

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.М. СЕЧЕНОВА» МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Грекова Екатерина Владимировна

ОПТИМИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО МЕТОДА
ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ ГРИБОВИДНОГО МИКОЗА

14.01.10 – Кожные и венерические болезни

ДИССЕРТАЦИЯ

На соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук, профессор

Олисова Ольга Юрьевна

Научный консультант:

Доктор биологических наук, профессор

Залетаев Дмитрий Владимирович

МОСКВА-2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1. Эпидемиология и этиопатогенез грибovidного микоза	12
1.2. Современные возможности диагностики грибovidного микоза	15
1.2.1. Клинико-anamнестический метод диагностики	19
1.2.1.1. Подтипы и атипичные клинико-морфологические формы грибovidного микоза	24
1.2.2. Гистологический метод диагностики	26
1.2.3. Иммуногистохимический метод диагностики	27
1.2.4. Молекулярно-генетический метод определения реаранжировки гена Т-клеточного рецептора	30
1.2.4.1. Молекулярно-генетические механизмы патогенеза и диагностические маркеры грибovidного микоза	32
1.3. Дифференциально-диагностические признаки грибovidного микоза и бляшечного парапсориаза	35
1.4. Методы терапии грибovidного микоза	38
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	44
2.1. Общая характеристика больных	44
2.2. Критерии включения, невключения и исключения из исследования	46
2.3. Методы исследования	47
2.3.1. Оценка тяжести кожного поражения с учетом модифицированной шкалы (modified Severity Weighted Assessment Tool -- mSWAT)	48
2.3.2. Гистологическое исследование биоптатов пораженной кожи	48
2.3.3. Иммунофенотипирование	48
2.3.4. Определение реаранжировки по генам γ -цепи Т-клеточного рецептора	50
2.3.5. Определение уровня экспрессии генетических маркеров (FOXP3, STAT4, IL-12B)	51
2.3.5.1. Выделение РНК	52
2.3.5.2. Синтез кДНК	53
2.3.5.3. ПЦР в режиме реального времени (Real time-ПЦР)	53

2.4. Схема терапии больных грибвидным микозом с применением ПУВА и интерферона- α	56
2.5. Методы статистической обработки данных.....	59
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	61
3.1. Результаты клинико-anamнестического исследования.....	61
3.2. Результаты гистологического исследования	72
3.3. Результаты иммуногистохимического исследования.....	80
3.4. Результаты молекулярно-генетического исследования.....	86
3.5. Клинические наблюдения	90
Клиническое наблюдение №1	90
Клиническое наблюдение №2	93
Клиническое наблюдение №3	95
3.6. Результаты экспрессии генетических маркеров.....	99
3.7. Оценка результатов комбинации ПУВА-терапии и интерферона- α по сравнению с монотерапией ПУВА у больных грибвидным микозом...	105
3.7.1. Побочные эффекты от лечения	112
3.7.2. Отдаленные результаты проводимой терапии.....	113
ГЛАВА 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	117
ВЫВОДЫ.....	122
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	123
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	124
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	126
ПРИЛОЖЕНИЕ А.....	148
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.	149

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Т-клеточные лимфомы кожи (ТКЛК) относят к гетерогенной группе лимфопролиферативных заболеваний (ЛПЗ), характеризующейся формированием инфильтрата из атипичных Т-лимфоцитов в эпидермисе, дерме и гиподерме с возможностью вторичного внекожного распространения (лимфатические узлы, кровь, селезенка, легкие, печень) [23, 26, 160].

В группе больных ТКЛК подавляющее большинство (80%) составляют больные грибовидным микозом (ГМ) [29, 74].

Диагноз ГМ устанавливается на основании комплексной оценки клинико-anamnestических данных, гистологического (часто неоднократного), иммунофенотипического исследования опухолевых клеток и молекулярно-генетического (наличие клональности по генам γ - или β -цепей Т-клеточного рецептора (ТКР) [1, 3, 40, 136].

На ранних стадиях ГМ дифференциальная диагностика достаточно сложна ввиду клинического сходства с доброкачественными воспалительными дерматозами [4, 34, 87, 146]. Выявлено, что средний срок до установления диагноза, даже у больных классической формой ГМ, составляет около 5 лет, и может значительно удлиняться при других вариантах его течения [26, 161].

Наиболее сложным в дифференциальной диагностике является бляшечный парапсориаз (БП), особенно крупнобляшечный вариант (КБП) [3, 12].

По данным Wu J. и соавт. [163] трансформация КБП в ГМ отмечается в 10-40% случаев, хотя ряд авторов считает КБП изначально ТКЛК с медленной опухолевой прогрессией [19, 44, 54, 144]. По поводу мелкобляшечного парапсориаза (МБП) абсолютное большинство ученых считает, что он является хроническим доброкачественным воспалительным

дерматозом, но существует мнение, что он также может рассматриваться как abortивная форма ТКЛК или начальная стадия ГМ [72, 104].

Достоверность диагноза ГМ, подтвержденного только клиническими, гистологическими и иммуногистохимическими признаками, составляет 50-75% [5, 67]. Наиболее достоверным диагностическим методом является ПЦР-исследование для идентификации реаранжировки гена γ -цепи Т-клеточного рецептора (ТКР), но он не может быть универсальным из-за невысокой специфичности в начальных стадиях ГМ, а также наличия «клональных дерматозов». Моноклональность Т-лимфоцитов инфильтрата является стабильным признаком только в опухолевой стадии ГМ [4, 48].

Молекулярно-генетические исследования, проведенные в последние годы, убедительно доказывают роль генетических факторов в инициации злокачественного процесса и развития опухоли.

Активность сигнального пути Jak-3/STAT препятствует развитию ТКЛК через стимуляцию синтеза IL-5, IL-10, IL-12, IL-17A и IL-17F, регулирование факторов ангиогенеза [133, 106, 111]. Имеются сведения о дисрегуляции сигнального пути и интерлейкиннезависимой пролиферации злокачественных Т-клеток при ГМ, т.е. в опухолевых клетках наблюдается абберантная активация белков Jak и сигнальных систем STAT [115, 129].

Также все большее значение придается микроокружению малигнизированных лимфоцитов [14, 65]. Считается, что клетки, окружающие опухоль (Т-регуляторные клетки, дендритные клетки, макрофаги), влияют на развитие неконтролируемой пролиферации опухолевых клеток и способствуют их уклонению от иммунного надзора [75, 94].

Согласно изложенным выше данным и рекомендациям Международного общества по лимфомам кожи (ISCL), Европейской организации изучения и лечения рака (EORTC) [136] поиск и изучение новых, более информативных и специфичных генетических маркеров для ранней диагностики ГМ является актуальной научной задачей.

В последние годы достигнут прогресс в терапии ГМ, однако лечение больных до сих пор представляет значительные трудности. В настоящее время для терапии ГМ применяются препараты первой и второй линии, включая топические кортикостероиды, фото- и лучевую терапию, иммунотерапию (интерферон - ИФН) и ретиноиды, а также химиотерапевтические препараты (вориностат, хлорамбуцил, доксорубин, гемцитабин) [40, 136]. Однако данные методы терапии оказываются или малоэффективными, или дают кратковременный эффект.

Фотохимиотерапия (ПУВА) для лечения больных ГМ применяется с 1970 года [34, 159], однако имеется ограниченное число работ, посвященных данной проблеме [85, 91, 137, 141, 158]. Также имеются единичные исследования, а также описание серии случаев о положительном терапевтическом эффекте ПУВА-терапии и ИФН- α у больных ГМ, главным образом на ранних стадиях заболевания [109, 76, 151, 142, 132]. Однако, до сих пор не разработана методика и эффективная схема комбинированного метода терапии больных ГМ.

Таким образом, значительное снижение качества жизни, прогрессирующее течение с частыми рецидивами и неблагоприятным прогнозом, отсутствие общепринятых диагностических критериев, неоднозначность в подходах к ведению больных и недостаточная эффективность терапии обуславливают необходимость усовершенствования уже существующих и разработки более эффективных методов лечения. Одним из перспективных направлений современной дерматовенерологии является персонализация терапии ГМ в сочетании с ее безопасностью и эффективностью.

Цель и задачи исследования

Цель исследования: выявление генетических маркеров ранней диагностики грибвидного микоза для повышения эффективности патогенетической терапии.

В соответствии с целью исследования, были определены следующие задачи:

1. Оценить информативность результатов клинико-anamnestического, гистологического, иммуногистохимического, молекулярно-генетического методов исследования для диагностики грибовидного микоза.
2. Изучить уровень экспрессии генов FOXP3, STAT4, интерлейкин (IL)-12 и оценить их роль в ранней диагностике грибовидного микоза.
3. Разработать диагностический алгоритм ранних стадий грибовидного микоза.
4. Оценить эффективность и безопасность комбинации ПУВА-терапии и ИФН- α у больных грибовидным микозом.

Научная новизна

1. Впервые установлено статистически значимое преобладание уровня экспрессии гена STAT4 у больных пятнистой и бляшечной стадиями грибовидного микоза (181 отн.ед.; 316 отн.ед.) по сравнению с больными бляшечным парапсориазом (18,5 отн.ед.; $p < 0,05$). Определено, что при опухолевой стадии и эритродермической форме грибовидного микоза отмечается снижение уровня экспрессии гена STAT4 (7,19 отн.ед.).
2. Впервые научно обоснована диагностическая значимость экспрессии гена STAT4 для верификации диагноза грибовидный микоз: применение клинических, гистологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических методов исследования, включая определение уровня экспрессии гена STAT4 (> 100 отн.ед.), повышает точность ранней диагностики грибовидного микоза с 59,1% до 92,59% соответственно.
3. Впервые проведен сравнительный анализ экспрессии маркера Т-регуляторных клеток гена FOXP3, а также IL-12В при бляшечном парапсориазе и грибовидном микозе методом ПЦР-РВ и выявлено, что количество Т-регуляторных клеток в очагах поражения кожи было умеренным при грибовидном микозе (в зависимости от стадии) и

незначительным – при бляшечном парапсориазе. Экспрессия IL-12B была слабой в обеих группах.

Практическая значимость исследования

1. Выполненное исследование уровня экспрессии генов FOXP3, STAT4, IL-12B методом ПЦР-РВ и интерпретация его результатов, а также дифференциально-диагностические признаки, достоверно различающие группы больных грибвидным микозом и бляшечным парапсориазом, могут применяться в ранней диагностике грибвидного микоза.
2. Усовершенствован диагностический алгоритм ранних стадий грибвидного микоза, включающий определение уровня экспрессии гена STAT4 (> 100 отн.ед.).
3. Комбинация ПУВА-терапии и ИФН- α является более эффективной по сравнению с монотерапией ПУВА и позволяет достичь клинической ремиссии у 75% больных, значительного улучшения - у 19% больных, однако у 6% - эффекта от проводимой терапии не отмечалось.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Гиперэкспрессия STAT4 имеет высокую диагностическую значимость при верификации грибвидного микоза на ранних стадиях, а также для проведения дифференциального диагноза с бляшечным парапсориазом.
2. Выявляемая экспрессия у всех больных маркера Т-регуляторных клеток FOXP3, а также IL-12B не является диагностически значимой при исследовании грибвидного микоза и может рассматриваться только как вспомогательный диагностический метод.
3. Комбинация ПУВА-терапии и ИФН- α у больных грибвидным микозом является высокоэффективным и безопасным методом, вызывая клиническую ремиссию у 75% больных IV-IIIА стадий.

Внедрение в практику результатов исследования

Полученные результаты и рекомендации успешно используются в лечебно-диагностической и учебной работе кафедры и клиники кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России, ФГБУ НМИЦ гематологии Минздрава России.

Результаты исследования используются в педагогической практике как на додипломном, так и последипломном уровне на кафедре кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России.

Апробация результатов

Результаты исследования были доложены и обсуждены на:

- научно-врачебной конференции кафедры кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова (г. Москва, 5 декабря 2017 г.),
- 1120-м и 1121-м заседаниях Московского общества дерматовенерологов имени А.И. Пospелова (г. Москва, 19 декабря 2018 г., 16 января 2018 г.),
- XXXV Научно-практической конференции с международным участием «Рахмановские чтения: перспективные направления диагностики и терапии в дерматовенерологии и косметологии» (г. Москва, 26 января 2018 г.),
- XVIII Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов (г. Москва, 18 мая 2018 г.),
- XI Международной научно-практической конференции «Современная медицина: новые подходы и актуальные исследования» (г. Москва, 2018 г.),
- XXVII Конгрессе Европейской академии дерматологии и венерологии (г. Париж, Франция, 14-16 сентября 2018 г.),
- XII Научно-практической конференции «Санкт-Петербургские дерматологические чтения» (г. Санкт-Петербург, 25-27 октября 2018 г.),

- VIII Межрегиональном форуме дерматовенерологов и косметологов (г. Москва, 4-5 октября 2018 г.),
- XV Российской конференции с международным участием «Злокачественные лимфомы» (г. Москва, 24-25 октября 2018 г.),
- Международной конференции «Современные молекулярные и биохимические маркеры в клинической и экспериментальной медицине» (г. Прага, Чехия, 30-31 октября 2018 г.),
- XXII Российском онкологическом конгрессе (г. Москва, 13-15 ноября 2018 г.).

Автор окончил цикл повышения квалификации «Лимфопролиферативные заболевания кожи» под руководством д.м.н., профессора Белоусовой И.Э. на базе ЧОУ ВО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт» 21-24 ноября 2017 года.

Также автор прошел зарубежную стажировку в Тренинг-центре по дерматопатологии на базе лаборатории «Биоптика» в г. Пльзень, Чехия под руководством профессора Казакова Д.В. 3-30 сентября 2018 года в рамках Проекта «5-100» Сеченовского университета.

Ценность результатов научной работы автора подтверждается получением призовых мест:

- III Международный конкурс научных работ Quality Education - 2017 (в рамках требований ФГОС) – 1 место;
- Конкурс на лучшую демонстрацию клинического случая 2017 года в рамках 126-го научного сезона Московского общества дерматовенерологов имени А.И. Пospelова – 1 место;
- VII Международный конкурс студентов, аспирантов, докторантов Discovery Science: University-2018 – 2 место;
- Международный медицинский Форум «Вузовская Наука. Инновации» (платформа Онкология) – 1 место.

Апробация диссертационной работы состоялась на совместной научной конференции кафедры кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова лечебного факультета и лаборатории медицинской генетики Института молекулярной медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) 4 декабря 2018 года.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 17 научных работ, в том числе 6 статей в журналах, рекомендуемых ВАК, и 2 статьи в журнале, входящем в Scopus, Web of Science (ИФ=4,284).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 149 страницах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав (обзор литературы, описание материалов и методов исследования, собственные результаты и их обсуждение), заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы из 167 источников (59 - на русском и 107 - на иностранных языках). Работа иллюстрирована 44 рисунками, 22 таблицами.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Эпидемиология и этиопатогенез грибовидного микоза

T-клеточные лимфомы кожи (ТКЛК) - клинически и фенотипически гетерогенная группа неходжкинских лимфом, занимающая второе место среди экстранодальных лимфом [17, 40, 45].

В последнее десятилетие в мире отмечен рост заболеваемости ТКЛК - 0,3-1,18 на 100 тыс. населения, в странах Европы - 0,26-1 случаев на 100 тыс. человек [139]. В России система статистического учета остается неполноценной, поэтому изучение заболеваемости ТКЛК представляет трудности [25]. В Московской области этот показатель в 2000 г. составил 0,24 на 100 тыс. населения [29].

В 1978 г. Национальным институтом рака предложена классификация ТКЛК – TNM (tumor-node-metastasis) (ПРИЛОЖЕНИЕ А) [136], применяемая для стадирования и определения степени злокачественности ТКЛК, согласно которой выделяют ранние (IA-IIA) и поздние (IIB-IVB) стадии.

В классификацию Всемирной организации здравоохранения (WHO-EORTC) последнего пересмотра (2016) (Таблица 1) включены 10 видов первичных ТКЛК [152]; наиболее распространенной формой из них является грибовидный микоз (ГМ), составляющий 1% неходжкинских лимфом, 50% первичных лимфом кожи и 65-80% ТКЛК [4, 101, 74, 58, 35].

В 1806 году ГМ впервые был описан Д. Алибером под названием «грибовидная фрамбезия», которое позже было переименовано на «грибовидный микоз» [62].

Выделены классическая форма, описанная Алибером и дополненная Базеном стадиями заболевания [12, 63], а также атипичные формы [4, 40].

Таблица 1 - Классификация Т-клеточных лимфом кожи Всемирной организации здравоохранения 2016 года [152] (адаптирована)

<p>Грибовидный микоз Фолликулотропная форма Педжетоидный ретикулез Синдром гранулематозной вялой кожи</p>
<p>Синдром Сезари</p>
<p>Первичные кожные CD30+ лимфопролиферативные заболевания Первичная кожная анапластическая крупноклеточная лимфома Лимфоматоидный папулез</p>
<p>Панникулитоподобная Т-клеточная лимфома подкожной жировой клетчатки</p>
<p>Первичная кожная агрессивная эпидермотропная CD8+ Т-клеточная лимфома</p>
<p>Первичная кожная γ/δ Т-клеточная лимфома</p>
<p>Первичная кожная акральная CD8+ Т-клеточная лимфома EBV+ слизисто-кожная язва Первичная кожная CD4+ плеоморфная Т-клеточное лимфопролиферативное заболевание из лимфоцитов малого и среднего размеров</p>

ГМ в 75% случаев наблюдается у больных в возрасте более 50 лет, средний возраст манифестации заболевания равен 55-60 лет. Дети и подростки подвержены ГМ крайне редко - в 1% случаев [18]. Гендерное соотношение составляет 2:1 (мужчины:женщины) с преобладанием больных III-V фототипов кожи (1,7:1). [4, 58, 139].

Классическая форма ГМ имеет хроническое прогрессирующее течение. Исходно прогноз определяется стадией ГМ. Хотя 80-90% больных ГМ на ранних стадиях имеют благоприятный прогноз (5-летняя выживаемость

составляет 73-97%), у 10-20% больных заболевание может прогрессировать со значительным увеличением уровня смертности (5-летняя выживаемость составляет 26%) [95].

В настоящее время не выявлено единого этиологического фактора ГМ. Согласно данным литературы [59, 72], лимфоциты малигнизируются вследствие изменений генетического кода ДНК в результате воздействия этиологических факторов, провоцирующих онкогенные мутации и способствующих появлению клона злокачественных Т-лимфоцитов. На сегодняшний день доказана роль таких онкогенных факторов, как:

- 1) вирус Эпштейна–Барр, Т-лимфотропный вирус человека (human T-lymphotropic virus, HTLV-1, HTLV-2), вирус простого герпеса человека (Herpes simplex virus, HSV-1,2,6), вирус папилломы человека (Human papillomavirus, HPV), вирус иммунодефицита человека (Human immunodeficiency virus, HIV-1) [18, 86, 90, 153] в 10-15% случаев [7, 108];
- 2) *Staphylococcus aureus*, *Borrelia burgdorferi* [12, 89], *Chlamydia* [83], патогенные грибы [80];
- 3) химические вещества (бензол, пестициды; средства, содержащие диоксид кремния, хром и его соли, галогенизированные и/или ароматические углеводороды) [117, 123, 125, 162];
- 4) лекарственные препараты (иммуносупрессивная терапия после трансплантации органов, антибиотики) [69, 140];
- 5) магнитные поля 50/60 Гц [97];
- 6) электрические поля от 10-40 В/м [157];
- 7) ионизирующая радиация даже в небольших дозах [30, 52];
- 8) длительное воздействие на организм аллергенов [84];
- 9) УФ-излучение (возможны генетические вариации рецептора витамина D и его метаболизма, что играет значительную роль в процессе влияния солнечной инсоляции на риск возникновения неходжкинской лимфомы) [99].

Перечисленные факторы повышают риск возникновения клона атипичных лимфоцитов и увеличивают их миграцию в кожу. При хронической антигенной стимуляции и дисфункции иммунной системы клон атипичных лимфоцитов выживает и увеличивается. Тип и степень дифференцировки лимфоидных клеток, патология митозов определяют степень опухолевой прогрессии [11, 135]. В патогенезе ТКЛК возникает нарушение процессов лимфоэпидермального взаимодействия, которое осуществляется с помощью адгезивных молекул и системы цитокинов. отмечено, что в ходе развития ТКЛК возникает преобладание у больных Th2 иммунного ответа с эозинофилией, повышенным уровнем IgE и ИЛ-15, ИЛ-7, ИЛ-2 [31, 155], а также угнетение активности клеток, осуществляющих противоопухолевую защиту (лимфоцитотоксических лимфоцитов, клеток Лангерганса, цитокинов (ингибиторов опухолевого роста (ИЛ-7, ИЛ-15), натуральных киллеров) [15, 21, 32].

Среди основных признаков атипичных лимфоцитов выделяют: потерю пан-антигенов; повышенную экспрессию антигена ядер пролиферирующих клеток экспрессию антигенов и онкомаркеров незрелых лимфоцитов.

1.2. Современные возможности диагностики грибвидного микоза

На сегодняшний день достигнуты успехи в диагностике лимфом кожи. Однако, до сих пор отсутствуют установленные стандарты диагностики ГМ не только в РФ, но и во всем мире.

Российским обществом дерматовенерологов в 2016 году были разработаны клинические рекомендации для диагностики лимфом кожи [24], свидетельствующие о проведении физикального осмотра, рентгенографии органов грудной клетки и УЗИ периферических лимфатических узлов при IA и IB стадиях ГМ.

При II-IV стадиях рекомендовано осуществлять:

- биопсию кожи (гистологическое, иммуногистохимическое исследование с установлением иммунофенотипа, определение реаранжировки по генам γ -цепи Т-клеточного рецептора (ТКР));

- выявление увеличенных лимфоузлов и органомегалии пальпаторно;

- если имеются пятна/бляшки — необходимо установление площади (%) пораженного кожного покрова, узлы — подсчет их количества, определение размеров пораженных областей кожи и самого большого узла;

- серологическая диагностика (определение антител к вирусу гепатита В (anti-HbcAg, HbsAg, anti-HbsAg), ВИЧ, гепатита С и HTLV-1;

- клинический и биохимический анализ крови (мочевая кислота, ЛДГ (маркеры агрессивного течения заболевания), печеночные ферменты);

- УЗИ периферических лимфатических узлов;

- компьютерную томографию органов брюшной полости и грудной клетки, малого таза;

- при необходимости возможно также проведение магнитно-резонансной и позитронно-эмиссионной томографии;

- при обнаружении специфического поражения лимфоузлов и/или костного мозга пациенту требуется консультация онкогематолога для дальнейшей диагностики и терапии.

Рекомендована биопсия лимфоузлов в случае, если диаметр $> 1,5$ см, а также отмечается плотная неравномерная консистенция с целью проведения проточной цитометрии, патоморфологического исследования, определения клональности по генам γ -цепи ТКР). Биопсия лимфоузла и трепанобиопсия костного мозга могут выполняться врачами-специалистами (хирургами или онкогематологами).

Таким образом, диагноз ГМ возможно установить на основании комплексной оценки клинико-anamnestических данных, гистологического (часто неоднократного), иммунофенотипического исследования опухолевых клеток и молекулярно-генетического (наличие клональности по генам γ - или β -цепей ТКР) [4, 40, 136].

Международным обществом по лимфомам кожи (International Society for Cutaneous Lymphomas) был предложен алгоритм диагностики ранних форм ГМ, содержащий систему количественных показателей [136] (Таблица 2).

Однако для установления диагноза ГМ не всегда достаточно применение данных алгоритмов и методов диагностики, поэтому продолжается изучение и накопление данные о них, а также проводится поиск новых маркеров для своевременной и точной ранней диагностики ГМ.

Таблица 2 - Алгоритм диагностики ранних форм грибвидного микоза [136]
(адаптирована)

ПРИЗНАК	КРИТЕРИЙ ОЦЕНКИ
Клинические	
Основные: Наличие стабильных и/или прогрессирующих пятен или «тонких» бляшек. Дополнительные: <ol style="list-style-type: none"> 1) Локализация высыпаний в областях, не подвергающихся инсоляции 2) Вариабельность формы и размеров высыпаний 3) Пойкилодермия 	2 балла за основной и два дополнительных критерия 1 балл за основной и один дополнительный критерий
Гистопатологические	
Основные: Поверхностный лимфоидный инфильтрат. Дополнительные: <ol style="list-style-type: none"> 1) Эпидермотропизм без спонгиоза 2) Лимфоидная атипия (клетки с гиперхромными увеличенными ядрами или неправильным/церебриформным контуром ядра) 	2 балла за основной и два дополнительных признака 1 балл за основной и один дополнительный признак
Молекулярно-биологические	
Клональная перестройка гена Т-клеточного рецептора	1 балл
Иммунопатологические	
<ol style="list-style-type: none"> 1) Количество CD2⁺, CD3⁺ и/или CD5⁺ Т-клеток менее 50%. 2) Количество CD7⁺ Т-клеток менее 10%. 3) Эпидермально/дермальное несоответствие экспрессии CD2, CD3, CD5 и CD7 (дефицит экспрессии в эпидермисе) 	1 балл за один и более признаков

Примечание. Диагноз грибвидный микоз считается правомерным при общей сумме не менее 4 баллов из любых разделов таблицы.

1.2.1. Клинико-anamнестический метод диагностики

Спектр клинико-морфологических форм ГМ и сходство их клинических проявлений с ХДД затрудняет раннюю диагностику болезни. На первичном приеме дерматолога на основании клинико-anamнестических данных предварительный диагноз ГМ удается заподозрить в 30% случаев [31].

Классическая форма ГМ Алибера-Базена - медленно прогрессирующее хроническое заболевание, включающее в себя клинические стадии:

1) пятнистая (Т1) - представлена зудящими, несимметричными, пятнами на коже туловища, конечностей или ягодиц, не подвергающихся солнечному излучению;

2) бляшечная (Т2) - возвышающимися плоскими инфильтрированными бляшками, обычно красно-коричневого цвета с четкими границами, при этом одновременно некоторые элементы прогрессируют, а некоторые регрессируют;

3) опухолевая (Т3) - гладкими опухолевыми узлами буровато-красного цвета, похожими на шляпку гриба, часто изъязвляющимися или некротизирующимися с присоединением вторичной инфекции [3, 4].

Кроме того, ГМ часто называют «великим имитатором», потому что высыпания крайне разнообразны и полиморфны [166] и могут быть сходны с таковыми при распространенных ХДД (псориаз, экзема, atopический дерматит), и более редких (псевдолимфома, склеродермия, кольцевидная центробежная эритема Дарье, красный отрубевидный лишай Девержи), а также инфекционных заболеваниях (микоз гладкой кожи, вторичный сифилис) (Таблица 3).

Таблица 3 - Перечень заболеваний кожи, подлежащих клинической дифференциальной диагностике Т-клеточных лимфом кожи [25]

	Характер основных клинических проявлений процесса		
	Эритематозно-пятнистые	Папулезные	Бляшечные
Злокачественные лимфомы кожи	ГМ 1 стадия	ГМ фолликулотропный, лимфоматоидный папулез	ГМ 1-2 стадия, педжетоидный ретикулез
Хронические, доброкачественные дерматозы	Токсикодермия, атопический дерматит, (дифф. форма, гиперергический тип), себорейный дерматит	Атопический дерматит (пруригинозная форма), экзема хроническая, псориаз, васкулит папуло-некротический, саркоидоз кожи (мелкоузелковый)	Атопический дерматит (диффузная форма), псориаз, мелкобляшечный, крупнобляшечный парапсориаз
Злокачественные новообразования кожи	Базальноклеточный рак кожи (поверхностная форма), солитарный или первично-множественный	Болезнь Педжета (эстрамаммарная форма), болезнь Бовена, синдром множественной невоидной базальноклеточной эпителиомы Горлина-Гольца	
Псевдо-, прелимфомы	Атрофический парапсориаз, пойкилодермия кожи, лимфоматозный клональный дерматит	Доброкачественный лимфоаденоз кожи, лимфоидная инфильтрация кожи после укусов, татуировок, инъекций	Болезнь Лайма (хроническая стадия), лимфоцитарная инфильтрация Иесснера-Канофа
Абортивная, латентная лимфома		Лимфоматоидный папулез	Мелкобляшечный парапсориаз, крупнобляшечный парапсориаз, актинический ретикулоид

Таблица 3 - Перечень заболеваний кожи, подлежащих клинической дифференциальной диагностике Т-клеточных лимфом кожи [25].
Продолжение

	Характер основных клинических проявлений процесса	
	Бляшечно-узловые	Эритродермия
Злокачественные лимфомы кожи	ГМ 3 стадия, панникулитоподобная Т-клеточная лимфома, анапластическая крупноклеточная ЗЛК, В-клеточные лимфомы	ГМ (эритродермическая форма), синдром Сезари
Хронические, доброкачественные дерматозы	Инфекционная гранулема, нодозный васкулит, саркоидоз кожи (крупноузловатый), хроническая язвенная пиодермия, лепра	Эритродермия псориатическая, экзематозная, при болезни Девержи, листовидная пузырчатка
Злокачественные новообразования кожи (ЗНО)	Экзофитные формы эпителиальных ЗНО, вторичные поражения кожи при нодулярных (системных) лимфомах	Паранеопластическая эритродермия
Псевдо-, прелимфомы	Лимфоцитомы кожи, саркоид Шпиглера-Фендта	Токсикодермия, синдром псевдолимфомы (эритродермия псевдолимфоматозная)
Абортивная, латентная лимфома	Ангиолимфоидная гиперплазия с эозинофилией (болезнь Кимура)	Эксфолиативный дерматит (пре-Сезари синдром)

Согласно данным таблицы, при наличии у пациента с ГМ бляшечно-узловых высыпаний необходимо проводить дифференциальную диагностику с болезнью Кимуры, ангиолимфоидной гиперплазией с эозинофилией. Однако, данные заболевания не являются синонимами. Для болезни Кимуры характерен лимфоидный воспалительный инфильтрат с образованием фолликулов и примесью эозинофилов, а также пролиферация капилляров, для

ангиолимфоидной гиперплазии с эозинофилией – гиперплазия кровеносных сосудов и артериовенозные анастомозы, но иногда преобладает лимфоцитарный инфильтрат, приводя к ошибочному диагнозу [36, 61].

Также акцентируем внимание на том, что в строгом понимании термин «псевдолимфома кожи» может быть использован по отношению лишь к следующим заболеваниям: доброкачественная лимфоплазия кожи (постскабиозная, боррелиозная), истинная псевдолимфома, актинический ретикулоид, лимфоцитарная инфильтрация Джесснера-Канофа [37].

Одним из наиболее трудно дифференцируемых с ГМ заболеваний является псевдолимфома кожи (ПЛК), которая может имитировать его по комплексу гистологических и клинических признаков. ПЛК как реактивный дерматоз возникает в ответ на экзогенные и эндогенные воздействия. Наиболее частыми причинами развития ПЛК являются [36, 77]:

- 1) лекарственные препараты (антибиотики, антиконвульсанты, β -блокаторы, гипотензивные, сульфоновые препараты), БАДы;
- 2) химические вещества (бензин, керосин, ароматические масла), металлы;
- 3) инфекционные агенты (боррелии, чесоточные клещи, вирусы простого и опоясывающего герпеса, патогенные грибы);
- 4) травмы, укусы насекомых, пирсинг, тату, вакцинация.

В таких случаях в диагностике могут помочь только тщательно собранные анамнестические данные, а именно информация о наличии провоцирующего агента, при исключении которого высыпания разрешаются самостоятельно [36].

По данным современных исследователей выделен ряд симптомов, характерных для ГМ [3, 33]:

- постепенное начало заболевания и медленное развитие;
- вариабельность формы, размеров и цвета высыпаний;
- феномен одновременного прогрессирования и регрессирования отдельных высыпаний;

- пойкилодермия (пятнистая пигментация, телеангиэктазии, атрофия кожи);
- множественные высыпания, несколько зон вовлечения;
- характерная локализация высыпаний на участках кожи, не подвергающихся солнечному облучению;
- высыпания часто сопровождаются зудом;
- развитие заболевания у пожилых людей, ранее не страдавших хроническими дерматозами;
- парестезии и озноб перед появлением свежих высыпаний;
- наличие интенсивного зуда, не купирующегося антигистаминными препаратами и не зависящего от времени суток и характера питания;
- застойно-синюшный цвет очагов поражения;
- нетипичная для хронических доброкачественных дерматозов локализация очагов поражения;
- неэффективность проводимой противовоспалительной и десенсибилизирующей терапии;
- нарастание инфильтрации в очагах поражения по мере развития заболевания;
- прогрессирующие (персистирующие) пятна/ бляшки;

По данным литературы средний срок до установления диагноза, даже у больных классической формой ГМ, составляет около 5 лет, и может значительно удлиняться при других вариантах его течения [26, 114, 161].

1.2.1.1. Подтипы и атипичные клинико-морфологические формы грибовидного микоза

В настоящее время описано до 20 атипичных форм ГМ [3, 4], которые клинически протекают подобно классическому типу, поэтому их не рассматривают отдельно. Однако, педжетоидный ретикулез, фолликулотропный ГМ и синдром гранулематозной вялой кожи имеют собственные клинические и гистологические особенности, поэтому их согласно WHO-EORTC-классификации первичных ТКЛК (2016) выделяют как подтипы ГМ [136] (Таблица 1).

Вышеуказанные клинико-морфологические формы ГМ усложняют диагностику ГМ, особенно на ранних стадиях. Ниже в таблице представлены характерные признаки для наиболее часто встречаемых форм (Таблица 4).

Таблица 4 - Характеристика подтипов и атипичных форм грибовидного микоза*

<p>Фолликулотропный ГМ</p> <ul style="list-style-type: none"> • Может сразу начинаться с бляшек. • Отсутствие эпидермотропизма. • Ирритация волосяного фолликула. • Локализация: чаще голова и шея. • Крупноклеточная трансформация в 1/3 случаев. • Фолликулярный муциноз встречается в 50 % случаев. 	<p>Педжетоидный ретикулез</p> <ul style="list-style-type: none"> • Часто CD8+ фенотип. • Постоянные клинические и гистопатологические признаки. • Дифференциальный диагноз с: <ul style="list-style-type: none"> - ГМ ладоней и подошв; -первичной кожной агрессивной эпидермотропной CD8+ Т-клеточной лимфомой.
<p>Синдром гранулематозной вялой кожи</p> <ul style="list-style-type: none"> • Приуроченность к складкам кожи. • Минимальный эпидермотропизм, эластофагоцитоз, лимфофагоцитоз при гистологическом исследовании. • Благоприятное течение, хороший прогноз. 	<p>Сиринготропный ГМ</p> <ul style="list-style-type: none"> • Инфильтрат вокруг потовых желез. • Может не быть эпидермотропизма. • Частое сочетание с фолликулотропизмом. • Распространенные кожные высыпания. • Хороший прогноз.

Таблица 4 - Характеристика подтипов и атипичных форм грибвидного микоза*. Продолжение

<p>Буллезный ГМ</p> <ul style="list-style-type: none"> • Пятна и бляшки предшествуют появлению пузырей. • Полости могут быть внутри- и субэпидермальными. • Негативная РИФ. • Исключить инфекционные процессы, осложняющие ГМ. <p>Плохой прогноз, агрессивное течение.</p>	<p>Папулезный ГМ</p> <ul style="list-style-type: none"> • Не приурочен к волосам. • Инфильтрат, ограниченный папулой. • Частое сочетание ГМ с лимфоматоидным папулезом. • Исключить острый и вариолиформный парасориз (PLEVA).
<p>Пойкилодермический ГМ</p> <ul style="list-style-type: none"> • Чаще женщины. • Повышенная травматизация. • Атрофия эпидермиса. • Сглаженность дермо-эпидермальной линии. • Вакуольная дистрофия клеток базального слоя. • Меланофаги в сосочковой части дермы. 	<p>Ювенильный ГМ</p> <ul style="list-style-type: none"> • Полосовидный инфильтрат CD4+. • Отсутствие реаранжировки гена Т-клеточного рецептора. • Инфильтрат приурочен к выростам эпидермиса. • Дифференциальный диагноз с: <ul style="list-style-type: none"> - морфеа; -пятнистой стадией классической формы ГМ; - центробежная эритема.
<p>Солитарный (моноочаговый) ГМ</p> <ul style="list-style-type: none"> • Наличие одного или нескольких сливающихся очагов в зоне кожного сегмента, занимающих менее 5% площади тела. • Дифференциальный диагноз с: <ul style="list-style-type: none"> - педжетоидным ретикулезом; -доброкачественным лихеноидным кератозом; -Т-клеточной псевдолимфомой. 	<p>Эритродермический ГМ</p> <ul style="list-style-type: none"> • Тяжелая форма, плохой прогноз. • Развивается при рефрактерном течении ГМ. • Возникает на поздних стадиях ГМ или de novo. • Отмечается нарушение общего состояния, лимфаденопатия, эритродермия с синюшным оттенком и сильным зудом, гиперкератоз ладоней и подошв. • Отсутствие лейкоцитарных изменений в крови.

