

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ  
«МОСКОВСКИЙ ОБЛАСТНОЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
КЛИНИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ИМЕНИ М.Ф. ВЛАДИМИРСКОГО»

*На правах рукописи*

Хынку Евгений Фёдорович

**Методы неинвазивной оптической спектрометрии в диагностике  
бляшечной склеродермии**

3.1.23. Дерматовенерология

Диссертация  
на соискание учёной степени  
кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**  
доктор медицинских наук, доцент  
Молочкова Юлия Владимировна

Москва – 2026

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ .....	4
ГЛАВА 1. АКТУАЛЬНЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ЭТИОЛОГИИ, ПАТОГЕНЕЗЕ ЛОКАЛИЗОВАННОЙ СКЛЕРОДЕРМИИ И СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) .....	15
1.1. Этиология локализованной склеродермии .....	16
1.2. Актуальные научные представления о патогенезе локализованной склеродермии .....	21
1.2.1. Иммунная дисрегуляция и эндотелиальная дисфункция .....	21
1.2.2. Избыточное отложение коллагена .....	26
1.2.3. Регуляция внеклеточного матрикса .....	28
1.2.4. Клинические стадии и патологические фазы формирования локализованной склеродермии .....	29
1.3. Современные подходы к терапии локализованной склеродермии.....	32
1.4. Современные подходы к диагностике локализованной склеродермии .....	39
1.4.1. Современные достижения в области объективных неинвазивных методов диагностики локализованной склеродермии .....	42
1.4.2. Ультразвуковая диагностика локализованной склеродермии .....	45
1.4.3. Лазерная доплеровская флоуметрия и лазерная доплеровская визуализация .....	48
1.4.4. Инфракрасная термография.....	50
1.4.5. Другие методы неинвазивной оценки локализованной склеродермии.....	52
1.4.6. Потенциальная применимость лазерной флюоресцентной спектроскопии в оценке очагов локализованной склеродермии.....	54
1.5. Выводы .....	56
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	59
2.1. Дизайн исследования .....	59
2.2. Общая характеристика материалов исследования .....	61
2.2.1. Общая характеристика экспериментальной группы .....	61
2.2.2. Общая характеристика контрольной группы исследования .....	63

2.3 Методы клинического, инструментального и лабораторного исследования ...	64
2.3.1. Методы общеклинического исследования.....	64
2.3.2. Инструментальные методы исследования .....	64
2.3.3. Верифицирующая панч-биопсия и гистологическое исследование.....	70
2.4. Методы статистической обработки .....	71
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИНСТРУМЕНТАЛЬНО-ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГРУППЕ.....	72
3.1. Результаты анализа эндогенной флюоресценции и микроциркуляции в экспериментальной группе .....	72
3.1.1. Результаты статистического анализа индексов тканевого содержания флюорофоров и показателя микроциркуляции в экспериментальной группе .....	72
3.1.2. Результаты статистического анализа нормированных индексов тканевого содержания флюорофоров и показателя микроциркуляции .....	82
3.1.3. Результаты ультразвукового исследования .....	86
3.1.4. Результаты гистологического исследования .....	91
ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ИНТЕРПРЕТАЦИИ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛФС И ЛДФ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ И ПОТЕНЦИАЛЬНОЕ ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ.....	93
4.1. Алгоритм объективного определения ведущего патологического процесса в очагах при бляшечной склеродермии.....	93
4.2. Проверка работы алгоритма диагностики на экспериментальной группе .....	96
4.3. Проверка алгоритма диагностики на контрольной исследуемой группе пациентов.....	104
4.3.1. Анализ применимости алгоритма диагностики в клинической практике ..	107
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	110
ВЫВОДЫ .....	115
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....	118
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ .....	119
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	121
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	123

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Склеродермия – термин, объединяющий широкий круг заболеваний соединительной ткани, до конца неизвестной этиологии, при которых возникает обширное повреждение микрососудистого русла и чрезмерный синтез коллагена в экстрацеллюлярном матриксе кожи и внутренних органов (патологическое ремоделирование соединительной ткани-склероз). Общепринятым считается подразделять на две большие группы заболеваний: системный склероз (системная склеродермия) и очаговый склероз (локализованная склеродермия) [22, 132]. Очаговая склеродермия (синоним локализованная склеродермия (ЛС) или морфея) относится к фибропролиферативным, хроническим и аутоиммунным заболеваниям из группы коллагенозов, которая клинически проявляется формированием воспалительно-склеротических очагов, как правило ограниченных кожей. Однако при определенных типах ЛС наблюдается вовлечение в патологический процесс подкожно-жировой клетчатки, фасций, мышц или костей, но без вовлечения в внутренних органов [22, 132].

По имеющимся эпидемиологическим исследованиям заболеваемость ЛС колеблется в пределах 0,4–2,7 на 100 тысяч человек. Также сообщается о преобладании заболевания у женщин (Ж/М =2,4-4,2:1) [49, 113, 152]. Данных за различную распространённость ЛС среди детей и взрослых – нет, при этом средний возраст дебюта заболевания среди детей колеблется от 2 до 14 лет, средний возраст манифестации ЛС у взрослых 30–40 лет. У детей чаще наблюдается линейный тип ЛС, а у взрослых ограниченный тип бляшечной склеродермии [152]. Стоит отметить, что именно бляшечный подтип склеродермии в популяции взрослого населения имеет наибольшую распространенность в структуре других форм локализованной склеродермии [2, 23]. Согласно данным о деятельности и ресурсах медицинских организаций дерматовенерологического профиля в Российской Федерации заболеваемость и распространенность ЛС на 100000 населения в 2010

г. составили 3,5 и 11,9 человек соответственно, тогда как в 2021 г. данные показатели уже составили 4,1 и 16,8 соответственно, что может говорить об увеличении заболеваемости и распространенности ЛС [20]. Также согласно некоторым эпидемиологическим исследованиям, доля ЛС в структуре дерматологической патологии растет от года к году [7, 16].

Так как пик заболеваемости приходится на долю взрослого и работоспособного населения, заболевание часто сопровождается временной утратой трудоспособности, выраженными косметическими дефектами и снижением качества жизни пациентов. Поэтому актуальность совершенствования методов терапии и диагностики ЛС остается чрезвычайно высокой в современной практике врача-дерматолога.

В патогенезе болезни ключевую роль играет воспалительное, иммуноопосредованное повреждение эндотелия сосудов, приводящее к оксидативному стрессу и функциональной гипоксии, сопровождающееся гомогенизацией (дезорганизацией) коллагена, а в последующем и к усиленному синтезу коллагена и других белков внеклеточного матрикса с их плотной упаковкой в дерме [65, 77, 94]. На сегодняшний день представление о патофизиологии ЛС рассматривает данные процессы, как динамически протекающие и проходящие последовательно или частично перекрывающиеся друг друга [65]. При этом данные процессы склонны к реактивации, ввиду чего заболевание может носить рецидивирующе-ремитирующий характер [30].

Согласно современной концепции лечения фиброза есть необходимость объективно определять преобладающие патологические процессы в очаге поражения (воспаление-гипоксия-фиброз) для применения терапевтических агентов, направленных на конкретные патогенетические точки приложения [22, 85, 86]. Между тем актуальные исследования отмечают, что эффективность терапии ЛС также зависит от объективной оценки активности заболевания в динамике, на основании которой определяется объем, длительность и своевременность начала терапии [30, 45]. Однако стоит отметить, что до сих пор не разработаны этиологически направленные высокоэффективные персонифицированные методы

лечения бляшечной склеродермии, а терапевтические алгоритмы, включающие в себя определенное количество необходимых курсов терапии и строгие сроки их проведения все еще являются предметом обсуждения [3, 22]. Это, главным образом, является следствием нехватки методов для точной и объективной оценки ведущих патологических процессов и активности заболевания. На современном этапе в отечественной дерматологической практике преобладают субъективные методы оценки стадии процесса посредством проведения тактильной и визуальной диагностики, имеющие ряд недостатков, характерных и для других физикальных методов обследования. В зарубежной клинической практике наиболее широкое применение получили инструменты клинической оценки локализованной склеродермии кожи (Localized Scleroderma Cutaneous Assessment Tool – LoSCAT), который подразделяют на модифицированный индекс тяжести ЛС (Localized Scleroderma Skin Activity Index – LoSSI) и индекс повреждения кожи при ЛС (Localized Scleroderma Skin Damage Index – LoSDI). Индекс LoSSI оценивает следующие 3 признака заболевания: новые или увеличивающиеся очаги, выраженность эритемы, степень толщины кожи, ввиду чего его часто используется в качестве показателя оценки активности заболевания [45, 30]. Недостатками данного метода диагностики остаётся субъективность, зависимость от квалификации специалиста и ограниченность получаемых данных, при этом данные индексы наиболее применимы для линейного и генерализованного типа локализованной склеродермии в детском возрасте.

В современных исследованиях учеными часто поднимается вопрос о разработке неинвазивных и безопасных методов динамического контроля активности заболевания и объективной оценки ведущих патологических процессов в очаге поражения при ЛС. Есть данные о попытках применения различных инструментальных методов исследования (ЛДФ, УЗИ, термография), как правило направленных на получение лишь физико-технической информации, нередко требующей дорогостоящего оборудования, а также они сопряжены с необходимостью наличия высокой квалификации в работе с данными инструментами диагностики [82, 118, 155]. При этом большинство из этих методов

не могут предоставить исчерпывающую в полном объеме информацию и требуют дополнительных инструментов оценки заболевания, в том числе полуколичественных шкал (LoSCAT) и инвазивных процедур.

Единственным объективным и представляющим в полной мере информацию методом диагностики остается патогистологическое или гистоиммунохимическое исследование [22, 30, 45, 132], которое ввиду своей инвазивности, не может быть использовано в качестве динамического метода контроля заболевания.

Таким образом, актуальной и перспективной остаётся задача поиска маркеров активности заболевания, а также разработки методов их определения, способных отражать не только структурные, физические и функциональные изменения кожи, но и биохимические процессы в очаге поражения. Перспективным решением данной задачи может стать сочетанное использование лазерной флуоресцентной спектроскопии (ЛФС) и лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), позволяющих оценить функциональные изменения микроциркуляторного русла и количественно измерить изменения в биохимическом статусе в тканях *in vivo*. Данные методы обладают рядом преимуществ, к которым относятся относительная общедоступность, независимость результатов от квалификации специалиста, неинвазивность и безопасность.

Такой комплексный подход может дать возможность объективной оценки патофизиологических изменений в очагах поражения при бляшечной склеродермии (БС) и служить критерием активности заболевания при динамическом контроле, что позволит персонифицировать и повысить эффективность терапии.

### **Степень разработанности темы диссертации**

За последнее десятилетие множество научных трудов было посвящено изучению патогенеза локализованной склеродермии, что предполагает его достаточную изученность [46, 65, 74, 77].

В научных исследованиях описаны возможные корреляции воспалительных хемокинов периферической крови с полуколичественными шкалами (LoSSI) и глобальной оценкой активности заболевания врачом [77, 94, 125]. Также активно обсуждаются мнения использования ЛДФ, УЗИ и термографии как потенциальных методов для оценки активности заболевания, в том числе в настоящее время применяются клинические полуколичественные индексы. Однако стоит отметить, что подавляющее большинство исследований с применением данных методов проводилось с участием детской когорты больных с линейным подтипом ЛС.

Сегодня ни один из неинвазивных инструментальных методов диагностики не является оптимальным и не получил широкого клинического применения. Большинство методик направлено на отражение ограниченной информации о структурных или функциональных изменениях в тканях, они трудоемки в исполнении, дорогостоящие, не стандартизированы и нередко используются в исследованиях как дополнительный критерий оценки к субъективным клиническим шкалам. Также особого внимания заслуживает то, что из-за ограниченности информационных признаков данные методы диагностики не способны дифференцировать протекающие патофизиологические процессы внутри ткани.

Совокупное применение методов ЛФС и ЛДФ может представлять собой перспективный подход к решению указанных задач. В настоящее время, согласно актуальным литературным данным, продемонстрирована применимость этих методов для диагностики фиброза и воспаления. Отмечается, что порфирины, коллаген, липофусцин и НАД-Н могут рассматриваться в качестве перспективных эндогенных оптических маркеров для регистрации воспалительно-склеротических изменений тканей *in vivo*. [5, 9, 18]. Вместе с тем практическое применение оптической спектрометрии и флуориметрии носит ограниченный характер ввиду отсутствия четких алгоритмов применения и критериев оценки результатов. Комплексное использование ЛДФ и ЛФС никогда не применялось в диагностике бляшечной склеродермии.

Из вышеизложенного следует необходимость дальнейшего исследования путей решения указанных задач. Настоящая диссертационная работа направлена на изучение спектров эндогенной аутофлюоресценции и изменений микроциркуляторного русла в очагах БС, определение оптимальных оптических маркеров для объективизации патологического процесса на различных стадиях заболевания и оценки его активности с последующей разработкой методики диагностического исследования, а также критериев и алгоритма интерпретации результатов для клинической практики врача-дерматолога.

### **Цель исследования**

Разработка объективного неинвазивного оптического метода диагностики для объективизации стадий бляшечной склеродермии и оценки активности заболевания с использованием методов лазерной флюоресцентной спектроскопии и лазерной доплеровской флоуметрии.

### **Задачи исследования**

1. Изучить оптические характеристики очага поражения при бляшечной склеродермии на различных этапах развития патологического процесса (воспаление, индурация, склероз).
2. Определить оптимальные оптические маркеры для объективизации ведущего патологического процесса в очаге бляшечной склеродермии и оценки активности заболевания.
3. Разработать диагностический алгоритм оценки оптических характеристик кожи в очаге поражения на разных стадиях бляшечной склеродермии и оценить его клиническую применимость в отношении определения преобладающего патологического процесса и оценки активности заболевания.

## **Научная новизна исследования**

В рамках настоящей научной работы впервые проведена комплексная оценка показателей лазерной доплеровской флоуметрии и флюоресцентной спектроскопии в очагах бляшечной склеродермии с различной степенью активности процесса. На основании полученных данных определены оптимальные оптические маркеры для объективизации ведущего патологического процесса в каждом очаге и оценки активности заболевания. Результаты, полученные при оптической диагностике, соотносились с УЗИ и гистологической картиной. В качестве дополнительного критерия валидации объективности исследования было проведено УЗИ 30-ти пациентам и проведено 30 верифицирующих панч-биопсий из патологических очагов кожи, в зависимости от клинически преобладающего патологического процесса (воспаление – 10; индукция – 10; склероз – 10), после диагностики методами ЛФС и ЛДФ.

Впервые была разработана методика неинвазивной оптической диагностики с помощью совокупного применения методов флюоресцентной спектроскопии и доплеровской флоуметрии. Разработан алгоритм количественной оценки результатов исследования, основанный на пороговых значениях индексов тканевого содержания флюорофоров и показателей микроциркуляции с учётом упорядочивающих факторов, а также с определением чувствительности и специфичности диагностического метода.

На основании полученных результатов было описано и обосновано практическое применение данной методики диагностики для персонализации подходов терапии при бляшечной склеродермии и оценки активности заболевания в динамике.

## **Теоретическая и практическая значимость работы**

Теоретическая значимость проведенной работы заключается в описании и обосновании оптических свойств кожи в патологических кожных очагах при

бляшечной склеродермии на разных стадиях развития заболевания. Полученные результаты флюоресцентной спектроскопии и доплеровской флоуметрии согласуются с результатами УЗИ и гистологической картиной в очагах разной степени активности, что вносит новые аспекты в знания о патофизиологическом развитии локализованной склеродермии.

Согласно полученным в ходе исследования данным, был разработан практический алгоритм объективной неинвазивной диагностики *in vivo* для количественной оценки стадий бляшечной склеродермии, а также степени активности патологического процесса. Объективизация каждой стадии бляшечной склеродермии и динамический контроль активности заболевания позволят своевременно и обоснованно проводить лечение в соответствии с ведущим на момент обследования патологическим процессом, что будет способствовать повышению эффективности терапии и снижению риска рецидива заболевания.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Закономерные изменения комплексных показателей лазерной доплеровской флоуметрии и флюоресцентной спектроскопии при бляшечной склеродермии на различных этапах развития патологического процесса могут быть валидированы путем сопоставления их с данными ультразвукового и патоморфологического исследований кожи очагов поражения.

2. Нормированные индексы тканевого содержания порфиринов ( $\mu(K)630$ ), совокупности флюорофоров ( $\mu(K) 480$ ), коллагена ( $\mu(K)420$  и  $\mu(K)455$ ) и показатель микроциркуляции ( $\mu(K)ПМ$ ) являются наиболее оптимальными оптическими маркерами для оценки активности заболевания и объективизации преобладающего патологического процесса при бляшечной склеродермии.

3. Алгоритм применения методов неинвазивной оптической диагностики кожи в очаге поражения может быть использован в клинической практике для объективного определения ведущего патологического процесса и динамического контроля активности заболевания.

## **Внедрение результатов работы в практику**

Разработанная на основании результатов проведённого научного исследования методика диагностики бляшечной склеродермии внедрена в клиническую практику отделения дерматовенерологии государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт им. М. Ф. Владимирского».

### **Личный вклад автора**

Автором самостоятельно проведён всесторонний анализ и систематизация отечественных и зарубежных научных публикаций, посвящённых теме диссертационного исследования. Автор лично разработал дизайн исследования, определил цель и задачи исследования. Диссертант самостоятельно описал протокол исследования и отбирал пациентов из отделения дерматовенерологии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, с последующим сбором анамнеза, клиническим осмотром и выявлением критериев включения и исключения из исследования. Получение биологического материала для последующего гистологического исследования осуществлено лично автором диссертационной работы. Автор непосредственно принимал участие в клиническом исследовании и проводил оптические измерения у пациентов добровольцев. Написание научных статей и поиск печатных изданий для публикаций осуществлялось при ключевом участии автора. В том числе полученные результаты исследования были представлены автором на научно-медицинских конференциях. Статистический анализ полученных данных и интерпретация результатов исследования проводилось непосредственно при участии автора диссертации и под руководством д.м.н. Молочковой Ю.В.

Текст диссертации, положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации сформулированы и написаны лично автором и являются продуктом его собственных научных изысканий.

## **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертационное исследование направлено на совершенствование и разработку новых методов диагностики дерматозов, приобретённых морфофункциональных изменений кожных покровов, позволяющих усовершенствовать алгоритмы лечения и повысить эффективность терапии, что соответствует п.4, п.5 и п.8 паспорта научной специальности 3.1.23. Дерматовенерология.

## **Степень достоверности и апробация результатов**

Степень достоверности полученных данных обусловлена точным следованием этапам оптимального плана исследования, основанного на опыте участия в предыдущих научных изысканиях медико-физической лаборатории ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. Кроме того, достоверность результатов обеспечена чётким следованием критериям включения и исключения, достаточным объёмом выборки, использованием дополнительных объективных методов контроля, а также применением современных статистических методов и специализированных программных пакетов для анализа данных.

Основные положения и результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на: научно-практической конференции «Новое в диагностике и лечение хронических дерматозов» ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, г. Москва, 25 ноября 2021 г., научно-практической конференции «Актуальные вопросы дерматовенерологии и косметологии», ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, г. Москва, 24 марта 2022 г., научно-практическая конференция «Актуальные вопросы дерматовенерологии. Междисциплинарное взаимодействие» ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, г. Москва, 26 сентября 2024 г., на VIII Съезде терапевтов Московской Области «Медицинская наука – в практику», г. Москва, 8 ноября 2024 г., на научно-практической

конференции с международным участием «Декабрьские чтения: МедПросвет», г. Москва, 4 декабря 2025 г.

### **Публикации**

По результатам диссертационного исследования опубликовано 7 печатных работ: 5 научных статей, опубликованных в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, из них 3 статьи в журналах, индексируемых в базе данных Scopus; 3 публикации в сборниках тезисов конференций.

### **Объем и структура диссертации**

Научное исследование изложено в диссертационной работе на 140 страницах печатного текста, состоит из введения, 4 глав (обзора литературы, описания материалов и методов исследования, и 2 глав собственных наблюдений), заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы; печатная работа включает в себя 24 рисунка и 14 таблиц; список литературы состоит из 170 источников, из них 26 отечественных и 144 иностранных.

## **ГЛАВА 1. АКТУАЛЬНЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ЭТИОЛОГИИ, ПАТОГЕНЕЗЕ ЛОКАЛИЗОВАННОЙ СКЛЕРОДЕРМИИ И СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

Впервые патологию, впоследствии известную как склеродермия, описал Curzio C. в 1752 году, рассматривая её в качестве самостоятельного нозологического феномена [38]. Термин «sclerodermie» был введён Гинтраком, обозначив характерное уплотнение кожных покровов [127]. На протяжении долгого времени заболевание воспринималось исключительно как дерматологическая проблема, однако в 1945 году Goetz R.H. выявил системное вовлечение внутренних органов, что послужило основанием для введения термина «прогрессирующий системный склероз» [127]. В современном представлении выделяют локализованную склеродермию и системную склеродермию.

ЛС, представляет собой хроническое воспалительное заболевание соединительной ткани с разнообразными клиническими проявлениями, вовлекающее в патологический процесс как правило кожу, иногда подкожно-жировую клетчатку, фасции, мышцы и кости, но без вовлечения в процесс внутренние органы [22, 132]. В настоящее время отсутствуют убедительные сведения о различиях в распространенности ЛС среди детей и взрослых; при этом средний возраст дебюта у детей составляет 2–14 лет, тогда как у взрослых заболевание чаще манифестирует в возрасте 30–40 лет [152]. У детского контингента преимущественно диагностируется линейная форма ЛС, тогда как у взрослых превалирует ограниченный (бляшечный) вариант склеродермии [152].

Следует подчеркнуть, что именно бляшечная склеродермия, в структуре форм локализованной склеродермии у взрослых, имеет наиболее высокую распространенность [2, 23]. Согласно официальным данным, отражающим деятельность и ресурсы медицинских организаций дерматовенерологического профиля в Российской Федерации, заболеваемость и распространенность ЛС на 100 тыс. населения в 2010 г. составляли 3,5 и 11,9 человека соответственно; в 2024 г.

эти показатели повысились до 4,1 и 16,7, что может свидетельствовать об усилении тенденции к росту заболеваемости и распространенности ЛС [20]. Кроме того, отдельные исследования демонстрируют возрастание доли ЛС в общей структуре дерматологических заболеваний с течением времени [7, 16].

### 1.1. Этиология локализованной склеродермии

Локализованная склеродермия (синоним морфея или очаговая склеродермия) – это хроническое аутоиммунное заболевание, этиология которого, на сегодняшний день оставляет большое количество вопросов, множество научных трудов посвящено изучению и поиску этиологических факторов. Большинство ученых сходятся в мнении, что манифестация заболевания происходит у пациентов под воздействием внешних триггеров на фоне имеющихся предрасполагающих факторов восприимчивости (обусловленных генетическими и эпигенетическими механизмами, мозаицизмом и др.) [22, 41, 60, 132].

Этиология ЛС включает в себя комплекс взаимодействующих факторов, причём провоцирующий триггер в каждом конкретном случае может быть индивидуальным, тогда как общим остаётся патогенетический «каркас» в виде аутоиммунного повреждения и фибропролиферативных процессов [60].

Дворянкова Е.В. и соавт. (2024) акцентируют внимание на многофакторном характере ЛС, в котором решающую роль играет сочетание генетической предрасположенности, аутоиммунных механизмов и внешних провоцирующих факторов [2]. Этиология прогрессирующей гемиатрофии лица, ЛС и системной склеродермии во многом считается схожей, что подчёркивается в ряде современных исследований [140]. В частности, обсуждается инфекционная гипотеза, предполагающая возможную связь с *Borrelia Burgdorferi*, однако результаты клинических и лабораторных работ противоречивы, и единая точка зрения на этот счёт пока не сформирована [60].

Несмотря на то, что в некоторых семьях отмечаются случаи заболевания у ближайших родственников, общая частота семейной формы склеродермии

остаётся низкой (около 1,6 %), а уровень конкордантности среди близнецов не превышает 4,7 %, что делает роль генетических факторов не столь определяющей [59]. В работах Takehara К. и соавт. подчёркивается преимущественно аутоиммунный характер ЛС, хотя генетическая предрасположенность не исключается, особенно при наличии других аутоиммунных нарушений в семейном анамнезе [145].

В научных исследованиях упоминаются следующие триггерные факторы, которые могли бы быть пусковыми для начала развития заболевания: травма (физическая, постинъекционная, укусы насекомых) / облучение, прием определенных лекарственных средств, инфекции [60].

Тем не менее растущее количество исследований свидетельствует о тесном взаимодействии иммунных, сосудистых и генетических механизмов в развитии локализованных форм склеродермии, требуя дальнейшего углублённого изучения и междисциплинарного подхода к диагностике и лечению [41, 60, 65]. Таким образом, комплексность этиологических факторов (инфекция, аутоиммунные механизмы, эмбриональные нарушения, генетический мозаицизм и внешние провоцирующие воздействия) отражает многообразие клинических проявлений и осложняет формирование классификации основанной исключительно на патогенетических механизмах [36, 121].

Единой повсеместно принятой классификации локализованной склеродермии не существует. Однако в литературе большинство авторов выделяют пять основных типов ЛС [21, 41, 132, 149]:

- 1.ограниченный тип локализованной склеродермии (идиопатическая атрофодермия Пазини–Пьерини, бляшечный подтип; каплевидный подтип);
- 2.распространенный тип локализованной склеродермии (генерализованный подтип; пансклеротический подтип форма);
- 3.линейный тип ЛС (собственно линейная форма; линейная форма по типу «удара саблей»; прогрессирующая гемиатрофия лица Пари–Ромберга);
- 4.глубокий тип (характеризуется локализацией патологического процесса в глубоких тканях, поражая ПЖК, фасции и мышцы);

5. смешанный тип (характеризуется сочетанием разных типов ЛС).

Ряд авторов выделяют также такие формы как склероатрофический лишай, буллезная форма, келоидоподобная форма [3].

На сегодняшний день ряд исследований продемонстрировали, что ЛС линейного типа следует паттерну распределения по линиям Блашко, которые в свою очередь формируются по линии роста кожи в эмбриогенезе [89, 167]. Weibel L. и соавт. ретроспективно оценили клиническое распределение поражений кожи у 65 детей с линейной склеродермией с последующим нанесением на стандартные диаграммы головы и тела и компьютерным сравнением со стандартными распределениями линий Блашко, что подтвердило высокую степень совпадения [167]. Существует мнение о том, что клиническими признаками мозаицизма (сочетания в клетках двух разных генетических материалов), возникших в результате соматических мутаций при эмбриогенезе, является распространение некоторых дерматологических заболеваний по линиям Блашко [112]. Хотя эти данные свидетельствуют о том, что ЛС является формой кожного мозаицизма, эта теория еще не получила подтверждения на молекулярном уровне, а также вызывает много вопросов о роли мозаицизма в развитии ЛС нелинейного типа.

Также сегодня обсуждается роль микрохимеризма (клеток, переданных от матери плоду или наоборот, что приводит к наличию в организме-носителя генетически отличных химерных клеток) в патогенезе развития ЛС. Клинически и гистологически морфея и системный склероз имеют общие характеристики с болезнью трансплантат против хозяина [78, 105, 106]. Эти сходства вызвали интерес к возможной патофизиологической роли химерных клеток при аутоиммунных склерозирующих расстройствах. Исследования с использованием ПЦР в реальном времени обнаружили доказательства наличия химерных клеток у пациентов с ЛС и системным склерозом [78, 105, 106]. Однако, в исследованиях Lambert N.C. и соавт. и Rak J.M. и соавт. статистически достоверной разницы по количеству химерных клеток между когортой женщин с системным склерозом и контрольной когортой здоровых женщин нет [105, 106]. При этом иммуногистохимическое исследование подтипов химерных клеток в пораженной

коже у пациентов с локализованной склеродермией выявило их эпителиальное происхождение, тогда как в неповрежденной коже химерные клетки имеют общие маркеры с Т-клетками и макрофагами [78]. Вероятно, необходимы дальнейшие исследования для оценки важности присутствия химерных клеток эпителиального происхождения, а не преобладания химерных клеток в целом в патогенезе аутоиммунных склерозирующих расстройств.

Ассоциация между главным комплексом гистосовместимости (HLA) и развитием ЛС изучалась в крупном исследовании Jacobsen H. и соавт., в котором было проведено генотипирование HLA класса II и анализ однонитового конформационного полиморфизма аллелей HLA A, B и C (с целью выявления мутаций), а также определены ассоциации между аллелями HLA-класса I-II и ЛС (с определением их субфенотипов). Таким образом, по результатам данного исследования выявили выраженную корреляцию между риском развития заболевания по линейному или генерализованному типу и наличием аллелей генов типу HLA-B\*37 и HLA-DRB1\*04:04. Кроме того отмечено, что наличие HLA-DRB1\*04:04 ассоциировано с развитием ревматоидного артрита [87]. Сильная ассоциация ЛС со специфическими аллелями HLA, популяционные данные о взаимосвязи ревматоидного артрита и ЛС [49, 58], наличие в семейном и личном анамнезе у пациентов аутоиммунных заболеваний вероятнее всего подтверждают и подчеркивают роль иммунных механизмов в развитии ЛС.

Также стоит отметить, что сегодня активно обсуждают роль эпигенетических механизмов, как факторов восприимчивости. Эпигенетика – это область медицины, которая исследует наследуемые изменения активности генов без изменения последовательности ДНК, во время развития организма или деления клеток т.е. эпигенетика может обосновать потенциальную связь между генетической восприимчивостью и пусковыми факторами заболевания [154]. Данные механизмы включают метилирование ДНК, посттрансляционную модификацию гистонов и микроРНК (миРНК) [154, 165]. В исследованиях Wang Y. и соавт. и соавт. было обнаружено, что у пациентов с системным склерозом в различных цистронах отмечается большое количество изменённых паттернов ацетилирования и

метилирования ДНК, в том числе отвечающих за транскрипцию угнетающих генов в фибробластах, что могло приводить к увеличению экспрессии генов ответственных за профибротические факторы, такие как трансформирующий фактор роста- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) [165]. Также современные исследования отмечают возрастающую важность миРНК в патогенезе фиброза кожи. Так миРНК представляют собой короткие некодирующие РНК из 18-23 нуклеотидов, которые комплементарно спариваются с информационной (матричной) РНК (иРНК), тем самым, путем РНК-интерференции, ингибируют их трансляцию или вызывают деградацию иРНК [131, 138]. В исследовании 2013 г. Makino K. и соавт. впервые сообщили о нарушении регуляции миРНК у пациентов с ЛС. Авторы продемонстрировали что экспрессия *let-7a* снижается в коже как при системной склеродермии, так и при ЛС, как *in vivo*, так и *in vitro*, по сравнению с контрольной группой. Также ингибирование или сверхэкспрессия *let-7a* в фибробластах кожи человека или мыши влияла на экспрессию белка коллагена I типа. Кроме того, авторы обнаружили, что *let-7a* количественно определяется в сыворотке крови. Концентрация *let-7a* в крови пациентов с ЛС была значительно снижена. При этом, в модели блеомицин-индуцированного фиброза у мышей, прерывистая сверхэкспрессия *let-7a* в коже с помощью внутрибрюшинных инъекции миРНК привела к статистически значимому снижению отложения коллагена [150]. В следующем исследовании Makino T. и соавт. сообщали о подавлении активности миРНК-196a в сыворотке крови и в коже пациентов с ЛС. Трансфекция ингибитора миРНК-196a в нормальные культивируемые фибробласты активировала белок коллагена I типа *in vitro* [50]. Yan Q. и соавт. продемонстрировали повышение регуляции миРНК-155 у пациентов с СС и ЛС. Наиболее интересно то, что это исследование показало потенциал миРНК в качестве терапевтической мишени за счет уменьшения толщины дермы, отложения коллагена и количества активированных фибробластов, при местном применении блокатора миРНК-155 на модели блеомицин-индуцированного фиброза на мышцах [146]. Ряд авторов обсуждают роль миРНК-483-5p, которая, как предполагается, является специфическим маркером фиброза кожи [136]. Chourfi E. и соавт.,

продемонстрировали, что миРНК-483-5p активируется как в образцах сыворотки у пациентов с локализованной склеродермией, так и у пациентов с системной склеродермией, при этом не обнаруживается при других аутоиммунных заболеваниях [136]. Также авторы отмечают, что повышенная экспрессия миРНК-483-5p приводит к усиленному синтезу белков ( $\alpha$ -SMA, SM22A) в эндотелии сосудов, ответственных за дифференцировку миофибробластов. При этом, миРНК-483-5p снижает уровень экспрессии Fli-1 (фактора транскрипции Ets), чья роль в подавлении синтеза коллагена в экстрацеллюлярном матриксе была уже доказана [136].

Таким образом, из вышесказанного видно, что на сегодняшний день область изучения этиологических факторов развития ЛС расширяется, тем самым открывая и новые аспекты патогенеза и патофизиологии заболевания, где ключевую роль, как отмечают большинство авторов, играет воспалительное, иммуноопосредованное повреждение эндотелия сосудов, приводящее к оксидативному стрессу и функциональной гипоксии, сопровождающееся чрезмерной активацией фибробластов и синтезу коллагена [65, 77, 94].

## **1.2. Актуальные научные представления о патогенезе локализованной склеродермии**

### **1.2.1. Иммунная дисрегуляция и эндотелиальная дисфункция**

При классическом развитии клинически и патофизиологически локализованная склеродермия проходит в три стадии: эритема (воспаление), индурация (воспаление с признаками дезорганизация и гомогенизации коллагена), атрофия (фиброз), что особенно хорошо наблюдается в клинической картине бляшечной склеродермии [22, 41, 132]. Поэтому важными особенностями поражения тканей на различных стадиях ЛС является то, что на ранних этапах наблюдается эндотелиальная дисфункция, сопровождающаяся нарушениями микроциркуляторного русла воспалительного характера (периваскулярные и

периаднексальные инфильтраты, в особенности представленные мононуклеарными клетками), а на самой поздней стадии склеродермии основными проявлениями являются очень плотная упаковка коллагена в дерме и потеря клеток, клинически проявляющееся рубцом или атрофией [65].

Большой приток мононуклеарных клеток проникает в дерму и окружающие кровеносные сосуды на стадии эритемы и индукции ЛС. По некоторым литературным данным периваскулярная инфильтрация кожи, на ранних стадиях заболевания, наблюдается у 90% пациентов с локализованной склеродермией [73]. На сегодняшний день не достигнуто единого мнения по поводу окончательной причины такой резкой иммунной инвазии. Однако ряд авторов приписывают этому роль аутоиммунных механизмов [135, 145]. Известно, что у пациентов с ЛС распространенность положительных титров антинуклеарных антител (АНА) колеблется от 20% до 80% [49, 123, 135, 145]. При этом согласно исследованию Dharamsi J.W. и соавт. в когорте взрослых и детей, пациенты с двойной положительной реакцией на антитела ss-ДНК (аттитела к одноцепочечной ДНК) и АНА или АНА, имели более тяжелую форму ЛС, включая функциональные нарушения при линейном типе заболевания, большую площадь и степень вовлеченности тканей в патологический процесс [46]. К аналогичным результатам пришли в своем исследовании Kurzinski K.L. и соавт., кроме того, авторы отметили, что положительный результат АНА, свидетельствует о высоком риске рецидива заболевания [95]. Также Науакawa I. и соавт., в своем исследовании обнаружили антитело к топоизомеразе II альфа, которое определяется у 76% всех пациентов с ЛС и у 85% пациентов с генерализованной морфеа. Тогда как у пациентов с другими аутоиммунными заболеваниями, частота выявления данного вида антител низкая (системный склероз-14%; системная красная волчанка-8%; сахарный диабет-10%) [33].

К тому же как упоминалось выше, выявлена сильная ассоциация ЛС со специфическими аллелями HLA, при этом роль HLA в регулировании взаимодействий иммунных клеток хорошо известна [67], и, следовательно, специфический профиль HLA ЛС может приводить к В-клеткам, продуцирующим

определенные цитокины и аутоантитела, способствующие прогрессированию заболевания [87]. Н. Jacobe и соавт. отмечают, что сильная связь ЛС со специфическими аллелями главного комплекса гистосовместимости дополнительно указывает на иммунную природу патологии [87]. По мнению Matsushita T. и соавт. [60], характерная для системных аутоиммунных процессов гиперпродукция фактора активации В-клеток (BAFF) выявляется и при ЛС. Тогда как по мнению Cardoneanu A. и соавт., активированные В-лимфоциты способны продуцировать такие профибротические цитокины, как IL-6 и TGF- $\beta$ , формируя Th2-ориентированный ответ, тогда как количество регуляторных В-клеток, сдерживающих Th1- и Th17-реакции, при СС оказывается сниженным [147]. Данные сведения демонстрируют, что одну из ключевых ролей в патогенезе ЛС играют аутоиммунные реакции.

