, хемокинов и уровня гранулизины в пузырьной жидкости у больных буллезным пемфигоидом в зависимости от наличия/отсутствия стероидной резистентности

Показатель	БП/CP ⁺ (n = 3)	БП/CP ⁻ (n = 8)	Разность (95% ДИ)	p-value
IL4 (пг/мл)	35 [33; 36]	13 [9,75; 23,25]	21,0 [7,00; 27,00]	0,0241*
IL10 (пг/мл)	130 [129,5; 134,5]	108 [90,75; 125,25]	26,0 [2,00; 51,00]	0,1333
IL15 (пг/мл)	32 [29,5; 33,5]	13,5 [10; 22,75]	18,0 [5,00; 23,50]	0,0317*
TNF- α (пг/мл)	58 [55; 69,5]	53,5 [50,5; 57,5]	4,5 [-4,50; 28,00]	0,4970
CCL11 (пг/мл)	183 [168; 184]	164 [139,25; 175,75]	11,5 [-12,50; 44,00]	0,1939

Продолжение таблицы 77

СХСL8 (пг/мл)	186 [185,5; 187,5]	154,5 [148,75; 166,5]	32,5 [18,50; 40,50]	0,0121*
Гранулизин (нг/мл)	13450 [11905; 14231,5]	9899,5 [9533,75; 10351,5]	3550,5 [347,50; 5187,00]	0,0485*
Примечание: p-value – рассчитано по критерию Манна–Уитни; * – значимые межгрупповые различия (p-value <0,05); СР ⁺ – стероид-резистентные больные, СР ⁻ – стероид-чувствительные				

В группе больных ССД/ТЭН статистически значимых различий по уровню данных показателей в сыворотке и пузырьной жидкости выявлено не было, поскольку только у одного пациента наблюдалась СР [283].

Таким образом, идентифицированы потенциальные биомаркеры тяжелого течения БД, а также предикторы ответа на терапию СГК в пузырьной жидкости у больных АП и БП. При этом концентрации исследуемых цитокинов и хемокинов у всех пациентов оказались достоверно выше по сравнению с сывороткой крови, что подтверждает преимущество пузырьной жидкости как материала для точной оценки интенсивности локального воспалительного процесса в очаге поражения.

У больных БД в сыворотке и пузырьной жидкости одновременно были определены биомаркеры, коррелирующие с тяжелой степенью тяжести заболевания. В группе АП (n=43) значимую положительную корреляцию с тяжелой степенью показал ССL11 (p<0,001), в группе БП – ССL11, СХСL8, IL10 (p<0,05), а в группе ССД/ТЭН – IL4 и IL10 (p<0,05). Полученные результаты свидетельствуют о том, что указанные биомаркеры могут быть использованы для мониторинга течения данных заболеваний.

3.15. Методы машинного обучения для прогнозирования наличия или отсутствия стероидной резистентности у больных буллезными дерматозами на негеномном уровне

Методом МО были отобраны две лучшие модели – «CatBoost» (метод, основанный на «градиентном бустинге») и «случайный лес» (Forest/Random Forest), которые наиболее точно предсказывали вероятность СР у больных БД при

наличии шести следующих наиболее значимых признаков: высокий уровень IL15, IL4 и CXCL8 в пузырьной жидкости, высокий уровень гранулизина в сыворотке, диагноз и тяжесть АП, прием азатиоприна (F₁-метрика = 0,538721, «ROC AUC» = 0,879167, «Recall» = 0,541667, «Precision» = 0,857143). Следует отметить, что из значимых сопутствующих заболеваний модели выделили сахарный диабет 2-го типа (Рисунок 105, 106, 107, Таблица 78).

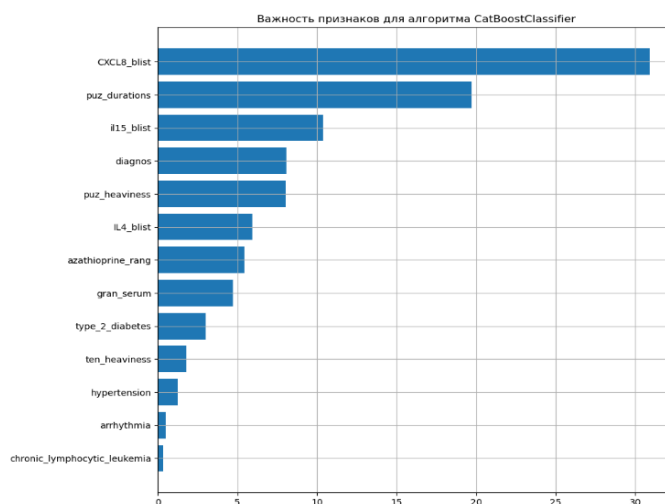


Рисунок 105 – График важности признаков для алгоритма метода «опорных векторов» в случае прогнозирования наличия у пациентов стероидной резистентности на негеномном уровне (CatBoostClassifier) (авторский рисунок)



Рисунок 106 – График важности признаков для алгоритма метода «опорных векторов» в случае прогнозирования наличия у пациентов стероидной резистентности на негеномном уровне (RandomForestClassifier) (авторский рисунок)

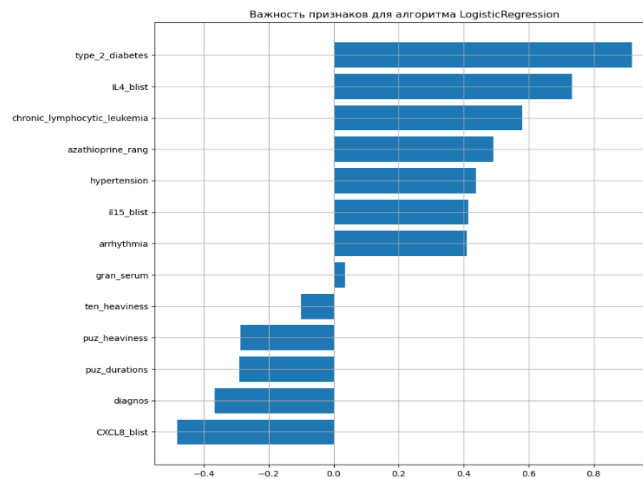


Рисунок 107 – График важности признаков для алгоритма метода опорных векторов в случае прогнозирования наличия у пациентов стероидной резистентности на негеномном уровне (LogisticRegression) (авторский рисунок)

Таблица 78 – Характеристика метрик методов машинного обучения

	F1	ROC AUC	Recall	Precision
LogReg	0,488038	0,750000	0,625000	0,402597
SVC	0,467836	0,749802	0,625000	0,378788
CatBoost	0,538721*	0,879167*	0,541667*	0,857143*
Forest	0,552707*	0,797123*	0,500000*	0,866667*
Tree	0,425926	0,578373	0,458333	0,416667

Примечание: «SVC» – метод машинного обучения, который используется для решения задач классификации; * - значимые межгрупповые различия (p-value <0,05)

Таким образом, пузырьная жидкость может быть использована для диагностики, дифференциальной диагностики, прогноза тяжести течения буллезных дерматозов, а также ответа пациентов на терапию.

3.16. Оценка эффективности и переносимости комбинированной терапии человеческим иммуноглобулином и плазмаферезом у больных стероид-резистентной формой пузырчатки на основании длительности, типов ремиссии и индекса PDAI

Средний индекс PDAI до начала лечения СГК и адъювантной терапией у больных АП составил $44,53 \pm 18$ единиц. При достижении средней дозы СГК – $15,17 \pm 5,26$ мг/сут и индекса PDAI $10,9 \pm 6,0$ стероид-резистентным пациентам

назначался курс плазмафереза и внутривенного человеческого IVIG кратностью один раз в 6 месяцев на 3-5 курсов.

При оценке эффективности комбинированной терапии плазмаферезом и внутривенным человеческим IVIG, после первого курса лечения индекс PDAI уменьшился в 1,8 раз. Средний индекс PDAI по сравнению с его уровнем на предыдущем курсе сократился вдвое после второго курса, а после третьего, четвертого и пятого курсов уменьшился в 2,8; 2,0 и 5,0 раз соответственно (Таблица 79).

Таблица 79 – Динамика показателей индекса PDAI у стероид-резистентных больных АП на фоне комбинированной терапии плазмаферезом и внутривенным человеческим IVIG

Комбинированная терапия плазмаферезом и внутривенным человеческим иммуноглобулином	Изменение среднего значения PDAI относительно его уровня до начала лечения	Изменение среднего значения PDAI относительно его уровня на предыдущем курсе	p*
До лечения	10,9	10,9	<0,001**
Первый курс	↓ в 1,8 раз	↓ в 1,8 раз	<0,001**
Второй курс	↓ в 3,9 раз	↓ в 2,1 раза	<0,001**
Третий курс	↓ в 10,9 раз	↓ в 2,8 раза	>0,05
Четвертый курс	↓ в 21,8 раз	↓ в 2,0 раз	>0,05
Пятый курс	↓ в 109 раз	↓ в 5,0 раз	<0,001**
Примечание: * непараметрический тест U-критерий Манна-Уитни; ** - значимые межгрупповые различия (p-value <0,05)			

Следует отметить, что после пятого курса терапии индекс PDAI уменьшился на 99,08% (p<0,001) (Рисунок 108; Таблица 80).

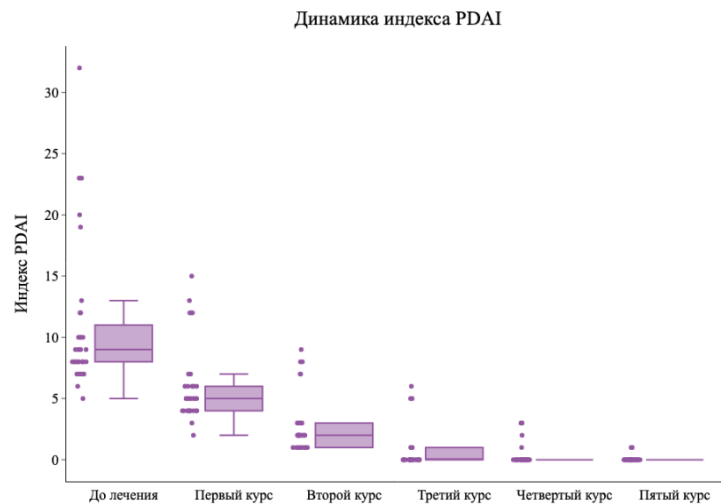


Рисунок 108 – Индекс PDAI до и после лечения комбинированной терапией СГК, IVIG и плазмаферезом (первичная конечная точка) (авторский рисунок)

Таблица 80 – динамика индекса PDAI на фоне проводимой комбинированной терапии плазмаферезом и IVIG

Индекс PDAI	Min.	Max.	Среднее	Медиана	СКО
До лечения	5	32	10,9	9,0	6,0
Первый курс	2	15	6,0	5,0	3,2
Второй курс	1	9	2,8	2	2,3
Третий курс	0	6	1,0	0	1,9
Четвертый курс	0	3	0,5	0	0,3
Пятый курс	0	1	0,1	0	0,3

Сокращения: Min. – минимальное значение; Max. – максимальное значение; СКО – среднеквадратичное отклонение

Средняя доза преднизолона после пятого курса составила $4,98 \pm 1,68$ мг/сут (Таблица 81) [116].

Таблица 81 – Количественное выражение доз преднизолона в мг на фоне курсов комбинированной терапии плазмаферезом и человеческим внутривенным IVIG

Длительность проводимой комбинированной терапии плазмаферезом и внутривенным человеческим IVIG	Средняя доза СГК у больных АП на фоне лечения комбинированной терапией плазмаферезом и внутривенным человеческим IVIG
Инициация комбинированной терапии	$15,17 \pm 5,26$ мг/сут
Второй курс	$9,4 \pm 3,81$ мг/сут
Третий курс	$7,25 \pm 3,36$ мг/сут
Четвертый курс	$5,25 \pm 2,51$ мг/сут
Пятый курс	$4,98 \pm 1,68$ мг/сут

При анализе разновидностей наступившей ремиссии следует отметить, что за трех-летний период наблюдения полная ремиссия в течение года после отмены СГК наблюдалась у одного пациента (3%; 1/32; 95% ДИ: 0,06%-16,15%); полная ремиссия на фоне минимальной дозы СГК отмечалась у 29 больных (91%; 29/32; 95% ДИ: 75,35%-97,43%) и частичная ремиссия в течение одного года на фоне минимальной дозы СГК (10 мг/сутки) – у двух пациентов (6%; 2/32; 95% ДИ: 1,73%-20,28%) (Рисунок 109, 110) [116]. Средняя длительность ремиссии АП у стероид-резистентных больных составила 2,87 года.



Рисунок 109 – Характеристика разновидностей наступивших ремиссий у больных АП, получавших комбинированную терапию IVIG и плазмаферезом, согласно консенсусу Murrell et al, 2008 (авторский рисунок)

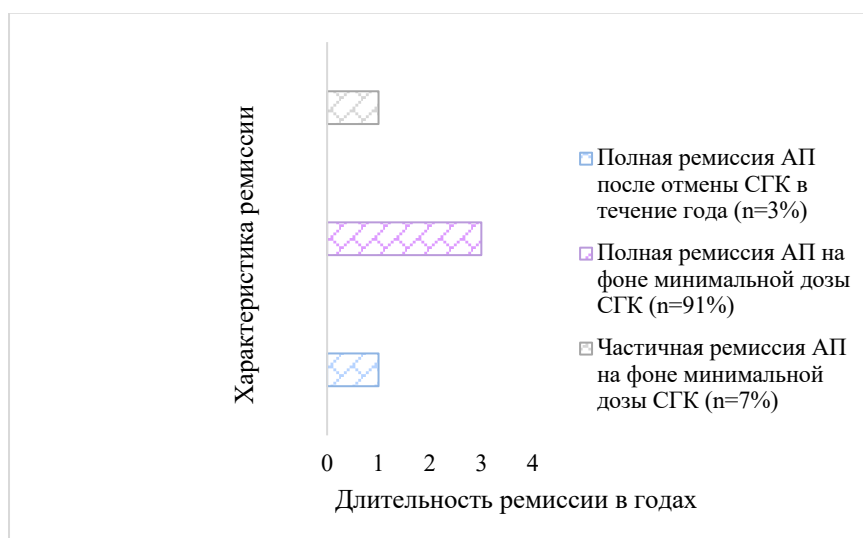


Рисунок 110 – Длительность ремиссии у больных АП, получавших комбинированную терапию плазмаферезом и человеческим IVIG (вторичная конечная точка) (авторский рисунок)

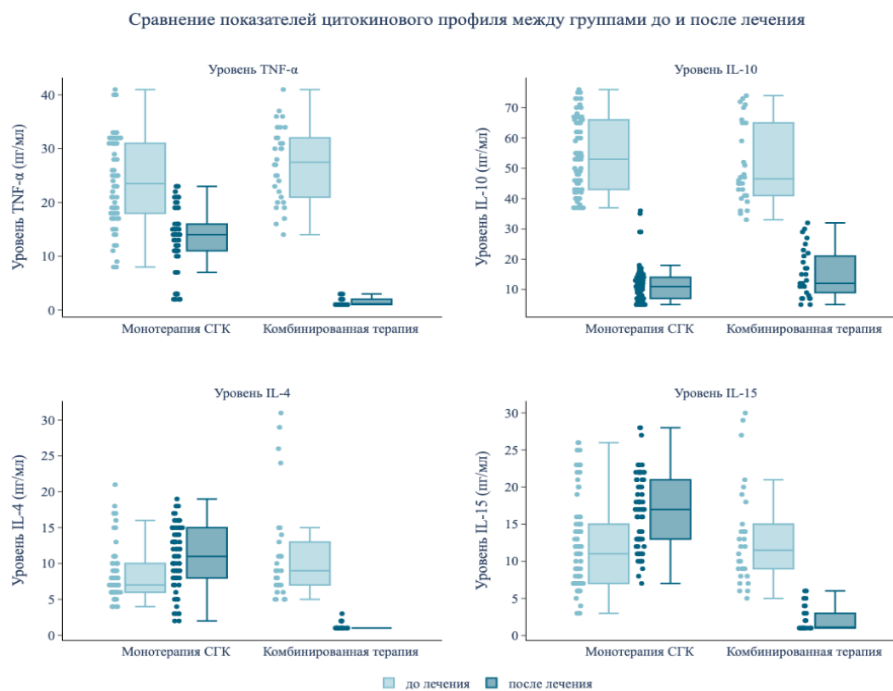
За 3-х-летний период наблюдения, рецидив АП наблюдался у одного больного с полной ремиссией в анамнезе на фоне полной отмены СГК и у двух пациентов с частичной ремиссией на фоне минимальной дозы СГК. Рецидив заболевания больные АП связывали с психоэмоциональным перенапряжением.

При оценке безопасности комбинированной терапии у трех пациентов за весь период наблюдения отмечалась головная боль, у двух – развитие кандидозной инфекции на слизистой оболочке полости рта, что в дальнейшем купировалось приемом системных антимикотиков. Каких-либо других серьезных и тяжелых побочных явлений, таких как тромбоэмболия, серьезные аллергические реакции, сердечно-сосудистые события (острая гипо- или гиперволемиа), почечная недостаточность и др. в проводимом исследовании не наблюдались.

3.17. Оценка уровня IL10, IL15, IL4, TNF- α , CCL11, CXCL8 и гранулизина, а также динамики данных показателей у стероид-резистентных и стероид-чувствительных больных акантолитической пузырьчаткой в сыворотке до и после лечения монотерапией системными глюкокортикостероидами и комбинированной терапией плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином

На фоне проводимой терапии в обеих группах наблюдалось статистически значимое снижение уровня IL10, TNF- α , хемокинов CCL11, CXCL8 и гранулизина ($p < 0,05$) (Приложение А, Таблица А.12).

Однако, у стероид-резистентных больных, после курса комбинированной терапии СГК, плазмаферезом и внутривенным IVIG наблюдалось статистически значимое снижение уровня цитокинов IL4 (Ме 1 пг/мл), IL15 (Ме 1 пг/мл), TNF- α (Ме 1 пг/мл) по сравнению с таковыми в группе пациентов, находившимися на монотерапии СГК – IL4 (Ме 11 пг/мл), IL15 (Ме 17 пг/мл), TNF- α (Ме 14 пг/мл) ($p < 0,01$). Следует отметить, что уровень IL10 достоверно снижался в обеих группах после проводимого лечения ($p < 0,05$) (Рисунок 111, Таблица А.12, Таблица А.13) [116].



Примечание: у стероид-резистентных больных «до лечения» - на фоне минимальной дозы СГК (≤ 20 мг/сут преднизолона) перед началом комбинированной терапии IVIG + плазмаферез; «после лечения» - спустя 3 месяца после завершения последнего курса. У стероид-чувствительных больных «до лечения» - на фоне снижения малых доз СГК (≤ 20 мг/сут) в период частичной ремиссии; «после лечения» - в ремиссии заболевания (см. далее рис. 112, 113).

Рисунок 111 – Сравнительная характеристика уровней цитокинов сыворотки в основной и контрольной группах до и после лечения (авторский рисунок)

Уровень CCL11 в сыворотке в основной группе до начала лечения IVIG и плазмаферезом был статистически значимо выше (Me 122,5 пг/мл) по сравнению с пациентами, получавшими монотерапию СГК (Me 75 пг/мл; $p < 0,05$) (Рисунок 112) [116]. В обеих группах после лечения уровень CCL11 достоверно снижался ($p < 0,05$). Однако, после проводимой терапии в основной группе больных (комбинированная терапия; Me 3,5 пг/мл) уровень хемокина CCL11 был достоверно ниже по сравнению с группой контроля (монотерапия СГК; Me 51 пг/мл; $p < 0,05$) (Рисунок 112; Приложение А, Таблица А.12, А.13).

Сравнение показателей хемокинового профиля между группами до и после лечения

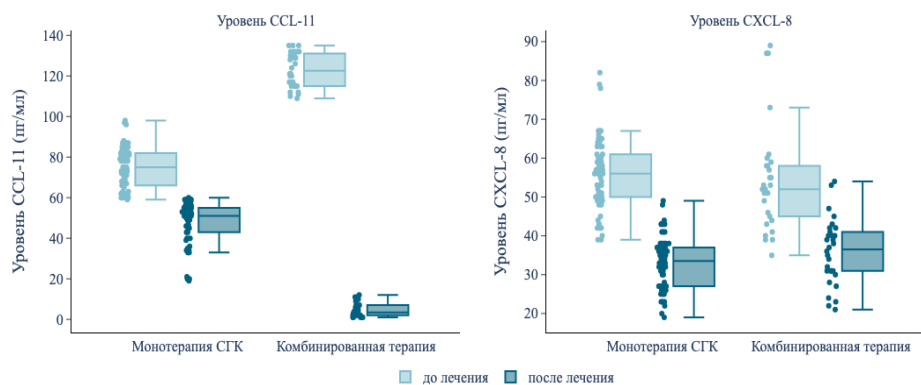


Рисунок 112 – Сравнительная характеристика уровня хемокинов CCL11 и CXCL8 в сыворотке в основной и контрольной группе до и после лечения (авторский рисунок)

Уровень гранулизина после курса терапии в группе стероид-резистентных больных (основная группа) (Me 2066 нг/мл) также был статистически значимо ниже по сравнению с группой контроля (Me 3176 нг/мл; $p < 0,01$) (Рисунок 113). Таким образом, можно предположить, что IVIG может воздействовать на цитотоксические Т-лимфоциты и NK-клетки при АП [116]. Однако в группе контроля также наблюдалось его достоверное снижение после монотерапии СГК ($p < 0,05$) (Рисунок 113).



Рисунок 113 – Сравнительная характеристика уровня гранулизина в основной и контрольной группе до и после лечения (авторский рисунок)

Таким образом, в сыворотке стероид-резистентных больных АП до лечения комбинированной терапией СГК, плазмаферезом и человеческим IVIG наблюдался

статистически значимо более высокий уровень CCL11 по сравнению с группой контроля. Полученные данные свидетельствуют о том, что хемокин CCL11 можно рассматривать в качестве потенциального биомаркера рефрактерного течения АП, а также его использования в качестве терапевтической мишени в будущем.

В группе СР пациентов, получавших комбинированную терапию плазмаферезом и внутривенным человеческим IVIG после лечения уровень цитокинов IL4, IL15, TNF- α , хемокина CCL11, а также гранулизина был статистически значимо ниже по сравнению с группой пациентов, получавших монотерапию СГК, что подтверждает его иммуномодулирующее и адьювантное действие.

ГЛАВА 4. КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ

4.1. Клинический случай №1

Пациент К., 64 лет считает себя больным с мая 2020 года, когда впервые отметил появление эрозий в области волосистой части головы, появившихся (со слов пациента) после травмы. Через месяц высыпания постепенно распространились по всей поверхности кожи волосистой части головы в виде пузырей с вялой покрывкой. Появление высыпаний усиливалось под воздействием ультрафиолета в летний период.

Спустя 4 месяца обратился в КВД по месту жительства, где выставлялись предположительные диагнозы «Псориаз», «Красный плоский лишай». Лечение: антигистаминные препараты, СГК (преднизолон в дозе 15 мг/сутки совместно с корригирующей терапией). Однако через три дня от начала лечения в связи с побочными эффектами в виде повышения артериального давления до 150/100 мм рт.ст. и чувством перебоев в работе сердца больной самостоятельно отменил преднизолон.

В октябре 2020 года пациент обратился к врачу-дерматовенерологу в КДЦ «ГНЦДК» Минздрава России, где был проведен цитологический анализ на акантолитические клетки, который показал положительный результат, а также гистологическое исследование. Заключение: эпителий утолщен с незначительным акантозом и гиперкератозом, на большем протяжении биоптата расположен супрабазальный пузырь, в просвете которого отмечались акантолитические клетки; дно пузыря представлено диссоциированными базальными клетками с образованием «щетки», фиксированных к базальной мембране. Область базальной мембраны была без изменений. Дерма отечна, в сосочковом слое наблюдались диффузные преимущественно лимфоцитарные инфильтраты, с примесью единичных эозинофилов. Был выставлен диагноз «Вульгарная пузырчатка». В стационаре проводилась только топическая терапия (крем Унны, раствор фукоцина, крем с фузидовой кислотой и бетаметазоном) – без эффекта. Весной

2021 года обратился в поликлинику по месту жительства, где проводилась инъекционная терапия препаратами, название которых больной не помнил – без эффекта.

В сентябре 2021 года больной обратился в ЛДО УКБ№2 им. В.А. Рахманова (Сеченовский Университет). Для уточнения диагноза был рекомендован иммуноферментный анализ (ELISA) на антитела (IgG) к десмоглеинам 1 и 3, который продемонстрировал высокий титр антител (88,93 RU/ml; N<20 RU/ml) к десмоглеину 1. Диагноз «Себорейная пузырчатка» был подтвержден. С 11.10.2021 по 29.10.2021 год пациент находился в дерматовенерологическом отделении клиники УКБ№2 им. В.А. Рахманова с диагнозом: «Себорейная пузырчатка». Кожный процесс носил хронический воспалительный характер. Высыпания локализовались преимущественно на коже волосистой части головы и были представлены расположенными на эритематозном фоне множественными крупными эрозиями ярко красного цвета, неправильных очертаний около 2-3 см в диаметре, частично покрытыми гнойно-геморрагическими корками с обрывками эпителия по периферии (Рисунок 114, А).

Больному был назначен азатиоприн в дозе 100 мг/сут, антибактериальная и противомикотическая терапия с целью предотвращения присоединения вторичной инфекции, а также топические глюкокортикостероиды. Из сопутствующих заболеваний обращали на себя внимание гипертрофическая кардиомиопатия с обструкцией выносящего тракта левого желудочка, ИБС, атеросклеротический кардиосклероз, артериальная гипертензия II стадии, 3 степени, очень высокий риск, атеросклероз аорты, коронарных и мозговых артерий, нарушение ритма сердца, пароксизмальная форма фибрилляции предсердий, пароксизмы неустойчивой желудочковой тахикардии, ХСН IIА, NYHA 2 ФК, ожирение 2 ст., жировой гепатоз, дискинезия желчевыводящих путей.

В лабораторных анализах наблюдалось снижение % протромбина по Квику – 28% (N: 70-130%), повышение МНО (международное нормализованное отношение) – 2,7 (N: 0,9-1,16) и протромбинового времени – 29,3 сек (N: 9,4-12,5 сек). Больной был консультирован врачом-кардиологом на предмет назначения

СГК по поводу себорейной пузырчатки и коррекции терапии сопутствующих заболеваний. Так, пациент получал торасемид 2,5 мг/сут, метопролол 50 мг/сут, перинева 4 мг/сут, варфарин 2,5 мг/сут, розувастатин 10 мг/сут. По решению врачебного консилиума от 18.10.2021 года к проводимой терапии был добавлен преднизолон в дозе 40 мг/сутки. На фоне проведенного лечения со стороны кожного процесса отмечалась положительная динамика в виде уменьшения яркости окраски высыпаний, эпителизации эрозий на 40-50% (Рисунок 114, Б).

После выписки был продолжен курс терапии преднизолоном в дозе 40 мг/сут, азатиоприном (100 мг/сут) и корригирующими препаратами в течение месяца с положительным эффектом в виде регресса высыпаний на 90%. Наблюдались единичные мелкие эрозии на коже волосистой части головы. Далее по решению проведенных последующих врачебных консилиумов – дозировка преднизолона и азатиоприна под контролем общего состояния пациента (АД, ЧСС) и анализов крови (ОАК, БХ, коагулограмма) была снижена до 20 мг/сут и 50 мг/сут соответственно, а также усилена местная терапия на оставшиеся очаги поражения, которая включала чередование мази, состоявшей из 0,2 г циклофосфана и 100 г вазелина с топическими стероидами высокой силы действия (мазь «Дермовейт» 2 р/сут).

Для контроля заболевания, а также пролонгирования ремиссии себорейной пузырчатки больному был рекомендован курс комбинированной терапии дискретным плазмаферезом (4 сеанса в неделю через день) и внутривенным человеческим IVIG. Сразу после завершения курса плазмафереза к проводимому лечению добавлялся IVIG в общей дозе 0,2 г/кг, разделенной на 5 ежедневных медленных вливаний по 0,04 г/кг. Курс повторяли три раза с интервалом в 6 месяцев. На фоне проводимой терапии в течение двух месяцев больной достиг стойкой полной ремиссии на фоне минимальной дозы СГК (10 мг/сут) (Рисунок 114, В). За период наблюдения в три года рецидива заболевания отмечено не было.

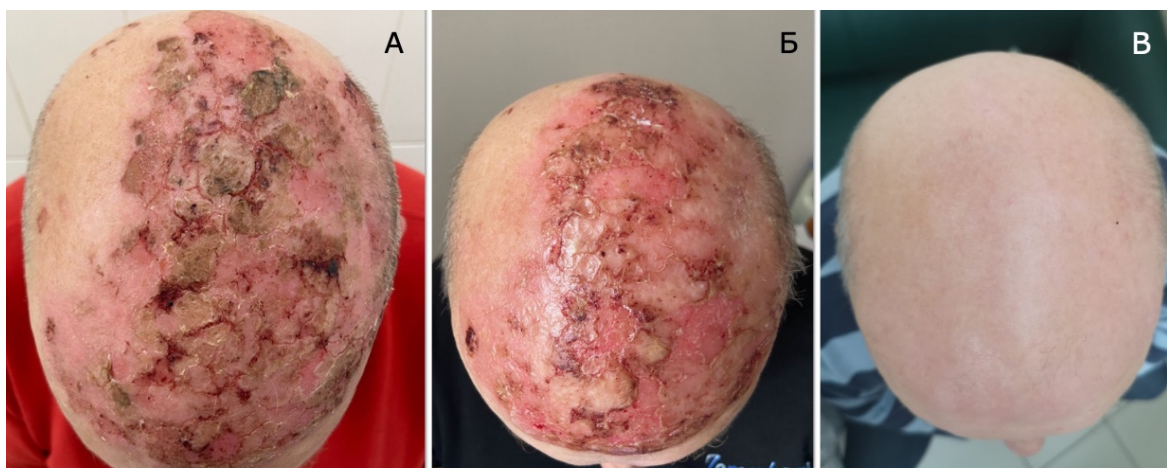


Рисунок 114 – Больной К. Диагноз: себорейная пузырчатка. Длительность заболевания – 5 лет (А – до начала лечения СГК и азатиоприном; Б – в процессе терапии СГК, азатиоприном, а также комбинированной терапией плазмаферезом и внутривенным человеческим IVIG; В – ремиссия заболевания на фоне минимальной дозы СГК (10 мг/сут). Длительность ремиссии составила три года (авторский рисунок)

4.2. Клинический случай №2

Больной К., 75 лет считает себя больным с апреля 2021 года, когда впервые отметил появление высыпаний на коже правого плеча, которые пациент самостоятельно обрабатывал спиртовым раствором – без эффекта. Через некоторое время отмечалось ухудшение кожного процесса в виде появления новых высыпаний на коже туловища. Пациент обратился в хирургическое отделение ФГАОУ «Лечебно-реабилитационный центр» Министерства здравоохранения РФ, где была проведена диагностическая биопсия (17.06.2021 г.). Микроскопическое описание: в представленном материале фрагменты трихоэпителиомы с явлениями травматизации. Заключение: «травмированная трихоэпителиома кожи плеча».

