

## ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

- Zuberbier T., Asero R., Bindslev-Jensen C., Walter Canonica G., Church M.K., Giménez-Arnau A., et al. EAACI/GA(2)LEN/EDF/WAO guideline: definition, classification and diagnosis of urticaria. *Allergy*. 2009; 64(10): 1417–26. doi: 10.1111/j.1398-9995.2009.02179.x.
- Konstantinou G.N., Asero R., Ferrer M., Knol E.F., Maurer M., Raap U., et al. EAACI taskforce position paper: evidence for autoimmune urticaria and proposal for defining diagnostic criteria. *Allergy*. 2013; 68(1): 27–36. doi: 10.1111/all.12056.
- Covelli M., Favia I., Marrone M., Iannone F., Gentile A., Lastilla G., et al. Cutaneous lesions as presenting symptoms of primary biliary cirrhosis: an undifferentiated connective tissue disease-like onset. *Clin. Rheumatol.* 2006 25: 919–22. doi: 10.1007/s10067-005-0084-2
- Bose S., Barcena M., Catanzaro J., Sterbank J., Hostoffer R., Tcheurekdjian H. Chronic urticaria associated with primary biliary cirrhosis in a patient with normal liver function tests. Abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology and World Allergy Organization World Allergy and Asthma Congress, 22–26 June 2013, Milan, Italy. *Allergy*. 2013; 68(Suppl. 97): 606–7.
- Каплан М.М., Гершвин М.Е. Первичный билиарный цирроз. *Русский медицинский журнал*. 2007; 23: 1747–52. [Kaplan M.M., Gershwin M.E. Primary biliary cirrhosis. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*. 2007; 23: 1747–52]. (in Russian)
- Gershwin M.E., Mackay I.R., Sturgess A., Coppel R.L. Identification and specificity of a cDNA encoding the 70 kd mitochondrial antigen recognized in primary biliary cirrhosis. *J. Immunol.* 1987; 138(10): 3525–31.

Поступила 11.03.14

Received 11.03.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 616.527-092:612.017.1]-085.357.015.8-07

## Биохимические аспекты стероидной резистентности при аутоиммунной пузырчатке

Духанин А.С.<sup>1</sup>, Теплюк Н.П.<sup>2</sup>, Лепехова А.А.<sup>2</sup>, Земскова О.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Кафедра молекулярной фармакологии и радиобиологии им. П.В. Сергеева (зав. – проф. Н.Л. Шимановский) Российского научно-исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова; <sup>2</sup>Кафедра кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова (зав. – проф. О.Ю. Олисова) лечебного факультета ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва; <sup>3</sup>Кафедра технологий и технического дизайна (зав. – проф. С.В. Самченко) ФГБОУ ВПО Московский государственный строительный университет Институт жилищно-коммунального комплекса, Москва

Целью исследования явилось определение молекулярных механизмов стероидной резистентности на рецепторном уровне у больных аутоиммунной пузырчаткой (АП). Проведен сравнительный анализ параметров специфического связывания глюкокортикоидов внутриклеточными рецепторами лимфоцитов периферической крови у больных с гормончувствительной и гормонрезистентной формами АП; содержания  $\alpha$ - и  $\beta$ -изоформ рецепторов глюкокортикоидов в лимфоцитах периферической крови пациентов. Выявлены особенности клинического течения АП у стероидрезистентных больных при изменении уровня  $\alpha$ - или  $\beta$ -изоформ рецепторов.

Ключевые слова: аутоиммунная пузырчатка; стероидная резистентность;  $\alpha$ - и  $\beta$ -изоформы рецепторов глюкокортикоидов в лимфоцитах периферической крови; клиническое течение.

### BIOCHEMICAL ASPECTS OF STEROID RESISTANCE OF AUTOIMMUNE PEMPHIGUS

Dukhanin A.S.<sup>1</sup>, Teplyuk N.P.<sup>2</sup>, Lepekhova A.A.<sup>2</sup>, Zemskova O.V.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>N.I. Pirogov Russian Research Medical University, 117997, Moscow, Russia; <sup>2</sup>I.M. Setchenov First Moscow Medical University, 119991, Moscow, Russia <sup>3</sup>Moscow State University of Civil Engineering, 129337, Moscow, Russia

The molecular mechanisms of steroid resistance in patients with autoimmune pemphigus (AP) were detected at the receptor level. Comparative analysis of the parameters of glucocorticoid specific binding by peripheral blood lymphocyte receptors and of the levels of glucocorticoid  $\alpha$ - and  $\beta$ -receptors in the peripheral blood lymphocytes was carried out in patients with hormone-sensitive and hormone-resistant AP. Specific features of the clinical course of AP under conditions of changed levels of  $\alpha$ - or  $\beta$ -receptors in steroid-resistant patients were detected.

Key words: autoimmune pemphigus; steroid resistance; glucocorticoid  $\alpha$ - and  $\beta$ -receptors in peripheral blood lymphocytes; clinical course.

