

На правах рукописи

Макеенко Оксана Алексеевна

**ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВЫСОКОЧАСТОТНОГО  
УЛЬТРАЗВУКОВОГО СКАНИРОВАНИЯ КОЖИ И  
ГЕНЕТИЧЕСКИХ ТЕСТОВ У ПАЦИЕНТОВ С АТОПИЧЕСКИМ  
ДЕРМАТИТОМ И ВУЛЬГАРНЫМ ИХТИОЗОМ**

3.1.23. Дерматовенерология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2024

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор

**Сергеева Ирина Геннадьевна**

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук, доцент

**Летяева Ольга Ивановна**

(Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра дерматовенерологии, профессор кафедры, г. Челябинск)

кандидат медицинских наук, доцент

**Касихина Елена Игоревна**

(Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Московский научно-практический Центр дерматовенерологии и косметологии Департамента здравоохранения города Москвы», отдел клинической дерматовенерологии и косметологии, ведущий научный сотрудник)

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Нижний Новгород)

Защита состоится «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 г. в \_\_\_ : \_\_\_ часов на заседании диссертационного совета 21.2.046.07, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; тел.: (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Залесского, д. 4; тел. 8 (383) 229-10-83); <https://new.ngmu.ru/dissers/dissertation/371>)

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

**Т. А. Агеева**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность избранной темы.** Ксероз кожи является широко распространённым состоянием, сопровождающимся образованием мелких и крупных чешуек, трещин, зудом и повышением риска возникновения вторичной инфекции. Часто встречается на фоне атопического дерматита и вульгарного ихтиоза. Ксероз кожи нередко является профессиональным дерматозом среди представителей целого ряда профессий, в том числе и медицинских работников. Как результат нарушения функции эпидермиса, ксероз кожи связан с изменениями в роговом слое кожи, который играет важную роль в формировании надёжного кожного барьера. Филаггрин – важный структурный белок, способствующий терминальной дифференцировке эпидермиса и формированию рогового слоя. Нонсенс-мутации в гене филаггрина существенно чаще обнаруживаются у больных вульгарным ихтиозом и атопическим дерматитом. Однако пенетрантность и экспрессивность этих мутаций сильно отличается при этих заболеваниях. Есть мажорная мутация *2282del4* и много других мутаций также с образованием стоп-кодона. Сложности секвенирования гена филаггрина связаны с его структурой в виде 10–12 tandemных повторов. Поэтому возможность с помощью высокочастотного ультразвукового сканирования кожи заподозрить наличие мутаций в гене филаггрина очень актуальна.

Клинические рекомендации по лечению атопического дерматита основываются на степени тяжести заболевания, при этом не учитывается эндотип атопического дерматита. Так как атопический дерматит имеет гетерогенный характер, то пациенты по-разному реагируют на определённую терапию. Появление новых таргетных методов лечения атопического дерматита привело к необходимости деления пациентов на основе иммунологических биомаркеров (Елисютина О. Г. и соавт., 2018; Мурашкин Н. Н. и соавт., 2021; Daphne Bakker et al., 2023; Мухачева Д. А. и соавт., 2023). Выделяют две категории биомаркеров. Первая категория включает маркеры отбора, которые используют для выявления лиц с риском развития заболевания (скрининговые), пациентов с активным заболеванием (диагностические), групп пациентов, которые с наибольшей вероятностью получают эффект от данной терапии (прогностические). Вторая категория включает биомаркеры для мониторинга эффектов лечения и возможных побочных эффектов (биомаркеры тяжести течения заболевания и биомаркеры фармакодинамики). Биомаркеры можно получить из

крови, образцов биопсии кожи, но из-за своего инвазивного характера трудно использовать в крупномасштабных клинических исследованиях и у пациентов детского возраста.

Высокочастотное ультразвуковое сканирование (ВЧ УЗ) является неинвазивным, безопасным, широко распространенным диагностическим методом. ВЧ УЗ исследование кожи позволяет определить толщину эпидермиса и дермы, их эхогенность, наличие субэпидермальной гипоэхогенной полосы, что позволяет визуализировать признаки нарушения эпидермального барьера и воспаления в дерме (Сергеева И. Г. и соавт., 2020; Безуглый А. П. и соавт., 2021). А также возможно наблюдение состояния пациента в динамике, так как ВЧ УЗ сканирование безопасно при многократных исследованиях и не имеет противопоказаний. Кожа при atopическом дерматите и вульгарном ихтиозе отличается от кожи при atopическом дерматите без вульгарного ихтиоза при ультразвуковом сканировании. В настоящий момент практически нет данных о применении высокочастотного ультразвукового исследования у пациентов с вульгарным ихтиозом и пациентов с вариантами нуклеотидной последовательности в гене филагтрина, которые приводят к изменению структуры эпидермиса. На основании высокочастотных ультразвуковых биомаркеров можно отличить atopический дерматит от вульгарного ихтиоза даже при наличии зуда.

Таким образом, определение специфических биомаркеров, определяющих разные эндотипы atopического дерматита, имеет особое значение для определения степени тяжести заболевания, дифференциальной диагностики дерматозов, сопровождающихся ксерозом и применения биологической терапии у конкретных пациентов.