В последующем больной отметил ухудшение со стороны кожного процесса в виде появления новых элементов на коже туловища и конечностей, а с декабря 2021 года – в области волосистой части головы. В связи с чем обратился в ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, где была проведена диагностическая биопсия (15.02.2022 г.). Микроскопическое описание: доброкачественное образование из придатков кожи строения трихоэпителиомы. Был выставлен диагноз: другие доброкачественные новообразования кожи туловища. Далее был

взят соскоб с эрозий кожи волосистой части головы справа (16.02.2022 г.). Заключение: «мазок представлен большим количеством клеток типа плоского эпителия без четких признаков атипии; имеются единичные комплексы базально-клеточной пролиферации. Цитологическая картина соответствует новообразованию из придатков кожи без четких признаков злокачественности».

После чего была проведена биопсия элемента с кожи поверхности передней грудной стенки (25.02.2022 г.). Микроскопическое описание: «изъязвленная базальноклеточная карцинома кожи солидного строения, с инвазией в сосочковый слой дермы на глубину менее 1 мм. Край резекции – интактен». Морфологическое заключение: «базальноклеточная карцинома кожи солидного строения». После чего 18.03.2022 г. пациент был госпитализирован в ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России с диагнозом «Базальноклеточный рак кожи передней брюшной стенки (T2N0M0, стадия IIА, II клиническая группа)». Сопутствующие заболевания: стоматит, трихоэпителиома волосистой части головы, множественная трихоэпителиома туловища.

В начале февраля 2022 г. в связи с нестабильностью зубных протезов также отметил появление множественных язв и эрозий на слизистой оболочке полости рта. При дерматоскопии опухолевого очага на коже выявлены множественные извитые и древовидные сосуды, характерные для базальноклеточного рака. Выполнен поверхностный соскоб с последующим цитологическим исследованием, которое подтвердило диагноз базальноклеточного рака кожи, демонстрируя наличие базалоидных клеток с периферическим расположением ядер. 18.03.2022 г. был проведен онкологический консилиум №62951. По результатам полученных исследований, было показано проведение хирургического лечения в виде широкого иссечения образований кожи передней брюшной стенки. По результатам гистологического исследования биоптата слизистой оболочки ротоглотки справа (окраска гематоксилин-эозином): выявлена гнойно-некротическая ткань с признаками вторичной бактериальной инфекции. Обнаружены фрагменты многослойного плоского эпителия с реактивными изменениями (гиперплазия, воспалительная инфильтрация), без подлежащего стромального компонента. В

строме отмечался фиброз с включениями ткани малых слюнных желез. Покровный эпителий демонстрировал признаки регенерации в области поверхностной эрозии. Достоверные признаки злокачественного новообразования в исследуемом материале не обнаружено. Больной был выписан 21.03.2022 г. с улучшением.

В апреле 2022 г., в связи с ухудшением кожного процесса в виде разрастания эрозий и появления новых высыпаний. При осмотре: кожный процесс хронического воспалительного характера. Высыпания локализовались на коже волосистой части головы, живота, спины, верхних и нижних конечностей, а также слизистой оболочке полости рта и были представлены единичными пузырями размером до 1 см в диаметре с дряблой покрывкой и серозным содержимым, множественными эрозиями ярко розового цвета, округлых и овальных очертаний, покрытых геморрагическими и гнойно-геморрагическими корками (Рисунок 115, А). По краям отдельных эрозий, не покрытых корками, определялись остатки покрывок пузырей. На поверхности кожи кистей, в области пальцевых складок наблюдались глубокие трещины. Краевой феномен Никольского был положителен. Кожа вне очагов поражения бледно-розовой окраски. Волосы и ногтевые пластинки кистей и стоп не изменены. Субъективно: наблюдалась выраженная болезненность при приеме пищи и механическом воздействии.

Больной был консультирован профессором кафедры кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова Сеченовского Университета Теплюк Н.П. Для уточнения диагноза было рекомендовано проведение гистологического исследования и реакции прямой иммунофлюоресценции (прямая РИФ).

Гистологически в нижних слоях эпидермиса был обнаружен супрабазальный акантолиз с формированием внутриэпидермальной щели или пузыря над базальным слоем. В полости пузыря определялись единичные акантолитические клетки с округлыми и гиперхромными ядрами. В дерме определялась слабовыраженная лимфоцитарная инфильтрация. пРИФ продемонстрировала фиксацию иммуноглобулинов класса G (IgG), а также компонента C3 в межклеточных пространствах эпидермиса. Диагноз «Вульгарная пузырьчатка» был подтвержден. Было назначено лечение: преднизолон в дозе 80 мг/сут, азатиоприн

100 мг/сут, топические стероиды, а также корректирующая терапия (аспаркам по 1 т 3 р/сут, омепразол 20 мг по 1 т 2 р/сут, метронидазол 250 мг по 1 т 3 р/сут, кальций Д3 никомед по 1 т 3 р/сут, флуконазол 150 мг по 1 т 1 раз в три дня). На фоне проводимой терапии в течение трех недель отмечалась положительная динамика в виде регресса высыпаний на 60% (Рисунок 115, Б). Доза преднизолона была снижена до 70 мг/сут. В дальнейшем при достижении дозировки преднизолона 20 мг/сут у больного наблюдались единичные эрозии на коже волосистой части головы, в связи с чем был рекомендован курс комбинированной терапии плазмаферезом (4 сеанса дискретного плазмафереза в неделю через день) и внутривенным человеческим IVIG (общая доза препарата составила 0,2 г/кг на один курс, который состоял из пяти внутривенных вливаний препарата в дозе 0,04 г/кг на процедуру) один раз в 6 месяцев (всего – 3 курса комбинированной терапии). На фоне проводимого лечения уже в течение первого месяца после первой процедуры отмечалась положительная динамика в виде полного регресса высыпаний (Рисунок 115, В). За трехлетний период наблюдения рецидивов заболевания у больного зарегистрировано не было.



Рисунок 115 – Больной К. Диагноз: вульгарная пузырчатка. Длительность заболевания – 4 года (А – до начала лечения СГК и азатиоприном; Б – в процессе терапии СГК, азатиоприном, а также комбинированной терапией плазмаферезом и внутривенным человеческим IVIG; В – ремиссия заболевания на фоне минимальной дозы СГК (10 мг/сут). Длительность ремиссии составила три года (авторский рисунок)

4.3. Клинический случай №3

Больной С., 38 лет считает себя больным с января 2023 года, когда впервые отметил высыпания на коже волосистой части головы. Через две недели пациент отметил распространение воспалительного процесса на слизистую оболочку полости рта. Обращался к дерматовенерологу по месту жительства. Диагноза выставлено не было. Лечение: топические стероиды и раствор метиленового синего – без эффекта. Отмечалось ухудшение кожного процесса в виде распространения высыпаний на кожу туловища, верхних и нижних конечностей.

В июле 2023 г. больной находился на стационарном лечении в брянском КВД с диагнозом «Вульгарная пузырчатка», где было выполнено исследование на акантолитические клетки. Результат был положительным. Получал следующее лечение: преднизолон 90 мг в/в капельно №3, затем преднизолон 60 мг в/в капельно №9, преднизолон 30 мг в/м №6, топические глюкокортикостероиды, цефтриаксон 1 г в/м №10, флуконазол. Далее больному был назначен преднизолон в дозе 90 мг/сут с последующим медленным снижением по одной таблетке в неделю. При достижении дозы преднизолона в 6 таблеток у пациента отмечалось обострение кожного процесса в виде появления новых высыпаний на коже лица, туловища и конечностей.

Однако в ноябре 2023 г. больной самостоятельно отменил таблетированный преднизолон и применял топические стероиды на область высыпаний («мазь Акридерм»). В декабре 2023 пациент был госпитализирован в УКБ№2 им. В.А. Рахманова. Диагноз «Вульгарная пузырчатка» был подтвержден гистологически и иммуногистохимически. Со стороны анализов крови обращали на себя внимание нейтрофилез – абс. $11,28 \times 10^9/\text{л}$ (N: $1,8-7,7 \times 10^9/\text{л}$), снижение среднего содержания гемоглобина в эритроците до 26 пг при норме: 27-34 пг и цветового показателя до 0,78 (N: 0,85-1,05). В биохимическом анализе крови наблюдалось снижение уровня общего белка до 64 г/л (N: 65-85 г/л). Лечение: 100 мг преднизолона в сутки, корригирующая терапия (омепразол, аспаркам, кальций-Д3 никомед), системные антибиотики, азатиоприон 100 мг/день – с положительным эффектом. Через два

месяца больной отметил ухудшение кожного процесса и в феврале 2024 года был снова госпитализирован в УКБ№2 им. В.А. Рахманова, где получал 40 мг (8 таблеток) преднизолона в день с последующим снижением до 4 таблеток, азатиоприон в дозе 50 мг/сут, корригирующую терапию, топические стероиды – с положительным эффектом.

В июне 2024 года в связи с обострением кожного процесса больной был госпитализирован в КВД города Брянска, где доза преднизолона была снова повышена до 90 мг/сут, также было назначено внутривенное введение преднизолона (дозу и кратность уточнить затрудняется) – с положительным эффектом. Тем не менее, при снижении дозы преднизолона до 20 мг/сут на фоне выраженного психоэмоционального стресса больной отметил ухудшение состояния в виде появления множественных пузырей с дряблой покрывкой на слизистой оболочке полости рта, коже волосистой части головы, лица, туловища, верхних и нижних конечностей в связи с чем в октябре 2024 года был снова госпитализирован в клинику УКБ№2 им. В.А. Рахманова Сеченовского университета. Кожный процесс носил хронический воспалительный характер. Высыпания были представлены множественными эрозиями ярко-красного цвета, неправильных и овальных очертаний, с резкими границами, покрытыми гнойно-геморрагическими плотными корками. Феномен Никольского был положителен (Рисунок 116, А, Б). Преднизолон был заменен на метипред в дозе 56 мг/сут (14 таблеток), которую больной получал в течение месяца. Дозировка азатиоприна также была увеличена до 100 мг/сут. На фоне проводимой терапии наблюдалась положительная динамика в виде регресса высыпаний на 60-70%. Постепенно доза метипреда была снижена до 20 мг/сут. К проводимой терапии был добавлен курс дискретного плазмафереза и внутривенного человеческого IVIG. Пациент получал три курса плазмафереза в неделю через день, после чего сразу же по окончании последней процедуры к проводимому лечению добавлялся внутривенный IVIG ежедневно №5 в дозе 0,04 г/кг на одно вливание. На фоне проводимой терапии наблюдалась положительная динамика в виде регресса высыпаний на 70-80% с исходом в гиперпигментацию (Рисунок 116, В, Г). Пациент прошел еще два курса комбинированной терапии

плазмаферезом и внутривенным человеческим IVIG кратностью один раз в полгода. Поддерживающая доза метипреда составляла 2 т/сут (8 мг). Ремиссия заболевания составила один год.



Рисунок 116 – Больной С. Диагноз: вульгарная пузырчатка. Длительность заболевания – 2 года. (А, Б – в процессе терапии СГК (доза 20 мг/сут), азатиоприном (50 мг/сут) в момент нового обострения (октябрь 2024 г); В, Г – на фоне комбинированной терапии плазмаферезом и внутривенным человеческим IVIG (спустя 2 недели от первой процедуры – регресс высыпаний с исходом в стойкую гиперпигментацию) (авторский рисунок)

ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ

БД представляют собой тяжелые жизнеугрожающие, органоспецифические, мультифакториальные заболевания, в основе развития которых лежит генетическая предрасположенность. Исследование генетических механизмов позволяет выявить гены и молекулы, участвующие в развитии и прогрессировании множества БД, включая АП, БП и ССД/ТЭН, оптимизировать диагностику данных дерматозов, а также помочь спрогнозировать ответ пациента на проводимую терапию, течение заболевания и вероятность развития рецидивов.

HLA представляют собой группу антигенов гистосовместимости, насчитывающую более 150 различных иммуногенов. На шестой хромосоме расположено множество генов, связанных с иммунным ответом. Молекулы HLA II класса играют ключевую роль в представлении антигенов из внеклеточного пространства Т-лимфоцитам и способствуют активации Т-хелперов, которые, в свою очередь, стимулируют В-клетки к выработке антител при БД [43, 301].

Благодаря своей полиморфности молекулы HLA II класса кодируют различные варианты с разной аффинностью связывания, что обеспечивает более эффективное взаимодействие переменного антигенного пептида с CD4+ клетками. В частности, было установлено, что Т-клетки, регулируемые HLA DRB1*04:02 аллелем, демонстрируют повышенную тропность к десмоглеинам 1 и 3, что непосредственно запускает механизмы акантолиза при АП [43].

Аналогичный механизм прослеживается и при БП. Так, с точки зрения механизмов его патогенеза активация антиген-специфичных В-клеток и выработка антител IgG зависят от взаимодействия между Т-клеточными рецепторами и молекулами HLA II класса [7, 302].

Противоэпилептические препараты, аллопуринол и некоторые противовирусные средства, такие как абакавир, продемонстрировали связь с молекулами HLA в различных популяциях у больных ССД/ТЭН [212]. Полиморфизм HLA при тяжелых жизне-угрожающих аллергических реакциях зависит от антиген-связывающих углублений, расположенных в нижней части

молекулы HLA-B*57:01. Например, абакавир, используемый в терапии ВИЧ, связываясь с данным углублением, приводил к изменению его конформации и химических характеристик, что в свою очередь, определяет спектр эндогенных пептидов, способных связываться с HLA-B*57:01 [10, 303].

На сегодняшний день в научной литературе опубликовано около 145 исследований, посвященных распространенности аллелей HLA-DRB1 и DQB1 у больных АП в различных популяциях. Увеличение их частоты наблюдалось среди множества популяций, включая еврейскую, турецкую, итальянскую, словацкую, тунисскую, японскую, марокканскую, иранскую, сирийскую, немецкую, английскую, голландскую, мексиканскую и другие [43, 304, 305].

В проводимом исследовании на уровне низкого разрешения было установлено, что аллели HLA-DRB1*04 (41,86%) и DRB1*14 (24,4%) встречались статистически значимо чаще у больных ВП и ЛП по сравнению со здоровыми донорами ($p < 7,35 \times 10^{-7}$). Данные аллели могут рассматриваться с точки зрения потенциальных генетических биомаркеров, предрасполагающих к развитию заболевания. В то же время, аллели HLA-DRB1*11 (21,74%), DRB1*16 (10,87%) и DRB1*03 (8,70%), напротив, статистически значимо чаще наблюдались среди здоровых доноров, что указывает на их защитную роль для российской популяции [43]. В исследовании Дрождиной М.Б. 2024 HLA-DRB1*04, DRB1*14 и DRB1*03 аллели в низком разрешении ассоциировались с ВП [44]. Однако, к протективным аллелям по отношению к развитию ВП в данном и исследовании относились DRB1*15, DRB1*17, DQB1*02:01, DQB1*03:03 и DQA1*02:01 [44]. Такая разница в протективных аллелях связана с гетерогенным этническим профилем в российской популяции с влиянием славянских, еропеоидных, еврейских, финно-угорских и других этнических групп. Кроме того, исследование Дрождиной фокусировалось на выборку больных с ВП, что, вероятно, привело к выявлению более узкого спектра аллелей.

В проводимом нами исследовании оценивались и другие формы АП, включая ВП, ВегП, ЛП и ПНП, аллельные варианты которых согласно данным литературы, также различались [306]. Следует отметить, что выявленные различия в

результатах были обусловлены размером выборки больных. Так, например, в проводимом нами исследовании группа больных АП составила 107 человек (ВП – 86, ЛП – 13, ВегП – 2, ПНП – 6), в другом – 49 (ВП).

Таким образом, на данное разнообразие аллельных вариантов могли влиять и эпигенетические факторы, такие как стресс, инфекции, прием лекарственных препаратов, климатические условия, которые регулируют экспрессию HLA-зависимых иммунных ответов. Более того, различия могли быть обусловлены сцепленным неравновесием, при котором определенные комбинации аллелей (гаплотипы) наследуются совместно чаще, чем предполагалось, а также размером выборки.

На уровне высокого разрешения аллель DRB1*04:02 оказался предрасполагающим ко всем формам пузырчатки, включая ПНП [43].

Однако при сравнении распределения HLA-DRB1 и DQB1 аллелей у больных ПНП в других популяциях наблюдались различия. Следует отметить, что в исследовании Martel P. 2003 et al. обнаруживалась статистически значимая ассоциация HLA-DRB1*03 аллеля с ПНП во французской популяции [306]. В южной турецкой популяции, наоборот, у пациентов с ПНП достоверно чаще фиксировался аллель DRB1*14 по сравнению с другими разновидностями АП (ВП, ЛП, ВегП) $p < 0,001$ [307].

В российской популяции аллель DRB1*14:05 также наблюдался значимо чаще у пациентов с ВП (14,86%) и ЛП (23,08%) по сравнению с группой контроля (3,26%; $p < 0,02$; $p < 0,007$). В то же время, аллель DRB1*11:04 проявил защитные свойства, так как его частота была в 3,7 раза выше среди здоровых доноров [43].

Это согласуется с некоторым данным литературы. Так, вариант гена DRB1*11:04 защищал бразильскую популяцию от развития ЛП ($p = 0,037$) [308]. Интересно, что для словацкой популяции протективными аллелями являлись DRB1*13 и DRB1*07 [309]. В Италии к таким аллелям относился DRB1*07 [310]. В болгарской и турецкой популяциях генетический вариант DRB1*03:01 носил защитный характер в отношении развития АП [311, 312].

На уровне низкого разрешения по HLA-DQB1 аллелям в проводимом нами исследовании статистически значимой разницы выявлено не было. Однако при высоком разрешении шансы получить DQB1*03:02 аллель были в 7,09 раз выше у больных ЛП (53,85%) и в 2,49 для пациентов с ВП (29,07%) по сравнению с контрольной группой (14,13%, $p < 0,002$; $p < 0,03$) [43].

Следует также отметить, что DQB1*05:03 аллель был предрасполагающим для развития ВП (26,74%) и ПНП (50%) по сравнению с группой здоровых доноров (10,87%, $p < 0,01$; $p < 0,034$) [313].

В то время как аллель DQB1*03:01 являлся протективным по отношению к развитию АП. Тем не менее, данный генетический вариант у обследуемых нами больных ассоциировался с тяжелым и рефрактерным течением заболевания. По другим DRB1 и DQB1 аллелям на уровне высокого и низкого разрешений статистически значимых различий обнаружено не было.

HLA-DQB*03:01 аллель в исследовании случай-контроль также носил протективный по отношению к развитию АП характер в иранской популяции [314]. Однако в других популяциях наблюдались некоторые различия по протективным HLA-DQB1 аллелям. Так, например, DQB1*06:01 и DQA1*01:03 аллели защищали японскую популяцию от развития АП [315]. В словацкой, турецкой, индийской и тунисской популяциях к таким аллельным вариантам относился DQB1*06 [309, 311, 316, 317]. Во французской, английской, турецкой, бразильской (смешанные этнические группы) популяциях DQB1*02 аллель носил защитный характер [48, 307, 311, 318, 319].

Таким образом, полученные результаты исследования не противоречат данным по распределению HLA-DRB1 и DQB1 аллелей у больных АП в мировой популяции [28, 320, 321].

Так, С.М. Veldman et al. 2004 обнаружили, что антигенпрезентирующие клетки, экспрессирующие аллели HLA-DRB1*04:02 или DQB1*05:03, играют ключевую роль в представлении десмоглеина Дсг3 аутореактивным CD4+ Т-клеточным клоном [322].

В свою очередь, D. Zivanovic et al. 2016, исследуя частоту аллелей DRB1*04 и DRB1*14 у пациентов с АП в сербской популяции, также установили, что аллели DRB1*04:02, DQB1*03:02 и DQB1*05:03 предрасполагали к ее развитию [323].

Кроме того, Slomov E et al. 2003 продемонстрировали, что более 90% евреев ашкенази, страдавших АП, являлись носителями DRB1*04:02 аллеля [324]. Аналогичные гены встречались и во французской популяции. Авторы выявили достоверно высокую частоту встречаемости DRB1*04 и DRB1*14 аллелей у больных ВП и ЛП соответственно [306]. Следует отметить, что HLA DRB1*14:54 аллель в европейской популяции был ключевым предрасполагающим фактором к развитию АП [318].

Похожие данные по распространенности HLA-DQB1 аллельных вариантов наблюдались у больных АП в американской популяции. Так у этих больных отмечалась корреляция DQB1*05:03 аллеля с АП ($p=1,39 \cdot 10^{-9}$) [325].

Вместе с тем, способность антиген-презентирующих клеток, экспрессирующих различные молекулы HLA, к презентации антигенных пептидов Дсг3 остается недостаточно изученной. Неясно, могут ли такие клетки, несущие наиболее распространенные молекулы HLA, инициировать аутореактивный ответ, поскольку некоторые пациенты также могут являться носителями других аллелей, таких как DQB1*05:03 или DQB1*03:01 [43, 326].

Кроме того, у пациентов с наличием аллеля DRB1*04:02, главный комплекс гистосовместимости HLA II класса может образовывать комплекс с одним или двумя пептидами, полученными в результате процессинга молекулы клеточной адгезии Дсг3. Данное взаимодействие пептидов определяется заменой аминокислот в 70-й и 71-й позициях. Сформированный пептидный комплекс затем активирует специфические Т-клетки, которые секретируют цитокины. Этот процесс запускает продукцию аутоантител, специфичных к Дсг3, направленных на молекулы адгезии кератиноцитов, что клинически проявляется образованием интраэпидермального пузыря [324].

Согласно ряду исследований, Дсг-специфические Т-клетки, изолированные *in vitro* у пациентов с АП, способны распознавать несколько фрагментов

внеклеточных участков Дсг у одного и того же пациента. Однако преобладающий эпитоп в настоящее время установить не удалось [322, 327, 328].

Следует отметить, что в проводимом исследовании гаплотипы DRB1*04/DQB1*05, DRB1*14/DQB1*03 встречались достоверно чаще у больных АП по сравнению с группой контроля ($p < 0,00067$; $p < 0,008643$), что делает их предрасполагающими факторами развития АП в российской популяции. В высоком разрешении к таким гаплотипам относились DRB1*04:02/DQB1*05:03, DRB1*04:02/DQB1*05:01, DRB1*04:02/DQB1*03:02, DRB1*14:05/DQB1*03:02 и DRB1*14:04/DQB1*03:02 ($p < 0,01$). Полученные результаты соответствуют данным HLA-типирования в словацкой популяции [329, 330].

При сравнении полученных результатов с распространенностью гаплотипа DRB1/DQB1 у больных АП в других популяциях наблюдались некоторые различия. Например, в болгарской популяции с пузырьчаткой положительно коррелировали HLA-DRB1*04:02/DQB1*03 и DRB1*14/DQB1*05 гаплотипы, в то время как DRB1*03:01/DQB1*02 и DRB1*11/DQB1*03 носили протективный в отношении ее развития характер. Однако DRB1*11 и DQB1*03:01 аллельные варианты, наоборот, способствовали формированию акантолиза у больных АП в итальянской популяции [331].

HLA-DRB1*04:02:01 и HLA-DRB1*14:01:01/14:54 гаплотипы значимо чаще встречались у больных АП в египетской и немецкой популяциях ($p = 4,6E-4$) [45, 300]. Следует отметить, что аллели HLA-DRB1*14:54 и HLA-DRB1*14:01:01 отличались лишь в области, не относящейся к сайту связывания антигена. Данное различие было обусловлено полиморфизмом нуклеотидов на экзоне 3, который приводил к замене кодона 112 (тирозин заменялся на гистидин) [45, 300]. Тот факт, что одни и те же ассоциации наблюдались у пациентов из разных этнических групп, подчеркивает сильное влияние этих генов на развитие пузырьчатки [45, 300]. Тем не менее, в египетской популяции гаплотип HLA-DRB1*08:04:01 не находился в состоянии связанного равновесия с уже известными аллелями, ассоциированными с АП [45, 300].

В настоящее время количество исследований относительно взаимосвязи между некоторыми гаплотипами и степенью тяжести заболевания ограничено. Согласно работе Vuong T. B. T. et al. 2021 во вьетнамской популяции за более легкое течение заболевания отвечал HLA-DRB1*04 аллель [300, 304]. Однако, в словацкой популяции высокая концентрация анти-Дсг3 IgG наблюдалась у носителей DRB1*04:02 аллеля по сравнению с пациентами, у которых данный аллельный вариант отсутствовал ($z=-3,701$; $p=0,00$). Кроме того, корреляция между носительством определённых HLA-аллелей и степенью тяжести заболевания в данной работе не изучалась [332]. Следует отметить, что в исследовании Liu Q. et al. 2008 HLA-Cw*14 аллель коррелировал с тяжелым течением ПНП [333]. Таким образом, можно сделать вывод, что аллели и гаплотипы, связанные с тяжелым течением заболевания в разных популяциях различались. Эти различия обусловлены этнической и географической гетерогенностью распределения HLA-аллелей, сформированной в процессе эволюции под влиянием дрейфа генов, миграций и т.д.

В нашей работе наблюдалась тенденция к более высокой частоте встречаемости гаплотипов DRB1*04/DQB1*05 и DRB1*14/DQB1*03 именно у больных АП средней степени тяжести. Однако, распределение гаплотипов HLA у данных пациентов не зависело от наличия или отсутствия СР ($p>0,05$).

Вместе с тем, аллель HLA-DQB1*03:01 был одновременно связан с тяжелым и устойчивым к терапии СГК течением АП ($p=0,002$), тогда, как аллель HLA-DQB1*03:02 преимущественно преобладал у больных легкой степени тяжести.

Следующим этапом исследования являлась оценка распространенности HLA аллелей II класса (DRB1 и DQB1) у больных БП и ССД/ТЭН.

С точки зрения механизмов патогенеза БП активация специфичных к антигену В-клеток и выработка IgG-антител зависят от взаимодействия между Т-клеточными рецепторами и молекулами HLA II класса. Согласно данным литературы, к наиболее релевантным HLA аллелям, ассоциированным с развитием БП относятся DQB1*03:01, DQB1*05:01 и DQB1*10:01. Следует отметить, что представленные аллели значительно чаще встречались в китайской популяции [142].

Положительная корреляция с HLA-DQB1*03:01 также наблюдалась в иранской, немецкой и американской группах населения [138, 141, 334].

В проводимом нами исследовании было обнаружено, что шансов получить значение DRB1*14 на уровне низкого разрешения у пациентов с диагнозом БП (31,03%) было в 6,45 раза выше, чем для контрольной группы (6,52%; $p=0,0015$). Аллель DRB1*04 также статистически значимо чаще встречался у 27,59% больных БП по сравнению со здоровыми донорами (8,7%; $p<0,02$) [134]. Следует отметить, что для остальных значений HLA-DRB1 на уровне низкого разрешения, учитывая уровень статистической значимости 5%, достоверных результатов получено не было [134].

Стоит подчеркнуть, что в других популяциях наблюдались некоторые различия по спектру HLA-DRB1 аллелей. Так, у больных БП с поражением слизистых оболочек полости рта (СОР) в европейской (британской) популяции наблюдалась более высокая частота встречаемости DRB1*11 аллеля ($OR=2,08$, $p<0,0000056$) по сравнению со здоровыми донорами [146].

На уровне высокого разрешения у обследованных нами больных БП статистически значимо чаще встречался аллельный вариант DRB1*04:02 по сравнению с группой контроля ($p<0,01$). Для остальных разновидностей HLA-DRB1 аллелей в данном разрешении достоверных различий не наблюдалось [136].

На уровне низкого разрешения у этих же больных и здоровых доноров не было обнаружено значимых различий по аллелям DQB1 ($p>0,05$), тогда как на уровне высокого разрешения у пациентов с БП достоверно чаще выявлялся аллель HLA-DQB1*03:02 по сравнению с группой здоровых доноров ($p<0,01$). Для других аллелей HLA-DQB1 не было установлено статистически значимых различий ($p>0,05$) [136].

В исследовании H Fang et al. 2018, проведенном в китайской популяции пациентов с БП, была выявлена ассоциация с аллелями HLA I класса: A11:01, B37:01, G01:01 и G01:06. Кроме того, аллели HLA II класса DQA1*01:05, DQA1*05:05, DQA1*05:08, DQB1*03:01, DQB1*05:01, DRB1*10:01, а также гаплотип HLA-DRB1*13-DQA1*05-DQB1*03 значимо чаще наблюдались у

больных БП по сравнению со здоровыми добровольцами [142]. В английской и итальянской популяциях DQB1*03:01 аллель ассоциировался с поражением СОР у больных БП ($p < 0,00000028$ и $p = 0,001$ соответственно) [146, 335].

Следует отметить, что полученные нами результаты были схожи с данными других исследований. Например, в исследовании Setterfield J et al. 2001, посвященном оценке распространенности аллелей HLA-DRB1 и HLA-DQB1 II класса в английской популяции у больных БП, было установлено, что гаплотипы DRB1*04-DQB1*03:01 ($p < 0,000066$) и DRB1*11-DQB1*03:01 ($p < 0,000002$) значительно чаще встречались у больных БП по сравнению с группой контроля [146].

При анализе частоты встречаемости аллелей DRB1 и DQB1 у больных рубцующим БП во французской популяции было установлено, что DRB1*11:01 и DQB1*03:01 аллели ассоциированы с рефрактерным и тяжелым течением заболевания [336].

В нашем исследовании к аллелям риска тяжелого течения БП относились следующие варианты: HLA-DRB1*14 и DQB1*03:02 ($p = 0,008$; $p \approx 0,037$). Кроме того, не было обнаружено гаплотипов, которые встречались бы достоверно чаще у больных БП по сравнению со здоровыми добровольцами. Однако следует отметить, что у больных БП наблюдалась тенденция к более высокой частоте встречаемости гаплотипов DRB1*04/DQB1*05, DRB1*14/DQB1*03, DRB1*14/DQB1*05, DRB1*04:02/DQB1*05:03, DRB1*14:04/DQB1*05:02 и DRB1*14:05/DQB1*03:02.