К настоящему моменту ряд научных исследований демонстрируют, что при СС, ЛС, дерматомиозите и системной красной волчанке отмечается повышенный синтез цитокинового фактора активации В-лимфоцитов [53, 54]. Т-хелперные клетки состоят из 3 основных типов, включая Th 1, Th 2 и Th 17. Эти типы клеток продуцируют различные интерактивные профили цитокинов, тем самым поддерживая ведущие процессы воспаления или фиброза, в определенные стадии заболевания, путем развития каскадных реакций. Процесс дифференцировки Th-клеток является динамичным, он регулируется эпигенетическими факторами, а также антагонистическими и агонистическими сигналами непосредственно от эффекторов зрелых Т-клеток [77, 94]. Стоит отметить, что современная иммунная концепция патогенеза фиброза при ЛС представляется рядом авторов, как дисбаланс Th 1 и Th 2 типов [35, 77, 94, 160].

В воспалительно-индуративную фазу отмечается значительное увеличение содержания провоспалительных цитокинов и хемокинов в дерме и сыворотке крови, которые непосредственно связаны с циклом деятельности Th-1 типа [77, 94, 160]. В настоящее время точно известно, что цитокиновый профиль Th 1 типа (IL-2, IL-12, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) и связанные с ним другие цитокины и хемокины, в том числе CXCL9, CXCL10 ответственны за активный воспалительный процесс:

рекрутирование иммунных клеток в очаг поражения и дифференцировку других иммунных клеток-предшественников [35, 77, 94, 160]. Как показали исследования O'Brien J.C. и соавт. [160], развитие ЛС может быть результатом кожно-направленной иммунной дисрегуляции, а не системной как при СС, по их мнению синтез CXCL9 и CXCL10 при ЛС оказываются повышенными именно в очагах поражения, и связан с выраженной экспрессией генов IFN- $\gamma$  в клетках кожи, что подтверждается низким уровнем циркуляции интерферонов в крови. При этом K. Kurzinski и соавт., описали, что на более поздних этапах наблюдается преобладание Th2-цитокинов (IL-4, IL-13), способствующих активному коллагенообразованию [95]. Также стоит отметить, что в современных исследованиях, группой авторов, состоящей из Khatri S. и соавт., предполагается, что именно через Th17 типа происходит плавный переход из фазы воспаления в фазу фиброза, что подтверждается, на более поздних стадиях заболевания (индуративная фаза), параллельным повышением с Th 1 типа ( IL-2, IL-12, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) в сыворотке крови цитокинов, связанных с Th17 типа, а именно IL-1, IL-17, IL-22, TGF- $\beta$ , которые, как известно, обеспечивают иммунное повреждение тканей и начала фиброза [35].

Кроме того, определенная роль отводится дендритным клеткам (ДК). По мнению Osmola-Mańkowska A. и соавт. (2015) [153], активация ДК неустановленным лигандом индуцирует синтез IFN- $\alpha$  и IFN- $\beta$ , который, в свою очередь, стимулирует формирование миелоидных ДК, способствующих активации аутоагрессивных В- и Т-лимфоцитов путём презентации антигенов на молекулах HLA и формируя внутрикожный аутоиммунный процесс.

Таким образом, накопленные к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что при ЛС имеет место комплексная иммунная дисрегуляция, включающая взаимодействие В- и Т-лимфоцитов, макрофагов, дендритных клеток и разветвлённых сетей цитокинов и хемокинов. Понимание указанных иммунопатогенетических механизмов представляется ключевым для дальнейшего совершенствования методов диагностики и разработки новых таргетных подходов к лечению.

Описанное выше иммуноопределенное воспаление приводит к выраженному повреждению эндотелия сосудов дермы. В микрососудистой системе наблюдаются функциональные и структурные изменения, что по данным Fett N. и соавт., играет одну из ведущих ролей в патогенезе ЛС [60]. На ранних этапах ЛС наблюдается периваскулярное воспаление с повышенной активностью периваскулярных фибробластов [60, 65, 74]. Выраженное повреждение эндотелия в воспалительную фазу заболевания характеризуется гиперплазией перицитов артериоловеноулярного комплекса дермы, что приводит к увеличению плотности капиллярной сети [15, 74].

Параллельно с формированием воспалительного инфильтрата и повреждением сосудистой стенки повышается экспрессия ряда молекул адгезии: ICAM-1 (межклеточная адгезионная молекула 1), VCAM-1 (адгезионная молекула сосудистых клеток 1) и E-селектина, которые индуцируются IL-1, TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  [65]. Эти молекулы регулируют процесс взаимодействия лейкоцитов с эндотелием (роллинг, адгезия, трансмиграция) и способствуют привлечению моноцитов к очагу воспаления. Повышенный уровень растворимого E-селектина в сыворотке крови (около 20% пациентов с ЛС) коррелирует с выраженностью мононуклеарных инфильтратов и тяжестью склеротических изменений [81]. ICAM-1 экспрессируется не только эндотелиальными клетками, но и фибробластами, тогда как VCAM-1 выявляют преимущественно на эндотелии; согласно ряду работ, уровень ICAM-1 повышен у 25% больных ЛС, а VCAM-1 — у 19% [80, 81]. Активированные Т-лимфоциты (Th2, Th17) в ответ на взаимодействие с эндотелием синтезируют IL-4, IL-6, TGF- $\beta$  и другие провоспалительные и профибротические цитокины, привлекающие эозинофилы, CD4<sup>+</sup> Т-клетки, макрофаги и запускающие фиброзный каскад [64], дополнительную роль играют хемокины (CCL2, CCL5, CCL7, CCL17, CCL22, CCL27, CXCL8), также участвующие в развитии фиброза [169].

По мнению Gabrielli A. и соавт. [65], прогрессирующая эндотелиальная дисфункция приводит к функциональной гипоксии и оксидативному стрессу, при этом активные формы кислорода (АФК), возникающие с участием мембранной

системы НАДФН-оксидазы, напрямую вовлечены в активацию фибробластов. Отмечается, что высокие уровни АФК, сохраняющиеся даже при отсутствии провоспалительных цитокинов, повышают уязвимость мезенхимальных клеток к различным стрессовым воздействиям и приводят к повреждению ДНК; это рассматривается в качестве дополнительного механизма, поддерживающего фиброзный процесс как при системном склерозе, так и при ЛС [65, 75, 115]. Заслуживает внимания и вклад перицитов и гладкомышечных клеток сосудистой стенки в дифференцировку миофибробластов на фоне сосудистого повреждения, что прогрессирует фиброз в микроциркуляторном русле [117]. Исходом прогрессирующей дисфункции в микроциркуляторном русле является редукция плотности капилляров, дублирование базальной мембраны и склероз более крупных сосудов [74], тогда как избыточное образование АФК также нарушает нормальный процесс ангиогенеза, препятствуя восстановлению поврежденных сосудов и усугубляя ишемию тканей [115].

Повреждение микрососудов и эндотелиальная дисфункция в значительной мере определяют патогенез ЛС, сопровождаясь вовлечением клеток эндотелия, периваскулярных фибробластов и иммунокомпетентных клеток, а также повышенной экспрессией цитокинов, хемокинов и молекул адгезии [60, 65, 77, 169]. Всё это в совокупности ведёт к формированию стойких фиброзных изменений в поражённых тканях.

### **1.2.2. Избыточное отложение коллагена**

По мнению Заславского Д.В. и соавт. [14], избыточная продукция коллагена и прочих компонентов внеклеточного матрикса лежит в основе конечной стадии ЛС, что клинически проявляется выраженным склерозом кожи. Ключевую роль при этом играют активированные фибробласты и трансформирующий фактор роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ). Эксперименты *in vitro* свидетельствуют о том, что IL-4 регулирует синтез TGF- $\beta$ , а блокирование TGF- $\beta$  способно предотвращать кожный фиброз у мышей с гомозиготной мутацией *tight-skin* (Tsk) [48]. Более того, при инактивации

(нокауте) одного или обоих аллелей  $IL-4$  выживаемость таких животных возрастает с 0% до 27% и 47% соответственно, тогда как гомозиготы  $Tsk$  при нормальном генотипе обычно гибнут в течение 7–8 дней после зачатия [48].

Согласно современным исследованиям, считается, что  $TGF-\beta$  и  $IL-4$  демонстрируют ярко выраженные профибротические свойства *in vivo* [161, 166].  $TGF-\beta$ , в частности, стимулирует синтез факторов роста соединительной ткани (CTGF), фактора роста тромбоцитов (PDGF) и ряда сигнальных молекул, усиливающих митогенную активность фибробластов [166]. Кроме того,  $TGF-\beta$  активирует синтез белков ВКМ (коллагена, фибронектина, тенасцина, ингибиторов металлопротеиназ и плазминогена), а также способен к аутоиндукции собственной секреции за счёт активации экспрессии  $TGF-\beta$  в фибробластах [161]. Классический (Smad-зависимый) путь транскрипционной активации предполагает связывание  $TGF-\beta$  с рецептором серин/треонинкиназы на мембране фибробластов, что влечёт за собой активацию Smad2/3 и их дальнейшее перемещение в ядро, где они взаимодействуют с коактиваторами (p300/CBP), иницируя экспрессию коллагеновых генов (например, COL1A2) [96, 161]. Помимо этого, сегодня обсуждается что, существуют Smad-независимые механизмы активации  $TGF-\beta$  [98, 161].

Как указывают McGaha T.L. и соавт. [68],  $IL-4$  реализует свой профибротический эффект через Stat6, взаимодействующий с соответствующими элементами ДНК при участии кофактора p300/CBP; при этом Stat6 способен усиливать экспрессию гена  $TGF-\beta$ . Кроме того,  $IL-4$  и  $IL-6$  непосредственно регулируют синтез коллагена [84]. По данным Ichiki Y. и соавт.,  $TGF-\beta$  не только активирует пролиферацию фибробластов и синтез коллагена, но и понижает продукцию коллагеназы, усугубляя фиброзные изменения [47].

Противоположным образом действует  $IFN-\gamma$ , секретируемый активированными Т-лимфоцитами, и согласно работам S.A. Jimenez и соавт. и J. Varga и соавт. [88, 164],  $IFN-\gamma$  подавляет синтез коллагена, конкурируя за общий коактиватор p300/CBP и одновременно блокируя транскрипцию COL1A2 посредством фактора  $\gamma B-1$ . Следовательно, снижение уровней  $IFN-\gamma$  либо

преобладание профибротических цитокинов (IL-4, IL-6) и факторов роста (TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) формируют тенденцию к развитию фибротического каскада [32].

### 1.2.3. Регуляция внеклеточного матрикса

Дисбаланс в синтезе белков экстрацеллюлярного матрикса, включая коллаген I и III типов, приводит к патологическим изменениям, наблюдаемым как при СС, так и при ЛС. Фибробласты, представляют собой высокоактивные клетки, при этом каждая клетка синтезирует примерно 3,5 миллиона молекул проколлагена в день [83]. Нормальный гомеостаз внеклеточного матрикса поддерживается фибробластами, синтезирующими как матриксные металлопротеиназы (ММР), ответственные за деградацию коллагена, так и их тканевые ингибиторы (ТИМР). При этом при системном склерозе (СС) концентрации ТИМР в сыворотке крови оказываются значительно повышенными, указывая на смещение баланса в сторону подавления протеолитической активности [151, 170]. Кроме того, важную роль в уплотнении дермы играют миофибробласты, которые экспрессируют  $\alpha$ -актин гладких мышц ( $\alpha$ -SMA); источниками миофибробластов могут выступать эпителиальные и эндотелиальные клетки (посредством эпителиально-мезенхимального и эндотелиально-мезенхимального переходов), гладкомышечные клетки, перициты, а также костномозговые фиброциты [133].

Механизмы гиперпродукции трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) при ЛС полностью не раскрыты, однако результаты исследований при СС позволяют предположить вовлечение Toll-подобных рецепторов (TLR) в этот процесс [14, 61, 149, 157]. TLR представляют собой рецепторы врождённого иммунитета, которые распознают патоген-ассоциированные молекулярные паттерны, а иногда и эндогенные «опасные» сигналы (Damage-Associated Molecular Patterns, DAMP) [111]. Так, Fang F. и соавт. [157], показали, что активация TLR9 способна запускать фибротические изменения через эндогенный TGF- $\beta$ , поскольку в дерме пациентов с СС митохондриальная ДНК и другие лиганды TLR9 провоцируют локальную продукцию данного цитокина, стимулирующего

фибробласты. В свою очередь S. Bhattacharyya и соавт. выявили, что волокна фибронектина могут активировать TLR4-зависимые пути, усиливая аутокринный профибротический фенотип клеток [61]. Аналогичным эндогенным лигандом TLR4 является тенасцин-С, стойкое повышение уровня которого у пациентов с СС ассоциируется с усилением воспалительных и фиброзных изменений [149].

Таким образом, избыточное накопление коллагена при ЛС обусловлено дисбалансом между активирующими (TGF- $\beta$ , IL-4, IL-6) и ингибирующими (IFN- $\gamma$ ) сигналами, усугубляемым эпигенетическими и иммунными факторами, а также нарушением регуляции системы ФНО, TLR и морфогенетических сигнальных путей в клетках дермы и эпидермиса. Это комплексное взаимодействие запускает процессы, приводящие к хроническому фиброзу и клиническим проявлениям заболевания.

Патогенез как локализованной, так и системной формы склеродермии остаётся предметом интенсивных исследований. Современные достижения молекулярной биологии, иммунологии и клеточной патологии позволяют значительно продвинуться в понимании ключевых патогенетических механизмов. И несмотря на то, что точная иерархия вовлечённых клеточных популяций, медиаторов межклеточной передачи и сигнальных каскадов, участвующих в формировании склеротических изменений, до конца не определена, накопленные к настоящему времени данные позволяют представить вероятную последовательность событий, лежащих в основе инициации, прогрессирования и хронизации патологического процесса.

#### **1.2.4. Клинические стадии и патологические фазы формирования локализованной склеродермии**

На основании современных исследований БС представляет собой хроническое воспалительное заболевание соединительной ткани с аутоиммунными механизмами, проходящее три клинические стадии: воспалительную, индуративную и склеротическую [3, 60, 132, 152]. Тогда как патофизиологически процессы последовательно перетекают от воспаления к гипоксии и в конечном

итоге к фиброзу, что укладывается в современную концепцию патофизиологического континуума фибропролиферативных процессов [108, 133]. Последовательность как клинических, так и патогенетических фаз условна, однако преобладание тех или иных процессов всегда превалируют над другими [1, 25].

Начальная, воспалительная стадия манифестирует появлением одного или нескольких розовато-цианотичных пятен, без четких границ, иногда субъективно сопровождающихся незначительным зудом или локальной гиперэстезией [2, 3]. На гистологическом уровне преобладают признаки васкулопатии мелких сосудов: преимущественно периваскулярная инфильтрация лимфоцитами и макрофагами, отёк стромы, набухание эндотелия [15, 73, 134]. Наряду с этим, развивается молекулярная активация эндотелия с повышенной экспрессией клеточных адгезионных молекул — ICAM-1, VCAM-1 и E-селектина, индуцируемых IL-2, TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  [65], тогда как при электронной микроскопии отмечается гиперплазия перицитов, увеличение плотности капиллярной сети [74]. Выраженная иммуноопосредованная клеточная реакция и эндотелиальная дисфункция, вероятнее всего приводит формированию функциональной гипоксии, усугубляющейся оксидативным стрессом и образованием АФК [65, 75, 115].

С прогрессированием патологического процесса наступает индуративная стадия, при которой воспалительный процесс еще персистирует, однако отмечается формирование фибротического ответа [15, 132]. Клинически эта стадия характеризуется эволюцией первичных пятен в бляшки, с формированием центрального восковидного уплотнения, цвета по типу «слоновой кости» и периферического валика воспаления, в виде лилового ободка, отражающего стадию активного воспаления [2, 3, 22]. При этом иммунологически, как отмечается наблюдается параллельное повышение Th17 и их цитокинового профиля IL-1, IL-17, IL-22, TGF- $\beta$ , ответственных за поддержание воспалительной реакции и начала фиброза [35]. Морфологически наблюдается утолщение дермы, сглаженность сосочкового слоя, периваскулярная и периаднексальная инфильтрация, участки гомогенизации коллагена и начло отложения коллагеновых волокон (I и III типов) [14, 73, 134]. Продолжается прогрессия эндотелиальной

дисфункции, наблюдается редукция части капиллярной сети, избыточное образование АФК нарушает процессы ангиогенеза, препятствуя восстановлению сосудов и усиливая ишемическое поражение тканей [65]. По мнению ряда авторов, происходит плавный переход из фазы воспаления в фазу фиброза, наблюдается переход иммунного ответа через Th2 типа (IL-4, IL-13, TGF- $\beta$ ) [14, 35, 95]. Под действием профибротических цитокинов — TGF- $\beta$ , CTGF и IL-6 — происходит дифференцировка фибробластов в миофибробласты, что усиливает синтез компонентов внеклеточного матрикса. Активация Th2/Th17-лимфоцитов и секреция IL-4, IL-6, TGF- $\beta$  стимулируют привлечение эозинофилов и макрофагов, что поддерживает хроническое воспаление и запускает фибротический каскад [125]. Существенную роль играют хемокины CCL2, CCL5, CCL17 и CXCL8, которые способствуют хемотаксису иммунных клеток и прогрессированию фиброза [169].

Заключительная, склеротическая стадия отражает завершённую фазу фибротической перестройки с выраженной дегенерацией тканей. Клинически она проявляется формированием гипо- или гиперпигментированных, иногда втянутых бляшек, с поверхностью по типу «папирусной бумаги», отмечается атрофия сальных и потовых желез, потеря пушковых волос, в некоторых случаях клинически процесс разрешается формированием рубца [2, 22, 60, 132]. Гистологически дерма представлена малоклеточным коллагеновым матриксом с плотной упаковкой волокон и почти полной редукцией сосудистых структур, утрато придатков кожи и остаточной активностью фибробластов. При электронной микроскопии отмечается редукция плотности капилляров, дублирование базальной мембраны, склероз более крупных сосудов [2, 73, 74, 134]. При этом обсуждается мнение, что после стихания воспаления заболевание «выгорает», а ремоделирование тканей происходит за счет изменения профиля матриксных металлопротеиназ [52].

Современные представления о динамическом доминировании различных патофизиологических звеньев на этапах прогрессирования заболевания формируют концептуальную основу для совершенствования методов диагностики

и разработки патогенетически ориентированной терапии, направленной на блокаду ключевых медиаторов воспаления, регуляцию ангиогенеза и подавление фиброзообразования.

### **1.3. Современные подходы к терапии локализованной склеродермии**

Современные подходы к терапии локализованной склеродермии (ЛС) основываются на патогенетическом понимании заболевания, при котором воспаление, гипоксия и последующий фиброз являются центральными звеньями патологического процесса. Несмотря на значительные успехи в изучении патогенеза, в настоящее время этиотропной терапии ЛС, направленной непосредственно на устранение первопричины заболевания, не существует [6, 132]. Все современные терапевтические подходы имеют патогенетическую направленность, подразумевающую воздействие на основные звенья патогенеза: воспаление, иммунологические нарушения, эндотелиальная дисфункция и фиброз [22, 60, 132].

На начальном этапе заболевания, характеризующемся активной воспалительной реакцией, ведущими становятся противовоспалительные и иммуномодулирующие методы терапии. Согласно клиническим рекомендациям Российского общества дерматовенерологов и косметологов [22] и рекомендациям Европейского общества дерматологов [132], при ограниченных формах ЛС в активную фазу заболевания необходима терапия с использованием топических глюкокортикостероидов. Топические стероиды высокой или средней активности, такие как клобетазола пропионат и мометазона фуруат, применяются курсами по 4–6 недель с последующим постепенным снижением дозы или применением интервальной схемы, для предупреждения побочных эффектов (атрофия кожи, телеангиэктазии) [132]. Эффективность такой терапии вероятно связана с подавлением активности лимфоцитарного инфильтрата и опосредованного снижения синтеза провоспалительных цитокинов (IL-6, TNF- $\alpha$ ) [2, 132]. Однако стоит отметить, что на сегодняшний день отсутствуют крупные рандомизированные

клинические исследования, посвященные эффективности применения топических глюкокортикостероидов при лечении ЛС.

Альтернативой наружным ГКС являются топические ингибиторы кальциневрина, такие как такролимус и пимекролимус, которые демонстрируют меньший риск побочных эффектов и рекомендованы для длительного применения у пациентов с чувствительной кожей или при поражении лица и шеи [22, 51, 107, 132, 141]. По мнению С. Stefanaki и соавт. [141], такролимус 0, 1% (мазь) может эффективно использоваться при активной БС, в качестве первой линии терапии. Также в своем исследовании авторы продемонстрировали, высокую клиническую и гистологическую эффективность при лечении активной формы бляшечной склеродермии, когда выраженность склероза минимальна. Установлено, что терапевтический ответ был более выражен при начальных формах ЛС, в то время как редукция лимфоцитарного инфильтрата наблюдалась вне зависимости от степени его выраженности до начала лечения [141].

В двойном слепом плацебо-контролируемом пилотном исследовании при нанесении мази такролимуса 0,1 % два раза в сутки в течение 12 недель отмечено достоверная положительная динамика как по клиническим характеристикам, так и по показателям плотности кожи. [51].

Также на сегодняшний день есть ряд работ, посвящённых применению мази кальципотриол 0,005%, и 5% крема имиквимод [56, 148, 158, 159]. Так по данным Тау У.К [148], мазь кальципотриол 0,005%, наносимая 2 раза в день в течение 9 месяцев, может рассматриваться в качестве эффективного терапевтического варианта для активных форм бляшечной ЛС. Мазь кальципотриол 0,005%, наносимая 2 раза в день в течение 3 месяцев, может рассматриваться в качестве эффективного терапевтического варианта для активных форм бляшечной и линейной ЛС [158].

Согласно Роре Е. и соавт., имиквимод 5% (крем) показал значимое уменьшение индурации кожи у детей и взрослых с бляшечной ЛС при использовании в течение 9 месяцев; побочные эффекты были минимальными и хорошо переносились пациентами [159]. В многоцентровом проспективном

исследовании, проведенном Dytoc M. и соавт. [56], была оценена эффективность и безопасность применения имиквимода 5% в лечении бляшечной формы локализованной склеродермии. В рамках плацебо контролируемого исследования установлено, что местное применение имиквимода обуславливает клинически значимое улучшение состояния кожи, проявляющееся уменьшением плотности и выраженности бляшек. Гистологический анализ подтвердил редукцию коллагеновых отложений и уменьшение воспалительного инфильтрата, что свидетельствует о фиброз-модулирующем и иммуномодулирующем действии препарата. Терапия имиквимодом, как было показано, сопровождается приемлемым профилем безопасности, что позволяет рассматривать данный препарат как потенциальную альтернативу или дополнение к существующим методам местного лечения активных форм ЛС.

При более выраженных и распространённых формах ЛС (линейная, генерализованная или глубокая формы) или при неэффективности первой линии терапии показано назначение системной терапии. Ведущим препаратом первой линии, согласно рекомендациям, является метотрексат в дозах 10–25 мг в неделю [22, 121, 132]. Метотрексат оказывает выраженное противовоспалительное и иммуномодулирующее действие за счёт подавления активности пролиферации Т-клеток, снижения уровня цитокинов IL-6 и TNF- $\alpha$ , а также торможения дифференцировки фибробластов в миофибробласты. Метотрексат часто комбинируется с низкими дозами системных глюкокортикостероидов для усиления терапевтического эффекта и более быстрого купирования воспаления, особенно в начальной, активно-воспалительной стадии [10].

Метотрексат, по результатам исследований Zulian F. и соавт., как в монорежиме, так и в сочетании с системными кортикостероидами рассматривается как препарат выбора при глубокой, генерализованной, пансклеротической либо активно прогрессирующей линейной ЛС (в том числе с вне кожными проявлениями, к примеру, эпилепсией, ассоциированной с склеродермией по типу «удара сабли») [42, 110]. Аналогичных взглядов придерживаются Невозинская З.А и соавт. [10, 19], которые подчёркивают важность метотрексата для умеренно-

тяжёлых форм ЛС. Системные кортикостероиды обычно комбинируют с метотрексатом при лечении активной глубокой, линейной или генерализованной ЛС.

В случаях недостаточной эффективности или плохой переносимости метотрексата альтернативой является микофенолата мофетил. Его применение связано с выраженным иммуномодулирующим эффектом, обусловленным ингибированием синтеза пуринов, необходимых для пролиферации лимфоцитов [109]. Клинические исследования показали, что микофенолата мофетил может эффективно подавлять активность заболевания и снижать выраженность кожного фиброза, особенно при длительном применении (более 12 месяцев). Однако данный препарат требует регулярного мониторинга функции печени и крови, ввиду риска развития гематологических побочных эффектов и гепатотоксичности [114]. Микофенолата мофетил рассматривается в качестве альтернативной терапии у пациентов с ЛС при недостаточной эффективности, плохой переносимости метотрексата или наличии к нему абсолютных противопоказаний, а также при тяжёлых и рецидивирующих формах заболевания. Ретроспективное исследование Martini G. и соавт. продемонстрировало удовлетворительный профиль безопасности и существенное клиническое улучшение на фоне приёма микофенолата мофетила у пациентов с тяжелой или рефрактерной к метотрексату формой ювенильной ЛС [142].

Также согласно клиническим рекомендациям Российского общества дерматовенерологов и косметологов (2020), в качестве системной противовоспалительной терапии возможно применение гидроксихлорохина [22]. Гидроксихлорохин, обладая иммуномодулирующим и противовоспалительным действием, нашёл применение при ЛС преимущественно в практике лечения морфеи. В ретроспективном исследовании Kumar A.V. и соавт., с участием 84 пациентов с различными формами ЛС было показано, что у 42,9% достигнута полная ремиссия, у 38,1% — частичная, при этом среднее время до достижения эффекта составляло 4–12 месяцев [162]. Тем не менее, авторы подчёркивают

необходимость дальнейших рандомизированных исследований для уточнения роли гидроксихлорохина в лечении ЛС.

Поскольку при морфее, по мнению Gabrielli A. [65], ведущими считаются воспалительные и фибротические процессы, связанные с путями TGF- $\beta$  и PDGF, потенциальной мишенью становится блокировка соответствующих тирозинкиназ. Moinzadeh K., описывает, что иматиниб (ингибитор PDGF-рецепторов) продемонстрировал положительные результаты в отдельных клинических наблюдениях [76].

Дополнительно рассматриваются препараты, направленные на коррекцию фибротических изменений в коже, эффективность которых изучалась в небольших клинических исследованиях и ретроспективных анализах. Так, Д-пеницилламин был предметом ряда клинических наблюдений, в которых у пациентов с тяжёлой формой ЛС отмечалось снижение плотности кожных очагов и стабилизация процесса при приёме препарата в дозе 2–5 мг/кг в сутки на протяжении 15–53 месяцев [57]. При этом у части пациентов возникали побочные эффекты, включая нефротический синдром и протеинурию, что ограничивает широкое применение препарата [57]. Однако в последующих работах было показано, что высокая доза Д-пеницилламина не превосходит низкую дозу в терапии системной склеродермии, что указывает на возможность применения низких доз с целью минимизации токсичности при сохранении терапевтической активности [72].

Гиалуронидаза также рассматривается как средство коррекции фибротических изменений. Имеются отдельные публикации, в которых оценивалось её применение у пациентов с ЛС. В описании клинических случаев сообщается об улучшении эластичности тканей, расширении амплитуды движений и снижении выраженности кожного фиброза после курсовых внутримышечных или внутриочаговых инъекций препарата [124]. Побочные эффекты были минимальными, а переносимость удовлетворительной. Однако в настоящее время данные о применении гиалуронидазы при ЛС ограничены и требуют дополнительного изучения.

Кроме того, учитывая установленное участие выраженной эндотелиальной дисфункции в ЛС, и связанного с этим оксидативного стресса, ряд авторов отмечает целесообразность включения в комплексную терапию бляшечной формы заболевания метаболически активных препаратов (таких как актовегин, аденозинтрифосфат) и вазоактивных средств (включая ксантинола никотинат, пентоксифиллин, мельдоний), направленных на улучшение тканевого кровоснабжения и микроциркуляции [8, 24]. Тем не менее, на сегодняшний день отсутствуют крупные рандомизированные клинические исследования, достоверно подтверждающие эффективность указанных фармакологических агентов при лечении ЛС.

Особое значение в терапии ЛС имеет фототерапия [22, 37, 69]. УФА-1 фототерапия (длина волны 340–400 нм) зарекомендовала себя как эффективный метод терапии ЛС благодаря способности проникать глубоко в дерму, оказывая противовоспалительное, антипролиферативное и иммуномодулирующее действие. УФА-1 способствует апоптозу активированных лимфоцитов, подавляет активность фибробластов и стимулирует ремоделирование дермального матрикса. Клинические исследования демонстрируют существенное улучшение состояния кожи у 60-80% пациентов после курсового применения УФА-1 [37, 71]. Узкополосная УФБ терапия (длина волны около 311 нм) менее глубоко проникает в кожу, при этом эффективно подавляет поверхностное воспаление и снижает выраженность фиброза, с клиническим улучшением у 50-70% пациентов. Оба вида фототерапии имеют хорошую переносимость и относительно низкий риск побочных эффектов [29].

В рандомизированном контролируемом исследовании Kreuter A. и соавт. была проведена оценка эффективности низко- и среднедозовой УФА-1 фототерапии по сравнению с узкополосным УФБ (311 нм) при лечении ЛС. Авторами было установлено, что УФА-1 в обеих дозировках достоверно снижает плотность кожи и выраженность фиброза, тогда как УФБ показал существенно меньшую клиническую эффективность, в отношении смягчения дермального склероза. Наиболее выраженный терапевтический эффект зафиксирован при

среднедозовом режиме УФА-1 (50 Дж/см<sup>2</sup>), что, вероятно, связано с его способностью проникать в глубокие слои дермы и подавлять пролиферацию фибробластов через регуляцию TGF- $\beta$  [29].

Таким образом, узкополосная УФБ фототерапия представляется патогенетически обоснованной преимущественно на ранних этапах ЛС, в фазе активного воспаления с преобладанием эритемы. Её применение на данном этапе может способствовать подавлению иммунной активности и ограничению развития фиброза. В то время как при формировании выраженных склеротических изменений более эффективной терапевтической стратегией является использование УФА-1 излучения, обладающего способностью проникать в глубокие слои дермы и модулировать фибротические процессы за счёт влияния на продукцию как провоспалительных, так и профибротических цитокинов. Применение фототерапии рекомендовано международными клиническими рекомендациями и показано при различных формах ЛС, особенно на этапе активного воспаления [22, 121, 132].

Кроме традиционной фототерапии, применяется низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ). Лазерная терапия с длиной волны 630-890 нм улучшает микроциркуляцию, стимулирует репаративные процессы, уменьшает воспаление и активность фибробластов. По мнению ряда авторов, регулярное применение НИЛИ приводит к уменьшению симптоматики ЛС, улучшению качества кожи и снижению выраженности фиброзных изменений [13, 22, 103].

Также согласно проведенным научным исследованиям, аппаратные (лазерные) методы лечения при ЛС могут применяться преимущественно в фазе неактивного воспаления (ремиссии) [93]. Подобная тактика обусловлена тем, что в стабильной стадии заболевания лазерное воздействие направлено на коррекцию остаточных фибротических и атрофических изменений, гипо- или гиперпигментации, а также на частичное восстановление эластичности и структуры кожи, не повышая риска реактивации заболевания.

Szczerpanik-Kuřak P. и соавт. указывают на благоприятные эффекты различных лазерных технологий (фракционного CO<sub>2</sub>-лазера, неодимового лазера,

импульсного лазера на красителе, эксимерного лазера и др.) при ЛС. В частности, отмечается смягчение фиброзных очагов, уменьшение тугоподвижности и улучшение внешних характеристик поражённых участков [144]. Однако, как подчёркивают, отсутствие единых стандартов и вариативность используемых параметров (длина волны, энергия импульса, глубина проникновения) делают необходимым проведение дополнительных рандомизированных исследований и унификацию протоколов терапии.

Shalaby S.M. и соавт. отмечают, что кроме эстетических аспектов (коррекция рубцовых изменений и пигментации), лазерное воздействие может оказывать противовоспалительный и антифибротический эффекты за счёт локального повышения температуры и улучшения микроциркуляции в обработанной зоне [63]. Тем не менее рядом авторов подчёркивается, что эффективность и безопасность подобной тактики в значительной мере зависят от стадии ЛС и выраженности патологического процесса, а оптимальный период для начала лазерной коррекции наступает лишь после стабилизации основных клинических проявлений [93].

Таким образом, современные подходы к лечению ЛС, несмотря на отсутствие этиотропной терапии, позволяют эффективно воздействовать на ведущие патогенетические механизмы заболевания, улучшая прогноз и качество жизни пациентов.

#### **1.4. Современные подходы к диагностике локализованной склеродермии**

Согласно современным представлениям, одной из ключевых задач в терапии фиброзных состояний, включая ЛС, является объективная оценка ведущих патологических процессов (воспаление, гипоксия, фиброз) в очагах поражения, что необходимо для выбора целевых терапевтических вмешательств [8, 22, 122, 132, 133]. По мнению O'Brien J.C. и соавт. [160], а также García-Romero M.T. и соавт. [45], своевременное и корректное определение активности ЛС играет решающую роль в определении объёма, длительности и сроков начала лечения, так как именно

активность заболевания является основанием для принятия терапевтических решений.

Однако следует констатировать, что до настоящего времени не разработано высокоэффективных персонифицированных методов терапии бляшечной формы ЛС, основанных на достоверно установленном этиологическом факторе. Существующие алгоритмы, предусматривающие определённое число терапевтических курсов и жёсткие сроки их проведения, а также оценка эффективности терапии и алгоритмы ее коррекции продолжают активно обсуждаться специалистами [8, 22, 34, 132]. Во многом это объясняется отсутствием достаточно объективных методов, позволяющих выявить доминирующие патологические процессы и оценить активность болезни.

В отечественной дерматологической практике определение стадии ЛС преимущественно основано на субъективных методах (визуальная и пальпаторная диагностика), имеющих ряд недостатков, характерных и для других физикальных исследований. В зарубежной практике всё шире используют различные системы клинической оценки кожных изменений при ЛС [34].

Modified Rodnan Skin Score (mRSS), впервые предложенный Rodnan G.P. (1979) [130] и позднее доработанный, представляет собой метод количественной оценки кожного фиброза, изначально разработанный для системной склеродермии, но применяемый и при локализованных формах [55, 70, 92, 143]. Его суть заключается в пальпации кожи в 17 анатомических зонах с последующим присвоением баллов от 0 (нормальная кожа) до 3 (максимально выраженное уплотнение). Суммарный показатель может достигать 51. У здоровых лиц mRSS равен 0, и повышение баллов напрямую свидетельствует об увеличении степени фибротических изменений [70]. Стоит отметить, что данная шкала клинической оценки отражает лишь степень склероза, не отражая при этом другие признаки клинической активности заболевания.

Наиболее широкое применение в зарубежной практике получила шкала клинической оценки – Localized Scleroderma Cutaneous Assessment Tool (LoSCAT), разработанная под руководством Arkachaisri T. и его коллег [100], включающая два

показателя: Modified Localized Scleroderma Severity Index (mLoSSI) и Localized Scleroderma Damage Index (LoSDI). mLoSSI отражает активность заболевания (эритема, индурация, формирование новых очагов), а LoSDI — хронические изменения (оценка атрофических изменений кожи, оценка изменений подкожно-жировой клетчатки, оценка диспигментации). Каждая из 18 анатомических зон оценивается в диапазоне от 0 до 3 баллов, что даёт возможность учитывать как воспалительную активность, так и характер повреждения кожи. У здоровых испытуемых суммарное значение обоих индексов равно 0, тогда как возрастание баллов свидетельствует об усугублении клинической картины. Данный инструмент был валидирован в многочисленных исследованиях и показал высокую чувствительность к изменениям, а также надёжность и воспроизводимость [44, 100]. Однако стоит отметить, что валидация инструмента проводилась в детской когорте пациентов и в большей степени подходит для линейной формы ЛС. В пилотном исследовании А. Skrzypek-Salamon и соавт. [101]. была проведена адаптация и валидация LoSCAT для использования у взрослых пациентов. В исследование были включены 40 взрослых пациентов с различными клиническими формами ЛС, преимущественно женщины. Методология исследования включала независимую оценку пациентов двумя дерматологами, предварительно обученными использованию инструмента LoSCAT. Исследование подтвердило высокую воспроизводимость LoSCAT и его валидность за счёт положительной корреляции с глобальными клиническими оценками.

В ряде публикаций также упоминается использование менее распространённых, но клинически значимых шкал и индексов оценки, таких как визуально-аналоговая шкала, Physician Global Assessment (PGA), а также дерматологический опросник Skindex-29. Эти инструменты позволяют количественно оценить отдельные аспекты клинической картины, включая субъективные симптомы, качество жизни пациентов и выраженность кожных проявлений, тем самым дополняя данные традиционных шкал и повышая точность комплексной оценки состояния больного [34, 101].

Применение перечисленных шкал в рутинной работе позволяет специалистам более точно оценивать состояние пациентов с ЛС, проследить динамику заболевания, однако при этом требует достаточно высокой квалификации специалиста и обучения его использованию инструмента. Немаловажно и то, что данные шкалы опираются только на ограниченную клиническую информацию, нередко оцененную субъективно, и которая не может в полной мере отражать патологические процессы протекающие в очагах поражения, особенно при субклинической течение заболевания.