**Степень разработанности темы диссертации.** Деление пациентов с atopическим дерматитом на основе биомаркеров с целью персонализированного подхода к терапии отражается в исследованиях российских и зарубежных авторов (Мурашкин Н. Н. и соавт., 2021; Daphne Bakker et al., 2023). Неинвазивный метод диагностики оптическая когерентная томография по информативности приближается к биопсии кожи, но отсутствие надёжных ОКТ-отличий при воспалительных процессах и опухолях, недостаточная чёткая визуализация зоны эпидермально-дермального соединения, высокотехнологическое оборудование затрудняют

применение данного метода исследования в повседневной практике; недостатком конфокальной сканирующей лазерной микроскопии является ограниченная глубина исследования, техническая сложность, высокая стоимость оборудования, что побуждает к дальнейшему развитию неинвазивных способов диагностики в дерматологии (Christian Suihko et al., 2019; Joanna Czajkowska et al., 2019; Pedro Guimaraes et al., 2020). Высокочастотное ультразвуковое сканирование позволяет оценить патологические процессы, происходящие в коже при различных дерматозах (Polańska A. et al., 2013; 2015; 2017; Сергеева И. Г. и соавт., 2020; Levy J. et al., 2021). До сих пор продолжаются поиски простых, удобных в использовании и объективных методов диагностики для выявления биомаркеров атопического дерматита, дифференциальной диагностики атопического дерматита и вульгарного ихтиоза, а также других дерматозов. Данные о возможностях сочетания молекулярно-генетических и неинвазивных инструментальных методов исследования для оценки морфофункциональных параметров кожи и установления тяжести заболевания у пациентов с атопическим дерматитом и ихтиозом в литературе ранее не встречались, что определило цель данного исследования.

**Цель исследования.** Определение возможностей сочетания молекулярно-генетических и неинвазивных инструментальных методов исследования для оценки морфофункциональных параметров кожи у пациентов с атопическим дерматитом и вульгарным ихтиозом.

#### **Задачи исследования**

1. Оценить генетические факторы риска (варианты нуклеотидной последовательности в гене филаггрина и генах цитокинов воспаления *IL4* и *TNF*) у пациентов с разной степенью тяжести атопического дерматита.

2. Исследовать морфофункциональные параметры кожи в типичной для атопического дерматита локализации (внутренней поверхности локтевого сгиба) у пациентов с различной степенью тяжести атопического дерматита в сочетании и без сочетания с вульгарным ихтиозом.

3. Сравнить ультразвуковые параметры кожи туловища у пациентов с вариантами нуклеотидной последовательности в гене филаггрина вне очагов атопического дерматита.

**Научная новизна.** Впервые установлено, что генотип *C/T* гена *IL4* в 50 %

случаев и генотип *G/A* гена *TNF* в 33 % случаев в сочетании с патогенными вариантами нуклеотидной последовательности *2282del4* в гене филагтрина регистрируются у пациентов с atopическим дерматитом тяжёлой степени тяжести. Носительство аллеля «Т» и «А» является фактором риска тяжелого течения atopического дерматита резистентного к стандартной терапии.

Впервые показано, что наличие выраженной субэпидермальной гипохогенной полосы и гипохогенности дермы у пациентов с atopическим дерматитом без вульгарного ихтиоза в сравнении с пациентами с вульгарным ихтиозом и atopическим дерматитом позволяет отдифференцировать эти состояния даже при наличии зуда. Утолщение эпидермиса в 1,3 раза и в 2 раза субэпидермальной гипохогенной полосы, по сравнению с пациентами с лёгкой и средней степенью тяжести, характерно для тяжёлой степени тяжести atopического дерматита.

Впервые установлено, что толщина эпидермиса у детей с патогенными вариантами нуклеотидной последовательности в гене филагтрина вне очагов дерматозов в 2 раза больше, чем возрастная норма, у взрослых – в 1,5 раза. Патогенные варианты нуклеотидной последовательности в гене филагтрина приводит к изменению ультразвуковых характеристик не только в типичных местах локализации atopического дерматита, но и условно здоровой кожи.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Усовершенствована методика оценки морфофункциональных параметров кожи и определения тяжести заболевания у пациентов с atopическим дерматитом и вульгарным ихтиозом с помощью молекулярно-генетических и неинвазивных инструментальных (ВЧ УЗ) методов исследования.

Основные положения и выводы диссертации адаптированы для внедрения и использования в практике дерматологических лечебных учреждений.

В дерматологическом кабинете ООО «Здоровье», ООО «Клиника профессора Пасман», НИИФКИ клиника иммунопатологии, Медицинского научно-образовательного центра НГУ – клинических баз кафедры фундаментальной медицины Института медицины и психологии В. Зельмана ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» – оказывается первичная медико-санитарная специализированная помощь населению по вопросам молекулярно-генетических и неинвазивных инструментальных (ВЧ УЗ), доступных

методов диагностики atopического дерматита и вульгарного ихтиоза согласно разработанным в процессе исследования практическим рекомендациям, которые дополняют стандартный визуальный клинический осмотр пациентов с atopическим дерматитом и вульгарным ихтиозом для дальнейшего объективного контроля заболеваний. На клинических примерах у пациентов с atopическим дерматитом и вульгарным ихтиозом показана необходимость внедрения молекулярно-генетических и неинвазивных инструментальных методов исследования (ВЧ УЗ) в дерматологическую практику, что позволит улучшить диагностику патологических изменений кожи, непосредственные и отдалённые результаты лечения.