Dhaouadi T. et al. 2024 при оценке распространенности HLA I и II классов у 1007 пациентов с БП продемонстрировали, что гаплотипы DRB1*11:01-DQB1*03:01 и DRB1*11-DQA1*05-DQB1*0301 достоверно повышали риск развития БП ($p < 0,001$) [147].

Рассматривая патогенетические механизмы развития ССД/ТЭН, необходимо отметить центральную роль биологических функций молекул HLA в развитии данных заболеваний. Она заключается в регуляции иммунной активности через представление комплекса, состоящего из молекулы HLA и связанного с ней так

называемого «self» пептида или маломолекулярного соединения (например, лекарственного препарата). Это позволяет распознавать антигены клонально экспрессированным Т-клеточным рецепторам (TCR) [337].

Белки I класса HLA состоят из α -цепи с молекулярной массой 45 кДа, которая ассоциируется нековалентно с некодирующим белком – β 2-микроглобулином массой 12 кДа. В отличие от них, белки класса II HLA состоят из двух цепей схожего размера: α -цепи массой 33 кДа и β -цепи массой 28 кДа, которые также ассоциируются нековалентно на протяжении своих экстрацеллюлярных участков [338, 339]

Молекулы HLA I класса представляют антигены для цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+, тогда как молекулы класса II ориентированы на представление антигенов помощникам Т-лимфоцитов – CD4+ клеткам. Специфичность этих процессов определяется взаимодействиями корцепторов CD4 и CD8 с β -цепью класса II и α -цепью класса I соответственно [338, 339]

HLA аллели I класса, включая HLA-A, HLA-B и HLA-C, как правило, экспрессируются на множестве безъядерных клетках, но также могут встречаться в тромбоцитах и незрелых эритроцитах, тогда как HLA аллели II класса преимущественно располагаются на антиген-презентирующих (В-клетках), эндотелиальных клетках, моноцитах, макрофагах, дендритных клетках, клетках Лангерганса, активированных Т-клетках и при многих воспалительных заболеваниях [337].

Известно, что предрасположенность к лекарственной гиперчувствительности напрямую зависит от наличия или, наоборот, отсутствия релевантного аллеля к специфическому препарату при ССД/ТЭН [337]. Кроме того, следует обратить внимание на полиморфизм HLA I и II классов, который играет одну из ключевых ролей в развитии аутоиммунных и иммунозависимых дерматозов. HLA может изменять диапазон как собственных пептидов, так и различных патогенных источников (антигенов), которые могут быть представлены на поверхности множества клеток [340].

Лекарственные препараты при различных лекарственных реакциях, в частности, при ССД/ТЭН могут таргетно связываться с существующим на клетке пептидом главного комплекса гистосовместимости (МНС) I или II классов и презентоваться CD4⁺ и CD8⁺ клеточным клонам. В случае лекарственно-индуцированных БД CD8⁺ клетки играют огромную роль, поскольку инициируют цитотоксический эффект путем продукции перфорины – белка, который формирует в кератиноцитах поры, приводя к нарушению целостности мембраны клетки и ее гибели (апоптозу) [337, 341].

В нашем исследовании больные ССД/ТЭН указывали на прием противосудорожных препаратов (n=2), НПВС (n=4), антибиотиков пенициллинового ряда (n=2), биологических препаратов (вемурафениб) по поводу лечения меланомы (n=1), аллопуринола (n=1), а также воздействие химических агентов (n=1; названия не помнит). У двух пациентов фактор дебюта заболевания выявлен не был.

При оценке распространения HLA-DRB1 аллелей II класса на уровне низкого разрешения у обследованных нами больных ССД/ТЭН (28,57%) согласно тесту χ^2 статистически значимо чаще встречался DRB1*14 аллель по сравнению со здоровыми донорами (6,52%, $p < 0,03$) [136]. Данный аллельный вариант можно рассмотреть в качестве предрасполагающего к развитию ССД/ТЭН в российской популяции. Однако на уровне высокого разрешения по HLA-DRB1 аллелям II класса статистически значимых различий зафиксировано не было [136].

Следует также отметить, что для всех видов HLA-типирования DQB1 на уровне низкого и высокого разрешений у больных ССД/ТЭН значимых результатов также не выявлено. Кроме того, защитные аллели в группах HLA-DRB1 и DQB1, препятствующие развитию данного заболевания не были идентифицированы [136].

Примечательно, что в исследовании Ueta M et al. 2008 в японской популяции при анализе частоты аллелей HLA-A, B, C, DRB1 и DQB1 I и II классов не было выявлено достоверных различий по аллелям HLA-DRB1 II класса, включая HLA-DQB1*05:02, у пациентов с ССД/ТЭН. В то же время аллель HLA-A*02:06 I класса показал ассоциацию с развитием заболевания [342].

Тем не менее Power et al. 1996 продемонстрировали, что высокая частота встречаемости DQB1*06:01 аллеля коррелировала с офтальмологическими осложнениями у больных ССД в европейской популяции [343]. Однако во французской популяции подобной ассоциации HLA-DR антигенов с выраженным поражением глаз не наблюдалось [344].

В недавнем исследовании Ueta, M et al. 2019 выявили наиболее значимые аллельные варианты, которые ассоциировались с развитием ССД с поражением глаз, вызванным приемом ацетоминофена (НПВС). К ним относились HLA-A*02:06, HLA-B*13:01, HLA-B*44:03, HLA-C*14:03, HLA-DRB1*08:03 и DRB1*12:02 аллели [345].

Еще в одном крупном мета-анализе на большой выборке больных (n=21,608; n=33,390) была продемонстрирована ассоциация карбамазепин-индуцированного ССД с HLA-A*31:01, A*02:10, A*31:1, A*11:53, A*24:07 B*57:01 и HLA-B*15:02, B*15:21, B*18:15, B*56:04, B*15:214, B*35:32, B*44:13, B*15:11 аллельными вариантами I класса [346].

В ряде азиатских популяций была установлена связь между HLA-B*58:01 и развитием аллопуринол-индуцированного ССД/ТЭН [205, 206, 347, 348, 349]. В этих же популяциях аллели HLA-A*11:01 и HLA-B*13:01 были ассоциированы с повышенным риском развития ССД/ТЭН, вызванных сульфаниламидами [350, 351]. В случае ССД, вызванного абакавиром, была установлена связь с HLA-B*57:01 [207, 352].

Следует отметить, что в ряде случаев ССД/ТЭН могут быть обусловлены несколькими HLA-аллелями. Например, в малазийской популяции было продемонстрировано, что фенитоин-индуцированные заболевания ассоциировались не только с HLA-B*15:02, но и с HLA-B*15:13 аллелем. Исследователи пришли к выводу, что HLA-B*15:13 может также способствовать развитию фенитоин-индуцированного DRESS-синдрома [136, 200].

Таким образом, данные нашего исследования, посвященного анализу частоты встречаемости аллелей HLA-DRB1 и DQB1 II класса у пациентов с тяжелыми жизнеугрожающими пузырьными дерматозами, могут служить важными

генетическими биомаркерами для дифференциальной диагностики этих заболеваний в российской популяции.

В сочетании с уже существующими работами о влиянии HLA на развитие тяжелых пузырьных дерматозов в различных популяциях мира, можно сделать вывод, что разнообразие и частота аллелей, представленных в проводимом исследовании, могут способствовать более глубокому пониманию механизмов аутоиммунного ответа при этих заболеваниях, в частности, при различных формах АП, а также выявить общие патогенетические механизмы [136].

Следующим этапом нашего исследования была оценка экспрессии α - и β -изоформ ГР у больных БД и выявление потенциальной взаимосвязи со СР, которая представляет значительную проблему, особенно при пузырчатке. Это обусловлено тем, что СР может способствовать развитию серьезных осложнений, вызванных, как и самим заболеванием, так и высокими дозами СГК [353].

По данным литературных источников экспрессия α - и β -изоформ ГР исследовалась при БП, аллергодерматозах, бронхиальной астме, ревматоидном артрите и красной волчанке [171, 354, 355, 356, 357, 358].

В нашем исследовании у больных АП, БД и ССД/ТЭН в активную стадию процесса до начала лечения СГК средние и медианные значения α -ГР ($5055_{59/51} 54_{63} \times 10^3$ копий кДНК ГР) были выше по сравнению с группой контроля ($2425_{27/24} 26_{27} \times 10^3$ копий кДНК ГР) ($p < 0,0001$). Сходная ситуация была также зафиксирована в отношении β -изоформы ГР. У всех больных БД наблюдалась статистически значимо высокая экспрессия β -изоформы ГР ($2933_{56/26} 32_{41} \times 10^3$ копий кДНК ГР) по сравнению со здоровыми донорами ($1011_{12/11} 11_{13} \times 10^3$ копий кДНК ГР) ($p < 0,0001$). Такое увеличение экспрессии β -ГР может быть связано с тем, что они регулируют экспрессию генов, связанных с воспалением, вызванным непосредственно аутоиммунными процессами.

При оценке экспрессии α - и β -изоформ ГР у стероид-резистентных и стероид-чувствительных больных АП наблюдалась тенденция к ее повышению со стороны β -ГР у стероид-резистентных пациентов. Однако достоверных различий выявлено не было.

По данным литературы также наблюдаются неоднозначные результаты. Так, например, Kubin et al. 2016 не подтвердили связи между экспрессией β -изоформы ГР и маркером активности БП – уровнем антител к антигену ВР180. Тем не менее, авторы подтвердили, что β -ГР играл значительную роль в формировании СР, так как на ранних этапах лечения больных БП было отмечено резкое увеличение экспрессии данной изоформы. Так, на 60-й день приема преднизолона у пяти больных она оставалась повышенной, у семи – снизилась и у одного пациента вернулась к исходному уровню [175]. Однако, например, у больных ревматоидным артритом повышенная экспрессия β -изоформы ГР наблюдалась именно у стероид-резистентных больных по сравнению со стероид-чувствительными. Это также подтверждалось тем, что у этих же больных *in vitro* СГК не могли подавить активацию NF- κ B в лимфоцитах, индуцированную конкавалином-А [359].

Роль повышенной экспрессии β -изоформы ГР в развитии СР у больных различными БД в настоящее время остается дискуссионной. Вероятно, определяющее значение в этом процессе играют генетические факторы, в особенности различные полиморфизмы гена NR3C1, который отвечает за кодирование ГР.

Таким образом, следующей частью нашего исследования явилась оценка частоты встречаемости полиморфизма гена NR3C1 (A3669G) β -изоформы ГР у больных БД, а также его потенциальной взаимосвязи со СР и тяжестью течения у пациентов с АП.

Вариабельность клеточных ответов, опосредованных СГК, усугубляется наличием нескольких изоформ ГР, что обусловлено мутациями, полиморфизмами и альтернативным сплайсингом транскриптов. Полиморфизм A3669G (rs6198) в экзоне 9 стабилизирует β -изоформу ГР, которая чаще встречается при таких заболеваниях, как ревматоидный артрит, ожирение, бронхиальная астма, анемия Даймонда-Блекфена и СКВ. Поскольку считается, что именно β -изоформа ГР подавляет активность α -ГР, полиморфизм A3669G может способствовать измененному ответу на СГК у больных ревматоидным артритом [289].

Механизмы резистентности к СГК при БД остаются не до конца изученными. В настоящее время имеется лишь ограниченное количество исследований, касающихся механизмов резистентности к терапии при АП. Например, Р-гликопротеин (P-gp) представляет собой мембранный насос-экспортер, который выводит СГК из цитозоля в экстрацеллюлярное пространство [289].

De la Fuente H. et al. 2002 при оценке экспрессии и активности Р-gp в мононуклеарных клетках больных АП показали, что на уровне мРНК и белка у стероид-резистентных и стероид-чувствительных больных достоверно значимых различий выявлено не было, что указывает на отсутствие ее роли в развитии СР у таких пациентов [360].

Chriguer RS et al. 2012 обнаружили увеличенное количество и сниженную аффинность ГР к дексаметазону у пациентов с АП по сравнению со здоровыми донорами. Авторы предположили, что резистентность к СГК у этих пациентов может быть ассоциирована с провоспалительными цитокинами [100].

Genovese et al. 2022 при обследовании 143 больных АП выявили, что неспособность достичь достоверного снижения антител к Дсг1 при клинической ремиссии заболевания является предиктором его рецидивов у больных АП с наличием антител как к Дсг1, так и Дсг3 [361, 362].

Si-Yue Fang et al. 2017 оценивали взаимосвязь между полиморфизмами гена NR3C1 и СР у больных АП. В исследовании принимали участие 64 стероид-чувствительных и 30 стероид-резистентных больных АП, а также 100 здоровых доноров. Авторы не обнаружили значительных различий в генотипических и аллельных частотах 16 SNP в группе пузырчатки и здоровых доноров. Тем не менее, SNP rs11745958 C/T и rs17209237 A/G были связаны с повышенным риском развития СР [90].

Интересно, что Le T. V. T. et al. 2021 при исследовании 10 участков гена NR3C1 у больных АП выявили генотипы, которые могли бы предсказать ответ пациентов на терапию СГК. Например, генотипы rs6196 AG, rs17209237 AA и rs11745958 CC ассоциировались с необходимостью меньшей накопительной дозы СГК для достижения терапевтического эффекта [363].

В проводимом нами исследовании полиморфизм A3669G гена β -изоформы ГР был статистически значимо более распространен среди пациентов с АП (25%) по сравнению со здоровыми донорами (3,2%) ($p < 0,001$). Это указывает на возможность его использования в качестве генетического биомаркера для данного заболевания [289, 364, 365].

Гетерозиготный генотип AG значительно чаще встречался у пациентов с АП по сравнению со здоровыми донорами. Более того, этот генотип статистически значимо чаще преобладал именно у больных со стероид-резистентной формой АП ($n=11$; $p < 0,0001$), что подтверждает его возможную роль в формировании неадекватного ответа на терапию СГК у таких пациентов [289]. В то время как AA достоверно чаще наблюдался у стероид-чувствительных больных. Это свидетельствует о том, что А аллель играет протективную роль в отношении развития СР. Обращает на себя внимание высокая частота носительства полиморфизма A3669G (rs6198) гена NR3C1 среди пациентов с тяжелым течением АП [289].

Следующим этапом исследования явилась оценка уровней цитокинов TNF- α , IL15, IL4, IL10, хемокинов CCL11, CXCL8, а также гранулизина в сыворотке и пузырьной жидкости у больных АП, БП, ССД/ТЭН и здоровых доноров.

Согласно данным научной литературы, определенные цитокины могут влиять на формирование аутоантител IgG при БД. Их можно классифицировать на Th1-ассоциированные цитокины (IL2, IL12, IL18, IFN- γ), Th2 (IL4, IL5, IL6, IL10, IL13), Th17 (IL17, IL22, IL23), Treg (IL10, трансформирующий фактор роста - TGF- β) и провоспалительные цитокины (IL1, IL8, TNF- α) [366].

Из проводимого исследования следует сделать вывод, что уровень большинства цитокинов (TNF- α , IL10) и хемокинов (CCL11, CXCL8), а также гранулизина в сыворотке у больных БД был статистически значимо выше по сравнению со здоровыми донорами ($p < 0,05$), что свидетельствует об особенностях патогенеза данных заболеваний.

Так, например, по данным исследований высокий уровень IL4, IL6 и IL10 в сыворотке у больных АП подтверждал роль Th2 пути в патогенезе заболевания

[352]. Кроме того, повышенный уровень TNF- α в сыворотке больных АП коррелировал с плохим прогнозом и тяжелым течением заболевания [367].

Эти данные также подтверждаются предыдущими исследованиями, которые указывали на полиморфизм гена TNF- α в позиции -238 и -308 у больных АП [368]. Кроме того, в исследовании D'Auria L et al. 1999 было обнаружено, что IL6 и TNF- α коррелировали с прогрессированием кожного процесса у больных БП, а также принимали участие в формировании субэпидермальных пузырей посредством активации эозинофилов [369]. Помимо этого, TNF- α являлся медиатором эндотелиальной активации, способствуя изменению экспрессии молекул адгезии в стенках сосудов у больных БП [369]. У больных ССД/ТЭН в исследовании Нуен ТТ et al. 2022 высокий уровень TNF- α в сыворотке выступал в качестве биомаркера прогрессирования данного заболевания [370].

По данным других научных исследований, IL10 у больных АП стимулировал наивные В-клетки и активированные CD40 к переключению IgG на подкласс IgG4, который обладает уникальными структурными особенностями, ограничивающими его способность взаимодействовать с антигенами, формировать иммунные комплексы и активировать систему комплемента [371, 372, 373].

По результатам исследования Satyam A et al. 2009 и Bhol KC et al. 2000, значимо высокий уровень IL10 в сыворотке больных коррелировал с прогрессированием кожного процесса [374].

Следует отметить, что в нашем исследовании уровень хемокинов CCL11 и CXCL8, а также гранулизина в сыворотке больных БД был выше по сравнению с группой здоровых доноров ($p < 0,05$), что также соответствует данным литературы. Так, например, высокий уровень CCL11 в работе Günther C et al. 2011 в сыворотке больных БП коррелировал с тяжелой степенью тяжести заболевания [375]. Кроме того, повышенная регуляция CCL11 у больных БП увеличивала рекрутинг эозинофилов в ткани [376].

При сравнительном анализе уровня цитокинов TNF- α , IL15, IL4, IL10, хемокинов CCL11, CXCL8 и гранулизина у всех больных БД в сыворотке не было выявлено статистически значимых различий. Однако при оценке данных

показателей в пузырьной жидкости у больных ССД/ТЭН наблюдалось значимое увеличение уровня гранулизина по сравнению с таковым у пациентов с АП и БП ($p=0,037117$).

Гранулизин представляет собой белок, синтезируемый цитотоксическими Т-лимфоцитами, а также НК-клетками. Именно этот белок отвечает за диссеминированную гибель кератиноцитов при ТЭН [22]. По данным исследований инъекции очищенного гранулизина молекулярной массой 15-кД в кожу мышей приводили к образованию пузырей и выраженному некрозу эпидермиса и дермы. Эти наблюдения свидетельствуют о том, что высокие уровни экстрацеллюлярного секреторного 15-кД-гранулизина в коже у больных ССД/ТЭН, вероятно, запускали диссеминированную гибель кератиноцитов при данных заболеваниях [22].

Таким образом, гранулизин можно использовать в качестве дифференциально-диагностического биомаркера у больных различными пузырьными дерматозами в активную фазу заболевания [22].

Полученные данные свидетельствуют о том, что пузырьная жидкость содержит более высокую концентрацию различных потенциальных биомаркеров – цитокинов, хемокинов, цитотоксических и антимикробных пептидов, отражая локальное микроокружение у больных различными пузырьными дерматозами по сравнению с более высоким разведением альбуминами сыворотки. Пузырная жидкость также может использоваться для мониторинга тяжелых аллергических буллезных реакций (ССД/ТЭН) *in vivo* [377, 378].

Далее оценивался уровень цитокинов и хемокинов у больных БД в зависимости от степени тяжести заболевания. Так, например, у пациентов с АП наблюдались некоторые различия в сыворотке и пузырьной жидкости. У пациентов с тяжелым течением АП в сыворотке крови отмечалось повышение уровней IL15, CCL11 и CXCL8, каждый из которых демонстрировал статистически значимую корреляцию с тяжестью заболевания ($p<0,01$). В то время как в пузырьной жидкости к таким показателям относились TNF- α , CCL11 и гранулизин ($p<0,01$).

Похожая картина наблюдалась у больных БП и ССТ/ТЭН. У больных ССД/ТЭН как в сыворотке, так и в пузырьной жидкости повышенные уровни IL4 и IL10 также коррелировали с тяжестью заболевания (ТЭН) ($p < 0,01$).

Следует отметить, что у пациентов с ТЭН также в пузырьной жидкости уровень TNF- α и CXCL8 был на статистически значимо более высоком уровне по сравнению с выборками ССД и ССД-ТЭН. В то же время в сыворотке крови аналогичную связь с более тяжелым течением заболевания – ТЭН демонстрировали повышенные уровни гранулизына и CCL11 ($p < 0,01$). Кроме того, высокие концентрации хемокинов CCL11, CXCL8, а также цитокинов IL4 и IL10 в пузырьной жидкости были ассоциированы с тяжелым течением БП ($p < 0,05$), тогда как в сыворотке крови к этим маркерам еще добавлялись TNF- α и IL15 [379].

Таким образом, нужно отметить, что одновременно в пузырьной жидкости и сыворотке у больных АП тяжелой степени тяжести наблюдался достоверно высокий уровень CCL11; у больных БП и ССД/ТЭН – IL10, CCL11, CXCL8 и IL4, IL10 соответственно ($p < 0,01$). Полученные данные говорят о том, что данные показатели можно использовать для мониторинга течения этих заболеваний [379].

При оценке хемокинового профиля у больных АП статистически значимо высокий уровень CCL11 наблюдался в сыворотке у стероид-резистентных больных АП по сравнению со стероид-чувствительными ($p = 0,0001$). В то время как в пузырьной жидкости у пациентов с адекватным ответом на терапию СГК уровень хемокина CXCL8 был на достоверно высоком уровне по сравнению со стероид-резистентными больными ($p < 0,01$) [283, 380].

Полученные результаты согласуются с предыдущими исследованиями, которые выявили экзосом-индуцированную значимо высокую концентрацию TNF- α , IL6 и CXCL8 в пузырьной жидкости у больных БП по сравнению с сывороткой крови ($p < 0,01$). Авторы сделали вывод, что экзосомы, выделенные из блистерной жидкости повышали экспрессию провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL6, CXCL8) кератиноцитами [381]. Более того, экзосомы, полученные из пузырьной жидкости этих пациентов индуцировали транслокацию ERK1/2 (экстрацеллюлярные сигнальные киназы 1 и 2) и STAT3 (сигнальный трансдуктор

и активатор транскрипции 3) в ядро клетки, запуская провоспалительный ответ [381].

У больных БП также наблюдались значимые тенденции в различии по хемокиновому профилю [380]. Так, у пациентов с БП, не поддающихся лечению СГК, наблюдался более высокий уровень TNF- α в сыворотке по сравнению со стероид-чувствительными пациентами, что также подтверждалось предыдущими исследованиями, которые указывали на более тяжелое течение АП и БП у больных с достоверно высоким уровнем TNF- α как в сыворотке крови, так и в пузырьной жидкости [283, 364]. Chriguer R. S. et. al 2012 при оценке цитокинового профиля больных АП обнаружили более высокий уровень IL6 и TNF- α , секретируемых мононуклеарными клетками крови у больных АП по сравнению с группой контроля даже после стимуляции клеток конкавалином-А и дексаметазоном ($p < 0,001$), что косвенно может свидетельствовать о их роли в развитии СР [100, 283].

Тем не менее, в пузырьной жидкости у больных БП цитокиновый и хемокиновый состав в зависимости от наличия или отсутствия СР также отличался от такового в сыворотке. Например, у пациентов с БП неадекватно отвечавших на терапию СГК в пузырьной жидкости отмечалась склонность к более высокому уровню IL15, IL4, гранулизина и CXCL8 ($p = 0,0001$). Полученные данные косвенно подтверждает роль влияния Th2 клеток на развитие СР. Однако для получения статистически значимых результатов необходимо проведение исследования на более крупной выборке пациентов [283].

Согласно данным литературы, IL4 стимулирует В-клетки к выработке IgE и других классов антител, которые затем воздействуют на структурные белки кожи и способствуют миграции и активации эозинофилов и других воспалительных клеток. Более того, IL4 также отвечает за дифференцировку Т-клеток в Th2-клетки, которые играют важную роль в формировании воспалительных процессов и аллергических реакций. Полученные результаты свидетельствуют о том, что данный механизм усиливает воспалительные реакции, приводя к рефрактерному

течению заболевания посредством влияния на глюкокортикоидные рецепторы [101].

Так, например, Goleva E et al. 2008 показали, что сочетание IL2/IL4 ингибировало ядерную транслокацию α -изоформы ГР в Т-клетках человека, и данный эффект устранялся с помощью IFN- γ , который ингибировал активацию p38 MAPK [283].

Согласно другим исследованиям IL15 также оказывал определенное влияние на экспрессию ГР на лимфоцитах. СГК в сочетании с IL15 в культурах CD56+ клеток периферической крови, индуцировали повышенную экспансию CD56+CD3-клеток, проявляя высокую цитолитическую активность и высокую продукцию IFN γ , приводя к активации экспрессии рецепторов NKp30, NKp44, NKp46, 2B4, NKG2D и DNAM-1, отвечающих за иммунный ответ в организме. Более того, СГК защищали NK-клетки от гибели, вызванной IL15 [102, 283].

Полученные в результате проводимого нами исследования различия по уровню хемокинов в сыворотке и блистерной жидкости могут указывать на то, что в последней они вырабатываются клетками локально непосредственно в месте формирования пузыря и не связаны с системным кровотоком [283]. Кроме того, в сыворотке цитокины и хемокины также могут связываться с рецепторами клеток, что проявляется их более низким уровнем в ней по сравнению с блистерной жидкостью. Возможно, что подобный результат исследования связан с активацией местного иммунного ответа, что может приводить к увеличению уровня определенных цитокинов в пузырьной жидкости, тогда как в сыворотке он сохраняется в пределах референсных значений или изменяется незначительно. Таким образом, различия в концентрациях цитокинов и хемокинов в сыворотке и пузырьной жидкости отражают сложные взаимодействия между местными и системными иммунными ответами, что требует дальнейшего исследования [19, 283].

Пузырная жидкость у пациентов с БД содержит множество потенциальных биомаркеров, указывающих на тяжелое и рефрактерное течение заболевания, а также отражает достаточно широкий спектр биологических процессов,

происходящих в организме. В ее состав входят экзосомальные белки, протеины, мРНК, цитокины, хемокины и другие клетки. В связи с этим, анализ пузырной жидкости может быть использован комплиментарно гистологическому методу в качестве экспресс- и дифференциальной диагностики тяжелых, жизне-угрожающих БД, а также мониторинга ответа на терапию в режиме реального времени и прогноза тяжести течения данных заболеваний [283].

Кроме того, по данным литературы, до настоящего времени не проводилось одновременного сравнительного анализа цитокинового и хемокинового профилей в пузырной жидкости и сыворотке крови у больных АП, БП и ССД/ТЭН, том числе с учетом степени тяжести и СР.

Следующим этапом исследования явилась оценка влияния комбинированной терапии СГК, плазмаферезом и человеческим внутривенным IVIG на цитокиновый и хемокиновый профиль стероид-резистентных и стероид-чувствительных больных АП.

Плазмаферез выполнялся непосредственно перед введением внутривенного IVIG человека с целью предварительной элиминации циркулирующих патогенных IgG (в том числе антидесмоглеиновых аутоантител) из кровотока пациентов с АП. Последующее введение IVIG обеспечивало быстрое связывание и ускоренный катаболизм оставшихся аутоантител за счет антиидиотипических антител, содержащихся в препарате и направленных против вариабельной области молекул IgG [382, 383]. Кроме того, IVIG может насыщать Fc γ -рецепторы фагоцитарных клеток – макрофагов и тем самым понижать их участие в реализации клеточной цитотоксичности и фагоцитозе клеток, покрытых аутоантителами. IVIG также способствует усилению экспрессии ингибирующего рецептора Fc γ RIIB, что приводит к ослаблению провоспалительных реакций [384]. Кроме того, внутривенное введение препарата оказывает иммуномодулирующее и кортикостероид-сберегающее действие [385].

В проводимом нами исследовании было продемонстрировано иммуномодулирующее действие препарата. Так, у стероид-резистентных больных АП на фоне комбинированной терапии СГК, плазмаферезом и человеческим

внутривенным IVIG спустя 3 месяца от начала лечения наблюдалось значимое снижение уровня TNF- α , IL15, IL4, а также хемокина CCL11 и гранулизина в сыворотке крови по сравнению со стероид-чувствительными пациентами. Следует отметить, что уровень IL10 после лечения достоверно снижался как у стероид-резистентных, так и стероид-чувствительных больных ($p < 0,01$) [386].

Согласно данным литературы в большинстве своем больным АП назначалась комбинированная терапия СГК и внутривенным человеческим IVIG. Иммуномодулирующий эффект препарата показали Amagai et al 2009 в двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании [387]. Снижение титра антител к Dsg1 и Dsg3 у больных с рефрактерным течением пузырчатки также продемонстрировали Arnold D. F. 2009 et al. и Czernik A. et al. 2008 [388, 389]. Кроме того, препарат также назначался больным АП с частыми и тяжелыми обострениями и способствовал достижению быстрого контроля над заболеванием [390].

Следует отметить, что A. Razzaque Ahmed et al. 2024 отметили 20-летнюю клиническую и серологическую ремиссию у пациентов с ВП, которые получали только монотерапию внутривенным человеческим IVIG [391].

В другом исследовании, Keskin DB et al. 2008 при оценке уровня специфических цитокинов – IL1b, IL6, IL8, IL γ , IL4 и IL10 в сыворотке крови у больных с пузырчаткой отметили, что постепенное снижение их содержания, наблюдалось на фоне комбинированной терапии СГК и внутривенным человеческим иммуноглобулином по сравнению с пациентами, получавшими монотерапию СГК [392].

Mehmet EG et al. 2025 после курса лечения больных АП человеческим внутривенным IVIG также отметили достоверное снижение количества нейтрофилов, лимфоцитов, тромбоцитов, СОЭ и СРБ в сыворотке крови. Кроме того, пациенты, получавшие комбинированную терапию, достигали значимо чаще длительной ремиссии по сравнению с больными, проходившими монотерапию СГК [393].

Терапевтический плазмаферез также по данным научной литературы может стать отправной точкой, для достижения максимальной эффективности СГК.

Следует отметить, что кратность процедур плазмафереза у больных АП варьировалась от 3 до 6 сеансов на курс [394]. Как правило, плазмаферез назначался авторами на фоне пульс-терапии дексаметазоном или циклофосфамидом или азатиоприном. Полный курс плазмафереза позволял снизить уровень иммуноглобулинов в сыворотке крови у пациентов с АП до 90% от исходного значения. По данным других авторов, больные неадекватно отвечавшие на терапию СГК достигали значительной реэпителизации эрозий в среднем на 10 день от начала лечения плазмаферезом. В среднем курс лечения состоял из 3-5 процедур. Следует отметить, что средняя доза СГК у всех больных составляла 1 мг/кг/сут [395].