Аутоиммунная пузырчатка (АП) – заболевание, при котором не существует противопоказаний для назначения системных глюкокортикоидов (СГК). Вместе с тем, согласно данным литературы [1–6], некоторые больные резистентны к монотерапии СГК. По отношению к этим больным введен термин "стероидная резистентность" (СР).

На основании ретроспективного анализа историй болезни 118 больных АП (42 мужчины и 76 женщин) были сделаны следующие клинические выводы:

- Обострение заболевания в первый год от начала лечения у 44% больных связано со СР.
- У стероидрезистентных больных в 28% случаев не удалось определить триггерные факторы, поэтому, учитывая данные литературы, можно предполагать наличие генетической предрасположенности. У стероидчувствительных больных частота таких обострений составила всего 4%.
- Статистически значимая связь частоты обострения заболевания в первый год от начала лечения у стероидрезистентных больных со стрессом подтверждает провоцирующую роль стресса в проявлении СР ( $p < 0,01$ ).
- Недостаточная максимальная доза СГК и быстрое ее снижение способствуют обострению в первый год от начала лечения аутоиммунной пузырчатки как при СР, так и без нее.
- Клинических различий при дебюте аутоиммунной пузырчатки у стероидрезистентных и стероидчувствительных больных не выявлено.

Согласно данным литературы [1, 2, 7–9], различают несколько причин СР (синонимы: рефрактерность, десенситизация, даун-регуляция): снижение количества внутриклеточных рецепторов, их стабильности или чувствительности к СГК [7, 8]; нарушение их димеризации и гетеродимеризации, а также межбелковые взаимодействия и мутации их генов [2].

При изучении СР к СГК методом радиолигандного связывания было показано, что глюкокортикоиды и другие агонисты внутриклеточных рецепторов могут снижать их количество *in vitro* (в культурах лимфоцитов) и *in vivo* (в лимфоцитах человека), что обусловлено подавлением транскрипции гена внутриклеточных рецепторов. Данный эффект может быть связан с репрессией промотора гена внутриклеточных рецепторов и других генов [7, 10].

По-видимому, СР является способом регуляции чувствительности к СГК по принципу обратной связи. Пока этот путь регуляции изучается только в лабораториях, и накопленные знания еще не используются в клинике. Однако понимание механизмов СР имеет большое практическое значение, так как ее оценка необходима для индивидуального подбора доз СГК, частоты и времени их приема (когда чувствительность клеток-мишеней максимальна) [8].

Сведения об авторах:

Духанин Александр Сергеевич, доктор мед. наук, профессор (das03@ Rambler.ru); Теплюк Наталья Павловна, доктор мед. наук, профессор (Teplyukn@gmail.com); Лепехова Анфиса Александровна, аспирант (anfisa.lepehova@yandex.ru); Земскова Ольга Викторовна, кандидат хим. наук, доцент.

Выделено два основных рецептора глюкокортикоидов:  $\alpha$ - и  $\beta$ -изоформы (ГРа и ГР $\beta$ ). ГРа представляет собой классический рецептор глюкокортикоидов. ГР $\beta$  является доминантным ингибитором ГРа и не способен связываться с гормоном [11, 12]. Высокий уровень ГР $\beta$  наблюдается у пациентов с нечувствительными к гормональной терапии формами астмы, ревматоидного артрита, системной красной волчанки, острой лимфоцитарной лейкемией и др. [13–15]. Причины повышенной продукции ГР $\beta$ -изоформы пока не выяснены.

При воспалении во многих клетках, включая клетки иммунной системы, активируется экспрессия транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B. Глюкокортикоиды и NF- $\kappa$ B способны ингибировать друг друга. Этот антагонизм также может быть причиной СР при воспалении. Роль NF- $\kappa$ B в воспалении весьма велика, так как он индуцирует активность генов [2, 16, 17]. Некоторые цитокины и факторы роста, относящиеся к медиаторам воспаления, играют определенную роль в развитии СР. Установлено, что инкубация лейкоцитов больных бронхиальной астмой с интерлейкинами приводит к нарушениям функции внутриклеточных рецепторов, что характерно и для фактора некроза опухоли  $\alpha$  на лимфоцитах. Межбелковые взаимодействия на уровне гормонрецепторных комплексов могут вызывать как СР, так и гиперчувствительность к глюкокортикоидам [18, 19].

В ряде случаев СР может быть вызвана мутациями генов внутриклеточных рецепторов. Так, например, семейная резистентность к глюкокортикоидам обусловлена точечной мутацией, приводящей к замене одной аминокислоты в молекуле внутриклеточного рецептора в положении 641 и как следствие к уменьшению в 3 раза связывания дексаметазона с внутриклеточным рецептором. Всего описано около 10 мутаций генов внутриклеточных рецепторов, и эти мутации не настолько часты, чтобы иметь большое клиническое значение [20].

Целью настоящего исследования явилось определение молекулярных механизмов СР на рецепторном уровне у больных АП.