**Методология и методы диссертационного исследования.** Для достижения поставленной цели проведен поиск и анализ отечественных и иностранных научных исследований по этиологии, патогенезу, клинической картине atopического дерматита, вульгарного ихтиоза, ксероза кожи, по методам диагностики, в том числе современных неинвазивных методов, для оценки морфофункциональных параметров кожи и установления тяжести заболевания. Протокол обследования включал сбор жалоб и анамнеза, полный осмотр кожных покровов, фотодокументирование очагов поражения, также оценивали клинические индексы тяжести заболеваний (*SCORAD*, *PASI*, сухость кожи по Клигману), забор материала для определения вариантов нуклеотидной последовательности в гене филагтрина, проведение высокочастотного ультразвукового (ВЧ УЗ) исследования и оценку ультразвуковых характеристик кожи. Обработка полученных результатов исследования осуществлялась с применением методов стандартного статистического анализа.

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. Сочетание аллеля «А» гена *TNF* или аллель «Т» гена *IL4* с патогенными вариантами нуклеотидной последовательности *2282del4* в гене филагтрина является генетическим фактором риска тяжёлого atopического дерматита.

2. Высокочастотное ультразвуковое сканирование кожи позволяет отличить atopический дерматит от вульгарного ихтиоза. Ультразвуковые параметры кожи у пациентов с тяжёлой степенью тяжести atopического дерматита отличаются от параметров кожи пациентов с лёгкой и средней степенью тяжести atopического дерматита.

3. Изменения ультразвуковых характеристик условно здоровой кожи у

пациентов с атопическим дерматитом как у детей, так и взрослых регистрируется в виде утолщения эпидермиса и может быть ассоциировано с носительством патогенных вариантов нуклеотидной последовательности в гене филагтрина. Данный признак можно использовать как скрининговый для выявления пациентов с генетически обусловленным атопическим дерматитом с последующим проведением генетического исследования на патогенные варианты нуклеотидной последовательности в гене филагтрина.

**Степень достоверности.** Достоверность результатов диссертационного исследования подтверждается достаточным количеством наблюдений ( $n = 422$ ), современными методами исследования, которые соответствуют поставленным в работе цели и задачам. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, подкреплены убедительными фактическими данными, наглядно представленными в приведенных таблицах и рисунках. Подготовка, статистический анализ и интерпретация полученных результатов проведены с использованием современных методов обработки информации и статистического анализа.

**Апробация работы.** Материалы диссертации доложены и обсуждены на: Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы дерматовенерологии и эстетической медицины» (Ташкент, 2021), на 15-м Международном форуме дерматовенерологов и косметологов «Синтез науки и практики» (Москва, 2022), на конгрессе Европейской ассоциации дерматологов и венерологов – EADV Symposium 2022 (Ljubljana, 2022), на Батуниных чтениях, конкурсе молодых учёных (Нижний Новгород, 2022), на 16-м Всероссийском съезде национального альянса дерматовенерологов и косметологов (Москва, 2023), на EADV Symposium 2023 (Seville, 2023), на 25th World Congress of Dermatology 2023 (Singapore, 2023), на 17-м Всероссийском съезде национального альянса дерматовенерологов и косметологов (Москва, 2024).

Диссертационная работа апробирована на заседании кафедры фундаментальной медицины Института медицины и психологии В. Зельмана ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (Новосибирск, 2023).

**Внедрение результатов исследования.** Полученные результаты исследования



внедрены в работу Медицинского научно-образовательного центра при Институте медицины и психологии В. Зельмана ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (МНОЦ ИМПЗ НГУ), в дерматологическом кабинете ООО «Здоровье», ООО «Клиника профессора Пасман», НИИФКИ клиника иммунопатологии.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 16 печатных работ, в том числе 5 статей в научных журналах и изданиях, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 3 статьи в журналах категории К1 и 1 статья в журнале категории К2, входящих в список изданий, распределённых по категориям К1, К2, К3, в том числе 3 статьи в журнале, входящем в международную реферативную базу данных и систем цитирования Scopus.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 164 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырёх глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, списка иллюстративного материала и приложений. Указатель литературы включает 131 источник, из которых 111 – в зарубежных изданиях. Полученные результаты иллюстрированы с помощью 35 таблиц и 57 рисунков.

**Личный вклад автора.** Автором подготовлен анализ и обзор литературы по теме исследования, разработаны протокол исследования и первичная документация. Осуществлен отбор пациентов, разработан план обследования. Автором лично проведён сбор жалоб и анамнеза, полный осмотр кожных покровов, фотодокументирование очагов поражения, также оценивание клинических индексов тяжести заболеваний (*SCORAD*, *PASI*, сухость кожи по Клигману), забор материала для определения вариантов нуклеотидной последовательности в гене филагтрина, проведено высокочастотное ультразвуковое (ВЧ УЗ) исследование и оценка ультразвуковых характеристик кожи. Проведены статистическая обработка данных и анализ полученных результатов. Сформулированы выводы, научная и практическая значимость проведенного исследования. Подготовлены публикации по теме исследования, оформлен текст диссертации.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на кафедре фундаментальной медицины Института медицины и психологии В. Зельмана ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», на клинических базах кафедры: ООО «Здоровье» (директор Н. В. Зуева), г. Новосибирск, НИИФКИ – клиника иммунопатологии (директор доктор биологических наук Силков А. Н.), г. Новосибирск, ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН (директор кандидат химических наук Коваль В. В.), г. Новосибирск, ООО «Клиника профессора Пасман» (директор доктор медицинских наук, профессор Пасман Н. М), г. Новосибирск, Медицинский научно-образовательный центр НГУ (директор Долгова Н. А.), г. Новосибирск.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом НГУ при проведении биомедицинских исследований (протокол № 2 от 22.11.2021).