Единственным объективным и представляющим в полной мере информацию методом диагностики остается патогистологическое или иммуногистохимическое исследование [22, 30, 45, 132], которое ввиду своей инвазивности, не может быть использовано в качестве динамического метода контроля заболевания. Таким образом, как в клинической практике, так и в научной среде сохраняется выраженная потребность в разработке и внедрении неинвазивных и объективных методов диагностики ЛС, обеспечивающих воспроизводимую оценку активности и выраженности ведущих патологических процессов.

#### **1.4.1. Современные достижения в области объективных неинвазивных методов диагностики локализованной склеродермии**

В современной научной литературе всё более актуализируется необходимость разработки неинвазивных и безопасных методов динамического мониторинга активности ЛС, а также объективной количественной оценки ключевых патологических изменений в зоне поражения. Согласно данным, представленным А. Lis-Święty и соавт. [30], в настоящее время отсутствуют валидированные специфические лабораторные биомаркеры, достоверно отражающие уровень активности или тяжести локализованной склеродермии. Значительное число исследований посвящено анализу эффективности и перспектив применения различных инструментальных технологий визуализации и функциональной диагностики с целью повышения точности и воспроизводимости

клинической оценки заболевания. Наиболее известными и широко исследуемыми методами в данном направлении являются высокочастотная ультразвуковая визуализация, ЛДФ, инфракрасная термография, оптическая когерентная томография (ОКТ), ЛФС, а также методы оценки механических свойств кожи, такие как кутометрия и дуromетрия.

Основные современные инструментальные методы диагностики при ЛС систематизированы в Таблице 1.

Таблица 1 – Основные современные инструментальные методы диагностики при ЛС

Метод	Принцип действия	Что оценивает	Значимость при ЛС
Лазерная флюоресцентная спектроскопия	Регистрация флюоресцентного излучения, возникающего при облучении тканей лазером. Изменения в спектрах указывают на структурные и биохимические особенности зондируемой ткани (коллаген, порфирины, липофусцин и др.)	Изменения в биохимическом составе ткани за счёт анализа флюоресценции различных флюорофоров	Потенциально может позволить диагностировать и дифференцировать стадии воспаления, индукции и склероза, а также отслеживать динамику процесса (например, при выборе и оценке эффективности терапии)
Лазерная доплеровская флоуметрия	Основан на эффекте Доплера: при отражении излучения от движущихся эритроцитов изменяется частота сигнала. Оценивает интенсивность кровотока в микроциркуляторном русле	Изменения микроциркуляции и перфузии в поражённых участках кожи, оценка объема кровенаполнения ткани ( $V_b$ ), удельного потребления кислорода ( $U$ ), оксигенации ( $SO_2$ )	Позволяет выявлять изменения перфузии, характерные для эндотелиальной дисфункции

Продолжение Таблицы 1

УЗИ	УЗ-волны позволяют визуализировать слои кожи и подкожных структур, в том числе оценивать васкуляризацию разных слоев тканей в режиме доплера	Эхоструктурные изменения дермы и гиподермы (изменение толщины и эхогенности) и васкуляризацию тканей	Даёт количественную информацию о глубине и выраженности фиброзных процессов; используется для мониторинга эффективности терапии.
Инфракрасная термография	Позволяет получать инфракрасные изображения пациентов, которые отражают температуру поверхности исследуемых участков кожи	Локальные изменения температуры на основе регистрации естественного инфракрасного излучения	Повышение температуры вследствие усиления кровотока, при воспалительной реакции
Оптическая когерентная томография (ОКТ)	Неинвазивный метод, основанный на интерференции ближнего инфракрасного света; строит высокоразрешающее поперечное «срезное» изображение верхних слоёв кожи	Структурные особенности эпидермиса и верхних слоев дермы, дермо-эпидермального соединения, придатков кожи и сосудов	Имеет перспективу в неинвазивной оценке морфологических изменений, мониторинге активности и динамическом контроле лечения
Дурометрия и кутометрия	Дурометрия измеряет жёсткость тканей по их сопротивлению механическому давлению. Кутометрия оценивает эластичность кожи по её деформации при вакуумной нагрузке	Плотность и эластичность кожи	Инструмент оценки эффективности терапии

### 1.4.2. Ультразвуковая диагностика локализованной склеродермии

Среди инструментальных методов, используемых для оценки ЛС, УЗИ занимает одно из ведущих мест. В научной литературе описано применение высокочастотной ультразвуковой визуализации с рабочими частотами от 10 до 100 МГц при оценке кожных изменений, в том числе и при локализованной склеродермии [27, 28, 99, 163]. Частоты ближе к 100 МГц обеспечивают исключительное пространственное разрешение, позволяя визуализировать мельчайшие морфологические детали дермы, однако глубина их проникновения ограничена и не превышает 1,5 мм, что делает их полезными преимущественно для оценки поверхностных структур [28]. При использовании ультразвука с частотой около 20 МГц у пациентов с ЛС в фазе воспаления, как и при раннем системном склерозе, выявляются утолщение дермы и снижение её эхогенности (гипоэхогенность), что морфологически коррелирует с наличием отека и воспалительной инфильтрации. В последующем, по мере прогрессирования фиброза, наблюдается повышение эхогенности тканей, что отражает гистологическое накопление коллагеновых волокон и уменьшение воспалительных компонентов [27, 99, 163].

Так, в исследовании Hoffmann K. и соавт. 20 пациентам производили ультразвуковые измерения в В-режиме с частотой 20 МГц несколько раз в течение года. Согласно их данным у девяти пациентов, было обнаружено ультразвуковое свидетельство регресса (уменьшение толщины на 26%), а у девяти пациентов ультразвуковое исследование показало прогрессирование (увеличение толщины на 28%), что говорит об хорошем потенциале использования ультразвука для наблюдения за течением и лечением ЛС [27]. Также при использовании ультразвуковых исследований у пациентов с ювенильной формой ЛС были продемонстрированы четкие отличия от здоровой кожи и динамические изменения после лечения [70].

Визуализация кожи с помощью высокочастотного ультразвука оказалась полезной для мониторинга терапии, однако основными ограничениями этого

метода исследования являются его зависимость от оператора и наличие дорогостоящего оборудования. Также стоит отметить, что широкое разнообразие оборудования, о котором сообщалось в различных исследованиях, затрудняет стандартизацию метода.

Попытка стандартизации была предпринята в США группой клинических и ультразвуковых исследований локализованной склеродермии (LOCUS), которая разработала протокол ультразвуковой визуализации для США с частотой 14 МГц [82]. Так, Li S.C. и соавт. [82] была проведена первичная оценка валидности разработанного ультразвукового показателя активности (U-DA) и индекса толщины тканей (TTS) для выявления активности очагов при ювенильной ЛС. В ретроспективный анализ включили 52 УЗ-сканирования кожных поражений у 21 пациента. Результаты показали, что индекс U-DA позволяет достоверно отличать активные очаги от неактивных ( $p = 0,0010$ ), особенно по параметрам эхогенности гиподермы и васкуляризации глубоких тканей. Напротив, индекс TTS не продемонстрировал значимых различий. Авторы отмечают перспективность применения U-DA как неинвазивного и чувствительного метода мониторинга активности заболевания, особенно в случаях субклинического воспаления, локализованного в глубоких слоях кожи. По мнению авторов, полученные данные обосновывают необходимость дальнейшей валидации метода в проспективных исследованиях. По мнению Li S.C. и соавт., основными положениями протокола является, что каждый слой тканей: дерма, гиподерма и глубокая ткань (фация, сухожилие, мышца, ткань молочных желез и др.) оценивается отдельно. Оцениваемые различия не обязательно должны быть равномерно распределены в исследуемом слое ткани и могут быть ограничены частью очага. Оцененные различия в эхогенности и васкуляризации должны быть видны как минимум на двух двойных изображениях из данного сканирования, чтобы быть уверенным, что они точно отражают сонографические изменения поражения. Также стоит оценивать изменения толщины ткани отдельно от изменений эхогенности и васкуляризации, чтобы лучше определить взаимосвязь между изменениями толщины каждого слоя ткани и активностью заболевания [82].

Для повышения точности ультразвуковой диагностики рядом авторов предлагается дополнительно проводить эластографию. Так, в исследовании Wang Y. и соавт. [40], была проведена оценка эффективности двумерной сдвиговой волновой эластографии (2D-SWE) в диагностике и ЛС. В исследование были включены 56 пациентов с различными стадиями ЛС (воспалительной, индуративной и атрофической) и 30 здоровых добровольцев. Авторы измеряли толщину дермы, эластографический балл (качество) и среднюю скорость сдвиговой волны с использованием ультразвука. Результаты показали значительные различия между пациентами с ЛС и здоровыми участниками по всем измеренным параметрам. Площадь под кривой (AUROC) для толщины дермы, эластографического балла и средней скорости сдвиговой волны составила 0,93, 0,95 и 0,93 соответственно, что сопоставимо с модифицированным индексом тяжести кожных поражений при ЛС (mLoSSI). Особенно примечательно, что нормализованная средняя скорость сдвиговой волны показала высокую специфичность в различении склеротической стадии от воспалительной и атрофической стадий, с AUROC 0,84 и 0,83 соответственно. Авторы пришли к выводу, что 2D-SWE может служить надежным неинвазивным методом для диагностики и стадирования ЛС, обеспечивая объективную и количественную оценку, сопоставимую с клиническими шкалами.

Ультразвуковое исследование действительно обладает высоким потенциалом как объективный и количественный метод оценки ЛС. Однако в его применении существуют определённые ограничения в виде представления ограниченной физико-технической информации, а также выраженная зависимость от опыта специалиста и отсутствие стандартизированной воспроизводимости измерений. Кроме того, вариабельность методологических подходов в опубликованных работах, таких как использование различных режимов сканирования, частот датчиков и малочисленные выборки, затрудняет на сегодняшний день формирование единых диагностических критериев. Стоит также отметить в качестве недостатка весьма высокую стоимость оборудования для ультразвуковой диагностики.

### **1.4.3. Лазерная доплеровская флоуметрия и лазерная доплеровская визуализация**

С точки зрения патогенеза, одним из важных направлений диагностики остаётся изучение эндотелиальной дисфункции, обусловленной повреждением микроциркуляторного русла при развитии ЛС [60]. К современным инструментальным методам, позволяющим объективизировать эти процессы, относят лазерную доплеровскую флоуметрию (ЛДФ) и лазерную доплеровскую визуализацию (ЛДВ), позволяющие неинвазивно оценить микроциркуляцию кожи.

Так, Weibel L. и соавт. [97] в исследовании (2007) подчёркивают необходимость внедрения объективных неинвазивных методов для количественной оценки активности кожного процесса при ЛС у детей. По их мнению, ЛДФ может служить объективным, чувствительным и воспроизводимым инструментом для мониторинга активности кожного процесса при ЛС у детей, превосходя термографию по диагностическим характеристикам. В рамках своего проспективного исследования были проанализированы 111 патологических очагов кожи у 41 ребёнка с различными формами ЛС. Активность поражений оценивалась клинически, а также с использованием ЛДФ и инфракрасной термографии. Полученные данные продемонстрировали, что среднее относительное увеличение кожного кровотока, зафиксированное методом ЛДФ, было статистически значимо выше в зонах клинически активного воспаления по сравнению с неактивными участками. При установлении диагностического порога в 39% повышения кровотока метод показал высокую чувствительность (80%) и удовлетворительную специфичность (77%) в выявлении активных очагов. Напротив, термография продемонстрировала существенно меньшую диагностическую информативность и недостаточную воспроизводимость.

В более ранних исследованиях (1984 и 1990 гг.) Serup J. и соавт. [137] и Kalis B. и соавт. [79], провели измерения ЛДФ в очагах при ЛС у взрослых (у 15 и 16 пациентов соответственно) и обнаружили, что кровоток был повышен в патологических очагах кожи. Также Kalis. B. и соавт. отметили незначительное

увеличение кровотока в ряде клинически неактивных очагах по сравнению с интактной кожей [79]. Weibel L. и соавт. в том числе отметили повышение кровотока в некоторых клинически неактивных линейных очагах при ЛС у детей, что, по их мнению, вероятно обусловлено некоторым продолжающимся воспалением в определенной части этих поражений и не обнаруживается только клиническим обследованием [97].

Также сегодня существует слегка модифицированный метод ЛДВ, при котором использует лазер более коротких длин волн, который перемещается по поверхности кожи по горизонтальной линии. Moore T. и соавт. в своем пилотном исследовании изучали достоверность лазерного доплеровского измерения с использованием двух длин волн, красной (633 нм) и зеленой (532 нм). Этот метод позволил измерить перфузию более крупных терморегулируемых кровеносных сосудов (красная длина волны), а также перфузию более мелких питающих сосудов (зеленая длина волны) на различных глубинах дермы. В исследование вошло 6 пациентов с ЛС и 2 пациента с системной формой заболевания. Согласно их данным, микрососудистая перфузия увеличивается в пределах патологических кожных очагов, однако повышенный ответ обнаруживается как термографией, так и с помощью ЛДВ с красной длиной волны во всех случаях по сравнению с ЛДВ с зеленой длиной волны (6 из 8 случаев), что по их мнению может свидетельствовать, что увеличение перфузии сильнее выражено в более глубоких и крупных, а не в поверхностных и мелких сосудах [126].

На сегодняшний день ЛДФ и ЛДВ рассматриваются как перспективные методы неинвазивной оценки активности ЛС. Однако следует подчеркнуть, что крупномасштабные проспективные исследования с участием репрезентативных когорт до настоящего времени отсутствуют, что ограничивает возможность стандартизации данных технологий и внедрения их в повседневную клиническую практику. Имеющиеся публикации, преимущественно выполненные на ограниченных выборках взрослых пациентов, не содержат достаточных данных о параметрах кожной перфузии в очагах с различным уровнем клинической активности. Кроме того, лазерные методы оценивают преимущественно

микроциркуляторное звено патогенеза, что отражает лишь один из аспектов воспалительно-фибротического процесса при ЛС. В связи с этим целесообразным представляется использование ЛДФ или ЛДВ в сочетании с другими методами инструментальной диагностики, обеспечивающими более комплексную и многоуровневую оценку патологических изменений.

#### **1.4.4. Инфракрасная термография**

Инфракрасная термография (ИТ) — это неинвазивный метод, позволяющий определять участки изменения температуры кожи при ЛС, за счёт регистрации инфракрасного излучения, отражающего степень сосудистых и фибротических изменений [90]. В исследовании Martini G. и соавт. (2002) [90] была проведена ретроспективная оценка клинической применимости инфракрасной термографии для выявления активности заболевания у детей с ювенильной формой ЛС. Анализ 130 термограмм, полученных от 40 пациентов, показал, что ИТ обладает высокой чувствительностью (92%) и умеренной специфичностью (68%) при дифференциации активных и неактивных очагов поражения. Согласованность между двумя независимыми экспертами, оценивавшими термограммы, составила 91% с коэффициентом Каппа 0,82, что свидетельствует, по их мнению, о высокой воспроизводимости метода. На основании полученных результатов, авторы пришли к выводу, что ИТ является перспективным неинвазивным инструментом для объективной оценки активности заболевания, особенно в сочетании с клиническим осмотром, при условии отсутствия выраженной атрофии кожи и подкожной клетчатки в области исследования, которые могут давать ложноположительные результаты [90].

Однако в более позднем сравнительном исследовании (2007), проведённом Weibel L. и соавт. [97], было показано, что ЛДФ обладает большей диагностической точностью по сравнению с инфракрасной термографией при оценке активности ЛС. Авторы отметили, что ИТ характеризуется сниженной чувствительностью и специфичностью, а также невозможностью установить воспроизводимый

диагностический порог. Кроме того, подтвердились данные о высоком риске ложноположительных результатов, особенно в случае наличия выраженной атрофии кожи и подкожных структур, что ограничивает её изолированное применение в качестве надёжного инструмента оценки воспалительной активности.

По мнению Lis-Święty A. и соавт., для оптимальной точности результаты ИТ следует интерпретировать вместе с клиническими шкалами оценки заболевания (LoSCAT) [34]. Также Szczepanek M. и соавт. [116], провели исследование, направленное на оценку возможностей инфракрасной термографии и узкополосной спектрофотометрии отражения в диагностике кожных проявлений ЛС. Авторы показали, что термография позволяет выявлять участки с повышенной температурой, что может свидетельствовать о воспалительной активности, однако точность метода ограничена выраженной атрофией. В свою очередь, спектрофотометрия продемонстрировала способность количественно оценивать выраженность эритемы и пигментации, но не позволила чётко дифференцировать активные и неактивные очаги. На основании проведённого анализа авторы пришли к выводу, что инфракрасная термография и узкополосная спектрофотометрия отражения представляют собой ценные неинвазивные инструменты для количественной оценки кожных изменений при ЛС. По мнению авторов исследования, несмотря на ограниченную способность каждого метода по отдельности дифференцировать активные и неактивные очаги, их применение в составе комбинированного диагностического подхода может повысить объективность и точность клинической оценки, особенно в динамике заболевания [116].

Таким образом, инфракрасная термография, хотя и является неинвазивным методом, имеет ряд ограничений при диагностике ЛС. Важно отметить, что на сегодняшний день отсутствуют крупные клинические исследования, посвящённые применению термографии в когорте взрослых пациентов с ЛС, что дополнительно снижает доказательную ценность данного метода в этой популяции. Кроме того, его диагностическая точность снижается при атрофии кожи, а также из-за высокой

чувствительности к внешним факторам, при этом результаты остаются оператор-зависимыми. Отсутствие стандартизированных пороговых значений и риск ложноположительных результатов ограничивают использование термографии как самостоятельного метода, делая её лишь вспомогательным инструментом в комплексной диагностике.

#### **1.4.5. Другие методы неинвазивной оценки локализованной склеродермии**

Имеются отдельные исследования, посвящённые попыткам применения методов дурометрии и кутометрии для объективной оценки кожных изменений при ЛС [55, 128]. Дурометрия представляет собой метод измерения плотности кожи с помощью портативного прибора, чувствительного к факторам, таким как отёк, анатомическая локализация, пол и возраст пациента. В работе Seyger M.M. и соавт. [128] дурометрия использовалась как инструмент мониторинга эффективности терапии у пациентов с морфеей. Авторы отметили высокую воспроизводимость измерений, однако продемонстрировали низкую степень корреляции ( $r = 0,5$ ) между показателями дурометра и модифицированной клинической шкалой оценки кожи. Несмотря на техническую надёжность метода, его ограниченная чувствительность к клинически значимым изменениям и слабая корреляция с визуальной оценкой ограничивают его применимость в рутинной практике. Аналогично, кутометрия применяется для количественной оценки биомеханических свойств кожи, в частности её эластичности и способности к восстановлению после механического растяжения. Измерения осуществляются с помощью вакуумного зонда (например, Cutometer SEM 474), фиксирующего скорость втягивания кожи и её обратного возврата к исходному положению. Данный метод, так же, как и дурометрия, демонстрирует зависимость от анатомических и физиологических параметров пациента. В исследовании De Rie M.A. и соавт. [55] кутометрия была использована для оценки эффективности фототерапии у больных ЛС, показав улучшение эластичности кожи после лечения.

Тем не менее, в литературе отсутствуют масштабные проспективные исследования, подтверждающие диагностическую и прогностическую ценность дуromетрии и кутометрии в когорте пациентов с ЛС. Ограниченная чувствительность этих методов к клинически значимым изменениям, наряду с отсутствием стандартизированных пороговых значений и единых протоколов проведения, существенно сдерживает их интеграцию в повседневную клиническую практику и снижает их универсальность в рамках комплексной объективной оценки кожного процесса при ЛС.

Оптическая когерентная томография (ОКТ) — это современный неинвазивный метод визуализации, который обеспечивает получение изображений структуры кожи с высоким разрешением. На сегодняшний день ОКТ активно исследуется как неинвазивный высокоразрешающий метод визуализации при системной склеродермии, демонстрируя потенциал для выявления субклинических структурных изменений в коже, включая утрату дермоэпидермального соединения и изменения оптической плотности, соответствующие гистопатологическим признакам фиброза [39, 119]. Количественные ОКТ-показатели, такие как минимальная и максимальная оптическая плотность, позволяют достоверно дифференцировать пациентов с системной склеродермией от здоровых лиц (AUC 0,70–0,82), включая клинически непоражённые участки кожи [119]. ОКТ также демонстрирует высокую внутри- и межнаблюдательную воспроизводимость, коррелирует с клиническими шкалами поражения кожи (например, mRSS) и чувствительна к динамике заболевания, что подтверждено в лонгитюдных наблюдениях [102, 120]. Кроме того, в рамках мультиимодального подхода, при сочетании ОКТ с другими методами визуализации (доплеровским УЗИ и МР-ангиографией) диагностическая информативность ОКТ возрастает [39].

Однако следует подчеркнуть, что до настоящего времени такие исследования не проводились в когорте пациентов с ЛС, и диагностическая значимость ОКТ при этой форме заболевания остаётся недоказанной, что указывает на необходимость дальнейшей валидации и стандартизации метода в рамках специализированных клинических исследований.

#### **1.4.6. Потенциальная применимость лазерной флюоресцентной спектроскопии в оценке очагов локализованной склеродермии**

Лазерная флюоресцентная спектроскопия представляет собой перспективный неинвазивный диагностический подход, потенциально позволяющий объективно оценивать патологические процессы в коже, включая воспаление и фиброз. Данный метод основан на регистрации специфических спектров флюоресценции тканей при воздействии лазерного излучения различной длины волны [12, 17, 129]. Важнейшее преимущество ЛФС заключается в возможности выявления структурных и функциональных изменений на биохимическом уровне. В практической медицине ЛФС *in vivo* получила наиболее широкое применение в онкологическом мониторинге при фотодинамической терапии, а также в интраоперационной навигации при определении границ злокачественных новообразований [26, 168].

В настоящее время согласно, актуальным литературным данным, продемонстрирована потенциальная применимость метода ЛФС для диагностики фиброза и воспаления [5, 9, 17, 18, 129, 139]. При воспалении и фиброзе кожи происходят комплексные биохимические и структурные изменения, которые сопровождаются появлением и накоплением различных флюоресцентных молекул и их дериватов, выступающих в роли оптических маркеров патологических процессов. Как отмечается порфирины, коллаген, липофусцин, НАД-Н могут являться перспективными эндогенными оптическими маркерами, для регистрации воспалительно-склеротических изменений в тканях *in vivo* [5, 9, 18].

По мнению Thunell S. [156], воспаление и гипоксия играют ключевую роль в патогенезе нарушений порфиринового обмена, выступая как триггеры метаболических сдвигов. Автор подчёркивает, что синтез порфиринов тесно связан с функцией митохондрий и регуляцией ферментативной активности в гем-синтетическом пути. Под воздействием воспалительных медиаторов, таких как интерлейкины и фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), происходит модуляция активности ключевых ферментов биосинтеза гема, включая  $\delta$ -

аминолевулинатсинтазу, что может приводить к дисбалансу между синтезом и утилизацией промежуточных продуктов порфиринового пути. В условиях системного или локального воспаления индуцируется окислительный стресс, способствующий нарушению ферментативной активности и накоплению порфиринов в тканях. Гипоксия, в свою очередь, активирует транскрипционные факторы, в частности гипоксия-индуцируемый фактор-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ), что приводит к изменению экспрессии генов, участвующих в регуляции метаболизма гема. Недостаток кислорода нарушает митохондриальное окислительное фосфорилирование, усугубляя функциональные сбои в порфириновом пути и способствуя аккумуляции токсичных интермедиатов. Что подтверждается, согласно результатам исследования Петрицкой Е.Н. и соавт. эндогенная флюоресценция порфиринов, регистрируемая с поверхности хвоста белых беспородных мышей, повышается при воспалении, вызванном острой гипоксией [5]. Повышение уровня порфиринов сопровождается увеличением интенсивности их флюоресценции на длине волны 630, при индукции аутофлюоресценции зеленым лазером (535 нм), что является характерным спектральным признаком гипоксии, воспаления и клеточного повреждения [5, 43].

Коллаген, основной структурный белок дермы, играет ключевую роль в процессе фиброгенеза при ЛС. Коллаген обладает выраженной собственной флюоресценцией, которая регистрируется в области 420 и 455 нм, в условиях индукции УФ лазером [9, 12, 18, 43]. Изменения спектральных характеристик коллагеновой флюоресценции позволяют судить о наличии патологического фиброза. Так, в исследованиях Чурсиновой Ю.В. и соавт. [9], и Макматова-Рысь М.Б. и соавт. [18] было продемонстрировано, что интенсивность и спектры флюоресценции коллагена коррелируют с выраженностью фиброза кожи, что подтверждает высокую диагностическую ценность этого маркера. При этом совокупное применение методов ЛФС и ЛДФ на ревалентной блеомицин индуцированной склеродермической животной модели позволило объективно разграничить патофизиологические стадии развития фиброзного очага, что в том числе согласовалось с морфологической картиной [9].

В свою очередь никотинамидадениндинуклеотид (НАД) представляет собой важнейший кофермент, участвующий в клеточном дыхании и энергетическом обмене. При воспалительных процессах и тканевой гипоксии изменяется баланс окисленных (НАД<sup>+</sup>) и восстановленных (НАДН) форм данного кофермента [65], что выражается в изменении его флюоресцентных свойств. Флюоресценция НАДН регистрируется на эффективной волне 480 нм, в УФ диапазоне [43]. Липофусцин же является пигментом старения, представляющим собой продукт окислительной деградации белков и липидов, который накапливается в тканях в условиях хронического воспаления и оксидативного стресса. Повышение содержания липофусцина сопровождается усилением его флюоресценции, где пики его регистрации представлен на длине волны 480 нм, при индукции аутофлюоресценции УФ лазером (365нм), и 590 нм, при индукции зеленым лазером (535 нм) [4, 11].

Таким образом, ЛФС, благодаря высокой чувствительности к оптическим маркерам, таким как порфирины, коллаген, НАД и липофусцин, обладает значительным потенциалом в диагностике и мониторинге воспалительных и фибропролиферативных процессов кожи. Однако, несмотря на уже полученные некоторые положительные результаты, для интеграции метода в клиническую практику необходимы дальнейшие исследования, направленные на стандартизацию спектральных характеристик, определение пороговых значений и подтверждение их клинической значимости в рамках более широких проспективных исследований. Кроме того, применение методов ЛФС никогда не применялось в диагностике бляшечной склеродермии.

### **1.5. Выводы**

На основе глубокого анализа и обобщения современных данных об этиологии, патогенезе, методах диагностики и лечения ЛС можно заключить, что, несмотря на значительные успехи последних лет, до настоящего времени точная этиология этого заболевания остается до конца неизученной. Существует

общепринятое мнение о её мультифакториальном характере, подтверждаемом многочисленными эпидемиологическими и клиническими исследованиями. Многообразие внешних триггерных факторов, таких как физическая травма, инфекции, применение медикаментов, наряду с индивидуальной восприимчивостью организма пациента, обусловленной генетическими, эпигенетическими и другими внутренними факторами, создаёт предпосылки для сложного взаимодействия механизмов инициации и развития заболевания.

В свете накопленных данных очевидно, что центральную роль в патогенезе играет иммунная дисрегуляция, приводящая к выраженному иммуноопосредованному воспалению. Данный процесс характеризуется сложным взаимодействием клеточных и гуморальных факторов, таких как аутоантитела, активация Th1, Th2 и Th17-клеток, а также выделением провоспалительных цитокинов и хемокинов. Итогом иммунного повреждения становится эндотелиальная дисфункция и последующая ишемия тканей, сопровождающаяся развитием оксидативного стресса и гипоксии. Эти механизмы, в свою очередь, активируют процессы избыточного фиброобразования, которые проявляются в чрезмерном синтезе и накоплении коллагена в поражённых тканях. Рассматриваемый в литературе патогенетический механизм ЛС полностью укладывается в концепцию фибропролиферативного континуума, описанную как последовательная цепочка событий от воспаления к гипоксии и затем к выраженному фиброзу тканей.

Отсутствие четко установленных этиологических факторов обуславливает невозможность этиотропного лечения ЛС. Все применяемые в настоящее время терапевтические подходы имеют исключительно патогенетическую направленность, направленную на купирование воспаления, иммунокоррекцию, нормализацию эндотелиальной функции и подавление фибропролиферации. В современной клинической практике при ЛС используются препараты, обладающие противовоспалительными, иммуномодулирующими и антифибротическими свойствами. Несмотря на разработку и применение ряда терапевтических протоколов, в настоящее время подчёркивается важность индивидуального

подхода в лечении каждого пациента, который основывается на объективном понимании и оценке доминирующих патологических процессов и активности заболевания. Следовательно, совершенствование подходов к терапии требует внедрения надежных и объективных методов диагностики.

Однако на сегодняшний день ни один из существующих неинвазивных инструментальных методов диагностики не может рассматриваться как универсальный стандарт для объективной оценки кожных поражений при ЛС. Применяемые технологии преимущественно направлены на регистрацию отдельных структурных или функциональных характеристик тканей, что ограничивает их информативность. Помимо этого, большинство методов являются технически сложными в реализации, требуют дорогостоящего оборудования, не имеют единых протоколов и стандартизированных пороговых значений, а также чаще используются в рамках научных исследований в дополнение к субъективным клиническим шкалам. Важным ограничением также является неспособность этих методов к разграничению ключевых патофизиологических процессов, таких как воспаление, гипоксия и склероз, имеющих различное, но важное клиническое значение.

В этой связи особый интерес представляет комбинированное применение лазерной ЛФС и ЛДФ, которое может обеспечить комплексную оценку состояния ткани. ЛФС позволяет регистрировать спектральные характеристики, связанные с изменениями биохимического состава и структурной организации кожи, в то время как ЛДФ обеспечивает функциональную характеристику микроциркуляции. Такое мультипараметрическое сочетание может значительно расширить диагностические возможности.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научное исследование проводилось в условиях отделения дерматовенерологии и в лаборатории медико-физических исследований, отдела экспериментальных и клинических исследований на базе государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский научный исследовательский институт им. М.Ф. Владимирского». Протокол научного исследования был утвержден на заседании ученого совета ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, протокол №11 от 22 ноября 2021 г., и одобрен локальным этическим комитетом, протокол № 18 от 28.10.2021 г.

### 2.1. Дизайн исследования

Вид клинического исследования – контролируемое одномоментное скрининго-диагностическое исследование, которое состояло из двух основных фаз, изображенных на Рисунке 1.



Рисунок 1 – Дизайн исследования

Все этапы научного исследования представлены в Таблице 2.

Таблица 2 – Этапы научного исследования

Этап	Объект и методы исследования
1 этап – обзор научной литературы по теме исследования	<p><u>Объект исследования:</u> источники литературы.</p> <p><u>Метод исследования:</u> аналитический.</p>
2 этап – клинический	<p><u>Объект исследования:</u> 40 пациентов с диагнозом ограниченная или распространенная бляшечная склеродермия.</p> <p><u>Методы исследования:</u> сбор анамнеза жизни и заболевания, физикальное обследование.</p> <p><u>Оцениваемые факторы:</u> возраст, пол, цветотип кожи, клинический характер патологического очага, локализация патологического очага кожи, сроки его появления и признаки активности.</p>
3 этап – лабораторный, инструментальный	<p><u>Объект исследования:</u> 40 пациентов с диагнозом ограниченная или распространенная бляшечная склеродермия.</p> <p><u>Методы исследования:</u> ЛФС, ЛДФ, биопсия, УЗИ.</p> <p><u>Изучаемые явления (суррогатные конечные точки)</u> – уровень флюоресценции липофусцина, НАД-Н, коллагена, порфиринов; показатель микроциркуляции; толщина и экзогенность дермы; гистологические признаки: воспалительный инфильтрат, выраженность сосочкового слоя дермы, отложение коллагена.</p>
4 этап – аналитический	<p><u>Объект исследования:</u> результаты клинического, лабораторного и инструментального исследования</p> <p>Оценка и определение оптимальных оптических маркеров. Сопоставление результатов ЛДФ и ЛФС, с ПГИ и УЗИ.</p>
5 этап – клинический и инструментальный	<p><u>Объект исследования:</u> 20 пациентов с диагнозом ограниченная или распространенная бляшечная склеродермия.</p> <p><u>Методы исследования:</u> сбор анамнеза жизни и заболевания, физикальное исследование ЛФС и ЛДФ исследование.</p>
6 этап – аналитический	<p>Анализ работы алгоритма диагностики.</p> <p>Разработка практических рекомендаций.</p>

## 2.2. Общая характеристика материалов исследования

### 2.2.1. Общая характеристика экспериментальной группы

На первом этапе в экспериментальную группу были включены пациенты добровольцы (N=40), поступившие в отделение дерматовенерологии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского для получения терапии в условиях стационара с диагнозом ограниченная или распространенная бляшечная склеродермия.

В экспериментальную группу исследования всего вошли 40 пациентов, возрастом от 19 до 80 лет (М=3, Ж=37, средний возраст  $50,5 \pm 16,05$  лет, медиана 55 лет), евразийского происхождения с II фототипом кожи по Фитцпатрику, длительное время проживающих на территории одного региона (г. Москва и Московская область).

Были определены следующие критерии включения в исследование:

- подписанное информированное согласие добровольца;
- возраст 18 лет и старше;
- установленный диагноз локализованная (бляшечная) склеродермия;
- II фототип кожи по Фитцпатрику.

И критерии невключения:

- системная склеродермия;
- заболевания крови (тромбоцитопения, анемия средней и тяжелой степени и др.);
- хронические и острые сердечно-сосудистые заболевания (ишемическая болезнь сердца, в т.ч. стенокардия напряжения III-IV функциональный класс (ФК), хроническая сердечная недостаточность III-IV ФК, инфаркт миокарда, инсульт в анамнезе, коронарная/каротидная реваскуляризация, заболевания периферических артерий);
- нарушения ритма сердца (мерцательная аритмия, частая экстрасистолия и др.);
- диагностированные системные аутоиммунные заболевания;
- беременность;
- выраженная инсоляция и загар за последние 6 месяцев;

- отказ от участия в исследовании;
- острые респираторные заболевания.

Исключение из исследования добровольца определял отказ пациента от участия в исследовании или выявление одного или нескольких критериев невключения. После физикального обследования пациентов были выявлены клинически активные и неактивные патологические очаги кожи. Пример изображен на Рисунке 2.

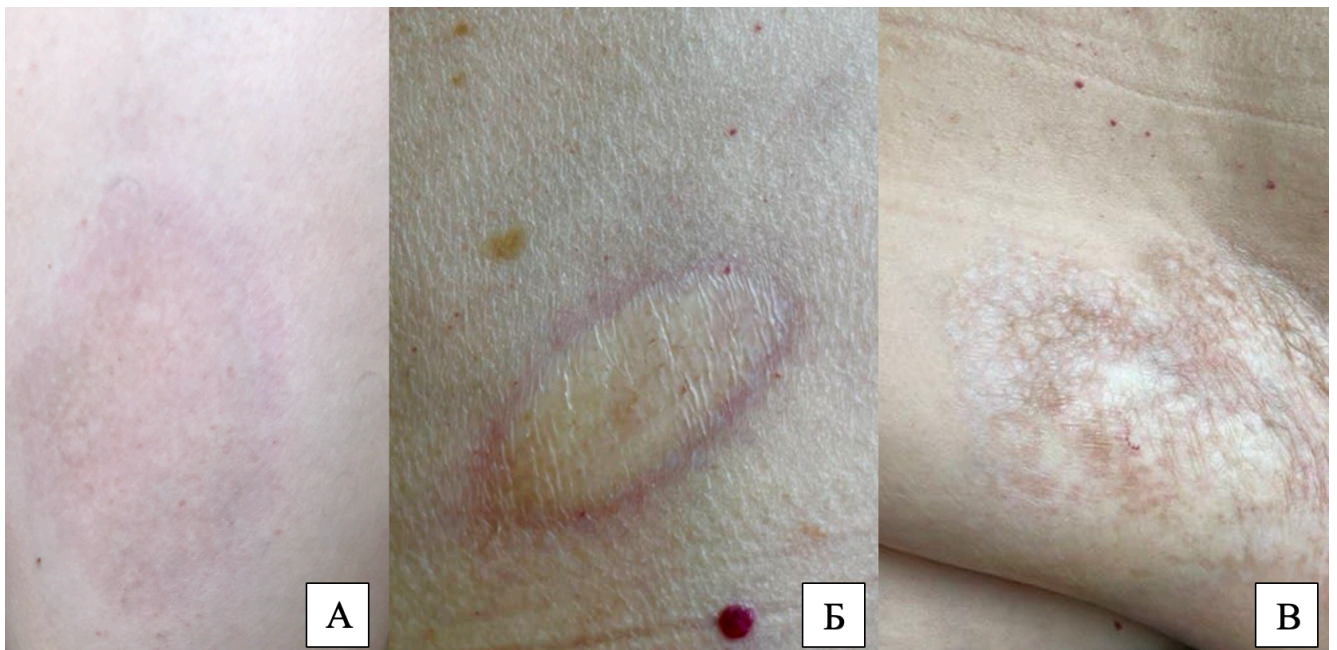


Рисунок 2 – Пример активных и неактивных очагов, где А, Б – клинически активные очаги (существует <3 месяцев и активно увеличиваются по площади) и В – клинически неактивный очаг (существует > 12 месяцев, в динамике не изменяется, признаки индурации и эритемы отсутствуют)

Критериями активности определены:

- новые и существующие от 3 до 12 месяцев очаги;
- очаги, увеличивающиеся по площади в течение последних 3-х месяцев, представленные воспалительным пятном или бляшкой с воспалительным ободком и центральной индурацией по типу «слоновой кости»;

Критериями неактивности определены:

- старые, склеротические бляшки, существующие >1-го года, не изменяющиеся по площади в течение 12 мес.;

- очаги без признаков воспаления (эритемы, индурации);

Всего в экспериментальную группу было включено 70 очагов (48 – активных, 22 – неактивных), среди которых были сформированы исследуемые подгруппы в зависимости от клинически преобладающего патологического процесса в очаге:

1. Подгруппа «воспаление» (воспалительное пятно или воспалительный валик (n=26, средний возраст пациента  $49,7 \pm 14,6$  лет, медиана возраста 55));
2. Подгруппа «индурация» (n=22, средний возраст пациента  $44,4 \pm 16,2$  лет, медиана возраста 45,5);
3. Подгруппа «склероз» (n=22, средний возраст пациента  $55,6 \pm 17,1$  лет, медиана возраста 63).