#### Материалы и методы

В исследование были включены пациенты со стероидчувствительной ( $n = 10$ ) и стероидрезистентной ( $n = 14$ ) формами АП.

Для реализации поставленной цели исследования разработали следующие задачи:

- Сравнительный анализ параметров специфического связывания глюкокортикоидов внутриклеточными рецепторами лимфоцитов периферической крови у пациентов с гормончувствительной и гормонрезистентной формами АП.
- Сравнительный анализ содержания  $\alpha$ - и  $\beta$ -изоформ рецепторов глюкокортикоидов в лимфоцитах периферической крови больных АП.
- Сравнительный анализ параметров специфического связывания глюкокортикоидов мембранными рецепторами лимфоцитов периферической крови больных АП.

Corresponding author:

Teplyuk Natalia, MD, PhD, D.Sc, prof. (Teplyukn@gmail.com).

В исследовании использовали 2 основных метода: радиолигандный метод и полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Радиолигандный метод является единственным методом, позволяющим изучить параметры специфического связывания лиганда с рецептором. ПЦР-РВ имеет преимущество перед другими методами (иммуоблот) в определении экспрессии матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) – расшифровка изоформ рецепторов в силу своей универсальности, быстроты исполнения и возможности работы с малым объемом крови.

Количество специфических мест связывания на плазматической мембране определяли с учетом эффективности счета (50–60%) и удельной радиоактивности (5 Сi/ммоль)  $^{14}\text{C}$ -ПВП-аналогов. Специфическое связывание вычисляли как разницу между количеством связанных клетками полимеров в отсутствие немеченых гормонов (общее связывание) и количеством  $^{14}\text{C}$ -ПВП-аналогов, связанных клетками в присутствии 1000-кратного избытка немеченых свободных гормонов (неспецифическое связывание).

Анализ содержания внутриклеточных рецепторов проводили по методике М. Lippman [21]. Результаты получали в количестве всплесков в 1 с (измерения проводили по триплексам), которые переводили в количество мест связывания с учетом удельной радиоактивности метки и эффективности счета прибора.

Полученные с помощью вышеописанных методов результаты обрабатывали в программе Excel. Вычисляли среднее значение, а для чувствительных пациентов дополнительно медиану и интервал значений. Статистически значимые различия оценивали с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни при уровне значимости  $p = 0,05$ .

## Результаты

Данные оценки уровня экспрессии мРНК  $\alpha$ - и  $\beta$ -изоформ глюкокортикоидных рецепторов (в процентном отношении к GAPDH  $10^6$  –  $10^7$  копий) в группе гормончувствительных пациентов свидетельствуют, что экспрессия ГР $\alpha$  в несколько раз выше экспрессии ГР $\beta$ . Максимальное значение ГР $\alpha$  – 80,28%, минимальное – 65,03%, максимальное значение ГР $\beta$  – 40,25%, минимальное – 15,03%. По полученным данным вычислены медиана и разброс значений:  $Me_{\alpha} = 69,17$  (65,03–80,28),  $Me_{\beta} = 33,99$  (15,03–40,25).

Вычисленные показатели уровня экспрессии мРНК ГР $\alpha$  и ГР $\beta$  в группе гормонрезистентных пациентов составили: максимальное значение ГР $\alpha$  – 81,91%, минимальное – 50,23%, максимальное значение ГР $\beta$  – 49,4%, минимальное – 22,22%. Установлены статистически значимые различия: у 2 пациентов (наблюдения №8 и 13) экспрессия ГР $\alpha$  снижена, у 2 больных (наблюдения №5 и 10) имелись самые высокие значения ГР $\beta$ .

Экспериментальные данные, полученные радиолигандным методом в группе чувствительных к гормонотерапии пациентов, позволили определить количество мембранных и внутриклеточных глюкокортикоидных рецепторов, способных связывать лиганд. Количество мембранных рецепторов на порядок больше внутриклеточных. Максимальное значение мембранных рецепторов в 1 клетке  $11,28 \cdot 10^3$ , минимальное –  $9,02 \cdot 10^3$ , максимальное

значение внутриклеточных рецепторов в 1 клетке  $1,22 \cdot 10^3$ , минимальное –  $0,96 \cdot 10^3$ . По полученным данным рассчитаны медиана и интервал значений:  $Me_{\alpha} = 10,32$  (9,05–11,35);  $Me_{\beta} = 1,08$  (0,93–1,27).

Результаты радиолигандного метода оценки количества мембранных и внутриклеточных рецепторов в лимфоцитах, выделенных из крови гормонрезистентных пациентов, показали, что максимальное значение мембранных рецепторов в 1 клетке составляет  $12,21 \cdot 10^3$ , минимальное –  $6,91 \cdot 10^3$ , максимальное значение внутриклеточных рецепторов в 1 клетке составляет  $1,21 \cdot 10^3$ , минимальное –  $0,69 \cdot 10^3$ . Установлено статистически значимое снижение количества мембранных рецепторов у 1 пациента с гормонрезистентной формой АП (наблюдение №2). Статистически значимые низкие параметры внутриклеточного связывания рецепторов SGK выявлены у 2 пациентов (наблюдения №8 и 13). Следует отметить, что у этих больных (наблюдения №8 и 13) статистически значимо снижена экспрессия ГР $\alpha$ .