Критерии включения пациентов в исследование: пациенты с сухой кожей и атопическими заболеваниями в анамнезе, которые обратились на амбулаторный приём к дерматологу; наличие добровольного информированного согласия пациента на проведение исследования. Критерии исключения: отказ пациента в устной или письменной форме от участия в исследовании.

Контрольную группу составили люди, обратившиеся к дерматологу на профилактический осмотр (справка в бассейн, больницу, на работу) без сухости кожи и атопических заболеваний на момент осмотра и в анамнезе. Данная группа набиралась для проверки сопоставимости полученных результатов с данными, полученными для популяции в исследованиях Ю. В. Максимовой, по которым частота вариантов нуклеотидной последовательности в гене филаггрина в популяции города Новосибирска составляет 3,9 % (2013 год).

Все пациенты и члены контрольной группы были европеоидами, что исключало влияние этнического фактора на распределение частот генотипов и аллелей изучаемых вариантов нуклеотидной последовательности в группах.

Методом простой последовательной выборки среди пациентов, обратившихся на амбулаторный дерматологический приём в период с 2021 по 2023 год, были отобраны 333 пациента с дерматозами и ксерозом в возрасте от 2,5 мес. до 91 года (121 мужчин и 212 женщин, возраст 21 [6; 33] год) и 78 добровольцев группы

контроля (16 мужчин и 62 женщин, возраст 30 [23; 44] лет). Дополнительно к основной группе (n = 333), сформированной методом последовательной выборки пациентов, обративших на прием, была набрана группа из 11 детей с тяжелым, резистентным к терапии, течением атопического дерматита (*SCORAD* > 40), для которой также оценили наличие вариантов нуклеотидной последовательности в гене филаггрина и генах цитокинов, получающих терапию генно-инженерными препаратами в Институте клинической иммунологии.

*Протокол обследования* включал сбор жалоб и анамнеза, полный осмотр кожных покровов, фотодокументирование очагов поражения, также оценивали клинические индексы тяжести заболеваний (*SCORAD*, *PASI*, сухость кожи по Клигману), забор материала для определения вариантов нуклеотидной последовательности в гене филаггрина и генах цитокинов, проведение высокочастотного ультразвукового (ВЧ УЗ) исследования и оценку ультразвуковых характеристик кожи.

*Высокочастотное ультразвуковое сканирование* (ВЧ УЗ) кожи проводили всем пациентам с сухой кожей в местах типичной локализации очагов атопического дерматита – локтевой ямке, подколенном сгибе, коже щеки, а также в очагах дерматозов и на окружающей кожи.

Высокочастотный ультразвук (ВЧ УЗ) выполняли с использованием системы DUB SkinScanner (TRM, Люнебург, Германия) датчиком с частотой 75 МГц, пенетрацией 4 мм и разрешающей способностью 21 мкм. При данных параметрах визуализируется эпидермис и дерма. Максимальная толщина эпидермиса кожи человека составляет 0,3 мм, дермы – 4 мм., что даёт возможность чётко визуализировать слои кожи на разных анатомических участках, определять их толщину и эхоплотность *in vivo*, что в ряде случаев сопоставимо с гистологическим исследованием кожи в режиме реального времени (Безуглый А. П. и соавт., 2021; Polańska A. et al., 2013).

После нанесения контактной среды в виде геля на кожу пациентов, проводили сканирование выбранных участков кожи с формированием ультразвуковых изображений в В-режиме на экране компьютера.

Во время проведения ВЧ УЗ определяли толщину и эхоплотность эпидермиса, дермы и *SLEB* в данных областях до лечения атопического дерматита, во время и

после терапии, для каждого участка сравнивали сонограммы здоровой и изменённой кожи в одной локализации у одного пациента, а не кожу пациентов между собой, при оценке данных не сравнивали разные анатомические участки кожи, т. к. различные анатомические области отличаются по толщине эпидермиса и дермы.

*Проведение генетического тестирования* на варианты нуклеотидной последовательности *2282del4* (*rs558269137*), *R501X* (*rs61816761*), *R2447X* (*rs138726443*) в гене филагтрина и генах цитокинов выполняли для показателей, отобранных по базе OMIM.org как значимых факторов в развитии ксероза и патологии кожи. Среди пациентов с сухой кожей определяли полиморфизм генов цитокинов, ассоциированных с воспалением *Th* 1-го типа (*TNF*) и *Th* 2-го типа (*IL4*).

По данным литературы, с атопическим дерматитом ассоциированы генотипы генов *IL4* (*C/T* и *T/T*) и *TNF* (*G/A* и *A/A*), где названия нуклеотидов обозначаются как *C* – цитозин, *T* – тимин, *G* – гуанин, *A* – аденин (Beghe B. et al., 2003; Nasrin Behniafard et al., 2012). Замена нуклеотида *C* на *T* в *IL4* происходит в положении 589. Замена нуклеотида *G* на *A* в *TNF* происходит в положении 308.

При проведении ПЦР использовали методику TaqMan на амплификаторе «Real-Time CFX96 Touch». Сотрудники группы молекулярной генетики ИХБФМ СОРАН проводили работу по определению частот аллелей и генотипов полиморфных локусов, используя разработанные ими тест-системы (смотри приложение № 1). С помощью программного обеспечения «CFX Maestro для расширенного статистического анализа данных» осуществляли расшифровку результатов ПЦР.