В проводимом нами исследовании была впервые продемонстрирована эффективность комбинированной терапии СГК, плазмаферезом и человеческим внутривенным IVIG у больных стероид-резистентной формой АП. Данная терапия не только способствовала статистически значимому снижению уровня цитокинов и хемокинов в сыворотке ($p < 0,01$) у стероид-резистентных больных по сравнению со стероид-чувствительными, но и обеспечивала длительную ремиссию, которая у пациентов, не поддающихся лечению системными стероидами, в среднем составляла 2,87 года. Полученные результаты указывают также на то, что IVIg может воздействовать на эффекторные функции иммунных клеток, снижая уровень цитокина TNF- α в сыворотке больных АП, который непосредственно отвечает за формирование акантолиза, что также подчеркивает значительный положительный клинический эффект комбинированной терапии у стероид-резистентных больных [386, 396].

Известно также, что IVIG реагирует с рядом мембранных молекул Т-, В-клеток и моноцитов, которые имеют отношение к контролю аутореактивности и индукции ауто толерантности. Кроме того, IVIG содержит антитела к переменным и константным участкам рецептора Т-клеток человека, рецепторам цитокинов, CD5, CD4 клеток, молекулам HLA класса, хемокиновым рецепторам CCR5, CD40 и Fas-лиганду. Подобное разнообразие тропности к различным молекулам лимфоцитов подтверждает иммуномодулирующий эффект препарата

[116, 397]. В проводимом исследовании на фоне комбинированной терапии СГК, IVIG и плазмаферезом у стероид-резистентных больных АП наблюдалось статистически значимое снижение уровня гранулизина в сыворотке по сравнению с группой контроля. Можно предположить, что, таким образом, IVIG регулирует цитотоксические Т-лимфоциты и NK-клетки [116].

Методы МО и искусственный интеллект в последнее время активно интегрируются в медицинскую практику, включая дерматологию. Благодаря способности к анализу больших объемов данных, методы МО могут предоставить новые возможности для диагностики, дифференциальной диагностики, классификации, а также персонализированных подходов к лечению множества дерматологических заболеваний [398].

В нашем исследовании использовались следующие алгоритмы МО: «решающее дерево», «случайный лес», логистическая регрессия, метод «опорных векторов» и «градиентный бустинг». Наиболее точным оказался метод «опорных векторов», который выбрал определенные признаки, а именно HLA DRB1 и DQB1 аллели, характерные для стероид-резистентных больных. К ним относились DQB1*05:02, DRB1 в высоком разрешении, DRB1*13:02, DQB1*02:01, DQB1*05:01 и DQB1*03:01 аллели. И наоборот, наличие у больных DQB1 аллелей в низком разрешении, а также DQB1*06:02, DQB1*01:01, DQB1*04:03, DQB1*06:03 повышало вероятность хорошего ответа на терапию СГК у больных БД

Методы «градиентного бустинга» и «случайного леса» также установили признаки, характерные для более высокой вероятности развития стероидной резистентности у больных БД. Так, в пузырьной жидкости к ним относился высокий уровень IL15, IL4, CXCL8 и гранулизина. К клиническим признакам относились: диагноз АП, а также тяжелая степень тяжести заболевания. Следует отметить, что из значимых сопутствующих заболеваний модели выделили сахарный диабет 2-го [269].

Таким образом, данный алгоритм позволил впервые классифицировать больных БД на стероид-резистентных и стероид-чувствительных на геномном и негеномном уровнях [269].

Согласно данным литературы, большинство работ по обучению сосредоточены на дерматоонкологии, иммунозависимых дерматозах, таких как экзема и псориаз нежели на буллезных дерматозах в связи с редкостью данных заболеваний [398, 399, 400].

Тем не менее, Carurro N et al. 2024 разработали модель глубокого обучения для анализа 1,4 миллиона изображений прямой иммуофлюоресценции при различных БД. Применение сверточной нейронной сети в данном исследовании позволило классифицировать основные иммуногистохимические признаки с точностью, сравнимой с квалифицированными морфологами. В будущем полученные результаты, несомненно, поспособствуют ускорению и автоматизации диагностики этих тяжелых, жизне-угрожающих заболеваний [401].

Носке J. et al. 2023 также продемонстрировали высокую чувствительность алгоритмов МО в классифицировании признаков, характерных для реакции прямой иммуофлюоресценции у больных БД. Созданная модель с вероятностью в 90% идентифицировала пузырьный дерматоз [402].

Проводимое исследование подчеркивает большой потенциал методов МО в классификации БД, прогнозировании ответа на терапию СГК и другими препаратами и оценке тяжести течения заболеваний. Сочетание алгоритмов МО с традиционными методами диагностики БД позволит ускорить постановку диагноза и оптимизировать тактику лечения таких пациентов, включая своевременное назначение иммуносупрессивных препаратов, таких как ритуксимаб, азатиоприн, метотрексат, человеческий внутривенный IVIG и т.д.

Однако, методы МО имеют ряд ограничений. Для построения эффективных моделей глубокого обучения необходимы большие объемы данных, что делает задачу формирования обширных и качественных дата-сетов, особенно актуальной для редких дерматозов. Кроме того, еще одной проблемой является феномен «черного ящика», при котором сложность интерпретации решений, принимаемых,

например, сложными глубокими нейросетями может снижать доверие к полученным результатам [403]. Присутствие артефактов на изображениях (пузырьки воздуха и т.д.) также может приводить к диагностическим ошибкам, снижая точность алгоритмов.

Таким образом, существует необходимость разработки стандартизированных схем сбора данных, внедрения методов, которые повышали бы интерпретируемость моделей (например, SHAP-анализ) и совершенствования подходов к предобработке данных. Это позволит достаточно эффективно использовать методы МО в дерматологии, обеспечивая более точную диагностику и дифференциальную диагностику иммунозависимых и аутоиммунных пузырных дерматозов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе при исследовании молекулярных геномных (HLA) и внегеномных (цитокиновый профиль в пузырьной жидкости) механизмов развития стероидной резистентности АП, БП, ССД/ТЭН разработан комплекс биомаркеров, который позволил бы при исследовании сыворотки и пузырьной жидкости спрогнозировать рефрактерное течение данных заболеваний с целью последующего предсказания их возможных осложнений или рецидивов в будущем, определения вероятности более тяжелого течения буллезных дерматозов, оптимизации диагностики и дифференциальной диагностики, а также разработки персонализированных подходов к лечению на основании специфических характеристиках заболевания у конкретного пациента.

ВЫВОДЫ

1. HLA-DRB1*04, DRB1*14, HLA-DRB1*14:05, HLA-DQB1*03:02 аллели статистически значимо чаще выявлялись у больных вульгарной (ВП) и листовидной пузырчаткой (ЛП) по сравнению со здоровыми донорами ($p=7,35 \times 10^{-7}$, $p=0,002$, $p=0,007$, $p=0,03$). HLA-DRB1*04:02 аллель, гаплотипы DRB1*04/DQB1*05, DRB1*14/DQB1*03, DRB1*04:02/DQB1*05:03, DRB1*04:02/DQB1*05:01, DRB1*04:02/DQB1*03:02, DRB1*14:05/DQB1*03:02 и DRB1*14:04/DQB1*03:02 являлись предрасполагающим для всех разновидностей акантолитической пузырчатки (АП), включая паранеопластическую (ПНП) ($p=2,02 \times 10^{-6}$; $p=6,7 \times 10^{-4}$, $p=0,0086$, $p=1,8 \times 10^{-5}$, $p=2,0 \times 10^{-4}$, $p=0,002$, $p=0,006$ соответственно). DQB1*05:03 аллель достоверно чаще встречался у больных ВП и ПНП ($p=0,01$, $p=0,034$).

Предрасполагающими к развитию буллезного пемфигоида (БП) являлись HLA-DRB1*04, DRB1*14, DRB1*04:02 и DQB1*03:02 аллели ($p=0,02$, $p=0,005$, $p=0,01$, $p=0,01$). У больных синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом (ССД/ТЭН) обнаружен предрасполагающий к заболеванию аллель HLA-DRB1*04 ($p<0,03$). Протективными аллелями по отношению к развитию пузырчатки являлись в популяции HLA-DRB1*11, DRB1*16, DRB1*03, DRB1*11:04 и DQB1*03:01 аллели ($p=0,01$, $p=0,017$, $p<0,05$, $p=0,048$, $p<0,05$). Защитных аллелей в группе HLA-DRB1 и DQB1 по отношению к развитию БП и ССД/ТЭН обнаружено не было.

HLA-DQB1*03:01 аллель одновременно являлся генетическим предиктором тяжелого и рефрактерного к терапии СГК течения АП ($p=0,002$). У больных БП аллели DRB1*14 и DQB1*03:02 преобладали у больных средней степени тяжести ($p=0,008$; $p \approx 0,037 < 0,05$). Наблюдалась также тенденция к более высокой частоте встречаемости аллельного варианта DQB1*05:03 у больных БП средней и тяжелой степени тяжести ($p \approx 0,057 > 0,01$).

2. Экспрессия α - и β -изоформ глюкокортикоидных рецепторов (ГР) была статистически значимо выше у больных буллезными дерматозами (БД) по

сравнению со здоровыми донорами ($p < 0,01$). Наблюдалась тенденция к повышению экспрессии β -ГР в группе стероид-резистентных больных. С помощью логистической регрессии была выведена формула, которая демонстрировала, что вероятность развития БД была более 50% при повышении экспрессии α -изоформы ГР до 36,7 единиц и более.

3. Полиморфизм A3669G β -изоформы ГР демонстрирует генетическую обусловленность СР при АП, о чем свидетельствует его статистически значимая высокая частота встречаемости, а также аллели G у этих больных по сравнению со здоровыми донорами ($p < 0,001$). Данный вывод подтверждает достоверное повышение частоты гетерозиготного AG генотипа в 4,89 раз у стероид-резистентных больных по сравнению со стероид-чувствительными ($p < 0,0001$; ОШ: 3,1–36,3), тогда как адекватный ответ на лечение СГК был в 4,96 раз выше у больных с гомозиготным AA генотипом ($p = 0,008$; ОШ: 1,6–15,4). Оценка A3669G полиморфизма β -изоформы ГР позволит предсказать ответ больных АП на терапию.

4. Лучшие значения метрик «Recall», «Precision» и «ROC-AUC» показал метод «опорных векторов». Наиболее значимыми предикторами СР при БД модель признала носительство редких аллелей локуса HLA-DRB1 (в первую очередь DRB1*13:02), а также аллелей DQB1*05:02, DQB1*02:01, DQB1*05:01 и DQB1*03:01.

Аллели локуса HLA-DQB1 в низком разрешении в целом, «диагноз ССД/ТЭН», DQB1*06:02, DQB1*01:01, DQB*04:03, DQB1*06:03 указывали на значительно большую вероятность прогнозирования адекватного ответа на терапию СГК. Это позволяет на геномном уровне классифицировать больных буллезными дерматозами на стероид-резистентных и стероид-чувствительных.

Метод машинного обучения с учетом категориальных признаков (CatBoost) и «случайный лес» наиболее точно предсказывали вероятность СР у больных БД при наличии семи следующих признаков: высокий уровень IL15, IL4 и CXCL8 в пузырьной жидкости, высокий уровень гранулизина в сыворотке, диагноз и тяжесть АП, а также наличие сахарного диабета 2 типа в качестве сопутствующего

заболевания (F_1 -метрика = 0,538721, «ROC AUC» = 0,879167, «Recall» = 0,541667, «Precision» = 0,857143).

5. При всех БД концентрации цитокинов TNF- α , IL4, IL15, IL10, хемокинов CCL11 и CXCL8, а также гранулизина в пузырьной жидкости были достоверно выше по сравнению с сывороткой соответственно ($p < 0,001$). Такая разница в показателях пузырьной жидкости и сыворотки была связана с ее более высоким уровнем разведения за счет форменных элементов, а также с тем, что пузырьная жидкость отражает воспалительные патогенетические процессы непосредственно в месте формирования пузыря.

Пузырный гранулизин у больных ССД/ТЭН можно рассматривать в качестве дифференциально-диагностического биомаркера, о чем свидетельствует его достоверно высокий уровень только у больных ССД/ТЭН по сравнению с АП и БП ($p = 0,048$, $p = 0,024$).

Тяжелое течение заболевания ассоциировалось с достоверно более высокими концентрациями в пузырьной жидкости: при АП – TNF- α , CCL11 и гранулизина; при БП и ССД/ТЭН – CXCL8, IL4 и IL10 ($p = 0,0079$). Концентрация CCL11 в пузырьной жидкости у больных тяжелой формой БП превышала таковую при средней степени тяжести ($p = 0,014$), а уровень TNF- α – у пациентов с ТЭН по сравнению с ССД и перекрестным ССД-ТЭН ($p < 0,01$).

СР при АП сопровождалась повышением уровня CCL11 только в сыворотке крови ($p < 0,0001$); в пузырьной жидкости у больных АП биомаркеров резистентности не выявлено, тогда как на рефрактерное течение БП в пузырьной жидкости указывала выраженная тенденция к повышению уровня IL15, IL4, CXCL8 и гранулизина ($p < 0,01$).

Одновременно в пузырьной жидкости и сыворотке у больных БД тяжелой степени тяжести фиксировалось статистически значимое повышение уровня CCL11 ($p = 0,0027$; $p = 0,0122$) при АП; IL4 ($p = 0,033$; $p = 0,025$) и IL10 ($p = 0,027$; $p = 0,0055$) при ССД/ТЭН; IL10 ($p = 0,0233$; $p = 0,0376$), CXCL8 ($p = 0,0233$; $p = 0,0462$) и CCL11 ($p = 0,0140$; $p = 0,0294$) при БП, что свидетельствует о возможности использования этих маркеров для мониторинга течения этих заболеваний.

У стероид-резистентных больных, получавших комбинированную терапию плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином (IVIg) в процессе снижения малых доз СГК наблюдалось статистически значимое снижение уровня цитокинов IL4, IL15, TNF- α и гранулизина в сыворотке по сравнению с таковыми в группе пациентов, находившихся на монотерапии СГК ($p < 0,01$), что подтверждает иммуномодулирующее и адъювантные свойства человеческого иммуноглобулина.

6. На фоне проводимой терапии IVIg и плазмаферезом у 3% пациентов наблюдалась полная ремиссия после отмены СГК в течение года; полная ремиссия на фоне минимальной дозы СГК отмечалась у 91% пациентов и частичная ремиссия в течение одного года на фоне минимальной дозы СГК (10 мг/сутки) – у 6% больных.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При обследовании больных пузырчаткой для прогноза ее степени тяжести, а также стероидной резистентности необходимо оценивать наличие полиморфизма A3669G β -изоформы глюкокортикоидного рецептора в сыворотке, а также HLA-DRB1*03:01 аллели в высоком уровне разрешения, для быстрого и тщательного подбора адекватной персонифицированной адьювантной терапии и минимизации риска развития потенциальных побочных эффектов и рецидивов.

2. Комплиментарно к проведению диагностической биопсии (гистологический метод исследования) при аутоиммунных буллезных дерматозах в режиме реального времени может быть применен анализ пузырьной жидкости для экспресс-диагностики и дифференциальной диагностики с тяжелыми лекарственными реакциями, такими как синдром Стивенса-Джонсона и токсический эпидермальный некролиз. Кроме того, такие биомаркеры как TNF- α , CXCL8, IL4, IL10 и гранулизин в пузырьной жидкости смогут предсказать более тяжелое и рефрактерное течение буллезных дерматозов.

3. При выявлении у больных пузырчаткой стероидной резистентности в качестве адьювантного лечения можно назначать 3-5 курсов комбинированной терапии плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином в суммарной дозе внутривенного иммуноглобулина 0,2 г/кг и 3-4-х сеансов дискретного плазмафереза на цикл с кратностью проведения – один раз в полгода для профилактики рецидивов заболевания при снижении малых доз СГК.

4. Полученные результаты могут быть адаптированы для других дерматологических (атопический дерматит, интегументная форма красной волчанки, склеродермии и т.д) и недерматологических заболеваний (ревматоидный артрит, бронхиальная астма и т.д.), для лечения которых применяются СГК.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- ABSIS – Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity Score
- CBA – Cytometric Bead Array
- DBD – Центральный ДНК-связывающий домен
- FcRn – Неонатальный Fc-рецептор
- FPR – False Positive Rate
- GRE – Элемент глюкокортикоидной регуляции
- GREs – Глюкокортикоид-реагирующие элементы
- HLA – Human Leukocyte Antigens
- HRM – High Resolution Melting
- IVIg – Внутривенным иммуноглобулин
- LBD – (С-терминальный) Лиганд-связывающий домен
- lncRNA – Не кодирующие РНК
- MHC – Главный комплекс гистосовместимости
- NFKB1 – Ядерный фактор каппа В
- NTD – Терминальный трансактиваторный домен
- p38MAPK – p38 митоген-активированной протеинкиназа
- PDAI – Pemphigus disease area index
- ROC-AUC – Receiver Operating Characteristic - Area Under the Curve
- SNP – Однонуклеотидные полиморфизмы
- SVC – Support Vector Machines Classifier
- SVM – Support Vector Machine
- TAP2 – Transporter Associated with Antigen Processing 2
- TPR – True Positive Rate
- TWEAK – TNF-связанный индуктор апоптоза
- АП – Акантолитическая пузырьчатка
- АПК – Антигенпрезентирующая клетка
- БД – Буллезные дерматозы
- БП – Буллезный пемфигоид Лёвера

ВегП – Вегетирующая пузырьчатка
ВП – Вульгарная пузырьчатка
ГР – Глюкокортикоидный рецептор
ДИ – Доверительный интервал
Дсг – Десмоглеин
ИИ – Искусственный интеллект
ИФА – Иммуноферментный анализ
ЛП – Листовидная пузырьчатка
МНО – Международное нормализованное отношение
МО – Машинное обучение
МПК – Мононуклеары периферической крови
ОШ – Отношение шансов
ПНП – Паранеопластическая пузырьчатка
ПО – Программное обеспечение
ПЦР – Полимеразно-цепная реакция
РИФ – Реакция прямой иммунофлюоресценции
РНИФ – Реакция непрямой иммунофлюоресценции
СГК – Системные глюкокортикостероиды
СО – Стандартное отклонение
СОР – Слизистая оболочка полости рта
СР – Стероидная резистентность
ССД – Синдром Стивенса-Джонсона
ТГК – Топические глюкокортикоиды
ТКР – Т-клеточные рецепторы
ТКР – Т-клеточный рецептор
ТЭН – Токсический эпидермальный некролиз
ФТС – Фетальная телячья сыворотка

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Toxic epidermal necrolysis: a review of 20 years of data / M. C. Marchitto, S. Sung S, J. Doong [et al.] // *Journal of the European Academy of Dermatology & Venereology*. – 2018. – Vol. 32. – №. 7.
2. Toxic epidermal necrolysis: a paradigm of critical illness / A. Estrella-Alonso, J. A. Aramburu, M. Y. González-Ruiz [et al.] // *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*. – 2017. – Vol. 29. – P. 499-508.
3. The pathogenesis of bullous skin diseases / M. Yang, H. Wu, M. Zhao [et al.] // *Journal of Translational Autoimmunity*. – 2019. – Vol. 2. – P. 100014.
4. Pemphigus: trigger and predisposing factors / F. Moro, J. L. M. Sinagra, A. Salemm [et al.] // *Frontiers in Medicine*. – 2023. – Vol. 10. – P. 1326359.
5. Дрождина, М. Б. Значение генов гистосовместимости HLA II класса в прогнозировании риска развития ряда пузырных дерматозов / М. Б. Дрождина, С. В. Кошкин, П. Г. Чупраков // *Вестник дерматологии и венерологии*. – 2025. – Т. 101. – №. 1. – С. 69-84.
6. Petzl-Erler, M. L. Beyond the HLA polymorphism: a complex pattern of genetic susceptibility to pemphigus / M. L. Petzl-Erler // *Genetics and molecular biology*. – 2020. – Т. 43. – №. 3. – С. e20190369.
7. Zakka, L. R. Role of MHC Class II genes in the pathogenesis of pemphigoid / L. R. Zakka, P. Reche, A. R. Ahmed // *Autoimmunity reviews*. – 2011. – Vol. 11. – №. 1. – P. 40-47.
8. Adverse cutaneous drug reactions: clinical pattern and causative agents in a tertiary care center in South Korea / W. Hoetzenecker, M. Nägeli, E. T. Mehra [et al.] // *Front Immunol*. – 2016. – Vol. 15. – №. 7. – P. 97.
9. Drug hypersensitivity and the role of MHC-restricted drug-reactive T cells / K. Yu, P. T. Illing, L. Kjer-Nielsen [et al.] // *J Allergy Clin Immunol*. – 2017. – Vol. 139. – №. 2. – P. AB139.

10. Immune self-reactivity triggered by drug-modified HLA-peptide repertoire / P. T. Illing, J. P. Vivian, N. L. Dudek [et al.] // *Nature*. – 2012. – Vol. 486. – №. 7404. – P. 554-558.
11. Теплюк, Н. П. Современная терапия аутоиммунной пузырчатки и превентивные меры осложнений / Н. П. Теплюк, Л. Н. Лепеха, Т. А. Белоусова // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. – 2011. – Т. 14. – №. 3. – С. 14-20.
12. Glucocorticoid resistance in inflammatory diseases / A. Antonucci, M. Negri, S. Santini [et al.] // *Lancet*. – 2007. – Vol. 370. – №. 9600. – P. 1727-1737.
13. The association between glucocorticoid receptor gene polymorphisms and susceptibility to major depressive disorder in a Chinese cohort / S. Fang, D. Wang, X. Zhang [et al.] // *J Affect Disord*. – 2017. – Vol. 213. – P. 76-83.
14. Glucocorticoid receptor gene polymorphisms in patients with chronic rhinosinusitis / M. Kubin, C. Wu, Y. Wei [et al.] // *Eur Arch Otorhinolaryngol*. – 2016. – Vol. 273. – №. 11. – P. 3833-3839.
15. A human glucocorticoid receptor gene variant that increases the stability of the glucocorticoid receptor beta-isoform mRNA is associated with rheumatoid arthritis / R. H. Derijk, M. J. Schaaf, G. Turner [et al.] // *The Journal of rheumatology*. – 2001. – Vol. 28. – №. 11. – P. 2383-2388.
16. Glucocorticoid receptor beta splice variant expression in patients with high and low activity of systemic lupus erythematosus / P. Piotrowski, M. Burzynski, M. Lianeri M [et al.] // *Folia Histochemica et Cytobiologica*. – 2007. – Vol. 45. – №. 4. – P. 339-342.
17. Molecular mechanisms of glucocorticoid resistance in systemic lupus erythematosus: inhibition of cytokine signaling / L. Varricchio, E. Masselli, E. Alfani [et al.] // *American Journal of Blood Research*. – 2011. – Vol. 1. – №. 2. – P. 142-149.
18. Association of single nucleotide NR3C1 gene polymorphisms with glucocorticosteroid responsiveness in patients with pemphigus vulgaris / S. Fang, T. V. T. Le, T. H. Le [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2017. – Vol. 8. – P. 1392.

19. Serum and blister fluid levels of cytokines and chemokines in pemphigus and bullous pemphigoid / E. H. Kowalski, D. Kneibner, K. Kridin [et al.] // *Autoimmunity reviews*. – 2019. – Vol. 18. – №. 5. – P. 526-534.
20. Both Th1 and Th2 chemokines are elevated in sera of patients with autoimmune blistering diseases / T. Echigo, M. Hasegawa, Y. Shimada [et al.] // *Archives of dermatological research*. – 2006. – Vol. 298. – №. 1. – P. 38-45.
21. Integrating longitudinal serum IL17 and IL23 follow-up, along with autoantibodies variation, contributes to predict bullous pemphigoid outcome / J. Plée, S. Le Jan, J. Giustiniani [et al.] // *Scientific Reports*. – 2015. – Vol. 5. – №. 1. – P. 18001.
22. Granulysin is a key mediator for disseminated keratinocyte death in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis / W. H. Chung, S. I. Hung, J. Y. Yang [et al.] // *Nature medicine*. – 2008. – Vol. 14. – №. 12. – P. 1343-1350.
23. Pollmann, R. Research techniques made simple: mouse models of autoimmune blistering diseases / R. Pollmann, R. Eming // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2017. – Vol. 137. – №. 1. – P. e1-e6.
24. Самцов, А. В. Буллезные дерматозы: Монография / А. В. Самцов. – СПб.: ООО «Издательско-полиграфическая компания «КОСТА», 2012. – С. 144.
25. Фотогалерея. Заболевания слизистой оболочки полости рта. Часть I / Н. П. Теплюк, Е. В. Грекова, А. А. Лепехова, Б. Ш. Дамдинова // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. – 2022. – Т. 25, № 5. – С. 427–433.
26. Pemphigus: current and future therapeutic strategies / D. Didona, R. Maglie, R. Eming [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2019. – Vol. 10. – P. 1418.
27. The new pemphigus variants / N. D. Robinson, T. Hashimoto, M. Amagai [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 1999. – Vol. 40. – №. 5. – P. 649-671.
28. Kridin, K. Epidemiology of pemphigus / K. Kridin, E. Schmidt // *JID innovations*. – 2021. – Vol. 1. – №. 1. – P. 100004.
29. Pemphigus: analysis of 1209 cases / C. Chams-Davatchi, M. Valikhani, M. Daneshpazhooh [et al.] // *International journal of dermatology*. – 2005. – Vol. 44. – №. 6. – P. 470-476.

30. Aoki, V. Update on fogo selvagem, an endemic form of pemphigus foliaceus / V. Aoki, E. A. Rivitti, L. A. Diaz // *The Journal of dermatology*. – 2015. – Vol. 42. – №. 1. – P. 18-26.
31. Worldwide epidemiologic factors in pemphigus vulgaris and bullous pemphigoid / M. Rosi-Schumacher, J. Baker, J. Waris [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1159351.
32. Kridin, K. Pemphigus group: overview, epidemiology, mortality, and comorbidities / K. Kridin // *Immunologic research*. – 2018. – Vol. 66. – №. 2. – P. 255-270.
33. Министерство здравоохранения Российской Федерации: офиц. сайт. Клинические рекомендации по лечению акантолитической пузырчатки. [Электронный ресурс]. – Общероссийская общественная организация "Российское общество дерматовенерологов и косметологов", 2020. – URL: https://kokvd45.gosuslugi.ru/netcat_files/35/68/KRpuzyrchatka.pdf
34. Bystryn, J. C. The adjuvant therapy of pemphigus: an update / J. C. Bystryn, N. M. Steinman // *Archives of dermatology*. – 1996. – Vol. 132. – №. 2. – P. 203-212.
35. Prediction of survival for patients with pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus: a retrospective cohort study / A. Baican, R. Chiorean, D. C. Leucuta [et al.] // *Orphanet journal of rare diseases*. – 2015. – Vol. 10. – №. 1. – P. 48.
36. Comorbidities and inpatient mortality for pemphigus in the USA / D. Y. Hsu, J. Brieva, A. A. Sinha [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2016. – Vol. 174. – №. 6. – P. 1290-1298.
37. Kridin, K. Pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus: differences in epidemiology and mortality / K. Kridin, S. Zelber-Sagi, R. Bergman // *Acta dermatovenereologica*. – 2017. – Vol. 97. – №. 9.
38. Epidemiology of pemphigus in Sofia, Bulgaria. A 16-year retrospective study (1980–1995) / N. Tsankov, S. Vassileva, J. Kamarashev [et al.] // *International journal of dermatology*. – 2000. – Vol. 39. – №. 2. – P. 104-108.

39. Bullous pemphigoid and pemphigus vulgaris—incidence and mortality in the UK: population-based cohort study / S. M. Langan, L. Smeeth, R. Hubbard [et al.] // *Bmj*. – 2008. – Vol. 337.
40. Van Drongelen, V. A reciprocal HLA-disease association in rheumatoid arthritis and pemphigus vulgaris / V. Van Drongelen, J. Holoshitz // *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*. – 2017. – Vol. 22. – P. 909.
41. Association between HLA-DQB1 polymorphisms and pemphigus vulgaris: A meta-analysis / S. Li, Q. Zhang, P. Wang [et al.] // *Immunological Investigations*. – 2018. – Vol. 47. – №. 1. – P. 101-112.
42. Оценка частоты HLA-DRB1 аллелей у больных истинной акантолитической пузырчаткой в российской популяции / О. Ю. Олисова, Н. Л. Шимановский, А. С. Духанин, Н. П. Теплюк, А. А. Лепехова // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. – 2022. – Т. 25. – №. 6. – С. 33-40.
43. Оценка распространенности HLA DRB1 и DRQ1 аллелей у больных разными формами пузырчатки в российской популяции / О. Ю. Олисова, А. А. Лепехова, А. С. Духанин [и др.] // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. – 2024. – Т. 27. – №. 2. – С. 143-153. (Примечание: в оригинальном названии статьи была допущена техническая опечатка – следует читать DQB1 вместо DRQ1).
44. Дрождина, М. Б. Роль антигенов гистосовместимости HLA-I в прогнозировании риска развития ряда аутоиммунных и неаутоиммунных пузырных дерматозов / М. Б. Дрождина, С. В. Кошкин, П. Г. Чупраков // *Вятский медицинский вестник*. – 2024. – Т. 83. – №. 3. – С. 6-13.
45. Association with HLA-DRB1 in Egyptian and German pemphigus vulgaris patients / O. Haase, R. Alneebari, M. A. Eldarouti [et al.] // *Tissue Antigens*. – 2015. – Vol. 85. – №. 4. – P. 283-286.
46. Polymorphisms of HLA class II genes in Japanese patients with pemphigus vulgaris / Y. Yamashina, S. Miyagawa, T. Kawatsu [et al.] // *Tissue Antigens*. – 1998. – Vol. 52. – №. 1. – P. 74-77.

47. HLA class II (DRB, DQA1 and DQB1) allele and haplotype frequencies in the patients with pemphigus vulgaris / S. Shams, A. A. Amirzargar, M. Yousefi [et al.] // *Journal of clinical immunology*. – 2009. – Vol. 29. – №. 2. – P. 175-179.
48. HLA class II polymorphism contributes to specify desmoglein derived peptides in pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus / P. Loiseau, L. Lecleach, C. Prost [et al.] // *Journal of autoimmunity*. – 2000. – Vol. 15. – №. 1. – P. 67-73.
49. Epistasis between DSG1 and HLA class II genes in pemphigus foliaceus / P. Martel, D. Gilbert, M. Busson [et al.] // *Genes & Immunity*. – 2002. – T. 3. – №. 4. – C. 205-210.
50. Investigation of the predisposing factor of pemphigus and its clinical subtype through a genome-wide association and next generation sequence analysis / Y. Sun, H. Liu, B. Yang [et al.] // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2019. – Vol. 33. – №. 2. – P. 410-415.
51. HLA-DRB1*0101 is associated with foliaceous pemphigus in Mexicans / M. del Mar Saez-de-Ocariz, M. E. Vega-Memije, J. Zuniga [et al.] // *International journal of dermatology*. – 2005. – Vol. 44. – №. 4. – P. 350-350.
52. Environmental risk factors in endemic pemphigus foliaceus (fogo selvagem) / V. Aoki, R. C. Millikan, E. A. Rivitti [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. – Elsevier, 2004. – Vol. 9. – №. 1. – P. 34-40.
53. HLA variation and disease / C. A. Dendrou, J. Petersen, J. Rossjohn [et al.] // *Nature Reviews Immunology*. – 2018. – Vol. 18. – №. 5. – P. 325-339.
54. Tumor necrosis factor- α -308 G> A and interleukin-6-174 G> C promoter polymorphisms and pemphigus / Y. M. Mosaad, H. Fathy, Z. Fawzy [et al.] // *Human Immunology*. – 2012. – Vol. 73. – №. 5. – P. 560-565.
55. TNF- α and IL-10 gene polymorphisms show a weak association with pemphigus vulgaris in the Slovak population / J. Javor, N. Chmurova, Z. Parnicka [et al.] // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2010. – Vol. 24. – №. 1. – P. 65-68.