Примечания: *по материалам цикла повышения квалификации «Лимфопролиферативные заболевания кожи» под руководством д.м.н., профессора Белоусовой И.Э. [3].

Таким образом, клинико-морфологический спектр ГМ весьма широк. В дифференциальной диагностике указанных заболеваний, помимо клинико-анамнестического обследования, помогают такие методы исследования как гистологический, иммуногистохимический и молекулярно-генетический (наличие клональности по генам γ -цепи Т-клеточного рецептора).

1.2.2. Гистологический метод диагностики

В конце XX века одним из основных направлений изучения ГМ стала диагностика его ранней наименее информативной пятнистой стадии. В последующем предпринимались и продолжают предприниматься попытки разработать алгоритм диагностики и определить дифференциально-диагностические критерии [3, 19, 130, 144].

В настоящее время в РФ нет единого мнения по поводу стандартизированных гистологических критериев диагностики ГМ. Достаточно часто необходимо проводить повторные гистологические исследования, так как критерии, расцениваемые как достоверные (эпидермотропизм, микроабсцессы Потрие, атипичные лимфоциты с церебриформными ядрами), описаны рядом исследователей и при хронических воспалительных дерматозах, и даже в препаратах здоровой кожи [2, 20, 53, 56].

Согласно Федеральным клиническим рекомендациям по ведению больных лимфомами кожи [3, 136] основными патоморфологическими критериями, используемыми для диагностики ГМ, являются:

- наличие в инфильтрате плеоморфных лимфоидных клеток малых и средних размеров с гиперхромными увеличенными ядрами или неправильным/церебриформным контуром ядра (атипичные лимфоциты с церебриформными ядрами);
- наличие лимфоидных клеток, располагающихся цепочкой в базальном ряду эпидермиса (3 и более);

- наличие интраэпидермальных лимфоцитов, окруженных светлым перинуклеарным ободком (галолимфоциты);
- повышенное количество интраэпидермальных лимфоцитов при отсутствии спонгиоза («диспропорциональный эпидермотропизм»);
- размер эпидермальных лимфоцитов больше, чем дермальных;
- внутриэпидермальные скопления лимфоцитов (3 и более) (микроабсцессы Потрие);
- фиброз и/или отек сосочковой части дермы.

Микроабсцессы Потрие являются высокоспецифичным признаком ГМ (92,1%), однако встречаются лишь в 10% случаев при бляшечной стадии заболевания [25].

Гистологическое заключение должно учитывать клеточный состав дермального инфильтрата и его расположение. При морфологическом исследовании для пятнистой стадии характерны эпидермотропные поверхностные мелкоочаговые периваскулярные инфильтраты, для бляшечной – эпидермотропный плотный полосовидный инфильтрат в верхней части дермы, для опухолевой – плотный очаговый или диффузный инфильтрат, занимающий всю дерму и проникающий в подкожную жировую клетчатку, эпидермотропизм может отсутствовать. [3, 92].

Накопленные результаты исследований помогают точнее ориентироваться в патоморфологических особенностях ГМ, но не всегда позволяют провести раннюю диагностику заболевания из-за невысокой информативности и специфичности гистологических изменений начальной стадии ГМ, причем часто для этого требуются повторные исследования.

1.2.3. Иммуногистохимический метод диагностики

По данным G. Burg и W. Kempf [72] достоверность диагноза ГМ, подтвержденного только клиническими и гистологическими признаками, составляет 50-75%. Проведение иммуногистохимического и молекулярно-

генетического исследования увеличивает достоверность диагноза до 80% [13, 72].

Иммуногистохимия (ИГХ) – метод морфологической диагностики, основанный на идентификации и установлении локализации в клетках и тканях структур, имеющих антигенные свойства, с помощью реакции антиген-антитело [53]. В последнее время стало доступным получение большого количества моно- и поликлональных антител, обладающих высокой специфичностью и авидностью [124].

Иммуногистохимический метод позволяет [14, 53, 54]:

- уточнить гистогенез опухоли;
- оценить функциональное состояние клеток опухоли;
- уточнить вероятный источник метастазирования;
- провести иммунофенотипирование опухолей лимфоидной ткани;
- определить прогноз при опухолевых процессах;
- определить темп опухолевой прогрессии.

В диагностике грибвидного микоза нашел практическое применение метод иммунофенотипирования (ИФТ) клеток, основанный на выявлении макромолекул, экспрессирующихся иммунокомпетентными клетками, - “CD-антигенов” (от англ. clusters of differentiation – кластеры дифференцировки) [53, 55]. С помощью моноклональных антител проводится идентификация антигенов, подтверждающих принадлежность лимфоцитов к определенной популяции, субпопуляции, а также характеризующих уровень их дифференцировки [68, 70].

Иммунофенотипически при ГМ можно выявить патологическую популяцию Т-клеток, если опухолевые Т-клетки имеют aberrantный фенотип, т.е. утрату одного или нескольких из общих Т-клеточных маркеров, а также в случаях, когда фенотип опухолевых Т-клеток соответствует ранним, внутритимическим стадиям дифференцировки [48, 50].

При ИФТ биоптатов кожи у больных с БП и ГМ выявлено, что основу инфильтрата составляют CD4+ клетки, а увеличение показателя соотношения CD4/CD8 рассматривается как значимый маркер в диагностике ГМ [13, 93].

Согласно алгоритму диагностики ранних форм ГМ, предложенному Международным обществом по лимфомам кожи (ISCL), различают следующие иммуногистохимические признаки [136]:

1. Количество CD2+, CD3+, и/или CD5+ Т-клеток < 50%.
2. Количество CD7+ Т-клеток < 10%.
3. Эпидермально/дермальное несоответствие экспрессии CD2, CD3, CD5 и CD7 (дефицит экспрессии в эпидермисе).

По данным Keehn С.А. и соавт. [98], ГМ характеризуется инфильтратом из α/β Т-хелперов – зрелых клеток памяти, которые имеют следующий иммунофенотип: $\beta F1+$ CD3+ CD4+ CD5+ CD7+ CD8- CD45RO+. Реже встречаются Т-цитотоксический ($\beta F1+$ CD3+ CD4- CD5+ CD8+) и γ/δ ($\beta F1-$ CD3+ CD4- CD5+ CD8+) фенотипы. В поздних стадиях ГМ может наблюдаться полная или частичная потеря экспрессии пан-Т-клеточных антигенов CD3, CD5 и CD7, появление экспрессии цитотоксических протеинов TIA-1, гранзима В и перфорина, а также aberrantный CD4+/CD8+ или CD4-/CD8- фенотип [3, 98].

При ГМ, несмотря на его медленное развитие, также происходит нарушение нормального цикла деления клеток, следствием чего является клональная пролиферация Т-лимфоцитов. Для установления уровня пролиферативной активности клеток с помощью иммуногистохимического исследования используется протеин Ki-67. Согласно данным Жукова А.С. [35], индекс пролиферативной активности клеток у больных ГМ бляшечно-опухолевой стадии выше, чем у больных БП.

Ряд авторов рекомендует учитывать в диагностике ГМ и другие маркеры. В частности, С. Bernier et al. предлагают использовать CD13 [67], а Di Trollo et al. [81] - Неса-452 (CLA – антиген лимфоцитов, ассоциированных

с кожей), Жуков и соавт. - Langerin/CD207 [35], Сыдигов и соавт. - CD209/DC-Sign [54].

Стоит отметить, что уровень экспрессии антигенов в лимфоидном инфильтрате зависит от вида изучаемого антигена и метода его исследования. По данным Е.В. Братцевой и С.В. Ротанова [4] в настоящее время при ИФТ является рутинным определение экспрессии антигенов CD2, CD3 и CD5. Снижение экспрессии этих маркеров на Т-клетках более чем на 50% является признаком ТКЛК с чувствительностью 100%, однако в случае диагностики ГМ чувствительность метода снижается до 10%. Это положение также справедливо относительно дермозэпидермальной дискордантности результатов исследований CD2, CD3, CD5 и CD7 [3, 4].

1.2.4. Молекулярно-генетический метод определения реаранжировки гена Т-клеточного рецептора

Данный метод диагностики существенно облегчил процесс постановки диагноза ГМ. Благодаря Southern E.M. он используется с 1975 г. (метод блот-гибридизации по Саузерну) [150].

Молекулярно-генетическое исследование позволяет обнаружить нарушения перестройки цепи ТКР лимфоцитов не только в коже, но и в периферической крови. Появление клона Т-лимфоцитов при опухоли сопровождается появлением популяции клеток с одинаковой перестройкой генов ТКР (моноклональность ТКР) [56].

Т-клеточный рецептор (ТКР, TCR) – гетеродимер, состоящий из двух типов цепей. Более 90% от всех Т-клеток экспрессируют $\alpha\beta$ -TCR и примерно 5% – γ/δ -TCR [35, 39, 49, 50, 57, 122].

Т-клеточная клональность традиционно оценивается с помощью двух методов - Саузерн-блоттинга и полимеразной цепной реакции (ПЦР). Саузерн-блоттинг — трудоемкий метод, требующий большого количества геномной ДНК высокого качества и радиоактивной метки, в связи с чем редко применяется для рутинной диагностики. Наибольшее распространение

для оценки Т-клеточной клональности с начала 90-х годов получила именно ПЦР, которая широко используется в клинической практике [50]. Ей свойственна техническая простота и быстрота выполнения [78].

Однако, наличие клональности по генам γ -цепи ТКР не обязательно означает наличие опухоли.

Популяция клональных Т-лимфоцитов может выявляться не только при развитии ГМ, но и при доброкачественных воспалительных «клональных» дерматозах: параспориозе Муха–Габермана, экземе, псориазе, красном плоском лишае и некоторых псевдолимфомах [131], поэтому обнаружение Т-клеточной клональности не должно рассматриваться как абсолютный критерий верификации диагноза ГМ. Также на ранних стадиях ГМ возможен ложноотрицательный результат ввиду недостаточности опухолевых клеток для амплификации гена ТКР [49].

ПЦР-диагностика для идентификации реаранжировки гена Т-клеточного рецептора является специфичной (86-95%), но недостаточно чувствительной (52%). В связи с этим моноклональность Т-лимфоцитов инфильтрата является стабильным признаком только в опухолевой стадии ГМ [33, 35, 66].

По данным Bernier С. вероятность установления диагноза ГМ молекулярно-биологическим методом на поздних стадиях (III-IV) составляет 90%, на ранних (I-IIA) - 50% [67].

Таким образом, основополагающим в диагностике ГМ являются динамическое наблюдение клинических проявлений заболевания, неоднократные гистологические и иммуногистохимические исследования в сочетании с молекулярно-генетическим анализом.

В настоящее время использование молекулярно-генетических методов для диагностики ГМ активно развивается, однако до сих пор единственным применяемым методом является определение реаранжировки гена ТКР, что обуславливает необходимость поиска новых, более информативных генетических маркеров для ранней диагностики ГМ.

1.2.4.1. Молекулярно-генетические механизмы патогенеза и диагностические маркеры грибовидного микоза

Молекулярно-генетические исследования, проведенные в последние годы, убедительно доказывают роль генетических факторов в инициации злокачественного процесса и развития опухоли [16].

При исследовании кожи больных ТКЛК с помощью ДНК-микрочипов установлено, что увеличение уровня экспрессии ядерного фактора ТОХ, необходимого для развития CD4⁺ Т-клеток в тимусе, и микро-РНК-326, -663, -711, а также снижение уровня экспрессии микро-РНК-203, -205 по сравнению со здоровыми лицами и больными с хроническими дерматозами свидетельствует о лимфопролиферативном процессе [138, 167].

Так, у больных ГМ определено снижение RB1 и повышение уровня экспрессии циклина D1, оказывающие воздействие на клеточный цикл [119], а также наблюдаются изменения на хромосомах 10q и 17p [118].

По данным О.И. Зайцевой [15], аномальное метилирование генов p21, RASSF, p16, CDH1, N33, CD44 характерно для IIА и III стадий ГМ. У больных I стадией ГМ, атопическим дерматитом и псориазом, здоровых лиц аномального метилирования генов не выявлено.

Установлено, что экспрессия онкогенов p16 и p53 меняется при прогрессировании ГМ, но не изменяется на ранних стадиях заболевания [128]. В нескольких исследованиях были обнаружены мутации гена FAS и нарушения экспрессии генов JUNB и JUND у больных ГМ [79, 120].

Тем не менее, патогенетические механизмы развития ГМ так и остаются не до конца установленными. По данным Berger С.L. [65], в последнее время все большее значение придается микроокружению малигнизированных лимфоцитов. Считается, что клетки, окружающие опухоль, могут оказывать влияние на инициацию или течение опухолевого процесса [65]. К микроокружению малигнизированных лимфоцитов относятся Т-регуляторные клетки, которые являются специализированной субпопуляцией Т-лимфоцитов, обладающие иммуносупрессивными

свойствами. Они поддерживают гомеостаз иммунной системы, подавляя избыточную активность эффекторных Т-клеток в реакциях с чужеродными антигенами. Избыточная активность Т-регуляторных клеток часто наблюдается при злокачественных новообразованиях [14].

Т-регуляторные клетки (Т-рег) экспрессируют транскрипционный фактор FOXP3 (Forkhead Box Protein), важный для поддержания иммунологической толерантности [106].

Немаловажное значение имеет цитокиновый профиль, который у больных ГМ различается в зависимости от стадии заболевания. Если в начале развития ГМ преобладает экспрессия Th1-цитокинов, интерферона (IFN) γ , TNF- α и интерлейкинов (IL-2, IL-12), то в прогрессирующих стадиях происходит «сдвиг» к Th2-профилю (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) [13]. IL-12 -- мощный противоопухолевый цитокин, основными эффектами которого являются увеличение продукции IFN- γ , а также стимуляция роста и цитотоксичности активированных NK-клеток, CD8⁺ и CD4⁺ Т-клеток, смещение дифференцировки CD4⁺ Th0-клеток в сторону Th1-фенотипа [111].

Также установлено, что STAT-сигнальная система играет центральную роль в процессе канцерогенеза [129]. STATs (signal transducers and activators of transcription — сигнальные передатчики и активаторы транскрипции) — семейство из шести транскрибируемых факторов, которые фосфорилируются одной из четырех рецептор-связанных Янус-киназ (Janus kinases — JAKs) вследствие цитокиновой стимуляции (Рисунок 1).

Значимость белков данного семейства в иммунных реакциях обусловлена их ядерным расположением, что обеспечивает возможность напрямую регулировать множество генов-мишеней в патогенезе ГМ [10, 149].

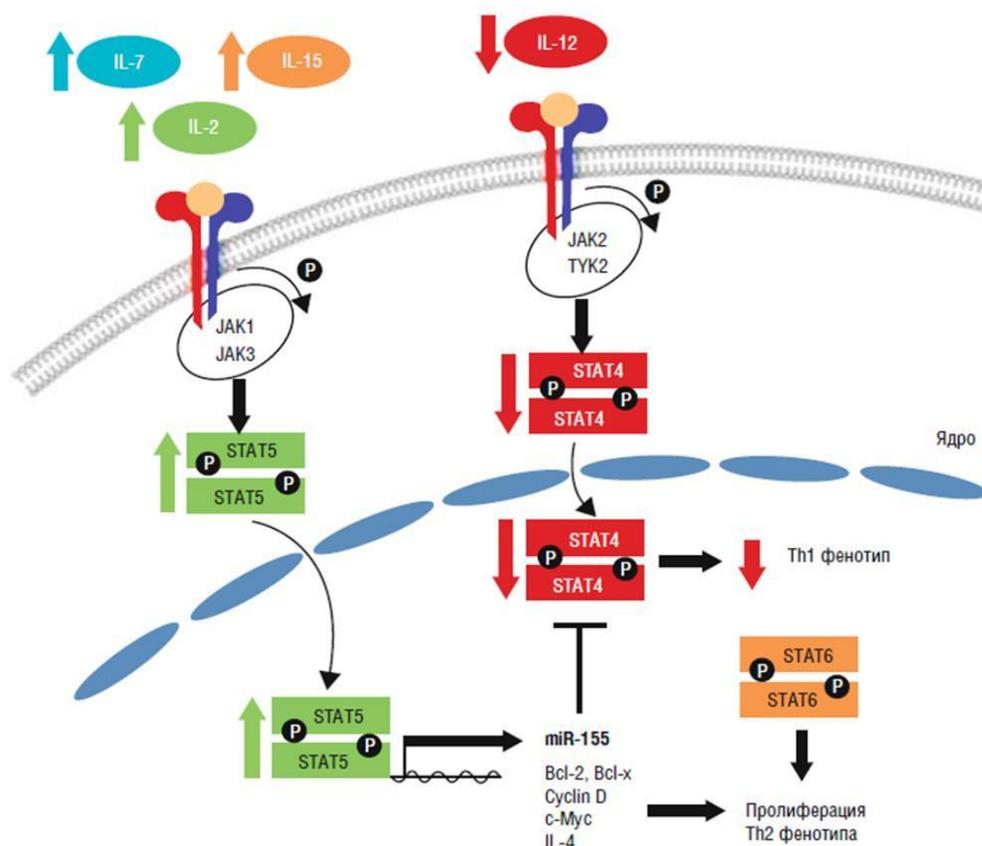


Рисунок 1 - *STAT*-передача импульсов в лимфоцитах у больных грибовидным микозом [Netchiporouk, Жуков иммун] (адаптирован)

На ранних стадиях заболевания повышенный уровень экспрессии IL2RA, IL-2, IL-7, IL-15 способствует активации STAT5, который, фосфорилируясь, проникает в ядро и регулирует экспрессию генов апоптоза (например, Bcl-2, Bcl-x), генов клеточного цикла (Cyclin-D, c-Myc), Th-2 цитокинов (IL-4) и микро-РНК-155. Микро-РНК-155 служит "мостом между воспалением и раком", т.к. увеличивает геномную нестабильность и стимулирует процесс пролиферации опухолевых клеток [129, 154]. По данным Litvinov et al, одной из важнейших функций микро-РНК-155 является регуляция экспрессии STAT4, в то же время уровень экспрессии IL-12 снижается, теряется экспрессия β 2-цепи рецептора IL-12 в злокачественных Т-лимфоцитах [114, 129]. По данным R. Nishikomori [133] экспрессия STAT4 играет ключевую роль в процессе дифференцировки Th1 вследствие

цитокиновой стимуляции (IL-12), а также в последующем переходе от Th1- к Th2-фенотипу ГМ [115].

На поздних стадиях грибовидного микоза повышенная активация STAT5 и STAT3, которые фосфорилируются JAK1 и JAK3, может стать полностью цитокин-зависимой (IL-21) [105, 114].

В последние десять лет метод ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) все шире используется в медицинской генетике и онкологии. Это связано с возможностью точного определения исходного количества молекул матричной РНК и генотипированием в формате мультиплексной ПЦР с высокой чувствительностью. Эти особенности ПЦР-РВ позволяют успешно применять метод там, где ранее обычный ПЦР-анализ не мог дать диагностически значимой информации [38].

Кроме того, ПЦР-РВ позволяет с высокой достоверностью определять различия в экспрессии генов в 20-30%, имея при этом более низкий коэффициент вариации, чем методы с детекцией результатов «по конечной точке». С помощью ПЦР-РВ, в отличие от обычной ПЦР, гораздо проще отдельно регистрировать мРНК с почти идентичными последовательностями. [16].

Согласно рекомендациям Международного общества по лимфомам кожи (ISCL), Европейской организации изучения и лечения рака (EORTC) [136] и вышеизложенным данным поиск и изучение генетических маркеров для ранней диагностики ГМ по-прежнему остается актуальной проблемой в современной дерматоонкологии.

1.3. Дифференциально-диагностические признаки грибовидного микоза и бляшечного параспориоза

Наиболее сложной в диагностическом плане является пятнистая стадия ГМ, дифференциальная диагностика которой проводится в первую очередь с бляшечным параспориозом (БП) [3,4].

Понятие «бляшечный параспориоз» включает два вида параспориоза: крупнобляшечный и мелкобляшечный, отличающиеся клинической картиной и прогнозом [12, 55, 100, 112].

В настоящее время отсутствует единая точка зрения о нозологической принадлежности параспориозов.

Весомый вклад в учение о параспориозе внес И.М. Разнатовский [42,43], который в докторской диссертации доказал, что каждое из заболеваний, названных в 1902 году Л. Броком параспориозом [71], является самостоятельным воспалительным заболеванием кожи с характерной клинической и гистологической картиной, хотя последняя не является специфичной для диагностики дерматоза. И.М. Разнатовский считал, что изменения кожи, описанные как и переходные формы параспориоза и крупнобляшечный параспориоз являются проявлениями пойкилодермической формы мономорфноклеточной лимфомы кожи, а мелкобляшечный, каплевидный и лихеноидный параспориоз являются дерматозами воспалительной природы [41].

В 1996 году G. Burg et al. [73] предложили трактовку лимфопролиферативных заболеваний кожи, указывая на то, что течение последних проходит ряд стадий: предлимфома, abortивная лимфома (латентная лимфома), лимфома низкой степени злокачественности, лимфома высокой степени злокачественности. Авторы отнесли крупнобляшечный параспориоз к латентным, а мелкобляшечный параспориоз - к abortивным лимфомам.

Крупнобляшечный параспориоз характеризуется появлением довольно крупных (более 8 см в диаметре) бледно-розовых, незначительно шелушащихся пятен с нечеткими контурами и частыми явлениями атрофии и пойкилодермии, локализующимися на ягодицах, задней поверхности бедер, нижней части туловища [12, 127]. При гистологическом исследовании в эпидермисе обнаруживаются акантоз, орто- и паракератоз, незначительный эксфолиативный гиперкератоз, гипертрофия, некроз клеток шиповатого слоя [19,55].

Таким образом, по данным Wu J., Lambert, W.C [110, 163] трансформация крупнобляшечного параспориоза (КБП) в ГМ отмечается в 10-40% случаев, хотя ряд авторов считает КБП изначально ранней стадией ГМ с медленной опухолевой прогрессией [44, 51, 60, 144].

Мелкобляшечный параспориоз проявляется хорошо очерченными пятнами удлиненно-овальной или пальцеобразной формы с заостренными концами, размерами 1-6 см, локализующимися на внутренней поверхности конечностей, чаще в области плеч и бедер, в эпигастральной области, а также на животе и боковых поверхностях грудной клетки. Пятна имеют розовато-желтоватый или желтовато-коричневый цвет [12, 126], чаще без субъективных ощущений, имеют склонность к распространению и регрессу [19, 20]. При этом на туловище полосовидные элементы зачастую располагаются параллельно ребрам, а на конечностях – параллельно продольной оси конечностей. Кожа головы, лица, ладоней и подошв в процесс не вовлекается [54].

При гистологическом исследовании эпидермис остается интактен. Узкие и удлиненные отростки эпидермиса сдавлены отеком дермы. Инфильтрат дермы состоит преимущественно из лимфоцитов и небольшого количество гистиоцитов, могут встречаться также единичные эозинофилы, лимфатические капилляры всегда расширены [19, 55].

Согласно ВОЗ-классификации опухолей кожи и данным ряда исследователей мелкобляшечный параспориоз (МБП) является хроническим доброкачественным воспалительным дерматозом [12, 19, 27, 35, 144, 160], но существует мнение, что он также может рассматриваться как abortивная форма ТКЛК или начальная стадия ГМ [72, 104]. Наблюдения перехода МБП в ГМ по литературным данным единичны [64, 74].

Стоит отметить, что сложность дифференциального диагноза бляшечного параспориоза с грибковидным микозом на ранних стадиях существует и до сих пор, несмотря на то, что уже были исследованы некоторые диагностические признаки в работах отечественных и зарубежных

авторов [13, 19, 35, 44, 48, 96, 143], что обуславливает необходимость дальнейшего более глубокого изучения патогенеза этих заболеваний и поиска новых диагностических маркеров.

1.4. Методы терапии грибовидного микоза

В последние годы достигнут значительный прогресс в терапии ГМ, однако лечение больных с этим хроническим, неуклонно прогрессирующим заболеванием до сих пор представляет значительные сложности. Ситуация усложняется тем, что не существует критериев, позволяющих четко определить дозы, сроки или эффективные комбинации препаратов [8, 22]. Кроме того, при начальном лечении больных ГМ, осуществляемом на территории РФ, около 30 % из них оказываются резистентными к различным методам терапии [8].

Назначение соответствующего лечения требует установления стадии заболевания с учетом TNM-классификации ТКЛК (ПРИЛОЖЕНИЕ 1), оценки клинической выраженности процесса, а также эффективности проводимого ранее лечения. Пациенты со стадиями IB-IIA, имеющие фолликулярную форму ГМ, или пациенты с очень толстыми бляшками имеют более плохой прогноз из-за сниженной чувствительности к наружным видам терапии, что необходимо учитывать при назначении лечения. В поздних стадиях наличие множественных узлов, крупноклеточной трансформации и снижения количества CD8⁺ Т-клеток в дермальном инфильтрате и/или крови также ассоциировано со снижением выживаемости [40, 136].

Целью терапии ГМ является достижение длительной клинической ремиссии и улучшение качества жизни пациентов.

Симптомы и очаги поражения при ранних стадиях (IA-IIA) локализованного ГМ обычно хорошо контролируются использованием препаратов для местного применения. Поздние стадии ГМ (IIB-IVB) обычно прогрессируют и становятся рефрактерными к различным методам местного

воздействия и системной терапии. Согласно Российским клиническим рекомендациям по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний (2016) [40] существует терапия 1-й и 2-й линии ранних стадий, а также терапия поздних стадий ГМ (Таблица 5).

Одним из ведущих методов лечения больных ГМ является ПУВА-терапия, основанная на применении фотосенсибилизатора в комбинации с длинноволновыми ультрафиолетовыми (УФ) лучами спектра 320-400 нм. Кроме того, доказана его высокая эффективность (достижение клинической ремиссии и удлинение межрецидивного периода) и хорошая переносимость [34, 132]. Механизм действия основан на иммуномодуляции с преобладанием иммуносупрессии, приводящей к потере функциональности антигенпредставляющих клеток и апоптозу кератиноцитов, Т-клеток в коже. Последующее уменьшение числа Т-клеток вызывает разрушение опухолевых инфильтратов при ГМ. Целесообразно применение данного метода в доопухолевых стадиях заболевания, так как зона воздействия УФА-света находится в пределах эпидермиса и верхней трети дермы [82, 141].

По данным Oguz O, Herrmann J.J., Roupe G., ПУВА-терапия является предпочтительным вариантом лечения на ранних стадиях заболевания, позволяющим достигать полной ремиссии в 71,4% случаев [91, 134, 141].

Однако данный метод лечения может быть неэффективным из-за выраженной инфильтрации бляшек и неспособности предотвратить рецидив заболевания [132, 156]. В таком случае ПУВА-терапию можно комбинировать с ретиноидами или интерфероном (ИФН)- α [40, 91].

Таблица 5 - Терапия грибовидного микоза [40]

Терапия ранних стадий (IA-IIIА)	
Терапия 1-й линии	Терапия 2-й линии
1) Топические кортикостероиды (целестодерм-в, флуцинар, элоком, адвантан, кутивейт, дермовейт)	1) Ретиноиды (13-цисретиновая кислота (изотретиноин, этретинат)
2) Узкополновое ультрафиолетовое облучение (УФО) спектра В (311 нм)	2) Интерферон-α (ИФН-α)
3) ПУВА-терапия (псорален + УФА-облучение)	3) Ингибиторы гистондеацетилаз (HDACi); вориностат
4) Локальная лучевая терапия	4) Проспидин
5) Тотальное облучение кожи (ТОК)	5) Метотрексат
Терапия поздних стадий (IIIВ-IVВ)	
1) Ингибиторы гистондеацетилаз (HDACi); вориностат	
2) Электронно-лучевая терапия	
3) Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток	
4) Режимы системной химиотерапии: CHOP, EPOCH, CMED/ABV, пентостатин, флударабин + IFNα или циклофосфамид, гемцитабин	

В соответствии с рекомендациями Европейской организации исследования и лечения рака (European Organisation for the Research and Treatment of Cancer) при лечении ГМ широко используют ИФН [136]. Он обладает выраженной противоопухолевой активностью, обусловленной не только прямым цитостатическим действием на опухолевые клетки, но и модуляцией механизмов гуморальной регуляции иммунного ответа. Установлено, что препараты данной группы (ИФН-α - виферон, реальдирон, вэллферон; ИФН-β - ребиф 22, бетаферон, лейкинферон; ИФН-γ - имукин)

активируют макрофагальную и комплементарную системы организма, нормализуют продукцию провоспалительных цитокинов, воздействуют на экспрессию генов и антигенов главного комплекса гистосовместимости. ИФН- α вызывает иммунологические эффекты: увеличивает цитотоксичность как Т-клеток CD8⁺, так и NK-клеток, увеличивает их активацию, подавляет производство цитокинов опухолевыми Th2-клетками (Рисунок 2) [164].

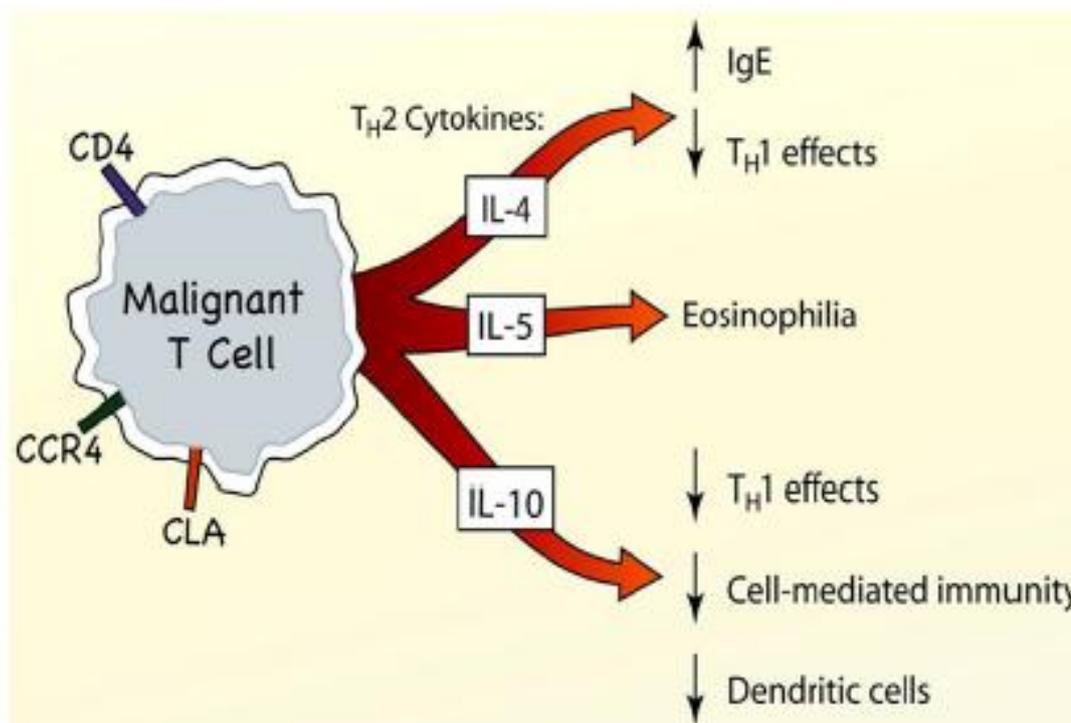


Рисунок 2 - Иммунные нарушения при грибковидном микозе, которые служат мишенями для терапии интерфероном- α : CCR4 (С-С-рецептор хемокина 4); CLA (кожный лимфоцитарный антиген) [102, 151].

Наиболее часто используют рекомбинантный ИФН- α с подкожным, внутримышечным или внутриочаговым введением [8, 35].

Ограниченное число исследований и описание серии случаев показало эффективность комбинации ИФН- α и ПУВА-терапии у больных ГМ, главным образом, на ранних стадиях заболевания, используя различные схемы лечения ИФН- α и режимы ПУВА-терапии (Таблица 6).

В совокупности данные исследования показали, что комбинация ПУВА-терапии и ИФН- α представляет собой эффективный (полная ремиссия достигнута в 62% - 100% случаев; медиана - 76,5%) и хорошо переносимый метод терапии больных ГМ, особенно на ранних стадиях заболевания, однако остается открытым вопрос о применении этого метода при поздних стадиях ГМ, о сравнении эффективности с монотерапией ПУВА, о дозировке интерферона, о побочных эффектах.

Таблица 6 – Предшествующие исследования больных грибовидным микозом, посвященные лечению ИФН- α и ПУВА-терапией [76, 109, 132, 142, 151]

Исследование, год	Дизайн	Лечение	Количество пациентов, стадии заболевания	Результаты
Kuzel et al, 1995	Проспективное	ПУВА и ИФН- α 2a	39, IB–IVB	24/39 (62%) - ПР, 11/39 (28%) – ЧР; МПО - 28 месяцев
Chiarion-Sileni et al, 2002	Проспективное	ПУВА и ИФН- α 2a	63, IA–IVA	51/63 (75%) - ПР, 6/63 (10%) – ЧР; МПО - 32 месяца
Rupoli et al, 2005	Проспективное	ПУВА и ИФН- α 2b	89, IA–IIA	75/89 (84%) - ПР (82% стадии IA, 87% - IB, 73% - IIA), МПО - 6 месяцев
Nikolaou et al, 2011	Ретроспективное	ПУВА и ИФН- α 2b	22, IB–IVA	10/22 (45%) – ПР (стадии IB-IIA - 96%, IB–IV – 27% (p=0,03); 5/22 (23%) – ЧР; МПО - 32 месяца

Примечания. ПР – полная ремиссия, ЧР – частичная ремиссия, МПО - медиана продолжительности ответа.

Дальнейшие исследования эффективности этого комбинированного лечения желательны еще и потому, что недавние исследования выявили молекулярный механизм его действия: усиление независимого апоптоза p53 в злокачественных Т-лимфоцитах по JAK1 сигнальному пути и нормализация экспрессии STACK/CCL27 [88, 116].

Анализируя источники литературы, можно прийти к выводу, что, несмотря на имеющийся арсенал методов диагностики, до сих пор существуют трудности в диагностике грибкового микоза, особенно на ранних стадиях, отсутствуют общепринятые диагностические критерии. Стоит отметить, что диагноз ГМ может быть установлен лишь на основании комплексной оценки клинического обследования пациента, результатов гистологического, молекулярно-генетического и иммуногистохимического методов исследования.

Кроме того, отсутствует однозначность в подходах к лечению больных, что обуславливает необходимость усовершенствования методов терапии.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на базе кафедры кожных и венерических болезней им. В.А.Рахманова и Лаборатории медицинской генетики Института молекулярной медицины ПМГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

2.1 Общая характеристика больных

Под нашим наблюдением находилось 50 больных, из которых было 27 больных грибовидным микозом и 23 больных бляшечным парапсориазом, получавших терапию на базе клиники кожных и венерических болезней им. В.А.Рахманова ПМГМУ им. И.М. Сеченова и Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» (ФГБУ «НМИЦ гематологии») в период с 2016 по 2018 гг.

Средний возраст пациентов группы ГМ составил $52 \pm 3,5$ года (29-82), из них было 14 (52%) мужчин и 13 (48%) женщин (соотношение 1,1:1) (Таблица 7). По стадиям заболевания больных распределили следующим образом: IA – 3 (11%), IB - 9 (33%), IIA - 6 (22%), IIB - 5 (19%), IIIA - 3 (11%), IVA₂ - 1 (4%). Стадирование ГМ осуществлялось согласно классификации TNM (tumor-node-metastasis) (ПРИЛОЖЕНИЕ А). Пациенты с классической формой ГМ были подразделены на три подгруппы согласно клиническим стадиям заболевания: пятнистая - 11 (41%), бляшечная - 8 (30%), опухолевая - 5 (18%) (Рисунок 3). Также в исследование были включены пациенты с эритродермической клинико-морфологической формой – 2 (7%) и фолликулотропным подтипом ГМ – 1 (4%).