Анатомическая локализация очагов, в экспериментальной группе: кожа живота – 25, кожа груди и молочных желез – 19, спина – 8, кожа бедра и ягодицы – 13, кожа шеи – 4, кожа плеча, внутренняя поверхность – 1.

### **2.2.2. Общая характеристика контрольной группы исследования**

В контрольную группу вошли 20 пациентов-добровольцев возрастом от 23 до 74 лет (М=3, Ж=17, средний возраст  $54,6 \pm 16,5$  лет, медиана 59 лет), получавших курс терапии, в условиях отделения дерматовенерологии ГБУЗ МО МОНКИ им. М.Ф. Владимирского. Критерии включения и невключения в клиническое исследование соответствуют аналогичным критериям, установленным для исследуемой группы.

После клинического обследования были определены активные и неактивные патологические очаги кожи, всего в группу вошло 29 очагов (20 – активных и 9 – неактивных). Аналогично 1-му этапу исследования были сформированы подгруппы в зависимости от клинически преобладающего патологического процесса в очаге:

1. Подгруппа «воспаление» (воспалительное пятно или воспалительный валик (n=11, средний возраст пациента  $57,4 \pm 14,8$  лет, медиана возраста 60));

2. Подгруппа «индурация» (n=9, средний возраст пациента  $52,5 \pm 15,8$  лет, медиана возраста 58);
3. Подгруппа «склероз» (n=9, средний возраст пациента  $53,2 \pm 20,2$  лет, медиана возраста 58).

Анатомическая локализация очагов в контрольной группе: кожа живота – 14, кожа груди и молочных желез – 5, кожа спины – 4, кожа бедра и ягодицы – 4, кожа шеи – 2.

## **2.3 Методы клинического, инструментального и лабораторного исследования**

### **2.3.1. Методы общеклинического исследования**

У всех пациентов был тщательно собран анамнез жизни и заболевания с целью выявления критериев невключения в клиническое исследование. Диагноз локализованная склеродермия был установлен или подтвержден в большинстве случаев на основании анамнеза и клинической картины заболевания, в остальных случаях в качестве дополнительного критерия контроля, было проведено гистологическое исследование. Также был осуществлён полный физикальный осмотр пациентов с целью определения фототипа кожи, клинической активности патологических очагов кожи, их анатомической локализации и сроков появления.

### **2.3.2. Инструментальные методы исследования**

Всем пациентам из экспериментальной и контрольной групп было проведено инструментальное исследование на многофункциональном лазерном диагностическом комплексе ЛАКК-М (ООО НПП «ЛАЗМА», номер регистрации ФСР 2009/05953 от 05.11.2009). Внешний вид прибора изображен на Рисунке 3.

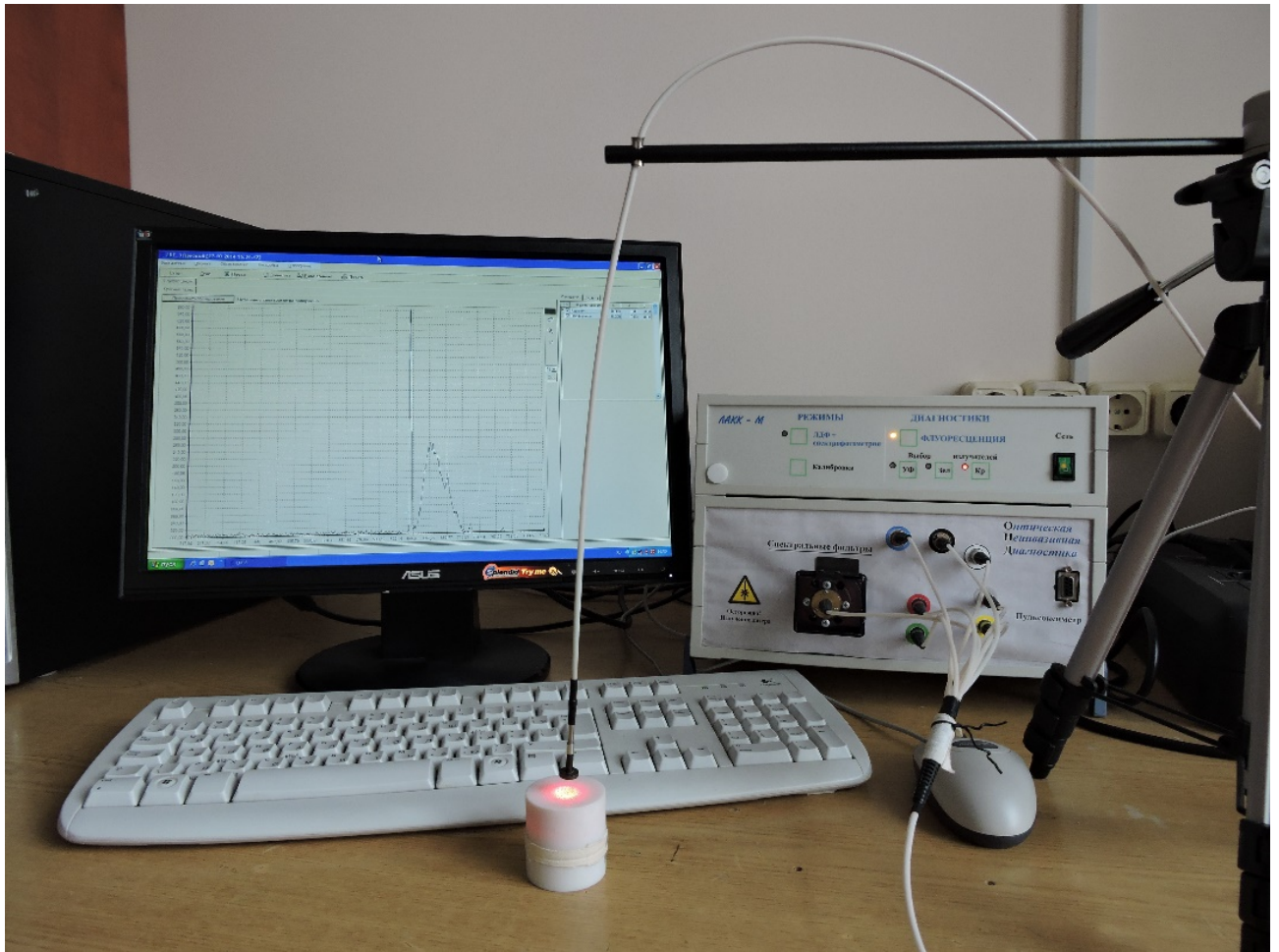


Рисунок 3 – Внешний вид многофункционального лазерного комплекса ЛАКК-М

Принципиальная схема работы аппарата представлена на Рисунке 4.

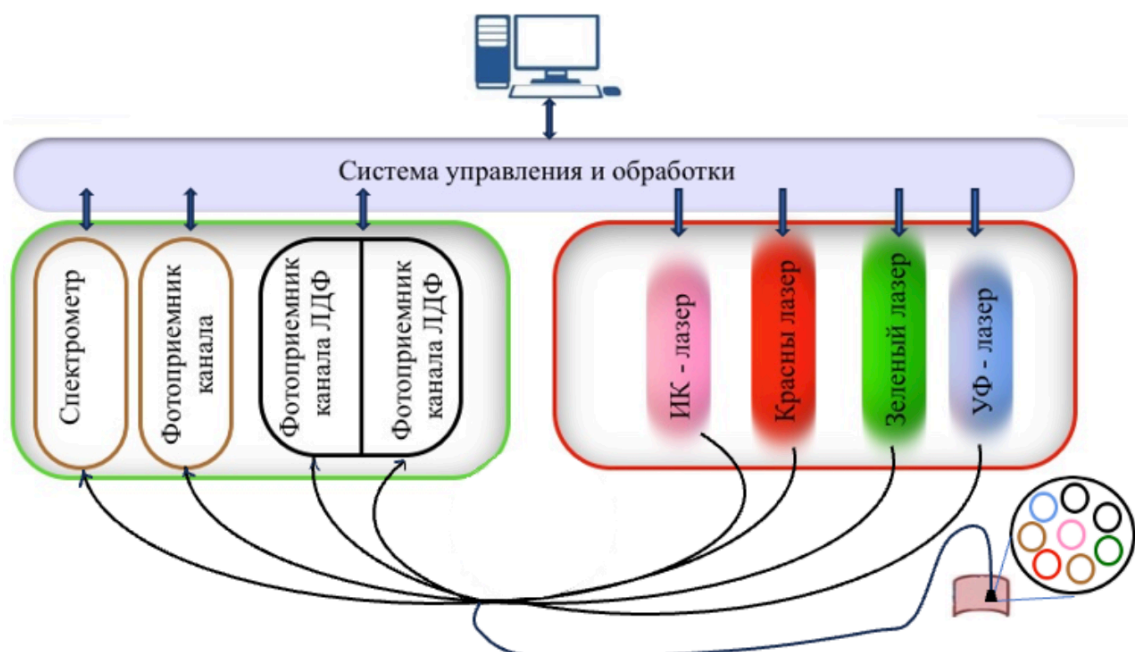


Рисунок 4 – Принципиальная схема работы комплекса ЛАКК-М

Многофункциональный диагностический комплекс ЛАКК-М способен работать в двух режимах: ЛФС и ЛДФ. С учетом гетерогенности биологических тканей, каждый патологический очаг кожи исследовали методом ЛФС в 3-5 точках. Измерения проводились в нескольких точках, расположенных на расстоянии 0,2–0,4 см друг от друга с последующей обработкой данных и вычислением их средних значений. Также в целях минимизации влияния внутрииндивидуальных вариаций и с целью дополнительного контроля измерения флюоресценции производили в нескольких точках, в области интактной кожи, с контралатеральной стороны (Рисунок 5). В случаях, когда симметричная зона исследования была недоступна, контрольные измерения осуществляли в точках, удаленных на 4,0–5,0 см от патологического очага кожи, с последующим аналогичным расчетом средних значений.

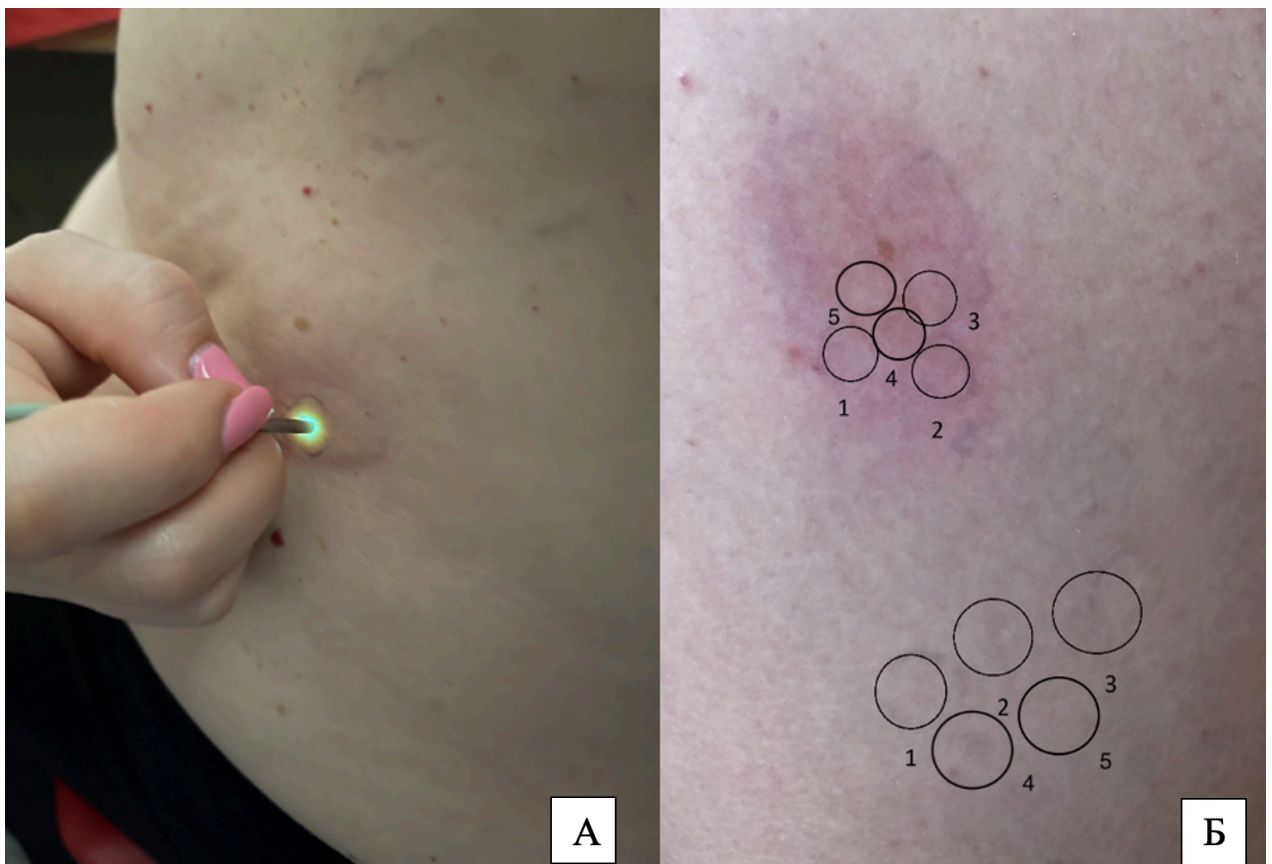


Рисунок 5 – Пример разметки и регистрации оптических показателей, в режиме ЛФС, на приборе ЛАКК-М, где А – непосредственно процесс регистрация эндогенной флюоресценции, индуцируемой зеленым лазером на длине волны ( $\lambda_e$ ) 535 нм, Б – пример разметки для регистрации оптических показателей в области патологического очага кожи и интактной кожи

Режим лазерной флуоресцентной спектроскопии основан на воздействии низкоомного лазерного излучения (2-10 мВт), обусловленного подачей посредством оптоволоконного зонда к поверхности исследуемой области (участка кожного покрова), что инициирует процесс аутофлуоресценции эндогенных флуорофоров. Возбужденная флуоресценция детектируется приемным волокном, после чего полученный спектр вторичного излучения анализируется спектрометрическим модулем. Для инициации флуоресцентного отклика применяли ультрафиолетовый лазер с длиной волны возбуждения ( $\lambda_e$ ) 365 нм и зеленый лазер с длиной волны ( $\lambda_e$ ) 535 нм. Суррогатные конечные точки в виде пиков флуоресценции регистрировались на эффективных длинах волн ( $\lambda_f$ ): 420 нм для коллагена, 455 нм для совокупной флуоресценции коллагена и эластина, 480 нм для совокупности эндогенных флуорофоров (включая липофусцин, НАД-Н, ФАД, жирные кислоты и другие биомаркеры), 580 нм для липофусцина и 630 нм для порфиринов. Примеры спектров эндогенной флуоресценции представлены на Рисунке 6.

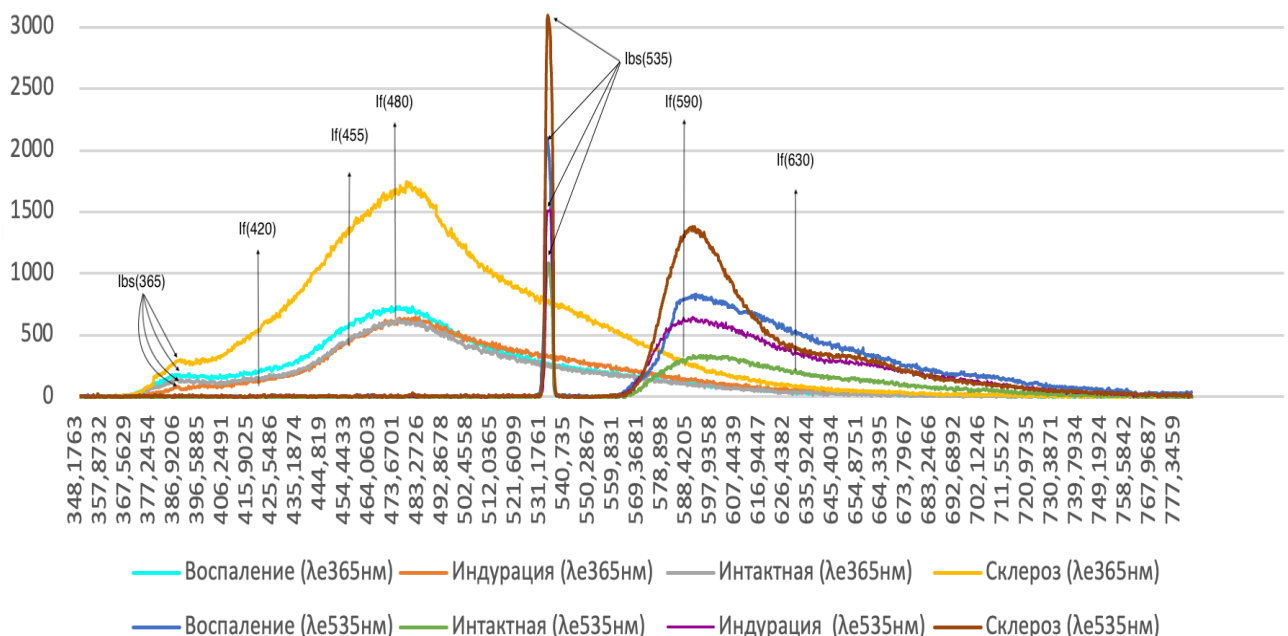


Рисунок 6 – Пример спектров флуоресценции при длине волны возбуждения 365 нм (УФ – лазер) и 535 нм (зеленый лазер), в области клинически активных, неактивных очагов (зона воспаления, индурации, склероза) и интактной кожи, где lbs – пики обратного рассеивания, а If – интенсивность флуоресценции на эффективной длине волны регистрации флуорофора

Как отмечается Д.А. Рогаткиным, на сегодняшний день количественная интерпретация полученных данных при исследовании биоткани представляет собой сложную задачу из-за многократного рассеяния и поглощения света, что приводит к нелинейной зависимости между интенсивностью флюоресценции и концентрации флюорофора. Таким образом, Рогаткин Д.А. предлагает применение относительного количественного показателя (индекса тканевого содержания флюорофора ( $\eta_f$ )), вычисляемого по формуле 1 [21]:

$$\eta_f = \frac{I_f}{I_f + I_{bs}}, \quad (1)$$

где  $I_f$ -интенсивность флюоресценции на эффективной длине волны регистрации флюоресценции флюорофора, а  $I_{bs}$ -интенсивность обратно рассеянного лазерного излучения, предварительно уменьшенная оптическим фильтром примерно в  $\beta=1000$  раз.

Также для минимизации влияния исходной эндогенной флюоресценции (внутрииндивидуальной вариабельности), предлагается использование нормированных на интактную кожу индексов тканевого содержания флюорофоров  $\mu(K)$ , вычисляемых по следующей формуле 2:

$$\mu(K) = \frac{\eta_f(\text{оч})}{\eta_f(\text{инт})}, \quad (2)$$

где  $\eta_f(\text{оч})$ -индекс тканевого содержания флюорофора в очаге, а  $\eta_f(\text{инт})$  – индекс тканевого содержания флюорофора в контрольной интактной коже

ЛДФ режим комплекса ЛАКК-М основан на эффекте Допплера, согласно которому частота излучения изменяется при рассеянии света на движущихся частицах, таких как эритроциты в микроциркуляторном русле. В методе используется когерентное лазерное излучение, которое направляется на исследуемую биологическую ткань через оптический зонд. При взаимодействии с тканями часть излучения рассеивается на неподвижных структурах, а часть – на движущихся форменных элементах крови. Движущиеся эритроциты вызывают

частотное смещение отраженного сигнала, пропорциональное их скорости, что позволяет количественно оценить показатель микроциркуляции (ПМ). Изменения частотного спектра рассеянного света регистрируются фотодетектором, после чего сигнал подвергается математической обработке с использованием алгоритмов спектрального анализа. В результате формируются параметры перфузии, отражающие интегральную величину кровотока, определяемую по количеству движущихся эритроцитов и их скорости. ЛДФ обеспечивает неинвазивный и высокочувствительный метод оценки регионарной микроциркуляции в реальном времени, что делает его востребованным в исследованиях физиологических и патологических состояний, таких процессов, как воспаление и фиброз.

Измерения методом ЛДФ проводили в диапазоне от 3 до 5 раз, на расстоянии 0,2-0,4 см друг от друга, и в качестве контроля, для исключения влияния внутрииндивидуальной базовой перфузии биоткани, измерения проводились в области интактной кожи с контралатеральной стороны или на расстоянии 4,0 – 5,0 см от патологического очага кожи, в идентичных точках, что и при ЛФС, с последующим определением средних значений и вычислением относительного ПМ к интактной коже по следующей формуле 3:

$$\mu(K)_{ПМ} = \frac{ПМ(оч)}{ПМ(инт)}, \quad (3)$$

где ПМ(оч)-показатель микроциркуляции в очаге, а ПМ(инт)-показатель микроциркуляции в контрольной интактной коже

Перед каждым измерением многофункциональный комплекс ЛАКК-М подлежал калибровке. Пациентам исключали физическую нагрузку за 30 минут и курение за 3 часа до исследования. Регистрация спектров флуоресценции и ПМ осуществлялась в искусственно затемненном помещении, при комнатной температуре, с периодом адаптации пациента в течение 10 минут. Перед регистрацией данных исследуемую область обрабатывали салфеткой, пропитанной раствором хлоргексидина. Дистальный конец оптоволоконного зонда устанавливали под углом 90° относительно кожи, без выраженного

давления. При регистрации микроциркуляции использовали дополнительный наконечник, для увеличения площади соприкосновения и снижения давления на исследуемую область, с последующей фиксацией зонда пластырем. Измерения в режиме ЛДФ снимались в течение 30 сек. в соответствующих точках.

В качестве дополнительного контроля исследования 30 пациентам из экспериментальной группы было проведено УЗИ интактной кожи и патологических очагов кожи в зависимости от клинически преобладающего патологического процесса (воспаление – 10; индукция – 10; склероз – 10) в соответствующих областях, что и при методах ЛФС и ЛДФ. Вычислялись нормированные на интактную кожу индексы эхогенности и толщины дермы аналогично, как и при методах ЛФС и ЛДФ. Для УЗИ применяли аппарат DUB SkinScanner (TPM, Германия) с частотой ультразвука 75 МГц, изображен на Рисунке 7.

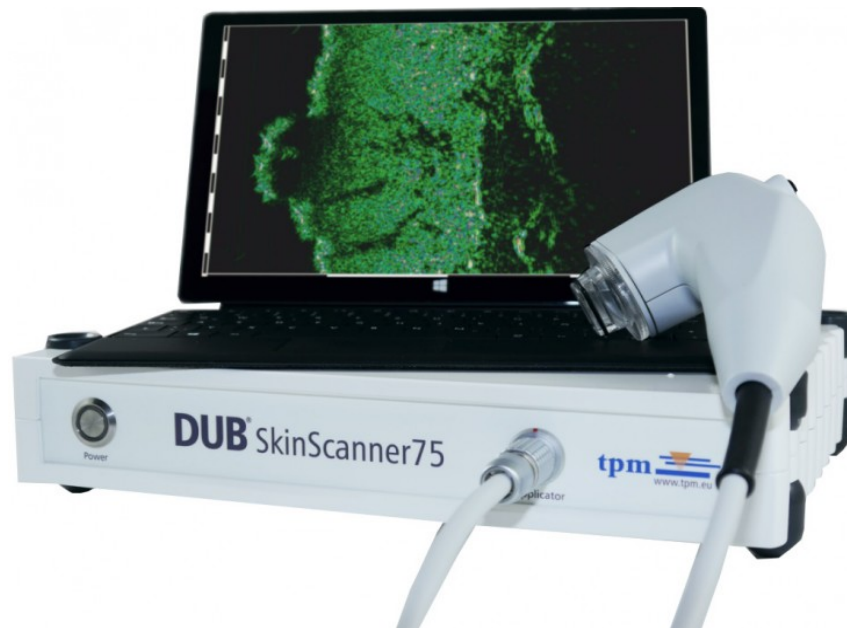


Рисунок 7 – Аппарат УЗ – диагностики DUB SkinScanner 75

### **2.3.3. Верифицирующая панч-биопсия и гистологическое исследование**

Верифицирующая панч-биопсия была взята из соответствующих точек, после исследования методами ЛФС, ЛДФ и УЗИ, у 30 пациентов в зависимости от

клинически преобладающего патологического процесса в очаге (воспаление – 10; индурация – 10; склероз – 10). Для взятия биологического материала использовали панч диаметром 0,5 см, фирмы DERMO-PUNCH®. Были получены фрагменты кожи из исследуемой области размером 0,5×0,7 см и помещены в 10% раствор формалина с последующим приготовлением срезов и окраской гистологических препаратов гематоксилин-эозином.

#### **2.4. Методы статистической обработки**

Статистический анализ выполнен с помощью программы R studio Version 1.4.1106 (RStudio PBC, USA) и языка R версии 4.2.2. Проверку нормальности распределения количественных признаков проводили с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для нормально распределенных и зависимых количественных переменных сравнение проводили с помощью критерия Стьюдента для зависимых наблюдений, для зависимых переменных с распределением отличным от нормального, сравнение проводили с помощью критерия Вилкоксона. Для нормально распределённых и независимых количественных переменных проводили дисперсионный анализ с апостериорными попарными сравнениями с помощью теста Тьюки (Tukey HSD). В случае отличия распределения от нормального, сравнение количественных переменных в нескольких группах проводили с помощью критерия Крускала-Уоллиса с последующими апостериорными попарными сравнениями с помощью критерия Данна с поправкой Хольма-Бонферрони. В зависимости от распределения переменных корреляционный анализ проводили методом Пирсона или методом Спирмена. В зависимости от распределения переменных использовали корреляционный анализ Спирмена или Пирсона. Диагностическую эффективность оптических маркеров оценивали с использованием ROC-анализа с расчётом пороговых значений, чувствительности, специфичности и диагностической точности (ассигасу). 95% доверительные интервалы для ассигасу рассчитывали методом Уилсона. Статистически значимым считали уровень  $p < 0,05$ .

## **ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИНСТРУМЕНТАЛЬНО–ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГРУППЕ**

### **3.1. Результаты анализа эндогенной флюоресценции и микроциркуляции в экспериментальной группе**

#### **3.1.1. Результаты статистического анализа индексов тканевого содержания флюорофоров и показателя микроциркуляции в экспериментальной группе**

В рамках проведенного исследования осуществлен спектральный анализ аутофлюоресценции в области интактной кожи (N=42), а также в очагах поражения бляшечной склеродермии разных подгрупп (воспаление – 26, индурация – 22, склероз – 22). В ходе обработки экспериментальных данных были рассчитаны средние значения пиков обратного рассеяния лазерного излучения, а также количественные показатели тканевого содержания эндогенных флюорофоров ( $\eta f$ ). Данные параметры оценивались на эффективных длинах волн регистрации, характерных для коллагена ( $\lambda f$  420 нм), коллагена и эластина ( $\lambda f$  455 нм), совокупности флюорофоров (НАД-Н, липофусцин, ФАД, жирные кислоты и др.- $\lambda f$  480 нм), липофусцина ( $\lambda f$  590 нм) и порфиринов ( $\lambda f$  630 нм). Кроме того, проведен расчет средних значений показателя микроциркуляции (ПМ), отражающих особенности гемодинамики в пораженных тканях.

Ввиду гетерогенности биологических тканей даже в пределах одной анатомической области, первоначально была проанализирована базовая эндогенная флюоресценция, в области интактной кожи, в зависимости от анатомической локализации, с целью исключения влияния данного фактора на спектры флюоресценции. Данные анализа представлены в Таблице 3.

Результаты статистического анализа не продемонстрировали значимой зависимости индексов тканевого содержания флюорофоров от анатомической локализации. Данный факт свидетельствует об отсутствии статистически

достоверного влияния данного фактора в исследовании, что позволяет исключить его из дальнейших расчетов без снижения точности интерпретации данных.

Таблица 3 – Статистический анализ зависимости индексов тканевого содержания флюорофоров от анатомической локализации, где  $\bar{x}$ -среднее значение, а - дисперсионный анализ b-критерий Крускала-Уоллиса, \*-  $p < 0,05$

Оптический параметр	Живот	Грудь	Спина	Бедро	Значение p
$\bar{X}_{Ibs365}, M \pm SD$	206,8 ± 73,1	174,4 ± 125,6	172,4 ± 62,3	244,9 ± 142	0,482 <sup>a</sup>
$\bar{X}_{\eta f420}, Me [Q1; Q3]$	0,53 [0,5; 0,54]	0,54 [0,52; 0,54]	0,51 [0,5; 0,54]	0,5 [0,49; 0,52]	0,289 <sup>b</sup>
$\bar{X}_{\eta f455}, Me [Q1; Q3]$	0,75 [0,74; 0,76]	0,75 [0,74; 0,75].	0,75 [0,74; 0,75].	0,73 [0,73; 0,74].	0,279 <sup>b</sup>
$\bar{X}_{\eta f480}, M \pm SD$	0,79 ± 0,02	0,79 ± 0,02	0,77 ± 0,04	0,78 ± 0,01	0,447 <sup>a</sup>
$\bar{X}_{Ibs 535}, M \pm SD$	1657,37 ± 864,16	1702,52 ± 689,01	1386,44 ± 500,36	1244,69 ± 361,52	0,503 <sup>a</sup>
$\bar{X}_{\eta f590}, (M \pm SD)$	0,22 ± 0,03	0,23 ± 0,01	0,22 ± 0,03	0,23 ± 0, 02	0,597 <sup>a</sup>
$\bar{X}_{\eta f630}, Me [Q1; Q3]$	0,15 [0,13; 0,15]	0,15 [0,14; 0,15].	0,15 [0,14; 0,15]	0,15 [0,14; 0,17]	0,6 <sup>b</sup>
$\bar{X}_{ПМ}, Me [Q1; Q3]$	5,33 [4,67; 6,8]	6,17 [5,33; 6,6]	5,29 [5,05; 5,69]	5,07 [4,53; 5,3]	0,332 <sup>b</sup>

Для оценки сравнимости оптических свойств тканей, в частности их рассеивающих и поглощающих характеристик, был проведен статистический анализ средних значений пиков обратного рассеяния (Ibs365 и Ibs535) и ПМ. Данные сравнительного анализа представлены в Таблице 4.

Согласно результатам дисперсионного анализа ( $p > 0,05$ ), не выявлено статистически значимых различий, по средним значениям (Ibs365 и Ibs535) между исследуемыми клиническими подгруппами («воспаление», «индурация», «склероз»). Полученные данные свидетельствуют о сопоставимости характеристик рассеяния и поглощения в данных подгруппах, что представляет возможность для проведения апостериорного попарного сравнения. Однако при попарном

сравнении средних значений пиков обратного рассеивания (Ibs365 и Ibs535) в зависимых подгруппах: «интактная (воспаление)» – «воспаление», «интактная (индурация)» – «индурация», интактная (склероз) – «склероз», отмечается достоверное повышение значений Ibs365, по критерию Вилкоксона ( $p < 0,05$ ), в области интактной кожи в сравнении с другими подгруппами, при этом значения Ibs535 достоверно выше лишь в паре сравнения «интактная (воспаление)» – «воспаление», по критерию Стьюдента ( $p < 0,001$ ), в пользу повышения в области интактной кожи.

Таблица 4 – Сравнительный анализ средних значений пиков обратного рассеивания, где  $\bar{x}$ -среднее значение, а-критерий Вилкоксона, b-критерий Стьюдента, c-дисперсионный анализ, \*-  $p < 0,05$

Оптический параметр	Клинический характер процесса						Сравнение с контр. интактной кожей	Сравнение подгрупп
	Интактная (Восп.)	Воспаление	Интактная (Инд.)	Индурация	Интактная (Скл.)	Склероз		
Код	1.1	1.2	2.1	2.2	3.1	3.2		
$\bar{X}$ Ibs(365), M $\pm$ SD	183,7 $\pm$ 99,1	134,1 $\pm$ 92,3	217,9 $\pm$ 105,9	134,9 $\pm$ 86	186,6 $\pm$ 70,5	154,4 $\pm$ 81,4	1.1-1.2: 0,008* <sup>a</sup> 2.1-2.2: 0,008* <sup>a</sup> 3.1-3.3: 0,015* <sup>a</sup>	$p > 0,05$
$\bar{X}$ Ibs(535), M $\pm$ SD	1666,97 $\pm$ 714,36	1385,64 $\pm$ 686,28	1749,4 $\pm$ 698,99	1593 $\pm$ 794,81	1274,83 $\pm$ 447,86	1280,19 $\pm$ 586,22	1.1-1.2: <0,001* <sup>b</sup> 2.1-2.2: 0,074 <sup>b</sup> 3.1-3.3: 0,966 <sup>b</sup>	$p > 0,05$
$\bar{X}$ ПМ, M $\pm$ SD	5,49 $\pm$ 1,01	10,17 $\pm$ 1,41	5,58 $\pm$ 0,97	6,18 $\pm$ 1,85	5,58 $\pm$ 0,97	3,67 $\pm$ 1,23	1.1-1.2: <0,001* <sup>b</sup> 2.1-2.2: 0,27 <sup>b</sup> 3.1-3.3: <0,001* <sup>b</sup>	1.2-2.2: <0,001* <sup>c</sup> 1.2-3.2: <0,001* <sup>c</sup> 2.2-3.2: <0,001* <sup>c</sup>

Статистический анализ динамики ПМ продемонстрировал, что достоверно наибольшие значения представлены в подгруппе «воспаления», в сравнении как с контрольной интактной кожей, по критерию Стьюдента для зависимых переменных ( $p < 0,001$ ), так и при попарных сравнениях с подгруппой «индурация» и «склероз», дисперсионный анализ ( $p < 0,001$ ). При этом достоверно наименьшие значения ПМ зарегистрированы в подгруппе «склероза», в сравнении как с интактной кожей, так и с другими подгруппами ( $p < 0,05$ ). Средние же значения ПМ в подгруппе «индурация» достоверно не отличаются от контрольной интактной кожи ( $p > 0,05$ ).

Снижения средних значений пиков обратного рассеивания (Ibs365 и Ibs535) в подгруппе «воспаление» может быть обусловлено повышенным объемом кровенаполнения и интерстициальным отеком, которые приводят к увеличению рассеивающих свойств биоткани, что согласуется с литературными данными [21] и подтверждается наибольшими значениями ПМ в данной подгруппе. При этом снижение пиков обратного рассеивания в подгруппах «индурация» и «склероз» при возбуждении флюоресценции УФ лазером ( $\lambda_e$ ) 365 нм вероятнее всего вызвано накоплением совокупности флюорофоров (липофусцин, свободным и связанным НАД-Н, жирными кислотами и др.), которые, как известно, перекрывают большую часть спектра флюоресценции в ультрафиолетовом диапазоне [1, 43].

Следующим этапом был проведен сравнительный анализ средних значений индексов тканевого содержания предполагаемых оптических маркеров между интактной кожей и подгруппами «воспаление», «индурация» и «склероз». Результаты статистического анализа представлены в Таблицах 5-7.

Как видно из Таблицы 5, в подгруппе «воспаления» отмечается достоверное повышение индексов тканевого содержания ( $\eta f$ )480 (совокупности флюорофоров – НАД-Н, ФАД, липофусцин, жирные кислоты), ( $\eta f$ )590 (липофусцина), ( $\eta f$ )630 (порфиринов) и ПМ, в сравнении с интактной кожей ( $p < 0,05$ ). При этом индексы флюоресценции ( $\eta f$ )420 (коллагена) и ( $\eta f$ )455 (коллагена и эластина) не демонстрируют достоверных различий между указанными подгруппами ( $p > 0,05$ ).