56. Association of NFKB 1-94 ATG ins/del polymorphism (rs28362491) with pemphigus vulgaris / A. Chatzikyriakidou, A. Kyriakou, P. Meltzanidou [et al.] // *Experimental Dermatology*. – 2019. – Vol. 28. – №. 8. – P. 972-975.
57. Pemphigus vulgaris is associated with the transporter associated with antigen processing (TAP) system / E. Slomov, R. Loewenthal, M. Korostishevsky [et al.] // *Human Immunology*. – 2005. – Vol. 66. – №. 12. – P. 1213-1222.
58. Next-generation sequencing for HLA typing of class I loci / R. L. Erlich, X. Jia, S. Anderson [et al.] // *BMC Genomics*. – 2011. – Vol. 12. – №. 1. – P. 42.
59. Pemphigus is not associated with allotypic markers of immunoglobulin kappa / M. Zitouni, P. Martel, M. Ben Ayed [et al.] // *Genes & Immunity*. – 2002. – Vol. 3. – №. 1. – P. 50-52.
60. Genetic association and differential expression of HLA Complex Group lncRNAs in pemphigus / A. Salviano-Silva, M. Becker, D. G. Augusto [et al.] // *Journal of Autoimmunity*. – 2021. – Vol. 123. – P. 102705.
61. Population-specific association between a polymorphic variant in ST18, encoding a pro-apoptotic molecule, and pemphigus vulgaris / O. Sarig, S. Bercovici, L. Zoller [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2012. – Vol. 132. – №. 7. – P. 1798-1805.
62. Genetic analysis of desmoglein 3 (DSG3) sequence variants in patients with pemphigus vulgaris / F. Capon, H. Boulding, M. Quaranta [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2009. – Vol. 161. – №. 6. – P. 1403-1405.
63. ST18 affects cell–cell adhesion in pemphigus vulgaris in a tumour necrosis factor- α -dependent fashion / S. Assaf, L. Malki, T. Mayer [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2021. – Vol. 184. – №. 6. – P. 1153-1160.
64. Up-regulation of ST18 in pemphigus vulgaris drives a self-amplifying p53-dependent pathomechanism resulting in decreased desmoglein 3 expression / S. Assaf, D. Vodo, K. Malovitski [et al.] // *Scientific Reports*. – 2022. – Vol. 12. – №. 1. – P. 5958.
65. Balachandran, C. Treatment of pemphigus / C. Balachandran // *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*. – 2003. – Vol. 69. – №. 1. – P. 3-5.
66. Updated S2K guidelines on the management of pemphigus vulgaris and foliaceus initiated by the European Academy of Dermatology and Venereology (EADV) / P. Joly, B.

Horvath, A. Patsatsi [et al.] // Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. – 2020. – Vol. 34. – №. 9. – P. 1900-1913.

67. Consensus statement on definitions of disease, end points, and therapeutic response for pemphigus / D. F. Murrell, S. Dick, A. R. Ahmed [et al.] // Journal of the American Academy of Dermatology. – 2008. – Vol. 58. – №. 6. – P. 1043-1046.

68. Treatment of refractory pemphigus vulgaris with anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab): Five cases / A. Antonucci, M. Negosanti, M. Tabanelli [et al.] // Journal of dermatological treatment. – 2007. – Vol. 18. – №. 3. – P. 178-183.

69. Gross, K. L. Molecular mechanisms regulating glucocorticoid sensitivity and resistance / K. L. Gross, N. Z. Lu, J. A. Cidlowski // Molecular and cellular endocrinology. – 2009. – Vol. 300. – №. 1-2. – P. 7-16.

70. Non-genomic effects of glucocorticoids: an updated view / R. A. Panettieri, D. Schaafsma, Y. Amrani [et al.] // Trends in pharmacological sciences. – 2019. – Vol. 40. – №. 1. – P. 38-49.

71. Lewis-Tuffin, L. J. The physiology of human glucocorticoid receptor β (hGR β) and glucocorticoid resistance / L. J. Lewis-Tuffin, J. A. Cidlowski // Annals of the New York Academy of Sciences. – 2006. – Vol. 1069. – №. 1. – P. 1-9.

72. Оценка влияния геномных и негеномных молекулярных механизмов на развитие стероидной резистентности при дерматозах различной этиологии. Систематический обзор / А. А. Лепехова, О. Ю. Олисова, Н. П. Теплюк [и др.] // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2024. – Том. 27. – №. 6. – P. 630-639.

73. Barnes, P. J. Glucocorticoid resistance in inflammatory diseases / P. J. Barnes, I. M. Adcock // The Lancet. – 2009. – Vol. 373. – №. 9678. – P. 1905-1917.

74. Oakley, R. H. The biology of the glucocorticoid receptor: new signaling mechanisms in health and disease / R. H. Oakley, J. A. Cidlowski // Journal of allergy and clinical immunology. – 2013. – Vol. 132. – №. 5. – P. 1033-1044.

75. Pujols, L. Alpha and beta glucocorticoid receptors: relevance in airway diseases / L. Pujols, J. Mullol, C. Picado // Current allergy and asthma reports. – 2007. – Vol. 7. – №. 2. – P. 93-99.

76. Adcock, I. M. Glucocorticoids / I. M. Adcock, S. Mumby // *Pharmacology and Therapeutics of Asthma and COPD*. – 2016. – Vol. 237. – P. 171-196.
77. Nicolaides, N. C. Chrousos syndrome: from molecular pathogenesis to therapeutic management / N. C. Nicolaides, E. Charmandari // *European journal of clinical investigation*. – 2015. – Vol. 45. – №. 5. – P. 504-514.
78. Glucocorticoid receptor (GR) β has intrinsic, GR α -independent transcriptional activity / T. Kino, I. Manoli, S. Kelkar [et al.] // *Biochemical and biophysical research communications*. – 2009. – Vol. 381. – №. 4. – P. 671-675.
79. The human glucocorticoid receptor (hGR) β isoform suppresses the transcriptional activity of hGR α by interfering with formation of active coactivator complexes / E. Charmandari, G. P. Chrousos, T. Ichijo [et al.] // *Molecular endocrinology*. – 2005. – Vol. 19. – №. 1. – P. 52-64.
80. Oeckinghaus, A. The NF- κ B family of transcription factors and its regulation / A. Oeckinghaus, S. Ghosh // *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. – 2009. – Vol. 1. – №. 4. – P. a000034.
81. Chikanza, I. C. Corticosteroid resistance in rheumatoid arthritis: molecular and cellular perspectives / I. C. Chikanza, D. L. Kozaci // *Rheumatology*. – 2004. – Vol. 43. – №. 11. – P. 1337-1345.
82. Ismaili, N. Modulation of glucocorticoid receptor function via phosphorylation / N. Ismaili, M. J. Garabedian // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2004. – Vol. 1024. – №. 1. – P. 86-101.
83. Steroid resistance of severe asthma - mechanisms and therapeutic targets / A. Mori, S. Kouyama, A. Ohtomo-Abe [et al.] // *Journal of Nippon Yakurigaku Zasshi*. – 2022. – Vol. 157. – №. 5. – P. 293-298.
84. NF κ B and glucocorticoid receptor activity in steroid resistance / C. Dawson, A. Dhanda, B. Conway-Campbell [et al.] // *Journal of Receptors and Signal Transduction*. – 2012. – Vol. 32. – №. 1. – P. 29-35.
85. Kubin, M. E. Glucocorticoids: The mode of action in bullous pemphigoid / M. E. Kubin, L. Hellberg, R. Palatsi // *Experimental Dermatology*. – 2017. – Vol. 26. – №. 12. – P. 1253-1260.

86. Perretti, M. Annexin A1 and glucocorticoids as effectors of the resolution of inflammation / M. Perretti, F. D'acquistio // *Nature Reviews Immunology*. – 2009. – Vol. 9. – №. 1. – P. 62-70.
87. Perretti, M., Exploiting the Annexin A1 pathway for the development of novel anti-inflammatory therapeutics / M. Perretti, J. Dalli // *British journal of pharmacology*. – 2009. – Vol. 158. – №. 4. – P. 936-946.
88. Возможные причины стероидной резистентности при истинной акантолитической пузырчатке и пути ее преодоления / А.С. Духанин, Н.С. Потекаев, Н.П. Теплюк, Н.Г. Кочергин, А.А. Лепехова [и др.] // *Врач*. – 2013. – №. 2. – С. 68-74.
89. Kozaci, D. L. The differential expression of corticosteroid receptor isoforms in corticosteroid-resistant and-sensitive patients with rheumatoid arthritis / D. L. Kozaci, Y. Chernajovsky, I. C. Chikanza // *Rheumatology*. – 2007. – Vol. 46. – №. 4. – P. 579-585.
90. Correlation between polymorphisms of the NR3C1 gene and glucocorticoid effectiveness in patients with pemphigus vulgaris / S. Y. Fang, C. L. Li, X. S. Liu [et al.] // *Scientific Reports*. – 2017. – Vol. 7. – №. 1. – P. 11890.
91. Association of singlenucleotide NR3C1 gene polymorphisms with glucocorticosteroid responsiveness in patients with pemphigus vulgaris / T. V. T. Le, D. Q. Nguyen, N. D. Tran [et al.] // *Dermatology Reports*. – 2021. – Vol. 14. – №. 2. – P. 9190.
92. Profiling of genes expressed in peripheral blood mononuclear cells predicts glucocorticoid sensitivity in asthma patients / H. Hakonarson, U. S. Bjornsdottir, E. Halapi [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2005. – Vol. 102. – №. 41. – P. 14789-14794.
93. Novel system evaluating in vivo pathogenicity of desmoglein 3-reactive T cell clones using murine pemphigus vulgaris / H. Takahashi, M. Amagai, T. Nishikawa [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2008. – Vol. 181. – №. 2. – P. 1526-1535.
94. Cytokine pattern in blister fluid and sera of patients with pemphigus / A. Baroni, B. Perfetto, E. Ruocco [et al.] // *Dermatology*. – 2002. – Vol. 205. – №. 2. – P. 116-121.

95. Serum levels of CCL17/TARC in various skin diseases / K. Tamaki, T. Kakinuma, H. Saeki [et al.] // *The Journal of dermatology*. – 2006. – Vol. 33. – №. 4. – P. 300-302.
96. Th1/Th17-related cytokines and chemokines and their implications in the pathogenesis of pemphigus vulgaris / R. P. Timoteo, M. V. da Silva, C. B. Miguel [et al.] // *Mediators of inflammation*. – 2017. – Vol. 2017. – №. 1. – P. 7151285.
97. ICAM-1, ELAM-1, TNF-alpha and IL6 in serum and blister liquid of pemphigus vulgaris patients / M. Alecu, S. Alecu, G. Coman [et al.] // *Roumanian Archives of Microbiology and Immunology*. – 1999. – Vol. 58. – №. 2. – P. 121-130.
98. Both Th1 and Th2 chemokines are elevated in sera of patients with autoimmune blistering diseases / T. Echigo, M. Hasegawa, Y. Shimada [et al.] // *Archives of dermatological research*. – 2006. – Vol. 298. – №. 1. – P. 38-45.
99. Cirillo, N. A scoping review of the role of metalloproteinases in the pathogenesis of autoimmune pemphigus and pemphigoid / N. Cirillo, S. S. Prime // *Biomolecules*. – 2021. – Vol. 11. – №. 10. – P. 1506.
100. Chriguier, R. S. Glucocorticoid sensitivity and proinflammatory cytokines pattern in pemphigus / R. S. Chriguier, A. M. Roselino, M. de Castro // *Journal of clinical immunology*. – 2012. – Vol. 32. – №. 4. – P. 786-793.
101. Goleva, E. IFN- γ reverses IL2–and IL4–mediated T-cell steroid resistance / E. Goleva, L. Li, D. Y. M. Leung // *American Journal of respiratory cell and molecular biology*. – 2009. – Vol. 40. – №. 2. – P. 223-230.
102. Effect of the simultaneous administration of glucocorticoids and IL15 on human NK cell phenotype, proliferation and function / A. Moustaki, K. V. Argyropoulos, C. N. Baxevanis [et al.] // *Cancer Immunology, Immunotherapy*. – 2011. – Vol. 60. – №. 12. – P. 1683-1695.
103. Аутоиммунная пузырчатка: новые подходы к диагностике и оценке тяжести заболевания / Н. П. Теплюк, Ю. В. Колесова, Д. В. Мак, А. А. Лепехова [и др.] // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. – 2023. – Т. 26. – №5. – С. 515-526.

104. Evaluation of desmoglein 1 and 3 autoantibodies in pemphigus vulgaris: correlation with disease severity / Z. Delavarian, P. Layegh, A. Pakfetrat [et al.] // *Journal of clinical and experimental dentistry*. – 2020. – Vol. 12. – №. 5. – P. e440.
105. Evaluation of anti-desmoglein-1 and anti-desmoglein-3 autoantibody titers in pemphigus patients at the time of the initial diagnosis and after clinical remission / I. Russo, F. P. De Siena, A. Saponeri [et al.] // *Medicine*. – 2017. – Vol. 96. – №. 46. – P. e8801.
106. Autoimmune Skin Conditions: Autoimmune Blistering Disease / M. Helm, L. A. Helm, K. T. Clebak [et al.] // *FP essentials*. – 2023. – Vol. 526. – P. 13-17.
107. Pemphigus vulgaris / A. M. Porro, C. A. Seque, M. C. C. Ferreira [et al.] // *Anais Brasileiros de Dermatologia*. – 2019. – Vol. 94. – №. 3. – P. 264-278.
108. Лепехова, А. А. Современные методы диагностики паранеопластической пузырчатки / А. А. Лепехова, Н. П. Теплюк, И. М. Болотова // *Вестник дерматологии и венерологии*. – 2019. – Т. 95. – №5. – С. 7-16.
109. Usefulness of miRNA-338-3p in the diagnosis of pemphigus and its correlation with disease severity / N. Lin, Q. Li, M. Wang [et al.] // *PeerJ*. – 2018. – Vol. 6. – P. e5388.
110. Кубанов, А. А. Применение клинко-диагностических индексов в оценке тяжести пузырчатки (сравнительный анализ) / А. А. Кубанов, Т. В. Абрамова // *Вестник дерматологии и венерологии*. – 2016. – №. 3. – С. 36-45.
111. Hailey-Hailey disease successfully treated with photodynamic therapy: Case report / N. Teplyuk, A. Lepekhova, E. Dunaeva [et al.] // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. – 2023. – Vol. 44. – P. 103738.
112. Desquamative and bullous lesions in a 68-year-old woman / O. Yu. Olisova, N. P. Teplyuk, A. A. Lepekhova, V. A. Varshavsky. – In: *Clinical Cases in Geriatric Exfoliative Dermatitis* / T. M. Lotti, U. Wollina, O. Olisova, M. Jafferany, editors. – Cham: Springer; 2022. – P. 75-80.
113. A 25-year-old woman with pruritic and bullous skin lesions developed in the third trimester of pregnancy 3 days before delivery / O. Yu. Olisova, N. P. Teplyuk, A. A. Lepekhova, V. A. Varshavsky. – In: *Clinical Cases in Geriatric Exfoliative Dermatitis* /

T. M. Lotti, U. Wollina, O. Olisova, M. Jafferany, editors. – Cham: Springer; 2022. – P. 1-5.

114. A 49-year-old woman with chronic recurrent vesicles, erosions, and fissures in flexural areas / O. Yu. Olisova, N. P. Teplyuk, A. A. Lepekhova. – In: Clinical Cases in Geriatric Exfoliative Dermatitis / T. M. Lotti, U. Wollina, O. Olisova, M. Jafferany, editors. – Cham: Springer; 2022. – P. 7-11.

115. First-line rituximab combined with short-term prednisone versus prednisone alone for the treatment of pemphigus (Ritux 3): a prospective, multicentre, parallel-group, open-label randomised trial / P. Joly, M. Maho-Vaillant, C. Prost-Squarcioni [et al.] // *The Lancet*. – 2017. – Vol. 389. – №. 10083. – P. 2031-2040.

116. Лепехова, А. А. Оценка эффективности комбинированной терапии плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином больных стероидрезистентной формой пузырчатки на основании исследования цитокинового и хемокинового профиля / А. А. Лепехова // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. – 2024. – Т. 27. – №6. – С. 673–686.

117. Green, M. G. Effect of intravenous immunoglobulin therapy on serum levels of IgG1 and IgG4 antidesmoglein 1 and antidesmoglein 3 antibodies in pemphigus vulgaris / M. G. Green, J. C. Bystryn // *Archives of dermatology*. – 2008. – Vol. 144. – №. 12. – P. 1621-1624.

118. Rituximab/IVIg in pemphigus—a 10-year study with a long follow-up / I. Hamadah, M. A. Chisti, M. Haider [et al.] // *Journal of Dermatological Treatment*. – 2019. – Vol. 30. – №. 2. – P. 170-175.

119. Ioannides, D. Ineffectiveness of cyclosporine as an adjuvant to corticosteroids in the treatment of pemphigus / D. Ioannides, F. Chrysomallis, J. C. Bystryn // *Arch Dermatol*. – 2000. – Vol. 136. – P. 868–872

120. Autoimmune pemphigus: latest advances and emerging therapies / Y. L. Lim, G. Bohelay, S. Hanakawa [et al.] // *Frontiers in Molecular Biosciences*. – 2022. – Vol. 8. – P. 808536.

121. Subcutaneous veltuzumab, a humanized anti-CD20 antibody, in the treatment of refractory pemphigus vulgaris / C. T. Ellebrecht, E. J. Choi, D. M. Allman [et al.] // *JAMA dermatology*. – 2014. – Vol. 150. – №. 12. – P. 1331-1335.
122. The neonatal Fc receptor (FcRn): a misnomer? / M. Pyzik, K. M. K. Sand, J. J. Hubbard [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2019. – Vol. 10. – P. 1540.
123. Blocking FcRn in humans reduces circulating IgG levels and inhibits IgG immune complex-mediated immune responses / L. J. Blumberg, J. E. Humphries, S. D. Jones [et al.] // *Science Advances*. – 2019. – Vol. 5. – №. 12. – P. eaax9586.
124. Safety, tolerability, and activity of ALXN1830 targeting the neonatal Fc receptor in chronic pemphigus / V. P. Werth, D. A. Culton, J. S. S. Concha [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2021. – Vol. 141. – №. 12. – P. 2858-2865. e4.
125. Next-generation Fc receptor-targeting biologics for autoimmune diseases / A. W. Zuercher, R. Spirig, A. Baz Morelli [et al.] // *Autoimmunity reviews*. – 2019. – Vol. 18. – №. 10. – P. 102366.
126. Treatment of pemphigus vulgaris and foliaceus with efgartigimod, a neonatal Fc receptor inhibitor: a phase II multicentre, open-label feasibility trial / M. Goebeler, Z. Bata-Csörgő, C. De Simone [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2022. – Vol. 186. – №. 3. – P. 429-439.
127. A multicenter, open-label, uncontrolled, single-arm phase 2 study of tirabrutinib, an oral Bruton's tyrosine kinase inhibitor, in pemphigus / J. Yamagami, H. Ujiie, Y. Aoyama [et al.] // *Journal of Dermatological Science*. – 2021. – Vol. 103. – №. 3. – P. 135-142.
128. Efficacy and safety of Bruton's tyrosine kinase inhibitors in the treatment of pemphigus: A comprehensive literature review and future perspective / Y. Ghane, N. Heidari, A. Heidari [et al.] // *Heliyon*. – 2023. – Vol. 9. – №. 12. – P. e22912.
129. Paraneoplastic pemphigus associated with B-cell chronic lymphocytic leukemia treated with ibrutinib and rituximab / Y. Ito, S. Makita, A. M. Maeshima [et al.] // *Internal Medicine*. – 2018. – Vol. 57. – №. 16. – P. 2395-2398.

130. A comprehensive review on the efficacy of anti-CD20 therapies in pemphigus treatment / A. Khan, A. Singh, B. Madke [et al.] // *Cureus*. – 2024. – Vol. 16. – №. 4. – P. e58834.
131. Теплюк, Н. П. Буллезный пемфигоид Левера (лекция-обзор) / Н. П. Теплюк // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. – 2007. – №. 1. – С. 43-49.
132. Случай ятрогенной формы буллезного пемфигоида Левера / О. Л. Иванов, М. И. Курдина, Л. А. Макаренко [и др.] // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. – 2011. – Т. 3. – №. 37. – С. 9.
133. Updated S2 K guidelines for the management of bullous pemphigoid initiated by the European Academy of Dermatology and Venereology (EADV) / L. Borradori, N. Van Beek, C. Feliciani [et al.] // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2022. – Vol. 36. – №. 10. – P. 1689-1704.
134. Министерство здравоохранения Российской Федерации: офиц. сайт. Клинические рекомендации по лечению буллезного пемфигоида. [Электронный ресурс]. – Общероссийская общественная организация "Российское общество дерматовенерологов и косметологов", 2020. – URL: https://med-disp-venerologicheskij-kurgan-r45.gosweb.gosuslugi.ru/netcat_files/35/68/KR231.pdf
135. Bullous pemphigoid: trigger and predisposing factors / F. Moro, L. Fania, J. L. M. Sinagra [et al.] // *Biomolecules*. – 2020. – Vol. 10. – №. 10. – P. 1432.
136. Оценка распространённости HLA аллелей II класса (DRB1 и DQB1) у больных буллезным пемфигоидом, синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом в российской популяции / А. А. Лепехова, А. С. Духанин, Н. П. Теплюк [и др.] // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. – 2024. – Т. 27. – №. 3. – С. 249-261.
137. The association of HLA-DQ7 with bullous pemphigoid is restricted to men / C. C. Banfield, F. Wojnarowska, J. Allen [et al.] // *British journal of dermatology*. – 1998. – Vol. 138. – №. 6. – P. 1085-1090.
138. Identification and characterization of autoreactive T cell responses to bullous pemphigoid antigen 2 in patients and healthy controls / L. Budinger, C. Borradori, R. Yee

[et al.] // The Journal of clinical investigation. – 1998. – Vol. 102. – №. 12. – P. 2082-2089.

139. Polymorphisms of HLA-DR and-DQ genes in Japanese patients with bullous pemphigoid / S. Okazaki, Y. Miyagawa, W. Yamashina [et al.] // The Journal of dermatology. – 2000. – Vol. 27. – №. 3. – P. 149-156.

140. HLA-DR and DQ polymorphisms in bullous pemphigoid from northern China / X. H. Gao, S. Winsey, G. Li [et al.] // Clinical and experimental dermatology. – 2002. – Vol. 27. – №. 4. – P. 319-321.

141. Association between HLA-DQB1* 03: 01 and Bullous pemphigoid in Iranian patients / N. Esmaili, H. Mortazavi, C. Chams-Davatchi [et al.] // Iranian Journal of Immunology. – 2013. – Vol. 10. – №. 1. – P. 1-9.

142. Association of HLA class I and class II alleles with bullous pemphigoid in Chinese Hans / H. Fang, S. Shen, X. Zheng [et al.] // Journal of Dermatological Science. – 2018. – Vol. 89. – №. 3. – P. 258-262.

143. HLA-DR and DQ polymorphisms in bullous pemphigoid from northern China / X. H. Gao, S. Winsey, G. Li [et al.] // Clinical and experimental dermatology. – 2002. – Vol. 27. – №. 4. – P. 319-321.

144. Identification of two novel bullous pemphigoid-associated alleles, HLA-DQA1* 05: 05 and-DRB1* 07: 01, in Germans / C. Schwarm, D. Gola, M. M. Holtsche [et al.] // Orphanet journal of rare diseases. – 2021. – Vol. 16. – №. 1. – P. 228.

145. The HLA-DQB1* 03: 01 is associated with bullous pemphigoid in the Han Chinese population / Y. Sun, H. Liu, Z. Wang [et al.] // Journal of Investigative Dermatology. – 2018. – Vol. 138. – №. 8. – P. 1874-1877.

146. Mucous membrane pemphigoid: HLA-DQB1* 0301 is associated with all clinical sites of involvement and may be linked to antibasement membrane IgG production / J. Setterfield, J. Theron, R. W. Vaughan [et al.] // British Journal of Dermatology. – 2001. – Vol. 145. – №. 3. – P. 406-414.

147. Association of HLA class II alleles and haplotypes with bullous and mucus membrane pemphigoid risk: A systematic review, a meta-analysis and a meta-regression

- / T. Dhaouadi, A. Riahi, T. Ben Abdallah [et al.] // *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*. – 2024. – Vol. 38. – P. 03946320241296903.
148. Bullous pemphigoid / I. S. Bağcı, O. N. Horváth, T. Ruzicka [et al.] // *Autoimmunity reviews*. – 2017. – Vol. 16. – №. 5. – P. 445-455.
149. HLA-C* 17, DQB1* 03: 01, DQA1* 01: 03 and DQA1* 05: 05 Alleles Associated to Bullous Pemphigoid in Brazilian Population / A. A. Chagury, L. U. Sennes, J. M. Gil [et al.] // *Ann Dermatol*. – 2018. – Vol. 30. – №. 1.
150. Bullous pemphigoid and human leukocyte antigen (HLA)-DQA1: a systematic review / R. Hesari, D. Thibaut, N. Schur [et al.] // *Cureus*. – 2023. – Vol. 15. – №. 6.
151. Liu, Y. BP180 is critical in the autoimmunity of bullous pemphigoid / Y. Liu, L. Li, Y. Xia // *Frontiers in immunology*. – 2017. – Vol. 8. – P. 1752.
152. The autoimmune skin disease bullous pemphigoid: the role of mast cells in autoantibody-induced tissue injury / H. Fang, Y. Zhang, L. Li [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 407.
153. Bullous pemphigoid associated with mantle cell lymphoma / P. Iranzo, I. López-Lerma, M. Teresa Robles [et al.] // *Archives of dermatology*. – 2004. – Vol. 140. – №. 12. – P. 1496-1499.
154. Baigrie, D. Bullous Pemphigoid / D. Baigrie, V. Nookala // *StatPearls Publishing*. – 2023. – URL: [https:// www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535374/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535374/)
155. Bullous pemphigoid / I. S. Bağcı, O. N. Horváth, T. Ruzicka [et al.] // *Autoimmunity reviews*. – 2017. – Vol. 16. – №. 5. – P. 445-455.
156. Elevated IL31 serum levels in bullous pemphigoid patients correlate with eosinophil numbers and are associated with BP180-IgE / M. Salz, S. Haeberle, J. Hoffmann [et al.] // *Journal of Dermatological Science*. – 2017. – Vol. 87. – №. 3. – P. 309-311.
157. Decreased level of interleukin-10-producing B cells in patients with pemphigus but not in patients with pemphigoid / M. Kabuto, N. Fujimoto, T. Takahashi [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2017. – Vol. 176. – №. 5. – P. 1204-1212.
158. Serum thymus and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) levels reflect the disease activity in a patient with bullous pemphigoid / R. Nin-Asai, Y. Muro, A.

Sekiya [et al.] // Journal of the European Academy of Dermatology & Venereology. – 2016. – Vol. 30. – №. 2.

159. High levels of CCL26 in blister fluid and sera of patients with bullous pemphigoid / S. Kagami, H. Kai, T. Kakinuma [et al.] // Journal of investigative dermatology. – 2012. – Vol. 132. – №. 1. – P. 249-251.

160. IL17A is functionally relevant and a potential therapeutic target in bullous pemphigoid / L. Chakievska, M. M. Holtsche, A. Künstner [et al.] // Journal of autoimmunity. – 2019. – Vol. 96. – P. 104-112.

161. New insights into the pathogenesis of bullous pemphigoid: 2019 update / G. Genovese, G. Di Zenzo, E. Cozzani [et al.] // Frontiers in immunology. – 2019. – Vol. 10. – P. 1506.

162. TWEAK/Fn14 activation contributes to the pathogenesis of bullous pemphigoid / Y. Liu, L. Peng, L. Li [et al.] // Journal of Investigative Dermatology. – 2017. – Vol. 137. – №. 7. – P. 1512-1522.

163. Regulatory T-cell deficiency leads to pathogenic bullous pemphigoid antigen 230 autoantibody and autoimmune bullous disease / S. Haeberle, X. Wei, K. Bieber [et al.] // Journal of Allergy and Clinical Immunology. – 2018. – Vol. 142. – №. 6. – P. 1831-1842. e7.

164. Regulatory T-cells suppress inflammation and blistering in pemphigoid diseases / K. Bieber, S. Sun, M. Witte [et al.] // Frontiers in immunology. – 2017. – Vol. 8. – P. 1628.

165. Dysfunction of CD19⁺ CD24^{hi}CD27⁺ B regulatory cells in patients with bullous pemphigoid / Z. Liu, E. Dang, B. Li [et al.] // Scientific reports. – 2018. – Vol. 8. – №. 1. – P. 703.

166. Characterizing the proteome of bullous pemphigoid blister fluid utilizing tandem mass tag labeling coupled with LC-MS/MS / F. Solimani, D. Didona, J. Li [et al.] // Archives of Dermatological Research. – 2022. – Vol. 314. – №. 9. – P. 921-928.

167. Eosinophil cationic protein levels parallel coagulation activation in the blister fluid of patients with bullous pemphigoid / A. Tedeschi, A. V. Marzano, M. Lorini [et al.] //

Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. – 2015. – Vol. 29. – №. 4. – P. 813-817.

168. Increased coexpression of eotaxin and interleukin 5 in bullous pemphigoid / M. Shrikhande, T. Hunziker, L. R. Braathen [et al.] // Acta dermato-venereologica. – 2000. – Vol. 80. – №. 4. – P. 277-280

169. Increased activity and apoptosis of eosinophils in blister fluids, skin and peripheral blood of patients with bullous pemphigoid / J. Engmann, U. Rudrich, G. Behrens [et al.] // Acta dermato-venereologica. – 2017. – Vol. 97. – №. 4. – P. 464-471.