Средний возраст больных БП составил $52 \pm 2,5$ лет (от 28 до 68), из них было 10 (44%) мужчин и 13 (56%) женщин (соотношение 1:1,3) (Рисунок 4). В группу БП были включены пациенты со следующими диагнозами: МБП - 9 (39%) пациентов, КБП - 14 (61%).

Группа контроля включала 10 здоровых лиц (средний возраст $44 \pm 2,5$ лет) (Таблица 7). Эти лица не предъявляли жалоб на момент обследования, болели респираторными заболеваниями не более двух раз в год, не имели явных хронических очагов инфекции, признаков аллергии и другой патологии.

Таблица 7 – Общая характеристика исследуемых групп

	Возраст, лет M±m	Количество пациентов	Пол	
			Мужской	Женский
ГМ	$52 \pm 3,5$	27	14 (52%)	13 (47%)
КБП	$53 \pm 2,5$	14	6 (43%)	8 (57%)
МБП	$49 \pm 2,5$	9	4 (44%)	5 (56%)
ЗД	$44 \pm 2,5$	10	6 (60%)	4 (40%)

Примечание. ГМ – больные грибовидным микозом; КБП – больные крупнобляшечным парапсориазом; МБП – больные мелкобляшечным парапсориазом; ЗД – здоровые лица.

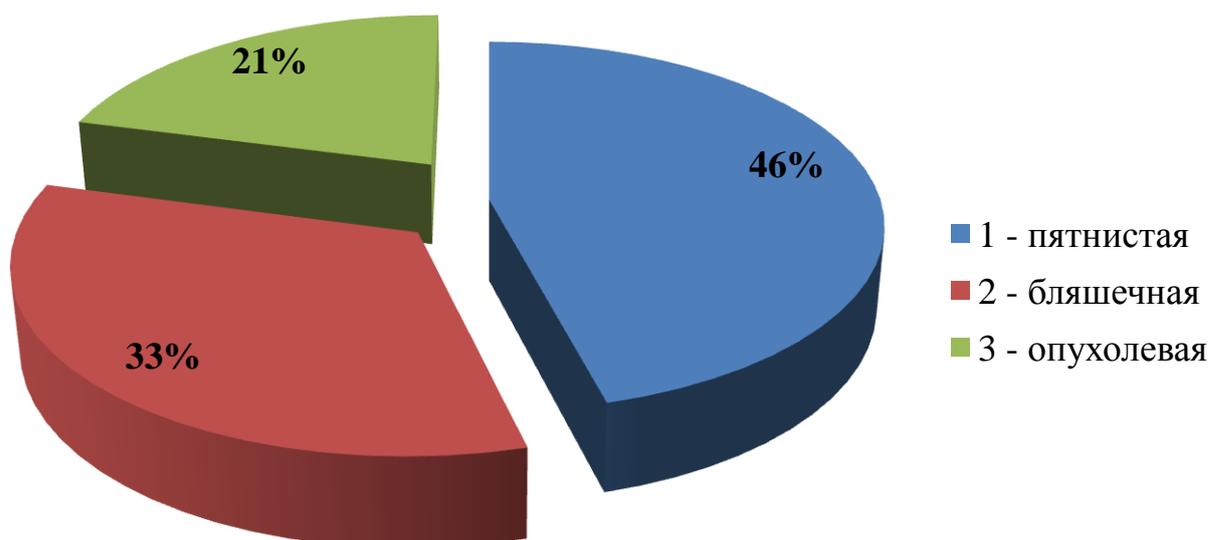


Рисунок 3 – Распределение исследуемых больных классической формой грибовидного микоза по клиническим стадиям

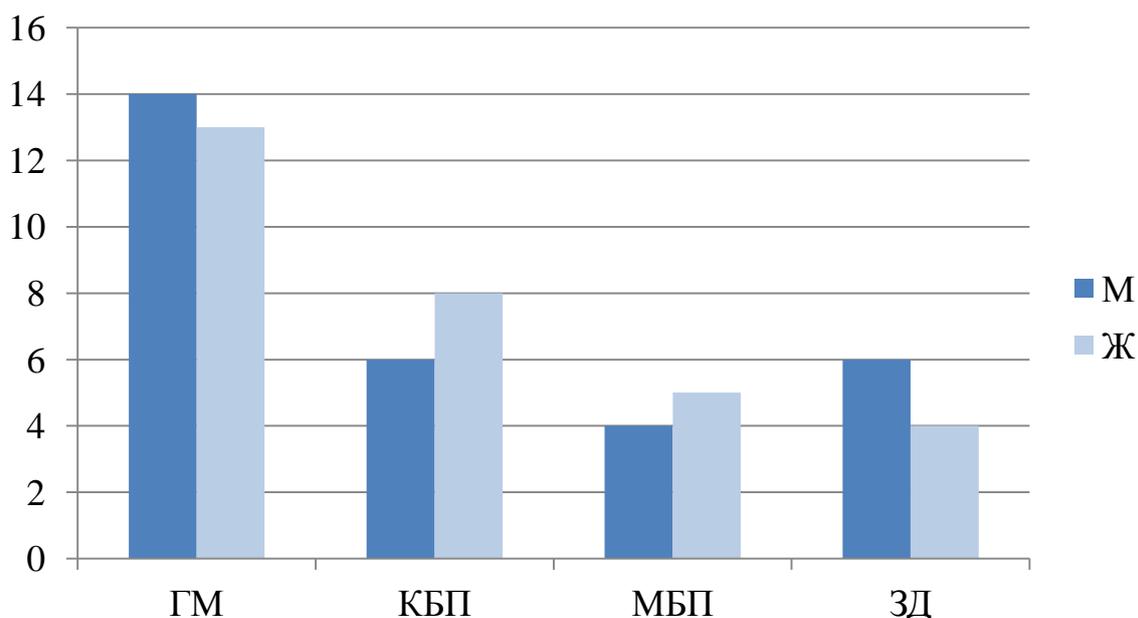


Рисунок 4 – Распределение исследуемых групп по полу. ГМ – больные грибковидным микозом; КБП – больные крупнобляшечным параспориозом; МБП – больные мелкобляшечным параспориозом; ЗД – здоровые лица

2.2. Критерии включения, невключения и исключения из исследования

Критериями включения пациентов в исследование являлись:

- Установленный диагноз ГМ (с наличием любой клинической формы и стадии независимо от тяжести заболевания) или БП.
- Возраст пациента от 18 лет.
- Добровольное желание участвовать и подписанные информированное согласие с общим планом обследования и лечения, а также на диагностическую процедуру (биопсию) и проведение генетического исследования.

Критерии невключения:

- Несоответствие критериям включения.
- Нежелание пациента участвовать в исследовании.
- Наличие сопутствующей соматической патологии у пациентов в стадии декомпенсации, онкологические заболевания, нарушения функции печени, алкоголизм, наркомания, психические расстройства.

- Беременность, кормление грудью.

Критерии исключения:

- Желание пациента прекратить участие в исследовании.
- Беременность.
- Несоблюдение пациентом режима, назначенной схемы обследования и лечения.
- Регулярный прием системных кортикостероидов или иммуносупрессантов.

2.3. Методы исследования

Все пациенты были клинически обследованы согласно Российским клиническим рекомендациям по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний (2016) [40]. Обследование включало осмотр дерматолога и гематолога, клинический и биохимический анализы крови, УЗИ органов брюшной полости, малого таза и периферических лимфатических узлов, рентгенографию органов грудной клетки. Больным IIВ-IVВ стадиями ГМ проводили также компьютерную томографию органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза, трепанобиопсию костного мозга.

Диагноз ГМ был верифицирован на основании комплексной оценки клинического осмотра, результатов гистологического (часто неоднократного), иммунофенотипического исследований биоптатов из очагов поражения кожи и индекса пролиферативной активности Ki-67, а также молекулярно-генетического метода с определением клональности по реаранжировке гена γ -цепи ТКР на базе кафедры патологической анатомии ПМГМУ им. И.М. Сеченова и ФГБУ «НМИЦ гематологии».

2.3.1. Оценка тяжести кожного поражения с учетом модифицированной шкалы (modified Severity Weighted Assessment Tool -- mSWAT)

Измерялся процент вовлечения площади поверхности всего тела (%TBSA) отдельно для пятен, бляшек и опухолей в 12 областях тела с использованием ладони пациента в качестве «критерия». Общий % TBSA для поражения каждого типа умножали на взвешенный фактор тяжести (1 = пятно, 2 = бляшка и 4 = опухоль) и суммировали, получая шкалу mSWAT.

2.3.2. Гистологическое исследование биоптатов пораженной кожи

Использовался метод инцизионной биопсии (6 мм). Забор материала производился с использованием инфильтрационной анестезии 2% раствором лидокаина. На кожный дефект накладывалось 2-3 шва, а затем – давящая повязка. Испытуемые после проведенного гистологического исследования находились под наблюдением в течение 7-10 дней, в последующем проводилось снятие швов. Исследуемый материал помещался в тару, содержащую 10% нейтральный формалин. Затем материал подвергался стандартной проводке с последующей парафиновой заливкой. Срезы толщиной 4-5 мкм окрашивались гематоксилином-эозином, а также гематоксилином и пикрофуксином по Ван-Гизону. Гистологическое исследование проводилось в проходящем свете с помощью светового микроскопа Carl Zeiss (Германия) с использованием объективов 4x, 10x, 20x, 40x, 100x, 200x, 400x.

2.3.3. Иммунофенотипирование

Для иммуногистохимического исследования использовались парафиновые срезы.

Гистологические срезы (толщина = 3 мкм), приготовленные на микротоме (MICROM HM-325-2, Germany), помещали на стекла, которые были покрыты полизином. Затем в трех порциях ксилола препараты депарафинировали, после чего в течение 3-4 минут промывали в фосфатно-

солевым буфере. В дальнейшем препараты обрабатывались 0,3% перекисью водорода в течение 20 минут. После промывки в нескольких порциях фосфатно-солевого буфера (ФСБ) на срезы наносили первичные антитела с дальнейшей инкубацией при температуре 37°C в течение 40-45 минут. Затем производили промывку в ФСБ по 5 минут в каждой из двух порций, после - на срезы наносили антивидовой конъюгат DAKO EnVISION+SYSTEM HRP и инкубировали при комнатной температуре в течение 45 минут. После этого материал промывали в двух порциях ФСБ по 5 минут в каждой, а затем обрабатывали 3,3-диаминобензидин-тетрахлоридом в течение 3 минут. Затем срезы докрашивали гематоксилином. Гранулы темно- и светло-коричневого цвета в структурах клеток считались продуктом положительной реакции. Также выполнялось окрашивание срезов без использования первичных антител для отрицательного контроля.

При проведении ИГХ исследования использовались первичные антитела, представленные в таблице 8.

Иммуногистохимическое исследование кожи с изучением иммунофенотипов CD3⁺, CD4⁺, CD5⁺, CD7⁺, CD8⁺, CD45RO⁺, определение индекса пролиферативной активности Ki-67 проводили на парафиновых срезах по схемам, рекомендуемым фирмами производителями. Оценку результатов проводили полуколичественным методом с подсчетом числа клеток. Экспрессия исследуемого маркера расценивалась как слабая <<+>> при наличии окрашенных гранул в 1-50-ти клетках, умеренная <<++>> - в 51-100 клетках и резко выраженная <<+++>> - в 101 и более клетках, в четырех полях зрения при увеличении x 400.

Таблица 8 - Панель используемых в работе моно- и поликлональных антител

Название антитела, клон, фирма-производитель	Специфичность
CD3 (Dako, США)	Все зрелые Т-клетки, экспрессируются тимоцитами в зависимости от степени дифференцировки
CD4 (Novocastro, Великобритания)	Субпопуляции тимоцитов, Т- лимфоцитов, хелперы/индукторы, моноциты/макрофаги
CD5 (Dako, США)	Ранние тимоциты, зрелые Т-клетки (сильная экспрессия); субпопуляция В-клеток
CD7	Маркер Т-лимфоцитов
CD8 (Dako, США)	Большинство тимоцитов, маркер Т- клеток-киллеров, клетки- естественные киллеры
CD45RO	Т-клетки памяти
Ki-67 (Dako, США)	Экспрессия клетками в поздней G1, S, G2, M-фазах клеточного цикла, отсутствует в Go-фазе

2.3.4. Определение реаранжировки по генам γ -цепи Т-клеточного рецептора

Оценку Т-клеточной клональности проводили на основании изучения реаранжировки генов TCRG ($V\gamma$ - $J\gamma$) и TCRB ($V\beta$ - $J\beta$, D β - $J\beta$) с использованием метода ПЦР с мультиплексными системами праймеров BIOMED-2. Для выделения ДНК из ткани, залитой в парафиновый блок, использовали 5 срезов по 5 мкм. Ткань подвергали депарафинизации методом нагревания. ДНК выделяли методом, основанным на растворении ткани в

концентрированном аммиаке и последующем осаждении белков ледяной уксусной кислотой [8, 49]. Концентрацию ДНК определяли на UV-спектрофотометре. Образцы ДНК хранили при температуре -20°C . Для проведения фрагментного анализа ПЦР-продуктов применяли автоматический анализатор нуклеиновых кислот ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Флюоресценцию амплификатов и их профиль (распределение по длине) оценивали с помощью компьютерной программы GeneMapper v. 4.0 (Applied Biosystems, США) (Рисунок 5).

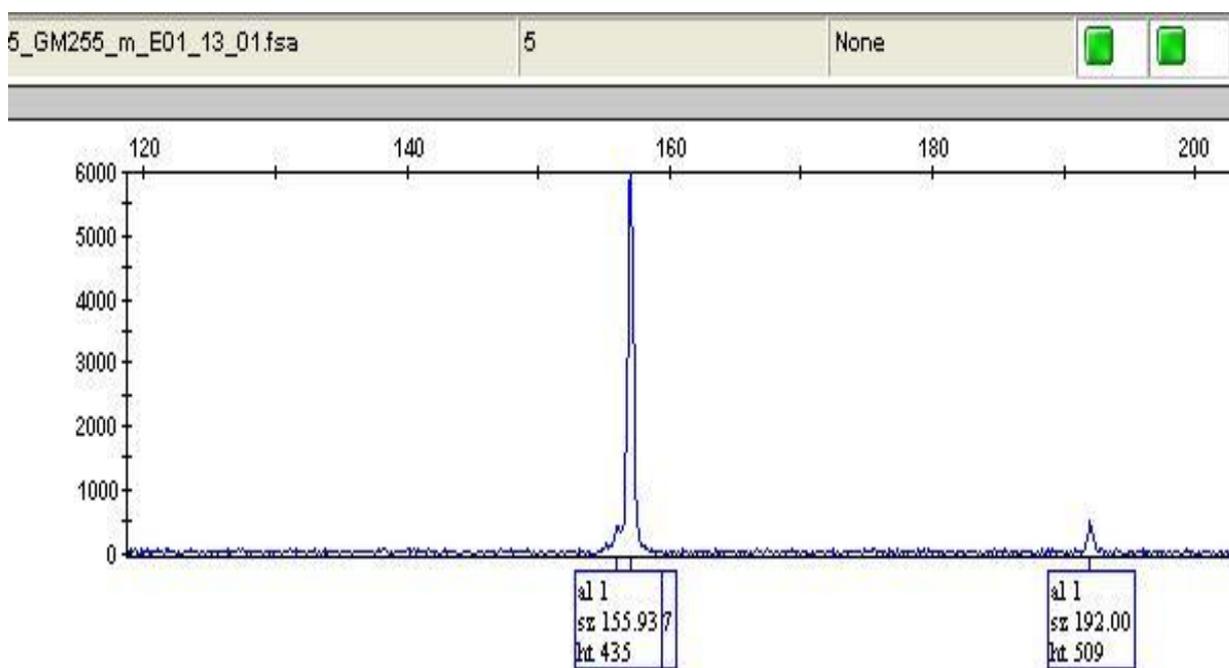


Рисунок 5 – Графическое изображение результата ПЦР: выявлена моноклональность по генам γ -цепи Т-клеточного рецептора у больного бляшечной стадией грибovidного микоза. Программа GeneMapper v. 4.0 (Applied Biosystems, США)

2.3.5. Определение уровня экспрессии генетических маркеров (FOXP3, STAT4, IL-12B)

Объектами исследования были пораженные участки кожи больных ГМ, БП и здоровых лиц, взятые методом инцизионной биопсии (6 мм), которые до проведения исследования хранили при температуре -20°C .

Определение уровня экспрессии генов (FOXP3, STAT4, IL-12B) выполняли на базе Лаборатории медицинской генетики Института молекулярной медицины ПМГМУ им. И.М. Сеченова.

2.3.5.1. Выделение РНК

Осуществлялось с применением набора «РИБО-золь-А» (ИнтерЛабСервис, Россия) методом кислородной экстракции:

1. Было отобрано 100 мкл лимфоцитов, к которым добавляли 600 мкл рибозоля, после чего перемешивали на вортексе, а также инкубировали в термостате на протяжении 5 минут при температуре 60°C. В дальнейшем повторно перемешивали и центрифугировали на протяжении 5 секунд со скоростью 5000 об/мин при комнатной температуре.

2. Содержимое пробирки смешивали со 110 мкл комбинации хлороформ:изоамил (1:24) и оставляли на 5 минут при температуре 3-8°C.

3. Пробирки подвергались центрифугированию на протяжении 10 минут со скоростью 13000 об/мин при комнатной температуре. Водную фазу переносили в отдельную пробирку, к которой добавляли аналогичный объем изопропанола, смешивали и оставляли на 20 минут при температуре -20°C.

4. Затем пробы повторно центрифугировали на протяжении 10 минут со скоростью 13000 об/мин. Супернатант смешивали с осадком 1 мл 70% этанола и снова центрифугировали, сохраняя те же условия.

5. Супернатант отбирали, полученный осадок с целью подсыхания помещали в термостат на 5 минут при температуре 60°C.

6. Осадок с очищенной РНК подвергался растворению в 40 мкл РНК-элюента (АмплиСенс, Россия).

7. Полученные образцы РНК сохраняли при -70°C.

2.3.5.2. Синтез кДНК

Готовые образцы РНК, смешанные с РНК-элюентом, смешивали с ДНКазой (Fermentas, Литва) по протоколу, заявленному производителем:

1. Раствор РНК в объеме 9 мкл смешивали с 1 е.а. ДНКазы, 1 мкл 10x буфера (100 мМ трис-НСl (рН 7,5), 25 мМ MgCl₂, 1 мМ CaCl₂) с помощью пипетки.
2. Полученная смесь инкубировалась на протяжении 25-30 минут при температуре 37°C.
3. Фермент инактивировали, предварительно смешивая с 1 мкл ЭДТА (25мМ), посредством инкубации длительностью 10 минут при температуре 60°C.

В дальнейшем проводили обратную транскрипцию РНК методом случайного праймирования в термоциклере GeneAmp2700 с применением High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, США) по протоколу фирмы-производителя. Готовые образцы кДНК хранились при температуре -18°C.

2.3.5.3. ПЦР в режиме реального времени (Real time-ПЦР)

Представляет собой ПЦР с амплификацией, детекцией и количественным измерением последовательности ДНК в образце в реальном времени после цикла амплификации с последующим построением кинетической кривой.

Анализ экспрессии генов FOXP3, STAT4, IL12B проводился методом TaqMan Real time-ПЦР с обратных транскриптов в термоциклере для ПЦР в реальном времени (Bio-Rad, USA) с использованием зондов TaqMan (Applied Biosystems, США), меченых флуоресцентным красителем FAM (Рисунок 6). Зонды и праймеры предоставлены фирмой Applied Biosystems.



Рисунок 6 - Термоциклер для ПЦР в реальном времени (Bio-Rad, USA)

Для эндогенных контролей применялись меченные FAM гены АСТВ.

В основе данной TaqMan Real-time ПЦР лежит использование 5'-эксонуклеазной активности полимеразы. Реакционная смесь состоит из специфических праймеров для амплификации геномного локуса, а также зонда для детекции продукта, комплементарного к участку амплифицируемой области и меченного на 5'-конце флуоресцентным красителем, а на 3'-конце – гасителем флуоресценции и фосфатной группой. Излучение, испускаемое флуоресцентной меткой, поглощается гасителем, а полимеразы блокируются фосфатной группой в 3'-положении. Во время отжига праймеров зонд количественно связывается с комплементарным участком ДНК. При элонгации комплементарная цепь ДНК синтезируется полимеразой и, дойдя до участка, гибридизованного с зондом, начинается расщепление зонда за счет 5'-эксонуклеазной активности. В последующем

флуоресцентная метка способна отделяться от гасителя, свечение которой соответственно может быть детектировано (Рисунок 7).

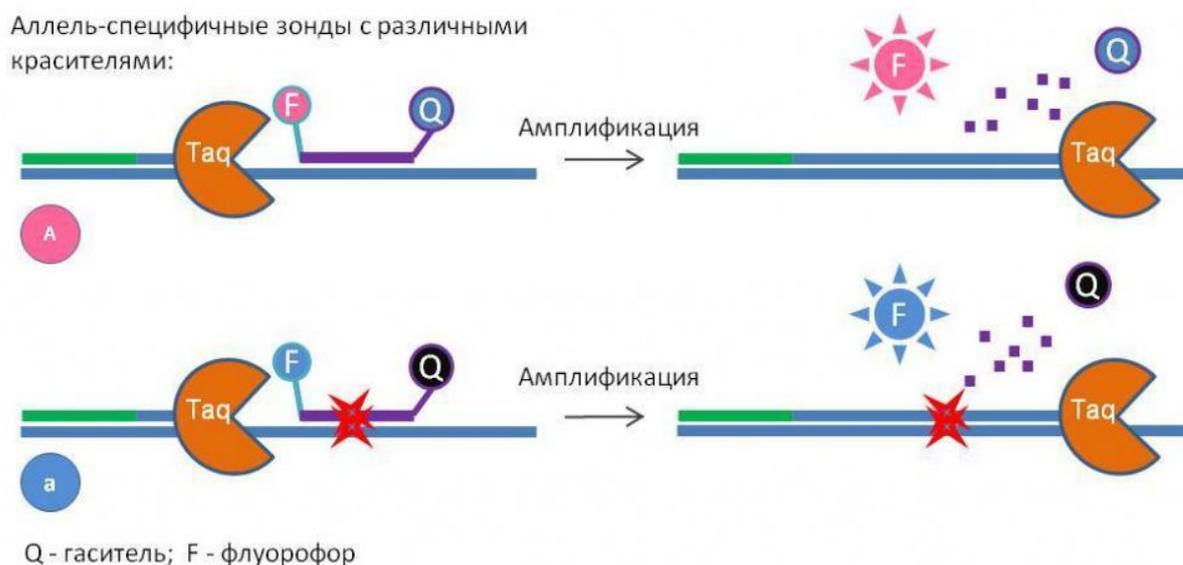


Рисунок 7 - Схема проведения ПЦР в реальном времени

PCR Master Mix (Applied Biosystems, США) по протоколу фирмы-производителя. Реакции осуществлялись в трех повторностях при температурном режиме: 50°C – 2 мин; 95°C – 10 мин; 40 циклов с параметрами 95°C – 15 сек, 60°C – 1 мин.

Анализ результатов проводился методом $\Delta\Delta C_T$ с применением программного обеспечения (Bio-Rad, США) (Рисунок 8).

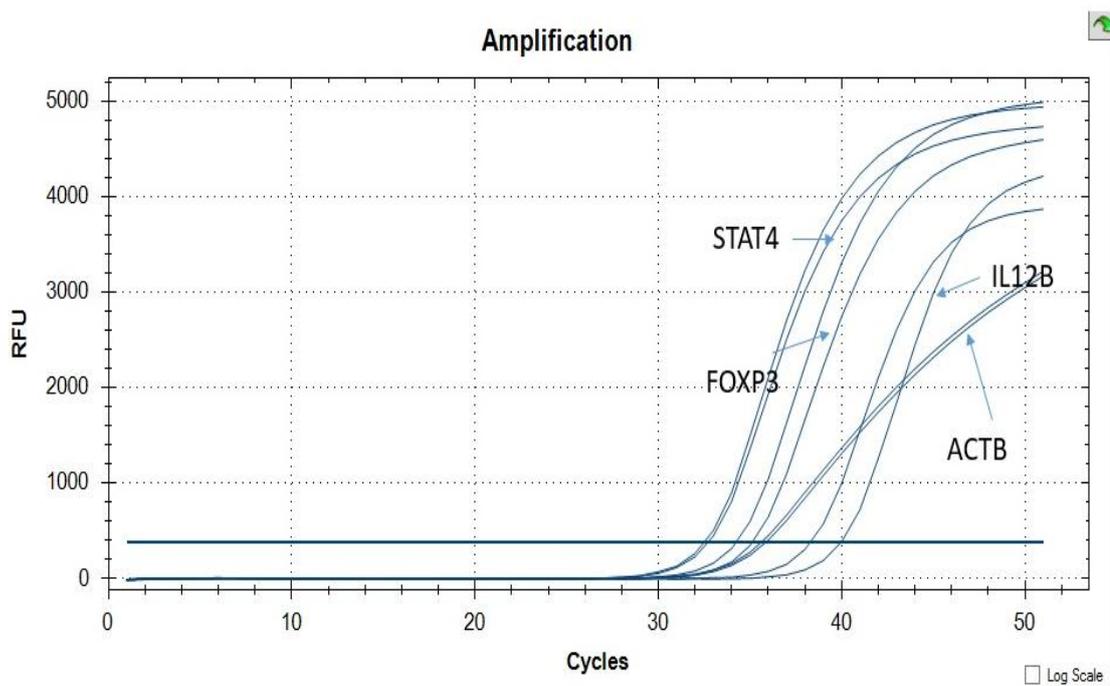


Рисунок 8 - Кинетические кривые генетических маркеров FOXP3, STAT4, IL-12B, полученные с помощью программного обеспечения Bio-Rad.

2.4. Схема терапии больных грибвидным микозом с применением ПУВА и интерферона- α

Больные ГМ были рандомизированы: первая группа получала ПУВА-терапию в сочетании с ИФН- α ; вторая группа – ПУВА в виде монотерапии.

Комбинацию ПУВА и ИФН- α получили 16 больных ГМ, средний возраст которых был 54 (29-82) лет, из них 7 (44%) женщин и 9 (56%) мужчин. По стадиям заболевания пациентов распределили следующим образом: IB - 5 (31%), IIA - 4 (25%), IIB - 3 (19%), IIIA - 3 (19%), IVA₂ - 1 (6%).

ПУВА в виде монотерапии была проведена 11 больным ГМ (6 (55%) женщин и 5 (45%) мужчин), средний возраст которых составил 52 (29-80) лет. По стадиям заболевания больных распределили следующим образом: IA – 3 (27,5%), IB - 4 (36,5%), IIA - 2 (18%), IIB - 2 (18%).

Выбор метода терапии был обусловлен тяжестью кожного процесса, наличием сопутствующей патологии и определялся стадией ГМ с учетом TNM-классификации (ПРИЛОЖЕНИЕ А).

ПУВА-терапию проводили по методике 4-разового облучения в неделю с начальной дозой УФА 0,5-1 Дж/см² и постепенным наращиванием дозы облучения на 0,5--1 Дж/см² через каждые 2 сеанса до разовой дозы 8--10 Дж/см². В качестве фотосенсибилизатора использовали 8-метоксипсорален из расчета 1 мг/кг за 2 часа до процедуры.

Облучение проводили в кабине для ПУВА-терапии («Waldmann UV7001K», Германия), которая оснащена люминисцентными лампами в средне- и длинноволновом диапазоне. Благодаря конструкции кабины обеспечивается равномерное распределение УФ-лучей по всей поверхности тела (УФА, УФБ, УФБ 311 нм, УФА+УФБ). Для контроля интенсивности УФ-излучения в кабину вмонтированы датчики.

Перед лечением пациентов обследовали для исключения противопоказаний к проведению терапии.

Противопоказаниями для ПУВА-терапии являются возраст до 16 лет, множественные врожденные и диспластические невусы, злокачественные новообразования кожи/внутренних органов в настоящее время или в анамнезе, отсутствие хрусталика или катаракта, наличие заболеваний, связанных с повышенной фотосенсибилизацией, период лактации и беременность, заболевания щитовидной железы, заболевания печени, почек и сердечно-сосудистой системы с функциональной недостаточностью, декомпенсированный сахарный диабет.

Одновременно с ПУВА-терапией больные первой группы получали ИФН-α по назначению гематолога ФГБУ «НМИЦ гематологии». Инъекции проводились подкожно в передненаружную поверхность бедер или боковую часть брюшной стенки 3 раза в неделю, начиная с 1 млн МЕ с постепенным наращиванием разовой дозы до 3-6 млн МЕ в зависимости от стадии и выраженности кожных проявлений. В ходе терапии контроль клинического и биохимического анализов крови осуществлялся 1 раз в 3 недели, при возникновении побочных эффектов со стороны лабораторных показателей – чаще.

Противопоказаниями к назначению ИФН- α являются заболевания сердечно-сосудистой системы и щитовидной железы в стадии декомпенсации, тяжелая почечная и/или печеночная недостаточность, хронический гепатит с некомпенсированным циррозом печени, злокачественные новообразования и аутоиммунные заболевания в анамнезе и в настоящее время, эпилепсия и другие нарушения функции ЦНС, беременность и период грудного вскармливания.

Степень выраженности побочных эффектов от проводимого лечения ИФН- α оценивалась в соответствии с критериями Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ): «очень частые» (I степень) – 1/10, «частые» (II степень) – более 1/100, но менее 1/10, «нечастые» (III степень) – более 1/1000, но менее 1/100, «редкие» (IV степень) – более 1/10000.

Наружная терапия больных ГМ включала топические глюкокортикостероиды II-V класса и эмолиенты.

Оценку эффективности проводили согласно схеме определения общего ответа на лечение ГМ клинических рекомендаций Российского общества дерматовенерологов (2016) для диагностики лимфом кожи [24] (Таблица 9).

Полная ремиссия (ПР) или клиническая ремиссия подразумевала полное (100%) исчезновение кожных проявлений, а частичная ремиссия (ЧР) или значительное улучшение – снижение баллов по шкале mSWAT не менее 50% по сравнению с исходным обследованием. Снижение показателя по шкале mSWAT менее 50% или увеличение менее 25% от исходного соответствовало стабилизации заболевания (СБ), т.е. отсутствию прогрессирования (ПБ) или эффекта от проводимой терапии. Как ПР, так и ЧР должны были сохраняться, по меньшей мере, в течение 4 недель. Ремиссия считалась стойкой при отсутствии обострений ГМ в течение 6 месяцев после завершения терапии.

Оценивались отдаленные результаты лечения. Продолжительность наблюдения за пациентами после проведенного курса терапии составила 12

месяцев. Сделаны цифровые фотографии до лечения и через 1 месяц после завершающей процедуры.

Таблица 9 - Схема определения общего ответа на лечение [24]

	Определение	Кожа	Лимфатические узлы, кровь, внутренние органы
ПР	Полное исчезновение всех клинических симптомов болезни	ПР	Все категории в ПР/интактны
ЧР	Регресс измеряемых показателей	ПР ЧР	Все категории не в ПР/интактны и нет ПБ. Для всех категорий нет ПБ, если какая-либо категория вовлечена исходно, по крайней мере одна из них должна быть в ПР или ЧР
СБ	Не достигнута ПР, ЧР или ПБ	ЧР СБ	Ни в одной категории нет ПБ, если какая-либо категория вовлечена исходно, в них не достигнута ПР или ЧР. ПР, ЧР, СБ в любой категории, ни в одной нет ПБ
ПБ	Прогрессирование заболевания	ПБ	ПБ во всех категориях

Примечания: ПР — полная ремиссия; ЧР — частичная ремиссия; СБ — стабилизация болезни; ПБ — прогрессирование болезни.

2.5. Методы статистической обработки данных

Сформированные по разным принципам группы данных сравнивались с использованием параметрического критерия Стьюдента (Т-критерия) для признаков, имеющих нормальное распределение, и статистического непараметрического критерия - точного метода Фишера, не зависящего от характера распределения показателя. Для каждого признака (из числа включенных в анализ) проводилось попарное сравнение заданных групп пациентов (реализаций) для выявления достоверных различий между ними.

После сравнения групп по каждому признаку в отдельности оценивалась информативность полного признакового пространства для различения всех сравниваемых групп. Для получения такой оценки проводился скользящий экзамен правильности автоматического отнесения каждого индивидуума к одной из сравниваемых групп с помощью Байесовской последовательной диагностической процедуры и вычисленных диагностических коэффициентов [9]. Оценка проводилась на общей выборке без выделения контрольной группы, но с использованием процедуры скользящего экзамена, что позволяет получить оценку информативности, приближающуюся к таковой, полученной на контрольной выборке. Высокие результаты экзамена (высокий процент отнесения пациентов к своей группе) позволяют сделать вывод о высокой информативности признакового пространства для различения заданных групп.

Для проведения статистического анализа данных, включая проверку нормальности распределения количественных признаков, получение описательной статистики и проведение сравнения сформированных групп больных использованием критериев Стьюдента (Т-критерия) и Манна-Уитни (для признаков, имеющих отличное от нормального распределение), а также для формирования графиков использованы пакеты программ EXCEL 2003 и STATISTICA 6.0.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Результаты клинико-анамнестического исследования

Под нашим наблюдением находилось 50 больных, из которых было 27 больным грибовидным микозом и 23 больных бляшечным парапсориазом в возрасте от 29 до 82 лет, из них было 14 (52%) мужчин и 13 (48%) женщин. Пациенты с классической формой ГМ были подразделены на три подгруппы согласно клиническим стадиям заболевания: пятнистая - 11 (41%), бляшечная - 8 (30%), опухолевая - 5 (18%). Также в исследование были включены пациенты с эритродермической формой ГМ – 2 (7%) и фолликулотропным подтипом ГМ – 1 (4%). По стадиям заболевания больных распределили следующим образом: IA – 3 (11%), IB - 9 (33%), ПА - 6 (22%), ПВ - 5 (19%), ША - 3 (11%), IVA₂ - 1 (4%).

Все больные были тщательно обследованы для исключения системности процесса. Вовлечение лимфатических узлов, преимущественно шейных, надключичных, подмышечных и паховых, было отмечено в 26% случаев, в связи с чем было рекомендовано дальнейшее дообследование у гематолога с последующей биопсией. Внутренние органы по данным УЗИ и КТ в патологический процесс вовлечены не были. В результатах клинического и биохимического анализов крови у всех пациентов патологии выявлено не было.

Продолжительность ГМ на период обращения составила в среднем 6,32 лет (от 1 года до 13 лет). Дебют заболевания приходился на возраст от 30 до 65 лет с первичной локализацией: верхние (44%) и нижнее (37%) конечности, грудь (33%), спина (33%), живот (15%), ягодицы (8%), лицо (4%), волосистая часть головы (4%), паховая область (4%).

Среди провоцирующих факторов больные ГМ отмечали: стресс - 3 (11%), прием лекарственных препаратов (алендроновая кислота) - 1 (4%), укус насекомого - 1 (4%), оперативное вмешательство - 1 (4%),

лакокрасочные материалы - 1 (4%). В остальных случаях (78%) определить провоцирующий фактор не удалось.

При обследовании больных ГМ были отмечены сопутствующие заболевания в стадии ремиссии: хронический гастрит (44%), хронический тонзиллит (37%), хронический холецистит (19%), хронический панкреатит (19%), хронический простатит (7%). Аллергологический анамнез не отягощен.

На первичном приеме дерматолога диагноз ГМ был заподозрен в 55% случаев. На рисунке 9 представлена структура первичных диагнозов.



Рисунок 9 - Структура первичных диагнозов при грибковидном микозе.

У всех больных ГМ высыпания имели распространенный характер, без тенденции к периферическому росту и слиянию, локализовались симметрично, преимущественно на коже груди (81%), живота (81%), спины (78%), верхних (74%) и нижних конечностях (78%), ягодиц (52%) и паховой области (48%).

Для пятнистой стадии (n=11) наиболее характерным признаком явились шелушащиеся, слабо инфильтрированные асимметричные пятна с четкими границами, округлых очертаний, размерами 5-10 см, расположенные на участках кожи, не подвергающихся солнечному облучению, у 8 (73%) пациентов. В патологический процесс вовлекались три и более анатомических областей у 7 (64%) пациентов. В 27% случаев наблюдалась пойкилодермия (атрофия кожи, телеангиэктазии, пятнистая пигментация). Субъективно отмечался незначительный зуд в 73% случаев (Рисунок 10).



Рисунок 10 - Больной Н., 46 лет. Диагноз: грибовидный микоз, пятнистая стадия, IV.