Таблица 5 – Сравнительный статистический анализ по оптическим маркерам между интактной кожей и патологическими очагами кожи, с клинически преобладающими процессами воспаления, где  $\bar{x}$ -среднее значение, а-критерий Вилкоксона, b-критерий Стьюдента, \*-  $p < 0,05$

Оптический параметр	Интактная кожа	Воспаление	Значение р
$\bar{X}_{\eta f420}$ , M $\pm$ SD Me [Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ]	0,51 $\pm$ 0,03 0,51 [0,5; 0,54]	0,51 $\pm$ 0,04 0,5 [0,48; 0,54]	0,437 <sup>a</sup>
$\bar{X}_{\eta f455}$ , M $\pm$ SD Me [[Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ]	0,74 $\pm$ 0,02 0,74 [0,74; 0,75]	0,74 $\pm$ 0,02 0,74 [0,72; 0,75]	0,423 <sup>a</sup>
$\bar{X}_{\eta f480}$ , M $\pm$ SD Me [Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ]	0,79 $\pm$ 0,02 0,78 [0,78; 0,79]	$\uparrow$ 0,84 $\pm$ 0,02 0,84 [0,83; 0,85]	<0,001 <sup>*b</sup>
$\bar{X}_{\eta f590}$ , M $\pm$ SD Me [[Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ]	0,23 $\pm$ 0,02 0,23 [0,22; 0,24]	$\uparrow$ 0,27 $\pm$ 0,033 0,27 [0,27; 0,27]	<0,001 <sup>*a</sup>
$\bar{X}_{\eta f630}$ , M $\pm$ SD Me [Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ]	0,143 $\pm$ 0,016 0,144 [0,132; 0,153]	$\uparrow$ 0,204 $\pm$ 0,016 0,204 [0,192; 0,216]	<0,001 <sup>*a</sup>
$\bar{X}_{\text{ПМ}}$ , M $\pm$ SD Me [Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ]	5,49 $\pm$ 1,01 5,42 [4,68; 6,6]	$\uparrow$ 10,17 $\pm$ 1,41 10,1 [9,38; 10,86]	<0,001 <sup>*b</sup>

Таблица 6 – Сравнительный статистический анализ по оптическим маркерам между интактной кожей и патологическими очагами кожи, с клинически преобладающими процессами индукции, где  $\bar{x}$ -среднее значение, а-критерий Вилкоксона, b-критерий Стьюдента, \*-  $p < 0,05$

Оптический параметр	Интактная кожа	Индукция	Значение р
$\bar{X}_{\eta f420}$ , M $\pm$ SD Me [Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ]	0,51 $\pm$ 0,04 0,51 [0,5; 0,53]	$\uparrow$ 0,62 $\pm$ 0,04 0,6 [0,6; 0,63]	<0,001 <sup>*a</sup>
$\bar{X}_{\eta f455}$ , M $\pm$ SD Me [[Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ]	0,74 $\pm$ 0,04 0,74 [0,74; 0,75]	$\uparrow$ 0,81 $\pm$ 0,04 0,81 [0,8; 0,83]	<0,001 <sup>*b</sup>
$\bar{X}_{\eta f480}$ , M $\pm$ SD Me [Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ]	0,78 $\pm$ 0,03 0,78 [0,77; 0,79]	$\uparrow$ 0,88 $\pm$ 0,01 0,88 [0,87; 0,89]	<0,001 <sup>*b</sup>

Продолжение Таблицы 6

$\bar{X}_{\eta f 590}, M \pm SD$ Me [[Q1; Q3]	0,23 ± 0,03 0,23 [0,22; 0,24]	↑0,29 ± 0,01 0,29 [0,29; 0,29]	<0,001* <sup>b</sup>
$\bar{X}_{\eta f 630}, M \pm SD$ Me [Q1; Q3]	0,139 ± 0,02 0,139 [0,12; 0,155]	↑0,192 ± 0,024 0,194 [0,184; 0,206]	<0,001* <sup>b</sup>
$\bar{X}_{ПМ}, M \pm SD$ Me [Q1; Q3]	5,54 ± 1,15 5,34 [4,7; 6,6]	6,18 ± 1,85 5,9 [5,31; 6,8]	0,127 <sup>a</sup>

При сравнительном анализе полученных данных между контрольной интактной кожей и подгруппой «индурация» (Таблица 6) выявлено статистически достоверное повышение флюоресценции (ηf)420 (коллагена) и (ηf)455 (коллагена и эластина), (ηf)480 (совокупности флюорофоров), (ηf)590 (липофусцина) и (ηf)630 (порфиринов) (p<0,05) в пользу патологических очагов кожи с клинически преобладающими процессами индурации. Однако стоит отметить, что по ПМ данные подгруппы достоверно не отличаются (p>0,05).

Таблица 7 – Сравнительный статистический анализ по оптическим маркерам между интактной кожей и патологическими очагами кожи, с клинически преобладающими процессами склероза, где  $\bar{x}$ -среднее значение, а-критерий Вилкоксона, b-критерий Стьюдента, \*- p<0,05

Оптический параметр	Интактная кожа	Склероз	Значение p
$\bar{X}_{\eta f 420}, M \pm SD$ Me [Q1; Q3]	0,52 ± 0,02 0,52 [0,5; 0,54]	↑0,69 ± 0,06 0,7 [0,69; 0,71]	<0,001* <sup>b</sup>
$\bar{X}_{\eta f 455}, M \pm SD$ Me [[Q1; Q3]	0,75 ± 0,01 0,75 [0,74; 0,75]	↑0,85 ± 0,04 0,86 [0,86; 0,87]	<0,001* <sup>b</sup>
$\bar{X}_{\eta f 480}, M \pm SD$ Me [Q1; Q3]	0,78 ± 0,02 0,78 [0,77; 0,79]	↑0,88 ± 0,03 0,89 [0,88; 0,89]	<0,001* <sup>b</sup>
$\bar{X}_{\eta f 590}, M \pm SD$ Me [[Q1; Q3]	0,23 ± 0,02 0,23 [0,22; 0,24]	↑0,3 ± 0,02 0,3 [0,29; 0,3]	<0,001* <sup>b</sup>

## Продолжение Таблицы 7

$\bar{X}_{\eta f 630}, M \pm SD$ Me [Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ]	0,147 ± 0,013 0,148 [0,143; 0,154]	0,143 ± 0,015 0,148 [0,13; 0,155]	0,633 <sup>a</sup>
$\bar{X}_{ПМ}, M \pm SD$ Me [Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ]	5,64 ± 1,11 5,69 [5,04; 6,42]	↓3,67 ± 1,23 3,42 [2,78; 4,05]	<0,001* <sup>b</sup>

В подгруппе «склероз», в сравнении с контрольной интактной кожей (Таблица 7), отмечается статистически достоверное повышение ( $\eta f$ )420 (коллагена) и ( $\eta f$ )455 (коллагена и эластина), ( $\eta f$ )480 (совокупности флюорофоров), ( $\eta f$ )590 (липофусцина) ( $p < 0,05$ ), тогда как средние значения ПМ в данной подгруппе статистически достоверно ниже, чем при измерениях в области контрольной интактной кожи ( $p < 0,05$ ).

В дальнейшем были проведены апостериорные попарные сравнения индексов тканевого содержания флюорофоров между подгруппами «воспаление», «индурация» и «склероз». Данные сравнительного анализа представлены в Таблице 8.

Было установлено, что для подгрупп с патологическими очагами кожи, где клинически преобладают процессы воспаления и индурации, отмечается достоверное повышение индексов тканевого содержания ( $\eta f$ )630 (порфиринов), в сравнении с подгруппой «склероза» ( $p < 0,05$ ), при этом достоверно значимых отличий между подгруппой «воспаления» и «индурации» – не выявлено ( $p > 0,05$ ). Как на сегодняшний день установлено и ранее было описано в научной литературе, в условиях воспалительного процесса, в тканях, может наблюдаться изменение активности ферментов, участвующих в биосинтезе гема, что приводит к накоплению порфиринов. Это связано с повышенной потребностью в синтезе гемопroteинов, таких как цитохромы, для обеспечения метаболических и детоксикационных процессов в условиях воспаления и гипоксии, что делает порфирины перспективным оптическим маркером активного воспаления и гипоксии [156]

Таблица 8 – Апостериорные попарные сравнения индексов тканевого содержания флюорофоров между подгруппами, с клинически преобладающими процессами воспаления, индурации и склероза, где  $\bar{x}$ -среднее значение, а – дисперсионный анализ, b-критерий Крускала-Уоллиса, \*-  $p < 0,05$

Оптический параметр	Характер процесса			Значение р	Попарные сравнение
	Воспаление	Индурация	Склероз		
Код	1	2	3		
$\bar{x}_{\eta f 420}$ , M $\pm$ SD Me [Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ]	0,51 $\pm$ 0,04 0,5 [0,48; 0,54]	0,62 $\pm$ 0,04 0,6 [0,6; 0,63]	0,69 $\pm$ 0,06 0,7 [0,69; 0,71]	<b>&lt;0,001<sup>*a</sup></b>	<b>1-2: &lt;0,001*</b> <b>1-3: &lt;0,001*</b> <b>2-3: &lt;0,001*</b>
$\bar{x}_{\eta f 455}$ , M $\pm$ SD Me [[Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ]	0,74 $\pm$ 0,02 0,74 [0,72; 0,75]	0,81 $\pm$ 0,04 0,81 [0,8; 0,83]	0,85 $\pm$ 0,04 0,86 [0,86; 0,87]	<b>&lt;0,001<sup>*a</sup></b>	<b>1-2: &lt;0,001*</b> <b>1-3: &lt;0,001*</b> <b>2-3: &lt;0,001*</b>
$\bar{x}_{\eta f 480}$ , M $\pm$ SD Me [Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ]	0,84 $\pm$ 0,02 0,84 [0,83; 0,85]	0,88 $\pm$ 0,01 0,88 [0,87; 0,89]	0,88 $\pm$ 0,03 0,89 [0,88; 0,89]	<b>&lt;0,001<sup>*a</sup></b>	<b>1-2: &lt;0,001*</b> <b>1-3: &lt;0,001*</b> 2-3: 0,993
$\bar{x}_{\eta f 590}$ , M $\pm$ SD Me [[Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ]	0,27 $\pm$ 0 0,27 [0,27; 0,27]	0,29 $\pm$ 0,01 0,29 [0,29; 0,29]	0,3 $\pm$ 0,02 0,3 [0,29; 0,3]	<b>&lt;0,001<sup>*b</sup></b>	<b>1-2: 0,007*</b> <b>1-3: &lt;0,001*</b> 2-3: 0,502
$\bar{x}_{\eta f 630}$ , M $\pm$ SD Me [Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ]	0,204 $\pm$ 0,016 0,204 [0,192; 0,216]	0,192 $\pm$ 0,024 0,194 [0,184; 0,206]	0,143 $\pm$ 0,015 0,148 [0,13; 0,155]	<b>&lt;0,001<sup>*a</sup></b>	1-2: 0,098 <b>1-3: &lt;0,001*</b> <b>2-3: &lt;0,001*</b>
$\bar{x}_{\text{ПМ}}$ , M $\pm$ SD Me [Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ]	10,17 $\pm$ 1,41 10,1 [9,38; 10,86]	6,18 $\pm$ 1,85 5,9 [5,31; 6,8] 1	3,67 $\pm$ 1,23 3,42 [2,78; 4,05]	<b>&lt;0,001<sup>*a</sup></b>	<b>1-2: &lt;0,001*</b> <b>1-3: &lt;0,001*</b> <b>2-3: &lt;0,001*</b>

Динамика же индекса тканевого содержания ( $\eta f$ )420 (коллагена) и 455 (коллагена + эластин) коррелирует со степенью клинического проявления фиброзирующих процессов в очагах. При попарных сравнениях выявлено, что наибольшее значения флюоресценции коллагена отмечаются в подгруппе «склероз», как в сравнении с подгруппой «индурация», так и с подгруппой «воспаления» ( $p < 0,05$ ), при этом в подгруппе «индурация» индекс тканевого содержания ( $\eta f$ )420 и 455 (коллагена) также достоверно выше в сравнении с подгруппой «воспаление» ( $p < 0,05$ ). Наблюдаемые явления достаточно закономерны для течения БС и согласуются с литературными данными о

нарушении синтеза коллагена и свидетельствуют об активном накоплении его в дерме.

Анализ динамики индексов тканевого содержания ( $\eta f$ )480 (совокупности флюорофоров: НАД-Н, липофусцин, ФАД, жирные кислоты и др.) и ( $\eta f$ )590 (липофусцина) продемонстрировал, что наибольшие значения флюоресценции данных оптических маркеров наблюдаются при их регистрации в области очагов, где преобладают процессы индукции и склероза ( $p < 0,05$ ), однако достоверно значимых отличий по данным оптическим маркерам между этими подгруппами не выявлено ( $p > 0,05$ ). Также стоит отметить, что в подгруппе «воспаление», как отмечалось выше, наблюдается тенденция повышения флюоресценции данных эндогенных флюорофоров в сравнении с контрольной интактной кожей. Вероятнее всего на ранних стадиях заболевания повышение значений индекса тканевого содержания совокупности флюорофоров ( $\eta f$ )480 (НАД-Н, липофусцин, ФАД, жирные кислоты и др.) обусловлено совокупной результирующей флюоресценцией и липофусцина, и НАД-Н, тогда как по мере прогрессирования заболевания и снижения метаболической активности, основной вклад в флюоресценцию вносит липофусцин. Современные данные о патогенезе бляшечной склеродермии отмечают важность оксидативного стресса и активных форм кислорода (АФК), возникающих с участием мембранной системы НАДФН-оксидазы, в потенцировании фиброзного процесса при БС. Липофусцин же является эндогенным гетерогенным липопигментом и продуктом оксидативного стресса [11].

Анализ средних значений ПМ установил, что наибольшие значения отмечаются в подгруппе «воспаление» ( $p < 0,05$ ) в сравнении с другими подгруппами, тогда как наименьшие значения ПМ отмечаются в области патологических очагов кожи с клинически преобладающими процессами склероза ( $p < 0,05$ ), что может быть обусловлено, в раннюю воспалительную фазу заболевания, активными изменениями в эндотелии сосудов и лимфатических капилляров, приводящих к гиперплазии перicyтов и увеличению капиллярной плотности сети, тогда как на более поздних фазах заболевания эндотелиальная

дисфункция прогрессирует, отмечается дублирование базальной мембраны и деструкция эндотелиальных клеток, что приводит к редукции плотности капилляров [74].

Таким образом, на основании первичного анализа данных можно сделать ряд выводов:

1. Оптические параметры кожи в исследовании сопоставимы вне зависимости от анатомической локализации патологических очагов кожи, однако стоит отметить малое число наблюдений в ряде анатомических зон, что ограничивает валидность полученных результатов (спина – 8, кожа бедра и ягодицы – 13, кожа шеи – 3, кожа плеча, внутренняя поверхность – 1).

2. Статистический анализ пиков обратного рассеяния (Ibs365 и Ibs535) продемонстрировал различия в рассеивающих и поглощающих характеристиках тканей между интактной кожей и патологическими очагами кожи, что, согласно формуле (1), может приводить к завышению значений индексов тканевого содержания флюорофоров ( $\eta f$ ) в исследуемых подгруппах. Таким образом, для стандартизации метода исследования более приемлемо использовать нормированные на интактную кожу индексы тканевого содержания флюорофоров  $\mu(K)$ .

3. Повышение усредненных значений индексов тканевого содержания ( $\eta f$ )630 (порфиринов) и ПМ коррелируют в большей степени с активным воспалительным процессом.

4. Повышение средних значений ( $\eta f$ )420 (коллагена) и 455 (коллагена и эластина) является оптическим маркером патологических очагов кожи, где клинически отмечается преобладание процессов индукции и склероза.

5. Средние значения ( $\eta f$ )480 (совокупности флюорофоров: НАД-Н, липофусцин, ФАД, жирные кислоты и др.) и ( $\eta f$ )590 (липофусцина) выше в подгруппе «индукция» и «склероз», что скорее отражают степень прогрессирования заболевания.

6. Апостериорные попарные сравнения, как между интактной кожей и клиническими подгруппами, так и между клиническими подгруппами

продемонстрировали невозможность использования одного конкретно выбранного оптического маркера для дифференциации патологических процессов, что требует их сочетанного учета.

### **3.1.2. Результаты статистического анализа нормированных индексов тканевого содержания флюорофоров и показателя микроциркуляции**

С целью минимизации влияния внутрииндивидуальной вариабельности и ввиду выше отмеченного различия в рассеивающих и поглощающих свойствах между интактной кожей и в области патологических очагов кожи были вычислены нормированные на интактную кожу индексы тканевого содержания флюорофоров и ПМ ( $\mu(K)$ ). Данные статистического анализа продемонстрированы в Таблице 9. Это позволило обеспечить сопоставимость данных между индивидуумами и повысить достоверность межгрупповых сравнений.

Анализ апостериорных попарных сравнений, представленных в Таблице 9, показал их высокую степень согласованности с результатами, приведенными в Таблице 8, что подтверждает воспроизводимость выявленных различий и устойчивость используемых оптических маркеров.

На основании выше проведенного анализа были определены потенциальные оптические маркеры для объективной оценки патологических процессов при БС:  $\mu(K)420$  (коллагена),  $\mu(K)455$  (коллагена и эластина),  $\mu(K)480$  (совокупности флюорофоров: НАД-Н, липофусцин, ФАД, жирные кислоты и др.),  $\mu(K)630$  (порфирины) и  $\mu(K)$ ПМ (Рисунок 8).

Оптический маркер  $\mu(K)(590)$  липофусцин было принято исключить из дальнейшего анализа, так как он в том числе вносит существенный вклад в результирующий пик флюоресценции на эффективной длине волны регистрации 480 нм (совокупности флюорофоров: НАД-Н, липофусцин, ФАД, жирные кислоты и др.).

Таблица 9 – Апостериорные попарные сравнения нормированных индексов тканевого содержания флюорофоров между исследуемыми подгруппами, где  $\bar{x}$  – среднее значение, а – дисперсионный анализ, b-критерий Крускала-Уоллиса, \*-  $p < 0,05$

Оптический параметр	Характер процесса			Значение p	Попарные сравнения
	Воспаление	Индурация	Склероз		
Код	1	2	3		
$\bar{X}_{\mu(K)420}, M \pm SD$	$0,99 \pm 0,06$	$1,19 \pm 0,11$	$1,33 \pm 0,19$	<b>&lt;0,001*<sup>a</sup></b>	<b>1-2: &lt;0,001*</b> <b>1-3: &lt;0,001*</b> <b>2-3: 0,013*</b>
$\bar{X}_{\mu(K)455}, M \pm SD$	$1 \pm 0,03$	$1,1 \pm 0,06$	$1,14 \pm 0,04$	<b>&lt;0,001*<sup>b</sup></b>	<b>1-2: &lt;0,001*</b> <b>1-3: &lt;0,001*</b> <b>2-3: 0,007*</b>
$\bar{X}_{\mu(K)480}, M \pm SD$	$1,07 \pm 0,03$	$1,13 \pm 0,03$	$1,13 \pm 0,03$	<b>&lt;0,001*<sup>b</sup></b>	<b>1-2: &lt;0,001*</b> <b>1-3: &lt;0,001*</b> 2-3: 0,96
$\bar{X}_{\mu(K)590}, M \pm SD$	$1,18 \pm 0,09$	$1,28 \pm 0,17$	$1,29 \pm 0,12$	<b>0,005*<sup>b</sup></b>	<b>1-2: 0,019*</b> <b>1-3: 0,012*</b> 2-3: 0,986
$\bar{X}_{\mu(K)630}, M \pm SD$	$1,43 \pm 0,18$	$1,41 \pm 0,29$	$0,94 \pm 0,23$	<b>&lt;0,001*<sup>a</sup></b>	1-2: 0,927 <b>1-3: &lt;0,001*</b> <b>2-3: &lt;0,001*</b>
$\bar{X}_{\mu(K)ПМ}, M \pm SD$	$1,9 \pm 0,34$	$1,16 \pm 0,34$	$0,67 \pm 0,24$	<b>&lt;0,001*<sup>a</sup></b>	<b>1-2: &lt;0,001*</b> <b>1-3: &lt;0,001*</b> <b>2-3: &lt;0,001*</b>

Для определения пороговых значений нормированных индексов тканевого содержания флюорофоров были построены функции ROC-кривых с учетом упорядывающего фактора в виде объединения подгрупп, достоверно не отличающихся по конкретному маркеру, в один класс (Таблица 10): объединение для совокупности флюорофоров ( $\mu(K)480$ ) (липофусцин+НАД-Н+ФАД+ др.) – «индурация» + «склероз»; для порфиринов ( $\mu(K)630$ ) – «воспаление» + «индурация».

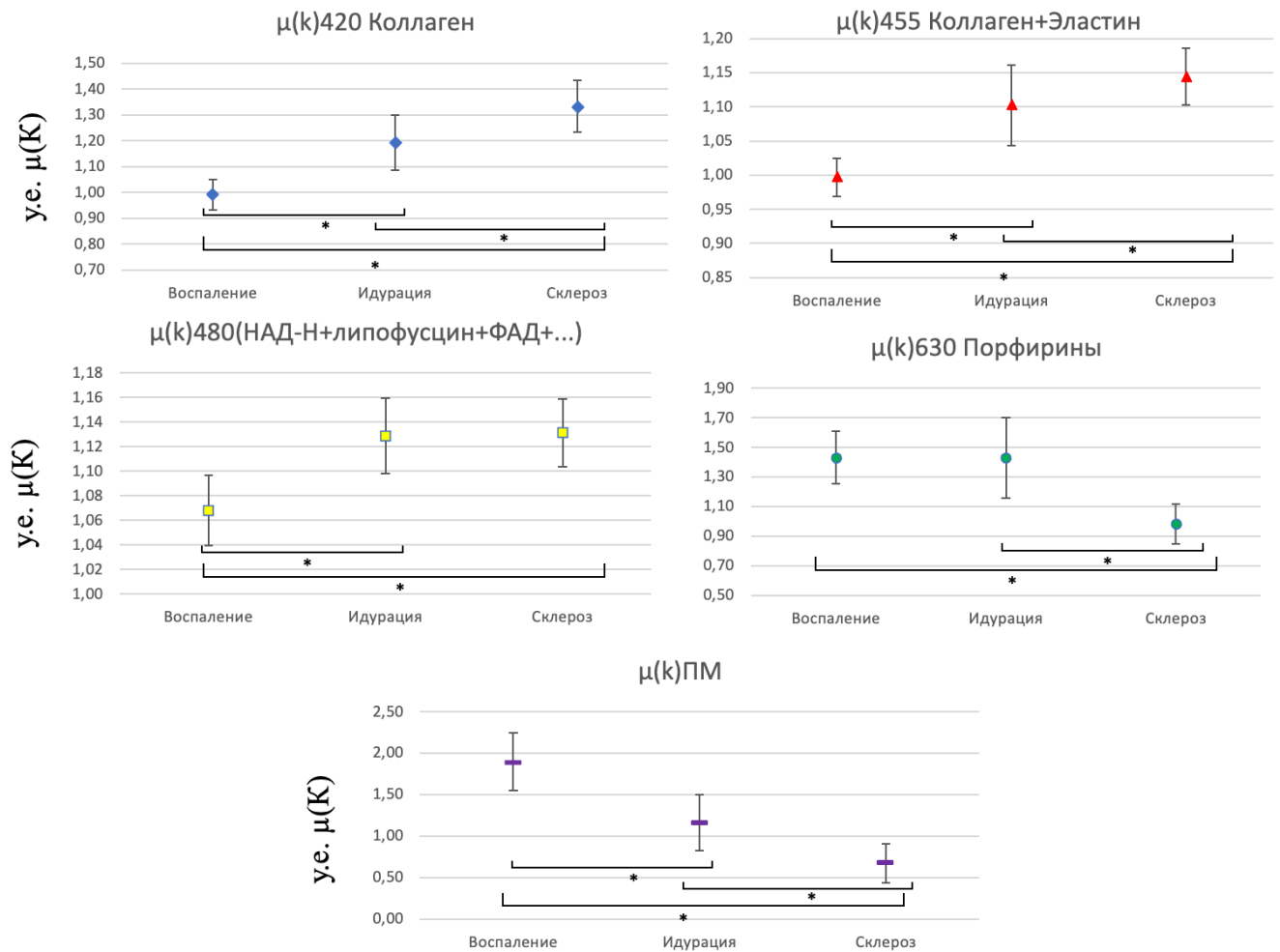


Рисунок 8 – Динамика нормированных на интактную кожу индексов тканевого содержания флюорофоров, где \*-  $p < 0,05$

По результатам ROC-анализа было установлено, что показатель  $\mu(K)420$  (коллагена) демонстрирует наивысшую специфичность (1,0) при разграничении воспаления и индукции с чувствительностью 0,909, с точностью 0,958 (ДИ 95%: 0,86–0,99), что указывает на его высокую прогностическую ценность в выявлении начальной фазы фиброзных изменений. В то же время, при разграничении индукции и склероза по  $\mu(K)420$  чувствительность сохраняется высокой (0,864), однако специфичность несколько снижается (0,727), с точностью 0,795 (ДИ 95%: 0,66–0,88), что может свидетельствовать о частичном перекрытии спектральных характеристик данных фаз. Индекс  $\mu(K)455$  (коллагена и эластина) также демонстрирует высокие диагностические характеристики как при разграничении воспаления и индукции (чувствительность — 0,909, специфичность — 0,962, с точностью 0,938 (ДИ 95%: 0,83–0,98)), так и при отличии индукции от склероза

(оба показателя — 0,818, с точностью 0,818 (ДИ 95%: 0,69–0,90)), подтверждая его универсальность в оценке степени фиброзного ремоделирование дермы.

Таблица 10 – Результаты ROC-анализа, где СП – специфичность, ЧВ – чувствительность, ДИ – доверительный интервал

Оптический маркер	Различие между классами	Пороговое значение	СП	ЧВ	Точность	ДИ 95% (Методом Уилсона)
$\mu(K)420$	«воспаление» и «индурация»	1,097	1	0,909	0,958	0,86–0,99
$\mu(K)420$	«индурация» и «склероз»;	1,243	0,727	0,864	0,795	0,66–0,88
$\mu(K)455$	«воспаление» и «индурация»	1,035	0,962	0,909	0,938	0,83–0,98
$\mu(K)455$	«индурация» и «склероз»	1,132	0,818	0,818	0,818	0,69–0,90
$\mu(K)480$	«воспаление» и «индурация+склероз»	1,102	0,962	0,886	0,914	0,83–0,96
$\mu(K)630$	«воспаление+индурация» и «склероз»	1,136	0,938	0,955	0,943	0,85–0,98
$\mu(K)ПМ$	«воспаление» и «индурация»	1,519	0,885	0,864	0,875	0,75–0,94
$\mu(K)ПМ$	«индурация» и «склероз»	0,81	0,864	0,773	0,819	0,69–0,90

Особо следует отметить индекс  $\mu(K)480$ , отражающий суммарную флюоресценцию НАД-Н, липофусцина, ФАД и других метаболитов. Он показал высокую чувствительность (0,886) и специфичность (0,962), с точностью 0,914 (ДИ 95%: 0,83–0,96) при дифференциации воспалительных и фиброзных очагов (индурация + склероз), что делает его перспективным маркером прогрессирования заболевания.

Индекс  $\mu(K)630$  (порфиринов) обладает высоким уровнем специфичности (0,938) и чувствительности (0,955), с точностью 0,943 (ДИ 95%: 0,85–0,98) при дифференциации воспалительно-активных фаз патологического процесса

(воспаление + индурация) от склеротических изменений, что подчеркивает его значимость как маркера воспаления.

Показатель микроциркуляции  $\mu(K)ПМ$  также продемонстрировал высокую диагностическую точность. При разграничении воспаления и индурации он показал чувствительность 0,864 и специфичность 0,885, с точностью 0,875 (ДИ 95%: 0,75–0,94), а при отличии индурации от склероза — 0,773 и 0,864 соответственно, с точностью 0,819 (ДИ 95%: 0,69–0,90). Эти данные подтверждают прогностическую ценность перфузионных характеристик при оценке стадии патологического процесса, особенно учитывая их патоморфологическую связь с изменениями капиллярной сети дермы.

Таким образом, ROC-анализ показал, что совокупность оптических и гемодинамических параметров  $\mu(K)420$ ,  $\mu(K)455$ ,  $\mu(K)480$ ,  $\mu(K)630$  и  $\mu(K)ПМ$  обладает высокой чувствительностью и специфичностью при разграничении фаз воспаления, индурации и склероза. Полученные результаты патофизиологически обоснованы и подтверждают возможность использования указанных оптических показателей в качестве количественных биомаркеров для объективизации ведущего патологического процесса и мониторинга активности заболевания.

### 3.1.3. Результаты ультразвукового исследования

В качестве дополнительного контроля исследования 30 пациентам из экспериментальной группы было проведено УЗИ интактной кожи и патологических очагов кожи в зависимости от клинически преобладающего патологического процесса (воспаление – 10; индурация – 10; склероз – 10) в соответствующих областях, что и при методах ЛФС и ЛДФ.

По результатам УЗ – контроля были выявлены следующие паттерны, характерные для соответствующих исследуемых подгрупп (Рисунок 9-11):

- В подгруппах «воспаление» и «индурация» отмечалось увеличение толщины дермы и снижение ее эхогенности в сравнении с контрольной интактной кожей,

что характеризует активное воспаление (воспалительную инфильтрацию) и отек тканей в зоне исследования;

- В подгруппе «склероз», наблюдалось уменьшение толщины дермы и гиперэхогенность в сравнении с контрольной интактной кожей, что подтверждает отсутствие инфильтрации, отека и детерминируется синтезом и плотной упаковкой коллагена дерме.

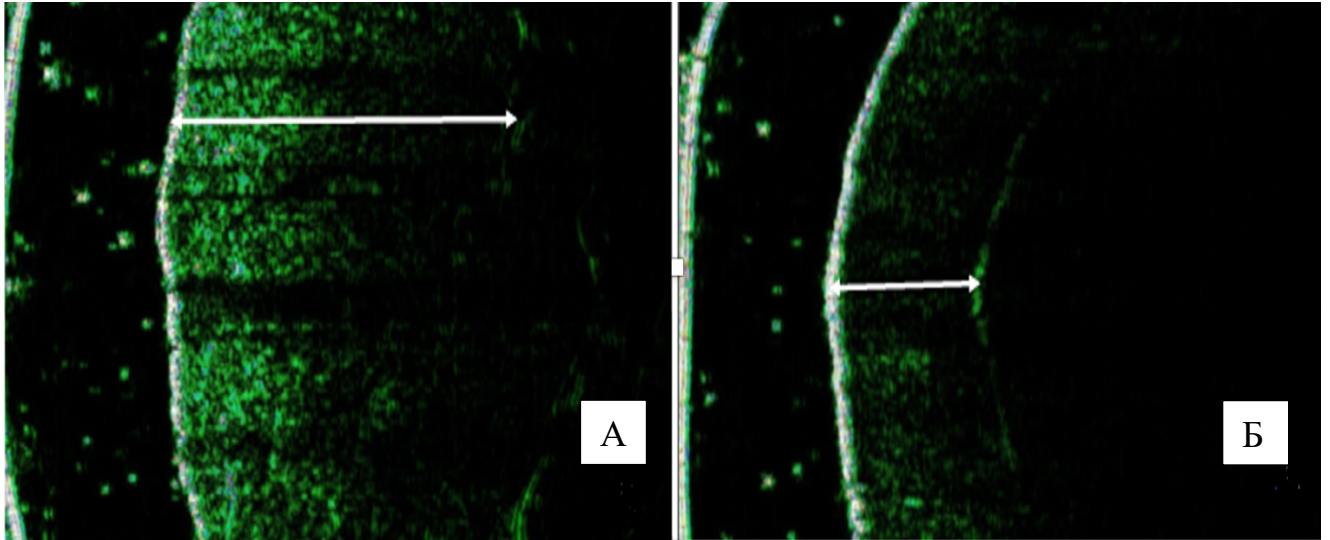


Рисунок 9 – А – УЗИ активного патологического очага кожи, с клинически преобладающими процессами воспаления (толщина дермы: 1,891 мм; эхогенность: 8), Б – УЗИ контрольной интактной кожи (толщина дермы: 0,7 мм; эхогенность: 20)

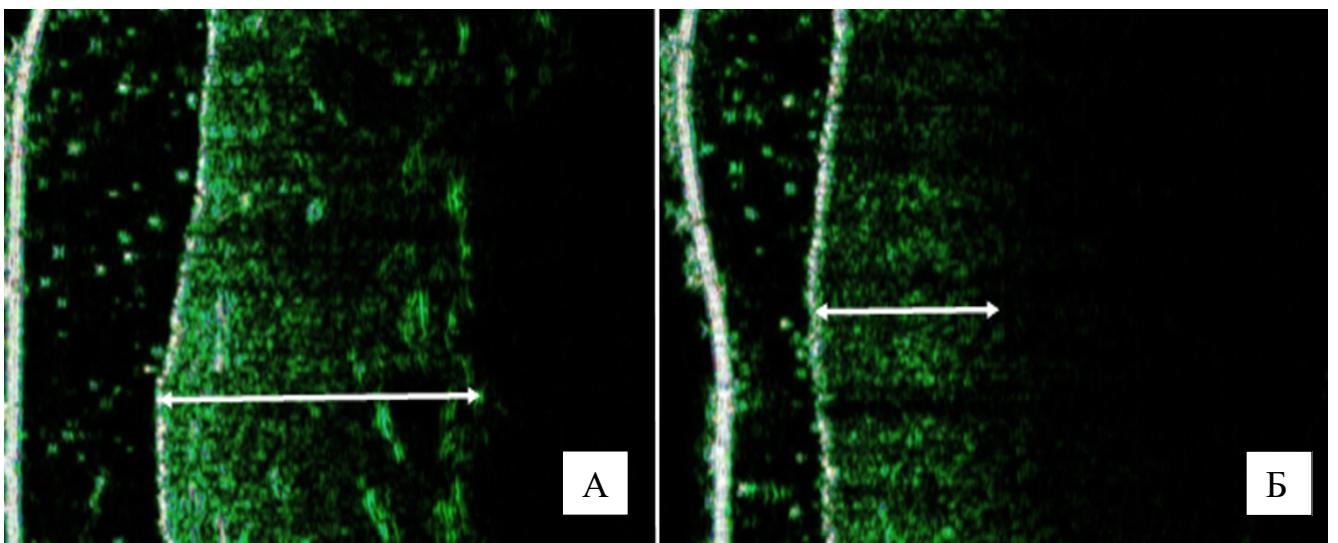


Рисунок 10 – А – УЗИ активного патологического очага кожи, с клинически преобладающими процессами индукции (толщина дермы: 1,402 мм; эхогенность: 11), Б – УЗИ контрольной интактной кожи (толщина дермы: 0,8 мм; эхогенность: 23)

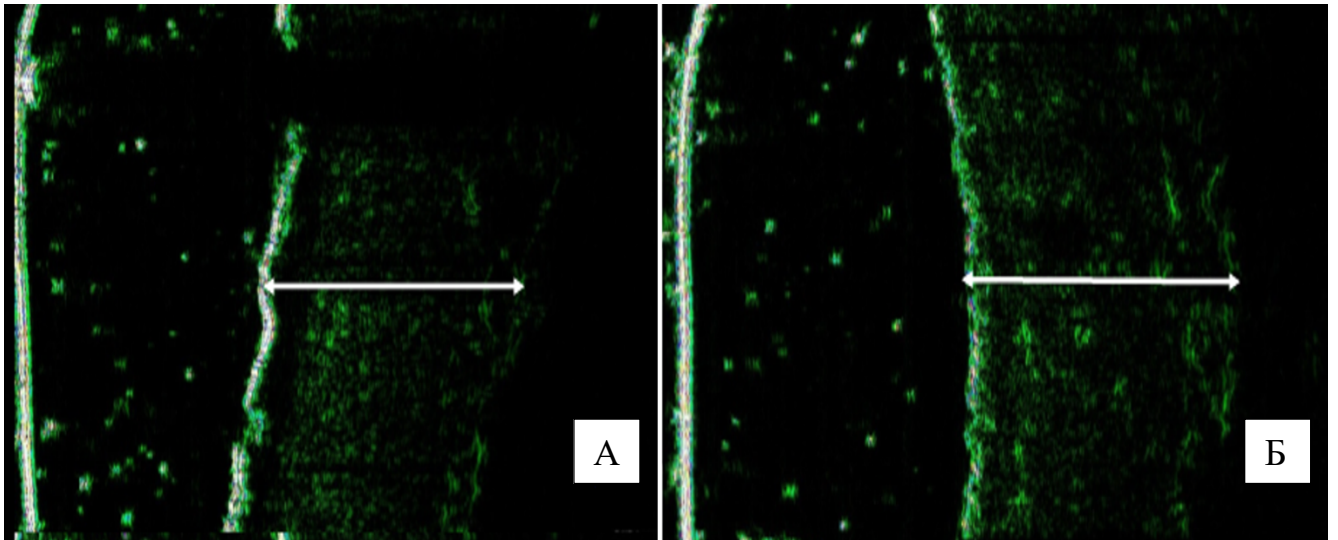


Рисунок 11 – А – УЗИ неактивного патологического очага кожи, с клинически преобладающими процессами склероза (толщина дермы: 1,2 мм; эхогенность: 17),  
 Б – УЗИ контрольной интактной кожи (толщина дермы: 1,313 мм ;  
 эхогенность: 14)

Характерные эхоструктурные изменения в патологических очагах кожи локализованной склеродермии на разных стадиях заболевания соответствуют данным, ранее описанным в научной литературе [30]. Результаты исследования обобщены и представлены на Рисунке 12 и в Таблице 11.