*В процессе выполнения исследования были следующие этапы.*

*На первом этапе* определяли наличие вариантов нуклеотидной последовательности в гене филагтрина и генах цитокинов у пациентов с дерматозами и ксерозом ( $n = 333$ ), добровольцев без ксероза и атопических заболеваний на момент осмотра и в анамнезе ( $n = 78$ ) и у пациентов с тяжёлой степенью тяжести атопического дерматита ( $n = 11$ ) для оценки частоты встречаемости генетических вариантов у больных с дерматозами. По результатам первого этапа пациенты с ксерозом были разделены на две группы в зависимости от наличия или отсутствия вариантов нуклеотидной последовательности в гене филагтрина *2282del4*: 1-я группа 6 пациентов (5 мужчин и 1 женщина, возраст 18 [15; 33]) – гомозиготы и 53 больных (13 мужчин и 40 женщин, возраст 13 [5; 31]) – гетерозиготы, 2-я группа – 270 человек

(100 мужчин и 170 женщин, возраст 22 [7; 33]) – без вариантов нуклеотидной последовательности. Не вошли в данные группы 4 пациента (2 – с вариантом нуклеотидной последовательности в гене *R501X* и 2 – с вариантом нуклеотидной последовательности *R2447X*), так как такое количество пациентов не подлежит статистической обработке.

*На втором этапе* оценивали нозологический спектр дерматозов у пациентов двух групп с вариантами нуклеотидной последовательности *2282del4* в гене филагтрина и без вариантов нуклеотидной последовательности. Были выделены заболевания, которые чаще всего диагностировались у этих пациентов.

*На третьем этапе* из всей выборки отобрали пациентов с атопическим дерматитом лёгкой, средней и тяжёлой степенью тяжести и распределили их на три подгруппы. В каждой подгруппе отдельно оценивали тяжесть течения атопического дерматита, ответ на терапию, особенности заболевания. Проанализировали ассоциацию атопического дерматита с вариантами нуклеотидной последовательности в гене филагтрина и генах цитокинов. Рассмотрели особенности течения атопического дерматита у пациентов с вариантами нуклеотидной последовательности *R501X* и *R2447X*.

*Четвёртый этап* исследования включал проведение ВЧ УЗ и оценку ультразвуковых характеристик кожи у пациентов с вариантами нуклеотидной последовательности в гене филагтрина, больных атопическим дерматитом и другими дерматозами в очагах типичных для локализации атопического дерматита (внутренняя поверхность локтевого сгиба) и вне очагов дерматозов (спина).

Материалы исследования были подвергнуты статистической обработке с использованием методов непараметрического анализа с расчётом медианы и перцентилей (mediana [25; 75 перцентиль]). Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2016. Для сравнения двух независимых совокупностей в случаях отсутствия признаков нормального распределения данных использовали U-критерий Манна – Уитни. Вероятность справедливости нулевой гипотезы (p) принимали при 5 % уровне значимости ( $p < 0,05$ ). При сравнении нескольких (более двух) выборок количественных данных, имеющих распределение, отличное от нормального, использовали критерий

Краскела – Уоллиса, являющийся непараметрической альтернативой однофакторного дисперсионного анализа. Для степени значимости генетических факторов риска оценивали Odds ratio (OR). Распределение частот генотипов, аллелей соответствовало закону Харди – Вайнберга (P value,  $p < 0,05$ ). Для оценки межгрупповых различий использовали критерий Хи-квадрат ( $\chi^2$ ) Пирсона.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В контрольной группе ( $n = 78$ ) варианты нуклеотидной последовательности в гене филаггрина обнаружили у 4 (5,1 %) человек, из них 3 (3,8 %) были гетерозиготы по варианту нуклеотидной последовательности *2282del4* в гене филаггрина и 1 человек (1,3 %) – гетерозигота по варианту нуклеотидной последовательности *R501X*. В группе контроля преобладали генотипы *C/C* гена *IL4* – у 47 (60,2 %) участников и *G/G* гена *TNF* – у 64 (82 %) людей, которые не ассоциированы с атопическим дерматитом. Таким образом, в контрольной группе, несмотря на встречаемость вариантов нуклеотидной последовательности в гене филаггрина и генов цитокинов, не было представлено клинических проявлений дерматозов, при которых наблюдаются данные генетические изменения.

У 333 пациентов с дерматозами, сопровождающимися ксерозом (выраженность ксероза – 2–4 стадии по Клигману) были выявлены различные нозологические формы заболеваний. Атопический дерматит был выявлен в 66,7 % случаев у детей и в 29,9 % – у взрослых как самый частый дерматоз с ксерозом у пациентов, обратившихся на приём к дерматологу.

У пациентов с дерматозами и ксерозом ( $n = 333$ ) варианты нуклеотидной последовательности в гене филаггрина выявлены у 63 (18,9 %) человек, что в 3,7 раза чаще, чем в контрольной группе. Важно отметить, что несмотря на наличие ксероза, у большинства пациентов (270 (81,1 %) варианты нуклеотидной последовательности в гене филаггрина не были обнаружены. Как и в контрольной группе, среди пациентов с дерматозами, преобладали варианты нуклеотидной последовательности в гене филаггрина *2282del4* у 59 (17,7 %) человек, из них гомозиготами были 6 (10,2 %), гетерозиготами – 53 (89,8 %). Вариант нуклеотидной последовательности в гене филаггрина *R501X* выявлен только у 2 (0,6 %) пациентов, что показывает ее низкую встречаемость не только среди людей без заболеваний кожи и ксероза, но и среди пациентов с дерматозами. Вариант нуклеотидной последовательности *R2447X* был

также только у двух человек (родных братьев) с атопическим дерматитом.