170. Up-regulation of the chemokine CCL18 by macrophages is a potential immunomodulatory pathway in cutaneous T-cell lymphoma / C. Günther, N. Zimmermann, N. Berndt [et al.] // The American journal of pathology. – 2011. – Vol. 179. – №. 3. – P. 1434-1442.

171. Elevated levels of eotaxin and interleukin-5 in blister fluid of bullous pemphigoid: correlation with tissue eosinophilia / M. Wakugawa, K. Nakamura, H. Hino [et al.] // British Journal of Dermatology. – 2000. – Vol. 143. – №. 1. – P. 112-116.

172. Monocytes enhance neutrophil-induced blister formation in an ex vivo model of bullous pemphigoid / E. de Graauw, C. Sitaru, M. P. Horn [et al.] // Allergy. – 2018. – Vol. 73. – №. 5. – P. 1119-1130.

173. Granzyme B is elevated in autoimmune blistering diseases and cleaves key anchoring proteins of the dermal-epidermal junction / V. Russo, T. Klein, D. J. Lim [et al.] // Scientific reports. – 2018. – Vol. 8. – №. 1. – P. 9690.

174. Proinflammatory role of blister fluid-derived exosomes in bullous pemphigoid / H. Fang, S. Shao, M. Jiang [et al.] // The Journal of Pathology. – 2018. – Vol. 245. – №. 1. – P. 114-125.

175. Expression of glucocorticoid receptors GR α and GR β in bullous pemphigoid / M. E. Kubin, P. M. Hägg, N. Kokkonen [et al.] // Acta Dermato-Venereologica. – 2016. – Vol. 96. – №. 7. – P. 922-926.

176. Альбанова, В. И. Аутоиммунные буллезные дерматозы. Дифференциальный диагноз / В. И. Альбанова, М. А. Нефедова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2017. – №. 3. – С. 10-20.

177. Interventions for bullous pemphigoid / G. Kiritschig, P. Middleton, C. Bennett [et al.] // Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2010. – №. 10.
178. Assessment of adherence to topical corticosteroids in patients with bullous pemphigoid / V. Sobocinski, S. Duvert-Lehembre, M. Bubenheim [et al.] // British Journal of Dermatology. – 2016. – Vol. 174. – №. 4. – P. 919-921.
179. Terra, J. B. Whole body application of a potent topical corticosteroid for bullous pemphigoid / J. B. Terra, W. J. B. Potze, M. F. Jonkman // Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. – 2014. – Vol. 28. – №. 6. – P. 712-718.
180. A blistering new era for bullous pemphigoid: a scoping review of current therapies, ongoing clinical trials, and future directions / S. N. Khalid, Z. A. Khan, M. H. Ali [et al.] // Annals of Medicine and Surgery. – 2021. – Vol. 70. – P. 102799.
181. Tetracycline and Nicotinamide for the Treatment of Bullous Pemphigoid: Our Experience in Singapore / A. T. J. Goon, S. H. Tan, L. S. W. Khoo [et al.] // Singapore medical journal. – 2000. – Vol. 41. – №. 7. – P. 327-330.
182. JAK Inhibitors as a Novel Approach to Autoimmune Bullous Diseases: A Review / O. Olisova, Y. Kolesova, N. Teplyuk, E. Grekova, L. Ni, A. Mardanova, K. Karray, A. Tikhonova, A. Lepekhova // Dermatologic Therapy. – 2026. – Vol. 2026. – №. 1. – P. 6330416.
183. Childhood bullous pemphigoid successfully treated with diaminodiphenyl sulfone / S.-I. Motegi, M. Abe, A. Tamura [et al.] // The Journal of Dermatology. – 2005. – Vol. 32. – №. 10. – P. 809-812.
184. Complement activation in autoimmune bullous dermatoses: a comprehensive review / G. Edwards, G. F. H. Diercks, M. A. J. Seelen [et al.] // Frontiers in immunology. – 2019. – Vol. 10. – P. 1477.
185. The C5a receptor on mast cells is critical for the autoimmune skin-blistering disease bullous pemphigoid / L. Heimbach, Z. Li, P. Berkowitz [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 2011. – Vol. 286. – №. 17. – P. 15003-15009.
186. Emerging treatments for bullous pemphigoid / P. M. Garrido, C. S. Queirós, A. R. Travassos [et al.] // Journal of Dermatological Treatment. – 2022. – Vol. 33. – №. 2. – P. 649-661.

187. Dupilumab as a novel therapy for bullous pemphigoid: a multicenter case series / R. Abdat, R. A. Waldman, V. de Bedout [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2020. – Vol. 83. – №. 1. – P. 46-52.
188. Case report: combination of omalizumab and dupilumab for recalcitrant bullous pemphigoid / S. M. Seyed Jafari, L. Feldmeyer, S. Bossart [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2021. – Vol. 11. – P. 611549.
189. Dupilumab for the treatment of recalcitrant bullous pemphigoid / A. Kaye, S. C. Gordon, S. C. Deverapalli [et al.] // *JAMA dermatology*. – 2018. – Vol. 154. – №. 10. – P. 1225-1226.
190. Cao, P. Rituximab, omalizumab, and dupilumab treatment outcomes in bullous pemphigoid: a systematic review / P. Cao, W. Xu, L. Zhang // *Frontiers in immunology*. – 2022. – Vol. 13. – P. 928621.
191. Сравнительная оценка эффективности различных методов терапии синдрома Стивенса-Джонсона и токсического эпидермального некролиза на основании данных литературы / А. А. Лепехова, А. С. Алленова, О. Ю. Олисова [и др.] // *Вестник Российской академии медицинских наук*. – 2019. – Т. 74. – №. 3. – С. 157-166.
192. Comprehensive survival analysis of a cohort of patients with Stevens–Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis / P. Sekula, A. Dunant, M. Mockenhaupt [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2013. – Vol. 133. – №. 5. – P. 1197-1204.
193. Wolf, R. Drug eruptions in the mature patient / R. Wolf, B. Marinović // *Clinics in dermatology*. – 2018. – Vol. 36. – №. 2. – P. 249-254.
194. Genetic susceptibility to toxic epidermal necrolysis / J. C. Roujeau, T. N. Huynh, C. Bracq [et al.] // *Archives of dermatology*. – 1987. – Vol. 123. – №. 9. – P. 1171-1173.
195. Association of HLA-B* 5801 allele and allopurinol-induced Stevens Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a systematic review and meta-analysis / R. Somkrua, E. E. Eickman, S. Saokaew [et al.] // *BMC medical genetics*. – 2011. – Vol. 12. – №. 1. – P. 118.
196. Stevens–Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in association with commonly prescribed drugs in outpatient care other than anti-epileptic drugs and

antibiotics: A population-based case–control study / N. Frey, M. Bodmer, A. Bircher [et al.] // *Drug safety*. – 2019. – Vol. 42. – №. 1. – P. 55-66.

197. Significant HLA class I type associations with aromatic antiepileptic drug (AED)-induced SJS/TEN are different from those found for the same AED-induced DRESS in the Spanish population / E. Ramírez, T. Bellón, H. Y. Tong [et al.] // *Pharmacological research*. – 2017. – Vol. 115. – P. 168-178.

198. Carbamazepine-induced severe cutaneous adverse reactions and HLA genotypes in Koreans / S. H. Kim, K. W. Lee, W. J. Song [et al.] // *Epilepsy research*. – 2011. – Vol. 97. – №. 1-2. – P. 190-197.

199. HLA-B*1511 is a risk factor for carbamazepine-induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Japanese patients / N. Kaniwa, Y. Saito, M. Aihara [et al.] // *Epilepsia*. – 2010. – Vol. 51. – №. 12. – P. 2461-2465.

200. Association of HLA-B*15: 13 and HLA-B* 15: 02 with phenytoin-induced severe cutaneous adverse reactions in a Malay population / C. C. Chang, C. C. Ng, C. L. Too [et al.] // *The pharmacogenomics journal*. – 2017. – Vol. 17. – №. 2. – P. 170-173.

201. Associations between HLA class I and cytochrome P450 2C9 genetic polymorphisms and phenytoin-related severe cutaneous adverse reactions in a Thai population / W. Tassaneeyakul, N. Prabmeechai, C. Sukasem [et al.] // *Pharmacogenetics and genomics*. – 2016. – Vol. 26. – №. 5. – P. 225-234.

202. HLA-B*5801 allele as a genetic marker for severe cutaneous adverse reactions caused by allopurinol / S. I. Hung, W. H. Chung, L. B. Liou [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2005. – Vol. 102. – №. 11. – P. 4134-4139.

203. HLA-B* 58: 01 for allopurinol-induced cutaneous adverse drug reactions: implication for clinical interpretation in Thailand / C. Sukasem, T. Jantararoungtong, P. Kuntawong [et al.] // *Frontiers in pharmacology*. – 2016. – Vol. 7. – P. 186.

204. Positive and negative associations of HLA class I alleles with allopurinol-induced SCARs in Koreans / H. R. Kang, Y. K. Jee, Y. S. Kim [et al.] // *Pharmacogenetics and genomics*. – 2011. – Vol. 21. – №. 5. – P. 303-307.

205. A European study of HLA-B in Stevens–Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis related to five high-risk drugs / C. Lonjou, N. Borot, P. Sekula [et al.] // *Pharmacogenetics and genomics*. – 2008. – Vol. 18. – №. 2. – P. 99-107.
206. HLA-B locus in Japanese patients with anti-epileptics and allopurinol-related Stevens–Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis / N. Kaniwa, Y. Saito, M. Aihara [et al.] // *Pharmacogenomics*. – 2008. – Vol. 9. – №. 11. – P. 1617-1622.
207. Association between presence of HLA-B*5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir / S. Mallal, D. Nolan, C. Witt [et al.] // *The Lancet*. – 2002. – Vol. 359. – №. 9308. – P. 727-732.
208. Genetic variations in HLA-B region and hypersensitivity reactions to abacavir / S. Hetherington, A. R. Hughes, M. Mosteller [et al.] // *The Lancet*. – 2002. – Vol. 359. – №. 9312. – P. 1121-1122.
209. Predisposition to abacavir hypersensitivity conferred by HLA-B*5701 and a haplotypic Hsp70-Hom variant / A. M. Martin, D. Nolan, S. Gaudieri [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2004. – Vol. 101. – №. 12. – P. 4180-4185.
210. Recent progress in Stevens–Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis: diagnostic criteria, pathogenesis and treatment / N. Hama, S. Aoki, C. B. Chen [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2025. – Vol. 192. – №. 1. – P. 9-18.
211. Schunkert, E. M. Skin resident memory T cells may play critical role in delayed-type drug hypersensitivity reactions / E. M. Schunkert, P. N. Shah, S. J. Divito // *Frontiers in immunology*. – 2021. – Vol. 12. – P. 654190.
212. Hasegawa, A. Recent advances in managing and understanding Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis / A. Hasegawa, R. Abe // *F1000Research*. – 2020. – Vol. 9. – P. F1000 Faculty Rev-612.
213. T cell recognition of penicillin G: structural features determining antigenic specificity / E. Padovan, D. Mauri-Hellweg, W. J. Pichler [et al.] // *European journal of immunology*. – 1996. – Vol. 26. – №. 1. – P. 42-48.

214. Cheng, L. Current pharmacogenetic perspective on Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis / L. Cheng // *Frontiers in Pharmacology*. – 2021. – Vol. 12. – P. 588063.
215. Stevens–Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a review of diagnosis and management / R. Frantz, S. Huang, A. Are [et al.] // *Medicina*. – 2021. – Vol. 57. – №. 9. – P. 895.
216. Watkins, S. Sulfamethoxazole induces a switch mechanism in T cell receptors containing TCRV β 20-1, altering pHLA recognition / S. Watkins, W. J. Pichler // *PloS one*. – 2013. – Vol. 8. – №. 10. – P. e76211.
217. Su, S. C. Cytotoxic proteins and therapeutic targets in severe cutaneous adverse reactions / S. C. Su, W. H. Chung // *Toxins*. – 2014. – Vol. 6. – №. 1. – P. 194-210.
218. Elmore, S. Apoptosis: a review of programmed cell death / S. Elmore // *Toxicologic pathology*. – 2007. – Vol. 35. – №. 4. – P. 495-516.
219. Intracellular localization of keratinocyte Fas ligand explains lack of cytolytic activity under physiological conditions / I. Viard-Leveugle, R. R. Bullani, P. Meda [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. – 2003. – Vol. 278. – №. 18. – P. 16183-16188.
220. Inhibition of toxic epidermal necrolysis by blockade of CD95 with human intravenous immunoglobulin / I. Viard, P. Wehrli, R. Bullani [et al.] // *Science*. – 1998. – Vol. 282. – №. 5388. – P. 490-493.
221. Fas ligand in human serum / M. Tanaka, T. Suda, K. Haze [et al.] // *Nature medicine*. – 1996. – Vol. 2. – №. 3. – P. 317-322.
222. Abe, R. Toxic epidermal necrolysis and Stevens–Johnson syndrome: soluble Fas ligand involvement in the pathomechanisms of these diseases / R. Abe // *Journal of dermatological science*. – 2008. – Vol. 52. – №. 3. – P. 151-159.
223. Stur, K. Soluble FAS ligand: a discriminating feature between drug-induced skin eruptions and viral exanthemas / K. Stur, F. M. Karlhofer, G. Stingl // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2007. – Vol. 127. – №. 4. – P. 802-807.
224. Drug specific cytotoxic T-cells in the skin lesions of a patient with toxic epidermal necrolysis / A. Nassif, A. Bensussan, N. Bachot [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2002. – Vol. 118. – №. 4. – P. 728-733.

225. Toxic epidermal necrolysis: effector cells are drug-specific cytotoxic T cells / A. Nassif, A. Bensussan, L. Boumsell [et al.] // *Journal of allergy and clinical immunology*. – 2004. – Vol. 114. – №. 5. – P. 1209-1215.
226. Liu, C. C. Lymphocyte-mediated cytolysis and disease / C. C. Liu, L. H. Y. Young, J. D. E. Young // *New England Journal of Medicine*. – 1996. – Vol. 335. – №. 22. – P. 1651-1659.
227. Detecting lesional granulysin levels for rapid diagnosis of cytotoxic T lymphocyte-mediated bullous skin disorders / C. B. Chen, K. L. Kuo, C. W. Wang [et al.] // *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. – 2021. – Vol. 9. – №. 3. – P. 1327-1337. e3.
228. Prolonged elevation of serum granulysin in drug-induced hypersensitivity syndrome / N. Saito, R. Abe, N. Yoshioka [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2012. – Vol. 167. – №. 2. – P. 452-453.
229. Linkermann, A. Necroptosis / A. Linkermann, D. R. Green // *New England Journal of Medicine*. – 2014. – Vol. 370. – №. 5. – P. 455-465.
230. Diverse expression of TNF- α and CCL27 in serum and blister of Stevens–Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis / F. Wang, Y. Ye, Z. Y. Luo [et al.] // *Clinical and Translational Allergy*. – 2018. – Vol. 8. – №. 1. – P. 12.
231. An annexin A1–FPR1 interaction contributes to necroptosis of keratinocytes in severe cutaneous adverse drug reactions / N. Saito, H. Qiao, T. Yanagi [et al.] // *Science translational medicine*. – 2014. – Vol. 6. – №. 245. – P. 245ra95-245ra95.
232. Neutrophils initiate and exacerbate Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis / M. Kinoshita, Y. Ogawa, N. Hama [et al.] // *Science translational medicine*. – 2021. – Vol. 13. – №. 600. – P. eaax2398.
233. Plasma exosomal miR-375-3p regulates mitochondria-dependent keratinocyte apoptosis by targeting XIAP in severe drug-induced skin reactions / C. Zhang, Z. L. Zhu, J. X. Gao [et al.] // *Science translational medicine*. – 2020. – Vol. 12. – №. 574. – P. eaaw6142.
234. Stewart, T. J. A systematic review of case–control studies of cytokines in blister fluid and skin tissue of patients with Stevens Johnson syndrome and toxic epidermal

- necrolysis / T. J. Stewart, J. Farrell, J. W. Frew // *Australasian Journal of Dermatology*. – 2024. – Vol. 65. – №. 6. – P. 491-504.
235. The Potential Roles of IL1 β , IL6, and RIPK3 in the Pathogenesis of Stevens–Johnson Syndrome/Toxic Epidermal Necrolysis / C. Sooranahalli, V. R. Rao, B. Zelman [et al.] // *Diagnostics*. – 2025. – Vol. 15. – №. 3. – P. 290.
236. Барденикова, С. И. Синдром Стивенса-Джонсона-иммунная катастрофа / С. И. Барденикова, О. С. Пеньтковская, Е. К. Исаева // *РМЖ. Мать и дитя*. – 2019. – Т. 2. – №. 1. – С. 66-72.
237. Stevens–Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: an update / R. P. Dodiuk-Gad, W. H. Chung, L. Valeyrie-Allanore [et al.] // *American journal of clinical dermatology*. – 2015. – Vol. 16. – №. 6. – P. 475-493.
238. Risk factors for the development of ocular complications of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis / J. Gueudry, J. C. Roujeau, M. Binaghi [et al.] // *Archives of dermatology*. – 2009. – Vol. 145. – №. 2. – P. 157-162.
239. Lebargy, F. Pulmonary complications in toxic epidermal necrolysis: a prospective clinical study / F. Lebargy, P. Wolkenstein, M. Gisselbrecht // *Intensive care medicine*. – 1997. – Vol. 23. – №. 12. – P. 1237-1244.
240. Bacteremia in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: epidemiology, risk factors, and predictive value of skin cultures / N. de Prost, S. Ingen-Housz-Oro, T. anh Duong [et al.] // *Medicine*. – 2010. – Vol. 89. – №. 1. – P. 28-36.
241. Powell, N. Colonic involvement in Stevens-Johnson syndrome / N. Powell, J. M. Munro, D. Rowbotham // *Postgraduate Medical Journal*. – 2006. – Vol. 82. – №. 968. – P. e10-e10.
242. Stevens-Johnson and Lyell syndromes: mucocutaneous and ocular sequels in 43 cases / A. Fellahi, K. Zouhair, A. Amraoui [et al.] // *Annales de Dermatologie et de Venereologie*. – 2010. – Vol. 138. – №. 2. – P. 88-92.
243. Stevens–Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: follow-up of pulmonary function after remission / T. A. Duong, N. de Prost, S. Ingen-Housz-Oro [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2015. – Vol. 172. – №. 2. – P. 400-405.

244. SCORTEN: a severity-of-illness score for toxic epidermal necrolysis / N. Fouchard, M. Bertocchi, J. C. Roujeau [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2000. – Vol. 115. – №. 2. – P. 149-153.
245. Clinical classification of cases of toxic epidermal necrolysis, Stevens-Johnson syndrome, and erythema multiforme / S. Bastuji-Garin, B. Rzany, R. S. Stern [et al.] // *Archives of dermatology*. – 1993. – Vol. 129. – №. 1. – P. 92-96.
246. Carbamazepine-induced toxic effects and HLA-B* 1502 screening in Taiwan / P. Chen, J. J. Lin, C. S. Lu [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2011. – Vol. 364. – №. 12. – P. 1126-1133.
247. Effects of treatments on the mortality of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: A retrospective study on patients included in the prospective EuroSCAR Study / J. Schneck, J. P. Fagot, P. Sekula [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2008. – Vol. 58. – №. 1. – P. 33-40.
248. Kardaun, S. H. Dexamethasone pulse therapy for Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis / S. H. Kardaun, M. F. Jonkman // *Acta dermato-venereologica*. – 2007. – Vol. 87. – №. 2. – P. 144-148.
249. Methylprednisolone pulse therapy for Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis: clinical evaluation and analysis of biomarkers / K. Hirahara, Y. Kano, Y. Sato [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2013. – Vol. 69. – №. 3. – P. 496-498.
250. Toxic epidermal necrolysis: analysis of clinical course and SCORTEN-based comparison of mortality rate and treatment modalities in Korean patients / K. J. Kim, D. P. Lee, H. S. Suh [et al.] // *Acta dermato-venereologica*. – 2005. – Vol. 85. – №. 6. – P. 497-502.
251. Open trial of ciclosporin treatment for Stevens–Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis / L. Valeyrie-Allanore, P. Wolkenstein, L. Brochard [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2010. – Vol. 163. – №. 4. – P. 847-853.
252. Singh, G. K. Cyclosporine in Stevens Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis and retrospective comparison with systemic corticosteroid / G. K. Singh, M.

- Chatterjee, R. Verma // *Indian journal of dermatology, venereology and leprology*. – 2013. – Vol. 79. – P. 686.
253. Cyclosporine use in epidermal necrolysis is associated with an important mortality reduction: evidence from three different approaches / C. Gonzalez-Herrada, S. Rodriguez-Martin, L. Cachafeiro [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2017. – Vol. 137. – №. 10. – P. 2092-2100.
254. Effectiveness, safety and tolerability of cyclosporine versus supportive treatment in Stevens–Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis: a record-based study / S. Mohanty, A. Das, A. Ghosh [et al.] // *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*. – 2017. – Vol. 83. – P. 312.
255. Cyclosporine treatment for Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis: retrospective analysis of a cohort treated in a specialized referral center / H. Y. Lee, S. Fook-Chong, H. Y. Koh [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2017. – Vol. 76. – №. 1. – P. 106-113.
256. Randomized, controlled trial of TNF- α antagonist in CTL-mediated severe cutaneous adverse reactions / C. W. Wang, L. Y. Yang, C. B. Chen [et al.] // *The Journal of clinical investigation*. – 2018. – Vol. 128. – №. 3. – P. 985-996.
257. Etanercept therapy for toxic epidermal necrolysis / A. Paradisi, D. Abeni, F. Bergamo [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2014. – Vol. 71. – №. 2. – P. 278-283.
258. Treatment of toxic epidermal necrolysis with the combination of infliximab and high-dose intravenous immunoglobulin / G. Gaitanis, P. Spyridonos, K. Patmanidis [et al.] // *Dermatology*. – 2012. – Vol. 224. – №. 2. – P. 134-139.
259. UK guidelines for the management of Stevens–Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis in adults 2016 / D. Creamer, S. A. Walsh, P. Dziewulski [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2016. – Vol. 174. – №. 6. – P. 1194-1227.
260. The role of intravenous immunoglobulin in toxic epidermal necrolysis: a retrospective analysis of 64 patients managed in a specialized centre / H. Y. Lee, Y. L. Lim, T. Thirumoorthy [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2013. – Vol. 169. – №. 6. – P. 1304-1309.

261. Plasma exchange in patients with toxic epidermal necrolysis / G. Bamichas, T. Natse, F. Christidou [et al.] // *Therapeutic Apheresis*. – 2002. – Vol. 6. – №. 3. – P. 225-228.
262. Lack of significant treatment effect of plasma exchange in the treatment of drug-induced toxic epidermal necrolysis? / A. Furubacke, G. Berlin, C. Anderson [et al.] // *Intensive care medicine*. – 1999. – Vol. 25. – №. 11. – P. 1307-1310.
263. Successful treatment of toxic epidermal necrolysis using plasmapheresis: a prospective observational study / F. Han, J. Zhang, Q. Guo [et al.] // *Journal of Critical Care*. – 2017. – Vol. 42. – P. 65-68.
264. Beneficial effect of plasma exchange in the treatment of toxic epidermal necrolysis: a series of four cases / M. Košťál, M. Bláha, M. Lánská [et al.] // *Journal of clinical apheresis*. – 2012. – Vol. 27. – №. 4. – P. 215-220.
265. Paquet, P. Topical treatment options for drug-induced toxic epidermal necrolysis (TEN) / P. Paquet, G. E. Piérard // *Expert opinion on pharmacotherapy*. – 2010. – Vol. 11. – №. 15. – P. 2447-2458.
266. Blocking soluble Fas Ligand ameliorates pemphigus: PC111 efficacy in ex-vivo human pemphigus models / R. Lotti, J. E. Hundt, R. J. Ludwig [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1193032.
267. Single-cell spatial proteomics identifies the JAK/STAT pathway as an actionable therapeutic target in lethal cutaneous drug reactions / T. M. Nordmann, H. Anderton, A. Hasegawa [et al.] // *medRxiv*. – 2023. – P. 2023.11. 11.23295492.
268. The Emerging Role of Artificial Intelligence in Dermatology: A Systematic Review of Its Clinical Applications / E. Martínez-Vargas, J. Mora-Jiménez, S. Arguedas-Chacón [et al.] // *Dermato*. – 2025. – Vol. 5. – №. 2. – P. 9.
269. Применение математических методов машинного обучения для прогнозирования ответа на терапию у больных тяжёлыми буллёзными дерматозами / О. Ю. Олисова, А. А. Лепехова, А. С. Духанин [и др.] // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. – 2025. – Т. 28. – №. 5. – С. 594-614.

270. Madarkar, M. S. FotoFinder dermoscopy analysis and histopathological correlation in primary localized cutaneous amyloidosis / M. S. Madarkar, V. R. Koti // *Dermatology Practical & Conceptual*. – 2021. – Vol. 11. – №. 3. – P. e2021057.
271. Observational study investigating the level of support from a convolutional neural network in face and scalp lesions deemed diagnostically ‘unclear’ by dermatologists / K. S. Kommos, J. K. Winkler, C. Mueller-Christmann [et al.] // *European Journal of Cancer*. – 2023. – Vol. 185. – P. 53-60.
272. Artificial intelligence in autoimmune bullous dermatoses / K. Manuelyan, M. Dragolov, K. Drenovska [et al.] // *Clinics in Dermatology*. – 2024. – Vol. 42. – №. 5. – P. 426-433.
273. A machine learning-based, decision support, mobile phone application for diagnosis of common dermatological diseases / R. Pangti, J. Mathur, V. Chouhan [et al.] // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2021. – Vol. 35. – №. 2. – P. 536-545.
274. The classification of six common skin diseases based on Xiangya-Derm: development of a Chinese database for artificial intelligence / K. Huang, Z. Jiang, Y. Li [et al.] // *Journal of Medical Internet Research*. – 2021. – Vol. 23. – №. 9. – P. e26025.
275. Персонализированный подход в лечении стероидрезистентных форм истинной акантолитической пузырчатки / А. А. Лепехова, А. С. Духанин, Н. П. Теплюк [и др.] // *Медицинский алфавит*. – 2016. – Т. 3. – №. 19. – С. 21-22.
276. Разработка схемы лечения больных аутоиммунной пузырчаткой азатиоприном при стероидной резистентности на основании исследования ее молекулярных механизмов на пострецепторном уровне / О. Ю. Олисова, Н. Л. Шимановский, А. С. Духанин, Н. П. Теплюк, А. А. Лепехова // *Альманах клинической медицины*. – 2016. – Т. 44. – №. 1. – С. 6-12.
277. Министерство здравоохранения Российской Федерации: офиц. сайт. Клинические рекомендации по лечению синдрома Стивенса-Джонсона. [Электронный ресурс]. – Общероссийская общественная организация "Российское общество дерматовенерологов и косметологов", 2020. – URL: <https://clck.ru/3PwnUP>

278. Синдром Стивенса-Джонсона / О. Ю. Олисова, О. В. Грабовская, Н. П. Теплюк, А. А. Лепехова [и др.] // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2016. – Т. 19. – №. 4. – С. 216-220.
279. Severity score indexes for blistering diseases / B. S. Daniel, M. Hertl, V. P. Werth [et al.] // Clinics in dermatology. – 2012. – Vol. 30. – №. 1. – P. 108-113.
280. Definitions and outcome measures for bullous pemphigoid: recommendations by an international panel of experts / D. F. Murrell, B. S. Daniel, P. Joly [et al.] // Journal of the American Academy of Dermatology. – 2012. – Vol. 66. – №. 3. – P. 479-485.
281. International validation of the Bullous Pemphigoid Disease Area Index severity score and calculation of cut-off values for defining mild, moderate and severe types of bullous pemphigoid / W. Masmoudi, M. Vaillant, S. Vassileva [et al.] // British Journal of Dermatology. – 2021. – Vol. 184. – №. 6. – P. 1106-1112.
282. Токсический эпидермальный некролиз: проблемы диагностики и терапии / А. С. Повзун, К. М. Крылов, П. К. Крылов [и др.] // Вестник интенсивной терапии имени А. И. Салтанова. – 2017. – №. 2. – С. 69-75.
283. Пузырная жидкость как источник биомаркеров стероидной резистентности у больных жизнеугрожающими буллезными дерматозами: наблюдательное когортное контролируемое исследование / О. Ю. Олисова, А. А. Лепехова, А. С. Духанин [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2025. – Т. 32. – №. 4. – С. 62-81.
284. British Association of Dermatologists' guidelines for the management of pemphigus vulgaris 2017 / K. E. Harman, D. Brown, L. S. Exton [et al.] // British Journal of Dermatology. – 2017. – Vol. 177. – №. 5. – P. 1170-1201.
285. Paraneoplastic pemphigus in Russian patients: a single center case series / A. Allenova, A. Lepekhova, O. Olisova [et al.] // International Journal of Dermatology. – 2018. – Vol. 57. – №. 8. – P. 44–58.
286. A rare association of paraneoplastic pemphigus with gastric signet cell ring carcinoma / A. Lepekhova, O. Olisova, N. Teplyuk [et al.] // Australasian Journal of Dermatology. – 2019. – Vol. 60. – №. 2. – P. e168–e169.

287. Autoimmune bullous dermatoses associated with COVID-19 outbreak in Russian patients: a single case series / A. Lepekhova, E. Grekova, O. Olisova [et al.] // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2022. – Vol. 36. – №. 8. – P. e606.
288. Glucocorticoid sensitivity and inflammatory status of peripheral blood mononuclear cells in patients with coronary artery disease / S. Jönsson, A. K. Lundberg, R. W. S. Chung [et al.] // *Annals of Medicine*. – 2018. – Vol. 50. – №. 3. – P. 260-268.
289. A3669G Polymorphism of Glucocorticoid Receptor Is More Present in Patients With Pemphigus Vulgaris Than in Healthy Controls and Contributes to Steroid-Resistance / A. Lepekhova, O. Olisova, N. Shimanovsky [et al.] // *Dermatologic Therapy*. – 2024. – Vol. 2024. – №. 1. – P. 5573157.
290. Proinflammatory role of blister fluid-derived exosomes in bullous pemphigoid / H. Fang, S. Shao, M. Jiang [et al.] // *The Journal of Pathology*. – 2018. – Vol. 245. – №. 1. – P. 114-125.
291. Inflammatory markers in suction blister fluid: a comparative study between interstitial fluid and plasma / U. Sjöbom, K. Christenson, A. Hellström [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2020. – Vol. 11. – P. 597632.
292. Louis, T. A. Effective communication of standard errors and confidence intervals / T. A. Louis, S. L. Zeger // *Biostatistics*. – 2009. – Vol. 10. – №. 1. – P. 1-2.
293. Sterne, J. A. C. Sifting the evidence—what's wrong with significance tests? / J. A. C. Sterne, G. D. Smith // *Physical therapy*. – 2001. – Vol. 81. – №. 8. – P. 1464-1469.
294. Colquhoun, D. An investigation of the false discovery rate and the misinterpretation of p-values / D. Colquhoun // *Royal Society open science*. – 2014. – Vol. 1. – №. 3. – P. 140216.
295. Benjamin, D. J. Three recommendations for improving the use of p-values / D. J. Benjamin, J. O. Berger // *The American Statistician*. – 2019. – Vol. 73. – №. sup1. – P. 186-191.
296. Sellke, T. Calibration of p values for testing precise null hypotheses / T. Sellke, M. J. Bayarri, J. O. Berger // *The American Statistician*. – 2001. – Vol. 55. – №. 1. – P. 62-71.