Бляшечная стадия ГМ (n=8) проявлялась уплотненными шелушащимися красновато-бурыми бляшками у всех (100%) пациентов, а также пятнами - у 5 (63%). Помимо этого, были выявлены единичные папулы в 38% случаев. Феномен одновременного прогрессирования и регрессирования отдельных высыпаний выявлялся у 5 (45%) больных

(Рисунок 11). Жалобы на выраженный зуд предъявляли 3 (38%) пациентов, на умеренный – 2 (25%) пациентов. При пальпации шейные, надключичные и паховые лимфатические узлы увеличены, не спаяны с кожей, подвижные, безболезненные в 50% случаев.



Рисунок 11 - Больная Н., 53 года. Диагноз: грибовидный микоз, бляшечная стадия, ПА.

У всех больных опухолевой стадией ГМ (n=5) наблюдались опухолевые узлы различной локализации (Рисунок 12). У одного пациента IV_A₂ стадии отмечался умеренный зуд и увеличение подбородочных, надключичных и подмышечных лимфоузлов, не спаянных с кожей, безболезненных.



Рисунок 12 - Больной С., 78 лет. Диагноз: грибовидный микоз, опухолевая стадия, ПВ.



Рисунок 14 - Больной С., 58 лет. Диагноз: грибовидный микоз, эритродермическая форма, ША. Гиперкератоз ладоней

При осмотре больных эритродермической формой (n=2) отмечалось поражение всего или почти всего кожного покрова (парциальная эритродермия). Высыпания распространенные, монотипные, представлены бляшками с тенденцией к слиянию, локализованными на коже туловища, верхних и нижних конечностей, с выраженной инфильтрацией ярко-красного цвета, горячими на ощупь (Рисунок 13). Также отмечался гиперкератоз ладоней и подошв (Рисунок 14), выраженная отечность лица. Ногтевые пластины кистей и стоп не изменены. Слизистые оболочки не поражены. При пальпации подбородочные, надключичные, подмышечные и паховые лимфоузлы увеличены, не спаяны с кожей, подвижные, безболезненные.



Рисунок 13 - Больной С., 58 лет. Диагноз: грибовидный микоз, эритродермическая форма, ША. Парциальная эритродермия

У больного фолликулотропным подтипом ГМ основным клиническим проявлением были сливающиеся бляшки и фолликулярные папулы. Поражение кожи носило распространенный характер с преимущественной локализацией очагов в области лица, кожи волосистой части головы, передней и боковых частей туловища. Волосы в очагах поражения отсутствовали, отмечались фолликулярные папулы (эффект “терки”) (Рисунок 15).



Рисунок 15 - Больной Л., 48 лет. Диагноз: грибовидный микоз, фолликулотропная форма, IV.

У больной пойкилодермической формой ГМ обнаруживались бледно-розовые, незначительно шелушащиеся пятна с нечеткими контурами, сопровождающиеся зудом. Пятна локализовались как на груди, передней и боковых поверхностях туловища, спины. Кожа дряблая и легко собиралась в складку. При этом формировались мелкие телеангиэктазии точечного и сетчатого характера, и усиливался бурый оттенок очагов. Также отмечалась повышенная травматизация кожи в очагах поражения (Рисунок 16).

Данная пациентка из исследования была исключена в связи с несоблюдением назначенной схемы терапии.



Рисунок 16 - Больная А., 58 лет. Диагноз: грибовидный микоз, пойкилодермическая форма, IV.

Частота и характер основных клинических проявлений у больных ГМ и БП представлены в таблице 10.

Таблица 10 - Частота и характер основных клинических проявлений у больных грибовидным микозом и бляшечным параспориозом

Характеристика кожной сыпи	Количество наблюдений, n=27	Количество наблюдений, n=23	Достоверность различий (p-значение)
	Грибовидный микоз, n (%)	Бляшечный параспориоз, n (%)	
пятна*	22 (76)	23 (100)	0,038
бляшки	15 (56)	11 (48)	0,390
узлы*	8 (30)	0	0,004
эритродермия	3 (11)	0	0,149
выпадение волос в очагах поражения	4 (15)	0	0,076
алопеция	1 (4)	0	0,54
папулы*	5 (19)	0	0,038
зуд	21 (78)	12 (52)	0,540
шелушение*	19 (70)	23 (100)	0,004
телеангиэктазии	4 (15)	2 (9)	0,414
гипер- и гипопигментация	8 (30)	2 (9)	0,066
атрофия	3 (11)	2 (9)	0,578
локализация			
волосистая часть головы	8 (30)	2 (9)	0,52
лицо	11 (41)	2 (9)	0,23
туловище			
грудь*	22 (81)	12 (52)	0,05
спина	21 (78)	11 (48)	0,12
живот*	22 (81)	9 (39)	0,02
паховая область	13 (48)	6 (26)	0,2
ягодицы	14 (52)	10 (44)	0,82
конечности			
верхние	20 (74)	10 (44)	0,08
нижние*	21 (78)	7 (30)	0,03

Группа больных БП состояла из 23 пациентов. Средний возраст больных БП составил $52 \pm 2,5$ лет (Таблица 7). В группу БП были включены пациенты со следующими диагнозами: МБП - 9 (39%) пациентов, КБП - 14 (61%).

Продолжительность БП на период обращения составляла от 6 месяцев до 5 лет (в среднем – 23,15 месяцев). Дебют заболевания приходился на возраст от 30 до 55 лет с первичной локализацией: ягодицы (74%), грудь (57%), живот (39%), верхние (26%) и нижние (22%) конечности, спина (17%).

У 12 (52%) больных БП определить провоцирующий фактор не удалось. У 5 (22%) была отмечена связь со стрессом, у 6 (26%) – с перенесенными ОРВИ, ангиной, простым герпесом за 1-3 недели до манифестации БП.

Наиболее частыми сопутствующими заболеваниями были следующие: хронический гастрит (30%), артериальная гипертензия (22%), хронический холецистит (15%), сахарный диабет II типа (9%), ревматоидный артрит (4%).

У всех больных высыпания носили распространенный и симметричный характер, без тенденции к слиянию и периферическому росту.

У больных МБП отмечалось поражение кожи в виде слегка шелушащихся желтовато-розовых пятен пальцеобразных или удлинено-овальных очертаний с заостренными концами, диаметром 3-5 см (Рисунок 17). В 44% случаях высыпания сопровождалось незначительным зудом. Для нижних конечностей характерной локализацией являлась внутренняя поверхность бедер, для верхних – внутренняя поверхность плеч и предплечий, для туловища – вдоль реберной дуги по линиям Лангера.

Начальными клиническими проявлениями КБП были шелушащиеся насыщенно-розовые пятна и слегка инфильтрированные бляшки овальных очертаний, диаметром 6-10 см, с четкими границами (Рисунок 18). Также у 10 (71%) больных наблюдался феномен «скрытого шелушения». Субъективно беспокоил незначительный зуд в 57% случаев. Высыпания

локализовались преимущественно в области ягодиц, живота и задней поверхности бедер и носили асимметричный характер.

У 52% больных БП было отмечено явление псевдоатрофии (поверхность пятен в виде «папиросной бумаги»). Явление пойкилодермии было обнаружено у 9% пациентов.

В таблице 10 приведены частота и характер основных клинических проявлений БП и ГМ, по данным которой наиболее частой локализацией высыпаний у больных БП являлись: живот (83%), грудь (52%), спина (48%), верхние конечности (44%) и нижние (30%) конечности.

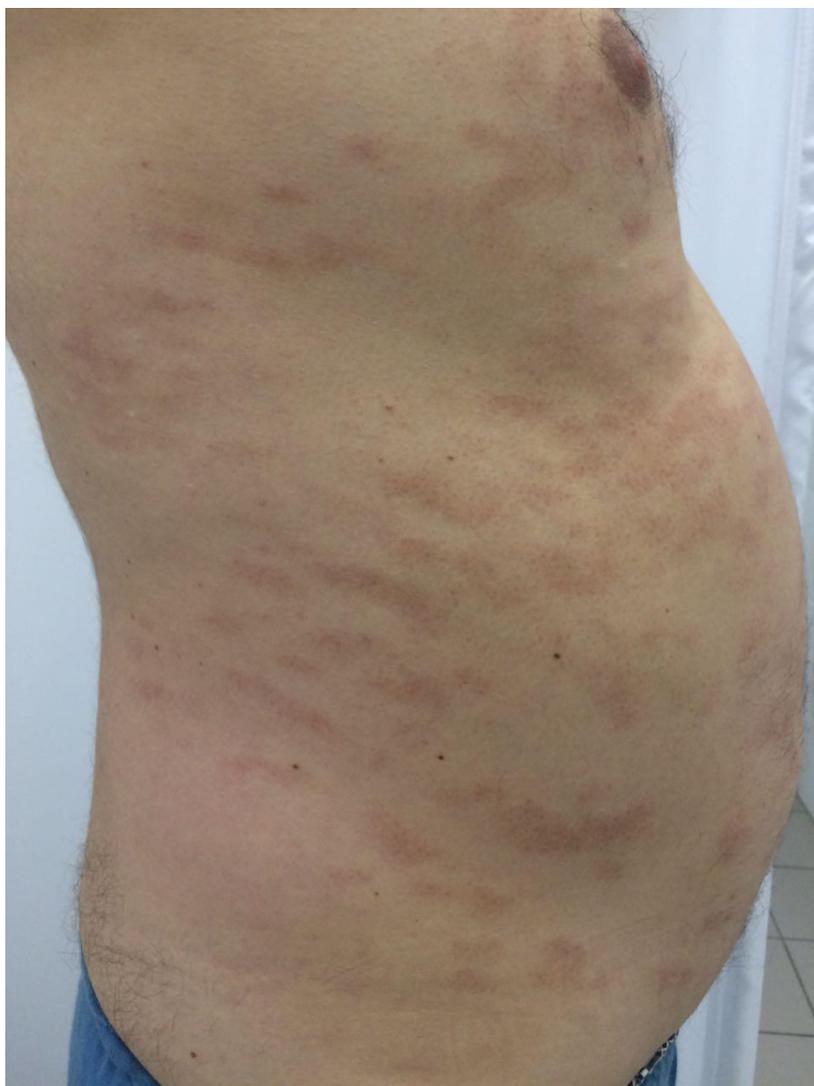


Рисунок 17 - Больной П., 45 лет. Диагноз: мелкобляшечный параспориоз.



Рисунок 18 - Больной С., 34 года. Диагноз: крупнобляшечный парапсориаз.

Таким образом, клинико-anamnestическое исследование позволяет заподозрить ГМ уже на ранних стадиях заболевания. Анализ результатов полученных данных дает возможность выделить некоторые характерные признаки для больных ГМ:

- 1) высыпания насыщенного розового или красного цвета, с четкими границами, размером больше 5 см,
- 2) локализация - преимущественно на груди, животе и спине, сопровождающиеся выраженным зудом,
- 3) асимметричный характер высыпаний,
- 4) феномен одновременного прогрессирования и регрессирования отдельных высыпаний,
- 4) длительность заболевания в среднем составила 6,32 лет.

3.2. Результаты гистологического исследования

У всех обследованных больных ГМ имелись гистологические признаки поражения эпидермиса, дермо-эпидермального соединения и дермы.

В гистологических препаратах больных пятнистой стадии ГМ (n=11) у 4 (36%) пациентов был обнаружен выраженный акантоз, у 3 (27%) – паракератоз, у 4 (36%) - гиперкератоз. В эпидермисе 6 (55%) больных наблюдались лимфоциты, по размеру крупнее дермальных, а также лимфоциты, окруженные светлым перинуклеарным ободком (галолимфоциты) и атипичные лимфоциты с церебриформными ядрами – у 3 (27%) больных, «диспропорциональный эпидермотропизм» - у 8 (73%) пациентов. В базальном слое эпидермиса в 4 (36%) случаях были выявлены лимфоциты, расположенные «цепочкой».

В верхних отделах дермы у 9 (82%) больных отмечался скудный поверхностный перигландулярный и периваскулярный лимфоцитарный инфильтрат из небольших клеток с округло-овальными/ядрами с минимальными признаками эпидермотропизма, преимущественно базального слоя кератиноцитов (базальный эпидермотропизм); с примесью гистиоцитов. Микроабсцессов Потрие у всех больных пятнистой стадией ГМ обнаружено не было. Фиброз в дерме выявлялся у 3 (27%) пациентов (Рисунок 19).

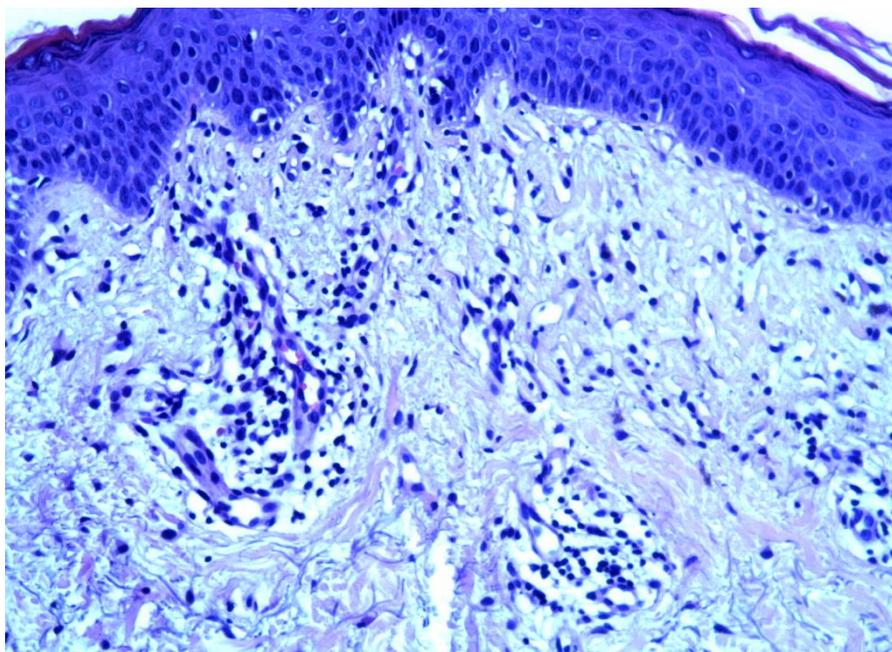


Рисунок 19 - Гистологическая картина больной Б., 28 лет. Ds: грибовидный микоз, пятнистая стадия, IV. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. × 200.

При гистологическом исследовании больных ГМ бляшечная стадия (n=8) характеризовалась наличием в эпидермисе паракератоза, гипогранулеза и акантоза с выраженными признаками эпидермотропизма в 75% случаев. При этом у 5 (63%) больных выявлялось скопление в эпидермисе атипичных лимфоцитов с формированием микроабсцессов Потрие (Рисунок 20а).

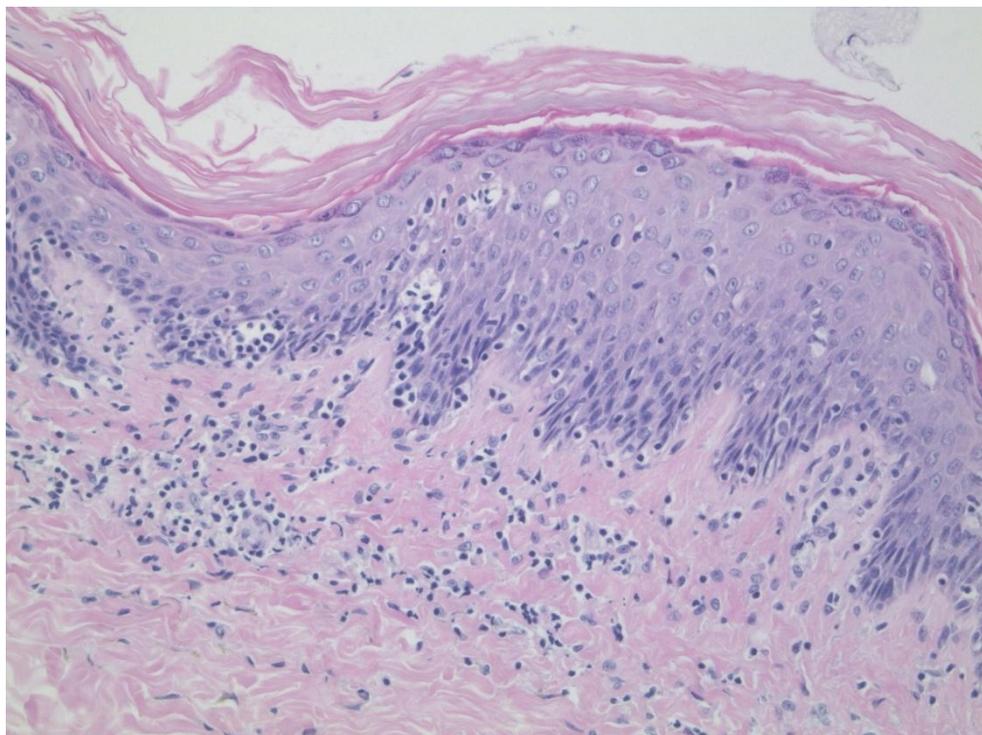


Рисунок 20а - Гистологическая картина больного П., 45 лет. Ds: грибовидный микоз, бляшечная стадия, ПА. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. × 200.*

Также повышенное количество интраэпидермальных лимфоцитов при отсутствии спонгиоза («диспропорциональный эпидермотропизм») отмечалось у 4 (50%) пациентов. В 25% случаев в базальном слое эпидермиса выявлялись округлые гомогенные эозинофильные образования (тельца Сиватта), являющиеся дистрофически измененными кератиноцитами. В некоторых участках базального слоя были выявлены лимфоциты, расположенные «цепочкой». Стоит отметить, что эпидермальные лимфоциты оказались крупнее дермальных у 4 (50%) больных.

В верхней части дермы преобладал обильный поверхностный полосовидный лимфоидный инфильтрат из клеток мелких и средних размеров с церебриформными ядрами у 7 (87,5%), а также с примесью эозинофильных гранулоцитов, гистиоцитов у 5 (63%) больных. Во всех наблюдениях отмечался фиброз сосочкового слоя дермы (Рисунок 20б).

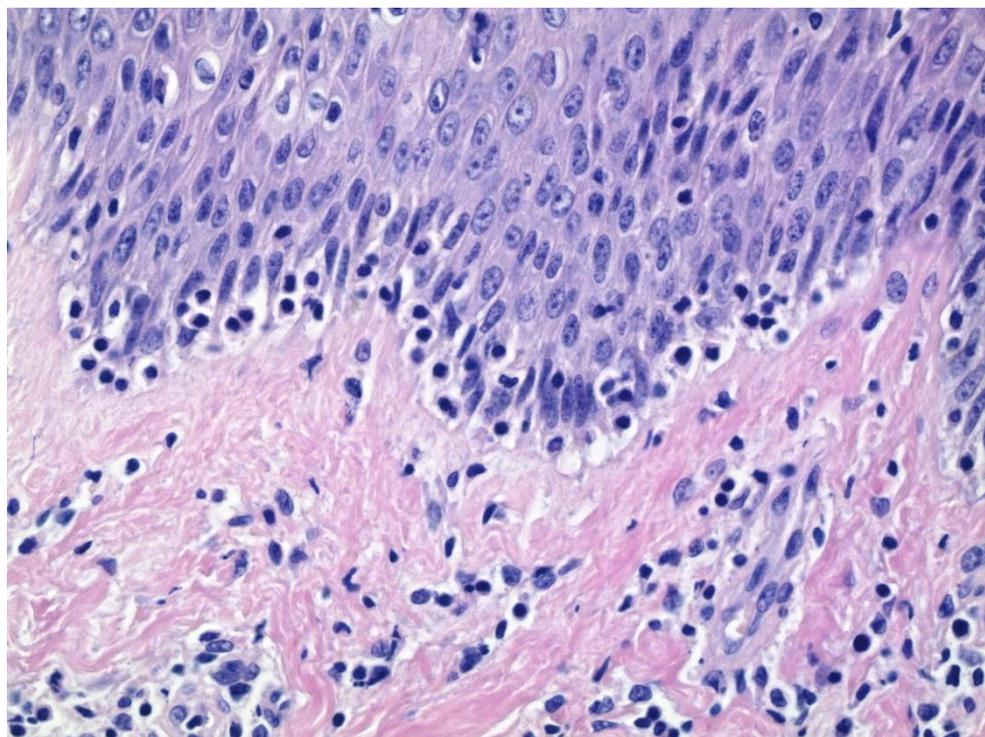


Рисунок 20б - Гистологическая картина больного П., 45 лет. Ds: грибовидный микоз, бляшечная стадия, ПА. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. × 400.*

Примечание. *Фотографии 20а, 20б выполнены в отделении патоморфологии на базе ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ.

У больных опухолевой стадией (n=5) и эритродермической формой ГМ (n=2) в эпидермисе на фоне паракератоза, дискератоза и акантоза отмечались тельца Сиватта и единичные галолимфоциты. Характерным являлся плотный очаговый или диффузный интрадермальный лимфоидный инфильтрат из клеток мелких размеров с церебриформными ядрами с признаками выраженного эпидермотропизма и формированием микроабсцессов Потрие; также с примесью гистиоцитов и эозинофильных гранулоцитов (Рисунок 21).

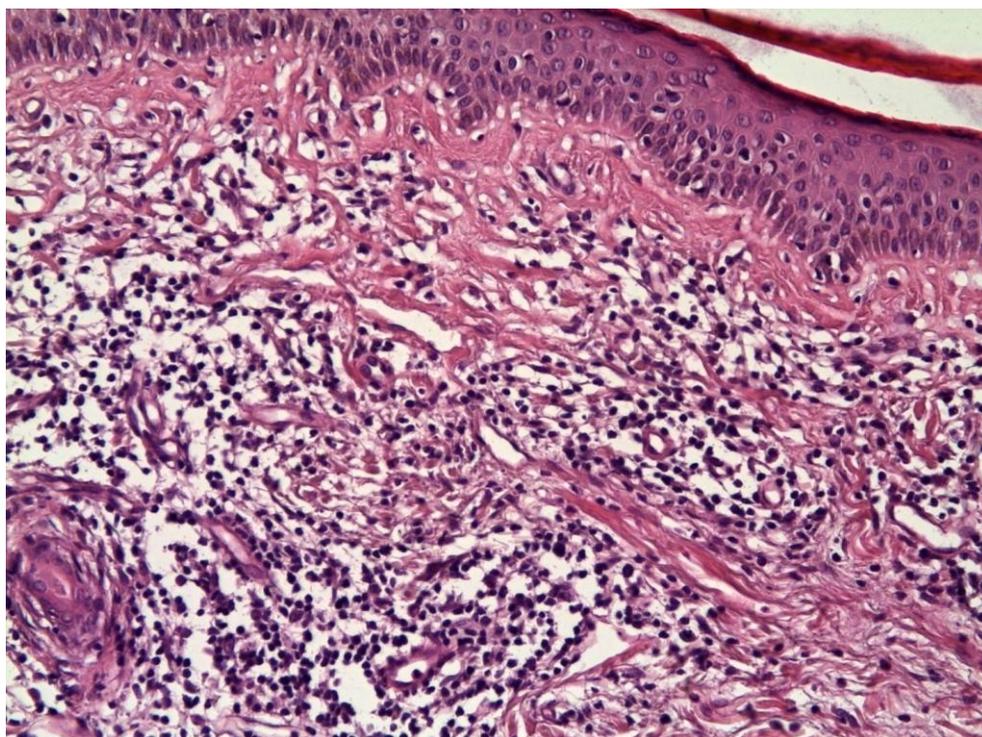


Рисунок 21 - Гистологическая картина больного С., 73 лет. Ds: грибovidный микоз, опухолевая стадия, ПВ. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. \times 200.

При фолликулотропном подтипе ГМ отличительным признаком являлся плотный перифолликулярный инфильтрат из лимфоцитов с церебриформными ядрами, кистозно расширенные волосяные фолликулы. Эпидермотропизм отсутствовал.

При КБП (n=14) в эпидермисе выявлялся паракаротоз у 9 (64%), умеренный акантоз и гипогранулез - у 10 (71%) пациентов. У 4 (29%) пациентов были выявлены галолимфоциты. Скудный лимфоцитарный инфильтрат из мелких клеток с примесью гистиоцитов наблюдался в верхних слоях дермы с минимальными признаками эпидермотропизма. Микроабсцессы Потрие отсутствовали, однако у 5 (36%) больных наблюдались единичные атипичные лимфоциты с церебриформными ядрами, что вызывало трудности в проведении дифференциальной диагностики с ГМ.

Отек сосочковой части дермы встречался у 11 (79%) больных. Отмечалось расширение лимфатических капилляров в 8 (57%) случаев,

кровеносных сосудов верхней трети дермы - у 7 (50%) пациентов; просвет их был расширен, эндотелий сосудов – набухшим (Рисунок 22).

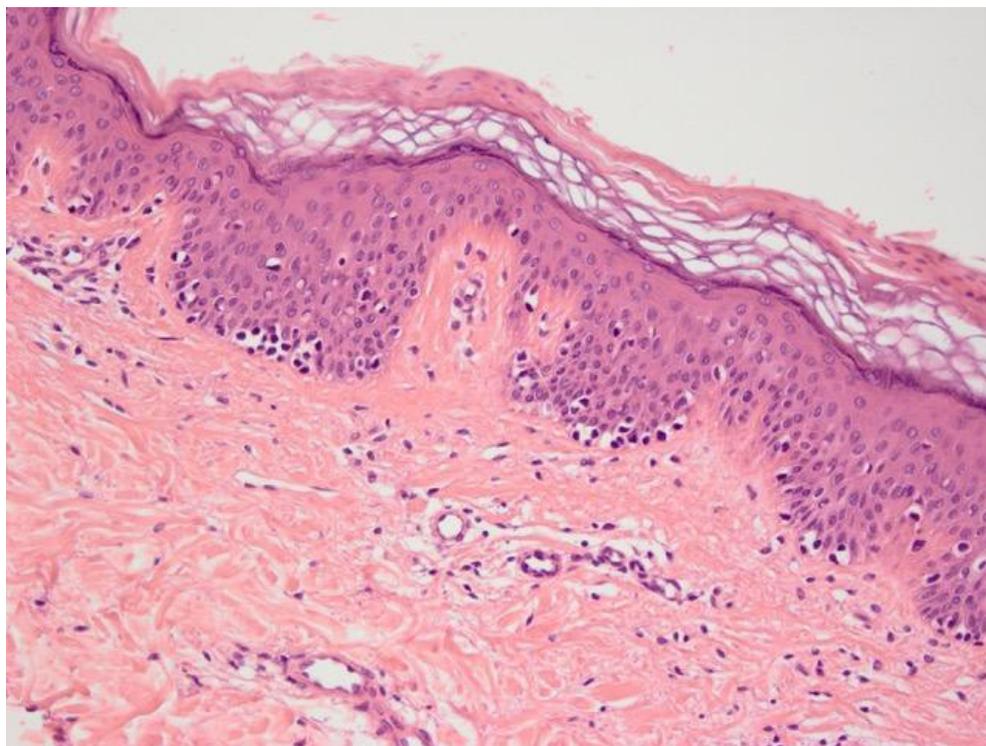


Рисунок 22 - Гистологическая картина больной М., 69 лет. Ds: крупнобляшечный параспориоз. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. × 200.

Изменения в очагах поражения эпидермиса при МБП (n=9) были незначительными и отмечались в виде ортокератоза (78%), вакуолизации клеток шиповатого слоя (67%), паракератоза (22%), акантоза (13%), а также наличия единичных лимфоцитов в межклеточных промежутках (экзоцитоз).

В сосочковом слое дермы отмечался умеренный периваскулярный лимфо-гистиоцитарный инфильтрат с примесью единичных эозинофилов (89%). Эндотелий, как правило, был набухшим, стенки сосудов – утолщены (Рисунок 23).

В подкожной жировой клетчатке и сетчатом слое дермы изменений не наблюдалось.

Частота и характер гистологических изменений кожи у больных ГМ всех стадий и БП приведены в таблице 11.

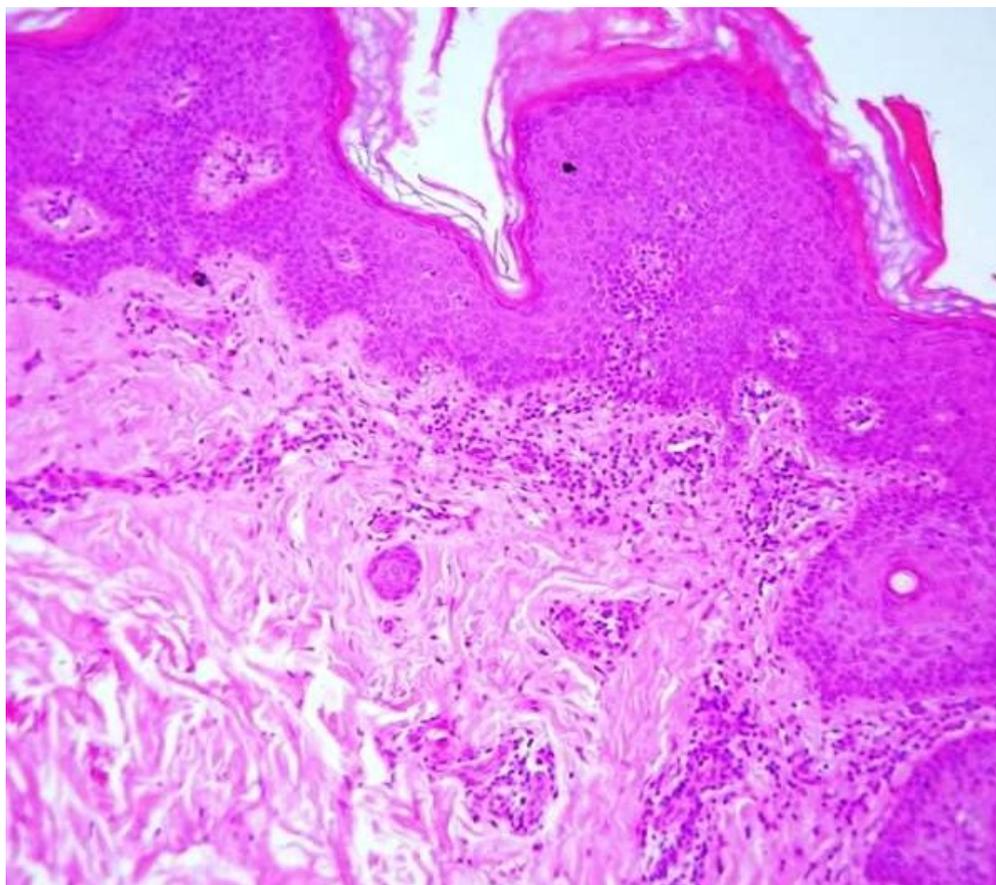


Рисунок 23 - Гистологическая картина больной Д., 54 лет. Ds: мелкобляшечный парапсориаз. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. × 200.

Таким образом, гистологический метод диагностики является золотым стандартом для установления диагноза ГМ на бляшечной и опухолевой стадиях. Выявить патогистологические признаки ГМ на пятнистой стадии – трудная задача для патоморфолога.

Однако, дифференциально-диагностически значимыми гистологическими признаками ГМ ранних стадий в нашем исследовании явились:

- 1) периваскулярный лимфоидный инфильтрат (82%, $p=0,0001$),
- 2) базальный эпидермотропизм (82%, $p=0,03$),
- 3) «диспропорциональный эпидермотропизм» (73%, $p=0,002$).

Стоит отметить, что гистологическая картина была сомнительной у 12 (44%) больных ГМ, из них – у 8 больных пятнистой и у 4 - бляшечной стадиями ГМ, а также подозрительной – у 7 (30%) больных БП (Таблица 12).

Таблица 11 - Частота и характер основных гистологических изменений у больных грибовидным микозом и бляшечным параспориозом

Гистологические изменения	Грибовидный микоз, n=27	Бляшечный параспориоз, n=23	Достоверность различий (p–значение)
	n (%)		
акантоз	8 (30)	13 (57)	0,06
паракератоз	8 (30)	14 (61)	0,1
обильный поверхностный полосовидный лимфоидный инфильтрат*	22 (82)	3 (13)	0,0001
галолимфоциты	11 (41)	4 (17)	0,07
атипичные лимфоциты с церебриформными ядрами (лимфоидная атипия)*	21 (78)	2 (9)	0,006
эпидермотропизм	13 (48)	4 (17)	0,07
эпидермальные лимфоциты крупнее дермальных	15 (56)	3 (13)	0,09
«диспропорциональный эпидермотропизм»*	20 (74)	8 (35)	0,02
тельца Сиватта	15 (56)	6 (26)	0,2
микроабсцессы Потрие	17 (63)	5 (22)	0,1
периваскулярные инфильтраты	14 (52)	7 (30)	0,08

Примечания. * $p < 0,05$ – статистически различимые от бляшечного параспориоза признаки.

3.3. Результаты иммуногистохимического исследования

При иммуногистохимическом исследовании образцов кожи у всех больных ГМ экспрессия маркера зрелых Т-лимфоцитов CD3 была резко выраженной в дерме, умеренно выраженной - в эпидермисе (Рисунок 24), у 18 больных БП – слабовыраженная как в эпидермисе, так и в дерме. Зрелые Т-лимфоциты обнаруживались у пациентов в инфильтрате полосовидно в верхней части дермы.

Анализ тканевого распределения маркера CD3 показал, что позитивные клетки у больных БП располагались в эпидермисе в 43% случаев, в дерме - в 50% случаев, у больных пятнистой стадией ГМ – 30% и 68%, у пациентов бляшечной стадией и фолликулотропной формой ГМ – 25% и 77%, опухолевой стадией и эритродермической формой ГМ – 42% и 65% соответственно.

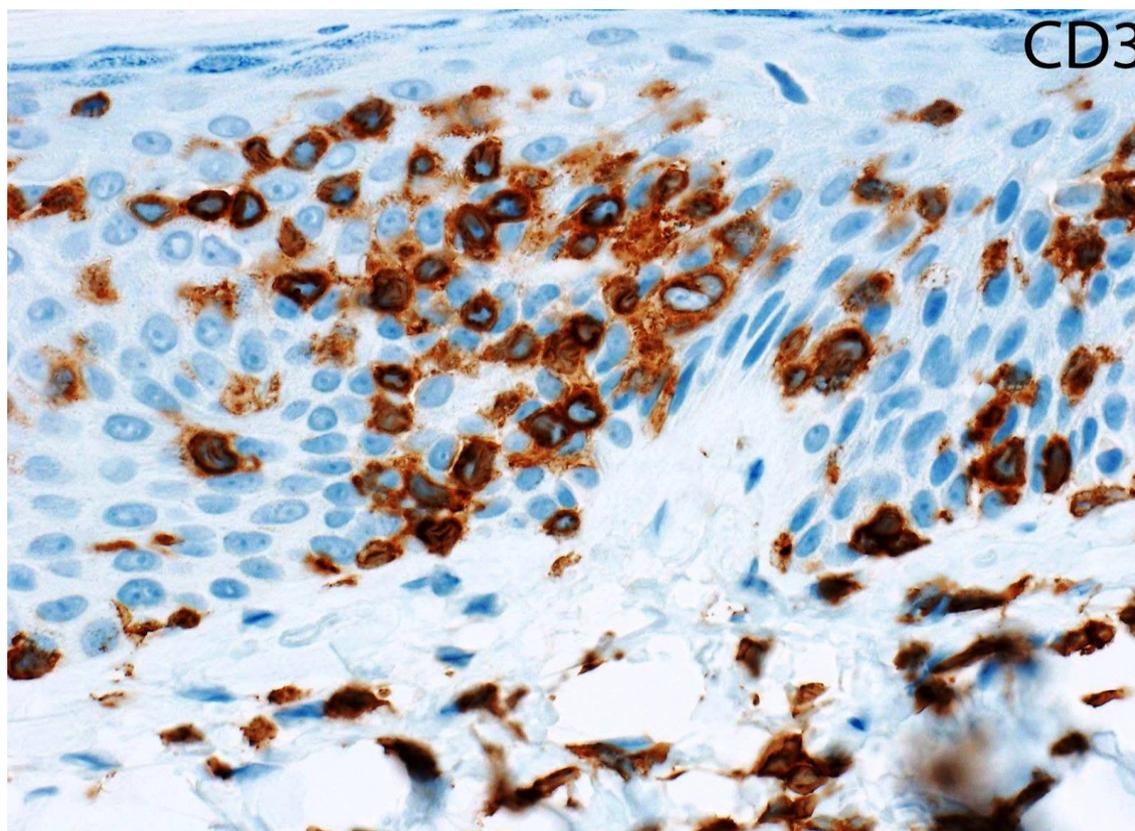


Рисунок 24 - Иммуногистохимическая реакция маркера CD3+ у больного С., 70 лет, Ds: грибковидный микоз, бляшечная стадия, ПА. Ув. x400.