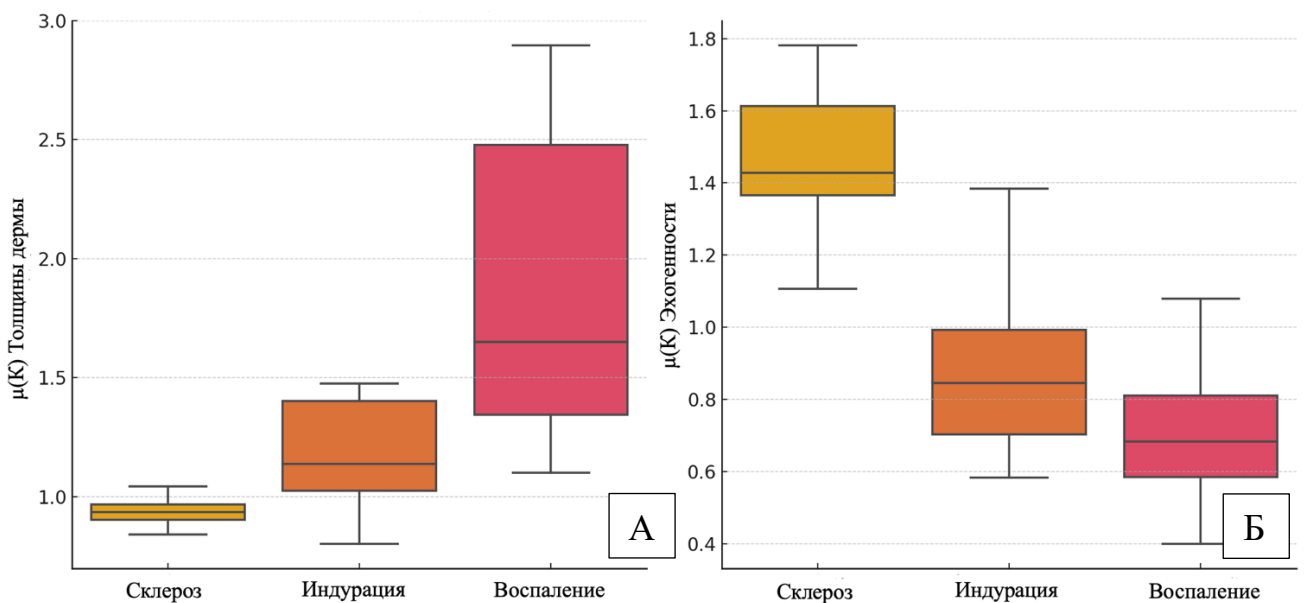


Рисунок 12 – Средние значения и стандартное отклонение нормированных на интактную кожу индексов  $\mu(K)$  толщины дермы (А) и  $\mu(K)$  эхогенности (Б)

Усредненные значения нормированных индексов  $\mu(K)$  толщины дермы и  $\mu(K)$  эхогенности демонстрируют чёткую тенденцию, отражающую стадии морфологических изменений тканей.

Таблица 11 – Результаты УЗИ, где указаны средние значения и стандартное отклонение (СО) толщины дермы, эхогенности и их нормированных на интактную кожу коэффициентов

Характер процесса	«Воспаление»	Интактная кожа (Восп.)	«Индурация»	Интактная кожа (Инд.)	«Склероз»	Интактная кожа (Скл.)
	Среднее $\pm$ СО	Среднее $\pm$ СО	Среднее $\pm$ СО	Среднее $\pm$ СО	Среднее $\pm$ СО	Среднее $\pm$ СО
Толщина дермы, мм	1,43 $\pm$ 0,2	0,85 $\pm$ 0,28	1,47 $\pm$ 0,34	1,18 $\pm$ 0,26	1,17 $\pm$ 0,29	1,24 $\pm$ 0,27
Эхогенность, у.е.	10,8 $\pm$ 2,53	16,5 $\pm$ 5,7	13,7 $\pm$ 2,83	18,4 $\pm$ 4,9	19,4 $\pm$ 2,95	13,4 $\pm$ 2,59
$\mu(K)$ Толщины дермы	1,86 $\pm$ 0,67	-	1,27 $\pm$ 0,26	-	0,94 $\pm$ 0,06	-
$\mu(K)$ Эхогенности	0,70 $\pm$ 0,21	-	0,78 $\pm$ 0,18	-	1,47 $\pm$ 0,23	-

При этом корреляционный анализ, методом Спирмена, продемонстрировал (Рисунок 13), что  $\mu(K)$  толщины дермы обратно связана с уровнем нормированных на интактную кожу индексов тканевого содержания  $\mu(K)420$  коллагена,  $\mu(K)455$  коллагена и эластина и  $\mu(K)480$  совокупности флюорофоров ( $p < 0,05$ ), в тоже время  $\mu(K)$  толщины дермы положительно коррелирует с индексами  $\mu(K)ПМ$  и  $\mu(K)630$  порфиринов ( $p < 0,05$ ).

Индекс же  $\mu(K)$  эхогенности, статистически отрицательно связан с  $\mu(K)ПМ$  и  $\mu(K)630$  порфиринов и положительно коррелирует с  $\mu(K)420$  коллагена и  $\mu(K)455$  коллагена и эластина (Рисунок 14), согласно корреляционному анализу Пирсона ( $p < 0,05$ ).

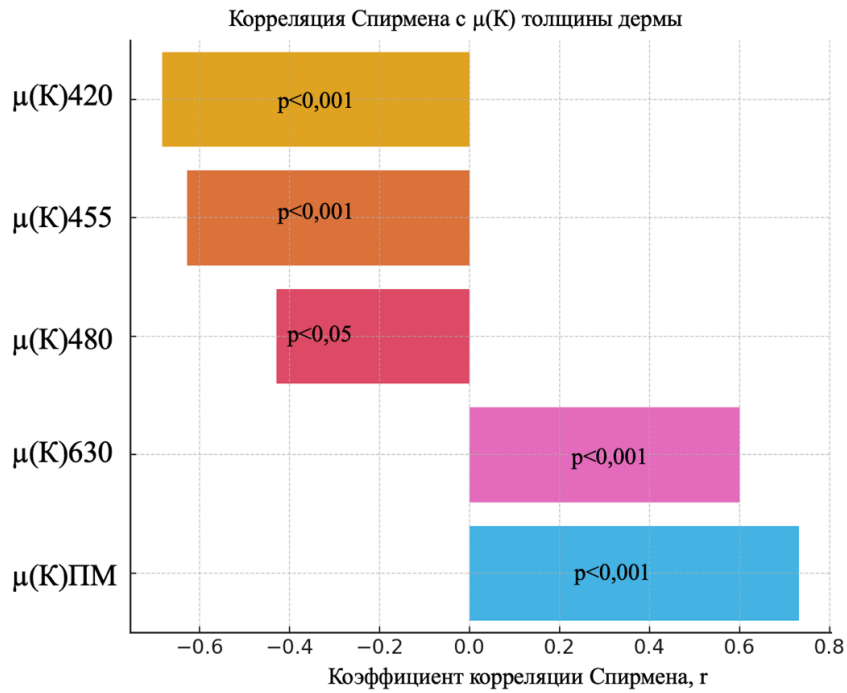


Рисунок 13 – Корреляционный анализ Спирмена, между ультразвуковыми и лазерными оптическими параметрами кожи

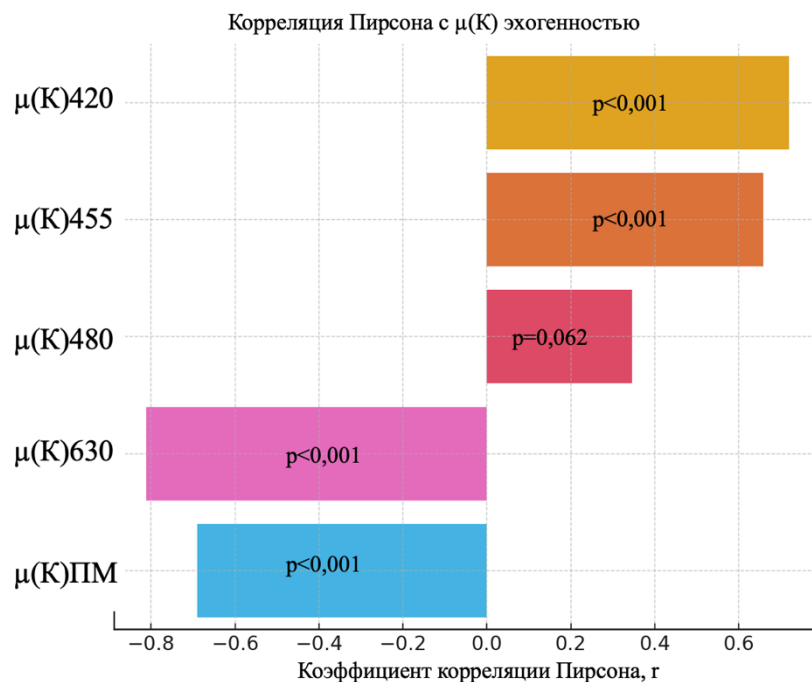


Рисунок 14 – Корреляционный анализ Пирсона, между ультразвуковыми и лазерными оптическими параметрами кожи

Таким образом, данные УЗ-контроля согласуются с клинической оценкой патологических очагах кожи и результатами, полученными с использованием методов ЛФС и ЛДФ, и что в том числе подтверждает взаимосвязь морфологических и оптических параметров кожи.

### 3.1.4. Результаты гистологического исследования

В качестве дополнительного критерия валидации объективности неинвазивных диагностических методов после УЗИ, ЛФС, ЛДФ было взято 30 верифицирующих панч-биопсий из соответствующих зон оптического зондирования («воспаление» – 10; «индурация» – 10; «склероз» – 10), с последующим гистологическим исследованием.

При анализе результатов патоморфологического исследования было установлено, что в патологических очагах кожи, где клинически преобладали процессы воспаления, гистологическая картина была представлена выраженными воспалительными периваскулярными инфильтратами без каких-либо структурных изменений в дерме (Рисунок 15). Однако стоит отметить, что в одном гистологическом препарате отмечались области гомогенизации коллагена.

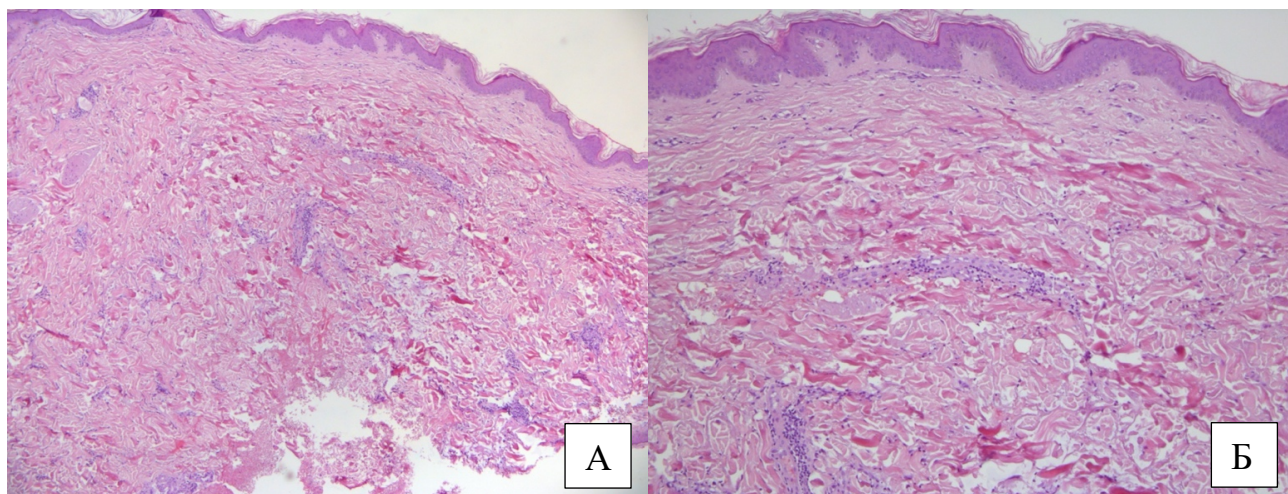


Рисунок 15 – Гистологическая картина из зоны воспаления, окраска гематоксилином и эозином (увеличение: Ах50, Бх100)

Патоморфологическая картина в биопсийном материале из зон с преобладанием индуративных изменений демонстрировала персистенцию периваскулярных инфильтратов, наличие областей гомогенизированного коллагена и сглаженность сосочкового слоя дермы (Рисунок 16).

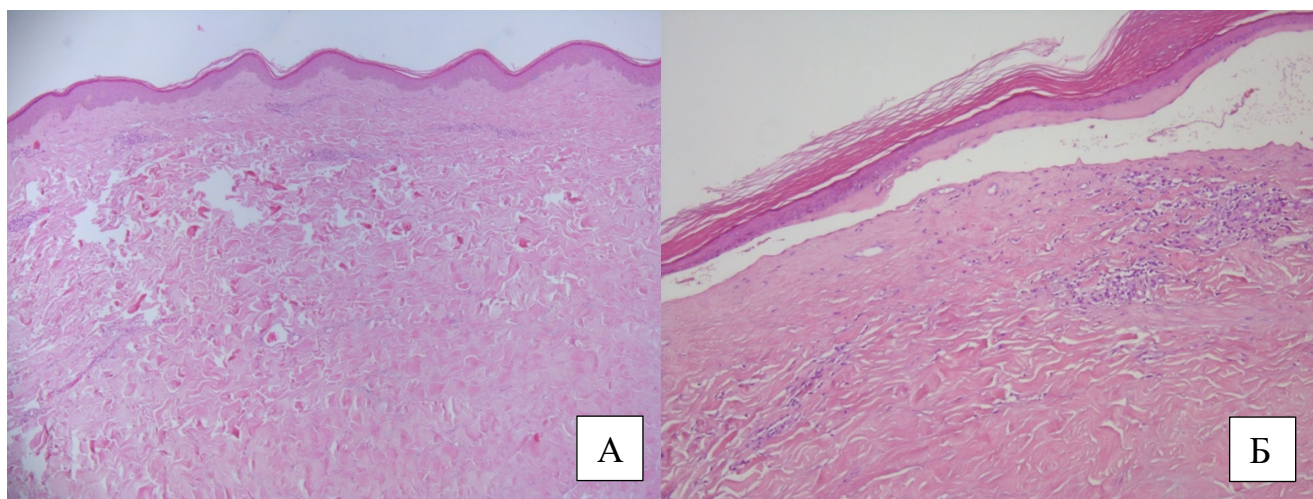


Рисунок 16 – Гистологическая картина из зоны индурации, окраска гематоксилином и эозином (увеличение: Ах50, Бх100)

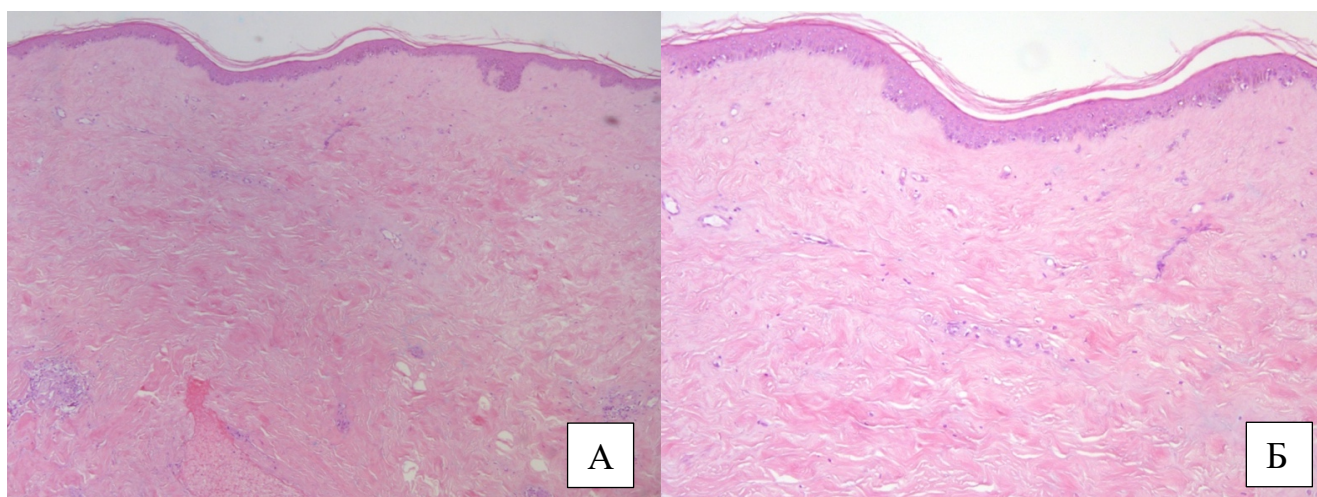


Рисунок 17 – Гистологическая картина из зоны склероз, окраска гематоксилином и эозином (увеличение: Ах50, Бх1000)

Тогда как гистологическое исследование биоптатов из участков с клинически доминирующими склеротическими изменениями выявило уплощение сосочкового слоя дермы, плотную упаковку коллагеновых волокон, редукцию сосудистого компонента и клеточных элементов, а также присутствие мелких сосудов с признаками склерозирования (Рисунок 17).

Таким образом, результаты УЗИ, ЛФС, ЛДФ и патоморфологического исследования сопоставимы и соответствуют клинической оценке исследуемых подгрупп.

## **ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ИНТЕРПРЕТАЦИИ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛФС И ЛДФ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ И ПОТЕНЦИАЛЬНОЕ ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ**

### **4.1. Алгоритм объективного определения ведущего патологического процесса в очагах при бляшечной склеродермии**

На основании полученных результатов исследования и пороговых значений нормированных на интактную кожу индексов тканевого содержания флюорофоров в экспериментальной группе пациентов предлагается использовать детерминированный пороговый метод определения, который позволяет устанавливать ведущий патологический процесс в исследуемом очаге бляшечной склеродермии на основании 5-ти измеряемых биофизических параметров кожи ( $\mu(K)420$  (коллагена),  $\mu(K)455$  (коллагена и эластина),  $\mu(K)480$  (совокупности флюорофоров: НАД-Н, липофусцин, ФАД, жирные кислоты и др.),  $\mu(K)630$  (порфирины) и  $\mu(K)ПМ$ ).

Данный метод основан на эвристических правилах, использующих логические условия и заданные пороговые значения для определения вероятного ведущего патологического процесса (Рисунок 18).

Как видно из Рисунка 18, для каждого оптического маркера определены заранее установленные пороговые величины, которые разделяют его измеренные значения на интервалы, соответствующие определённым категориям (патологическим процессам). Каждый оптический параметр последовательно сравнивается с установленными пороговыми значениями. В зависимости от диапазона, в который попадает измеренное значение, соответствующему патологическому процессу начисляется 1 балл. Некоторые параметры, такие как  $\mu(K)480$  (совокупности флюорофоров: НАД-Н, липофусцин, ФАД, жирные кислоты и др.) и  $\mu(K)630$  (порфирины), допускают промежуточные ситуации, когда значение признака одновременно соответствует двум процессам. В таких случаях баллы (по 0,5) равномерно распределяются между этими процессами.

Оптический параметр	Воспаление	Индурация	Склероз
μ(K) (420 нм) Коллаген	0 или 1	0 или 1	0 или 1
	≥1,097 →		≥1,243 →
μ(K) (455 нм) Коллаген + Эластин	0 или 1	0 или 1	0 или 1
	≥1,035 →		≥1,132 →
μ(K) (480 нм) Совокупность флюорофоров (липофусцин+НАД-Н+ФАД+...)	0 или 1	0 или 0,5	0 или 0,5
	≥1,102 →		
μ(K) (630 нм) Порфирины	0 или 0,5	0 или 0,5	0 или 1
			← ≥1,136
μ(K)ПМ	0 или 1	0 или 1	0 или 1
	← ≥1,519	← ≥0,81	

Рисунок 18 – Алгоритм объективного определения патологического процесса

После оценки всех пяти биомаркеров суммируются полученные баллы отдельно по каждой диагностической категории («воспаление», «индурация», «склероз»). Ведущий патологический процесс определяется категорией, набравшей максимальное количество баллов.

Таким образом, предложенный алгоритм является экспертной системой, работающей по принципу классификации на основе набранных баллов. Он позволяет просто и быстро интерпретировать количественные данные в качественный диагностический вывод.

**Клинический пример 1.** Пациентка К., 19 лет, находилась на стационарном курсе лечения в отделении дерматовенерологии и дерматоонкологии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского с диагнозом, ограниченная бляшечная склеродермия. Пациентке было проведено исследование патологического очага кожи очага в области передней поверхности правого бедра, методами ЛФС и ЛДФ (Рисунки 19 и 20).

После чего полученные значения нормированных индексов тканевого содержания вносились в таблицу алгоритма, с последующим определением суммы баллов по каждой категории.



Рисунок 19 – Активный патологический очаг кожи, существующий <3 месяцев, размерами до 4,0 см в диаметре

Оптический параметр	Воспаление	Индурация	Склероз
μ(К) (420 нм) Коллаген	0 или <u>1</u>	<u>0</u> или 1	<u>0</u> или 1
	<b>1,022</b>	≥1,097 →	≥1,243 →
μ(К) (455 нм) Коллаген + Эластин	0 или <u>1</u>	<u>0</u> или 1	<u>0</u> или 1
	<b>1,016</b>	≥1,035 →	≥1,132 →
μ(К) (480 нм) Совокупность флуорофоров (липофусцин+НАД-Н+ФАД+...)	0 или <u>1</u>	<u>0</u> или 0,5	<u>0</u> или 0,5
	<b>1,094</b>	≥1,102 →	
μ(К) (630 нм) Порфирины	0 или <u>0,5</u>	0 или <u>0,5</u>	<u>0</u> или 1
	<b>1,479</b>		← ≥1,136
μ(К)ПМ	0 или <u>1</u>	<u>0</u> или 1	<u>0</u> или 1
	<b>2,099</b>	← ≥1,519	← ≥0,81

Рисунок 20 – Применение алгоритма диагностики, клинический пример 1

Как видно из Рисунка 20, наибольшая сумма баллов определена в категории «воспаление» и составляет 4,5 балла, тогда как в категории «индурация» и «склероз» сумма составляла соответственно 0,5 и 0 баллов. Таким образом, можно сделать заключение, что у данной пациентки на момент исследования ведущий патологический процесс в очаге представлен воспалением.

Преимуществами предложенного алгоритма являются высокая прозрачность и простота интерпретации результатов, так как каждый этап принятия решения однозначен. В случае же получения сомнительного результата присутствует возможность оценить, какие из исследуемых показателей отклоняется от пороговых интервалов. Также метод отличается относительной легкостью реализации, низкими вычислительными затратами и не требует высокой квалификации специалиста, что делает его практичным для использования в условиях клинической практики, где в том числе важна оперативность диагностики.

#### **4.2. Проверка работы алгоритма диагностики на экспериментальной группе**

Для оценки работоспособности разработанного алгоритма была проведена его проверка на экспериментальной группе пациентов, использовавшейся при создании модели и определения пороговых значений индексов флюорофоров. Для каждого случая осуществлялось последовательное вычисление диагностических баллов, согласно алгоритму, на основании количественных характеристик нормированных индексов тканевого содержания флюорофоров и ПМ, с последующим определением ведущего патологического процесса. Результаты определения сопоставлялись с фактическими клиническими заключениями и в ряде случаев с гистологической картиной, что позволило провести предварительную оценку диагностической эффективности алгоритма. Данный этап послужил основой для последующего тестирования алгоритма на независимой контрольной выборке с целью объективной валидации его диагностических возможностей.

Автоматическая проверка алгоритма на экспериментальной группе с помощью программы R studio Version 1.4.1106 (RStudio PBC, USA) и языка R версии 4.2.2 продемонстрировала высокую диагностическую эффективность при определении ведущего патологического процесса (Таблица 11). Для воспалительного процесса была достигнута чувствительность 96,2% и специфичность 95,5%, что указывает на высокую точность распознавания активного воспаления и надёжную дифференциацию от других состояний. Индуративные изменения были выявлены с чувствительностью 77,3% и специфичностью 91,7%, что отражает способность алгоритма к корректному определению переходной стадии ремоделирования ткани, хотя именно здесь наблюдалось наибольшее число диагностических ошибок. Склероз был определен с чувствительностью 86,4% и специфичностью 93,8%, что подтверждает устойчивость модели при идентификации стабильных, фиброзных изменений дермы. Специфичность и чувствительность рассчитывались с учетом пороговых значений, вычисленных для каждого оптического параметра.

Таблица 12 – Результаты автоматической проверки алгоритма на экспериментальной группе (RStudio PBC)

Параметр		Клинический характер процесса		
		Воспаление	Индурация	Склероз
Предсказанная стадия	Воспаление, n (%)	25 (96,2%)	2 (9,1%)	0 (0%)
	Индурация, n (%)	1 (3,8%)	17 (77,3%)	3 (13,6%)
	Склероз, n (%)	0 (0%)	3 (13,6%)	19 (86,4%)

Алгоритм такого типа подразумевает возможность получения одинакового количества баллов в двух разных категориях. Также стоит отметить, что при автоматической проверке алгоритма в R Studio при равных баллах в двух категориях предсказание определяется случайным образом (Таблица 13).

Таблица 13 – Проверка алгоритма диагностики на экспериментальной группе, где красный цвет – ошибка, зеленый цвет – сомнительный результат

Клинический характер процесса	$\mu(K)$ 420	$\mu(K)$ 455	$\mu(K)$ 480	$\mu(K)$ 630	$\mu(K)$ ПМ	Кол-во баллов воспаление	Кол-во баллов индурация	Кол-во баллов склероз
Воспаление	1,005	1,011	1,095	1,518	1,596	4,5	0,5	0
Воспаление	1,027	1,034	1,075	1,554	1,625	4,5	0,5	0
Воспаление	1,008	0,969	1,075	1,220	2,199	4,5	0,5	0
Воспаление	0,931	1,009	1,068	1,309	1,601	4,5	0,5	0
Воспаление	0,921	0,952	1,082	1,515	2,610	4,5	0,5	0
Воспаление	1,018	1,018	1,090	1,567	1,530	4,5	0,5	0
Воспаление	1,011	1,052	1,098	1,731	1,490	2,5	2,5	0
Воспаление	0,892	0,997	1,059	1,481	2,245	4,5	0,5	0
Воспаление	1,022	1,016	1,094	1,479	2,099	4,5	0,5	0
Воспаление	0,956	0,952	1,048	1,439	1,780	4,5	0,5	0
Воспаление	1,060	0,981	1,061	1,261	1,725	4,5	0,5	0
Воспаление	0,915	0,962	1,073	1,191	1,729	4,5	0,5	0
Воспаление	1,069	0,989	1,083	1,286	1,843	4,5	0,5	0
Воспаление	1,011	0,978	1,077	1,839	2,276	4,5	0,5	0
Воспаление	0,910	0,976	1,053	1,256	1,552	4,5	0,5	0
Воспаление	1,030	1,019	1,085	1,515	1,478	3,5	1,5	0
Воспаление	0,942	1,009	1,102	1,548	2,180	4,5	0,5	0
Воспаление	1,008	1,014	1,109	1,290	1,750	3,5	1	0,5
Воспаление	0,927	1,005	1,023	1,403	2,176	4,5	0,5	0
Воспаление	1,059	1,019	1,002	1,283	1,929	4,5	0,5	0
Воспаление	0,950	0,974	1,011	1,527	2,375	4,5	0,5	0
Воспаление	0,934	0,940	1,078	1,746	1,783	4,5	0,5	0

Продолжение Таблицы 13

Воспаление	1,054	1,005	1,087	1,368	2,312	4,5	0,5	0
Воспаление	1,079	1,022	1,032	1,225	1,229	3,5	1,5	0
Воспаление	1,095	1,028	1,083	1,155	2,129	4,5	0,5	0
Воспаление	0,961	0,978	1,027	1,511	2,123	4,5	0,5	0
Индурация	1,187	1,095	1,123	1,489	0,834	0,5	4	0,5
Индурация	1,187	1,088	1,122	1,356	0,810	0,5	4	0,5
Индурация	1,146	1,097	1,131	1,299	1,121	0,5	4	0,5
Индурация	1,175	1,084	1,090	1,645	1,508	1,5	3,5	0
Индурация	1,150	1,130	1,134	1,773	1,805	1,5	3	0,5
Индурация	1,098	1,107	1,109	1,512	1,708	1,5	3	0,5
Индурация	1,356	0,968	1,122	1,815	1,041	1,5	2	1,5
Индурация	1,149	1,102	1,135	1,514	1,030	0,5	4	0,5
Индурация	1,121	1,077	1,121	1,605	1,226	0,5	4	0,5
Индурация	1,315	1,190	1,141	1,362	1,158	0,5	2	2,5
Индурация	1,108	1,075	1,111	1,046	0,790	0	2,5	2,5
Индурация	1,238	1,121	1,163	1,303	0,924	0,5	4	0,5
Индурация	1,151	1,089	1,155	1,497	1,294	0,5	4	0,5
Индурация	1,240	1,166	1,148	2,027	1,043	0,5	3	1,5
Индурация	1,163	1,230	1,211	1,531	1,151	0,5	3	1,5
Индурация	0,960	0,994	1,103	1,406	1,273	2,5	2	0,5
Индурация	1,130	1,109	1,109	1,199	1,237	0,5	4	0,5
Индурация	1,400	1,196	1,152	0,931	0,653	0	0,5	4,5
Индурация	1,291	1,089	1,117	1,514	1,929	1,5	2	1,5
Индурация	1,059	1,036	1,056	0,887	0,718	2	1	2
Индурация	1,294	1,109	1,164	1,175	1,084	0,5	3	1,5

Продолжение Таблицы 13

Индурация	1,325	1,097	1,118	1,599	1,111	0,5	3	1,5
Склероз	1,398	1,148	1,118	1,003	0,711	0	0,5	4,5
Склероз	1,298	1,188	1,159	1,015	0,502	0	0,5	4,5
Склероз	1,329	1,150	1,143	0,736	0,468	0	0,5	4,5
Склероз	1,379	1,162	1,128	1,059	0,508	0	0,5	4,5
Склероз	1,416	1,135	1,133	1,056	0,508	0	0,5	4,5
Склероз	1,285	1,160	1,102	1,050	0,600	0	0,5	4,5
Склероз	1,262	1,141	1,080	1,054	0,439	1	0	4
Склероз	1,393	1,141	1,129	0,848	0,565	0	0,5	4,5
Склероз	1,246	1,119	1,084	0,884	0,428	1	1	3
Склероз	1,220	1,168	1,135	1,090	0,854	0	2,5	2,5
Склероз	1,295	1,147	1,158	0,785	0,790	0	0,5	4,5
Склероз	1,135	1,055	1,087	1,272	1,112	1,5	3,5	0
Склероз	1,421	1,160	1,155	0,741	0,510	0	0,5	4,5
Склероз	1,461	1,137	1,138	1,118	0,676	0	0,5	4,5
Склероз	1,372	1,152	1,151	1,038	0,926	0	1,5	3,5
Склероз	1,321	1,156	1,114	0,871	0,350	0	0,5	4,5
Склероз	1,411	1,204	1,152	0,872	1,111	0	1,5	3,5
Склероз	1,565	1,141	1,142	0,877	0,529	0	0,5	4,5
Склероз	1,300	1,101	1,143	1,013	0,809	0	1,5	3,5
Склероз	1,324	1,147	1,125	1,117	0,563	0	0,5	4,5
Склероз	1,323	1,229	1,195	1,076	0,585	0	0,5	4,5
Склероз	1,144	1,035	1,116	1,014	1,168	1	2,5	1,5

Более детальный анализ ошибок показал (Таблица 13), что основные затруднения в предсказании возникают в случаях индурации, которые нередко ошибочно интерпретируются как воспаление или рубец. Вероятно, данные ошибки связаны с тем, что данный патологический процесс представляет собой промежуточный морфо-биохимический этап между воспалением и склеротическими изменениями, обладающий частичными признаками обеих стадий. Таким образом, отмеченные пограничные диагностические расхождения имеют патофизиологическое обоснование и свидетельствуют о сложности объективной дифференциации переходных форм патологического процесса.

По результатам проверки было также выявлено 4 случая одинаковой суммы баллов в разных категориях (подгруппа «воспаления» – 1, подгруппа «индурация» – 2, подгруппа «склероз» – 1), что продемонстрировано в клиническом примере 2.

**Клинический пример 2.** Пациентка О., 55 лет, находилась на стационарном курсе лечения в отделении дерматовенерологии и дерматоонкологии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского с диагнозом, распространенная бляшечная склеродермия.

Патологический кожный процесс несимметричный, локализован на коже правой молочной железы и подмышечной впадины, по передней аксиллярной линии, где представлен бляшками с периферическим валиком воспаления и центральным уплотнением по типу «слоновой кости». Пациентка отметила появление патологического очага кожи в области правой ягодицы за 3-4 месяца до госпитализации, патологический процесс представлен пятном, розово-фиолетового цвета, с четкими границами, округлой формы, без признаков индурации.

Пациентке было проведено исследование методами ЛФС и ЛДФ, патологического очага кожи в области правой ягодицы и контрольной интактной кожи (Рисунки 21 и 22).



Рисунок 21 – Активный патологический очаг кожи, существующий от 3 до 4 месяцев, размерами до 8,0 см в диаметре

Оптический параметр	Воспаление	Индурация	Склероз
μ(К) (420 нм) Коллаген	0 или <u>1</u>	<u>0</u> или 1	<u>0</u> или 1
	<b>1,011</b>	≥1,097 →	≥1,243 →
μ(К) (455 нм) Коллаген + Эластин	0 или 1	0 или <u>1</u>	<u>0</u> или 1
		≥1,035 →	<b>1,052</b> ≥1,132 →
μ(К) (480 нм) Совокупность флюорофоров (липофусцин+НАД-Н+ФАД+...)	0 или <u>1</u>	<u>0</u> или 0,5	<u>0</u> или 0,5
	<b>1,098</b>	≥1,102 →	
μ(К) (630 нм) Порфирины	0 или <u>0,5</u>	0 или <u>0,5</u>	<u>0</u> или 1
		<b>1,731</b>	← ≥1,136
μ(К)ПМ	<u>0</u> или 1	0 или <u>1</u>	<u>0</u> или 1
		← ≥1,519	<b>1,490</b> ← ≥0,81

Рисунок 22 – Применение алгоритма диагностики, методами ЛФС и ЛДФ, клинический пример 2

Из Рисунка 22 мы видим, что категории «воспаление» и «индурация» набирают одинаковое количество баллов – 2,5. Клиническая картина соответствует воспалению, однако значения нормированных индексов тканевого содержания  $\mu(K)455$  (коллагена и эластина) и  $\mu(K)ПМ$  соответствуют категории «индурация». При этом при патоморфологическом исследовании гистологическая картина соответствовала процессу воспаления, где отмечались периваскулярные и периаднексальные воспалительные инфильтраты без признаков выраженной гомогенизации коллагена и сглаживания сосочкового слоя дермы (Рисунок 23). Однако также стоит отметить, что окраска гематоксилином и эозином не позволяет точно количественно оценить содержание коллагена в дерме, так как не обладает достаточной селективностью к волокнам соединительной ткани. Для более четкого определения содержания коллагена в заданной области необходимы специализированные методы, такие как окраска пикросириусом красным или трихромные окраски и цифровая морфометрия, обеспечивающие достоверную визуализацию и количественную оценку волокнистых структур.