Таким образом, у 5 из 14 резистентных пациентов выявлена рецепторная патология, у 1 – низкое количество мембранных рецепторов, у 2 – низкое количество внутриклеточных рецепторов (за счет  $\alpha$ -изоформы), у 2 – увеличенное количество  $\beta$ -изоформы ГР. Можно предположить, что у данных пациентов именно патология рецепторов вызвала клиническую резистентность к глюкокортикоидным препаратам.

Причиной снижения числа лигандсвязывающих рецепторов, возможно, является агонистиндуцированная даун-регуляция (способность лиганда в большом количестве вызывать подавление синтеза собственных рецепторов).

Причина увеличения числа  $\beta$ -изоформы остается неясной, нельзя исключить генетически детерминированный характер патологии.

Пациентам с обнаруженной рецепторной патологией нецелесообразно продолжать монотерапию SGK, необходимо сразу проводить комплексное лечение SGK и цитостатиками или иммуносупрессорами.

У остальных 9 пациентов количество рецепторов не изменено, поэтому можно предположить, что причинами резистентности являются мутации гена ГР или нарушение механизмов передачи сигнала на пострецепторном уровне.

В процессе исследования был проведен анализ клинических данных у больных со статистически значимой сниженной экспрессией ГР $\alpha$ .

Больная В. (наблюдение № 8), 45 лет, с 2005 г. находится под наблюдением в клинике кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова ПМГМУ им. И.М. Сеченова с диагнозом вульгарная пузырчатка. В ноябре 2004 г. после стресса больная обратила внимание на появление высыпаний на слизистой оболочке полости рта, а затем на коже спины и груди, была направлена на консультацию в нашу клинику. В апреле 2005 г. при госпитализации был поставлен диагноз вульгарная пузырчатка, подтвержденный гистологическим и иммуногистохимическим (прямая реакция иммунофлюоресценции – РИФ) методами исследования. Больная получала максимальную дозу метипреда 80 мг в сутки, наблюдался полный регресс кожных высыпаний.

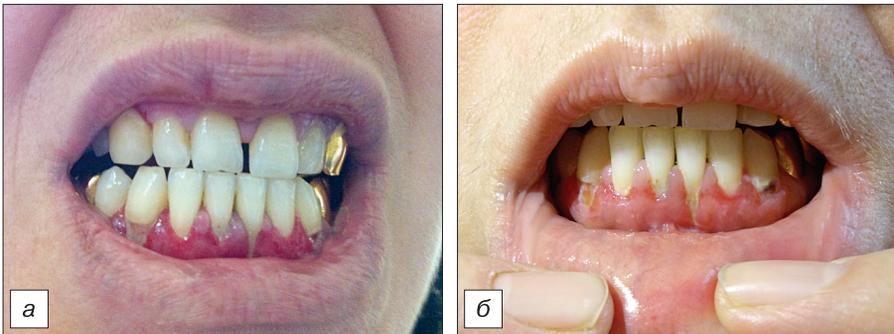


Рис. 1. Больная В. Вульгарная пузырчатка. Клиническая картина. *a* – до лечения; множественные эрозии на слизистой оболочке полости рта; *б* – эпителизация эрозий при лечении метипредом в дозе 48 мг/сут (12 таблеток) и азатиоприном 150 мг/сут.

Суточную дозу метипреда медленно снижали по методике, разработанной ранее на кафедре кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова Первого МГМУ им. И.М. Сеченова [1, 8, 9, 22–24]. Однако высыпания на слизистой оболочке полости рта регрессировали медленно. При выписке из стационара кожные покровы и слизистые оболочки были свободны от высыпаний. Со слов больной, через некоторое время (больная не могла указать когда) вновь возникли эрозии на слизистой оболочке полости рта. В клинику больная обращалась редко, от госпитализации отказывалась, амбулаторно на фоне поддерживающей терапии периодически получала дипроспан 2 мл внутримышечно курсами, 2–3 инъекции с временным положительным эффектом. В 2011 г. в связи с обострением была госпитализирована, к проводимой терапии впервые был присоединен азатиоприн 150 мг/сут. От повышения суточной дозы метипреда больная отказалась, получала курс дипроспана 2 мл внутримышечно, 2 инъекции с хорошим эффектом: эрозии на слизистой оболочке полости рта полностью эпителизовались. В декабре 2012 г. в связи с самостоятельным снижением дозы метипреда до 4 мг/сут и отменой азатиоприна наблюдалось обострение кожного процесса в виде появления новых эрозий на слизистой оболочке полости рта. В стационаре получала 54 мг/сут (16 таблеток) метипреда, вновь были назначены азатиоприн 150 мг/сут, корригирующая терапия. В последующем проводили постепенное снижение дозы метипреда до 8 мг/сут (2 таблетки), азатиоприна до 50 мг/сут; продолжали корригирующую терапию. Очередное обострение произошло в октябре 2013 г. в связи с отменой азатиоприна. Вновь была госпитализирована в клинику кожных и венериче-

ских болезней им. В.А. Рахманова Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. При поступлении высыпания локализовались на слизистой оболочке полости рта, представлены эрозиями на деснах, твердом небе. Дно эрозий ярко-розового цвета, по периферии – фрагменты эпидермиса (рис. 1, *a*).