У 17 больных БП во всех слоях кожи определялась умеренно выраженная экспрессия маркера цитотоксических Т-лимфоцитов CD8 (Рисунок 25), в отличие от 10 больных ГМ, у которых отмечалась слабо выраженная экспрессия (Рисунок 26).

У 15 пациентов ГМ выявлялась как в эпидермисе, так и в дерме резко выраженная экспрессия маркера Т-хелперов CD4 (Рисунок 27), у 8 пациентов - умеренно выраженная экспрессия маркера Т-клеток памяти CD45RO.

Также была отмечена положительная реакция на ранний маркер Т-лимфоцитов CD7: умеренно выраженная – в дерме у 10 пациентов, резко выраженная – в эпидермисе у 7 больных ГМ.

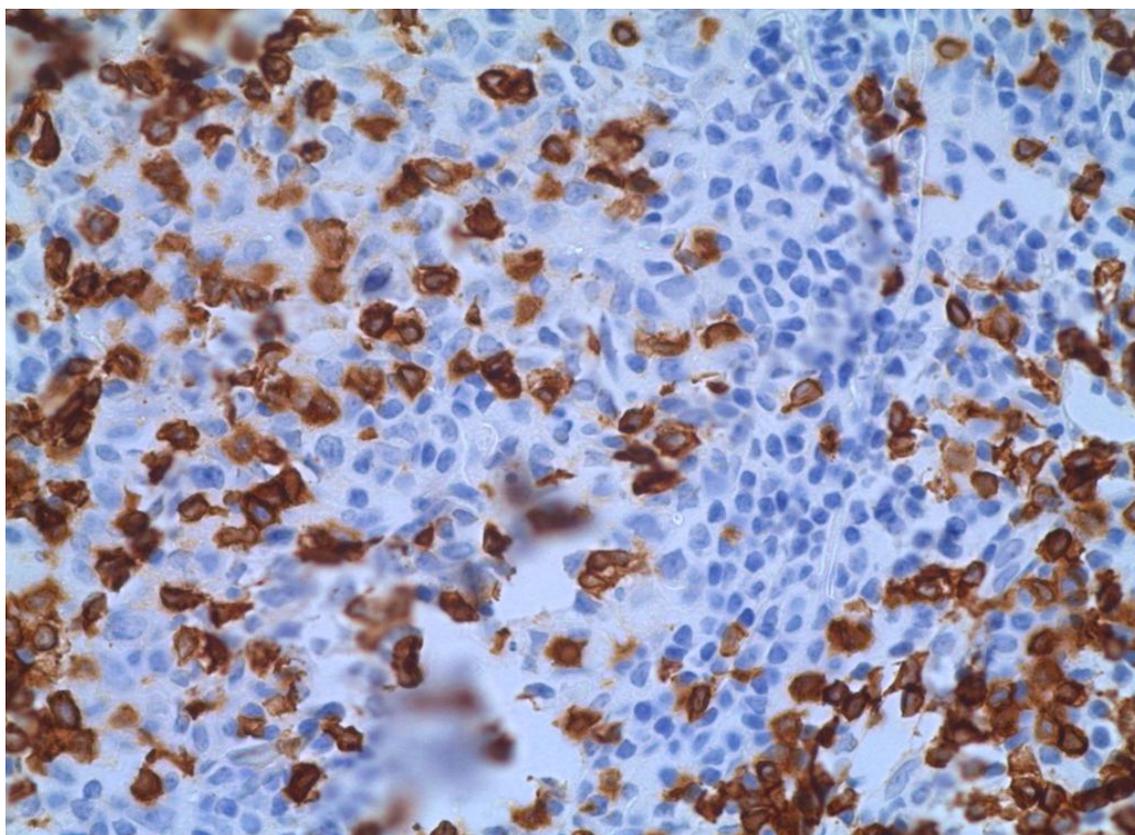


Рисунок 25 - Иммуногистохимическая реакция маркера CD8+ у больного М., 59 лет, Ds: крупнопляшечный парапсориаз. Ув. x200.

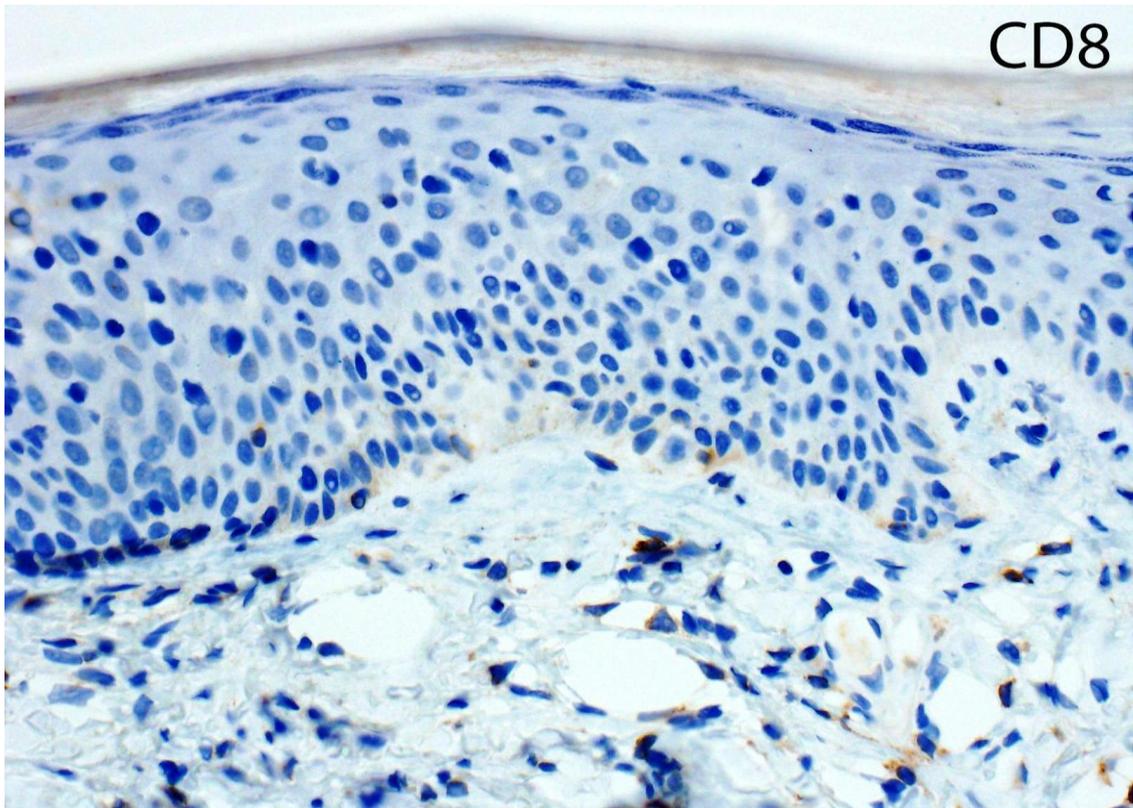


Рисунок 26 - Иммуногистохимическая реакция маркера CD8- у больного С., 35 лет. Ds: грибвидный микоз, бляшечная стадия, ПА. Ув. x200.

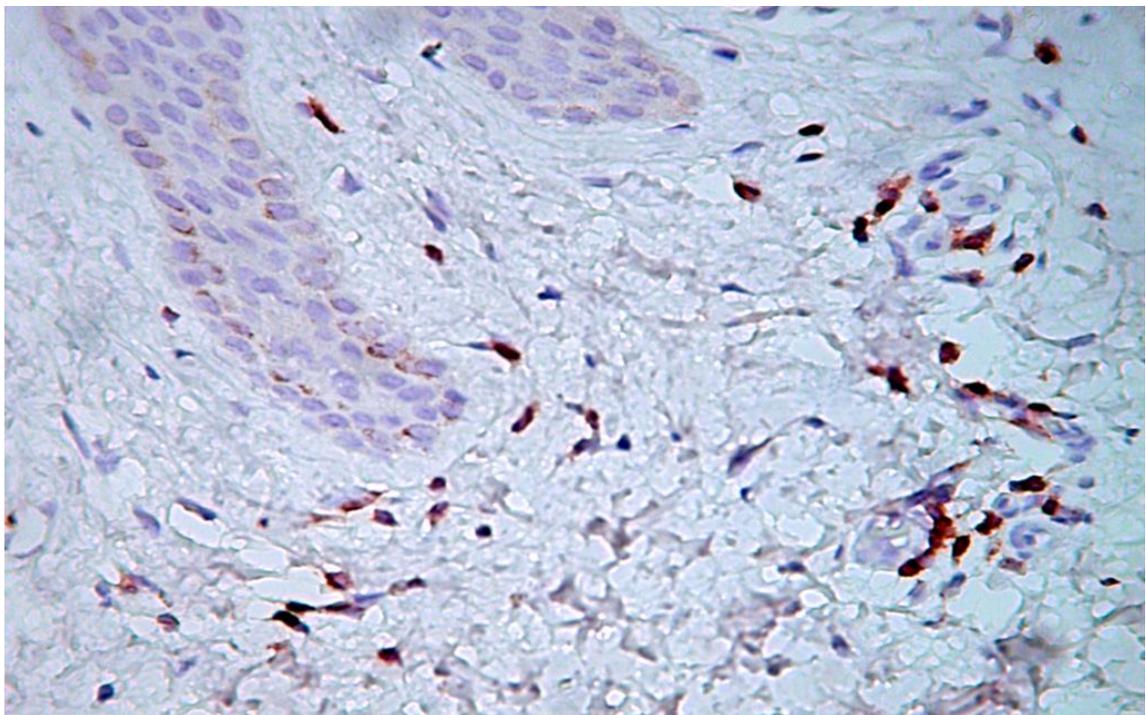


Рисунок 27 - Иммуногистохимическая экспрессия маркера CD4+ у больного П., 45 лет. Ds: грибвидный микоз, бляшечная стадия, ПА. Ув. x400.

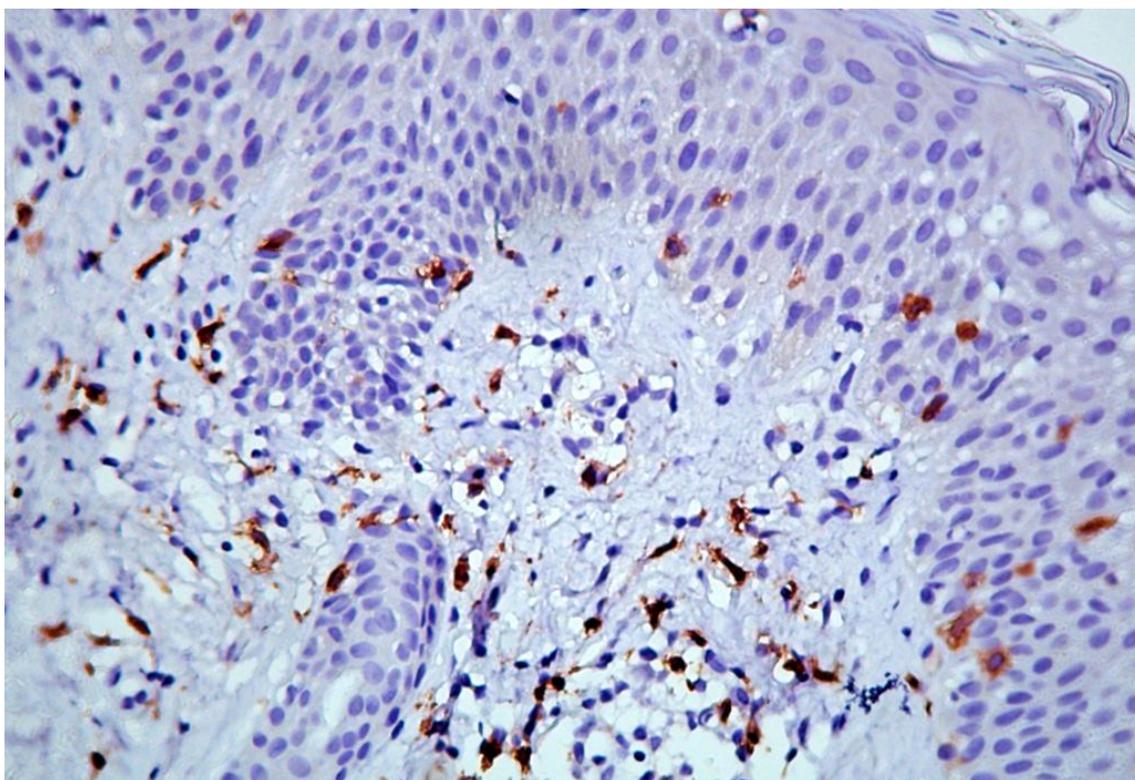


Рисунок 28 - Иммуногистохимическая реакция маркера CD4+ у пациента С., 26 лет. Ds: мелкобляшечный парапсориаз. Ув. x400.

У 19 больных БП экспрессия CD4+ в дерме была резко выраженной, а в эпидермисе Т-хелперы выявлялись у 17 пациентов в небольшом количестве, в основном между клетками базального слоя (Рисунок 28). У 8 обследованных больных БП также обнаруживалась умеренно выраженная экспрессия CD45RO+: у 5 больных она была выявлена только в дерме, а у 3 пациентов – также и в эпидермисе. Слабо выраженная экспрессия маркера Т-клеток памяти CD7 определялась у 8 больных БП во всех слоях кожи в Т-лимфоцитах, располагавшихся преимущественно в поверхностном полосовидном дермальном инфильтрате.

Положительная реакция на CD5+ отмечалась у 5 больных БП и 7 больных ГМ. У пациентов обеих групп экспрессия расценивалась как умеренно выраженная и определялась преимущественно в Т-лимфоцитах эпидермиса; в дерме отмечалась слабо выраженная экспрессия у 4 больных ГМ и 8 больных БП.

Результаты ИГХ у больных эритродермической формой ГМ показали резко выраженную экспрессию CD3+, CD45RO+, CD4+ и слабую реакцию CD5-, CD7-, CD8- лимфоцитов в эпидермисе и дерме, у больного фолликулотропным подтипом ГМ - слабо выраженную экспрессию CD3+, CD45RO+, CD4+ в эпидермисе, слабо выраженную – в дерме, слабую реакцию CD5-, CD8- лимфоцитов в эпидермисе и дерме.

Распределение и выраженность экспрессии ИГХ маркеров у больных ГМ и БП представлены в таблицах 13, 14 и рисунках 29, 30.

У больных ГМ преобладающим оказался иммунофенотип α/β Т-хелперов – клеток памяти: CD3+ CD4+ CD5+/- CD7+/- CD8- CD45RO+ (n=19; 70%). Значительно реже был отмечен Т-цитотоксический (CD3+ CD4- CD5+ CD8+) (n=4; 15%) и γ/δ (CD3+ CD4- CD5+ CD8+) фенотипы (n=2; 7,5%). В поздних стадиях ГМ наблюдалась полная потеря экспрессии пан-Т-клеточных антигенов CD3, CD5 и CD7 (n=2; 7,5%).

Индекс пролиферативной активности (Ki-67) у больных ГМ (47 [15-86] %) был почти в 2 раза выше, чем у больных БП (26 [2-43] %).

Таблица 13 - Распределение и выраженность экспрессии ИГХ маркеров у больных грибовидным микозом и бляшечным параспориозом в эпидермисе.

Локализация ИГХ маркеры	Грибовидный микоз, n=27		Бляшечный параспориоз, n=23		Достоверность различий (p-значение)
	Выраженность экспрессии	%	Выраженность экспрессии	%	
CD3*	27 (++)	100	16 (+)	70	0,02
CD4	15 (+++)	56	17 (+)	74	0,6
CD5	7 (++)	26	5 (++)	22	0,5
CD7	7 (+++)	26	8 (+)	35	0,8
CD8	10 (+)	37	17 (++)	74	0,08
CD45RO	8 (++)	30	8 (++)	35	0,1

Примечание. *p<0,05 – статистически различимый от бляшечного параспориоза признак.

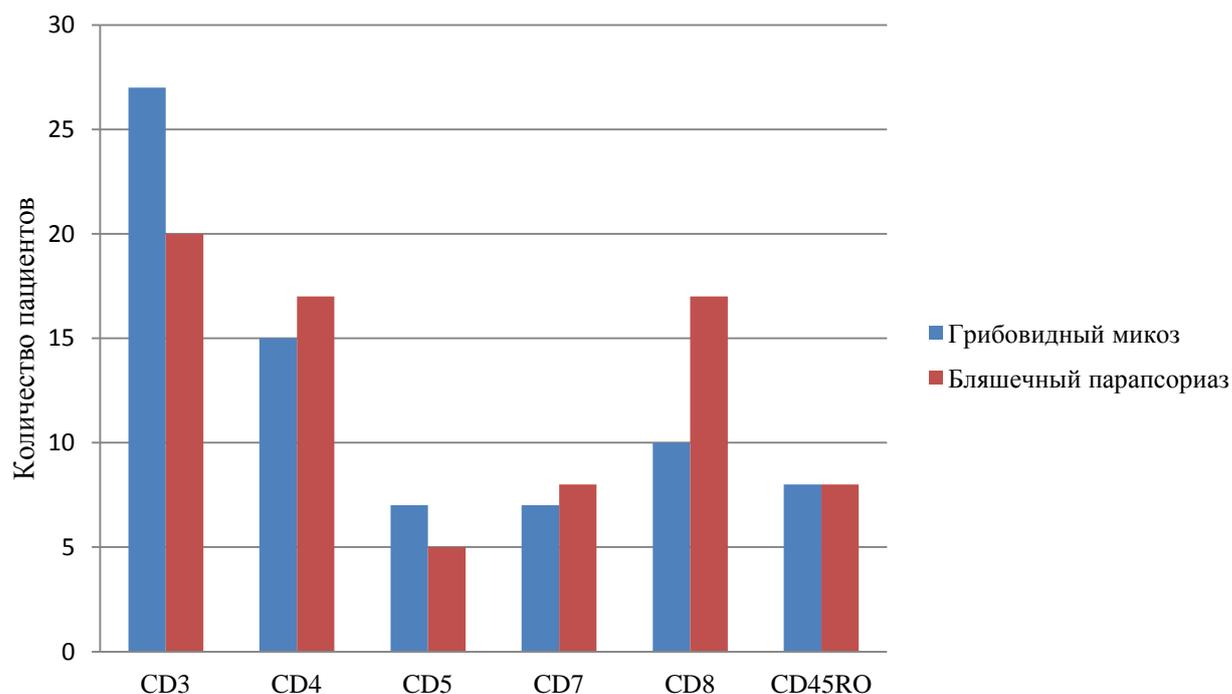


Рисунок 29 - Распределение и выраженность экспрессии ИГХ маркеров у больных грибовидным микозом и бляшечным параспориозом в эпидермисе.

Таблица 14 - Распределение и выраженность экспрессии ИГХ маркеров у больных грибовидным микозом и бляшечным параспориозом в дерме.

Локализация ИГХ маркеры	Грибовидный микоз, n=27		Бляшечный параспориоз, n=23		Достоверность различий (p-значение)
	Выраженность экспрессии	%	Выраженность экспрессии	%	
CD3*	27 (+++)	100	16 (+)	70	0,03
CD4	15 (+++)	56	19 (+++)	83	0,6
CD5	4 (+)	15	8 (+)	35	0,4
CD7	10 (++)	37	8 (+)	35	0,1
CD8	10 (+)	37	17 (++)	74	0,09
CD45RO	8 (++)	30	5 (++)	22	0,2

Примечание. *p<0,05 – статистически различимый от бляшечного параспориоза признак.

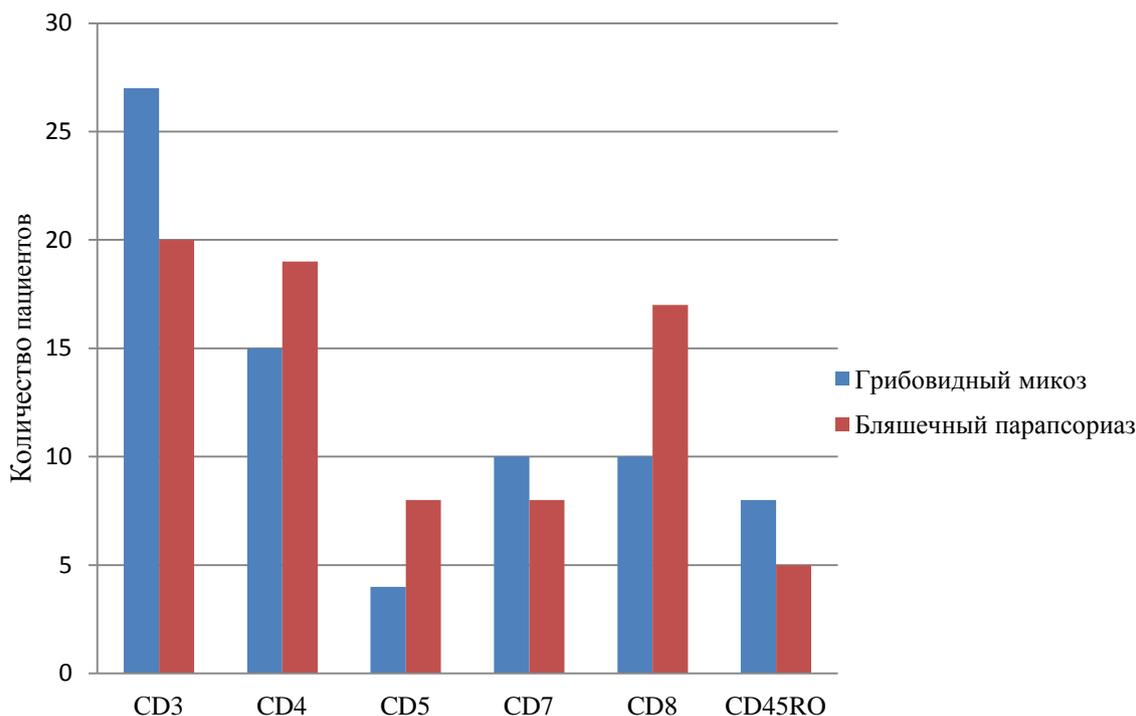


Рисунок 30 - Распределение и выраженность экспрессии ИГХ маркеров у больных грибовидным микозом и бляшечным параспориозом в дерме.

Таким образом, в нашем исследовании выявлена значимость определения экспрессии маркера зрелых Т-лимфоцитов CD3+ в эпидермисе и дерме для дифференциальной диагностики ГМ и БП.

Также следует отметить умеренно выраженную экспрессию CD5+ в эпидермисе, CD7+ и CD45RO+ в дерме у больных ГМ, CD8+ в эпидермисе – у больных БП.

Применяя клинико-anamнестический, гистологический и иммуногистохимический методы исследования, диагноз ГМ удалось установить у 19 из 27 (70%) больных ГМ, из них – у 7 из 11 (64%) больных на ранних стадиях (Таблица 12).

3.4. Результаты молекулярно-генетического исследования

Определение клональности по генам γ -цепи Т-клеточного рецептора (ТКР) методом ПЦР-исследования было проведено в обеих группах после

тщательно проведенного комплексного обследования, включающего клинические данные и анамнез, патоморфологию и иммунофенотипирование.

В группе больных ГМ преобладающей клинической стадией была пятнистая (n=11), в группе больных БП превалировал КБП (n=14), проведение дифференциального диагноза между которыми составляло трудности. В данных клинических случаях установить диагноз на основании гистологического и иммунофенотипического метода диагностики было достаточно сложно ввиду неспецифичности гистологических признаков и отсутствия общепринятых диагностических критериев.

В группе больных ГМ реаранжировка по генам γ -цепи ТКР была выявлена в 17 из 27 клинических случаев ГМ (Рисунок 31) и у 3 из 23 больных БП, при этом у остальных пациентов картина была или сомнительной, или носила поликлональный характер (Таблица 12).

У двух больных опухолевой стадией ГМ и одного пациента с эритродермической формой ГМ была выявлена поликлональность, вместе с тем, опухолевая природа этих наблюдений несомненна. Также поликлональность была выявлена у пяти (45%) больных пятнистой стадией ГМ, вероятно, из-за недостаточности опухолевых клеток для амплификации гена ТКР. Таким образом, частота ложноотрицательных результатов составила 37 % (преимущественно на ранних стадиях).

В группе больных БП моноклональность была выявлена у двух больных КБП и одного больного МБП, что свидетельствует о ложноположительных результатах в 13 % случаев.

На ранних стадиях ГМ на основании результатов ПЦР-исследования диагноз был установлен в 55% случаев.

Таким образом, несмотря на эффективность и точность метода определения клональности по генам γ -цепи ТКР, остается определенный процент пациентов, у которых данный метод не позволяет установить

диагноз. В целях осуществления комплексной диагностики ГМ ПЦР-исследование должно применяться в обязательном порядке.

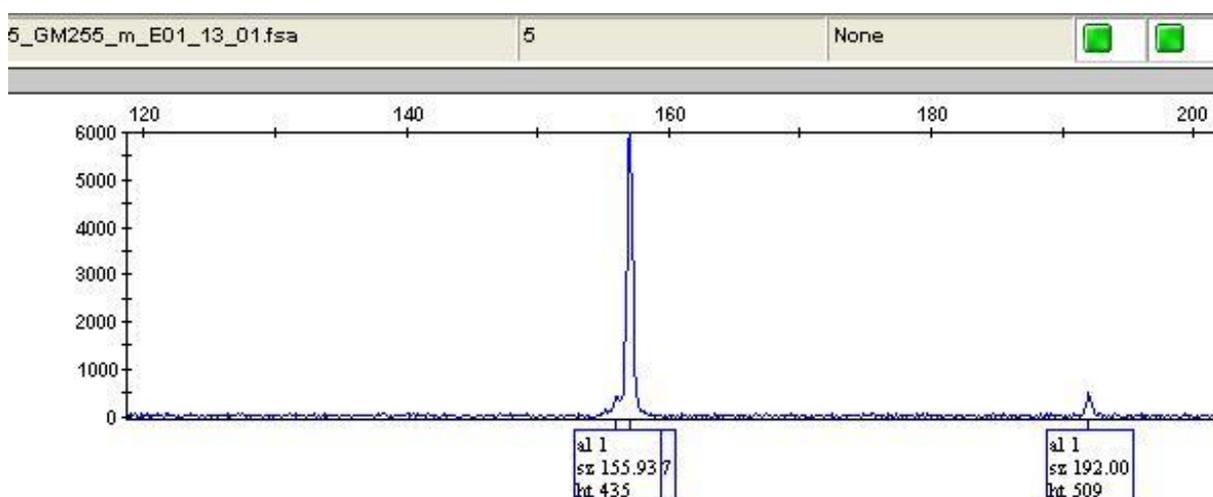


Рисунок 31 - Результат ПЦР: выявлена моноклональность по генам γ -цепи Т-клеточного рецептора у больного С., 35 лет. Ds: грибвидный микоз, бляшечная стадия, ПА.

В дальнейшем была изучена диагностическая эффективность используемых методов исследования биоптатов пораженной кожи в ранней диагностике грибвидного микоза, которая отражена в таблице 12.

Оценка результатов традиционно используемых диагностических методов проводилась на общей выборке с использованием процедуры скользящего экзамена, при проведении которого на списке дифференциально-диагностических критериев (Таблица 16) точность диагностики грибвидного микоза составила 59,1%.

Таким образом, применяя комплексную диагностику грибвидного микоза, на современном этапе установить диагноз на ранних стадиях до сих пор остается трудной задачей, в связи с чем нами был проведен поиск и изучение диагностических генетических маркеров.

Таблица 12 – Эффективность методов исследования для диагностики грибовидного микоза и бляшечного параспориоза

Диагноз	Клинико-анамнестически й метод, n=50	Патоморфологический метод		Иммуногистохимический метод		Определение клональности по генам гамма-цепи ТКР	
		Диагноз подтвержден,	Диагноз не подтвержден	Диагноз подтвержден	Диагноз не подтвержден	Диагноз подтвержден	Диагноз не подтвержден
ГМ, I стадия	11	3	8	7	4	6	5
ГМ, II стадия	8	4	4	6	2	7	1
ГМ, III стадия	5	5	0	4	1	2	3
ГМ, эритро- дермическая форма	2	2	0	2	0	1	1
ГМ, фолли- кулотропны й подтип	1	1	0	0	1	1	0
	27	15 (56%)	12 (44%)	19 (70%)	8 (30%)	17 (63%)	10 (37%)
КБП	14	9	5	10	4	12	2
МБП	9	7	2	7	2	8	1
	23	16 (70%)	7 (30%)	17 (74%)	6 (26%)	20 (87%)	3 (13%)

3.5. Клинические наблюдения

Клиническое наблюдение №1

Больная Б., 28 лет, поступила в клинику кожных и венерических болезней им. В.А.Рахманова с жалобами на высыпания на коже правой молочной железы, сопровождающиеся умеренным зудом. Из анамнеза известно, что болеет около 8 лет, когда впервые отметила зудящие высыпания на коже груди. Самостоятельно не лечилась, однако неоднократно обращалась в ФГБУ «НМИЦ гематологии», где был установлен диагноз: «Грибовидный диагноз, пятнистая стадия, IV». Было назначено лечение: интерферон альфа по 3 млн ежедневно на протяжении 6 месяцев, на фоне которого отмечалась слабо-положительная динамика. В августе, ноябре 2015г. обращалась в нашу клинику для уточнения диагноза и подбора терапии. Было проведено лечение: хлоропирамин, гептор, местно: мазь целестодерм с гарамицином, акридерм гента, курс ПУВА – терапия № 11 с положительным результатом в виде уменьшения яркости окраски и шелушения на поверхности высыпаний. Спустя два года в связи с прогрессированием процесса в результате психоэмоциональных нагрузок обратилась в клинику кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова для повторного курса терапии.

На момент осмотра кожный процесс хронического воспалительного характера. Высыпания локализуются на коже правой молочной железы в виде инфильтративных бляшек, диаметром до 5 см, неправильной формы, насыщенного розового цвета, с чёткими границами. Кожа вне очагов поражения бледно-розовой окраски. Тургор и эластичность соответствуют возрасту. Дермографизм красный, стойкий. Слизистые оболочки не поражены. Ногтевые пластины кистей и стоп не изменены. Субъективно: умеренный зуд (Рисунок 32).

Гистологически: срезы кожи с паракератозом, акантозом, вакуольной дистрофией базальных кератиноцитов. В дерме определяется периваскулярный лимфоидный инфильтрат из клеток мелких и средних размеров с церебриформными ядрами, а также с примесью эозинофильных гранулоцитов. Отмечаются минимальные признаки базального эпидермотропизма. Морфологические изменения не противоречат грибовидному микозу (Рисунок 19).



Рисунок 32. Больная Б., 28 лет. Диагноз: грибовидный микоз, пятнистая стадия, IV: до и после лечения.

При иммуногистохимическом исследовании отмечалась умеренно выраженная экспрессия CD4+, CD8+ (Рисунок 33). Индекс пролиферативной активности Ki-67 составил 23%.

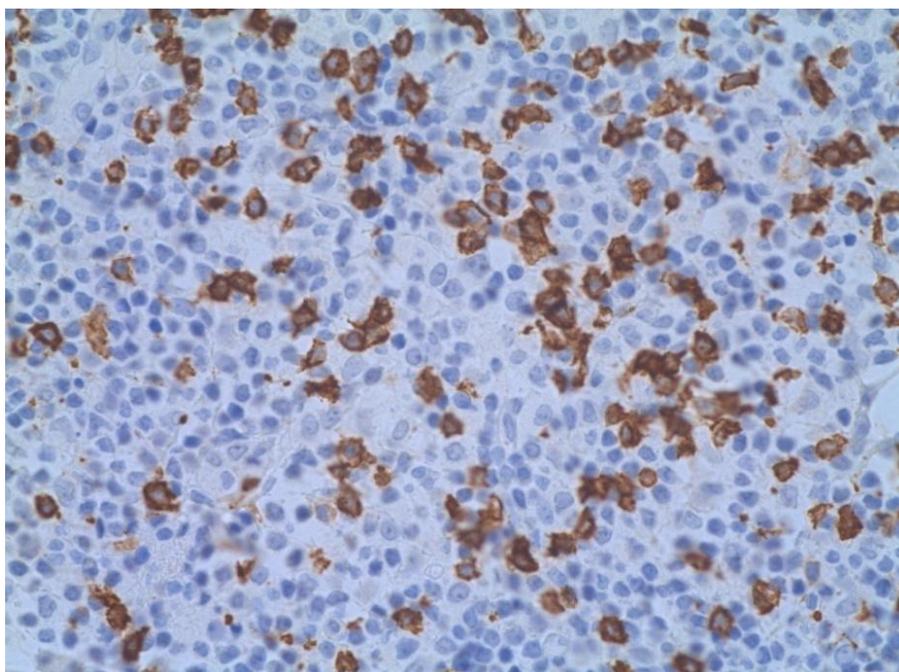


Рисунок 33. Умеренно выраженная экспрессия маркера CD4+. Ув. x400.

ПЦР: выявлена моноклональность по генам γ -цепи Т-клеточного рецептора (Рисунок 34).

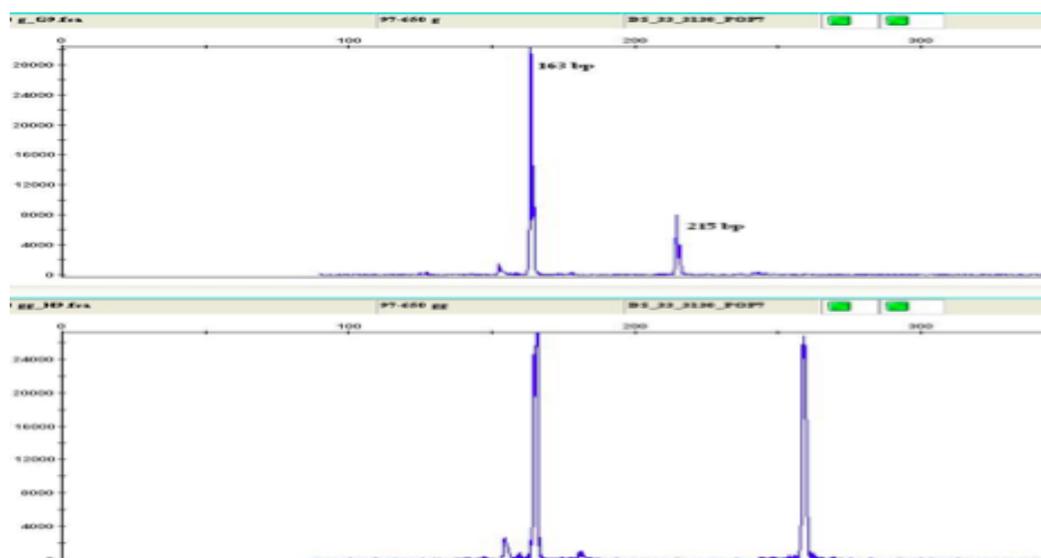


Рисунок 34 - Результат ПЦР: выявлена моноклональность по генам γ -цепи Т-клеточного рецептора.

На основании клинических данных, а также результатов гистологического, иммуногистохимического и молекулярно-генетического методов исследования был диагностирован грибвидный микоз и назначен

курс ПУВА-терапии. Больная получила 16 сессий фотохимиотерапии с положительным результатом в виде побледнения высыпаний, устранения зуда (Рисунок 32). При выписке на месте очагов поражения кожи имелась поствоспалительная гиперпигментация. В телефонном режиме спустя два года было выяснено, что после беременности и родов также наблюдается ремиссия кожного процесса.

Клиническое наблюдение №2

Больная Б., 41 года, поступила в клинику кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова с распространенными высыпаниями по всему кожному покрову с предположительным диагнозом «Грибовидный микоз?». Из анамнеза известно, что заболевание началось 7 лет назад с высыпаний на коже живота. Процесс постепенно прогрессировал и распространился по всему кожному покрову. Обращалась в МОНИКИ, где был установлен диагноз «Т-клеточная лимфома кожи». От назначенной терапии и наблюдения отказалась на протяжении 5 лет. Аллергологический и семейный анамнезы – без особенностей.