297. Kraemer, H. C. How to assess the clinical impact of treatments on patients, rather than the statistical impact of treatments on measures / H. C. Kraemer, E. Frank, D. J. Kupfer // *International journal of methods in psychiatric research*. – 2011. – Vol. 20. – №. 2. – P. 63-72.
298. Хромов-Борисов, Н. Н. Статистико-методологические аспекты геномики. Клиническая психофармакогенетика / Н. Н. Хромов-Борисов; под ред. Р. Ф. Насыровой, Н. Г. Незнанова. – СПб: Издательство ДЕАН, 2020. – С. 67-71.
299. Excoffier, L. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis / L. Excoffier, G. Laval, S. Schneider // *Evolutionary bioinformatics*. – 2005. – Vol. 1. – P. 117693430500100003.
300. Оценка распространенности HLA DRB1-DRQ1 гаплотипов и их взаимосвязи с тяжелым и рефрактерным течением акантолитической пузырчатки в Российской популяции / А. А. Лепехова, О. Ю. Олисова, А. С. Духанин [и др.] // *Медицинский алфавит*. – 2025. – №. 8. – С. 26-32. (Примечание: в оригинальном названии статьи допущена техническая опечатка – следует читать DQB1 вместо DRQ1).
301. Микробиом кожи при аутоиммунной пузырчатке: сравнительный анализ разнообразия бактерий в зависимости от получаемой терапии / Н. П. Теплюк, Ю. В. Колесова, Н. О. Вартанова, А. Ю. Леонова, С. В. Тоцаков, А. Д. Козлова, А. А. Лепехова // *Имунопатология, аллергология, инфектология*. – 2023. – № 4. – С. 85–94.
302. Hertl, M. T cell control in autoimmune bullous skin disorders / M. Hertl, R. Eming, C. Veldman // *The Journal of clinical investigation*. – 2006. – Vol. 116. – №. 5. – P. 1159-1166.
303. Drug hypersensitivity caused by alteration of the MHC-presented self-peptide repertoire / D. A. Ostrov, B. J. Grant, Y. A. Pompeu [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2012. – Vol. 109. – №. 25. – P. 9959-9964.
304. HLA-DRB1 and DQB1 genetic susceptibility to pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus in Vietnamese patients / T. B. T. Vuong, D. M. Do, P. T. Ong [et al.] // *Dermatology Reports*. – 2021. – Vol. 14. – №. 2. – P. 9286.

305. Differential HLA class I and class II associations in pemphigus foliaceus and pemphigus vulgaris patients from a prevalent Southeastern Brazilian region / M. J. F. Brochado, D. F. Nascimento, W. Campos [et al.] // *Journal of autoimmunity*. – 2016. – Vol. 72. – P. 19-24.
306. Paraneoplastic pemphigus is associated with the DRB1* 03 allele / P. Martel, P. Loiseau, P. Joly [et al.] // *Journal of autoimmunity*. – 2003. – Vol. 20. – №. 1. – P. 91-95.
307. Human leukocyte antigens class I and class II in patients with pemphigus in southern Turkey / C. K. Koc, N. Sallakci, A. Akman-Karakaş [et al.] // *International journal of dermatology*. – 2013. – Vol. 52. – №. 1. – P. 53-58.
308. Dissecting the associations of endemic pemphigus foliaceus (Fogo Selvagem) with HLA-DRB1 alleles and genotypes / D. P. Pavoni, V. Roxo, A. Marquart Filho [et al.] // *Genes & Immunity*. – 2003. – Vol. 4. – №. 2. – P. 110-116.
309. High susceptibility to pemphigus vulgaris due to HLA-DRB1*14: 54 in the Slovak population / Z. Párnická, D. Švecová, J. Javor [et al.] // *International journal of immunogenetics*. – 2013. – Vol. 40. – №. 6. – P. 471-475.
310. Common human leukocyte antigen alleles in pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus Italian patients / M. L. Lombardi, O. Mercurio, G. Pirozzi [et al.] // *Journal of investigative dermatology*. – 1999. – Vol. 113. – №. 1. – P. 107-110.
311. Assessment of HLA-A, HLA-DR, and HLA-DQ alleles in patients with Pemphigus Vulgaris from eastern of Turkey / G. Dere, I. H. Yavuz, G. Ozaydın Yavuz [et al.] // *Journal of Cosmetic Dermatology*. – 2020. – Vol. 19. – №. 9. – P. 2432-2437.
312. Association of specific HLA alleles and haplotypes with pemphigus vulgaris in the Bulgarian population / K. Drenovska, M. Ivanova, S. Vassileva [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2022. – Vol. 13. – P. 901386.
313. Human leukocyte antigen class II DRB1 alleles frequencies in patients with pemphigus vulgaris among the Russian population / A. Lepekhova, O. Olisova, N. Teplyuk, A. Dukhanin, N. Shimanovsky, – Text: direct // 25th World Congress of Dermatology, Singapore, 3-8 July 2023. Electronic text. – URL: <https://eadv.org/scientific/abstract-books/>.

314. Identical MHC markers in non-Jewish Iranian and Ashkenazi Jewish patients with pemphigus vulgaris: possible common central Asian ancestral origin / N. Mobini, E. J. Yunis, C. A. Alper [et al.] // *Human immunology*. – 1997. – Vol. 57. – №. 1. – P. 62-67.
315. HLA-DQA1, -DQB1 and -DRB1 genotyping in Japanese pemphigus vulgaris patients by the PCR-RFLP method / H. Niizeki, H. Inoko, N. Mizuki [et al.] // *Tissue Antigens*. – 1994. – Vol. 44. – №. 4. – P. 248-251.
316. Association between human leukocyte antigen-DRB1 and human leukocyte antigen-DQB1 alleles and pemphigus vulgaris in Indian patients: a case-control study / A. Priyadarshini, R. George, D. Daniel [et al.] // *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*. – 2018. – Vol. 84. – P. 280.
317. Tunisian endemic pemphigus foliaceus is associated with the HLA-DR3 gene: anti-desmoglein 1 antibody-positive healthy subjects bear protective alleles / O. Abida, M. Zitouni, M. Kallel-Sellami [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2009. – Vol. 161. – №. 3. – P. 522-527.
318. Pemphigus vulgaris in White Europeans is linked with HLA Class II allele HLA DRB1*1454 but not DRB1*1401 / M. Saha, K. Harman, N. J. Mortimer [et al.] // *Journal of investigative dermatology*. – 2010. – Vol. 130. – №. 1. – P. 311-314.
319. HLA class II alleles of susceptibility and protection in Brazilian and Dutch pemphigus foliaceus / L. de Sena Nogueira Maehara, F. C. De-Souza-Santana, A. M. Porro [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2018. – Vol. 178. – №. 3. – P. e212-e214.
320. Distribution of HLA class II alleles among Spanish patients with pemphigus vulgaris / M. F. Gonzalez-Escribano, G. Jimenez, K. Walter [et al.] // *Tissue Antigens*. – 1998. – Vol. 52. – №. 3. – P. 275-278.
321. Molecular analysis of HLA DRB1 and DQB1 in Italian patients with pemphigus vulgaris / M. L. Lombardi, O. Mercurio, G. Tecame [et al.] // *Tissue Antigens*. – 1996. – Vol. 47. – №. 3. – P. 228-230.
322. T-cell recognition of desmoglein 3 peptides in patients with pemphigus vulgaris and healthy individuals / C. M. Veldman, K. L. Gebhard, W. Uter [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2004. – Vol. 172. – №. 6. – P. 3883-3892.

323. Human leukocyte antigen class II (DRB1 and DQB1) alleles and haplotypes frequencies in patients with pemphigus vulgaris among the Serbian population / D. Zivanovic, S. Bojic, L. Medenica [et al.] // *Hla*. – 2016. – Vol. 87. – №. 5. – P. 367-374.
324. Pemphigus vulgaris in Jewish patients is associated with HLA-A region genes: mapping by microsatellite markers / E. Slomov, R. Loewenthal, I. Goldberg [et al.] // *Human immunology*. – 2003. – Vol. 64. – №. 8. – P. 771-779.
325. Disease relevant HLA class II alleles isolated by genotypic, haplotypic, and sequence analysis in North American Caucasians with pemphigus vulgaris / E. Lee, K. A. Lendas, S. Chow [et al.] // *Human immunology*. – 2007. – Vol. 68. – №. 7. – P. 630-643.
326. HLA-DRB1 polymorphisms and autoimmune responses to desmogleins in Japanese patients with pemphigus / S. Miyagawa, M. Amagai, H. Niizeki [et al.] // *Tissue Antigens*. – 1999. – Vol. 54. – №. 4. – P. 333-340.
327. Immunophenotyping in pemphigus reveals a TH17/TFH17 cell-dominated immune response promoting desmoglein1/3-specific autoantibody production / J. Holstein, F. Solimani, C. Baum [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2021. – Vol. 147. – №. 6. – P. 2358-2369.
328. Development and characterization of desmoglein-3 specific T cells from patients with pemphigus vulgaris / M. S. Lin, S. J. Swartz, A. Lopez [et al.] // *The Journal of clinical investigation*. – 1997. – Vol. 99. – №. 1. – P. 31-40.
329. HLA DRB 1* and DQB 1* alleles are associated with disease severity in patients with pemphigus vulgaris / D. Svecova, Z. Parnicka, L. Pastyrikova [et al.] // *International journal of dermatology*. – 2015. – Vol. 54. – №. 2. – P. 168-173.
330. Association of HLA-DR and -DQ alleles with pemphigus vulgaris in Slovak population / Z. Párnická, N. Rakovan, D. Švecová [et al.] // *Česká a slovenská dermatologie (Czech-Slovak Dermatology)*. – 2010. – Vol. 85. – №. 3. – P. 162-167.
331. HLA haplotypes and class II molecular alleles in Sardinian and Italian patients with pemphigus vulgaris / C. Carcassi, F. Cottoni, L. Floris [et al.] // *Tissue antigens*. – 1996. – Vol. 48. – №. 6. – P. 662-667.

332. Lakoš Jukić, I. HLA class II antigens in Croatian patients with pemphigus vulgaris and their correlation with anti-desmoglein antibodies / I. Lakoš Jukić, M. Mokos, B. Marinović // *Frontiers in Immunology*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1200992.
333. Genotyping of HLA-I and HLA-II alleles in Chinese patients with paraneoplastic pemphigus / Q. Liu, D. F. Bu, D. Li [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2008. – Vol. 158. – №. 3. – P. 587-591.
334. A common major histocompatibility complex class II allele HLA-DQB1* 0301 is present in clinical variants of pemphigoid / J. C. Delgado, D. Turbay, E. J. Yunis [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1996. – Vol. 93. – №. 16. – P. 8569-8571.
335. HLA-DQB1 alleles in Italian patients with mucous membrane pemphigoid predominantly affecting the oral cavity / M. Carrozzo, M. E. Fasano, R. Broccoletti [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2001. – Vol. 145. – №. 5. – P. 805-808.
336. HLA-DRB1 and HLA-DQB1 genes in susceptibility and resistance to cicatricial pemphigoid in French Caucasians / M. Drouet, N. Delpuget-bertin, L. Vaillant [et al.] // *European Journal of Dermatology*. – 1998. – Vol. 8. – №. 5. – P. 330-3.
337. A comprehensive review of HLA and severe cutaneous adverse drug reactions: implication for clinical pharmacogenomics and precision medicine / C. Kloypan, N. Koomdee, P. Satapornpong [et al.] // *Pharmaceuticals*. – 2021. – Vol. 14. – №. 11. – P. 1077.
338. Tiercy, J. M. Molecular basis of HLA polymorphism: implications in clinical transplantation / J. M. Tiercy // *Transplant immunology*. – 2002. – Vol. 9. – №. 2-4. – P. 173-180.
339. Mahdi, B. M. Introductory chapter: concept of human leukocyte antigen (HLA) / B. M. Mahdi // *Human leukocyte antigen (HLA)*. – 2019. – P. 1-8.
340. Illing, P. T. The role of HLA genes in pharmacogenomics: unravelling HLA associated adverse drug reactions / P. T. Illing, A. W. Purcell, J. McCluskey // *Immunogenetics*. – 2017. – Vol. 69. – №. 8. – P. 617-630.

341. Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis Associated with NSAIDs Intake: A Case Series / A. Allenova, A. Lepekhova, O. Olisova [et al.] // *Clinical and Translational Allergy*. – 2018. – Vol. 8. – №. S3. – C. 30-30.
342. HLA class I and II gene polymorphisms in Stevens-Johnson syndrome with ocular complications in Japanese / M. Ueta, K. Tokunaga, C. Sotozono [et al.] // *Molecular vision*. – 2008. – Vol. 14. – P. 550.
343. HLA typing in patients with ocular manifestations of Stevens-Johnson syndrome / W. J. Power, S. L. Saidman, D. S. Zhang [et al.] // *Ophthalmology*. – 1996. – Vol. 103. – №. 9. – P. 1406-1409.
344. Mondino, B. J. HLA antigens in Stevens-Johnson syndrome with ocular involvement / B. J. Mondino, S. I. Brown, A. W. Biglan // *Archives of ophthalmology*. – 1982. – Vol. 100. – №. 9. – P. 1453-1454.
345. Association of HLA class I and II gene polymorphisms with acetaminophen-related Stevens–Johnson syndrome with severe ocular complications in Japanese individuals / M. Ueta, R. Nakamura, Y. Saito [et al.] // *Human genome variation*. – 2019. – Vol. 6. – №. 1. – P. 50.
346. Role of human leukocyte antigen in anti-epileptic drugs-induced Stevens–Johnson Syndrome/toxic epidermal necrolysis: A meta-analysis / M. Rashid, A. K. Rajan, M. Chhabra [et al.] // *Seizure: European Journal of Epilepsy*. – 2022. – Vol. 102. – P. 36-50.
347. HLA allele frequencies in 5802 Koreans: varied allele types associated with SJS/TEN according to culprit drugs / H. J. Park, Y. J. Kim, D. H. Kim [et al.] // *Yonsei medical journal*. – 2016. – Vol. 57. – №. 1. – P. 118-126.
348. Impact of HLA-B*58:01 allele and allopurinol-induced cutaneous adverse drug reactions: evidence from 21 pharmacogenetic studies / R. Wu, Y. Cheng, L. Zhu [et al.] // *Oncotarget*. – 2016. – Vol. 7. – №. 49. – P. 81870.
349. The cost-effectiveness of HLA-B*5801 screening to guide initial urate-lowering therapy for gout in the United States / E. Jutkowitz, M. Dubreuil, N. Lu [et al.] // *Seminars in arthritis and rheumatism*. – WB Saunders, 2017. – Vol. 46. – №. 5. – P. 594-600.

350. Association of HLA-A*11:01 with sulfonamide-related severe cutaneous adverse reactions in Japanese patients / R. Nakamura, T. Ozeki, N. Hirayama [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2020. – Vol. 140. – №. 8. – P. 1659-1662. e6.
351. Whole genome sequencing identifies genetic variants associated with cotrimoxazole hypersensitivity in Asians / C. W. Wang, W. Tassaneeyakul, C. B. Chen [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2021. – Vol. 147. – №. 4. – P. 1402-1412.
352. High sensitivity of human leukocyte antigen-b*5701 as a marker for immunologically confirmed abacavir hypersensitivity in white and black patients / M. Saag, R. Balu, E. Phillips [et al.] // *Clinical infectious diseases*. – 2008. – Vol. 46. – №. 7. – P. 1111-1118.
353. Лепехова, А. А. Стероидная резистентность при аутоиммунной пузырчатке: учебное пособие / А. А. Лепехова; под ред. чл.-корр. РАН, д-ра мед. наук, проф. О. Ю. Олисовой. – Москва: Издательство Сеченовского Университета, 2024. – 36 с.
354. Glucocorticoid receptors GR α and GR β are expressed in inflammatory dermatoses / M. E. Kubin, P. M. Hägg, N. Kokkonen [et al.] // *European Journal of Dermatology*. – 2016. – Vol. 26. – №. 1. – P. 21-27.
355. Persistent glucocorticoid resistance in systemic lupus erythematosus patients during clinical remission / A. K. Melo, M. R. Melo, A. B. Saramago [et al.] // *Genet Mol Res*. – 2013. – Vol. 12. – №. 2. – P. 2010-2019.
356. Serum levels of P-glycoprotein and persistence of disease activity despite treatment in patients with systemic lupus erythematosus / E. E. Perez-Guerrero, J. I. Gamez-Nava, J. F. Munoz-Valle [et al.] // *Clinical and Experimental Medicine*. – 2018. – Vol. 18. – №. 1. – P. 109-117.
357. Elmgren, J. Clinical aspects of cutaneous lupus erythematosus / J. Elmgren, F. Nyberg // *Frontiers in Medicine*. – 2023. – Vol. 9. – P. 984229.
358. Диагностическая значимость оценки уровня экспрессии микроРНК при аутоиммунной пузырчатке / Н. П. Теплюк, Н. Л. Шимановский, Т. А. Федотчева, Д. В. Мак, Ю. В. Колесова, А. А. Лепехова, Д. Н. Ульченко // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. – 2025. – Т. 28. – № 2. – С. 200-211.

359. Chikanza, I. C. Mechanisms of corticosteroid resistance in rheumatoid arthritis: a putative role for the corticosteroid receptor β isoform / I. C. Chikanza // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2002. – Vol. 966. – №. 1. – P. 39-48.
360. Lack of involvement of P-glycoprotein (P-gp) in pemphigus patients with poor response to steroid therapy / H. de la Fuente, L. Baranda, M. I. Hernández [et al.] // *Journal of dermatological science*. – 2002. – Vol. 28. – №. 3. – P. 219-226.
361. Clinical and serological predictors of relapse in pemphigus: a study of 143 patients / G. Genovese, C. A. Maronese, G. Casazza [et al.] // *Clinical and Experimental Dermatology*. – 2022. – Vol. 47. – №. 1. – P. 98-106.
362. Оценка уровня экспрессии miR-338-3p в диагностике аутоиммунной пузырчатки / Н. П. Теплюк, Д. В. Мак, Ю. В. Колесова, А. А. Лепехова [и др.] // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. – 2024. – Т. 27. – № 4. – С. 448–462.
363. Association of single nucleotide NR3C1 gene polymorphisms with glucocorticosteroid responsiveness in patients with pemphigus vulgaris / T. V. T. Le, D. Q. Nguyen, N. D. Tran [et al.] // *Dermatology Reports*. – 2021. – Vol. 14. – №. 2. – P. 9190.
364. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № RU 2022669988 Российская Федерация. Программа для определения генетического биомаркера стероидной резистентности при пузырчатке – программа для ЭВМ: № 2022669988: заявл. 13.10.2022: опубл. 26.10.2022 / Олисова О. Ю., Шимановский Н. Л., Духанин А. С., Теплюк Н. П., Лепехова А. А. // Федеральная служба по интеллектуальной собственности
365. A3669G polymorphism of glucocorticoid receptor is a susceptibility allele for pemphigus / A. Lepekhova, N. Teplyuk, N. Shimanovsky, O. Olisova A. Dukhanin, // 31st EADV Congress, Milan, Italy, 7–10 September 2022. Electronic text. – URL: <https://eadv.org/scientific/abstract-books/>.
366. Lee, S. H. Analysis of serum cytokine profile in pemphigus / S. H. Lee, W. J. Hong, S. C. Kim // *Annals of dermatology*. – 2017. – Vol. 29. – №. 4. – P. 438-445.

367. Stress and serum TNF-alpha levels may predict disease outcome in patients with pemphigus: a preliminary study / N. Ragab, M. Abdallah, E. El-Gohary [et al.] // *Cutis*. – 2011. – Vol. 87. – №. 4. – P. 189-194.
368. Tumour necrosis factor- α polymorphism as one of the complex inherited factors in Pemphigus / J. D. Torzecka, J. Narbutt, A. Sysa-Jedrzejowska [et al.] // *Mediators of inflammation*. – 2003. – Vol. 12. – №. 5. – P. 303-307.
369. Increased serum IL-6, TNF-alpha and IL-10 levels in patients with bullous pemphigoid: relationships with disease activity / L. D'Auria, A. Mussi, C. Bonifati [et al.] // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 1999. – Vol. 12. – №. 1. – P. 11-15.
370. Huyen, T. T. High Serum Level of TNF- α in Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis / T. T. Huyen, P. T. Lan // *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. – 2022. – Vol. 10. – №. B. – P. 2290-2295.
371. Anti-inflammatory activity of human IgG4 antibodies by dynamic Fab arm exchange / M. Van Der Neut Kofschoten, J. Schuurman, M. Losen [et al.] // *Science*. – 2007. – Vol. 317. – №. 5844. – P. 1554-1557.
372. Van der Zee, J. S. Inhibition of complement activation by IgG4 antibodies / J. S. Van der Zee, P. Van Swieten, R. C. Aalberse // *Clinical and experimental immunology*. – 1986. – Vol. 64. – №. 2. – P. 415.
373. Human monoclonal IgG isotypes differ in complement activating function at the level of C4 as well as C1q / C. I. Bindon, G. Hale, M. Brüggemann [et al.] // *The Journal of experimental medicine*. – 1988. – Vol. 168. – №. 1. – P. 127-142.
374. Involvement of TH1/TH2 cytokines in the pathogenesis of autoimmune skin disease—pemphigus vulgaris / A. Satyam, S. Khandpur, V. K. Sharma [et al.] // *Immunological investigations*. – 2009. – Vol. 38. – №. 6. – P. 498-509.
375. Up-regulation of CCL11 and CCL26 is associated with activated eosinophils in bullous pemphigoid / C. Günther, G. Wozel, M. Meurer [et al.] // *Clinical & Experimental Immunology*. – 2011. – Vol. 166. – №. 2. – P. 145-153.

376. Pathophysiology of bullous pemphigoid: role of type 2 inflammation and emerging treatment strategies (narrative review) / V. P. Werth, D. F. Murrell, P. Joly [et al.] // *Advances in Therapy*. – 2024. – Vol. 41. – №. 12. – P. 4418-4432.
377. Proof-of-concept clinical trial of etokimab shows a key role for IL33 in atopic dermatitis pathogenesis / Y. L. Chen, D. Gutowska-Owsiak, C. S. Hardman [et al.] // *Science translational medicine*. – 2019. – Vol. 11. – №. 515. – P. eaax2945.
378. Human suction blister fluid composition determined using high-resolution metabolomics / M. M. Niedzwiecki, P. Samant, D. I. Walker [et al.] // *Analytical chemistry*. – 2018. – Vol. 90. – №. 6. – P. 3786-3792.
379. Blister Fluid Analysis: Identifying Key Biomarkers for Pemphigus Severity / O. Olisova, A. Lepekhova, A. Dukhanin, N. Teplyuk, N. Shimanovsky // EADV Congress, Paris, France, September 2025. – Electronic text. – URL: <https://eadv.org/wp-content/uploads/scientific-abstracts/EADV-congress-2025/Autoimmune-disorders.pdf>.
380. Blister fluid as a source of biomarkers for steroid resistance in patients with life-threatening bullous dermatoses: A Case-Control Study / O. Olisova, A. Dukhanin, N. Teplyuk, N. Shimanovsky, E. Pahlevani Gazi, A. Lepekhova // EADV Symposium, Prague, Czech Republic, May 2025. – Electronic text. – URL: <https://eadv.org/symposium/app/>.
381. Liu, Y. Commentary: Proinflammatory role of blister fluid-derived exosomes in bullous pemphigoid / Y. Liu, L. Li // *Frontiers in Immunology*. – 2020. – Vol. 11. – P. 1506.
382. Efficacy of intravenous immunoglobulin (IVIg) in pemphigus: correlation with anti-desmoglein antibody levels / Mimouni D., Blank M., Payne A. S. [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2010. – Vol. 130. – №. 9. – P. 2311-2313.
383. Kaveri, S. V. Immunomodulatory action of intravenous immunoglobulin / S. V. Kaveri, L. Mouthon, J. Bayry // *Immunology*. – 2008. – Vol. 123. – №. 2. – P. 173-181.
384. Schwab, I. Intravenous immunoglobulin therapy: how does IgG modulate the immune system? / I. Schwab, F. Nimmerjahn // *Nature Reviews Immunology*. – 2013. – Vol. 13. – №. 3. – P. 176-189.

385. Corticosteroid-sparing effect of intravenous immunoglobulin therapy in patients with pemphigus vulgaris / N. Sami, A. Qureshi, E. Ruocco [et al.] // Archives of dermatology. – 2002. – Vol. 138. – №. 9. – P. 1158-1162.
386. Evaluation of the effectiveness of combined therapy with intravenous immunoglobulin and plasmapheresis in patients with steroid-resistant pemphigus based on cytokine profile assessment / O. Olisova, N. Teplyuk, A. Dukhanin, E. Zhgelskaya, E. Al-Khaleefa, A. Imamutdinova A. Lebedev, A. Lepekhova // EADV Symposium, Prague, Czech Republic, May 2025. – Electronic text. – URL: <https://eadv.org/symposium/app/>.
387. A randomized double-blind trial of intravenous immunoglobulin for pemphigus / M. Amagai, S. Ikeda, H. Shimizu [et al.] // Journal of the American Academy of Dermatology. – 2009. – Vol. 60. – №. 4. – P. 595-603.
388. An ‘n-of-1’ placebo-controlled crossover trial of intravenous immunoglobulin as adjuvant therapy in refractory pemphigus vulgaris / D. F. Arnold, J. Burton, B. Shine [et al.] // British Journal of Dermatology. – 2009. – Vol. 160. – №. 5. – P. 1098-1102.
389. Czernik, A. Intravenous immunoglobulin selectively decreases circulating autoantibodies in pemphigus / A. Czernik, E. H. Beutner, J. C. Bystryń // Journal of the American Academy of Dermatology. – 2008. – Vol. 58. – №. 5. – P. 796-801.
390. The role of IVIg treatment in severe pemphigus vulgaris / S. Baum, A. Scope, A. Barzilai [et al.] // Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. – 2006. – Vol. 20. – №. 5. – P. 548-552.
391. Ahmed, A. R. Restoring immune tolerance in pemphigus vulgaris / A. R. Ahmed, M. Kalesinskas, S. V. Kaveri // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2024. – Vol. 121. – №. 5. – P. e2317762121.
392. Cytokine profiles in pemphigus vulgaris patients treated with intravenous immunoglobulins as compared to conventional immunosuppressive therapy / D. B. Keskin, J. N. H. Stern, M. Fridkis-Hareli [et al.] // Cytokine. – 2008. – Vol. 41. – №. 3. – P. 315-321.
393. Güner, M. E. Evaluation of the Effects of systemic Therapy on Inflammatory Markers and Disease Severity in Patients with Pemphigus / M. E. Güner, P. Öztürk, M. M. Kuş // Dermatology Practical & Conceptual. – 2025. – Vol. 15. – №. 1. – P. 4969.

394. Schmidt, E. Pemphigus / E. Schmidt, M. Kasperkiewicz, P. Joly // *The Lancet*. – 2019. – Vol. 394. – №. 10201. – P. 882-894.
395. Casarrubias, A. C. Therapeutic plasma exchange in pemphigus vulgaris: Case series from a tertiary care center / A. C. Casarrubias // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2019. – Vol. 81. – №. 4. – P. AB287.
396. In vitro and in vivo expression of interleukin-1 α and tumor necrosis factor- α mRNA in pemphigus vulgaris: interleukin-1 α and tumor necrosis factor- α are involved in acantholysis / C. Feliciani, P. Toto, S. M. Pour [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2000. – Vol. 114. – №. 1. – P. 71-77.
397. Sewell, W. A. C. Immunomodulatory action of intravenous immunoglobulin / W. A. C. Sewell, S. Jolles // *Immunology*. – 2002. – Vol. 107. – №. 4. – P. 387.
398. A deep learning system for differential diagnosis of skin diseases / Y. Liu, A. Jain, C. Eng [et al.] // *Nature medicine*. – 2020. – Vol. 26. – №. 6. – P. 900-908.
399. Dermatologist-level classification of skin cancer with deep neural networks / A. Esteva, B. Kuprel, R. A. Novoa [et al.] // *Nature*. – 2017. – Vol. 542. – №. 7639. – P. 115-118.
400. Machine learning in dermatology: current applications, opportunities, and limitations / S. Chan, V. Reddy, B. Myers [et al.] // *Dermatology and therapy*. – 2020. – Vol. 10. – №. 3. – P. 365-386.
401. A deep learning approach to direct immunofluorescence pattern recognition in autoimmune bullous diseases / N. Capurro, V. P. Pastore, L. Touijer [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2024. – Vol. 191. – №. 2. – P. 261-266.
402. Computer-aided classification of indirect immunofluorescence patterns on esophagus and split skin for the detection of autoimmune dermatoses / J. Hocke, J. Krauth, C. Krause [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1111172.
403. Deep learning in dermatology: a systematic review of current approaches, outcomes, and limitations / H. K. Jeong, C. Park, R. Henao [et al.] // *JID Innovations*. – 2023. – Vol. 3. – №. 1. – P. 100150.