Больная получала максимальную дозу метипреда 48 мг/сут (12 таблеток), азатиоприн 150 мг/сут, корригирующую терапию. На фоне проводимой терапии наблюдалась эпителизация эрозий (рис. 1, *б*).

После выписки из стационара больная самостоятельно отменила азатиоприн, после чего вновь появились эрозии на слизистой оболочке полости рта, преимущественно на деснах.

Таким образом, низкий уровень ГР $\alpha$  способствует стероидной резистентности у больных АП. Однако следует отметить, что высыпания у таких пациентов, особенно на первых этапах лечения, регрессируют при монотерапии СГК. В последующем наблюдается появление единичных эрозий, заболевание протекает вяло, нет генерализации сыпи, поэтому зачастую такие больные на фоне поддерживающей терапии применяют местные глюкокортикоиды, стараясь избежать повышения дозы СГК.

Назначение азатиоприна, по нашим наблюдениям, сдерживает появление новых высыпаний и способствует регрессу старых.

Вместе с тем, в то время как при назначении азатиоприна у больной вульгарной пузырчаткой (наблюдение №8) отмечалась положительная динамика, у больного себорейной пузырчаткой (наблюдение №13) ее не наблюдалось.

В процессе исследования был также проведен анализ клинических данных у больных с самыми высокими значениями ГР $\beta$ .

Больная А. (наблюдение № 10), 55 лет, находится под наблюдением в клинике кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова Первого МГМУ им. И.М. Сеченова с диагнозом себорейная пузырчатка в течение 15 лет. Начало заболевания и его обострение связывала со

стрессом. Изначально процесс носил торпидный характер; наблюдалась СР: несмотря на лечение СГК, у больной на волосистой части головы постоянно сохранялась обширная поверхностная эрозия, покрытая плотно сидящими желтоватыми корками. Обострение заболевания также, как правило, начиналось с волосистой части головы (рис. 2, *a*).

Больная периодически получала дополнительную иммуносупрессивную терапию азатиоприном в дозе 150 мг/сут с последующим снижением до 50 мг/сут. В 2003 г. через 3 мес после самостоятельной отмены азатиоприна и появления новых высыпаний в качестве адью-



Рис. 2. Больная А., 55 лет. Себорейная пузырчатка. Клиническая картина. *a* – во время обострения; обширная эрозия, покрытая плотными корками, на коже волосистой части головы; *б* – эпителизация эрозий на коже груди в процессе лечения метипредом 15 мг/сут (3 ¼ таблетки) и азатиоприном 100 мг/сут.

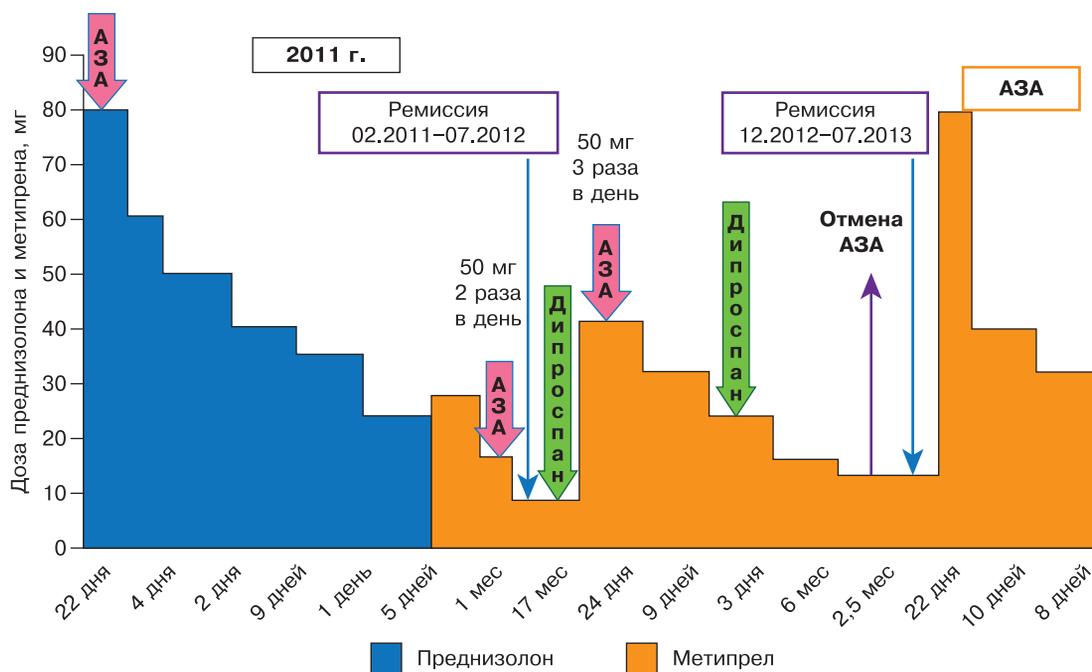


Рис. 3. Схема лечения больного Н. АЗА – азатиоприн.