Для уточнения генетического статуса пациентов с дерматозами ( $n = 333$  и  $n = 11$ ) по вариантам нуклеотидной последовательности генов филаггрина и цитокинов разделили на 3 подгруппы в зависимости от патологии кожи и сравнили их с добровольцами контрольной группы ( $n = 78$ ): в 1-ю подгруппу включили пациентов с атопическим дерматитом легкой и средней степени тяжести ( $n = 157$ ), во 2-ю подгруппу – пациентов с атопическим дерматитом тяжелой степени ( $n = 11$ ), в 3-ю подгруппу – пациентов с другими хроническими дерматозами ( $n = 176$ ).

Вариант нуклеотидной последовательности *2282del4* в гене филаггрина преобладал в подгруппе 2 (27,2 %) – у пациентов с тяжёлым течением атопического дерматита ( $p < 0,05$ ). У пациентов с лёгкой и средней степенью тяжести атопического дерматита вариант нуклеотидной последовательности *2282del4* в гене филаггрина выявлен в 24,2 % ( $p < 0,05$ ) случаев, в группе с дерматозами – в 12,5 %.

Оценивая частоту аллелей и генотипов *rs2243250* гена *IL4*, *rs1800629* гена *TNF* у пациентов с атопическим дерматитом и ксерозом, получили следующие результаты: генотип *C/T* гена *IL4* преобладал среди пациентов с атопическим дерматитом – 44,6 %, особенно с тяжёлым течением атопического дерматита – 63,6 % ( $p < 0,05$ ), резистентным к стандартной терапии и требующим назначения биологической терапии. Частота аллеля «*T*» гена *IL4* составила 21,2 % в контрольной группе, 26,1 % – среди пациентов 1-й подгруппы, 26,4 % – 3-й подгруппы и 31,8 % – у пациентов 2-й подгруппы. Частота аллеля «*A*» гена *TNF* значительно выше в подгруппе 2-й с тяжёлым течением атопического дерматита (22,7 %) по сравнению с контролем (10,3 %). Таким образом, наличие аллеля «*T*» гена *IL4* и аллеля «*A*» гена *TNF* являются факторами риска тяжёлого течения атопического дерматита.

Частота аллеля «*A*» гена *TNF* была выше у пациентов, нуждающихся в биологической терапии, при сравнении с пациентами, чувствительных к стандартной терапии (OR 2,07, CI [1,04–4,12], Chi2 13,76,  $p = 0,0002$ ), также при сравнении с пациентами с другими дерматозами (OR 2,17, CI [1,08–4,36], Chi2 17,64,  $p = 0,0000$ ) и при сравнении с контрольной группой (OR 2,57, CI [1,23–5,35], Chi2 10,42,  $p = 0,0012$ ). Частота аллеля «*T*» гена *IL4* была выше у пациентов с резистентностью к стандартной терапии атопического дерматита только при сравнении с контрольной группой (OR 1,74, CI [1,00–3,00], Chi2 4,55,  $p = 0,00329$ ).

Для оценки ультразвуковых характеристик кожи у пациентов с вариантами нуклеотидной последовательности в гене филагрина, больных atopическим дерматитом и другими дерматозами, проводили ВЧ УЗ сканирование кожи в очагах типичных для локализации atopического дерматита. Результаты ультразвукового сканирования кожи в области локтевых сгибов показали различие морфологических характеристик у пациентов с atopическим дерматитом с вульгарным ихтиозом и без него. Установлено, что у пациентов с atopическим дерматитом без вульгарного ихтиоза толщина дермы и *SLEB* в локтевом сгибе оказались выше, а эхоплотность дермы и *SLEB* ниже, чем у пациентов с atopическим дерматитом и вульгарным ихтиозом ( $p < 0,05$ ). Снижение эхоплотности дермы и увеличение толщины *SLEB* характерны для более выраженной воспалительной реакции при atopическом дерматите без вульгарного ихтиоза. Следовательно, кожа при atopическом дерматите и вульгарном ихтиозе отличается от кожи при atopическом дерматите без вульгарного ихтиоза при ультразвуковом сканировании, что позволяет отличать эти состояния даже при наличии зуда.

На следующем этапе сравнили эхоструктурные показатели кожи внутренней поверхности локтевых сгибов у пациентов с лёгким, средним и тяжёлым течением atopического дерматита. Изменение ультразвуковых характеристик кожи в первую очередь касались толщины эпидермиса, который был в 1,3 раза толще у пациентов с тяжёлым течением atopического дерматита, чем у пациентов с лёгкой и средней степенью тяжести. У пациентов с тяжелой степенью atopического дерматита толщина эпидермиса локтевого сгиба была выше ( $p < 0,05$ ). Толщина *SLEB* в области локтевого сгиба у пациентов подгруппы 1 по сравнению с пациентами подгруппы 2 имела тенденцию к увеличению ( $p = 0,057882$ ).