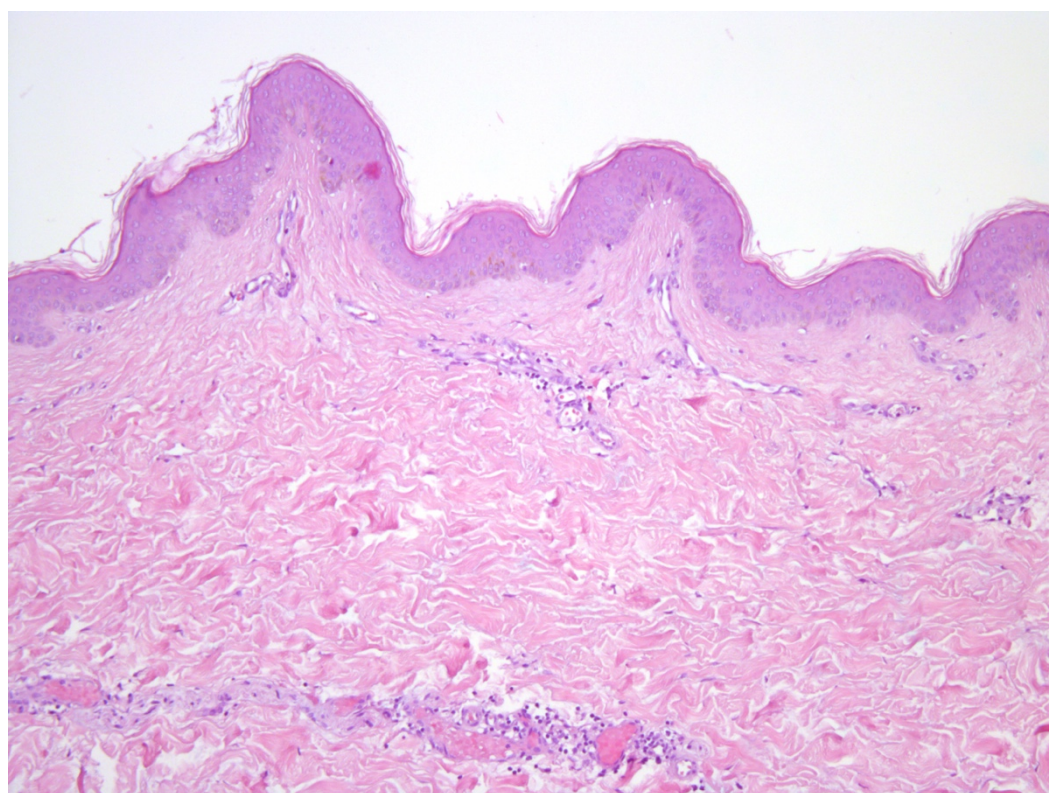


Рисунок 23 – Гистологическая картина, клинический пример 2 (увеличение x100)

Данные явление могут быть обусловлены как жесткостью пороговых значений алгоритма, так и тем, что последовательность клинических стадий и связанных с ними патологических процессов условна и они могут перекрывать друг друга. Поэтому для разрешения диагностической неопределённости, рекомендуется проводить анализ значений каждого отдельного оптического биомаркера в соответствии с установленными статистическими закономерностями, что позволит обоснованно принимать клиническое решение. В частности, повышение нормированных индексов тканевого содержания порфиринов и ПМ достоверно ассоциировано с активным воспалительным процессом. Увеличение же значений коллагена и эластина характерно для фибротических процессов.

#### **4.3. Проверка алгоритма диагностики на контрольной исследуемой группе пациентов**

Для оценки точности и клинической эффективности разработанного алгоритма была проведена проверка на независимой контрольной группе пациентов, данные которых не участвовали в процессе разработки и калибровки модели. В контрольную группу исследования всего вошло 20 пациентов. Контрольная группа была сформирована согласно критериям включения и исключения, аналогичным основной выборке.

Физикальный осмотр пациентов (n=20) был осуществлен двумя врачами клиницистами, на основании чего были определены активные и неактивные патологические очаги кожи, с последующим формированием подгрупп:

- подгруппа «воспаление» (воспалительное пятно или воспалительный валик (n=11));
- подгруппа «индурация» (n=9);
- подгруппа «склероз» (n=9).

Работа алгоритма на контрольной выборке осуществлялась следующим образом: для каждого патологического очага из контрольной группы были получены значения тех же диагностических биомаркеров ( $\mu(K)420$  (коллагена),

$\mu(K)455$  (коллагена и эластина),  $\mu(K)480$  (совокупности флюорофоров: НАД-Н, липофусцин, ФАД, жирные кислоты и др.),  $\mu(K)630$  (порфирины) и  $\mu(K)ПМ$ , что и на обучающей выборке. После чего проводился расчёт предсказаний ведущего патологического процесса, согласно описанной ранее схеме детерминированного порогового метода (Таблица 14).

Таблица 14 – Результаты автоматической проверки алгоритма на контрольной группе (RStudio PBC)

Параметр		Характер процесса		
		Воспаление	Индурация	Склероз
<b>Предсказанная стадия</b>	Воспаление, n (%)	10 (90,9%)	1 (11,1%)	1 (11,1%)
	Индурация, n (%)	1 (9,1%)	8 (88,9%)	1 (11,1%)
	Склероз, n (%)	0 (0%)	0 (0%)	7 (77,8%)

Проверка алгоритма на контрольной выборке показала, что наивысшая чувствительность была достигнута при предсказании воспалительного процесса (90,9%) и индуративных изменений (88,9%). При этом специфичность по каждому из процессов также оставалась высокой, достигая 88,9% и 90,0% соответственно. Было отмечено некоторое снижение чувствительности алгоритма при верификации склеротических изменений, составившее 77,8%, при этом определена максимальная специфичность (100%), что свидетельствует о высокой диагностической надежности метода в отношении исключения ложноположительных результатов при выявлении склероза.

Следует отметить, что полученные значения чувствительности и специфичности в контрольной группе могут быть искажены из-за ограниченного числа наблюдений. В условиях малой выборки даже единичные ошибки предсказаний оказывают существенное влияние на итоговые показатели, что снижает статистическую устойчивость и обобщаемость результатов. Поэтому

данные оценки требуют подтверждения на более крупной и репрезентативной выборке.

Однако в целом, результаты свидетельствуют о достаточно высокой диагностической ценности алгоритма и его потенциале для клинического применения в качестве вспомогательного объективного инструмента для стратификации ведущего патологического процесса на основе количественного измерения биомаркеров.

При анализе объединённой выборки, включающей как экспериментальную, так и контрольную группы пациентов, подтверждает стабильность и высокую диагностическую эффективность разработанного алгоритма. Чувствительность при распознавании воспалительных изменений составила 94,6%, при специфичности 93,5%, что свидетельствует о надёжности модели в идентификации активного воспалительного процесса. Склероз был распознан с чувствительностью 83,9% и высокой специфичностью 95,6%, что отражает устойчивость алгоритма в отношении выраженных фиброзных изменений дермы. Наибольшее число диагностических погрешностей пришлось на индуративную стадию, где чувствительность составила 80,6%, а специфичность — 91,2%. Данный результат подтверждает, что основная зона перекрёстных предсказаний возникает именно на этапе перехода от воспаления к склерозу, что вероятно обусловлено биохимической и морфологической гетерогенностью индуративных изменений.

Несмотря на достаточно высокую точность разработанного алгоритма, следует отметить ряд методологических и практических ограничений, присущих данной диагностической модели. Прежде всего, алгоритм опирается на фиксированные пороговые значения биомаркеров, что делает его чувствительным к межиндивидуальной вариабельности и может ограничивать универсальность применения в различных популяциях. Кроме того, модель реализована в виде детерминированной системы с жёсткими правилами принятия решений, что снижает её гибкость в интерпретации переходных или смешанных форм патологического процесса. Отдельную сложность представляет определение процессов индурации, характеризующейся морфологической и биохимической

гетерогенностью, что может приводить к диагностическим перекрестам с воспалением и склерозом. Также модель не учитывает весовые коэффициенты признаков, что в перспективе ограничивает её способность учитывать индивидуальный вклад каждого параметра в формирование стадии заболевания. Важным аспектом является и то, что алгоритм не формирует вероятностного прогноза, лишая пользователя возможности количественной оценки диагностической уверенности. Все эти факторы указывают на необходимость дальнейшей адаптации модели с возможным применением методов машинного обучения, статистического взвешивания параметров и валидации на расширенных и гетерогенных клинических выборках. Есть необходимость оценить вклад сопутствующих факторов, способных влиять на базовую флюоресценцию: разные фототипы кожи; индекс меланиновой пигментации; хронические заболевания; большее число наблюдений в разных анатомических областях. Также для повышения чувствительности, возможно необходимо дополнительно оценивать объем кровенаполнения и удельное потребление кислорода исследуемой области, при диагностике микроциркуляции.

#### **4.3.1. Анализ применимости алгоритма диагностики в клинической практике**

Актуальные российские и международные клинические рекомендации отмечают, что патогенез ЛС включает в себя аутоиммунные процессы, нарушения микроциркуляции и дисбаланс в синтезе и деградации коллагена, что делает терапию данного заболевания сложной и длительной, с высоким риском рецидивов. Терапевтические алгоритмы, включающие в себя определенное количество необходимых курсов терапии и строгие сроки их проведения, все еще являются предметом обсуждения. Стандартная терапия бляшечной склеродермии в отечественной практике подразумевает курсовое лечение, которое, однако, не всегда соответствует особенностям течения заболевания, которое может носить рецидивирующе-ремитирующий характер с возможной реактивацией даже после продолжительной ремиссии. В связи с этим возникает необходимость

индивидуального подхода к выбору длительности, своевременности начала и объема терапии, что активно обсуждается в современной научной литературе. Важность объективной оценки активности заболевания при принятии клинических решений подчеркивается многими исследователями, поскольку от этого зависит эффективность терапевтических мероприятий.

Разработанный диагностический алгоритм, основанный на оценке флюоресценции таких оптических маркеров как: коллаген ( $\lambda_f$  420 нм), коллаген и эластин ( $\lambda_f$  455 нм), совокупности флуорофоров (НАД-Н, липофусцин, ФАД, жирные кислоты и др.- $\lambda_f$  480 нм), порфиринов ( $\lambda_f$  630 нм) и ПМ, позволяет объективно дифференцировать ведущие патологические процессы: воспаление, индукцию и склероз. Данный подход потенциально дает возможность осуществлять персонализированный выбор терапии и контроль её эффективности, улучшая прогноз и качество жизни пациентов (Рисунок 24).



Рисунок 24 – Потенциальное применение алгоритма диагностики в клинической практике

Стоит подчеркнуть, что при неоднозначных результатах стоит проводить анализ значений каждого отдельного оптического биомаркера в соответствии с

установленными пороговыми интервалами, что позволит обоснованно принимать клиническое решение.

Высокая чувствительность метода диагностики к воспалительному процессу потенциально может позволить эффективно контролировать терапию и своевременно выявлять реактивацию заболевания. Тогда как высокая специфичность алгоритма к определению склероза расширяет возможности использования аппаратной лазерной терапии для улучшения качества жизни пациентов, эффективной коррекции поздних фибротических изменений, а также гипо- и гиперпигментации.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Бляшечный подтип склеродермии является наиболее часто встречаемой формой ЛС в популяции взрослого населения и представляет собой хроническое аутоиммунное заболевание соединительной ткани. При этом по современным эпидемиологическим данным, отмечается неуклонный рост заболеваемости и распространенности ЛС в целом. ЛС может нести рецидивирующий и персистирующий характер и, несмотря на преимущественно кожную локализацию, очаговая склеродермия может приводить к выраженным функциональным и эстетическим дефектам, ухудшению качества жизни и в ряде случаев требует длительной терапии с применением системных лекарственных препаратов.

На сегодняшний день ввиду мультифакториальной природы заболевания и отсутствия этиологически направленной терапии подчеркивается важность объективного определения преобладающих патологических процессов в очаге поражения (воспаление-гипоксия-фиброз) для применения терапевтических агентов, направленных на конкретные патогенетические точки приложения. При этом эффективность терапии во многом зависит от своевременного определения ведущих патологических фаз и активности заболевания.

Сложность диагностики и динамического наблюдения за течением бляшечной склеродермии обусловлена отсутствием объективных и стандартизированных критериев оценки активности патологического процесса. В современной клинической практике основными инструментальными методами диагностики являются ультразвуковое и патоморфологическое исследования, однако оба метода имеют ряд существенных ограничений. Ультразвуковая диагностика зависит от субъективной квалификации специалиста и ограничена пространственным разрешением, а также остается достаточно дорогостоящим методом исследования, а биопсия — инвазивна, может приводить к осложнениям и не подходит для повторного мониторинга в динамике. Широко используемые в зарубежной практике клинические шкалы (mRSS, LoSCAT, STS, mLoSSI, PGA) в большей мере применимы для линейного типа склеродермии у детей, а также в том

числе они являются субъективными и сильно зависят от квалификации специалиста. В связи с этим, актуальной задачей современной дерматологии является разработка и внедрение неинвазивных, количественно воспроизводимых, чувствительных методов диагностики, способных объективно оценивать фазу патологического процесса, степень воспаления и фиброза в очагах поражения. Создание таких инструментов особенно важно в условиях перехода к персонализированной медицине, где принятие терапевтических решений должно основываться на точной стратификации патологических фенотипов и ранней оценке эффективности лечения.

В этом контексте лазерные оптические методы, флюоресцентная спектроскопия и доплеровская флоуметрия, обладают высоким потенциалом для объективизации патологических процессов при БС. Проведённое комплексное исследование, в котором были использованы методы ЛФС и ЛДФ на базе мультиспектрального лазерного комплекса ЛАКК-М, продемонстрировало их высокую чувствительность и воспроизводимость в оценке морфофункционального состояния кожи. Благодаря регистрации эндогенной флюоресценции флюорофоров и перфузионных показателей в режиме реального времени, определяется возможность неинвазивно оценить биохимические изменения *in vivo*. Преимуществом подхода является возможность количественной оценки биомаркеров, таких как флюоресценция коллагена и эластина, липофусцина и НАД-Н, порфиринов, а также регионарной микроциркуляции, что делает данные методы особенно перспективными для дифференциации фаз патологического процесса и мониторинга динамики заболевания.

Сочетание лазерных оптических технологий, ультразвукового и гистологического контроля, а также строгий дизайн клинического исследования обеспечили комплексный подход к изучению морфофункциональных изменений в коже на разных стадиях бляшечной склеродермии. В проведенном исследовании было установлено, что оптические параметры кожи, регистрируемые с помощью ЛФС и ЛДФ, демонстрируют сопоставимость вне зависимости от анатомической локализации патологических очагов. Однако ограниченное количество

наблюдений в ряде анатомических областей, таких как спина, шея и внутренняя поверхность плеча, снижает статистическую мощность выводов и ограничивает экстраполируемость полученных данных на данные зоны.

Исследование показало, что пики обратного рассеяния лазерного излучения (Ibs365 и Ibs535) в ряде случаев значительно различаются между интактной кожей и участками патологических изменений, что вероятно обусловлено различиями в рассеивающих и поглощающих свойствах биоткани. Эти различия, согласно расчётной формуле (1) для индекса тканевого содержания флюорофора ( $\eta f$ ), могут приводить к завышению значения данного показателя, особенно в очагах с выраженными оптическими неоднородностями. Однако стоит отметить, что не выявлено статистически значимых различий, по средним значениям (Ibs365 и Ibs535), между исследуемыми клиническими подгруппами («воспаление», «индурация», «склероз»). В этой связи подчёркивается необходимость применения нормированных по интактной коже индексов тканевого содержания флюорофоров и ПМ ( $\mu(K)$ ), обеспечивающих более корректную количественную интерпретацию оптических параметров.

Методика нормализации оптических параметров по отношению к интактной коже позволила повысить объективность анализа, снизить влияние анатомической локализации, внутри- и межиндивидуальной вариабельности и обеспечить высокую степень стандартизации результатов. Полученные нормированные индексы тканевого содержания флюорофоров и ПМ ( $\mu(K)$ ) демонстрируют достоверные различия между стадиями воспаления, индурации и склероза, что позволяет использовать их для построения диагностических моделей и стратификации патологического процесса.

Установлено, что на ранних стадиях заболевания, соответствующих клинически активным очагам воспаления, наблюдается выраженное повышение показателя микроциркуляции и содержание порфиринов, что отражает гиперперфузию и усиление метаболической активности в условиях воспаления и гипоксии. Это позволяет рассматривать показатели  $\mu(K)$ ПМ и  $\mu(K)$ 630 в качестве оптических маркеров воспалительного процесса. При этом в очагах, где

клинически преобладает индурация, наряду с высокими значениями флюоресценции порфиринов фиксируется увеличение индексов тканевого содержания  $\mu(K)$  коллагена, эластина и совокупности флюорофоров (НАД-Н+липофусцин+ФАД и др.), без значимых изменений ПМ в сравнении с интактной кожей, что свидетельствует о начале фиброза на фоне прогрессирующей эндотелиальной дисфункции. Тогда как в клинически неактивных очагах склероза регистрируется максимальная флюоресценция коллагена и минимальные значения ПМ, что вероятно указывает на редукцию сосудистой сети и формирование необратимых фиброзных изменений. Полученные результаты патогенетически обоснованы и согласуются с современными патоморфологическими и патофизиологическими представлениями развития заболевания.

Апостериорный статистический анализ, включающий попарные сравнения между интактной кожей и патологическими подгруппами, а также между самими клиническими формами поражения, продемонстрировал, что ни один из оптических маркеров не обладает достаточной изолированной диагностической специфичностью. Это обусловлено перекрытием спектральных характеристик в различных фазах патологического процесса и подчёркивает необходимость мультипараметрического подхода к интерпретации данных. Таким образом, комплексный учёт совокупности флюоресцентных и гемодинамических параметров является наиболее целесообразным и обоснованным с точки зрения патогенеза кожного поражения при бляшечной склеродермии.

Также высокая степень корреляции между результатами ЛФС/ЛДФ, данными ультразвуковой диагностики и результатами гистологических исследований подтверждает объективность использования оптических параметров как суррогатных биомаркеров стадий патологического процесса при БС. Так, значения  $\mu(K)$  толщины дермы прямо коррелировали с  $\mu(K)$ ПМ и  $\mu(K)630$ , тогда как показатели  $\mu(K)$  эхогенности имели обратную связь с этими параметрами, но положительно коррелировали с содержанием коллагена. В том числе стоит отметить, что гистологическая картина соответствовала наблюдаемым оптическим

изменениям. Все эти данные подчёркивают взаимосвязь между оптическими, эхоструктурными и морфологическими изменениями тканей.

Ключевым практическим итогом исследования стала разработка диагностического алгоритма, основанного на логической интерпретации нормированных индексов оптических маркеров с использованием вычисленных их пороговых значений. Алгоритм позволяет объективно определять ведущий патологический процесс (воспаление, индурация, склероз) по совокупности значений  $\mu(K)420$ ,  $\mu(K)455$ ,  $\mu(K)480$ ,  $\mu(K)630$  и  $\mu(K)ПМ$ . Достоверность и практическая применимость алгоритма подтверждены достаточно высокими показателями чувствительности и специфичности при проверке на контрольной группе пациентов. Так, проверка алгоритма показала, что наивысшая чувствительность была достигнута при определении воспалительного процесса (90,9%), в сравнении с индурацией (88,9%) и склерозом (77,8%). Тогда как наиболее высокой специфичностью (100%) алгоритм продемонстрировал себя в распознавании склероза, в сравнении с воспалением (88,9%) и индурацией (90,0%), что указывает на его высокую способность исключать ложноположительные случаи. При этом анализ работы алгоритма и выявленных ошибок, включающий как экспериментальную, так и контрольную группу пациентов, определил, что наибольшее число диагностических погрешностей пришлось на индуративную стадию. Данный результат указывает, что основная зона перекрёстных предсказаний возникает именно на этапе перехода от воспаления к склерозу, что вероятно обусловлено биохимической и морфологической гетерогенностью индуративных изменений. Результаты показали, что алгоритм в целом может быть использован в рутинной клинической практике с целью объективизации ведущего патологического процесса и в том числе для динамического мониторинга активности заболевания и оценки эффективности терапии.

Однако, несмотря на достаточно высокую диагностическую точность, алгоритм обладает рядом ограничений. Его зависимость от фиксированных пороговых значений снижает универсальность при применении в разнородных популяциях. Отсутствие весовых коэффициентов и вероятностной оценки снижает

гибкость модели и не позволяет учитывать диагностическую неопределённость. Эти особенности указывают на необходимость дальнейшей оптимизации алгоритма, в том числе с использованием методов машинного обучения и более широкой валидации. Кроме того, остаётся необходимость оценки вклада сопутствующих факторов, потенциально влияющих на уровень базовой тканевой флюоресценции: фототип кожи, уровень меланиновой пигментации, наличие хронических заболеваний, а также анатомическая локализация очага.

Таким образом, в результате проведённого исследования впервые была проведена комплексная оценка показателей ЛДФ и ЛФС, в очагах бляшечной склеродермии с различной степенью активности процесса. В исследовании была обоснована и экспериментально подтверждена возможность использования методов ЛФС и ЛДФ для неинвазивной, количественной оценки ведущего патологического процесса и активности заболевания при бляшечной склеродермии. Выявлены информативные оптические маркеры воспаления и фиброза, которые валидированы путём сопоставления с результатами УЗИ и гистологических исследований. Был разработан алгоритм интерпретации данных, способствующий переходу от субъективной клинической оценки к объективному инструментальному подходу. Полученные результаты представляют собой значимый вклад в развитие дерматологической практике и открывают перспективы широкого клинического применения лазерных технологий в диагностике бляшечной склеродермии.

## **ВЫВОДЫ**

1. При сопоставлении данных, полученных при УЗИ поражённой кожи, морфологическом исследовании биоптата очага поражения и оценке оптических свойств кожи в очаге бляшечной склеродермии установлено:

– при преобладании процессов воспаления (зарегистрированы в 26 из 70 очагов ~ 37%) регистрируются максимальные значения ПМ ( $\mu(K)ПМ=1,9\pm 0,34$ ,

$p < 0,001$ ), в сравнении с другими подгруппами, и усиление флюоресценции порфиринов в сравнении с подгруппой склероза ( $\mu(K)630=1,43 \pm 0,18$ ;  $p < 0,001$ );

– в очагах с преобладанием индукции (выявлены в 22 из 70 очагов ~ 31,5%) наряду с повышением флюоресценции порфиринов ( $\mu(K)630=1,43 \pm 0,18$ ,  $p < 0,001$ ), в сравнении с подгруппой склероза, достоверно возрастает эндогенная флюоресценция коллагена ( $\mu(K)420=1,19 \pm 0,11$ ;  $\mu(K)455=1,1 \pm 0,06$ ,  $p < 0,001$ ), совокупности флюорофоров ( $\mu(K)480=1,13 \pm 0,03$ ,  $p < 0,001$ ) и липофусцина ( $\mu(K)590=1,28 \pm 0,17$ ,  $p=0,019$ ) в сравнении с подгруппой воспаления;

– в очагах с преобладанием процессов склероза (наблюдались в 22 из 70 очагов ~ 31,5%) отмечаются максимальные значения флюоресценции коллагена ( $\mu(K)420=1,33 \pm 0,19$ ;  $\mu(K)455=1,14 \pm 0,0$ ,  $p < 0,05$ ) и минимальные значения ПМ ( $\mu(K)ПМ=0,67 \pm 0,24$ ;  $p < 0,001$ ) в сравнении с другими подгруппами.

2. Установлены оптимальные оптические маркеры и их пороговые значения, характерные для патологических процессов в очаге бляшечной склеродермии,  $\mu(K)420$  коллаген, при разграничении «воспаления» и «индукции» (точность – 0,958); при разграничении «индукции» и «склероза» (точность – 0,795).  $\mu(K)455$  коллаген и эластин, при разграничении между «воспалением» и «индукцией» (точность – 0,938); между «индукцией» и «склерозом» (точность – 0,818). Также в очаге БС определены оптимальные оптические маркеры воспаления,  $\mu(K)ПМ$  для разграничения «воспаления» и «индукции» (точность – 0,875), для разграничения «индукции» и «склероза» (точность – 0,819);  $\mu(K)630$  порфирины при разграничении между классом «воспаление+индукция» и «склерозом» (точность – 0,943). Индекс тканевого содержания  $\mu(K)480$ , отражающий суммарную флюоресценцию НАД-Н, липофусцина, ФАД и других метаболитов, определен как маркер прогрессирования заболевания, для дифференциации «воспаления» и «индукция+склероз» (точность – 0,914).

3. Разработан алгоритм предиктивной диагностики, позволяющий определить преобладающий патологический процесс в исследуемом очаге бляшечной склеродермии на основании 5-ти измеряемых биофизических параметров кожи. Анализ клинической применимости алгоритма на контрольной

выборке (n=29) показала максимальную чувствительность при выявлении воспаления (n=11; 90,9%) и индукции (n=9; 88,9%) и высокую специфичность (88,9% и 90,0%, соответственно), тогда как при склерозе (n=9) специфичность составила 100%, а чувствительность была несколько ниже (77,8%). Полученные данные позволяют обосновать применение предложенного алгоритма в клинической практике для объективизации ведущего патологического процесса в очагах поражения бляшечной склеродермии и общей оценки активности заболевания.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Измерения методами ЛФС и ЛДФ рекомендуется проводить 3-5 раз в исследуемой зоне на расстоянии 0,2-0,4 см друг от друга. Регистрацию ЛДФ-сигнала рекомендуется выполнять в течение 30 секунд в каждой точке измерения. Для минимизации влияния внутри- и межиндивидуальной вариабельности рекомендуется использовать нормированные на интактную кожу индексы тканевого содержания флюорофоров и показатель микроциркуляции.

2. Для определения ведущего патологического процесса при бляшечной склеродермии и оценки активности заболевания рекомендуется использовать разработанный алгоритм интерпретации результатов ЛФС и ЛДФ на основе установленных пороговых интервалов оптических маркеров. После оценки пяти биомаркеров баллы суммируются по диагностическим категориям («воспаление», «индурация», «склероз»), а ведущим считается патологический процесс, набравший максимальное количество баллов. Для разрешения диагностической неопределённости рекомендуется проводить анализ значений каждого отдельного оптического биомаркера в соответствии с установленными пороговыми интервалами, что позволит обоснованно принимать клиническое решение.

3. Учитывая рецидивирующе-ремитирующее течение бляшечной склеродермии, рекомендуется проводить контроль оптических параметров до начала лечения и далее 1 раз в месяц с целью выявления изменений и коррекции тактики терапии.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Дальнейшая разработка темы представляется актуальной и необходимой для повышения универсальности, воспроизводимости и клинической применимости разработанного подхода. Полученные данные продемонстрировали значимый потенциал применения оптических методов, ЛФС и ЛДФ, в качестве неинвазивных объективных инструментов определения ведущего патологического процесса и оценки активности заболевания. Однако реализация модели в виде детерминированного алгоритма с фиксированными пороговыми значениями оптических индексов обуславливает её чувствительность к межиндивидуальной вариабельности и ограничивает возможность адекватной интерпретации смешанных или переходных клинических форм, нередко встречающихся в реальной практике.

Перспективным направлением развития является модификация алгоритма с применением адаптивных вычислительных методов, включая элементы машинного обучения, что позволит реализовать динамическую настройку пороговых значений, учитывать весовые коэффициенты признаков и формировать вероятностный прогноз стадии патологического процесса. Внедрение моделей с обучением на расширенных выборках позволит повысить гибкость системы.

Кроме того, необходима дальнейшая стратификация и валидация разработанной модели на более репрезентативных и гетерогенных клинических выборках с включением пациентов различных фототипов кожи, сопутствующей соматической патологии, что позволит учесть влияющие на флюоресценцию конфаундеры, включая индекс меланиновой пигментации, наличие хронических воспалительных заболеваний кожи и системных метаболических расстройств.

Отдельного внимания заслуживает необходимость расширения объёма и распределения наблюдений по анатомическим зонам. В настоящем исследовании диагностическая модель была верифицирована преимущественно на данных, полученных из ограниченного числа локализаций, что в дальнейшем требует пополнения выборки участками с разной васкуляризацией и толщиной дермы,

обеспечивая более полное картирование оптических параметров по телу. Такой подход позволит оценить пространственную вариабельность флюоресцентных и гемодинамических характеристик кожи, что важно для построения обобщённых нормативов и повышения точности диагностики при локализациях с нестандартным анатомическим фоном.

Также перспективным направлением является углублённое изучение параметров микроциркуляции, потенциально полезной может быть дополнительная оценка объёма кровенаполнения и удельного потребления кислорода исследуемой области как индикаторов тканевой гипоксии и уровня метаболической активности.

Таким образом, перспективы дальнейшей разработки темы включают методологическую адаптацию диагностического алгоритма с применением интеллектуальных систем, расширение и стратификацию клинической выборки, учёт дополнительных биофизических и клинико-anamнестических факторов, а также расширение спектра оцениваемых параметров (индекса меланиновой пигментации, объёма кровенаполнения и удельного потребления кислорода). Эти шаги позволят перейти к полнофункциональной, клинически валидированной платформе, способной обеспечить объективную и персонифицированную диагностику бляшечной склеродермии.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

- АНА – антинуклеарные антитела
- Анти-ssДНК – антитела к одноцепочечной ДНК
- АФК – активные формы кислорода
- БС – бляшечная склеродермия
- ГБО – гибербарическая оксигинация
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- иРНК – информационная (матричная) РНК
- ИТ – инфракрасная термография
- ЛДВ – лазерная доплеровская визуализация
- ЛДФ – лазерная доплеровская флоуметрия
- ЛС – склеродермия
- ЛФС – лазерная флюоресцентная спектроскопия
- микроРНК (миРНК) – малые некодирующие рибонуклеиновые кислоты
- НАД-Н – никотинамидадениндинуклеотид
- НИЛИ – низкоинтенсивное лазерное излучение
- ОКТ – оптическая когерентная томография
- ОС – очаговая склеродермия
- ПГИ – гистологическое исследование
- СС – системная склеродермия
- УЗИ – ультразвуковое исследование
- УФА-1 – ультрафиолет А терапия
- УФБ – ультрафиолет Б терапия
- BAFF – цитокиновый фактор активации В-лимфоцитов
- CD4+ – Т лимфоциты с экспрессией CD4
- COL1A2 – ген, кодирующий альфа-2(I) цепь коллагена типа I
- CTGF – факторов роста соединительной ткани
- CXCL – хемокины из семейства CXС, индуцируемые интерфероном- $\gamma$
- DAMP – Damage-Associated Molecular Patterns

Fli1 – транскрипционный фактор семейства Ets  
HLA – главный комплекс гистосовместимости  
ICAM-1 – молекула межклеточной адгезии  
IFN- $\gamma$  – интерферон- $\gamma$   
IL – интерлейкин  
LoSCAT – Localized Scleroderma Cutaneous Assessment Tool  
LoSDI – Localized Scleroderma Skin Damage Index  
LoSSI – Localized Scleroderma Skin Activity Index  
MMP – металлопротеиназы  
mRSS – Modified Rodnan Skin Score  
PDGF – тромбоцитарный фактор роста  
PGA – Physician Global Assessment  
SM22A – гладкомышечный белок 22-альфа  
Smad – семейство внутриклеточных регуляторных белков  
Stat6 – сигнальный белок и активатор транскрипции 6  
TGF-  $\beta$  – трансформирующий фактор роста бета  
TGFB – ген, кодирующий TGF-  $\beta$   
Th – Т-лимфоцит хелперного типа  
TIMP – тканевой ингибитор металлопротеиназ-1  
TLR – Toll-подобных рецепторов  
TNF – фактор некроза опухоли  
Tsk – мутация tight-skin  
VCAM-1 – молекул адгезии сосудистого эндотелия  
 $\alpha$ -SMA – альфа-актин гладких мышц  
2D-SWE – двухмерная сдвиговая волновая эластография

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Возможности применения методов лазерной флюоресцентной спектроскопии и доплеровской флоуметрии при бляшечной склеродермии / Е.Ф. Хынку, И.А. Разницына, Ю.В. Молочкова [и др.] // Клиническая дерматология и венерология. – 2025. — Т. 24. – №5. – С. 616–624.
2. Дворянкова, Е.В. Локализованная склеродермия: этиология, патогенез, клинические проявления, трудности диагностики и терапии / Е.В. Дворянкова, Э.А. Султанова, К.М. Корешкова // Клиническая дерматология и венерология. – 2024. – Т. 23. – №1. – С. 12–18.
3. Дерматовенерология. Национальное руководство. Краткое издание / Акимов В.Г., Ананьева Л.П., Ахтямов С.Н. [и др.]. – Общество с ограниченной ответственностью Издательская группа ГЭОТАР-Медиа. – 2013. – С. 505–513. – ISBN 978-5-9704-2710-1. – Текст : непосредственный.
4. Использование коллагена и липофусцина в качестве флуоресцентных маркеров для оценки УФ-индуцированных изменений кожи *in vivo* / М.Б. Макматов-Рысь, А.А. Гержик, Е.Ф. Хынку [и др.] // Клиническая дерматология и венерология. – 2022. – Т. 21. – № 3. – С. 333–341.
5. Использование флуоресцентной спектроскопии для диагностики гипоксии и воспалительных процессов в тканях / Е.Н. Петрицкая, Д.А. Куликов, Д.А. Рогаткин [и др.] // Оптический журнал. – 2015. – Т. 82. – № 12. – С. 41–46.
6. Катина, М.А. Локализованная склеродермия: клинико-диагностические особенности, принципы лечения различных клинических форм / М.А. Катина, О.В. Лесничая, С.А. Касперович // Дерматовенерология. Косметология. – 2023. – Т. 9. – № 1. – С. 75–77.
7. Коробейникова, Э.А. Клинические аспекты ограниченной склеродермии / Э.А. Коробейникова, Л.М. Мартынова, А.В. Анисимова // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2004. – № 3. – С. 27–29.

8. Круглова, Л.С. Тактика ведения больного ограниченной склеродермией / Л.С. Круглова, Л.В. Бебякина // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2013. – Т. 16. – № 4. – С. 25–29.

9. Лазерная флуоресцентная спектроскопия и оптическая тканевая оксиметрия в диагностике фиброза кожи / Ю.В. Чурсинова, Д.А. Куликов, Д.А. Рогаткин [и др.] // Biomedical Photonics. – 2019. – Т. 8. – № 1. – С. 38–45.

10. Лечение ограниченной склеродермии метотрексатом / З.А. Невозинская, Е.Е. Радионова, Ю.А. Кошелев [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2020. – Т. 16, №9. – С. 12–16.

11. Липофусцин как маркер старения, оксидативного стресса и нарушений протеолиза / Е.В. Казначеева, Е.Ф. Хынку, М.Б. Макматов-Рысь [и др.] // Вестник последипломного медицинского образования. – 2020. – № 3. – С. 19–23.

12. Место лазерной флуоресцентной спектроскопии, доплеровской флоуметрии и ультразвукового исследования в диагностике и оценке эффективности терапии бляшечной склеродермии / Е.Ф. Хынку, И.А. Разницына, Ю.В. Молочкова [и др.] // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2022. – Т. 25. – № 4. – С. 289–302.

13. Низкоинтенсивная лазерная терапия локализованной склеродермии по типу склероатрофического лишена для повышения эффективности комплексного лечения / С.Н. Смирнова, И.А. Захарова, Е.А. Мельникова [и др.] // Biomedical Photonics. – 2025. – Т. 14, № S2. – С. 33–35.

14. Новые аспекты патогенеза ограниченной склеродермии: практическое обоснование / Д.В. Заславский, А.А. Сыдилов, Л.В. Гарюткина [и др.] // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2020. – Т. 23. – № 4. – С. 227–237.

15. Ограниченная склеродермия: сопоставление данных клинических, сонографических, гистологических и иммуногистохимических исследований / А.М. Юрковский, О.В. Панкратов, Л.А. Порошина [и др.] // Клиническая дерматология и венерология. – 2022. – Т. 21. – № 4. – С. 565–571.

16. Одинец, А.В. Эпидемиология кожных заболеваний в Ставропольском крае в 2010–2016 гг. / А.В. Одинец // Клиническая дерматология и венерология. – 2017. – Т. 16. – № 6. – С. 32–37.

17. Оптическая спектрометрия как метод неинвазивной объективной диагностики бляшечной склеродермии / Е.Ф. Хынку, Ю.В. Молочкова, Д.А. Рогаткин [и др.] // Вестник последипломного медицинского образования. – 2026. – № 1. – С. 49–54

18. Пилотное исследование применения лазерной флуоресцентной спектроскопии и оптической тканевой оксиметрии в диагностике и оценке течения рубцовых поражений кожи / М.Б. Макматов-Рысь, Ю.В. Чурсинова, Д.А. Куликов [и др.] // Клиническая дерматология и венерология. – 2020. – Т. 19. – № 4. – С. 506–513.

19. Результаты лечения препаратом метотрексат у пациентов с ограниченной склеродермией / З.А. Невозинская, А.В. Косталевская, Л.Р. Сакания [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2024. – Т. 20. – № 12. – С. 14–17.

20. Ресурсы и деятельность медицинских организаций дерматовенерологического профиля. Заболеваемость инфекциями, передаваемыми половым путем, заразными кожными болезнями и болезнями кожи в 2021 году: статистические материалы / Е.Г. Котова, О.С. Кобякова, А.А. Кубанов [и др.]. – М.: Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения, 2022. – С. 176–179. – Текст : непосредственный.

21. Рогаткин, Д.А. Физические основы лазерной клинической флуоресцентной спектроскопии *in vivo* / Д.А. Рогаткин // Медицинская физика. – 2014. – № 4. – С. 78–96.

22. Российское общество дерматовенерологов и косметологов. Локализованная склеродермия. Федеральные клинические рекомендации. Москва, 2020 г. [Электронный ресурс] – URL: <https://www.rodv.ru/klinicheskie-rekomendacii/> (дата обращения: 12.10.2024.)

23. Склеродермия у женщин / И.М. Корсунская, С.Д. Гусева, З.А. Невозинская [и др.] // Клиническая дерматология и венерология. – 2016. – Т. 15. – № 4. – С. 88–92.