При поступлении: поражение кожи распространённое, носит хронический воспалительный характер; представлено четко очерченными округлыми и продолговатыми эритематозно-сквамозными пятнами диаметром 4-5 см, ярко-красного цвета и резко отграниченными от здоровой кожи бляшками диаметром до 8 см, буровато-красного цвета с сиреневым оттенком и незначительным шелушением на поверхности, а также узлами мягко-эластической консистенции, застойно-красного цвета с гладкой поверхностью диаметром до 4 см. Субъективных ощущений нет. Было проведено комплексное обследование, включая:

1) гистологическое исследование (в эпидермисе акантоз, в дерме — обильная лимфомакрофагальная инфильтрация, проникающая в эпидермис с образованием микроабсцессов Потрие);

2) иммуногистохимическое (преобладание CD3+, CD8+, CD20+; Ki-67 - 25%);

3) молекулярно-генетическое (выявлена клональность по генам гамма-цепи ТКР) на базе ФГБУ «НМИЦ гематологии».

На основании результатов данных исследований и клинической картины установлен диагноз: Грибовидный микоз, ПА стадия. Был проведён курс ПУВА терапии по схеме 4-х разового облучения в неделю. Начальная доза 0,5 Дж/см². Получено 20 процедур - без эффекта.

На консилиуме в ходе более тщательного сбора анамнеза выяснилось, что в 2011 году была проведена операция по увеличению груди силиконовыми имплантами Poly Implant Prothese. Была рекомендована операция по удалению имплантов. Спустя 4 недели был отмечен регресс высыпаний на 70% (Рисунок 35).



Рисунок 35 - Больная Б., 41 года. Диагноз: псевдолимфома кожи, обусловленная силиконовыми имплантами. Фотографии до и через месяц после операции по удалению имплантов.

Проанализировав течение дерматоза, анамнестические данные с указанием на связь начала кожного заболевания с операцией по увеличению груди, регресс высыпаний на 70% через 1 мес после отмены провоцирующего фактора (силиконовые импланты), без проведения

специфической терапии, диагноз «Грибовидный микоз» был пересмотрен, несмотря на типичную клиническую картину, подтвержденную данными гистологического, иммуногистохимического и молекулярно-генетического исследований биоптата кожи, и установлен диагноз «Псевдолимфома кожи, обусловленная силиконовыми имплантатами». Данная пациентка была исключена из проводимого исследования.

Таким образом, представленный клинический случай подчеркивает необходимость и важность не только инструментальных, но и клиничко-анамнестических данных, тщательный сбор которых стал основополагающим методом в постановке диагноза.

Данный клинический случай детально описан в «Journal of European Academy of Dermatology and Venerology» (№32(9), 2018).

Клиническое наблюдение №3

Пациент Н., 56 лет, считает себя больным с 2009 года, когда впервые появилось пятно на коже живота, сопровождающееся зудом. Обратился в кожно-венерологический диспансер по месту жительства, где было проведена биопсия кожи; на основании результатов гистологического исследования установлен диагноз «мелкобляшечный парапсориаз», лечение не получал. В 2011 году высыпания распространились на другие участки кожного покрова. Назначена наружная терапия стероидными и кератолитическими мазями с временным положительным эффектом. В 2015 году заболевание заметно прогрессировало в виде появления новых элементов сыпи, сливающихся между собой и образующих крупные бляшки, в связи с чем был обследован гематологом в ФГБУ «НМИЦ гематологии». При гистологическом исследовании выявлены эпидермотропизм атипичных Т-лимфоцитов, микроабсцессы Потрие в эпидермисе и полосовидный инфильтрат из атипичных лимфоцитов с церебриформными ядрами треугольной формы в дерме (Рисунок 36).

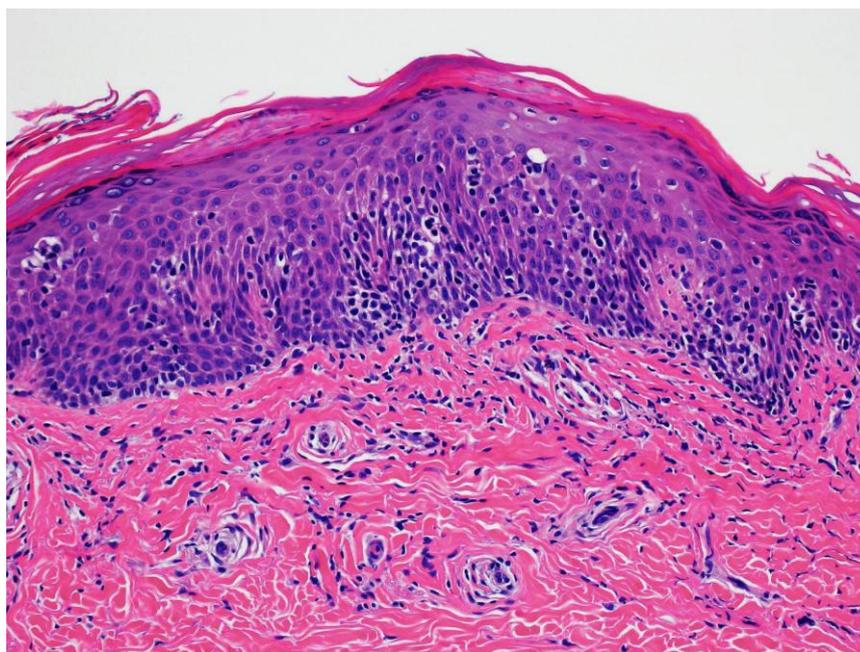


Рисунок 36 - Гистологическая картина бляшечной стадии грибовидного микоза. Ув. х 200.

Результаты иммуногистохимического исследования показали резко выраженную экспрессию CD3+, CD45+, CD4+ и слабую реакцию CD5-CD7, CD8- лимфоцитов. При ПЦР исследовании выявлена моноклональность Т-клеточного рецептора по генам гамма-цепи. На основании комплексной оценки результатов диагностических методов установлен диагноз: грибовидный микоз, ПА стадия. Была назначена терапия интерфероном- α по 3 млн МЕ трижды в неделю, и больной был направлен в клинику кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова для проведения ПУВА-терапии.

При осмотре поражение кожи хронического воспалительного характера. Высыпания распространенные, монотипные, локализованы на коже туловища, верхних и нижних конечностей (Рисунок 13). Сыпь представлена ограниченными плоскими инфильтрированными бляшками, ярко-розовой окраски, с тенденцией к слиянию и шелушением на поверхности, гиперкератоз ладоней и подошв (Рисунок 14), выраженная отечность лица. Ногтевые пластинки кистей и стоп не изменены. Слизистые оболочки не поражены. При пальпации подбородочные, надключичные,

подмышечные и паховые лимфоузлы увеличены, не спаяны с кожей, подвижные, безболезненные. Субъективно: зуд.

В июне-августе 2016 года больной получил 36 сеансов ПУВА-терапии (Σ : 69 Дж/см²) по схеме 4-х разового облучения в неделю в сочетании с интерфероном- α , в результате чего отмечалась полная клиническая ремиссия. Несмотря на поддерживающую терапию интерфероном- α , через 2 месяца после окончания ПУВА-терапии появились новые элементы, которые затем распространились по всему кожному покрову. Общая продолжительность лечения интерфероном составила около 4 месяцев.

В январе 2017 года отмечалось прогрессирование заболевания. Обратился в Гематологический научный центр. При обследовании:

- 1) в клиническом анализе крови от 22.01.2017: лейкоциты $10,2 \times 10^9$ /л, лимфоциты 39%;
- 2) в крови определяется моноклональность по генам γ -цепи Т-клеточного рецептора;
- 3) по данным проточной цитофлуорометрии от 22.01.2017 Т-лимфоциты не выявлены;
- 4) при гистологическом исследовании костного мозга данные за его поражение отсутствуют;
- 5) при КТ органов брюшной полости признаков органного поражения не обнаружено;
- 6) при ПЭТ получены данные о наличии активной специфической ткани в лимфатических узлах следующих групп: шейных, подбородочных, надключичных, подмышечных, подвздошных, паховых;
- 7) при гистологическом исследовании надключичного лимфатического узла слева выявлено специфическое поражение.

На основании вышеуказанных данных установлен диагноз: грибovidный микоз, эритродермическая форма, стадия IVB (T4, N3, M0, B0).

Сопутствующие заболевания: ИБС, стенокардия напряжения ФК II, гипертоническая болезнь II, гиперхолестеринемия, сахарный диабет II типа в стадии субкомпенсации.

В дальнейшем пациент в связи с упорным течением заболевания и частыми рецидивами был неоднократно госпитализирован в Гематологическое отделение городской больницы, где проводилась химиотерапия гемцитабином в дозе 250 мг/м² 6-часовая инфузия (№3) в течение 28 дней, затем - вориностат в дозе 400 мг ежедневно 4 месяца, келикс по схеме 30 мг №3. Также было проведено тотальное облучение кожи туловища и плеч электронами низкой энергии (12 Гр) с временным положительным эффектом. Выраженный клинический эффект в виде побледнения вымыпания, устранения зуда, уменьшение отечности лица был получен от применения проспирина 100 мг в/м ежедневно на протяжении месяца (Рисунок 37).



Рисунок 37 – Пациент Н., 56 лет. Ds: грибвидный микоз, эритродермическая форма, стадия IVB (T4, N3, M0, B0). Фотографии до и после терапии.

Данный клинический случай детально описан в журнале «Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика» (№4, 2018).

3.6. Результаты экспрессии генетических маркеров

В ходе молекулярно-биологического исследования генетических маркеров методом ПЦР-РВ выявлено, что уровень экспрессии гена STAT4 показал значительное (в 9 раз) повышение экспрессии мРНК транскриптов у пациентов ГМ (168 отн.ед.) по сравнению с больными БП (18,5 отн.ед.; $p < 0,05$) и в 553 раза - со здоровыми лицами (0,3 отн.ед.; $p < 0,05$).

Установлено, что у пациентов ГМ уровень экспрессии гена FOXP3 (15,3 отн.ед.) в 5 раз выше по сравнению с группой больных БП, однако это не является статистически значимым (3,1 отн.ед.; $p > 0,05$), и в 82 раза – по сравнению со здоровыми лицами (0,2 отн.ед.; $p < 0,05$). Помимо этого, отмечено резкое снижение уровня экспрессии гена FOXP3 у больных эритродермической формой ГМ (0,93 отн.ед.) и выраженное повышение - у пациента с фолликулотропным подтипом ГМ (48 отн.ед.)

Выявлена слабая экспрессия IL-12B во всех группах.

Также было отмечено статистически значимое преобладание уровня экспрессии гена STAT4 у больных пятнистой и бляшечной стадиями ГМ (181 отн.ед.; 316 отн.ед.) по сравнению с больными БП (18,5 отн.ед.; $p < 0,05$) и здоровыми лицами (0,3 отн.ед.; $p < 0,05$), а также его резкое снижение у больных эритродермической формой ГМ (7,19 отн.ед.). У пациента с фолликулотропной формой ГМ отмечался уровень экспрессии значительно выше, чем при классической форме ГМ (453 отн.ед.) (Рисунок 36, Таблица 15).

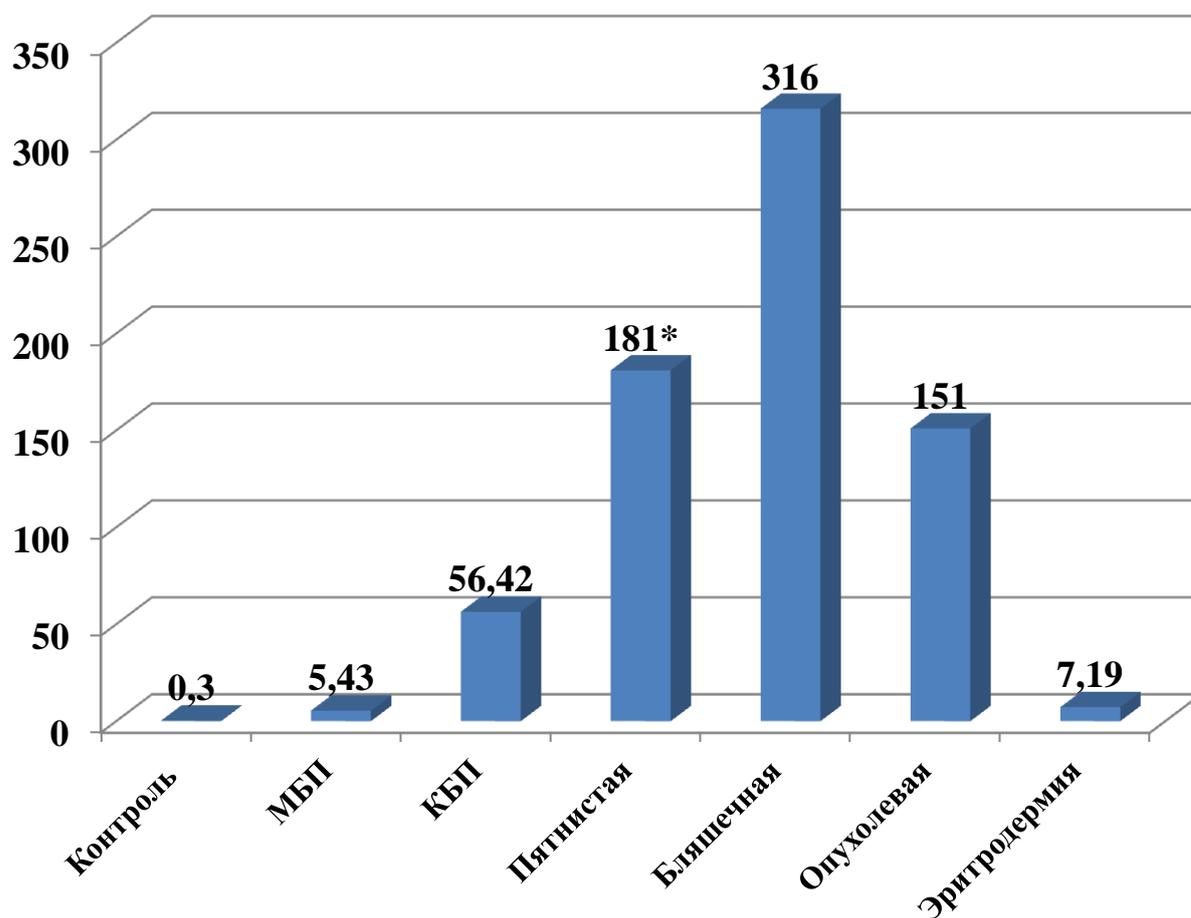


Рисунок 36 - Средний показатель уровня экспрессии STAT4 у пациентов разных групп*.

Таблица 15 - Распределение значений уровня экспрессии генетических маркеров (FOXP3, STAT4, IL-12B) у больных грибковидным микозом, бляшечным параспориозом и у здоровых лиц.

Группа	FOXP3	STAT4	IL-12B
Здоровые лица	0,2 [0,01-0,60]	0,3 [0,01-0,70]	0,03 [0,01-0,10]
Бляшечный параспориоз (БП)	3,1 [0,01-16,50]	18,5 [0,37-88,3]	0,7 [0,08-5,50]
Мелкобляшечный параспориоз	1,59 [0,01-4,86]	5,43 [0,36-26,80]	0,3 [0,16-1,35]
Крупнобляшечный параспориоз	8,93 [4,62-16,52]	56,42 [7,3-88,9]	1,95 [0,09-5,50]
Грибовидный микоз (ГМ)	15,3 [1,0-49,3]	168* [1,1-456]	2,2 [0,02-15]
Пятнистая стадия	21,53 [5,25-37,70]	181* [147-240]	5,3 [0,04-150]
Бляшечная стадия	25,34 [1,32-49,38]	316* [179-456]	0,54 [0,05-1,02]
Опухолевая стадия	25,58 [20,4-30,80]	151 [76,7-225]	0,31 [0,03-0,30]
Эритродермическая форма	0,93 [1,1-1,5]	7,19 [1,0-13]	1,36 [1,0-1,72]
Фолликулотропный подтип	48	453	2,1

Примечание. * — $p < 0,05$ -- статистически значимые различия между группами больных ГМ и БП. Данные представлены как медиана, 25 – 75 процентиля. Уровень экспрессии указан в относительных единицах (отн.ед.) относительно АСТВ.

По результатам проведенного нами исследования был усовершенствован диагностический алгоритм ранних стадий ГМ (ПРИЛОЖЕНИЕ Б). Оценка результатов традиционно используемых диагностических методов проводилась на общей выборке без выделения контрольной группы, но с использованием процедуры скользящего экзамена, что позволяет получить оценку информативности, приближающуюся к таковой, полученной на контрольной выборке. При проведении скользящего экзамена на списке дифференциально-диагностических критериев (Таблица 16) без включения в него критерия «уровень экспрессии гена STAT4 > 100 отн.ед.» было получено 100% и 59,1% правильных отнесений к группе больных с ГМ и БП, соответственно. При проведении скользящего экзамена на списке дифференциально-диагностических критериев с включением в него критерия «уровень экспрессии гена STAT4 > 100 отн.ед.» было получено 100% и 92,59% правильных отнесений к группе больных с ГМ и БП, соответственно.

В связи с этим нами было сформировано две группы больных согласно уровню экспрессии гена STAT4: I группа - ≤ 100 отн.ед., II группа - > 100 отн.ед. Структура диагнозов в I группе распределилась следующим образом: ГМ – 7,7 %, БП – 63,8 %, здоровые лица – 28,5 %; во II группе: ГМ – 66,7 %, БП – 33,3 %, здоровые лица – 0 %. Это свидетельствует в пользу того, что при определении только уровня экспрессии гена STAT4 (> 100 отн.ед.) вероятность установления диагноза ГМ увеличивается до 66,7 % (Рисунок 37).

При проведении корреляционного анализа между уровнем экспрессии генов STAT4 и FOXP3 в разных группах нами были выявлены статистически значимые коэффициенты корреляции между маркерами (Рисунок 38). При уровне экспрессии STAT4 = 1-100 отн.ед. уровень экспрессии FOXP3 достигает ≥ 4 отн.ед. в 57,1 % случаев. В случае экспрессии гена STAT4 ≥ 100 отн.ед. уровень экспрессии FOXP3 достигает ≥ 4 отн.ед. в 66,7 % случаев.

Таблица 16 – Список дифференциально-диагностических признаков, достоверно различающих группы пациентов с грибковидным микозом и бляшечным парапсориазом

Признак	ГМ (n=27)	БП (n=23)	Достоверность различий (p–значение)
Локализация: живот	19 (70.4%)	5 (33.3%)	p=0,03
Локализация: нижние конечности	20 (74.1%)	6 (40%)	p=0,05
Гистологическое заключение: периваскулярный лимфоидный инфильтрат	22 (84.6%)	3 (25%)	p=0,0006
Гистологическое заключение: «диспропорциональный эпидермотропизм»	20 (75.0%)	8 (66.7%)	p=0,007
Гистологическое заключение: базальный эпидермотропизм	21 (80.0%)	2 (16.7%)	p=0,0001
Имунофенотипирование: экспрессия CD3+ < 50%	11 (73.3%)	4 (13%)	p=0,02
Молекулярно-генетическое исследование: моноклональность по генам γ -цепи Т-клеточного рецептора	15 (57.7%)	2 (16.7%)	p=0,03
Уровень экспрессии STAT4 > 100 отн.ед.	16 (66.7%)	4 (13,3%)	p=0,002

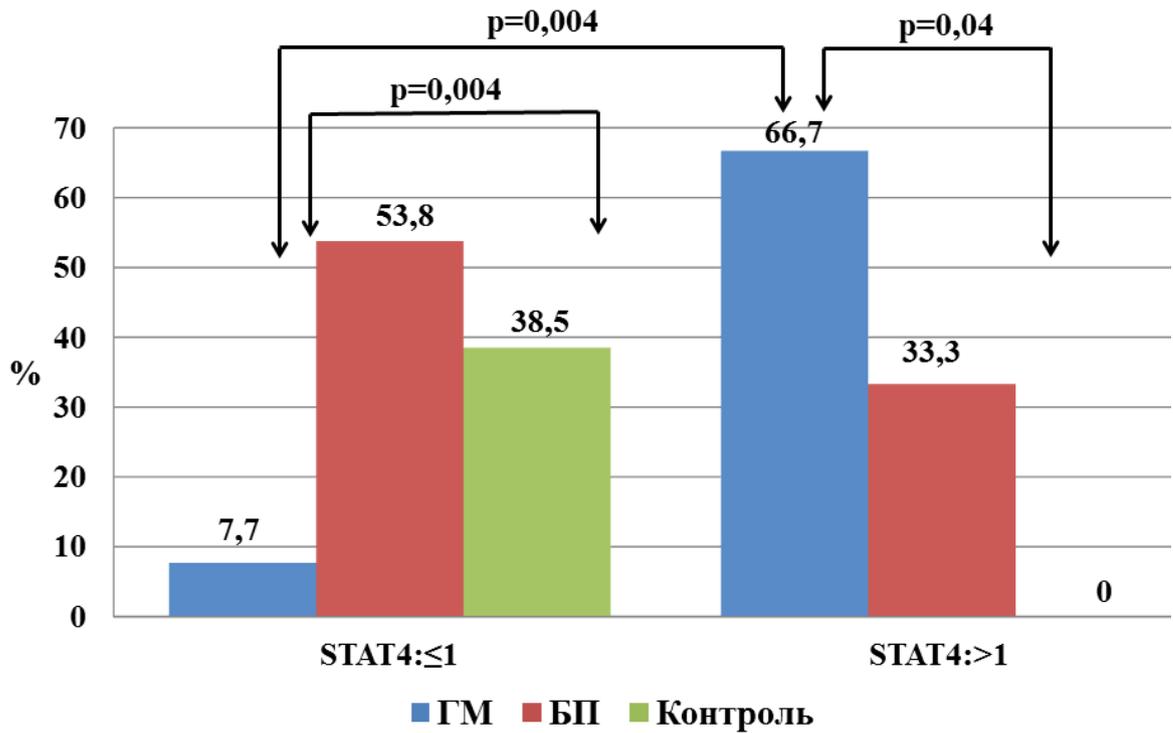


Рисунок 37 - Структура диагнозов при разных уровнях STAT4*.

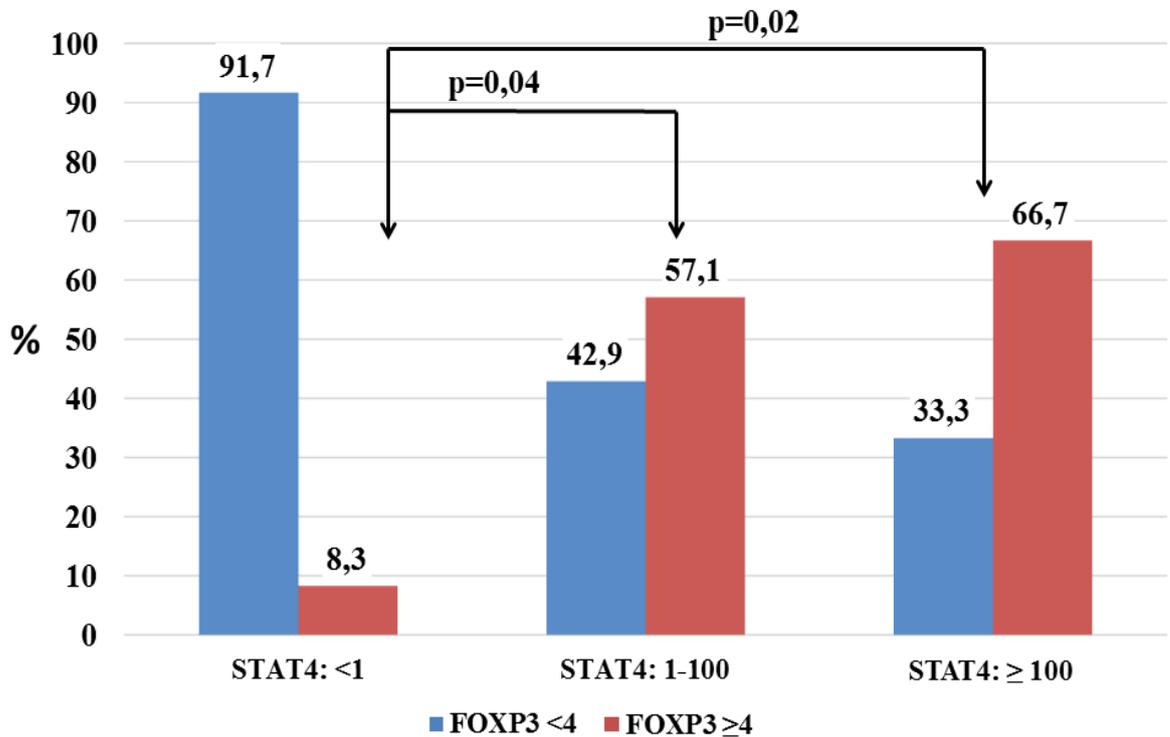


Рисунок 38 - Корреляционные связи между уровнем экспрессии STAT4 и FOXP3*

*Уровень экспрессии указан в относительных единицах (отн.ед.) относительно АСТВ.

Таким образом, STAT4 является возможным ранним диагностическим маркером ГМ, уровень экспрессии которого зависит от стадии. Включение в диагностический алгоритм определение уровня экспрессии гена STAT4 повышает точность дифференциальной диагностики ранних стадий грибовидного микоза и бляшечного параспориоза с 59,1% до 92,59% соответственно (ПРИЛОЖЕНИЕ Б).

3.7. Оценка результатов комбинации ПУВА-терапии и интерферона- α по сравнению с монотерапией ПУВА у больных грибовидным микозом

Комбинацию ПУВА-терапии в сочетании с ИФН- α получали 16 больных ГМ первой группы (7 женщин и 9 мужчин), средний возраст которых составил 54 (28-80) лет. По стадиям заболевания пациентов распределили следующим образом: IB - 5 (31%), IA - 4 (25%), IB - 3 (19%), IIA - 3 (19%), IVA₂ - 1 (6%).

ГМ находился в стадии прогрессирования у 8 больных, стабильное течение процесса также наблюдалось также у 8. По реакции чувствительности кожи на ультрафиолетовое облучение со II фототипом было 13 больных и с III фототипом – 3.

Начальная доза ПУВА-терапии составила 0,5--1 Дж/см². Курсовая доза облучения составила от 138 до 340 Дж/см² (в среднем 208), количество процедур на курс - от 32 до 56 (в среднем 40). Максимальная разовая доза варьировала от 6,5 Дж/см² до 10 Дж/см² (в среднем 8,5 Дж/см²), Длительность терапии составила 8-14 (в среднем 10) недель (Таблица 17).

Таблица 17 - Параметры ПУВА-терапии и дозировка ИФН- α у больных ГМ первой группы

ПУВА-терапия	
Количество процедур	40 [32; 56]
Начальная доза облучения	0.65 [0.5; 1] Дж/см ²
Максимальная разовая доза облучения	8,5 [6,5; 10] Дж/см ²
Курсовая доза облучения	208 [138; 340] Дж/см ²
Продолжительность терапии	10 [8-14] недель
Интерферон- α	
Количество инъекций	63 [48; 84]
Начальная доза	1 млн МЕ
Максимальная разовая доза	3,5 [3; 6] млн МЕ
Курсовая доза	225 [141-429] млн МЕ
Продолжительность терапии	18 [16-28] недель

Одновременно с ПУВА-терапией по методике 4-разового облучения больные ГМ получали ИФН- α (3-6 млн МЕ трижды в неделю) по назначению гематолога. Инъекции проводились подкожно 3 раза в неделю, начиная с 1 млн МЕ с постепенным наращиванием разовой дозы до 3-6 млн МЕ в зависимости от стадии и выраженности кожных проявлений.

Большинство пациентов (n=13; 81%) получали терапию ИФН- α в дозировке 3 млн МЕ трижды в неделю, в то время как двум больным ГМ IIIA стадии и одному больному IVA₂ стадии (n=3; 19%), эффект от лечения у которых был недостаточным, потребовалось увеличение дозы до 6 млн МЕ трижды в неделю. Курсовая доза ИФН- α составила в среднем 225 [141-429] млн МЕ. Длительность лечения ИФН- α у больных ГМ составила 16-28 (в среднем 18) недель (Таблица 15).

Приводим подробные данные о больных ГМ первой группы, получавших ПУВА-терапию в сочетании с ИФН- α , в таблице 18.

Таблица 18 – Характеристика больных грибвидным микозом, получавших ПУВА-терапию в сочетании с ИФН- α

Пациент	Возраст, годы; пол	Стадия, дата начала заболевания	Полученная терапия	Продолжительность терапии, ИФН- α /ПУВА, недели	Клинический ответ
1	63 жен.	Стадия IVA ₂ T2aN2M0 Август, 2011 г.	1) ИФН- α Σ : 390 млн МЕ; 2) ПУВА № 56 Σ : 340 Дж/см ²	28/14	СБ
2	64 муж.	Стадия IIIA T4N1M0 Май, 2015 г.	1) ИФН- α Σ : 354 млн МЕ; 2) ПУВА № 48 Σ : 283 Дж/см ²	24/10	ЧР
3	66 жен.	Стадия IIB T3N0M0 Февраль, 2005 г.	1) ИФН- α Σ : 177 млн МЕ; 2) ПУВА № 40 Σ : 197 Дж/см ²	20/10	ПР
4	59 жен.	Стадия IIIA T4N0M0 Ноябрь, 2011 г.	1) ИФН- α Σ : 350 млн МЕ; 2) ПУВА № 44 Σ : 229 Дж/см ²	24/11	ЧР
5	58 муж.	Стадия IIB T2N0M0 Июнь, 2005 г.	1) ИФН- α Σ : 141 млн МЕ; 2) ПУВА № 32 Σ : 138 Дж/см ²	16/8	ПР
6	33 жен.	Стадия IIA T2N1M0 Май, 2014 г.	1) ИФН- α Σ : 177 млн МЕ; 2) ПУВА № 36 Σ : 166 Дж/см ²	20/9	ПР
7	51 муж.	Стадия IIB T2N0M0 Май, 2012 г.	1) ИФН- α Σ : 195 млн МЕ; 2) ПУВА № 32 Σ : 142 Дж/см ²	22/8	ПР
8	29 жен.	Стадия IIA T2bN1M0 Ноябрь, 2011 г.	1) ИФН- α Σ : 168 млн МЕ; 2) ПУВА № 36 Σ : 168 Дж/см ²	19/9	ПР
9	78 жен.	Стадия IIA T2N1M0 Ноябрь, 2015 г.	1) ИФН- α Σ : 195 млн МЕ; 2) ПУВА № 40 Σ : 202 Дж/см ²	22/10	ПР
10	63 жен.	Стадия IIB T2aN0M0 Май, 2014 г.	1) ИФН- α Σ : 159 млн МЕ; 2) ПУВА № 38 Σ : 164 Дж/см ²	18/9,5	ПР
11	50 муж.	Стадия IIB T2aN0M0 Ноябрь, 2010 г.	1) ИФН- α Σ : 195 млн МЕ; 2) ПУВА № 40 Σ : 204 Дж/см ²	22/10	ПР

Таблица 18 – Характеристика больных грибвидным микозом, получавших ПУВА-терапию в сочетании с ИФН- α . Продолжение

12	40 жен.	Стадия ПВ Т3N0M0 Июнь, 2014 г.	1) ИФН- α Σ : 141 млн МЕ; 2) ПУВА № 38 Σ : 167 Дж/см ²	16/9,5	ПР
13	63 муж.	Стадия ПА Т3N0M0 Июнь, 2016 г.	1) ИФН- α Σ : 186 млн МЕ; 2) ПУВА № 40 Σ : 198 Дж/см ²	21/10	ПР
14	58 муж.	Стадия ША Т4N0M0 Май, 2015 г.	1) ИФН- α Σ : 197 млн МЕ; 2) ПУВА № 40 Σ : 200 Дж/см ²	22/10	ПР
15	82 жен.	Стадия ПВ Т2N1M0 Май, 2014 г.	1) ИФН- α Σ : 160 млн МЕ; 2) ПУВА № 44 Σ : 265 Дж/см ²	18/12	ЧР
16	66 муж.	Стадия IV Т2N0M0 Июль, 2014 г.	1) ИФН- α Σ : 175 млн МЕ; 2) ПУВА № 36 Σ : 167 Дж/см ²	20/9	ПР

Примечания: ПР — полная ремиссия=клиническая ремиссия; ЧР — частичная ремиссия=значительное улучшение; СБ — стабилизация болезни=без эффекта.

ПУВА в виде монотерапии была проведена 11 больным ГМ второй группы (6 женщин и 5 мужчин) в возрасте от 29 до 80 лет (средний возраст 52 года). По стадиям заболевания пациентов распределили следующим образом: IA – 3 (27,5%), IV - 4 (36,5%), ПА - 2 (18%), ПВ - 2 (18%).

Стабильное течение заболевания наблюдалось у 9, в то время как прогрессирование было диагностировано у 2 больных. По реакции чувствительности кожи на ультрафиолетовое облучение со II фототипом отмечалось 10 больных и с III фототипом – 1 больной.

Всего на курс лечения больные получали от 38 до 76 процедур (в среднем 52). Максимальная разовая доза варьировала от 6 Дж/см² до 10 Дж/см² (среднее 7,5 Дж/см²), курсовая доза - от 148 до 355 Дж/см² (195 Дж/см² в среднем) (Таблица 19).

Таблица 19 - Параметры ПУВА-терапии у больных ГМ второй группы

Количество процедур за время лечения	52 [38; 76]
Начальная доза облучения	0.7 [0.5; 1,5] Дж/см ²
Максимальная доза облучения	7,5 [6; 10] Дж/см ²
Курсовая доза облучения	195 [148; 355] Дж/см ²
Продолжительность терапии	11 [8-14] недель

В результате проведенной терапии комбинированным методом положительный эффект был получен у 15 (94%) больных ГМ. Была отмечена редукция индекса mSWAT на 90-100% у 12 (75%) больных IB--IIA стадиями, что соответствовало клинической ремиссии (ПР) в виде исчезновения кожных проявлений и субъективных ощущений. У больных, достигших клинической ремиссии, продолжительность ПУВА-терапии составила 9 (8-10) недель, ИФН-α - 20 (16-22) недель.

У 3 (19%) больных IIA-IIIА стадиями ГМ с продолжительностью ПУВА-терапии 11 (10-12) недель и ИФН-α 21 (18-24) недель индекс mSWAT снижался от 50 до 75%, т.е. отмечалось значительное улучшение (ЧР) в виде уменьшения площади поражения и яркости высыпаний, уменьшения шелушения, зуда, у 1 (6%) больного IVA₂ стадии ГМ с продолжительностью ПУВА-терапии 14 недель и ИФН-α 28 недель эффекта от проводимой терапии не отмечалось (СБ) (Таблица 20, Рисунок 40-44).

Таблица 20 - Результаты терапии больных грибвидным микозом, получавших ПУВА в сочетании с интерфероном- α

Показатель	Клиническая ремиссия	Значительное улучшение	Без эффекта
Количество больных	12 (75 %)	3 (19%)	1 (6%)
Стадии ГМ	IA-IIIА	IVB-IIIА	IVА ₂
Число процедур ПУВА-терапии	32-44	44-48	56
Длительность лечения ПУВА (недели)	8-10	10-12	14
Курсовая доза ПУВА (Дж/см ²)	142-204	229-283	340
Длительность лечения ИФН- α (недели)	16-22	18-24	28
Курсовая доза ИФН- α (млн МЕ)	141-197	160-354	390

В результате лечения у 10 (91%) больных второй группы, получавших ПУВА в виде монотерапии, наблюдался положительный клинический эффект: клиническая ремиссия была достигнута у 6 (55%) больных с продолжительностью ПУВА-терапии 13 (12-16) недель, значительное улучшение – у 4 (36%) больных с продолжительностью ПУВА-терапии 9 (8-11) недель, без эффекта – у одного больного (9%) с продолжительностью ПУВА-терапии 10,5 недель (Таблица 21). Ни в одном из наблюдений не отмечалось ухудшения кожного процесса.

Эффективность терапии очагов поражения в различных участках тела была неодинаковой. Следует отметить, что наилучшие результаты терапии наблюдаются у больных пятнистой и бляшечной стадиями, при локализации очага на животе, лице, животе и на ягодицах. Более упорно регресс высыпаний происходит при локализации очагов в подмышечных впадинах и на конечностях. Кроме того, лучше поддаются терапии очаги, возникшие не более, чем 2-3 года тому назад.