Для оценки ультразвуковых параметров кожи вне очагов atopического дерматита проводили ВЧ УЗ исследование кожи спины у пациентов с дерматозами в сочетании с сухостью кожи и вариантами нуклеотидной последовательности в гене филагрина. При исследовании было выявлено, что *Tэ*, *мкм* у детей составила 123 [99; 149] при референсных значениях 64 [54; 74], у взрослых 140 [110; 155] при референсных значениях у женщин 120 (min 95 max 134), у мужчин 124 (min 88 max 136), т. е. *Tэ* у детей с вариантом нуклеотидной последовательности в гене филагрина вне очагов дерматозов в 2 раза больше, чем возрастная норма, у взрослых



– в 1,5 раза [52, 125, 126]. Эхогенность эпидермиса у детей была 95 [84; 103] усл. ед., у взрослых – 101 [101; 103] усл. ед., т. е. Ээ спины у пациентов с вариантом нуклеотидной последовательности *2282del4* в гене филаггрина вне очагов дерматозов была меньше возрастной нормы. Таким образом, варианты нуклеотидной последовательности *2282del4* в гене филаггрина приводят к изменению ультразвуковых характеристик не только в типичных местах локализации атопического дерматита, но и условно здоровой кожи.

## ВЫВОДЫ

### 1. Данные генетического тестирования:

- вариант нуклеотидной последовательности *2282del4* (*rs558269137*) в гене филаггрина выявлен у пациентов с тяжёлым течением атопического дерматита в 27,2 % случаев, у пациентов с лёгкой и средней степенью тяжести атопического дерматита – в 24,2 %, в группе с другими хроническими дерматозами – в 12,5 %. В группе контроля вариант нуклеотидной последовательности *2282del4* в гене филаггрина составил 3,8 %;

- вариант нуклеотидной последовательности *R501X* (*rs61816761*) в гене филаггрина выявлен только в группе с лёгким и средним течением атопического дерматита в 1,3 % случаев, а также в группе контроля – в 1,3 %;

- вариант нуклеотидной последовательности *R2447X* (*rs138726443*) в гене филаггрина определен только в группе с лёгким и средним течением атопического дерматита – в 1,3 % случаев;

- пациенты без вариантов нуклеотидной последовательности выявлены в группе контроля в 94,9 % случаев, в группе с лёгким и средним течением атопического дерматита – в 73,2 %, в группе с дерматозами и ксерозом – в 87,5 %, в группе с тяжёлым течением атопического дерматита – в 72,8 %;

- генотип *C/T* гена *IL4* и генотип *G/A* гена *TNF* в сочетании с вариантом нуклеотидной последовательности *2282del4* (*rs558269137*) в гене филаггрина преобладали у пациентов с атопическим дерматитом тяжёлой степени тяжести в 50 % (OR = 1,739; p = 0,0329; p < 0,05) и 33 % (OR = 2,574; p = 0,0012; p < 0,05) соответственно. Носительство аллеля «Т» и «А» является фактором риска тяжелого течения атопического дерматита.

### 2. У пациентов с атопическим дерматитом без вульгарного ихтиоза толщина

дермы и субэпидермальной гиперэхогенной полосы в локтевом сгибе выше, а эхоплотность дермы и субэпидермальной гипоехогенной полосы ниже, чем при сочетании атопического дерматита и вульгарного ихтиоза ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует о более выраженной воспалительной реакции при атопическом дерматите без вульгарного ихтиоза и позволяет дифференцировать эти состояния даже при наличии зуда. Утолщение эпидермиса в 1,3 раза и в 2 раза субэпидермальной гипоехогенной полосы, по сравнению с пациентами с лёгкой и средней степенью тяжести, характерно для тяжёлой степени тяжести атопического дерматита.

3. Исследование морфофункциональных параметров кожи у пациентов с вариантами нуклеотидной последовательности в гене филагрина вне очагов дерматозов показало, что толщина эпидермиса у детей в 2 раза больше, чем возрастная норма, у взрослых – в 1,5 раза. Вариант нуклеотидной последовательности *2282del4* в гене филагрина приводит к изменению ультразвуковых характеристик не только в типичных местах локализации атопического дерматита, но и условно здоровой кожи. Данные признаки можно расценивать как маркёр наличия варианта нуклеотидной последовательности в гене филагрина у пациентов с атопическим дерматитом.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Для выявления фактора риска тяжелого течения атопического дерматита с целью разработки персонализированного медицинского подхода к пациентам с атопическим дерматитом и дальнейшей возможности объективного контроля заболевания рекомендовано определение вариантов нуклеотидной последовательности в гене филагрина и генов цитокинов (гена *IL4* и гена *TNF*), а также проведение высокочастотного ультразвукового исследования кожи с обязательной оценкой толщины эпидермиса и субэпидермальной гипоехогенной полосы внутренней поверхности локтевого сгиба и спины.

2. В целях повышения качества дифференциальной диагностики атопического дерматита и вульгарного ихтиоза рекомендовано проведение высокочастотного ультразвукового исследования кожи с обязательной оценкой толщины субэпидермальной гипоехогенной полосы и эхогенности дермы, что позволит различить эти состояния даже при наличии зуда и назначить соответствующее лечение.

3. Рекомендовано проведение высокочастотного ультразвукового исследования кожи вне очагов дерматоза с целью оценки толщины эпидермиса, утолщение которого у детей больше в 2 раза, чем возрастная норма, у взрослых – в 1,5 раза, можно расценивать как маркёр наличия вариантов нуклеотидной последовательности в гене филаггрина у пациентов с атопическим дерматитом и основание для персонализированного подбора терапии с учётом наличия у пациента наследственно обусловленного дефекта кожного барьера.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Высокочастотное ультразвуковое сканирование кожи как метод контроля биологической терапии воспалительных заболеваний кожи / В. Н. Подчасов, Т. В. Ковалевская-Кучерявенко, Н. В. Кох [и др., в том числе **О. А. Макеенко**] // **Южно-Уральский медицинский журнал.** – 2022. – № 1 – С. 17–31.