вантной терапии пациентке был назначен циклоспорин А, первоначальная доза которого составила 5 мг/кг массы тела (80 кг) (рис. 2, б).

В связи с плохой переносимостью препарата (стойкое повышение артериального давления) в течение 2 нед дозу уменьшили до 0,8 мг/кг с последующей отменой. До настоящего времени больная продолжает постоянно получать метипред в дозе 15 мг/сут (3  $\frac{3}{4}$  таблетки). При прогрессировании и генерализации АП больной периодически назначали высокие дозы метипреда с последующей отменой по схеме лечения заболевания, разработанной на кафедре кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, при появлении единичных пузырьных высыпаний неоднократно получала курсы дипроспана. От приема азатиоприна периодически отказывалась, ссылаясь на плохую переносимость препарата (тошнота, неприятные ощущения в эпигастральной области). За время лечения у больной наблюдались следующие осложнения: синдром Иценко–Кушинга, артериальная гипертензия, разноцветный лишай.

Б о л ь н о й Н. (наблюдение № 5), 60 лет, наблюдается в клинике кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова Первого МГМУ им. И.М. Сеченова с 25.02.11. с диагнозом листовидная пузырчатка. При первом обращении предъявлял жалобы на высыпания, локализующиеся на коже туловища и волосистой части головы, сопровождающиеся болезненностью. Сопутствующие заболевания: ишемическая болезнь сердца (постинфарктный кардиосклероз), гипертоническая болезнь III стадии, 2-й степени, сахарный диабет (инсулинзависимый), хронический гастрит. Болен с августа 2010 г., когда впервые отметил появление эрозии на коже правого бедра. Постепенно высыпания распространились на кожу туловища и верхних конечностей. С 22.11. по 21.12.10 дважды получал лечение в ЦКБ, где диагноз листовидной пузырчатки был подтвержден гистологическим и иммуногистохимическим (прямая РИФ) методами исследования. При госпитализации проводили лечение ремикейдом внутривенно капельно 200 мл

однократно и 300 мл однократно без эффекта, заболевание продолжало прогрессировать. В январе 2011 г. при госпитализации в клинику кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова Первого МГМУ им. И.М. Сеченова получал лечение преднизолоном 80 мг/сут (16 таблеток) с постепенным снижением до 35 мг/сут (7 таблеток). В связи с учащавшимися приступами мерцательной аритмии преднизолон заменили на метипред. Одновременно больному был назначен азатиоприн 150 мг/сут. Лечение проводили на фоне корригирующей терапии с учетом сопутствующей патологии. Наблюдался полный регресс высыпаний. Далее больному получал метипред 28 мг/сут (7 таблеток) с постепенным снижением на  $\frac{1}{2}$  таблетки в неделю до 16 мг/сут и азатиоприн 150 мг/сут с постепенным снижением до 50 мг/сут. Ремиссия после проведенной терапии составила год (рис. 3).

В июле 2012 г. на фоне инсоляции наблюдалось обострение в виде появления высыпаний на коже волосистой части головы, лица (кожа лба), которые были представлены эрозиями до 3 см в диаметре, с ярко-розовым блестящим дном, резкими границами, обрывками эпидермиса по периферии, неправильных очертаний, некоторые из них были покрыты толстыми слоистыми корками, пропитанными серозно-гнояным экссудатом. На момент обострения получал метипред 4 мг/сут и азатиоприн 50 мг/сут, корригирующую терапию. От госпитализации отказался, получал дипроспан 2 мл внутримышечно, 2 инъекции. Ремиссии не наблюдалось. Больной был вновь госпитализирован в клинику кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова (рис. 4, а).

При госпитализации получал преднизолон 40 мг/сут и азатиоприн 150 мг/сут на фоне корригирующей терапии с последующим постепенным снижением СГК до поддерживающей дозы и азатиоприна до 50 мг/сут. Ремиссия длилась 1 год. В мае 2013 г. больной самостоятельно отменил азатиоприн, и в июле 2013 г. на фоне стресса (смерть нескольких родственников) вновь возникло обострение АП (рис. 4, б). На момент обостре-



Рис. 4. Больной Н., 60 лет. Листовидная пузырчатка. Клиническая картина.