**ПРИЛОЖЕНИЕ А. Дополнительные материалы к результатам исследования
и клиническим данным**

Таблица А.1 – Индекс площади поражения при пузырчатке (PDAI, Pemphigus Disease Area Index)

Кожа	Активность патологического процесса	Вторичные поражения
Анатомическая область	Эрозии/пузыри или новые очаги эритемы 0 – отсутствуют; 1 – 1–3 элемента, из которых не более одного >2 см в диаметре, ни одного >6 см; 2 – 2–3 элемента, из которых по крайней мере два >2 см в диаметре, ни одного >6 см; 3 – >3 элементов, из которых ни одного >6 см в диаметре; 5 – >3 элементов и/или по крайней мере один элемент >6 см в диаметре; 10 – >3 элементов и/или по крайней мере один элемент >16 см в диаметре или тотальное поражение	Поствоспалительная гиперпигментация или эритема на местах разрешившихся высыпаний 0 – отсутствуют; 1 – присутствуют
Уши		
Нос		
Другие области лица		
Шея		
Грудь		
Живот		
Спина/ ягодицы		
Руки		
Кисти		
Ноги		
Стопы		
Половые органы		
Сумма баллов по коже	/120	/12

Продолжение таблицы А.1

Волосистая часть головы		
Волосистая часть головы	Эрозии/пузыри или новые очаги эритемы: 0 – отсутствуют; 1 – в одном квадранте;	Поствоспалительная гиперпигментация или эритема на местах разрешившихся высыпаний:

	2 – в двух квадрантах; 3 – в трех квадрантах; 5 – присутствуют по всей площади головы; 10 – по крайней мере один очаг >6 см	0 – отсутствуют; 1 – присутствуют
Сумма баллов по волосистой части головы (0–10)	/10	/1
Слизистые оболочки		
Анатомическая область	Эрозии/пузыри: 0 баллов – отсутствуют; 1 – 1 элемент; 2 – 2–3 элемента; 5 – >3 элементов или 2 элемента > 2 см; 10 – поражение всей области	
Глаза		
Нос		
Слизистая оболочка щёк		
Твердое небо		
Мягкое небо		
Верхние десны		
Нижние десны		
Язык		
Дно полости рта		
Слизистая оболочка губ		
Задняя стенка глотки		
Аногенитальная область		
Сумма баллов по слизистым оболочкам	/120	
Сумма баллов по активности патологического процесса:		
Сумма баллов по вторичному поражению:		

Таблица А.2 – Индекс площади поражения при буллезном пемфигоиде (BPDAI, Bullous Pemphigoid Disease Area Index)

Кожа	Активность патологического процесса	Активность патологического процесса	Вторичные поражения
Анатомическая область	Эрозии / пузыри: 0 – отсутствуют; 1 – 1–3 элемента, ни одного >1 см; 2 – 1–3 элемента, из которых по крайней мере один >1 см в диаметре; 3 – >3 элементов, из которых ни одного >2 см в диаметре; 5 – >3 элементов и по крайней мере один элемент >2 см в диаметре; 10 – >3 элементов и по крайней мере один элемент >5 см в диаметре или тотальное поражение	Волдыри / очаги / эритемы / другое: 0 – отсутствуют; 1 – 1–3 элемента, ни одного >6 см; 2 – 1–3 элемента, из которых по крайней мере один >6 см в диаметре; 3 – >3 элементов или по крайней мере один элемент >10 см в диаметре; 5 – >3 элементов и по крайней мере один элемент >25 см в диаметре; 10 – >3 элементов и по крайней мере один элемент >50 см в диаметре или тотальное поражение	Пигментация / другое: 0 – отсутствуют; 1 – присутствуют
Голова			
Шея			
Грудь			
Левая рука			
Правая рука			
Кисти			
Живот			
Половые органы			
Спина/ ягодицы			

Продолжение таблицы А.2

Левая нога			
------------	--	--	--

Правая нога			
Стопы			
Сумма баллов по коже	/120		/120
Слизистые оболочки			
Анатомическая область	Эрозии/пузыри: 1 – 1 элемент; 2 – 2–3 элемента; 5 – >3 элементов или 2 элемента > 2 см; 10 – поражение всей области		
Глаза			
Нос			
Слизистая оболочка щёк			
Твердое небо			
Мягкое небо			
Верхние десны			
Нижние десны			
Язык			
Дно полости рта			
Слизистая оболочка губ			
Задняя стенка глотки			
Аногенитальная область			
Сумма баллов по слизистым оболочкам	/120		

Таблица А.3 – Индекс SCORTEN для оценки степени тяжести ССД/ТЭН

Фактор риска	0	1
Возраст	<40 лет	>40 лет
Ассоциация со злокачественной опухолью	нет	да
Число сердечных сокращений (ударов/мин)	<120	>120
Уровень мочевины в сыворотке (ммоль/л)	<10	>10
Площадь пораженной поверхности тела более 10%	<10%	>10%

Продолжение таблицы А.3

Уровень бикарбоната в сыворотке (ммоль/л)	>20	<20
Уровень глюкозы в сыворотке более 14 (ммоль/л)	<14	>14

Таблица А.4 – Характеристика больных БД, ассоциированных со вспышкой COVID-19

№ пациента	Возраст	Пол	Длительность БД (в годах)	Поддерживающая доза СГК (мг/сут)	Альбувантная терапия	Тяжесть БД VRDAI/PDAI	Тип БД	Сопутствующие заболевания	SARS-CoV-2				Летальный исход (Да/Нет)
									Рецидивы БД во время вспышки COVID-19		ПЦР тест	Шкала Brescia	
									Да/нет	Время появления диссеминированных высыпаний			
1	50	М	3	10	Нет	Лег	ВП	Нет	Нет	НП	+	2	Нет
2	49	М	11	10	АЗ	Сред	ВП	Нет	Нет	НП	+	2	Нет
3	53	М	3	10	АЗ	Сред	ВП	ХГ	Нет	НП	+	1	Нет
4	77	Ж	13	10	АЗ	Тяж	ЛП	ГБ	Нет	НП	+	3	Да
5	40	М	1,5	НП	Нет	Тяж	ЛП	Нет	Да	3-я неделя от начала дебюта БД	+	1	Нет
6	65	Ж	1	НП	АЗ	Тяж	ВП	ГБ ПСТ	Да	3-я неделя от начала дебюта БД	+	3	Да
7	80	Ж	4	10	АЗ	Лег	БП	ГР	Да	НП	+	1	Нет
8	43	Ж	3	10	АЗ	Тяж	ВП	Нет	Нет	НП	+	2	Нет
9	60	Ж	3	8	Нет	Лег	ВП	СД	Нет	НП	+	1	Нет

Примечание: НП – не применимо; АЗ – азатиоприн; Лег – легкая (степень); Сред – средняя (степень); Тяж – тяжелая (степень); ХГ – хронический гастрит; ГБ – гипертоническая болезнь; ПСТ – пароксизмальная суправентрикулярная тахикардия

Таблица А.5 – Сравнительная характеристика гаплотипов HLA-DRB1/DQB1 у больных акантолитической пузырьчаткой и здоровых доноров с учетом статистической значимости (метод Бенджамини-Хохберга)

Гаплотип	Здоровые доноры	Пузырчатка	Недо-представленные		Пере-представленные	
			p_under	p_under_adj	p_over	p_over_adj

DRB1*01/ DQB1*02	1	0	0,465	0,809	1	1
DRB1*01/ DQB1*03	3	0	0,1022	0,682	1	1
DRB1*01/ DQB1*05	3	3	0,587	0,939	0,725	1
DRB1*01/ DQB1*06	2	4	0,85	1	0,423	1
DRB1*11/ DQB1*02	1	1	0,713	0,983	0,787	1
DRB1*11/ DQB1*03	9	0	0,001	0,049	1	1
DRB1*11/ DQB1*05	8	5	0,216	0,725	0,913	1
DRB1*11/ DQB1*06	2	0	0,217	0,725	1	1
DRB1*12/ DQB1*02	1	0	0,465	0,809	1	1
DRB1*12/ DQB1*03	1	0	0,465	0,809	1	1
DRB1*12/ DQB1*05	1	0	0,465	0,809	1	1
DRB1*12/ DQB1*06	3	0	0,102	0,682	1	1
DRB1*13/ DQB1*03	3	3	0,587	0,939	0,725	1
DRB1*13/ DQB1*05	4	6	0,759	0,984	0,479	1
DRB1*13/ DQB1*06	4	1	0,15	0,725	0,978	1
DRB1*14/ DQB1*02	1	2	0,845	1	0,56	1
DRB1*14/ DQB1*03	2	20	0,999	1	0,0004	0,0086*
DRB1*14/ DQB1*05	3	5	0,8	0,999	0,455	1

Продолжение таблицы А.5

DRB1*14/ DQB1*06	0	2	1	1	0,293	1
DRB1*15/ DQB1*02	2	0	0,2173	0,725	1	1
DRB1*15/ DQB1*03	4	3	0,4254	0,809	0,829	1
DRB1*15/ DQB1*05	2	0	0,217	0,725	1	1
DRB1*15/ DQB1*06	0	1	1	1	0,54	1

DQB1*06						
DRB1*16/ DQB1*02	1	1	0,713	0,983	0,787	1
DRB1*16/ DQB1*03	4	0	0,048	0,682	1	1
DRB1*16/ DQB1*04	1	0	0,465	0,809	1	1
DRB1*16/ DQB1*05	3	0	0,102	0,682	1	1
DRB1*16/ DQB1*06	1	0	0,465	0,809	1	1
DRB1*03/ DQB1*02	1	0	0,465	0,809	1	1
DRB1*03/ DQB1*03	4	1	0,15	0,723	0,978	1
DRB1*03/ DQB1*05	3	0	0,102	0,682	1	1
DRB1*04/ DQB1*02	0	2	1	1	0,293	1
DRB1*04/ DQB1*03	4	14	0,989	1	0,04	0,537
DRB1*04/ DQB1*04	1	0	0,465	0,809	1	1
DRB1*04/ DQB1*05	2	27	0,999	1	<0,001	0,0007*
DRB1*04/ DQB1*06	1	1	0,713	0,983	0,787	1
DRB1*07/ DQB1*02	1	0	0,465	0,809	1	1
DRB1*07/ DQB1*03	2	3	0,763	0,984	0,574	1
DRB1*07/ DQB1*05	2	1	0,448	0,809	0,901	1

Продолжение таблицы А.5

DRB1*07/ DQB1*06	1	1	0,713	0,983	0,787	1
Примечание: в таблице приведены p-value в одностороннем точном тесте Фишера и скорректированные на множественные сравнения р-значения (метод Бенджамини-Хохберга); * - значимые межгрупповые различия (p<0,05)						

Таблица А.6 – Сравнительная характеристика гаплотипов HLA-DRB1/DQB1 у больных буллезным пемфигоидом Лёвера и здоровых доноров с учетом статистической значимости (метод Бенджамини-Хохберга)

Гаплотип	Здоровые доноры	БП	Недо-представленные	Пере-представленные
----------	-----------------	----	---------------------	---------------------

			p	p_adj	p	p_adj
DRB1*1/ DQB1*02	1	0	0,762	1	1	1
DRB1*1/ DQB1*03	3	0	0,446	1	1	1
DRB1*1/ DQB1*05	3	0	0,446	1	1	1
DRB1*1/ DQB1*06	2	1	0,855	1	0,568	1
DRB1*11/ DQB1*02	1	1	0,942	1	0,43	1
DRB1*11/ DQB1*03	9	1	0,284	1	0,933	1
DRB1*11/ DQB1*05	8	0	0,122	1	1	1
DRB1*11/ DQB1*06	2	1	0,855	1	0,568	1
DRB1*12/ DQB1*02	1	0	0,762	1	1	1
DRB1*12/ DQB1*03	1	0	0,762	1	1	1
DRB1*12/ DQB1*05	1	0	0,762	1	1	1
DRB1*12/ DQB1*06	3	0	0,446	1	1	1
DRB1*13/ DQB1*03	3	2	0,905	1	0,359	1
DRB1*13/ DQB1*05	4	1	0,658	1	0,75	1
DRB1*13/ DQB1*06	4	0	0,343	1	1	1

Продолжение таблицы А.6

DRB1*14/ DQB1*02	1	1	0,942	1	0,43	1
DRB1*14/ DQB1*03	2	4	0,995	1	0,039	0,743
DRB1*14/ DQB1*05	3	4	0,988	1	0,072	0,916
DRB1*15/ DQB1*02	2	0	0,582	1	1	1
DRB1*15/ DQB1*03	4	0	0,343	1	1	1
DRB1*15/ DQB1*05	2	0	0,583	1	1	1
DRB1*15/ DQB1*06	0	1	1	1	0,246	1

DRB1*16/ DQB1*02	1	0	0,762	1	1	1
DRB1*16/ DQB1*03	4	0	0,343	1	1	1
DRB1*16/ DQB1*04	1	0	0,762	1	1	1
DRB1*16/ DQB1*05	3	1	0,757	1	0,671	1
DRB1*16/ DQB1*06	1	0	0,762	1	1	1
DRB1*03/ DQB1*02	1	0	0,762	1	1	1
DRB1*03/ DQB1*03	4	1	0,658	1	0,75	1
DRB1*03/ DQB1*05	3	0	0,446	1	1	1
DRB1*04/ DQB1*03	4	2	0,845	1	0,454	1
DRB1*04/ DQB1*04	1	1	0,942	1	0,43	1
DRB1*04/ DQB1*05	2	4	0,995	1	0,039	0,743
DRB1*04/ DQB1*06	1	1	0,942	1	0,43	1
DRB1*07/ DQB1*02	1	0	0,762	1	1	1
DRB1*07/ DQB1*03	2	1	0,855	1	0,568	1

Продолжение таблицы А.6

DRB1*07/ DQB1*05	2	1	0,855	1	0,568	1
DRB1*07/ DQB1*06	1	0	0,762	1	1	1
Примечание: в таблице приведены p-value в одностороннем точном тесте Фишера и скорректированные на множественные сравнения p-значения (метод Бенджамини-Хохберга)						

Таблица А.7 – Сравнительная характеристика гаплотипов HLA-DRB1/DQB1 у больных синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом и здоровых доноров с учетом статистической значимости (метод Бенджамини-Хохберга)

Гаплотип	Здоровые доноры	ССД/ТЭН	Недо-представленные		Пере-представленные	
			p under	p under adj	p over	p over adj
DRB1*01/	1	0	0,869	1	1	1

DQB1*02						
DRB1*01/ DQB1*03	3	0	0,659	1	1	1
DRB1*01/ DQB1*05	3	2	0,979	1	0,15	1
DRB1*01/ DQB1*06	2	0	0,756	1	1	1
DRB1*11/ DQB1*02	1	1	0,982	1	0,26	1
DRB1*11/ DQB1*03	9	0	0,297	1	1	1
DRB1*11/ DQB1*05	8	0	0,338	1	1	1
DRB1*11/ DQB1*06	2	0	0,756	1	1	1
DRB1*12/ DQB1*02	1	0	0,869	1	1	1
DRB1*12/ DQB1*03	1	0	0,869	1	1	1
DRB1*12/ DQB1*05	1	1	0,982	1	0,256	1
DRB1*12/ DQB1*06	3	0	0,659	1	1	1
DRB1*13/ DQB1*03	3	0	0,659	1	1	1

Продолжение таблицы А.7

DRB1*13/ DQB1*05	4	0	0,575	1	1	1
DRB1*13/ DQB1*06	4	0	0,575	1	1	1
DRB1*14/ DQB1*02	1	1	0,982	1	0,256	1
DRB1*14/ DQB1*03	2	2	0,991	1	0,1	1
DRB1*14/ DQB1*05	3	1	0,911	1	0,449	1
DRB1*15/ DQB1*02	2	0	0,756	1	1	1
DRB1*15/ DQB1*03	4	2	0,963	1	0,204	1
DRB1*15/ DQB1*05	2	0	0,757	1	1	1
DRB1*15/ DQB1*06	0	1	1	1	0,140	1
DRB1*16/ DQB1*02	1	0	0,869	1	1	1

DRB1*16/ DQB1*03	4	0	0,575	1	1	1
DRB1*16/ DQB1*04	1	0	0,869	1	1	1
DRB1*16/ DQB1*05	3	0	0,659	1	1	1
DRB1*16/ DQB1*06	1	0	0,869	1	1	1
DRB1*03/ DQB1*02	1	0	0,869	1	1	1
DRB1*03/ DQB1*03	4	0	0,575	1	1	1
DRB1*03/ DQB1*05	3	0	0,659	1	1	1
DRB1*04/ DQB1*03	4	1	0,866	1	0,523	1
DRB1*04/ DQB1*04	1	0	0,869	1	1	1
DRB1*04/ DQB1*05	2	0	0,756	1	1	1
DRB1*04/ DQB1*06	1	1	0,982	1	0,26	1

Продолжение таблицы А.7

DRB1*07/ DQB1*02	1	0	0,869	1	1	1
DRB1*07/ DQB1*03	2	1	0,951	1	0,361	1
DRB1*07/ DQB1*05	2	0	0,756	1	1	1
DRB1*07/ DQB1*06	1	0	0,869	1	1	1

Примечание: в таблице приведены p-value в одностороннем точном тесте Фишера и скорректированные на множественные сравнения p-значения (метод Бенджамини-Хохберга)

Таблица А.8 – Сравнительная характеристика недопредставленных и перепредставленных гаплотипов у больных АП в зависимости от степени тяжести заболевания (метод Бенджамини-Хохберга)

Гаплотипы	Легкая	Средняя	Тяжелая	Легкая		Средняя		Тяжелая	
				p under adj	p over adj	p under adj	p over adj	p under adj	p over adj
DRB1*01/ DQB1*05	1	0	1	1	1	0,91	1	0,97	1
DRB1*01/ DQB1*06	1	3	0	1	1	0,91	1	0,97	1

DQB1*06									
DRB1*11/ DQB1*02	0	1	0	1	1	0,91	1	0,97	1
DRB1*11/ DQB1*05	1	3	0	1	1	0,91	1	0,97	1
DRB1*13/ DQB1*03	1	0	1	1	1	0,91	1	0,97	1
DRB1*13/ DQB1*05	0	5	1	1	1	0,91	1	0,97	1
DRB1*13/ DQB1*06	0	1	0	1	1	0,91	1	0,97	1
DRB1*14/ DQB1*02	0	2	0	1	1	0,91	1	0,97	1
DRB1*14/ DQB1*03	3	11	4	1	1	0,91	1	0,97	1
DRB1*14/ DQB1*05	1	2	1	1	1	0,91	1	0,97	1
DRB1*14/ DQB1*06	0	1	1	1	1	0,91	1	0,97	1
DRB1*15/ DQB1*03	1	1	1	1	1	0,91	1	0,97	1

Продолжение таблицы А.8

DRB1*15/ DQB1*06	0	0	0	1	1	1	1	1	1
DRB1*16/ DQB1*02	0	1	0	1	1	0,91	1	0,97	1
DRB1*03/ DQB1*03	0	1	0	1	1	0,91	1	0,97	1
DRB1*04/ DQB1*02	1	1	0	1	1	0,91	1	0,97	1
DRB1*04/ DQB1*03	2	6	6	1	1	0,91	1	0,97	1
DRB1*04/ DQB1*05	6	13	6	1	1	0,91	1	0,97	1
DRB1*04/ DQB1*06	0	1	0	1	1	0,91	1	0,97	1
DRB1*07/ DQB1*03	0	3	0	1	1	0,91	1	0,97	1
DRB1*07/ DQB1*05	1	0	0	1	1	0,91	1	0,97	1
DRB1*07/ DQB1*06	0	1	0	1	1	0,91	1	0,97	1

Примечание: в таблице приведены p-value в одностороннем точном тесте Фишера и скорректированные на множественные сравнения p-значения (метод Бенджамини-Хохберга)

Таблица А.9 – Сравнительная характеристика недопредставленных и перепредставленных гаплотипов у больных БП в зависимости от степени тяжести заболевания (метод Бенджамини-Хохберга)

Гаплотипы	Легкая	Средняя	Тяжелая	Легкая		Средняя		Тяжелая	
				p under adj	p over adj	p under adj	p over adj	p under adj	p over adj
DRB1*01/D QB1*06	1	0	0	0,99	0,19	0,63	1	0,77	1
DRB1*11/D QB1*02	0	0	1	0,93	1	0,63	1	0,94	0,44
DRB1*11/D QB1*03	0	1	0	0,93	1	0,86	0,63	0,77	1
DRB1*11/D QB1*06	0	1	0	0,93	1	0,86	0,63	0,77	1
DRB1*13/D QB1*03	0	1	1	0,87	1	0,68	0,77	0,86	0,58
DRB1*13/D QB1*05	1	0	0	0,99	0,19	0,63	1	0,77	1

Продолжение таблицы А.9

DRB1*14/D QB1*02	0	1	0	0,93	1	0,86	0,63	0,77	1
DRB1*14/D QB1*03	0	3	0	0,81	1	0,84	0,45	0,47	1
DRB1*14/D QB1*05	0	3	1	0,76	1	0,75	0,56	0,67	0,75
DRB1*15/D QB1*06	0	0	1	0,93	1	0,63	1	0,94	0,44
DRB1*16/D QB1*05	0	0	1	0,93	1	0,63	1	0,9	0,44
DRB1*03/D QB1*03	0	0	1	0,93	1	0,63	1	0,94	0,44
DRB1*04/D QB1*03	0	2	0	0,87	1	0,84	0,51	0,6	1
DRB1*04/D QB1*04	0	1	0	0,93	1	0,86	0,63	0,77	1
DRB1*04/D QB1*05	0	1	1	0,87	1	0,68	0,77	0,86	0,58
DRB1*04/D QB1*06	0	1	0	0,93	1	0,86	0,63	0,77	1
DRB1*07/D QB1*03	0	0	1	0,93	1	0,63	1	0,94	0,44
DRB1*07/D QB1*05	0	1	0	0,93	1	0,86	0,63	0,77	1

Примечание: в таблице приведены p-value в одностороннем точном тесте Фишера и скорректированные на множественные сравнения p-значения (метод Бенджамини-Хохберга)

Таблица А.10 – Сравнительная характеристика недопредставленных и перепредставленных гаплотипов у больных ССД/ТЭН в зависимости от степени тяжести заболевания (метод Бенджамини-Хохберга)

Гаплотипы	Легкая	Средняя	Тяжелая	Легкая		Средняя		Тяжелая	
				p under adj	p over adj	p under adj	p over adj	p under adj	p over adj
DRB1*01/ DQB1*05	1	1	0	0,88	0,58	0,78	0,7	0,65	1
DRB1*11/ DQB1*02	0	0	1	0,8	1	0,7	1	0,95	0,45
DRB1*12/ DQB1*05	1	0	0	0,95	0,45	0,7	1	0,8	1
DRB1*14/ DQB1*02	0	0	1	0,8	1	0,7	1	0,95	0,45

Продолжение таблицы А.10

DRB1*14/ DQB1*03	0	1	0	0,8	1	0,9	0,57	0,8	1
DRB1*15/ DQB1*03	1	1	0	0,88	0,58	0,78	0,7	0,65	1
DRB1*15/ DQB1*06	0	1	0	0,8	1	0,9	0,57	0,8	1
DRB1*04/ DQB1*03	0	1	0	0,8	1	0,9	0,57	0,8	1
DRB1*07/ DQB1*03	0	0	1	0,8	1	0,7	1	0,95	0,45

Примечание: в таблице приведены p-значения в одностороннем точном тесте Фишера и скорректированные на множественные сравнения p-значения (метод Бенджамини-Хохберга)

Таблица А.11 – Сравнительная характеристика недопредставленных и перепредставленных гаплотипов у больных АП в зависимости от наличия или отсутствия стероидной резистентности (метод Бенджамини-Хохберга)

Гаплотип	Нет резистентности	Есть резистентность	Summa	p under adj	p over adj
DRB1*01/ DQB1*05	1	2	3	0,476	0,872
DRB1*01/ DQB1*06	2	2	4	0,544	0,771
DRB1*11/ DQB1*02	1	0	1	0,839	0,645

DRB1*11/ DQB1*05	5	0	5	0,827	0,383
DRB1*13/ DQB1*03	3	0	3	0,817	0,467
DRB1*13/ DQB1*05	3	3	6	0,484	0,772
DRB1*13/ DQB1*06	1	0	1	0,839	0,645
DRB1*14/ DQB1*02	2	0	2	0,818	0,533
DRB1*14/ DQB1*03	13	7	20	0,545	0,608
DRB1*14/ DQB1*05	4	1	5	0,729	0,53
DRB1*14/ DQB1*06	2	0	2	0,818	0,533
DRB1*15/ DQB1*03	1	2	3	0,476	0,872

Продолжение таблицы А.11

DRB1*15/ DQB1*06	1	0	1	0,839	0,645
DRB1*16/ DQB1*02	1	0	1	0,839	0,645
DRB1*03/ DQB1*03	1	0	1	0,839	0,645
DRB1*04/ DQB1*02	1	1	2	0,647	0,788
DRB1*04/ DQB1*03	10	4	14	0,643	0,53
DRB1*04/ DQB1*05	14	13	27	0,296	0,815
DRB1*04/ DQB1*06	1	0	1	0,839	0,645
DRB1*07/ DQB1*03	3	0	3	0,817	0,467
DRB1*07/ DQB1*05	1	0	1	0,839	0,645
DRB1*07/ DQB1*06	1	0	1	0,839	0,645

Таблица А.12 – Статистические характеристики уровней цитокинов (пг/мл), хемокинов (пг/мл), гранулизина (нг/мл) в исследуемых группах до и после лечения

Группа	Всего	Min.	Max.	Среднее	Медиана	СКО
TNF- α						
Основная группа, до лечения	32	14	41	27,2	27,5	7,0
Основная группа,	32	1	3	1,4	1,0	0,7

после лечения						
Контрольная группа, до лечения	70	8	41	23,9	23,5	8,2
Контрольная группа, после лечения	70	2	23	12,9	14,0	6,1
IL10						
Основная группа, до лечения	32	33	74	50,7	46,5	12,8
Основная группа, после лечения	32	5	32	15,1	12,0	7,8
Контрольная группа, до лечения	70	37	76	54,2	53,0	12,0
Контрольная группа, после лечения	70	5	36	11,9	11,0	6,3

Продолжение таблицы А.12

IL15						
Основная группа, до лечения	32	5	30	13,2	11,5	6,7
Основная группа, после лечения	32	1	6	2,1	1	1,6
Контрольная группа, до лечения	70	3	26	12,2	11	6,0
Контрольная группа, после лечения	70	7	28	16,5	17	4,9
IL4						
Основная группа, до лечения	32	5	31	11,2	9	7,2
Основная группа, после лечения	32	1	3	1,2	1	0,5
Контрольная группа, до лечения	70	4	21	8,5	7	8,5
Контрольная группа, после лечения	70	2	19	10,8	11	4,4
CCL11						
Основная группа, до лечения	32	109	135	123	122,5	8,5
Основная группа, после лечения	32	1	12	4,6	3,5	3,4
Контрольная группа, до лечения	70	59	98	74,7	75	10,2
Контрольная группа, после лечения	70	19	60	47,7	51	10,3
CXCL8						
Основная группа, до лечения	32	35	89	54,5	52	13,8
Основная группа, после лечения	32	21	54	35,9	36,5	8,4

Контрольная группа, до лечения	70	39	82	55,3	56	9,2
Контрольная группа, после лечения	70	19	49	33,2	33,5	6,7
Гранулизин						
Основная группа, до лечения	32	4528	9382	6638	6490	1414
Основная группа, после лечения	32	1113	3433	2077	2066	620
Контрольная группа, до лечения	70	4290	8765	5713	5525	948

Продолжение таблицы А.12

Контрольная группа, после лечения	70	2134	4713	3247	3176	767
Сокращения: Min. – минимальное значение; Max. – максимальное значение; СКО – среднеквадратичное отклонение						

Таблица А.13 – Сравнительная характеристика уровней цитокинов, хемокинов и гранулизина в основной и контрольной группах до и после терапии

	Группа 1		Группа 2		Вид теста	Результат	
	Название	Уровень	Название	Уровень		p-value	Значимость
TNF- α	Основная группа, до лечения	Выше	Основная группа, после лечения	Ниже	T-критерий Уилкоксона	< 0,05	Значим
	Контрольная группа, до лечения	Выше	Контрольная группа, после лечения	Ниже	T-критерий Уилкоксона	< 0,05	Значим
	Основная группа после лечения	Ниже	Контрольная группа, после лечения	Выше	U-критерий Манна-Уитни	< 0,05	Значим
IL10	Основная группа, до лечения	Выше	Основная группа, после лечения	Ниже	T-критерий Уилкоксона	< 0,05	Значим

	Контрольн ая группа, до лечения	Выше	Контрольн ая группа, после лечения	Ниже	Т-критерий Уилкоксона	< 0,05	Значим
	Основная группа после лечения	Выше	Контрольн ая группа, после лечения	Ниже	U-критерий Манна-Уитни	>0,05	Не значим

Продолжение таблицы А.13

II15	Основная группа, до лечения	Выше	Основная группа, после лечения	Ниже	Т-критерий Уилкоксона	< 0,05	Значим
	Контрольн ая группа, до лечения	Ниже	Контрольн ая группа, после лечения	Выше	Т-критерий Уилкоксона	< 0,05	Значим
	Основная группа после лечения	Ниже	Контрольн ая группа, после лечения	Выше	U-критерий Манна-Уитни	< 0,05	Значим
II4	Основная группа, до лечения	Выше	Основная группа, после лечения	Ниже	Т-критерий Уилкоксона	< 0,05	Значим
	Контрольн ая группа, до лечения	Ниже	Контрольн ая группа, после лечения	Выше	Т-критерий Уилкоксона	< 0,05	Значим
	Основная группа после лечения	Ниже	Контрольн ая группа, после лечения	Выше	U-критерий Манна-Уитни	< 0,05	Значим

CLL-11	Основная группа, до лечения	Выше	Основная группа, после лечения	Ниже	T-критерий Уилкоксона	< 0,05	Значим
	Контрольная группа, до лечения	Выше	Контрольная группа, после лечения	Ниже	T-критерий Уилкоксона	< 0,05	Значим
	Основная группа после лечения	Ниже	Контрольная группа, после лечения	Выше	U-критерий Манна-Уитни	< 0,05	Значим

Продолжение таблицы А.13

CXCL-8	Основная группа, до лечения	Выше	Основная группа, после лечения	Ниже	T-критерий Уилкоксона	< 0,05	Значим
	Контрольная группа, до лечения	Выше	Контрольная группа, после лечения	Ниже	T-критерий Уилкоксона	< 0,05	Значим
	Основная группа после лечения	Выше	Контрольная группа, после лечения	Ниже	t-критерий Стьюдента	< 0,05	Значим
Гранулизин	Основная группа, до лечения	Выше	Основная группа, после лечения	Ниже	T-критерий Уилкоксона	< 0,05	Значим
	Контрольная группа, до лечения	Выше	Контрольная группа, после лечения	Ниже	T-критерий Уилкоксона	< 0,05	Значим
	Основная группа после лечения	Ниже	Контрольная группа, после лечения	Выше	U-критерий Манна-Уитни	< 0,05	Значим