2. **Макеенко, О. А.** Клинический разбор пациентов гомозигот по мутации 2282del4 (rs558269137) в гене филаггрина / **О. А. Макеенко**, Н. В. Кох, И. Г. Сергеева // **Клиническая дерматология и венерология.** – 2022. – Т. 21, № 3. – С. 390–398.

3. **Макеенко, О. А.** Клиническая характеристика пациентов с мутацией в гене филаггрина на приёме дерматолога / **О. А. Макеенко**, Н. В. Кох, И. Г. Сергеева // **Клиническая дерматология и венерология.** – 2022. – Т. 21, № 3. – С. 317–324.

4. Морфологические особенности изменений кожи при неопределённой клинической картине псориаза и атопического дерматита у детей / Н. В. Юрина, Т. А. Агеева, **О. А. Макеенко** [и др.] // **Уральский медицинский журнал.** – 2023. – Т. 22, № 2. – С. 102–108.

5. Ерёмина, А. А. Внедрение современных генетических и инструментальных методов обследования в ведении пациентов с вульгарным ихтиозом и атопическим дерматитом / А. А. Ерёмина, **О. А. Макеенко**, И. Г. Сергеева // **Клиническая дерматология и венерология.** – 2023. – Т. 22, № 4. – С. 399–405.

6. Ультразвуковое исследование кожи у пациентов с мутацией 2282del14 / А. А. Ерёмина, **О. А. Макеенко**, И. Г. Сергеева, А. И. Якубович // Актуальные проблемы дерматовенерологии и эстетической медицины : материалы Международной научно-практической конференции. – Ташкент, 2021. – С. 31.

7. **Макеенко, О. А.** Ультразвуковое сканирование кожи у пациентов с ихтиозом / **О. А. Макеенко**, А. А. Ерёмина, И. Г. Сергеева // Синтез науки и практики : материалы 15-го Международного форума дерматовенерологов и косметологов. – Москва, 2022. – С. 17.

8. Сочетание ихтиоза и атопического дерматита у пациентов с мутацией 2282del4 в гене филаггрина / А. А. Еремина, А. В. Герлингер, **О. А. Макеенко** [и др.] // Синтез науки и практики : материалы 15-го Международного форума дерматовенерологов и косметологов. – Москва, 2022. – С. 8.
9. **Makeenko, O.** Ultrasound of ichthyosis patients' skin in typical atopic dermatitis areas / **O. Makeenko**, A. Eremina, I. Sergeeva // EADV Symposium 2022. – Ljubljana, 2022. – P. 466.
10. Еремина, А. А. Ультразвуковые характеристики кожи пациентов с ихтиозом и атопическим дерматитом / А. А. Ерёмина, **О. А. Макеенко**, И. Г. Сергеева // Батунинские чтения : материалы конкурса молодых учёных. – Нижний Новгород, 2022.
11. **Макеенко, О. А.** Алгоритм ведения пациентов с сухостью кожи при использовании современных генетических и инструментальных методов / **О. А. Макеенко**, А. А. Ерёмина, И. Г. Сергеева // 16-й Всероссийский съезд национального альянса дерматовенерологов и косметологов : материалы. – Москва, 2023. – С. 2.
12. Еремина, А. А. Высокочастотное ультразвуковое исследование кожи у пациентов с атопическим дерматитом и вульгарным ихтиозом / А. А. Ерёмина, **О. А. Макеенко**, И. Г. Сергеева // 16-й Всероссийский съезд национального альянса дерматовенерологов и косметологов : материалы. – Москва, 2023. – С. 7.
13. **Makeenko, O.** Polymorphism of the IL-4 cytokine gene in the development of dermatoses / **O. Makeenko**, A. Eremina, I. Sergeeva // EADV Symposium 2023. – Seville, 2023. – № 720.
14. **Makeenko, O.** Polymorphism of the TNF- $\alpha$  cytokine gene in the development of dermatoses / **O. Makeenko**, A. Eremina, I. Sergeeva // EADV Symposium 2023. – Seville, 2023. – № 721.
15. Polymorphisms of IL-4 and TNF- $\alpha$  genes in patients with atopic dermatitis / A. Yeremina, A. Gerlinger, **O. Makeenko** [et al.] // 25th World Congress of Dermatology 2023. – Singapore, 2023. – Abstrakt.
16. **Макеенко, О. А.** Высокочастотное ультразвуковое сканирование кожи вне очагов дерматозов у пациентов с вариантами нуклеотидной последовательности в гене филаггрина / **О. А. Макеенко**, А. А. Ерёмина, И. Г. Сергеева // 17-й Всероссийский съезд национального альянса дерматовенерологов и косметологов : материалы. – Москва, 2024. – С. 4.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВЧ УЗ	– высокочастотный ультразвук
МГц	– мегагерц
мм	– миллиметр
мкм	– микрометр
Тэ	– толщина эпидермиса
Ээ	– эхоплотность эпидермиса
усл. ед.	– условных единиц
<i>SLEB</i>	– субэпидермальная гипоэхогенная полоса