24. Тлиш, М.М. Коррекция оксидативных и микроциркуляторных нарушений у больных локализованной склеродермией / М.М. Тлиш, Н.В. Сорокина, А.В. Обломий // Лечебное дело. – 2020. – № 2. – С. 82–85.
25. Фотодиагностика бляшечной склеродермии методами лазерной флюоресцентной спектрометрии и доплеровской флоуметрии / Е.Ф. Хынку, И.А. Разницына, Ю.В. Молочкова [и др.] // Biomedical Photonics. – 2024. – Т. 13. – № S4. – С. 18–19.
26. Фотодиагностика пролиферативных эпителиальных заболеваний кожи с применением иттербиевых комплексов порфиринов / Т.Е. Сухова, А.В. Молочков, И.П. Шилов [и др.] // Biomedical Photonics. – 2024. – Т. 13. – № S4. – С. 39–40.
27. 20-MHz B-mode ultrasound in monitoring the course of localized scleroderma (morphea) / K. Hoffmann, U. Gerbaulet, S. el-Gammal, P. Altmeyer // Acta Derm Venereol Suppl (Stockh). – 1991. – Vol. 164. – P. 3–16.
28. A 40-100 MHz B-scan ultrasound backscatter microscope for skin imaging / D.H. Turnbull, B.G. Starkoski, K.A. Harasiewicz [et al.] // Ultrasound Med Biol. – 1995. – Vol. 21. – №1. – P. 79–88.
29. A randomized controlled study of low-dose UVA1, medium-dose UVA1, and narrowband UVB phototherapy in the treatment of localized scleroderma / A. Kreuter, J. Hyun, M. Stücker [et al.] // J Am Acad Dermatol. – 2006. – Vol. 54. – №3. – P. 440–447.
30. A systematic review of tools for determining activity of localized scleroderma in paediatric and adult patients / A. Lis-Święty, I. Janicka I, A. Skrzypek-Salamon [et al.] // J Eur Acad Dermatol Venereol. – 2017. – Vol. 31. – №1. – P. 30–37.
31. Advances in the Management of Localized Scleroderma: A Systematic Review of Laser Therapy and Injectable Filler Approaches. / F. Cassalia, S. Federico, A. Danese [et al.] // J Pers Med. – 2024. – Vol. 14. – №8. – P. 872.
32. Antagonistic regulation of type I collagen gene expression by interferon-gamma and transforming growth factor-beta. Integration at the level of p300/CBP transcriptional coactivators / A.K. Ghosh, W. Yuan, Y. Mori [et al.] // J Biol Chem. – 2001. – Vol. 276. – P. 11041–11048.

33. Anti-DNA topoisomerase II $\alpha$  autoantibodies in localized scleroderma / I. Hayakawa, M. Hasegawa, K. Takehara, S. Sato // *Arthritis Rheum.* – 2004. – Vol. 50. – P. 227–230.
34. Associations between Disease Activity/Severity and Damage and Health-Related Quality of Life in Adult Patients with Localized Scleroderma-A Comparison of LoSCAT and Visual Analogue Scales / A. Lis-Święty, A. Skrzypek-Salamon [et al.] // *J Clin Med.* – 2020. – Vol. 9. – №3. – P. 756.
35. Autoantibodies in Morphea: An Update / S. Khatri, K.S. Torok, E. Mirizio [et al.] // *Front Immunol.* – 2019. – Vol. 9. – №10. – P. 1487.
36. Bielsa Marsol, I. Update on the classification and treatment of localized scleroderma / I. Bielsa Marsol // *Actas Dermosifiliogr.* – 2013. – Vol. 104. – №8. – P. 654–666.
37. Camacho, N.R. Medium-dose UVA1 phototherapy in localized scleroderma and its effect in CD34-positive dendritic cells / N.R. Camacho, J.E. Sanchez, R.F. Martin // *J Am Acad Dermatol.* – 2001. – Vol. 45. – №5. – P. 697–699.
38. Capusan, I. Curzio's case of scleroderma / I. Capusan // *Ann Intern Med.* – 1972. – Vol. 76. – №1. – P. 146.
39. Combining optical coherence tomography with magnetic resonance angiography and Doppler ultrasonography for clinical detection of scleroderma / L. Zhang, M. Li, Y. Liu, Q. Zhou // *The Anatomical Record.* – 2019. – №303. – P. 3108–3116.
40. Comparison of 2-D shear wave elastography with clinical score in localized scleroderma: a new method to increase the diagnostic accuracy / Y. Wang, J.L. Shan, H.Y. Chen, Z.F. Wu // *J Dermatol.* – 2019. – Vol. 46. – №2. – P. 131–138.
41. Consensus statement on the diagnosis and treatment of sclerosing diseases of the skin, Part 1: Localized scleroderma, systemic sclerosis and overlap syndromes / R. Knobler, M. Geroldinger-Simić, A. Kreuter [et al.] // *J Eur Acad Dermatol Venereol.* – 2024. – Vol. 38. – №7. – P. 1251–1280.

42. Consensus-based recommendations for the management of juvenile localised scleroderma / F. Zulian, R. Culpo, F. Sperotto [et al.] // *Ann Rheum Dis.* – 2019. – Vol. 78. – №8. – P. 1019–1024.
43. Croce, A.C. Autofluorescence spectroscopy and imaging: a tool for biomedical research and diagnosis / A.C. Croce, G. Bottiroli // *Eur J Histochem.* – 2014. – №4. – P. 2461.
44. Development and initial validation of the localized scleroderma skin damage index and physician global assessment of disease damage: a proof-of-concept study / T. Arkachaisri, S. Vilaiyuk, K.S. Torok [et al.] // *Rheumatology.* – 2009. – Vol. 49. – P. 373–381.
45. Development and Validation of the Morphea Activity Measure in Patients With Pediatric Morphea. / M.T. Garcia-Romero, H.K. Randhawa, R. Laxer, E. Pope // *JAMA Dermatol.* – 2023. – Vol. 159. – №3. – P. 299–307.
46. Dharamsi, J.W. Morphea in adults and children cohort III: nested case-control study--the clinical significance of autoantibodies in morphea / J.W. Dharamsi, S. Victor, N. Aguwa // *JAMA Dermatol.* – 2013. – Vol. 149. – №10. – P. 1159–1165.
47. Different effects of basic fibroblast growth factor and transforming growth factor-beta on the two platelet-derived growth factor receptors' expression in scleroderma and healthy human dermal fibroblasts / Y. Ichiki, E. Smith, E.C. LeRoy, M. Trojanowska // *J Invest Dermatol.* – 1995. – Vol. 104. – P. 124–127.
48. Disrupting the IL-4 gene rescues mice homozygous for the tight-skin mutation from embryonic death and diminishes TGF-beta production by fibroblasts / T. Kodera, T.L. McGaha, R. Phelps [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2002. – Vol. 99. – №6. – P. 3800–3805.
49. Distinct autoimmune syndromes in morphea: a review of 245 adult and pediatric cases / J.J. Leitenberger, R.L. Cayce, R.W. Haley [et al.] // *Arch Dermatol.* – 2009. – Vol. 145. – №5. – P. 545–550.
50. Down-regulation of microRNA-196a in the sera and involved skin of localized scleroderma patients / T. Makino, M. Jinnin, M. Etoh [et al.] // *Eur J Dermatol.* – 2014. – Vol. 24. – №4. – P. 470–476.

51. Efficacy of topical tacrolimus 0.1% in active plaque morphea: randomized, double-blind, emollient-controlled pilot study / E.B. Kroft, T.J. Groeneveld, M.M. Seyger [et al.] // *Am J Clin Dermatol.* – 2009. – Vol. 10. – №3. – P. 181–187.
52. Elevated matrix metalloproteinase-9 in patients with systemic sclerosis / W.U. Kim, S.Y. Min, M.L. Cho [et al.] // *Arthritis Res Ther.* – 2005. – Vol. 7. – №1. – P. R71–R79.
53. Elevated serum BAFF levels in patients with localized scleroderma in contrast to other organ-specific autoimmune diseases / T. Matsushita, M. Hasegawa, Y. Matsushita [et al.] // *Exp Dermatol.* – 2007. – Vol. 16. – №2. – P. 87–93.
54. Elevated serum BAFF levels in patients with systemic sclerosis: enhanced BAFF signaling in systemic sclerosis B lymphocytes / T. Matsushita, M. Hasegawa, K. Yanaba [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2006. – Vol. 54. – №1. – P. 192–201.
55. Evaluation of medium-dose UVA1 Phototherapy in localized scleroderma with the cutometer and fast Fourier transform method / M.A. De Rie, D.N.H. Enomoto, H. J. De Vries, J. D. Bos // *Dermatology.* – 2003. – Vol. 207. – P. 298–301.
56. Evaluation of the efficacy and safety of topical imiquimod 5% for plaque-type morphea: a multicenter, prospective, vehicle-controlled trial / M. Dytoc, H. Wat, M. Cheung-Lee [et al.] // *J Cutan Med Surg.* – 2015. – Vol. 19. – №2. – P.132–139.
57. Falanga, V. D-penicillamine in the treatment of localized scleroderma / V. Falanga, T.A. Jr. Medsger // *Arch Dermatol.* – 1990. – Vol. 126. – №5. – P. 609–612.
58. Familial associations of rheumatoid arthritis with autoimmune diseases and related conditions / K. Hemminki, X. Li, J. Sundquist, K. Sundquist // *Arthritis Rheum.* – 2009. – Vol. 63. – №3. – P. 661–668.
59. Familial occurrence frequencies and relative risks for systemic sclerosis (scleroderma) in three United States cohorts / F.C. Arnett, M. Cho, S. Chatterjee [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2001. – Vol. 44. – №6. – P. 1359–1362.
60. Fett, N. Update on morphea: part I. Epidemiology, clinical presentation, and pathogenesis / N. Fett, V.P. Werth // *J Am Acad Dermatol.* – 2011. – Vol. 64. – №2. – P. 217 – 228.

61. FibronectinEDA promotes chronic cutaneous fibrosis through Toll-like receptor signaling. / S. Bhattacharyya, Z. Tamaki, W. Wang [et al.] // *Sci Transl Med.* – 2014. – Vol. 6. – №232. – P. 232–250.
62. Fleischmajer, R. Capillary alterations in scleroderma / R. Fleischmajer, J.S. Perlish // *Journal of the American Academy of Dermatology* 2.2. – 1980. – Vol. 2. – №2. – P. 161–170.
63. Fractional carbon dioxide laser versus low-dose UVA-1 phototherapy for treatment of localized scleroderma: a clinical and immunohistochemical randomized controlled study / S.M. Shalaby, M. Bosseila, M.M. Fawzy [et al.] // *Lasers Med Sci.* – 2016. – Vol. 31. – №8. – P. 1707–1715.
64. Fuschiotti, P. Current perspectives on the immunopathogenesis of systemic sclerosis / P. Fuschiotti // *Immunotargets Ther.* – 2016. – Vol. 5. – P.21-35.
65. Gabrielli, A. Scleroderma. /A. Gabrielli, E.V. Avvedimento, T. Krieg // *Engl J Med.* – 2009. – Vol. 360. – №19. – P. 1989–2003.
66. Gorpas, D. Time- resolved fluorescence spectroscopy for the diagnosis of oral lichen planus / D. Gorpas, P. Davari, J. Bec // *Clin Exp Dermatol.* – 2018. – Vol. 43. – №5. – P. 546– 52.
67. Gough, S.C. The HLA Region and Autoimmune Disease: Associations and Mechanisms of Action / S.C. Gough, M.J. Simmonds // *Curr Genomics.* – 2007. – Vol. 8. – №7. – P. 453–465.
68. Halofuginone, an inhibitor of type-I collagen synthesis and skin sclerosis, blocks transforming-growth-factor-beta-mediated Smad3 activation in fibroblasts / T.L. McGaha, R.G. Phelps, H. Spiera, C. Bona // *J Invest Dermatol.* – 2002. – Vol. 118. – P. 461–470.
69. Hassani, J. Phototherapy in Scleroderma / J. Hassani, S.R. Feldman // *Dermatol Ther (Heidelb).* – 2016. – Vol. 6. – №4. – P. 519–553.
70. High frequency ultrasound can detect improvement of lesions in juvenile localized scleroderma / F. Porta, O. Kaloudi, A. Garzitto [et al.] // *Modern Rheumatology.* – 2014. – Vol. 24. – P. 869–873.

71. High-dose UVA1 radiation therapy for localized scleroderma / H. Stege, M. Berneburg, S. Humke [et al.] // *J Am Acad Dermatol.* – 1997. – Vol. 36(6 Pt 1). – P. 938–944.
72. High-dose versus low-dose D-penicillamine in early diffuse systemic sclerosis: analysis of a two-year, double-blind, randomized, controlled clinical trial / P.J. Clements, D.E. Furst, W.K. Wong [et al.] // *Arthritis Rheum.*–1999.–Vol.42. – №6. – P. 1194–1203.
73. Histopathological changes in morphea and their clinical correlates: Results from the Morphea in Adults and Children Cohort V / D. Walker, J.S. Susa, S. Currimbhoy, H. Jacobe // *J Am Acad Dermatol.*–2017. – Vol.76.–№6.– P. 1124–1130.
74. Hyperplasia of dermal microvascular pericytes in scleroderma / P. Helmbold, E. Fiedler, M. Fischer, WCh. Marsch // *J Cutan Pathol.*–2004.–Vol.31.–№6.– P.431–440.
75. Hypoxia-induced increase in the production of extracellular matrix proteins in systemic sclerosis / J.H. Distler, A. Jünger, M. Pileckyte [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2007. – Vol. 56. – №12. – P. 4203–4215.
76. Imatinib treatment of generalized localized scleroderma (morphea) / P. Moinzadeh, T. Krieg, N. Hunzelmann // *J Am Acad Dermatol.* – 2010. – Vol. 63. – P. 102–104.
77. Immunopathogenesis of Pediatric Localized Scleroderma / K.S. Torok, S.C. Li, H.M. Jacobe [et al.] // *Front Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 908.
78. Immunophenotyping of chimeric cells in localized scleroderma / K.T. McNallan, C. Aponte, R. el-Azhary // *Rheumatology (Oxford).* – 2007. – Vol. 46. – P. 398–402.
79. In vivo study of scleroderma by non-invasive techniques / B. Kalis, J. De Rigal, F. Léonard [et al.] // *Br J Dermatol.* – 1990. – Vol. 122. – №6. – P. 785–791.
80. Increased levels of circulating intercellular adhesion molecule-1 in patients with localized scleroderma / H. Ihn, M. Fujimoto, S. Sato [et al.] // *J Am Acad Dermatol.* – 1994. – Vol. 31. – №4. – P. 591–595.
81. Increased serum levels of soluble vascular cell adhesion molecule 1 and E-selectin in patients with localized scleroderma / K. Yamane, H. Ihn, M. Kubo [et al.] // *J Am Acad Dermatol.* – 2000. – Vol. 42 (1 Pt 1). – P. 64–69.

82. Initial evaluation of an ultrasound measure for assessing the activity of skin lesions in juvenile localized scleroderma / S.C. Li, M.S. Liebling, K.A. Haines [et al.] // *Arthritis Care Res (Hoboken)*. – 2011. – Vol. 63. – №5. – P. 735–742.
83. Interferon-gamma interferes with transforming growth factor-beta signaling through direct interaction of YB-1 with Smad3 / K. Higashi, Y. Inagaki, K. Fujimori [et al.] // *J Biol Chem*. – 2003. – Vol. 278. – №44. – P. 43470–43479.
84. Interleukin-4 stimulates collagen synthesis by normal and scleroderma fibroblasts in dermal equivalents / C. Fertin, J.F. Nicolas, P. Gillery [et al.] // *Cell Mol Biol*. – 1991. – Vol. 37. – P. 823–829.
85. Iredale, J.P. Models of liver fibrosis: exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ / J.P. Iredale // *J Clin Invest*. – 2007. – Vol. 117. – №3. – P. 539 – 548.
86. Issa, R. Spontaneous recovery from micronodular cirrhosis: evidence for incomplete resolution associated with matrix cross-linking / R. Issa, X. Zhou, C.M. Constandinou // *Gastroenterology*. – 2004. – Vol. 126. – №7. – P. 1795–1808.
87. Jacobe, H. Major histocompatibility complex class I and class II alleles may confer susceptibility to or protection against morphea: findings from the Morphea in Adults and Children cohort / H. Jacobe, C. Ahn, F.C. Arnett, J.D. Reveill // *Arthritis Rheumatol*. – 2014. – Vol. 66. – №11. – P. 3170–3177.
88. Jimenez, S.A. Selective inhibition of human diploid fibroblast collagen synthesis by interferons / S.A. Jimenez, B. Freundlich, J. Rosenbloom // *J Clin Invest*. – 1984. – Vol. 74. – №3. – P. 1112–1116.
89. Jue, M.S. Digital image processing for the acquisition of graphic similarity of the distributional patterns between cutaneous lesions of linear scleroderma and Blaschko's lines / M.S. Jue, M.H. Kim, J.Y. Ko, C.W. Lee // *J Dermatol*. – 2011. – Vol. 38. – P. 778–783.
90. Juvenile-onset localized scleroderma activity detection by infrared thermography / G. Martini, K. Murray, K. Howell [et al.] // *Rheumatology*, – 2002. – Vol. 41. – №10. – P. 1178–1182.

91. Kaiser, H. Maurice Raynaud (1834-1881) and the syndrome named after him [Article in German] / H. Kaiser // *Z Rheumatol.* – 2011. – Vol. 70. – №7. – P. 620–624.
92. Khanna, D. Standardization of the modified Rodnan skin score for use in clinical trials of systemic sclerosis / D. Khanna, D.E. Furst, P.J. Clements, Y. Allanore // *J Scleroderma Relat Disord.* – 2017. – Vol. 2. – №1. – P. 11–18.
93. Klimek, P. Fractional Ablative Carbon Dioxide Lasers for the Treatment of Morphea: A Case Series and Literature Review / P. Klimek, W. Placek, A. Owczarczyk-Saczonek // *Int J Environ Res Public Health.* – 2022. – Vol. 19. – №13. – P. 8133.
94. Kurzinski, K. Cytokine profiles in localized scleroderma and relationship to clinical features / K. Kurzinski, K.S. Torok // *Cytokine.* – 2011. – Vol. 55. – №2. – P. 157–164.
95. Kurzinski, K.L. Prediction of disease relapse in a cohort of paediatric patients with localized scleroderma / K.L. Kurzinski, C.K. Zigler, K.S. Torok // *Br J Dermatol.* – 2019. – Vol. 180. – №5. – P. 1183–1189.
96. Lakos, G. Targeted disruption of TGF-beta/Smad3 signaling modulates skin fibrosis in a mouse model of scleroderma / G. Lakos, S. Takagawa, S.J. Chen // *Am J Pathol.* – 2004. – Vol. 165. – № 203–217.
97. Laser Doppler flowmetry for assessing localized scleroderma in children / L. Weibel, K.J. Howell, M.T. Visentin [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2007. – Vol. 56. – №10. – P. 3489–3495.
98. Leask, A. Getting out of a sticky situation: targeting the myofibroblast in scleroderma / A. Leask // *Open Rheumatol J.* – 2012. – Vol. 6. – P. 163–169.
99. Li, S.C. Ultrasonography is a sensitive tool for monitoring localized scleroderma / S.C. Li, M.S. Liebling, K.A. Haines // *Rheumatology (Oxford).* – 2007. – Vol. 46. - №8. – P. 1316–1319.
100. Localized Scleroderma Clinical and Ultrasound Study Group. The localized scleroderma skin severity index and physician global assessment of disease activity: a work in progress toward development of localized scleroderma outcome measures / T. Arkachaisri, S. Vilaiyuk, S. Li [et al.] // *J Rheumatol.* – 2009. – Vol. 36. – №12. – P. 2819–2829.

101. Localized Scleroderma Cutaneous Assessment Tool (LoSCAT) adapted for use in adult patients: report from an initial validation study / A. Skrzypek-Salamon, A. Lis-Święty, I. Ranoż-Janicka [et al.] // Health Qual Life Outcomes. – 2018. – Vol. 16. – №1. – P. 185.

102. Longitudinal Assessment of Scleroderma Skin by Optical Coherence Tomography: Preliminary Validation of Sensitivity to Change Over-Time / G. Abignano, L. Bissell, J. Britton [и др.] // Annals of the Rheumatic Diseases, 2014. – Vol. 73. – P. 705–706.

103. Low-level laser (light) therapy (LLLT) in skin: stimulating, healing, restoring / P. Avci, A. Gupta, M. Sadasivam [et al.] // Semin Cutan Med Surg. – 2013. – Vol. 32. – №1. – P. 41–52.

104. Magee, K.E. Interferon-gamma inducible protein-10 as a potential biomarker in localized scleroderma / K.E. Magee, C.E. Kelsey, K.L. Kurzinski // Arthritis Res Ther. – 2013. – Vol. 15. – №6. – P. R188.

105. Male microchimerism and HLA compatibility in French women with scleroderma: a different profile in limited and diffuse subset / J.M. Rak, P.P. Pagni, K. Tiev [et al.] // Rheumatology (Oxford). – 2009. – Vol. 48. – P. 363–366.

106. Male microchimerism in women with systemic sclerosis and healthy women who have never given birth to a son / N.C. Lambert, J.M. Pang, Z. Yan [et al.] // Ann Rheum Dis. – 2005. – Vol. 64. – №6. – P. 845–848.

107. Mancuso, G. Topical tacrolimus in the treatment of localized scleroderma / G. Mancuso, R.M. Berdondini // Eur J Dermatol. – 2003. – Vol. 13. – №6. – P. 590–592.

108. Manresa, M.C. Hypoxia-sensitive pathways in inflammation-driven fibrosis / M.C. Manresa, C. Godson, C.T. Taylor // Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. – 2014. – Vol. 307. – №12. – P. R1369 – R1380.

109. Mertens, J.S. Use of Mycophenolate Mofetil in Patients with Severe Localized Scleroderma Resistant or Intolerant to Methotrexate / J.S. Mertens, D. Marsman, P.C. van de Kerkhof [et al.] // Acta Derm Venereol. – 2016. – Vol. 96. – №4. – P. 510–513.

110. Methotrexate treatment in juvenile localized scleroderma: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial / F. Zulian, G. Martini, C. Vallongo [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2011. – Vol. 63. – №7. – P. 1998–2006.

111. Mogensen, T.H. Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses / T.H. Mogensen // *Clin Microbiol Rev.* – 2009. – Vol. 22. – №2. – P. 240–273.

112. Molho-Pessach, V. Blaschko lines and other patterns of cutaneous mosaicism / V. Molho-Pessach, J.V. Schaffer // *Clin Dermatol.* – 2011. – Vol. 29. – P. 205.

113. Murray, K.J. Scleroderma in children and adolescents / K.J. Murray, R.M. Laxer // *Rheum Dis Clin North Am.* – 2002. – Vol. 28. – №3. – P. 603–624.

114. Mycophenolate mofetil for methotrexate-resistant juvenile localized scleroderma / G. Martini, L. Saggioro, R. Culpo [et al.] // *Rheumatology (Oxford).* – 2021. – Vol. 60. – №3. – P. 1387–1391.

115. NADPH oxidase, oxidative stress and fibrosis in systemic sclerosis / S. Svegliati, T. Spadoni, G. Moroncini [et al.] // *Free Radic Biol Med.* – 2018. – Vol. 125. – P. 90–97.

116. Narrow-band reflectance spectrophotometry and infrared thermography for assessment of skin lesions in localized scleroderma / M. Szczepanek, A. Frątczak, K. Polak [et al.] // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology.* – 2022. – Vol. 39. – №4. – P. 645–650.

117. New Insights into Profibrotic Myofibroblast Formation in Systemic Sclerosis: When the Vascular Wall Becomes the Enemy / E. Romano, I. Rosa, B.S. Fioretto [et al.] // *Life (Basel).* – 2021. – Vol. 11. – №7. – P. 610.

118. Non-invasive Imaging of Localised Scleroderma for Assessment of Skin Blood Flow and Structure / A.K. Murray, T.L. Moore, J.B. Manning [et al.] // *Acta Derm Venereol.* – 2016. – Vol. 96. – №5. – P. 641–644.

119. Optical coherence tomography of the skin detects scleroderma changes in clinically unaffected skin: an opportunity for early detection of systemic sclerosis / G. Abignano, D. Karadağ, O. Gundogdu [и др.] // *Annals of the Rheumatic Diseases,* 2020. – Vol. 73. – P. 696.

120. Optical coherence tomography validation: A new quantitative imaging biomarker for affected skin in scleroderma / S. Marschall, B. Sander, M. Mogensen [et al.] // *Annals of the Rheumatic Diseases* – 2013. – Vol. 71. – P. 133.

121. Papara, C. Morphea: The 2023 update / C. Papara, D.A. Luca, K. Bieber // *Front Med (Lausanne)*. – 2023. – Vol. 10. – P. 1108623.

122. Pathogenesis and therapeutic approaches for improved topical treatment in localized scleroderma and systemic sclerosis / I. Badea, M. Taylor, A. Rosenberg [et al.] // *Rheumatology (Oxford)*. – 2009. – Vol. 48. – №3. – P. 213–221.

123. Pediatric morphea (localized scleroderma): review of 136 patients / S. Christen-Zaech, M.D. Hakim, F.S. Afsar, A.S. Paller // *J Am Acad Dermatol*. – 2008. – Vol. 59. – №3. – P. 385–396.

124. Perioral hyaluronidase injection for the treatment of microstomia in systemic sclerosis patients: A retrospective cohort study / M. Elgash, S.R. Kim SR, M. Swallow [et al.] // *J Am Acad Dermatol*. – 2025. – Vol. 92. – №1. – P.148–150.

125. Peripheral blood cytokine and chemokine profiles in juvenile localized scleroderma: T-helper cell-associated cytokine profiles / K.S. Torok, K. Kurzinski, C. Kelsey [et al.] // *Semin Arthritis Rheum*. – 2015. – Vol. 45. – №3. – P. 284–293.

126. Pilot study of dual-wavelength (532 and 633 nm) laser Doppler imaging and infrared thermography of morphoea / T.L. Moore, S. Vij, A.K. Murray [et al.] // *Br J Dermatol*. – 2009. – Vol. 160. – №4. – P. 864–867.

127. Progressive systemic sclerosis with intraoral manifestations: A case report and review / R. Srivastava, B. Jyoti, M. Bihari, S. Pradhan // *Indian J Dent*. – 2016. – Vol. 7. – №2. – P. 99–104.

128. Reliability of two methods to assess morphea: skin scoring and the use of a durometer / M.M. Seyger, F.H. van den Hoogen, T. de Boo, E.M. de Jong // *J Am Acad Dermatol*. – 1997. – Vol. 37(5 Pt 1). – P. 793–796.

129. Review of applications of fluorescence excitation spectroscopy to dermatology / W. Franco, E. Gutierrez-Herrera, N. Kollias [et al.] // *Br J Dermatol*. – 2016. – Vol. 174. – №3. – P. 499–504.

130. Rodnan, G.P. Skin thickness and collagen content in progressive systemic sclerosis and localized scleroderma / G.P. Rodnan, E. Lipinski, J. Luksick // *Arthritis Rheum.* – 1979. – Vol. 22. – №2. – P. 130–140.

131. Ruksha, T.G. MicroRNA in skin diseases / T.G. Ruksha, A.V. Komina, N.V. Palkina // *Eur. J. Dermatol.* – 2017. – Vol. 27. – P. 343–352.

132. S2k guideline: Diagnosis and therapy of localized scleroderma / A. Kreuter, P. Moinzadeh, M. Kinberger [et al.] // *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft.* – 2024. – Vol. 22. – №. 4. – P. 605–620.

133. Scleroderma pathogenesis: a pivotal role for fibroblasts as effector cells / A.J. Gilbane, C.P. Denton, A.M. Holmes [et al.] // *Arthritis Res Ther.* – 2013. – Vol. 15. – №3. – P. 215.

134. Scleroderma with an update about clinico-pathological correlation / F. Rongioletti, C. Ferreli, L. Atzori [et al.] // *G Ital Dermatol Venereol.* – 2018. – Vol. 153. – №2. – P. 208–215.

135. Serum autoantibodies and their clinical associations in patients with childhood- and adult-onset linear scleroderma. A single-center study / T. Arkachaisri, N. Fertig, S. Pino [et al.] // *J Rheumatol.* – 2008. – Vol. 35. – №12. – P. 2439–2444.

136. Serum microRNA screening and functional studies reveal miR-483-5p as a potential driver of fibrosis in systemic sclerosis / E. Chouri, N.H. Servaas, C.P.J. Bekker [et al.] // *J Autoimmun.* – 2018. – Vol. 89. – P. 162–170.

137. Serup, J. Blood flow of morphea plaques as measured by laser-Doppler flowmetry / J. Serup, J.K. Kristensen // *Arch Dermatol Res.* – 1984. – Vol. 276. – №5. – P. 322–325.

138. Singhvi, G. MicroRNAs as biological regulators in skin disorders. *Biomed / G. Singhvi* // *Pharmacother.* – 2018. – Vol. 108. – P. 996–1004.

139. Smirnova, O.D. Collagen as in vivo quantitative fluorescent biomarkers of abnormal tissue changes / O.D. Smirnova, D.A. Rogatkin, K.S. Litvinova // *Journal of Innovative Optical Health Sciences.* – 2012. – Vol. 5. – №02. – P. 1250010.

140. Sommer, A. Clinical and serological characteristics of progressive facial hemiatrophy: a case series of 12 patients / A. Sommer, T. Gambichler, M. Bacharach-Buhles // *J Am Acad Dermatol.* – 2006. – Vol. 54. – №2. – P. 227–233.

141. Stefanaki, C. Topical tacrolimus 0.1% ointment in the treatment of localized scleroderma. An open label clinical and histological study / C. Stefanaki, K. Stefanaki, G. Kontochristopoulos // *J Dermatol.* – 2008. – Vol. 35. – №11. – P. 712–718.

142. Successful treatment of severe or methotrexate-resistant juvenile localized scleroderma with mycophenolate mofetil / G. Martini, A.V. Ramanan, F. Falcini [et al.] // *Rheumatology (Oxford).* – 2009. – Vol. 48. – №11. – P. 1410–1413.

143. Successful ultraviolet phototherapy in the treatment of localized scleroderma: a retrospective and prospective study / K. Andres. A. Kolmar, M. Mempel [et al.] // *Br J Dermatol.* – 2010. – Vol. 162. – P. 445–447.

144. Szczepanik-Kułak, P. Laser Therapy for the Treatment of Morphea: A Systematic Review of Literature / P. Szczepanik-Kułak, M. Michalska-Jakubus, D. Krasowska // *J Clin Med.* – 2021. – Vol. 10. – №15. – P. 3409.

145. Takehara, K. Localized scleroderma is an autoimmune disorder. / K. Takehara, S. Sato // *Rheumatology (Oxford).* – 2005. – Vol. 44. – №3. – P. 274–279.

146. Targeting miR-155 to treat experimental scleroderma / Q. Yan, J. Chen, W. Li [et al.] // *Sci Rep.* – 2016. – №6. – P. 20314.

147. Targeting Systemic Sclerosis from Pathogenic Mechanisms to Clinical Manifestations: Why IL-6? / A. Cardoneanu, A.M. Burlui, L.A. Macovei [et al.] // *Biomedicines.* – 2022. – Vol. 10. – №2. – P. 318.

148. Tay, Y.K. Topical calcipotriol ointment in the treatment of morphea / Y.K. Tay // *J Dermatolog Treat.* – 2003. – Vol. 14. – №4. – P. 219–221.

149. Tenascin-C drives persistence of organ fibrosis / S. Bhattacharyya, W. Wang [et al.] // *Nat Commun.* – 2016. – Vol. 7. – P. 11703.

150. The downregulation of microRNA let-7a contributes to the excessive expression of type I collagen in systemic and localized scleroderma / K. Makino, M. Jinnin, A. Hirano [et al.] // *J Immunol (Baltimore, MD, 1950).* – 2013. – Vol. 190. – №8. – P. 3905–3915.

151. The effect of transforming growth factor beta on rates of procollagen synthesis and degradation in vitro / R.J. McAnulty, J.S. Campa, A.D. Cambrey [et al.] // *Biochim Biophys Acta*. – 1991. – Vol. 1091. – №2. – P. 231–235.

152. The epidemiology of morphea (localized scleroderma) in Olmsted County 1960-1993 / L.S. Peterson, A.M. Nelson, W.P. Su [et al.] // *J Rheumatol*. – 1997. – Vol. 24. – №1. – P. 73–80.

153. The role of dendritic cells and regulatory T cells in the pathogenesis of morphea / A. Osmola-Mańkowska, E. Teresiak-Mikołajczak, A. Dańczak-Pazdrowska [et al.] // *Cent Eur J Immunol*. – 2015. – Vol. 40. – №1. – P. 103–108.

154. The role of genetics and epigenetics in the pathogenesis of systemic sclerosis. / J.C. Broen, T.R. Radstake, M. Rossato [et al.] // *Nat Rev Rheumatol*. – 2014. – Vol. 10. – №11. – P. 671–681.

155. The role of local temperature and other clinical characteristics of localized scleroderma as markers of disease activity / M.T. Garcia-Romero, H.K. Randhawa, R. Laxer, E. Pope // *Int J Dermatol*. – 2017. – Vol. 56. – №1. – P. 63–67.

156. Thunell, S. Porphyrins, porphyrin metabolism and porphyrias. I. Update. / S. Thunell // *Scand J Clin Lab Invest*. – 2000. – Vol. 60. – №7. – P. 509–540.

157. Toll-like Receptor 9 Signaling Is Augmented in Systemic Sclerosis and Elicits Transforming Growth Factor  $\beta$ -Dependent Fibroblast Activation / F. Fang, R.G. Marangoni, X. Zhou [et al.] // *Arthritis Rheumatol*. – 2016. – Vol. 68. – №8. – P. 1989–2002.

158. Topical calcipotriene for morphea/linear scleroderma / B.B. Cunningham, I.D. Landells, C. Langman [et al.] // *J Am Acad Dermatol*. – 1998. – Vol. 39(2 Pt 1). – P. 211–215.

159. Topical imiquimod 5% cream for pediatric plaque morphea: a prospective, multiple-baseline, open-label pilot study / E. Pope, A.S. Doria, M. Theriault [et al.] // *Dermatology*. – 2011. – Vol. 223. – №4. – P. 363–369.

160. Transcriptional and Cytokine Profiles Identify CXCL9 as a Biomarker of Disease Activity in Morphea / J.C. O'Brien, Y.B. Rainwater, N. Malviya [et al.] // *J Invest Dermatol*. – 2017. – Vol. 137. – №8. – P. 1663–1670.

161. Transforming growth factor-beta receptor type I-dependent fibrogenic gene program is mediated via activation of Smad1 and Erk1/2 pathways // J. Pannu, S. Nakerakanti, E. Smith [et al.] // *J Biol Chem.* – 2007. – Vol. 282. – P. 10405–10413.

162. Treatment of morphea with hydroxychloroquine: A retrospective review of 84 patients at Mayo Clinic, 1996-2013 / A.B. Kumar, E.K. Blixt, L.A. Drage [et al.] // *Am Acad Dermatol.* – 2019. – Vol. 80. – №6. – P. 1658–1663.

163. Ultrasound as an outcome measure to assess disease activity in disorders of skin thickening: an example of the use of radiologic techniques to assess skin disease / S.E. Bendeck, H.T. Jacobe [et al.] // *Ultrasound Dermatol Ther.* – 2007. – Vol. 20. – №2. – P. 86–92.

164. Varga, J. Systemic sclerosis: a prototypic multisystem fibrotic disorder / J. Varga, D. Abraham // *J Clin Invest.* – 2007. – Vol. 117. – P. 557–567.

165. Wang, Y. Association between enhanced type I collagen expression and epigenetic repression of the FLI1 gene in scleroderma fibroblasts / Y. Wang, P.S. Fan, B. Kahaleh // *Arthritis Rheum.* – 2006. – Vol. 54. – №7. – P. 2271–2279.

166. Weedon, D. Disorders of collagen / D. Weedon // *Skin pathology.* – 2002. – P. 346–350.

167. Weibel, L. Linear morphoea follows blaschko's lines / L. Weibel, L. Harper // *Br J Dermatol.* – 2008. – Vol. 159. – P. 175–181.

168. Wilson, R.H. Models of light propagation in human tissue applied to cancer diagnostics / R.H. Wilson, M.A. Mycek // *Technol Cancer Res Treat.* – 2011. – Vol. 10. – №2. – P. 121–134.

169. Yamamoto, T. Chemokines and chemokine receptors in scleroderma / T. Yamamoto // *Int Arch Allergy Immunol.* – 2006. – Vol. 140. – №4. – P. 345–356.

170. Young-Min, S.A. Serum TIMP-1, TIMP-2, and MMP-1 in patients with systemic sclerosis, primary Raynaud's phenomenon, and in normal controls / S.A. Young-Min, C. Beeton, R. Laughton // *Ann Rheum Dis.* – 2001. – Vol. 60. – №9. – P. 846–851.