Таблица 21 - Результаты терапии больных ГМ, получавших ПУВА в виде монотерапии

Показатель	Клиническая ремиссия	Значительное улучшение	Без эффекта
Число больных (n=11)	6 (55%)	4 (36%)	1 (9%)
Стадии ГМ	IA-IB	IB-IIВ	IIВ
Число процедур	48 - 64	32 - 44	42
Длительность лечения (недели)	12 - 16	8 - 11	10,5
Курсовая доза ПУВА (Дж/см ²)	260 - 355	148 - 221	204

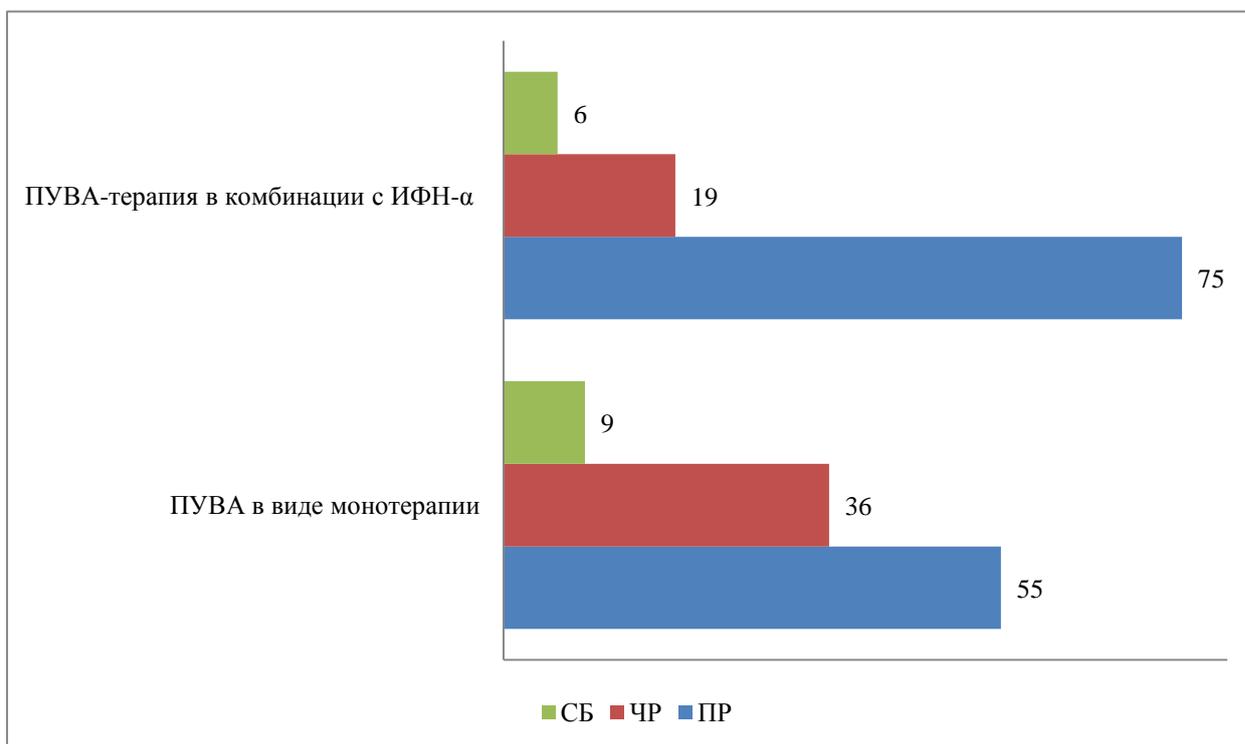


Рисунок 40 - Результаты клинической эффективности терапии в основной и контрольной группах (%). *Примечания:* ПР — полная ремиссия=клиническая ремиссия; ЧР — частичная ремиссия=значительное улучшение; СБ — стабилизация болезни=без эффекта.

3.7.1. Побочные эффекты от лечения

Побочные эффекты от ПУВА-терапии сводились к проявлению фотодерматита и сухости кожных покровов у некоторых больных. Как видно из таблицы 22, явления фотодерматита в первой и второй группах развились у 3 (19%) и 2 (18%) больных соответственно и проявлялись в виде эритемы на открытых участках кожных покровов. ПУВА-терапия во время явлений фотодерматита приостанавливалось на несколько дней до полного его разрешения, назначались антигистаминные препараты и противовоспалительные мази.

У 2 (12,5%) пациентов первой группы и у 3 (27%) в основной отмечалось появление сухости кожных покровов, носящее временный характер. В этом случае пациентам было рекомендовано нанесение смягчающих и увлажняющих средств.

Таблица 22 - Побочные эффекты от терапии, наблюдаемые в обеих группах

Побочное действие	ПУВА в комбинации с ИФН- α (первая группа)	ПУВА как монотерапия (вторая группа)
Фотодерматит (эритема)	3 (19%)	2 (18%)
Сухость	2 (12,5%)	3 (27%)
Гриппоподобный синдром	10 (62,5%)	-
Лейкопения 1-2\times10⁹/л	3 (19%)	-
Снижение массы тела на \leq 10%	5 (31%)	-

Жизнеугрожающих побочных эффектов от применения ИФН- α в первой группе не наблюдалось, переносимость комбинированного метода терапии была хорошей. У 11 (69%) пациентов наблюдались побочные эффекты умеренной степени выраженности (II степень ВОЗ), среди которых наиболее распространенным был гриппоподобный синдром (n=10, 62,5%),

особенно в начале терапии, который включает в себя озноб, повышение температуры, астению, усталость, утомляемость, миалгии, артралгии, головные боли. Для купирования данного синдрома больным был рекомендован прием парацетамола за 30 минут до инъекции на протяжении 5-7 дней. Также у 5 (31%) больных ГМ отмечалось снижение массы тела на $\leq 10\%$, провоцируемое гепатотоксичностью, в связи с чем пациентам назначались гепатопротекторы под контролем гематолога. Как правило, после курса проведенной терапии масса тела возвращалась в норму по истечении 1-2 месяцев.

Лейкопения $1-2 \times 10^9/\text{л}$ была отмечена у трех пациентов (19%), в связи с чем было рекомендовано временное снижение дозы ИФН- α в 2 раза и повторение анализа через 1-2 недели. Лейкопения наблюдалась у двух пациентов ПА стадии ГМ дважды и у пациента IVA₂ стадии трижды за время проведения курса терапии. Однако, отмены препарата не потребовалось, т.к. при снижении дозы препарата уровень лейкоцитов постепенно возвращался в норму.

В целом отмечалась хорошая клиническая переносимость ПУВА и ИФН- α . Побочные эффекты сводились только к развитию фототоксических явлений (в виде фотодерматита, сухости кожных покровов) и гриппоподобному синдрому, лейкопении, которые не приводили к остановке лечения до регресса побочных реакций и зачастую купировались самостоятельно, при снижении дозировки препарата или при присоединении минимальной коррегирующей терапии.

3.7.2. Отдаленные результаты проводимой терапии

Наблюдение за больными ГМ проводилось в течение 1 года после окончания терапии. Больным первой группы было рекомендовано продолжить прием ИФН- α , а курс ПУВА-терапии повторить через 1 год. Пациенту ПВ стадии, получавшему ПУВА-терапию, было рекомендовано

добавить курс ИНФ- α . Для достижения клинической ремиссии больной получил суммарную дозу 160 млн МЕ на протяжении 18 недель.

Пациент IVA₂ стадии ГМ, у которого эффекта от проводимого лечения не было, был переведены в ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России для проведения лучевой терапии.

У пациентов, получавших комбинированный метод терапии, было установлено, что полная ремиссия наблюдалась у всех больных в течение 9 месяцев; до 1 года она сохранялась у 22 (81%) больных.

Рецидив заболевания после ПУВА в виде монотерапии наступил у 3 (27%) больных спустя 7 месяцев.

Повторный курс ПУВА-терапии получили по собственному желанию 2 больных ГМ из обеих групп, у которых в результате лечения была достигнута клиническая ремиссия. При повторном курсе ПУВА-терапии для достижения клинической ремиссии потребовалось меньшее количество процедур, суммарная доза УФ и продолжительность лечения.

Таким образом, можно сказать, что комбинация ПУВА-терапии с ИНФ- α является высокоэффективным методом лечения различных стадий ГМ, с помощью которого достигается стойкая ремиссия. При сравнении результатов проводимой терапии выявлено, что эффективность ПУВА-терапии в сочетании с ИНФ- α (75%) была выше в 1,4 раза, чем ПУВА как монотерапии (55%) (Рисунок 40).

Кроме того, использование ИНФ- α позволяет сократить сроки лечения и быстрее достичь более продолжительной ремиссии ГМ. Комбинированный метод хорошо переносится больными с минимальными побочными явлениями в виде фототоксических реакций, гриппоподобного синдрома и лейкопении у 62,5% больных. В случае возникновения рецидива ГМ клиническое излечение наступает за более короткие сроки, при этом уменьшается и куммулятивная доза УФ, и количество процедур. Также согласно полученным результатам, более выраженный положительный эффект от комбинированного метода лечения наблюдался у больных ГМ IB--

IIA стадии, однако была достигнута ремиссия у пациентов даже с обширным поражением кожи на поздних стадиях (IIВ--IIIA), что явилось статистически достоверным ($p < 0,05$).



Рисунок 41 - Пациентка 9 (см. таблицу 3.9). Грибовидный микоз, стадия IIA: а - до лечения; б - после лечения ПУВА+ИФН- α .



Рисунок 42 - Пациентка 6 (см таблицу 3.9). Грибовидный микоз, стадия IIA: а - до лечения; б - после лечения ПУВА+ИФН- α .



Рисунок 43 - Пациент 14 (см. таблицу 3.9). Грибовидный микоз, стадия IIIA:
а - до лечения; б - после терапии ПУВА+ИФН- α .



Рисунок 44 - Пациентка 12 (см таблицу 3.9). Грибовидный микоз, стадия IIВ:
а - до лечения; б - после лечения ПУВА+ИФН- α .

ГЛАВА 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день существуют трудности в ранней диагностике ГМ в связи с редкостью заболевания, наличием «клональных» дерматозов, вариабельностью клинических проявлений и наличием атипичных форм ГМ, а также отсутствием общепринятых дифференциально-диагностических критериев.

Согласно современным данным, диагностика ГМ невозможна без комплексной оценки клинико-anamnestических, гистологических, иммунофенотипических и молекулярно-генетических данных [Белоусова, Поддубная].

С целью выявления новых генетических маркеров для оптимизации ранней диагностики ГМ нами была поставлена задача провести анализ результатов вышеуказанных методов исследования и оценить их информативность для диагностики грибовидного микоза.

Под нашим наблюдением находилось 50 пациентов: 27 - с ГМ и 23 – с БП в возрасте от 29 до 82 лет. Дебют ГМ приходился на возраст от 30 до 65 лет. Продолжительность заболевания на период обращения составила в среднем 6,32 лет (от 1 года до 13 лет). Помимо пациентов с классической формой, были представлены также с эритродермической формой и фолликулотропным подтипом ГМ.

На первичном приеме дерматолога диагноз ГМ был заподозрен в 55% случаев. У всех больных ГМ высыпания имели распространенный симметричный характер, без тенденции к периферическому росту и слиянию. Установлено, что наиболее важными дифференциально-диагностическими признаками для ГМ являются: слабо шелушащиеся пятна, размерами больше 5 см, локализующиеся преимущественно на коже груди, живота, спины, конечностей, ягодиц и паховой области.

Важность клинико-anamnestического метода состоит в том, чтобы своевременно заподозрить ГМ, однако по-прежнему золотым стандартом в диагностике ТКЛК является гистологический метод исследования.

Анализируя данные Santucci M, Smoller B.R и соавт. [145, 147], выявляется широкий разброс значений по признакам: микроабсцессы Потрие обнаруживаются в 0 - 37% случаев, лимфоциты в базальном слое эпидермиса обнаруживаются от 17% до 67% случаев («базальный эпидермотропизм»). По данным Жукова А.С. и соавт. [12] выявлено, что наибольшая чувствительность и специфичность характерны для следующих показателей: эпидермальные лимфоциты крупнее дермальных (SE 0,75, SP 0,86), лимфоциты с церебриформными ядрами (SE 0,67, SP 0,85).

Стоит отметить, что гистологическая картина была сомнительной у 12 (44%) больных ГМ и подозрительной – у 7 (30%) больных БП.

В нашем исследовании установлено, что диагностически значимыми для ранних стадий ГМ оказались следующие признаки: периваскулярный лимфоидный инфильтрат (84,6%), базальный эпидермотропизм (80%) и «диспропорциональный эпидермотропизм» (75%).

Таким образом, на ранних стадиях ГМ гистологические изменения часто могут оказаться неинформативными. Также отсутствуют стандартизованные критерии оценки гистологических признаков, что затрудняет их применение для диагностики ранних стадий ГМ, поэтому необходимо проводить иммуногистохимическое и молекулярно-генетическое исследования.

В настоящее время определение экспрессии антигенов CD2, CD3 и CD5 является распространенным при проведении иммуногистохимического исследования при ГМ. [4]. В ходе нашего исследования была выявлена значимость определения экспрессии маркера зрелых Т-лимфоцитов CD3 для дифференциальной диагностики ГМ и БП (100% и 74% соответственно, $p < 0,05$). Также следует отметить умеренно выраженную экспрессию CD5+ в эпидермисе, CD7+ и CD45RO+ в дерме у больных ГМ, CD8+ в эпидермисе – у больных БП.

Применяя клинико-anamнестический, гистологический и иммуногистохимический методы исследования, диагноз ГМ удалось

установить у 19 (70%) больных. из них – у 7 (64%) больных на ранних стадиях.

Кроме того, установлено, что наличие или отсутствие клональности по генам γ -цепи ТКР не является абсолютным критерием злокачественности и доброкачественности процесса, т.к. нами установлено, что частота ложноотрицательных результатов составила 19 %, ложноположительных - 13 %. На ранних стадиях ГМ на основании результатов ПЦР-исследования диагноз был установлен в 55% случаев.

Исходя из вышесказанного, можно сделать вывод о том, что определение клональности по генам γ -цепи ТКР при диагностике ранних стадий ГМ необходимо использовать в комплексе с гистологическим и иммунофенотипическим методами исследования.

Одной из основных задач нашей работы явилось изучение уровня экспрессии генетических маркеров (FOXP3, STAT4, IL-12B) методом ПЦР-РВ для ранней диагностики ГМ.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что для ранней диагностики ГМ приобретает большое значение уровень экспрессии гена STAT4, т.к. нами установлено статистически значимое преобладание которого у больных пятнистой и бляшечной стадиями ГМ (181 отн.ед.; 316 отн.ед.) по сравнению с больными БП (18,5 отн.ед.; $p < 0,05$) и здоровыми лицами (0,3 отн.ед.; $p < 0,05$), а также его резкое снижение у больных эритродермической формой ГМ (7,19 отн.ед.).

Litvinov I.V. et al установили, что на ранних стадиях ТКЛК отмечается повышенная экспрессия STAT4 по сравнению с кожей здоровых лиц [115]. По данным Johnson V.E. et al, при прогрессировании заболевания, когда начинает преобладать экспрессия Th2 фенотипа, наблюдается уменьшение экспрессии данного маркера, что не противоречит полученным нами данным [95].

Вместе с тем, выявляемая у всех больных экспрессия маркеров Т-рег клеток FOXP3, а также IL-12B не является диагностически значимой при

исследовании БП и ГМ. Экспрессия FOXP3 может интерпретироваться только как вспомогательный диагностический признак в совокупности с другими. По данным Жукова А.С. и соавт. с помощью иммуногистохимического исследования установлено, что доля Т-регуляторных клеток от всех Т-лимфоцитов кожи у больных пятнистой стадией ГМ и БП статистически значимо не различается, что согласуется с полученными нами данными [14].

Можно предположить, что увеличение количества Т-рег клеток в коже больных ГМ по сравнению со здоровыми донорами позволяет рассматривать избыточное иммуносупрессивное действие этих клеток с позиции важного патогенетического фактора развития злокачественной пролиферации Т-лимфоцитов [12, 98].

Таким образом, определение уровня экспрессии STAT4 является высокоинформативным для проведения дифференциальной диагностики БП и ранних стадий ГМ. На основании полученных нами данных был усовершенствован диагностический алгоритм (ПРИЛОЖЕНИЕ Б) и определены дифференциально-диагностические критерии ранних стадий грибовидного микоза.

При проведении скользящего экзамена на списке дифференциально-диагностических критериев без включения в него «уровень экспрессии STAT4 > 100 отн.ед.» и с его включением было установлено повышение точности дифференциальной диагностики ГМ и БП с 59,1% до 92,59% соответственно.

Также одной из задач нашей работы явилась оценка эффективности и безопасности ПУВА-терапии в сочетании с ИФН- α и без него у больных ГМ.

Комбинация ПУВА-терапии по методике 4-разового облучения в сочетании с ИФН- α (3-6 млн МЕ трижды в неделю), полученная 16 больными ГМ, показала, что данный метод терапии ГМ является высокоэффективным, т.к. вызывает продолжительную ремиссию заболевания и может с успехом применяться у больных грибовидным микозом независимо от стадии, однако

наиболее выраженный положительный эффект наблюдался у больных ГМ IB-IIIА стадии. Была отмечена клиническая ремиссия у 12 (75%) больных, значительное улучшение - у 3 (19%) больных; у 1 (6%) больного IVA₂ стадии ГМ эффекта от проводимой терапии не отмечалось.

Анализируя данные предшествующих исследований Spaccarelli, Kuzel, Chiarion-Sileni, Rupoli, Nikolaou, установлено, что комбинация ПУВА-терапии с ИФН-α представляет собой эффективный (полная ремиссия достигнута в 62% - 100% случаев; медиана - 76,5%) и хорошо переносимый метод терапии больных ГМ, что согласуется с нашими данными [76, 109, 132, 142, 151]. Однако, оставался открытым вопрос о превосходстве комбинированного метода по сравнению с монотерапией ПУВА.

При сравнении результатов проводимой терапии выявлено, что эффективность ПУВА-терапии в сочетании с ИФН-α (75%) была выше в 1,4 раза, чем ПУВА как монотерапии (55%)

Установлено, что для достижения состояния клинической ремиссии необходимо получение больными 37 ± 5 процедур ПУВА при длительности терапии 9 ± 1 недель с курсовой дозой облучения 176 ± 28 Дж/см² в сочетании с 61 ± 11 инъекций ИФН-α при длительности терапии 20 ± 3 недель с курсовой дозой 175 ± 21 млн МЕ. Переносимость терапии была хорошей, жизнеугрожающих побочных эффектов установлено не было.

Таким образом, на основании полученных данных клинико-anamnestического, гистологического, иммунофенотипического и молекулярно-генетического методов диагностики можно сделать вывод, что для более точного проведения дифференциальной диагностики ГМ необходимо определять уровень экспрессии STAT4. Высокоэффективным методом лечения больных ГМ зарекомендовала себя комбинация ПУВА-терапии и ИФН-α, которая вызывает наиболее выраженный положительный эффект у больных ГМ IB-IIIА стадии.

ВЫВОДЫ

1. Анализ проведенных исследований показал, что несмотря на комплексную оценку клинико-anamnestических, неоднократных гистологических, иммунофенотипических и молекулярно-генетических (определение реаранжировки по генам γ -цепи Т-клеточного рецептора) данных, верификация диагноза у больных грибовидным микозом ранних стадий возможна в 59,1 % случаев.

2. Установлено, что у больных пятнистой стадии (181 отн.ед.) грибовидного микоза по сравнению с больными бляшечным парапсориазом (18,5 отн.ед.) отмечается статистически значимое преобладание уровня экспрессии гена STAT4 ($p < 0,05$). При уровне экспрессии гена STAT4 > 1 отн.ед. вероятность установления диагноза ГМ увеличивается до 66,7 %.

Выявляемая экспрессия у всех больных маркера Т-регуляторных клеток FOXP3, а также IL-12B не является диагностически значимой и может рассматриваться только в качестве вспомогательного диагностического метода.

3. Включение в диагностический алгоритм ранних стадий грибовидного микоза изучение уровня экспрессии гена STAT4 (> 100 отн.ед.) повышает точность диагностики ранних стадий грибовидного микоза с 59,1% до 92,59%.

4. Комбинация ПУВА-терапии и ИФН- α является высокоэффективным и безопасным методом лечения грибовидного микоза, вызывает клиническую ремиссию у 75% больных и может с успехом применяться у больных грибовидным микозом IB--IIIА стадии. Выявлено, что эффективность ПУВА-терапии в сочетании с ИФН- α в 1,4 раза выше, чем ПУВА в виде монотерапии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для установления диагноза грибovidного микоза наиболее эффективна комплексная диагностика, включающая клиническо-анамнестический, гистологический, иммуногистохимический и молекулярно-генетический (выявление клональности по генам γ -цепи Т-клеточного рецептора) методы, однако на ранних стадиях для верификации диагноза необходимо применение ПЦР-РВ для определения уровня экспрессии гена STAT4, что позволяет повысить эффективность ранней диагностики грибovidного микоза и может рекомендоваться для использования в клинической и амбулаторной практике врачей-дерматологов, онкогематологов.

2. Для достижения клинической ремиссии у больных грибovidным микозом целесообразно применение ПУВА-терапии по методике 4-разового облучения в неделю в сочетании с интерфероном-альфа в дозе от 3 до 6 млн ЕД трижды в неделю в зависимости от переносимости и стадии заболевания. Курс состоит из 37 ± 5 процедур ПУВА при длительности терапии 9 ± 1 недель с курсовой дозой облучения 176 ± 28 Дж/см² в сочетании с 61 ± 11 инъекций ИФН- α при длительности терапии 20 ± 3 недель с курсовой дозой 175 ± 21 млн МЕ.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГМ – грибovidный микоз

БП – бляшeный парасориаз

ДК – дендритная клетка

ЗНО – злокачественные новообразования кожи

ИГХ – иммуногистохимия

ИЛ (IL) – интерлейкин

ИФТ – иммунофенотипирование

ИФН – интерферон

КБП – крупнобляшeный парасориаз

ЛПЗ – лимфопротиферативные заболевания

МБП – мелкобляшечный парасориаз

ПЛК – псевдолимфома кожи

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ПЦР-РВ (Real time-ПЦР) – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени

ПУВА (Psoralen + UltraViolet A) – псорален-ультрафиолет А

РИС – рисунок

ТАБЛ – таблица

ТКЛК – Т-клеточные лимфомы кожи

ТКР – Т-клеточный рецептор

Т-рег – Т-регуляторные клетки

УЗИ – ультразвуковое исследование

УФ – ультрафиолет

УФО – ультрафиолетовое облучение

ФЛГ – флюорография

ФСБ – фосфатно-солевой буфер

ХДД – хронический доброкачественный дерматоз

CD 3 – маркер Т-лимфоцитов

CD 8 – маркер цитотоксических Т-лимфоцитов

СНОР – циклофосфамид, гидроксидонорубицин, онковин, преднизон

СМЕD/АВV – циклофосфамид, метотрексат, этопозид, доксорубицин, блеомицин, винбластин

ЕОРТС – Европейская организация изучения и лечения рака

ЕРОСН – этопозид, винкристин, доксорубицин, циклофосфамид, пероральный преднизолон

FOXP – Forkhead Box Protein

ISCL – Международное общество по лимфомам кожи

mSWAT – модифицированная шкала взвешенной оценки тяжести заболевания

STAT – сигнальные передатчики и активаторы транскрипции

TBSA – площадь поверхности всего тела (%)

TNM – tumor-node-metastasis

TOX – ядерный фактор для созревания CD4+

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белоусова, И. Э. Современные подходы к диагностике и лечению первичных лимфом кожи на основе новой ВОЗ/EORTC-классификации. Т-клеточные лимфомы кожи / И. Э. Белоусова, Д. В. Казаков, Ю. А. Криволапов // Архив патологии. – 2007. – Т. 69. – № 5. – 11-17 с.
2. Белоусова, И. Э. Клинико-морфологическая дифференциальная диагностика первичных лимфом кожи, псевдолимфом кожи и парапсориазов : автореф. дис. ... докт. мед. наук: 14.01.10., 14.03.02 / Белоусова Ирена Эдуардовна. - Санкт-Петербург, 2010. – 36 с.
3. Белоусова, И.Э. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных лимфомами кожи / И.Э. Белоусова // Москва, 2015 – 13-25 с.
4. Братцева, Е.В. Современные подходы к диагностике грибовидного микоза / Е.В. Братцева, С.В. Ротанов // Вестник дерматологии и венерологии. – 2010. – №. 6. – 16-22 с.
5. Виноградова, Ю.Е. Лимфомы кожи: диагностика и лечение / Ю.Е. Виноградова, Н.С. Потекаев, Д.Л. Виноградов // Монография.«Практическая медицина», Москва. – 2014. – 1-175 с.
6. Воронцова, А.А. Современные представления о патогенезе грибовидного микоза / А.А. Воронцова, А.Э. Карамова, Л.Ф. Знаменская // Онкогематология. – 2018. – Т.13. - №3. - 39-46 с.
7. Гаранжа, Т.А. Концентрации герпесвирусных ДНК у онкогематологических больных/ Т.А. Гаранжа, Д. С. Тихомиров, Т. А. Туполева, В. В. Троицкая, Е. Н. Паровичникова, Н. В. Цветаева // Гематология и трансфузиология.- 2014.- Т.59. - № S1.- 16 с.
8. Горенкова, Л.Г. Лечение резистентных форм грибовидного микоза и синдрома Сезари / Л.Г. Горенкова, Е.А. Пенская, С.К. Кравченко, А.М. Ковригина, Т.Н. Моисеева, А.И. Воробьев // Клиническая онкогематология. – 2017. – Т.10. - № 3. - 366-371 с.

9. Гублер, Е.В. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях / Е.В. Гублер, А.А. Генкин // Л.: Медицина. – 1973. – Т. 141 – 144 с.
10. Демина, О.М. Т-клеточные лимфомы кожи: современные данные патогенеза, клиники и терапии / О.М. Демина, О.Е. Акилов, А.Г. Румянцев // Онкогематология. – 2018. – Т.13. - №3. - 25-38 с.
11. Доронин, В.А. Т-клеточные лимфомы: возможности терапии при ограниченном выборе / В.А. Доронин // Клиническая онкогематология.- 2013.- №2.- 127-138 с.
12. Жуков, А.С. Совершенствование клинко-морфологической диагностики лимфом кожи в военно-лечебных учреждениях МО РФ: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.10., 14.03.02 / Санкт-Петербург, 2014. – 36 с.
13. Жуков, А.С. Иммунологические и молекулярно-генетические механизмы развития грибовидного микоза / А.С. Жуков, И.Э. Белоусова, А.В. Самцов // Вестник дерматологии и венерологии. – 2015. - № 4 - 42-50 с.
14. Жуков, А.С. Foxp3+ Т-лимфоциты в патогенезе грибовидного микоза / А.С. Жуков, И.Э. Белоусова, А.В. Самцов // Вестник дерматологии и венерологии. – 2014. - № 5 – 68-72 с.
15. Зайцева, О.И. Коморбидность, молекулярно-генетические характеристики и комплексная терапия ранних стадий Т-клеточных злокачественных лимфом кожи: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.10 / Зайцева Ольга Игоревна. - Москва, 2016. – 18-23 с.
16. Залетаев, Д.В. Медико-генетические исследования в диагностике онкологических заболеваний / Д.В. Залетаев // Клиническая лабораторная диагностика.- 2008. - №9. - С.42.
17. Заславский, Д. В. Раннее начало грибовидного микоза. Случай из практики / Д. В. Заславский, А.А. Сыдилов, Л.Н. Дроздова, О.К.

Минеева, И.Н. Чупров, В. Пьер, С.В. Скрек // Вестник дерматологии и венерологии. – 2015 - № 1 - 99-103 с.

18. Заславский, Д.В. Выявление антигена вирусов простого герпеса 1,2 типов, папилломы человека и Эпштейна-Барр у больных крупно- и мелкобляшечным парапсориазом / Д.В. Заславский, А.А. Сыдилов, В.С. Зайцев, Р.А. Насыров, О.Б. Татарская, А.В. Федорченко // Проблемы медицинской микологии. - 2013. – Т.15. - №2. – 78 с.

19. Казаков, Д.В. Ранняя дифференциальная диагностика лимфом кожи: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.10 / Санкт-Петербург, 1999. –18 с.

20. Казаков Д.В., Кемпф В., Самцов А.В., Бург Г. Злокачественные опухоли лимфоидной ткани с поражением кожи: современные принципы диагностики и краткая характеристика основных нозологических форм. Часть – 1 / Д.В. Казаков, В. Кемпф, А.В. Самцов, Г. Бург // Вестник дерматологии и венерологии. - 2002. - №1. – 16-21 с.

21. Кардашова, З.З. Иммунологические аспекты Т-злокачественных лимфом кожи у лиц пожилого и старческого возраста / З.З. Кардашова, С.В. Бабакова, Е.М. Лезвинская, В.Н. Шабалин // Аллергология и иммунология.- 2007. - №1. – 208 с.

22. Короткий, Н. Г. Современные взгляды на этиопатогенез грибовидного микоза и схемы его лечения / Н.Г. Короткий, М.В. Уждуху // Лечащий врач. – 2004. – №. 7. – 46-48 с.

23. Кохан, М. М. Т-клеточные злокачественные лимфомы кожи: клинические и иммунологические аспекты диагностики, стадийного течения и терапии: автореф. дис.... докт. мед. наук: 14.01.10 / Кохан Муза Михайловна. – Екатеринбург, 2002. – 13-15 с.

24. Кубанова, А.А. Клинические рекомендации. Дерматовенерология / А.А. Кубанова // Москва: ДЭКС-Пресс. - 2016. — 87-95 с.

25. Кунгуров, Н.В. Злокачественные новообразования кожи: заболеваемость, ошибки диагностики, организация раннего выявления, профилактика / Н.В. Кунгуров, Н.П. Малишевская, М.М. Кохан, В.А. Игликов // Курган: Зауралье. - 2010. – 13-15 с.
26. Кунгуров, Н.В. О совершенствовании оказания специализированной медицинской помощи больным злокачественными лимфомами кожи / Н.В. Кунгуров, М.М. Кохан, И.А. Куклин, О.Г. Римар // Вестник дерматологии и венерологии. – 2010. – №3. – 4-11 с.
27. Ламоткин, И.А. Результаты иммунофенотипирования различных клинических форм грибовидного микоза / И.А. Ламоткин, Ю.Г. Тарасенко // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2005. – № 5. - 4-5 с.
28. Ламоткин, И. А. Онкодерматология: атлас и учебное пособие / И. А. Ламоткин // Лаборатория знаний. – 2017. – 354-376 с.
29. Лезвинская, Е.М. Заболеваемость злокачественными лимфомами кожи в Московской области и пути совершенствования лечебно-диагностической помощи больным / Е.М. Лезвинская, В.А. Молочков, Н.К. Ларина // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2000. – № 4. – 12-17 с.
30. Молочков, А.В. Лимфома кожи / А.В. Молочков, А.М. Ковригина, А.В. Кильдюшевский, А.В. Караулов // Москва: Издательство БИНОМ. - 2012. – 14-15 с.
31. Молочков, В.А. Т-клеточные лимфомы кожи: современные подходы к клинико-морфологической диагностике (согласно классификации ВОЗ/ЕОРТС) и лечению / В.А. Молочков, А.М. Ковригина, Г.В. Овсянникова // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2009. – № 3. – 4-6 с.
32. Овсянникова, Г.В. Злокачественные лимфомы кожи / Г.В. Овсянникова, Е.М. Лезвинская // Consilium Medicum.- 2005.- №7.- 14 с.

33. Овсянникова, Г.В. Современные методы комплексной диагностики злокачественных лимфом кожи. автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.11, 14.00.29 / Овсянникова Галина Владимировна – Москва, 2009. – 36 с.
34. Олисова, О.Ю. Современные методы диагностики и лечения Т-клеточной лимфомы кожи / О.Ю. Олисова, Е.М. Анпилогова // Российский журнал кожных и венерических болезней.- 2015.- №5.-4-13 с.
35. Олисова, О.Ю. Т-клеточная лимфома: трудности диагностики / О.Ю. Олисова, О.В. Грабовская, И.Н. Тетушкина, О.А. Косоухова // Российский журнал кожных и венерических болезней.- 2013.- №3.- 4-6 с.
36. Олисова, О.Ю. Псевдолимфомы кожи (этиология, клиника, диагностика и лечение): автореф. дис. ... докт. мед. наук: 14.01.10 / Олисова Ольга Юрьевна. - Москва, 2002. - 217 с.
37. Олисова, О.Ю. Псевдолимфомы кожи / О.Ю. Олисова, Н.С. Потекаев // Москва: Практика, 2013. - 11-13 с.
38. Пальцев, М. А. Введение в молекулярную диагностику / М. А. Пальцев, Д.В. Залетаев // Москва: Медицина. - 2011. - Т.2. – 322-335 с.
39. Парамонов, А.А. Репертуар Т-клеточных рецепторов при некоторых иммунозависимых дерматозах / А.А. Парамонов, Л.Н. Каюмова, С.А. Брускин, Н.Г. Кочергин, О.Ю. Олисова, М.Н. Острецова // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2015. – Т. 18. - №4. - 34-41 с.
40. Поддубная, И.В. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний / И.В. Поддубная, В.Г. Савченко // Москва: Буки Веди. – 2016. - 85–91 с.
41. Разнатовский, К.И. Организация оказания медицинской помощи больным первичными лимфомами кожи на современном этапе/ К.И.

Разнатовский, А.Н. Родионов, С.В. Скрек // Клиническая дерматология и венерология.- 2012.- № 1.- 4- 8 с.

42. Разнатовский, И. М. Параспориозы Брока и их отношение к пойкилодермии, грибовидному микозу и ретикулезу кожи / И.М. Разнатовский // Вестник дерматологии и венерологии. – 1976. - № 6. - 42-6 с.

43. Разнатовский, И.М. Эволюция взглядов на группу параспориозов Брока / И.М. Разнатовский // Вестник дерматологии и венерологии – 1975. – Т.2. - 46-48 с.

44. Разнатовский, И.М. Параспориозы Брока и их отношение к лимфомам кожи: автореф. дис. ... докт.мед. наук: 14.01.10 / Разнатовский Игорь Михайлович. - Москва, 1982. – 22 с.

45. Родионов, А.Н. Дерматология: иллюстрированное руководство клинической диагностики по профессору Родионову А.Н. / А.Н. Родионов, Д.В. Заславский, А.А. Сыдилов // Москва: Граница. - 2018. - 944 с.

46. Родионов, А.Н. Место узкополосной (311нм) УФБ-терапии в лечении мелкобляшечного параспориоза / А.Н. Родионов, К. И. Разнатовский, Т. С. Смирнова, В. Ю. Дудко, А. А. Сыдилов, Н. Ф. Патрова // Клиническая дерматология и венерология. – 2012. – Т. 10. – №. 6. – 98-103 с.

47. Самцов, А.В. Гистологические дифференциально-диагностические признаки раннего грибовидного микоза и мелкобляшечного параспориоза, установленные с помощью экспертной системы/ А.В. Самцов, В.В. Барбинов, Д.В. Казаков// Журнал дерматовенерологии и косметологии. – 1998 – № 1 – 12-24 с.

48. Сидорова, Ю.В. Т-клеточная клональность в диагностике лимфопролиферативных заболеваний: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.29 / Сидорова Юлия Владимировна. – Москва, 2004. – 36 с.

49. Сидорова, Ю. В. Определение клональности методом ПЦР при ангиоиммунобластной Т-клеточной лимфоме / Ю. В. Сидорова, Е. Е. Никулина, Н. Г. Чернова, Л. Г. Горенкова, Е. А. Гилязитдинова, С. К. Кравченко // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. - 2014. - Т. 7. - №. 2. - 194-196 с.
50. Сидорова, Ю.В. Опыт использования ПЦР для определения Т-клеточной клональности / Ю.В. Сидорова, Е.А. Никитин, М. Пекло, Т.Н. Власик, Р.С. Самойлова // Терапевтический архив. - 2003. - № 7. - 48-52 с.
51. Скрек, С.В. Клинико-морфологическая и молекулярно-генетическая характеристика больных первичными лимфомами кожи: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.10 / Скрек Сергей Владиславович. - Санкт-Петербург, 2011. - 36 с.
52. Скрипкин, Ю.К. Кожные и венерические болезни. Руководство для врачей / Скрипкин Ю.К., Мордовцева В.Н. // Москва: Медицина. 1999. - Т.2. - 501-521 с.
53. Сыдилов, А.А. Иммуногистохимические критерии диагностики мелкобляшечного параспориоза, крупнобляшечного параспориоза и грибовидного микоза / А.А. Сыдилов, Д.В. Заславский, В.С. Зайцев, Р.А. Насыров // Современные проблемы науки и образования. - 2013. - № 6. - 568 с.
54. Сыдилов, А.А. Клинико-морфологическая характеристика крупнобляшечного и мелкобляшечного параспориоза: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.10., 14.03.02 / Сыдилов Акмаль Абдирахарович. - Санкт-Петербург. - 2013. - 36 с.
55. Сыдилов, А. А. Об эволюции взглядов на группы параспориозов Брока / А.А. Сыдилов, Д.В. Заславский, В.С. Зайцев, Р.А. Насыров // Современные проблемы науки и образования. - 2013. - № 5. Режим доступа: [http:// www.science-education.ru/III-10335](http://www.science-education.ru/III-10335).