*а* – в процессе лечения преднизолоном 40 мг/сут (8 таблеток) и азатиоприном 150 мг/сут; множественные эрозии на коже лба; *б* – клиническая картина на момент обострения – множественные эрозии на коже лица, груди и спины. Лечение: метипред 80 мг/сут (20 таблеток), азатиоприн 150 мг/сут; *в* – ремиссия. Лечение: метипред 20 мг/сут (5 таблеток), азатиоприн 100 мг/сут. Полный регресс высыпаний с исходом в гиперпигментацию. Лечение: метипред 20 таблеток в сутки, азатиоприн 150 мг/сут.

ния больной получал метипред 14 мг/сут и азатиоприн 50 мг/сут, корригирующую терапию. При очередной госпитализации больной получал максимальную дозу метипреда 80 мг/сут и азатиоприн 150 мг/сут, корригирующую терапию. В настоящее время постепенно снизил дозу метипреда по предложенной схеме до 20 мг/сут и азатиоприна до 100 мг/сут (рис. 4, в).

Таким образом, высокие значения ГРβ, который является доминантным ингибитором ГРа и не способен связываться с гормоном, коррелируют с торпидным течением и частыми обострениями АП. Результаты данного исследования указывают на необходимость назначения цитостатиков, в частности азатиоприна, так как у больных, принимавших азатиоприн, получен хороший клинический ответ. Подобным больным следует рекомендовать не только поддерживающую дозу СГК, но и длительный прием азатиоприна, который в отличие от других цитостатиков, например метотрексата, редко провоцирует развитие побочных явлений со стороны форменных элементов крови. Следует отметить, что у обоих больных первые высыпания при обострениях появлялись на волосистой части головы и отличались упорным течением и торпидностью к терапии. Обострения протекали, как правило, бурно, с быстрой генерализацией высыпаний.

Таким образом, клиническое течение АП на фоне поддерживающей терапии СГК у больных при статистически значимой сниженной экспрессии ГРа и высоких значениях ГРβ различно. Сниженная экспрессия ГРа способствует вялому течению АП при отсутствии адъювантной терапии, азатиоприн не

всегда дает положительный эффект. АП у больных с высокими значениями ГРβ при отсутствии адъювантной терапии протекает более агрессивно, и, по нашим наблюдениям, назначение азатиоприна способствует положительной динамике заболевания.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Духанин А.С., Потекаев Н.С., Теплюк Н.П., Кочергин Н.Г., Лепехова А.А., Куприянова А.А. Возможные причины стероидной резистентности при истинной акантолитической пузырчатке и пути ее преодоления. *Врач.* 2013; 2: 68–75.
2. Теплюк Н.П., Духанин А.С., Огурцов С.И., Бельшева Т.С. Влияние преднизолона на обмен вторичных мессенджеров в лимфоцитах больных при истинной акантолитической пузырчатке. В кн.: *Материалы XII Российского национального конгресса "Человек и лекарство". Москва, 18–22 апреля 2005 г.* М.; 2005: 259.
3. Kochergin N.G., Shkrebets S.V., Smirnova L.M. Intravenous cyclosporin A in steroid resistant pemphigus. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol.* 1999; 12(Suppl. 2): S300.
4. Antonucci A., Negosanti M., Tabanelli M., Varotti C. Treatment of refractory pemphigus vulgaris with anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab): five cases. *J. Dermatol. Treat.* 2007; 18(3): 178–83.
5. Dupuy A., Viguier M., Bédane C., Cordoliani F., Blaise S., Aucouturier F., et al. Treatment of refractory pemphigus vulgaris with rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody). *Arch. Dermatol.* 2004; 140(1): 91–6.
6. Goh M.S., McCormack C., Dinh H.V., Welsh B., Foley P., Prince H.M. Rituximab in the adjuvant treatment of pemphigus vulgaris: a prospective open-label pilot study in five patients. *Br. J. Dermatol.* 2007; 156(5): 990–6.
7. Gross K.L., Lu N.Z., Cidlowski J.A. Molecular mechanisms regulating glucocorticoid sensitivity and resistance. *Mol. Cell Endocrinol.* 2009; 300 (1–2): 7–16.
8. Духанин А.С., Ерина Т.А., Булаева Н.Н., Чернов В. М., Станкевич Л. И., Кондратчик К. Л. и др. Взаимодействие глюкокортикоидов с рецепторами лимфобластов костного мозга