56. Тарасов В.В. Терапия лимфом кожи (отдаленные результаты и прогноз): автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.10 / Тарасов Виталий Вячеславович // Санкт-Петербург. – 2011. – 24-26 с.
57. Федоровская А.В. Совершенствование методов дифференциальной диагностики эритродермической формы Т-клеточной лимфомы кожи: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.10 / Федоровская Анастасия Владимировна // Москва. - 2012. – 16-19 с.
58. Швец, О.И. Профессиональные факторы, повышающие риск развития кожных лимфом / Н.Н. Потекаев, И.В. Хамаганова, О.И. Швец // Клиническая дерматология и венерология. – 2014. -№2. - 100-103 с.
59. Швец, О.И. Проблемы эпидемиологии, диагностики, организации медицинской помощи пациентам с лимфомами кожи / Н.Н. Потекаев, И.В. Хамаганова, А.А. Алмазова, Г.А. Лебедева, В.П. Лысенко, О.И. Швец // Клиническая дерматология и венерология. - 2013. - №4. - 4- 7 с.
60. Ackerman A. B., Schiff T. A. If small plaque (digitate) parapsoriasis is a cutaneous T-cell lymphoma, even an 'abortive' one, it must be mycosis fungoides! // Archives of dermatology. – 1996. – Т. 132. – №. 5. – 562-566 p.
61. Adler B. L., Krausz A. E., Minuti A., Silverberg J. I., Lev-Tov H. Epidemiology and treatment of angiolymphoid hyperplasia with eosinophilia (ALHE): A systematic review // Journal of the American Academy of Dermatology. – 2016. – Т. 74. – №. 3. – 506-512 p. e11.
62. Alibert J. L. M. Description des maladies de la peau observees a l'hospital Saint-Louis et exposition des meilleures methodes suivies pour leur traitement // Barrois l'aîné et Fils. – 1806. – Т. 113.
63. Bazin E. Leçons sur le traitement des maladies chroniques en général et des affections de la peau en particulier: par l'emploi comparé des eaux

minérales de l'hydrothérapie et des moyens pharmaceutiques professées à l'hôpital Saint Louis. – Delahaye, 1870.

64. Belousova I. E., Vanecek T., Samtsov A.V., Michal M., Kazakov D.V. A patient with clinicopathologic features of small plaque parapsoriasis presenting later with plaque-stage mycosis fungoides: report of a case and comparative retrospective study of 27 cases of “nonprogressive” small plaque parapsoriasis //Journal of the American Academy of Dermatology. – 2008. – T. 59. – №. 3. – 474-482 p.

65. Berger C. L., Hanlon D., Kanada D. Dhodapkar M, Lombillo V. The growth of cutaneous T-cell lymphoma is stimulated by immature dendritic cells //Blood. – 2002. – T. 99. – №. 8. – 2929-2939 p.

66. Bergman R., Faclieru D., Sahar D., Sander C. A., Kerner H., Ben-Aryeh Y., Friedman-Birnbaum R. Immunophenotyping and T-cell receptor γ gene rearrangement analysis as an adjunct to the histopathologic diagnosis of mycosis fungoides //Journal of the American Academy of Dermatology. – 1998. – T. 39. – №. 4. – 554-559 p.

67. Bernier C., Nguyen J.M., Quereux G., Renault J. J., Bureau, B., Dreno B. CD13 and TCR clone: markers of early mycosis fungoides //Acta dermato-venereologica. – 2007. – T. 87. – №. 2. – 155-159 p.

68. Bordignon M., Belloni-Fortina A., Pigozzi B., Saponeri A., Alaibac M. The role of immunohistochemical analysis in the diagnosis of parapsoriasis //Acta histochemica. – 2011. – T. 113. – №. 2. – 92-95 p.

69. Brambilla G., Mattioli F., Robbiano L., Martelli A. Studies on genotoxicity and carcinogenicity of antibacterial, antiviral, antimalarial and antifungal drugs //Mutagenesis. – 2012. – T. 27. – №. 4. – 387-413 p.

70. Braun-Falco O., Plewig G., Wolff H. H. Dermatology und Venereology. – 1990. - 848-850 p.

71. Brocq L: Les Parapsoriasis, par L. Brocq. Paris, Masson, 1902. - 433-468 p.

72. Burg G., Kempf W., Cozzio A., Feit J., Willemze R., S Jaffe E., Dummer R. WHO/EORTC classification of cutaneous lymphomas 2005: histological and molecular aspects //Journal of cutaneous pathology. – 2005. – T. 32. – №. 10. –647-674 p.
73. Burg G., Dummer R. Small plaque (digitate) parapsoriasis is an abortive cutaneous T-cell lymphoma and is not mycosis fungoides //Archives of dermatology. – 1995. – T. 131. – №. 3. – 336-338 p.
74. Cerroni L., K.Gatter and Kerl.H. Skin Lymphoma: The Illustrated Guide - 3th ed. Published Blackwell Publishing ISBN. 2014 – 28 p.
75. Chen F., Zhuang X., Lin L., Yu P., Wang Y., Shi Y., Hu G., Sun Y. New horizons in tumor microenvironment biology: challenges and opportunities //BMC medicine. – 2015. – T. 13. – №. 1. – 45 p.
76. Chiarion-Sileni V., Bononi A., Fornasa C. V., Soraru M., Alaibac M., Ferrazzi E., Salvagno L. Phase II trial of interferon- α -2a plus psolaren with ultraviolet light A in patients with cutaneous T-cell lymphoma //Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society. – 2002. – T. 95. – №. 3. – 569-575 p.
77. Choi T. S., Doh K. S., Kim S. H., Jang M. S., Suh K. S., Kim S. T. Clinicopathological and genotypic aspects of anticonvulsant-induced pseudolymphoma syndrome //British Journal of Dermatology. – 2003. – T. 148. – №. 4. – 730-736 p.
78. Clark D.P., Pazdernik N.J. Molecular Biology. Elsevier, 2013. - 55–61.
79. Dereure O., Levi, E., Kadin, M. E., Vonderheid, E. C. Infrequent Fas mutations but no Bax or p53 mutations in early mycosis fungoides: a possible mechanism for the accumulation of malignant T lymphocytes in the skin //Journal of Investigative Dermatology. – 2002. – T. 118. – №. 6. – 949-956 p.
80. des Champs-Bro B., Leroy-Cotteau A., Mazingue F., Pasquier F., François N., Corm S., Sendid B. Invasive fungal infections: epidemiology

- and analysis of antifungal prescriptions in onco-haematology //Journal of clinical pharmacy and therapeutics. – 2011. – T. 36. – №. 2. – 152-160 p.
81. Di R. Trolio, Di G. L., Barbiero E., Iacono A., Franco R., Delfino M. Expression of HECA-452 in parapsoriasis and mycosis fungoides //International journal of immunopathology and pharmacology. – 2006. – T. 19. – №. 1. – 105-110 p.
82. Eichmuller S., Usener D., Thiel D., Schadendorf D. Tumor-specific antigens in cutaneous T-cell lymphoma: expression and sero-reactivity //International journal of cancer. – 2003. – T. 104. – №. 4. – 482-487 p.
83. Ferreri A. J. M., Ponzoni M., Govi S., Pasini E., Mappa S., Vino A., Dolcetti R. Prevalence of chlamydial infection in a series of 108 primary cutaneous lymphomas //British journal of dermatology. – 2012. – T. 166. – №. 5. – 1121-1123 p.
84. Fitzpatrick T. B. Dermatology In General Medicine. – 7 Th.Ed. Edited By Klaus Wolff Et.Al. 2009. – 2641 p.
85. Gilchrest B. A., Parrish J. A., Tanenbaum L., Haynes H. A., Fitzpatrick T. B. Oral methoxsalen photochemotherapy of mycosis fungoides //Cancer. – 1976. – T. 38. – №. 2. – 683-689 p.
86. Girardi M., Heald P. W., Wilson L. D. The pathogenesis of mycosis fungoides //New England Journal of Medicine. – 2004. – T. 350. – №. 19. – 1978-1988 p.
87. Goeldel A. L., Cornillet-Lefebvre, P., Durlach, A., Birembaut, P., Bernard, P., Nguyen, P., Grange, F. T-cell receptor γ gene rearrangement in cutaneous T-cell lymphoma: comparative study of polymerase chain reaction with denaturing gradient gel electrophoresis and GeneScan analysis //British Journal of Dermatology. – 2010. – T.162. – №. 4. – 822-829 p.
88. Goteri G., Rupoli S., Campanati A., Costagliola A., Sabato S., Stramazzotti D., Picardi P., Canafoglia L., Pulini S., Ganzetti G., Offidani A.M., Leoni P. Lesional skin chemokine CTACK/CCL27 expression in mycosis fungoides and disease control by IFN- α and PUVA therapy

//American journal of translational research. – 2009. – T. 1. – №. 2. – 203-210 p.

89. Guitart J., Poiesz B. J., Dube D., Hutchison R. HIV-1 and an HTLV-II-associated cutaneous T-cell lymphoma [5](multiple letters) //New England Journal of Medicine. – 2000. – T. 343. – №. 4. – 303-304 p.

90. Herne K. L., Talpur R., Breuer-McHam J., Champlin R., Duvic M. Cytomegalovirus seropositivity is significantly associated with mycosis fungoides and Sézary syndrome: Presented in part at the 43rd annual meeting of the American Society of Hematology, Orlando, FL, December 8-11, 2001, and at the annual meeting of the American Academy of Dermatology, New Orleans, LA, February 24-28, 2002 //Blood. – 2003. – T. 101. – №. 6. – 2132-2135 p.

91. Herrmann J. J., Roenigk H.H., Hurria A., Kuzel T.M., Samuelson E., Rademaker A.W., Rosen S.T. Treatment of mycosis fungoides with photochemotherapy (PUVA): long-term follow-up //Journal of the American Academy of Dermatology. – 1995. – T. 33. – №. 2. – 234-242 p.

92. Horwitz S. M. Olsen E. A., Duvic M., Porcu P., Kim, Y. H. Review of the treatment of mycosis fungoides and Sézary syndrome: a stage-based approach //Journal of the National Comprehensive Cancer Network. – 2008. – T. 6. – №. 4. – 436-442 p.

93. Izban K. F., Hsi E. D., Alkan S. Immunohistochemical analysis of mycosis fungoides on paraffin-embedded tissue sections //Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc. – 1998. – T. 11. – №. 10. – 978-982 p.

94. Jawed S.I., Myskowski P.L., Horwitz S., Moskowitz A., Querfeld C. Primary cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides and Sézary syndrome): part I. Diagnosis: clinical and histopathologic features and new molecular and biologic markers //Journal of the American Academy of Dermatology. – 2014. – T. 70. – №. 2. – 205. e1-205. e16 p.

95. Johnson V. E., Vonderheid E.C., Hess A.D., Eischen C.M., McGirt L.Y. Genetic markers associated with progression in early mycosis fungoides //Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. – 2014. – T. 28. – №. 11. – 1431-1435 p.
96. Juliusberg F. Idem. – Jadassohn J. Handbuch der Haut-und Geschlechtskrankheiten. 1928. – Vol. 1. – 289-341 p.
97. Karipidis K., Benke G., Sim M., Fritschi L., Yost M., Armstrong B., Krickler A. Occupational exposure to power frequency magnetic fields and risk of non-Hodgkin lymphoma //Occupational and environmental medicine. – 2007. – T. 64. – №. 1. – 25-29 p.
98. Keehn C. A., Belongie I.P., Shistik G., Fenske N.A., Glass L.F. The diagnosis, staging, and treatment options for mycosis fungoides //Cancer Control. – 2007. – T. 14. – №. 2. – 102-111 p.
99. Kelly J. L., Drake M. T., Fredericksen Z. S., Asmann Y. W., Liebow M., Shanafelt T. D., Wang A. H. Early life sun exposure, vitamin D-related gene variants, and risk of non-Hodgkin lymphoma //Cancer Causes & Control. – 2012. – T. 23. – №. 7. – 1017-1029 p.
100. Kikuchi A., Naka W., Harada T., Sakuraoka K., Harada R., Nishikawa T. Parapsoriasis en plaques: its potential for progression to malignant lymphoma //Journal of the American Academy of Dermatology. – 1993. – T. 29. – №. 3. – 419-422 p.
101. Kim E. J., Hess S., Richardson S. K., Newton S., Showe L. C., Benoit B. M., Rook A. H. Immunopathogenesis and therapy of cutaneous T cell lymphoma //The Journal of clinical investigation. – 2005. – T. 115. – №. 4. – 798-812 p.
102. Kim Y. H., Liu H. L., Mraz-Gernhard S., Varghese A., Hoppe R. T. Long-term outcome of 525 patients with mycosis fungoides and Sezary syndrome: clinical prognostic factors and risk for disease progression //Archives of dermatology. – 2003. – T. 139. – №. 7. – 857-866 p.

103. Kim E. J., Hess S., Richardson S. K., Newton S., Showe L. C., Benoit B. M., Rook A. H. Immunopathogenesis and therapy of cutaneous T cell lymphoma //The Journal of clinical investigation. – 2005. – T. 115. – №. 4. – 798-812 p.
104. King-Ismael D., Ackerman A. B. Guttate parapsoriasis/digitate dermatosis (small plaque parapsoriasis) is mycosis fungoides //The American journal of dermatopathology. – 1992. – T. 14. – №. 6. – 518-30 p.; discussion 531-5.
105. Kopp K.L., Ralfkiaer U., Gjerdrum L.M., Helvad R., Pedersen I.H., Litman T., Jønson L., Hagedorn P.H., Krejsgaard T., Gniadecki R. STAT5-mediated expression of oncogenic miR-155 in cutaneous T-cell lymphoma //Cell cycle. – 2013. – T. 12. – №. 12. – 1939-1947 p.
106. Krejsgaard T., Odum N., Geisler C., Wasik M.A., Woetmann A. Regulatory T cells and immunodeficiency in mycosis fungoides and Sezary syndrome //Leukemia. – 2012. – T. 26. – №. 3. – 424-432 p.
107. Krejsgaard T., Ralfkiaer U., Clasen-Linde E., Eriksen K. W., Kopp K. L., Bonfeld C. M., Woetmann A. Malignant cutaneous T-cell lymphoma cells express IL-17 utilizing the Jak3/Stat3 signaling pathway //Journal of Investigative Dermatology. – 2011. – T. 131. – №. 6. – 1331-1338 p.
108. Kreuter A., Bischoff S., Skrygan M., Wieland U., Brockmeyer N. H., Stücker M., Gambichler T. High association of human herpesvirus 8 in large-plaque parapsoriasis and mycosis fungoides //Archives of dermatology. – 2008. – T. 144. – №. 8. – 1011-1016 p.
109. Kuzel T. M., Roenigk Jr H. H., Samuelson E., Herrmann J. J., Hurria A., Rademaker A. W., Rosen S. T. Effectiveness of interferon alfa-2a combined with phototherapy for mycosis fungoides and the Sézary syndrome //Journal of clinical oncology. – 1995. – T. 13. – №. 1. – 257-263 p.

110. Lambert W. C., Everett M. A. The nosology of parapsoriasis //Journal of the American Academy of Dermatology. – 1981. – T. 5. – №. 4. – 373-395 p.
111. Lasek W., Zagożdżon R., Jakobisiak M. Interleukin 12: still a promising candidate for tumor immunotherapy? //Cancer Immunology, Immunotherapy. – 2014. – T. 63. – №. 5. – 419-435 p.
112. Lazar, A. P. Parapsoriasis and mycosis fungoides: the Northwestern University experience , 1970 to 1985 / A.P. Lazar, W.A. Caro, H.H. Roenigk et al. // J Am Acad Dermatol. — 1989 Vol. 5 — P.919-923.
113. Lazar A. P., Caro W. A., Roenigk Jr. H. H., Pinski K. S. Parapsoriasis and mycosis fungoides: the Northwestern University experience, 1970 to 1985 //Journal of the American Academy of Dermatology. – 1989. – T. 21. – №. 5. – 919-923 p.
114. Litvinov I. V., Cordeiro B., Fredholm S., Ødum N., Zargham H., Huang Y. Analysis of STAT4 expression in cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) patients and patient-derived cell lines //Cell cycle. – 2014. – T. 13. – №. 18. – 2975-2982 p.
115. Litvinov I. V., Netchiporouk E., Cordeiro B., Zargham H., Pehr K., Gilbert M., Zhou Y., Moreau L., Woetmann A., Ødum N., Kupper T.S. Ectopic expression of embryonic stem cell and other developmental genes in cutaneous T-cell lymphoma //Oncoimmunology. – 2014. – T. 3. – №. 11. – e970025 p.
116. Liszewski W., Naym D.G., Biskup E., Gniadecki R. Psoralen with ultraviolet A-induced apoptosis of cutaneous lymphoma cell lines is augmented by type I interferons via the JAK1–STAT1 pathway //Photodermatology, photoimmunology & photomedicine. – 2017. – T. 33. – №. 3. – 164-171 p.
117. Lynch S. M., Mahajan R., Freeman L. E. B., Hoppin J. A., Alavanja M. C. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to butylate in

- the Agricultural Health Study (AHS) //Environmental research. – 2009. – T. 109. – №. 7. – 860-868 p.
118. Mao X., Lillington D., Scarisbrick J.J., Mitchell T., Czepulkowski B., Russell-Jones R. Molecular cytogenetic analysis of cutaneous T-cell lymphomas: identification of common genetic alterations in Sézary syndrome and mycosis fungoides //British Journal of Dermatology. – 2002. – T. 147. – №. 3. – 464-475 p.
119. Mao X., Orchard G., Vonderheid E.C., No well P.C., Bagot M., Bensussan A. Heterogeneous abnormalities of CCND1 and RB1 in primary cutaneous T-Cell lymphomas suggesting impaired cell cycle control in disease pathogenesis //Journal of Investigative Dermatology. – 2006. – T. 126. – №. 6. – 1388-1395 p.
120. Mao X., Orchard G., Mitchell T. J., Oyama N., Russell-Jones R., Vermeer M. H., Whittaker S. J. A genomic and expression study of AP-1 in primary cutaneous T-cell lymphoma: evidence for dysregulated expression of JUNB and JUND in MF and SS //Journal of cutaneous pathology. – 2008. – T. 35. – №. 10. – 899-910 p.
121. McKee P. H., Calonje E., Lazar A., Brenn T. McKee's Pathology of the Skin: With Clinical Correlations. – Elsevier Saunders, 2012. - 1311-1420 p.
122. McPherson R. A., Pincus M. R. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods E-Book. – Elsevier Health Sciences, 2017. - 1271–1281 p.
123. Merhi M., Raynal H., Cahuzac E., Vinson F., Cravedi J. P., Gamet-Payrastré L. Occupational exposure to pesticides and risk of hematopoietic cancers: meta-analysis of case–control studies //Cancer Causes & Control. – 2007. – T. 18. – №. 10. – 1209-1226 p.
124. Mignatti P., Rifkin D. B. Plasminogen activators and matrix metalloproteinases in angiogenesis //Enzyme and Protein. – 1996. – T. 49. – №13. – 117-137 p.

125. Morales-Suárez-Varela M. M., Olsen J., Johansen P., Kaerlev L., Guénel P., Arveux P., Llopis A. Occupational exposures and Mycosis Fungoides. A European multicentre case-control study (Europe) // *Cancer Causes & Control*. – 2005. – T. 16. – №. 10. – 1253-1259 p.
126. Mueller K. K., Yeager J. K. Clinical considerations in digitate dermatosis // *International journal of dermatology*. – 1997. – T. 36. – №. 10. – 767-767 p.
127. Nag F., Ghosh A., Biswas P., Chatterjee G., Biswas S. Ichthyosiform large plaque parapsoriasis: Report of a rare entity // *Indian journal of dermatology*. – 2013. – T. 58. – №. 5. – 385 p.
128. Navas I. C., Ortiz-Romero P. L., Villuendas R., Martínez P., García C., Gómez E., Piris M. A. p16INK4a gene alterations are frequent in lesions of mycosis fungoides // *The American journal of pathology*. – 2000. – T. 156. – №. 5. – 1565-1572 p.
129. Netchiporouk E., Litvinov I.V., Moreau L., Gilbert M., Sasseville D., Duvic M. Deregulation in STAT signaling is important for cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) pathogenesis and cancer progression // *Cell Cycle*. – 2014. – T. 13. – №. 21. – 3331-3335 p.
130. Nickoloff B. J. Light-microscopic assessment of 100 patients with patch/plaque-stage mycosis fungoides // *The American Journal of dermatopathology*. – 1988. – T. 10. – №. 6. – 469-477 p.
131. Niederhuber J.E., Armitage J.O., Doroshow J.H., Kastan M.B., Tepper J.E. *Abeloff's clinical oncology*. Elsevier, 2014. - 2060–2075 p.
132. Nikolaou V., Siakantaris M. P., Vassilakopoulos T. P., Papadavid E., Stratigos A., Economidi A., Antoniou C. PUVA plus interferon α 2b in the treatment of advanced or refractory to PUVA early stage mycosis fungoides: a case series // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2011. – T. 25. – №. 3. – 354-357 p.
133. Nishikomori R., Usui T, Wu CY, Morinobu A, O'Shea JJ, Strober W. Activated STAT4 has an essential role in Th1 differentiation and

- proliferation that is independent of its role in the maintenance of IL-12R β 2 chain expression and signaling //The Journal of Immunology. – 2002. – T. 169. – №. 8. – 4388-4398 p.
134. Oguz O., Engin B., Aydemir E. H. The influence of psoralen+ultraviolet A treatment on the duration of remission and prognosis in mycosis fungoides //Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. – 2003. – T. 17. – №. 4. – 483-485 p.
135. Olivier M., Goldgar D. E., Sodha N., Ohgaki H., Kleihues P., Hainaut P., Eeles R. A. Li-Fraumeni and related syndromes: correlation between tumor type, family structure, and TP53 genotype //Cancer research. – 2003. – T. 63. – №. 20. – 6643-6650 p.
136. Olsen E.A., Whittaker S., Kim Y. H., Duvic M., Prince H. M., Lessin S. R., Bernengo M. G. Clinical end points and response criteria in mycosis fungoides and Sézary syndrome: a consensus statement of the International Society for Cutaneous Lymphomas, the United States Cutaneous Lymphoma Consortium, and the Cutaneous Lymphoma Task Force of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer //Journal of Clinical Oncology. – 2011. – T. 29. – №. 18. – 2598-2607 p.
137. Querfeld C., Rosen S. T., Kuzel T. M., Kirby K. A., Roenigk H. H., Prinz B. M., Guitart J. Long-term follow-up of patients with early-stage cutaneous T-cell lymphoma who achieved complete remission with psoralen plus UV-A monotherapy //Archives of dermatology. – 2005. – T. 141. – №. 3. – 305-311 p.
138. Ralfkiaer U., Hagedorn P.H., Bangsgaard N., Lovendorf M.B., Ahler C.B., Svensson L. Diagnostic microRNA profiling in cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) //Blood. – 2011. – T. 118. – №. 22. – 5891-5900 p.
139. Rodd A. L., Ververis K., Karagiannis T. C. Current and emerging therapeutics for cutaneous T-Cell lymphoma: histone deacetylase inhibitors //Lymphoma. – 2012. – T. 2012. – 1-10 p.

140. Rodríguez-Gil Y., Palencia S.I., Lopez-Rios F., Ortiz P.L., Rodriguez-Peralto J.L.. Mycosis fungoides after solid-organ transplantation: report of 2 new cases //The American Journal of Dermatopathology. – 2008. – T. 30. – №. 2. – 150-155 p.
141. Roupe G., Sandström M. H., Kjellström C. PUVA in early mycosis fungoides may give long-term remission and delay extracutaneous spread //Acta dermato-venereologica. – 1996. – T. 76. – №. 6. – 475-478 p.
142. Rupoli S., Goteri G., Pulini S., Filosa A., Tassetti A., Offidani M., Cataldi I. Long-term experience with low-dose interferon- α and PUVA in the management of early mycosis fungoides //European journal of haematology. – 2005. – T. 75. – №. 2. – 136-145 p.
143. Samman P.D. The natural history of parapsoriasis en plaques (chronic superficial dermatitis) and prereticulotic poikiloderma //British Journal of Dermatology. – 1972. – T. 87. – №. 5. – 405-411 p.
144. Sanchez J. L., Ackerman A. B. The patch stage of mycosis fungoides. Criteria for histologic diagnosis //The American Journal of dermatopathology. – 1979. – T. 1. – №. 1. – 5-26 p.
145. Santucci M, Biggeri A, Feller AC, Massi D, Burg G. Efficacy of histologic criteria for diagnosing early mycosis fungoides: an EORTC cutaneous lymphoma study group investigation //The American journal of surgical pathology. – 2000. – T. 24. – №. 1. – 40 p.
146. Sekulović L. K., Cikota, B., Popović, M., Stojadinovic, O., Tarabar, O., Bašanović, J., Magić, Z. TCR γ gene rearrangement analysis in skin samples and peripheral blood of mycosis fungoides patients //Acta Dermatovenerologica Alpina, Pannonica et Adriatica. – 2007. – T. 16. – №. 4. – 149-155 p.
147. Smoller B. R. Immunoperoxidase techniques in the evaluation of cutaneous lymphocytic infiltrates //Seminars in cutaneous medicine and surgery. – 1996. – T. 15. – №. 4. – 300-307 p.

148. Smoller B. R., Bishop K., Glusac E., Kim Y.H., Hendrickson M. Reassessment of histologic parameters in the diagnosis of mycosis fungoides //The American journal of surgical pathology. – 1995. – T. 19. – №. 12. – 1423-1430 p.
149. Sommer V. H., Clemmensen O.J., Nielsen O., Wasik M., Lovato P., Brender C. In vivo activation of STAT3 in cutaneous T-cell lymphoma. Evidence for an antiapoptotic function of STAT3 //Leukemia. – 2004. – T. 18. – №. 7. – 1288-1295 p.
150. Southern E. M. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis //Journal of molecular biology. – 1975. – T. 98. – №. 3. – 503-517 p.
151. Spaccarelli N., Rook A. H. The use of interferons in the treatment of cutaneous T-cell lymphoma //Dermatologic clinics. – 2015. – T. 33. – №. 4. – 731-745 p.
152. Swerdlow S. H., Campo E., Pileri S.A. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms //Blood. – 2016. – T. 127. – №. 20. – 2375-2390 p.
153. Talpur R., Bassett R., Duvic M. Prevalence and treatment of Staphylococcus aureus colonization in patients with mycosis fungoides and Sézary syndrome //British Journal of Dermatology. – 2008. – T. 159. – №. 1. – 105-112 p.
154. Tili E, Michaille JJ, Wernicke D, Alder H, Costinean S, Volinia S, Croce CM. Mutator activity induced by microRNA-155 (miR-155) links inflammation and cancer //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2011. – T. 108. – №. 12. – 4908-4913 p.
155. Toonstra J., Wildschut A., Boer J., Smeenk G., Willemze R., van der Putte S. C., van Vloten W. A. Jessner's lymphocytic infiltration of the skin: a clinical study of 100 patients //Archives of dermatology. – 1989. – T. 125. – №. 11. – 1525-1530 p.

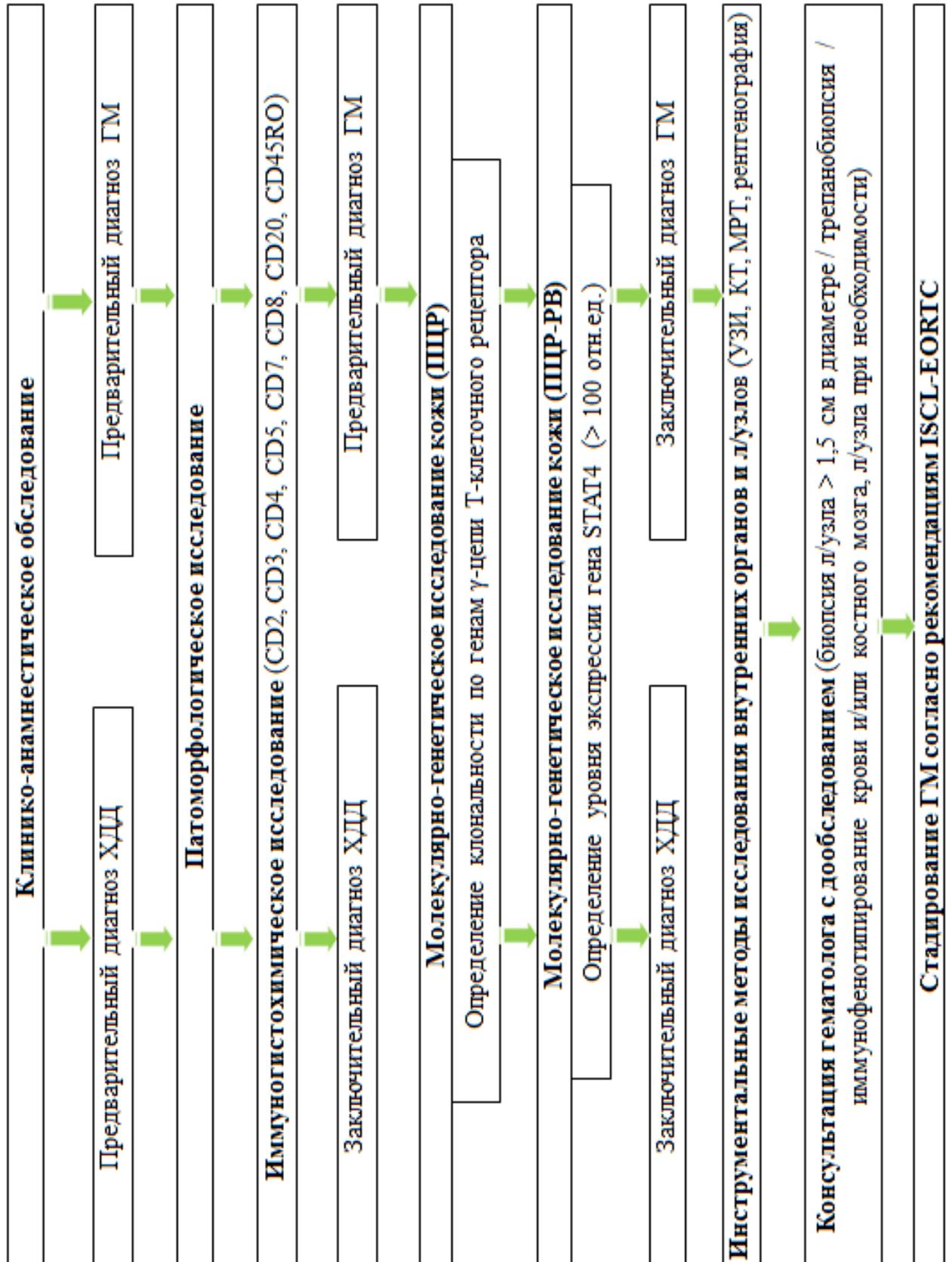
156. Trautinger F., Eder J., Assaf C., Bagot M., Cozzio A., Dummer R., Pimpinelli N. European Organisation for Research and Treatment of Cancer consensus recommendations for the treatment of mycosis fungoides/Sézary syndrome—Update 2017 //European journal of cancer. – 2017. – T. 77. – 57-74 p.
157. Villeneuve P. J., Agnew D. A., Miller A. B., Corey P. N. Non-Hodgkin's lymphoma among electric utility workers in Ontario: the evaluation of alternate indices of exposure to 60 Hz electric and magnetic fields //Occupational and environmental medicine. – 2000. – T. 57. – №. 4. – 249-257 p.
158. Warin A. P., Briffa D. V., Harrington C. I., Bleehen S. S. Photochemotherapy in mycosis fungoides--a study of fifty-six patients [proceedings] //The British journal of dermatology. – 1979. – T. 101. – 49-53 p.
159. Wolverton S. E. Comprehensive dermatologic drug therapy. – Elsevier Health Sciences, 2012.
160. Willemze R., JLM Meijer C. Classification of cutaneous T-cell lymphoma: from Alibert to WHO-EORTC //Journal of cutaneous pathology. – 2006. – T. 33. – 18-26 p.
161. Willerslev-Olsen A., Litvinov I.V., Fredholm S.M., Petersen D.L., Sibbesen D. L., Gniadecki N. A. IL-15 and IL-17F are differentially regulated and expressed in mycosis fungoides (MF) // Cell cycle. – 2014. – T. 13. – №. 8. – C. 1306-1312.
162. Wong O., Fu H. Exposure to benzene and non-Hodgkin lymphoma, an epidemiologic overview and an ongoing case-control study in Shanghai //Chemico-biological interactions. – 2005. – T. 153. – 33-41 p.
163. Wu J., Nihal M, Siddiqui J, Vonderheid EC. Low FAS/CD95 expression by CTCL correlates with reduced sensitivity to apoptosis that can be restored by FAS upregulation //Journal of Investigative Dermatology. – 2009. – T. 129. – №. 5. – 1165-1173 p.

164. Wysocka M., Benoit B.M., Newton S. Enhancement of the host immune responses in cutaneous T-cell lymphoma by CpG oligodeoxynucleotides and IL-15 //Blood. – 2004. – T. 104. – №. 13. – 4142-4149 p.
165. Yang H., Xu C., Tang Y., Wan, C., Liu W., Wang L. The significance of multiplex PCR/heteroduplex analysis-based TCR- γ gene rearrangement combined with laser-capture microdissection in the diagnosis of early mycosis fungoides //Journal of cutaneous pathology. – 2012. – T. 39. – №. 3. – 337-346 p.
166. Zackheim H. S., McCalmont T. H. Mycosis fungoides: the great imitator //Journal of the American Academy of Dermatology. – 2002. – T. 47. – №. 6. – 914-918 p.
167. Zhang Y., Wang Y., Yu R, Huang Y., Su M., Xiao C., Martinka M., Dutz J.P., Zhang X., Zheng Z., Zhou Y. Molecular markers of early-stage mycosis fungoides //Journal of Investigative Dermatology. – 2012. – T. 132. – №. 6. – 1698-1706 p.

ПРИЛОЖЕНИЕ А. Стадирование грибовидного микоза/синдрома Сезари согласно рекомендациям ISCL-EORTC [Olsen]

Стадия	T (кожа)	N (лимфатические узлы)	M (внутренние органы)
IA	T1: ограниченные пятна, папулы, и/или бляшки, покрывающие <10% кожного покрова: T1a – только пятна T1b – бляшки ± пятна	N0: Нет увеличения периферических лимфатических узлов, их биопсия не требуется	M0: Нет вовлечения внутренних органов
IB	T2: пятна, папулы, и/или бляшки, покрывающие >10% кожного покрова: T2a – только пятна T2b – бляшки ± пятна	N0: Нет увеличения периферических лимфатических узлов, их биопсия не требуется	M0
IIA	T1-2	N1: Периферические лимфатические узлы увеличены; гистопатология Dutch grade 1 или NCI LN ₀₋₂ LN _{1a} – клон-негативны LN _{1b} – клон-позитивны или N2: Периферические лимфатические узлы увеличены; гистопатология Dutch grade 2 или NCI LN ₃ LN _{2a} – клон-негативны LN _{2b} – клон-позитивны	M0
IIIB	T3: Один или более узлов (≥1 см в диаметре)	N0-2	M0
IIIA	T4: Сливающаяся эритема, покрывающая ≥80% поверхности тела	N0-2	M0
IIIB	T4	N0-2	M0
IVA₁	T1-4	N0-2	M0
IVA₂	T1-4	N3: Периферические лимфатические узлы увеличены; гистопатология Dutch grade 3-4 или NCI LN ₄ , клон-позитивны или негативны	M0
IVB	T1-4	N0-3	M1: Вовлечение внутренних органов (с уточнением органа и морфологическим подтверждением)

ПРИЛОЖЕНИЕ Б. Диагностический алгоритм ранних стадий грибовидного микоза



Примечание. ХДД – хронический доброкачественный дерматоз, ГМ – грибовидный микоз