- при остром лейкозе. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1993; 2: 164–5.
9. Потекаев Н.С., Теплюк Н.П., Кочергин Н.Г., Духанин А.С., Грабовская О.В., Лепехова А.А. Причины стероидной резистентности и методы их коррекции. В кн.: Тезисы докладов II Московского форума "Синтез науки и практики". М.; 2012: 64–5.
  10. De Bosscher K., Haegeman G., Elewaut D. Targeting inflammation using selective glucocorticoid receptor modulators. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2010; 10(4): 497–504.
  11. Oakley R.H., Sar M., Cidlowski J.A. The human glucocorticoid receptor beta isoform. Expression, biochemical properties, and putative function. *J. Biol. Chem.* 1996; 271(16): 9550–9.
  12. Li L.B., Leung D.Y., Hall C.F., Goleva E. Divergent expression and function of glucocorticoid receptor beta in human monocytes and T cells. *J. Leukoc. Biol.* 2006; 79(4): 818–27.
  13. Lewis-Tuffin L.J., Jewell C.M., Bienstock R.J., Collins J.B., Cidlowski J.A. Human glucocorticoid receptor b binds RU-486 and is transcriptionally active. *Mol. Cell. Biol.* 2007; 27(6): 2266–82.
  14. Kino Y., Washizu C., Oma Y., Onishi H., Nezu Y., Sasagawa N., et al. MBNL and CELF proteins regulate alternative splicing of the skeletal muscle chloride channel CLCN1. *Nucl. Acids Res.* 2009; 37(19): 6477–90.
  15. Cobra J.F., Melo M.R., Faria C.C., Longui C.A., Monte O. Simultaneous evaluation of in vivo glucocorticoid sensitivity and expression of glucocorticoid receptor alpha-isoform in rheumatoid arthritis patients. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 2009; 53(1): 24–30.
  16. Ayroldi E., Riccardi C. Glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ): a new important mediator of glucocorticoid action. *FASEB J.* 2009; 23(11): 3649–58.
  17. Perretti M., D'Acquisto F. Annexin A1 and glucocorticoids as effectors of the resolution of inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* 2009; 9(1): 62–70.
  18. Ozaki T., Yasuoka S., Nakayama T., Tsubura E. Glucocorticoid receptors, in human alveolar macrophages and peripheral blood cells. *Clin. Exp. Immunol.* 1982; 47(2): 505–11.
  19. Grijalva C.G., Chen L., Delzell E., Baddley J.W., Beukelman T., Winthrop K.L., et al. Initiation of tumor necrosis factor- $\alpha$  antagonists and the risk of hospitalization for infection in patients with autoimmune diseases. *JAMA.* 2011; 306(21): 2331–9.
  20. Surjit M., Ganti K.P., Mukherji A., Ye T., Hua G., Metzger D., et al. Widespread negative response elements mediate direct repression by agonist-liganded glucocorticoid receptor. *Cell.* 2011; 145(2): 224–41. doi: 10.1016/j.cell.2011.03.027.
  21. Lippman M.E., Allegra J.C., Thompson E.B., Simon R., Barlock A., Green L., et al. The relation between estrogen receptors and response rate to cytotoxic chemotherapy in metastatic breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 1978; 298(22): 1223–8.
  22. Потекаев Н.С., Теплюк Н.П., Заборова В.А., Кабаева Т.И., Ситникова Е.В. Терапия истинной пузырчатки. *Клиническая дерматология и венерология*. 2004; 4: 11–4.
  23. Потекаев Н.С., Теплюк Н.П., Сергеев Ю.В., Ястребова Р.И., Шкробет С.В., Паничкина Г.С. и др. Схема снижения низких доз кортикостероидных гормонов при истинной пузырчатке. *Клиническая дерматология и венерология*. 2003; 3: 36–40.
  24. Теплюк Н.П., Теплюк Д.А., Шарафетдинов Х.Х. Современные подходы к комплексной терапии истинной акантолитической пузырчатки. *Клиническая дерматология и венерология*. 2011; 4: 37–41.
  4. Antonucci A., Negosanti M., Tabanelli M., Varotti C. Treatment of refractory pemphigus vulgaris with anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab): five cases. *J. Dermatol. Treat.* 2007; 18(3): 178–83.
  5. Dupuy A., Viguier M., Bédane C., Cordoliani F., Blaise S., Aucouturier F., et al. Treatment of refractory pemphigus vulgaris with rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody). *Arch. Dermatol.* 2004; 140(1): 91–6.
  6. Goh M.S., McCormack C., Dinh H.V., Welsh B., Foley P., Prince H.M. Rituximab in the adjuvant treatment of pemphigus vulgaris: a prospective open-label pilot study in five patients. *Br. J. Dermatol.* 2007; 156(5): 990–6.
  7. Gross K.L., Lu N.Z., Cidlowski J.A. Molecular mechanisms regulating glucocorticoid sensitivity and resistance. *Mol. Cell Endocrinol.* 2009; 300 (1–2): 7–16.
  8. Dukhanin A.C., Erina T.A., Bulaeva N.N., Chernov V.M., Stankevich L.I., Kondratchik K.L., et al. Interaction of glucocorticoids with lymphoblasts receptors of marrow at acute leucosis. *Byullyuten eksperimentalnoy biologii i meditsiny*. 1993; 2: 164–5. (in Russian)
  9. Potekaev N.S., Teplyuk N.P., Kochergin N.G., Dukhanin A.C., Grabovskaya O.V., Lepekhova A.A. Reasons of steroid resistance and methods of their correction. In: *Abstracts II Moscow forum "Synthesis of science and practice" (Tezisy докладov II Moskovskogo foruma "Sintez nauki i praktiki")*. Moscow; 2012: 64–5. (in Russian)
  10. De Bosscher K., Haegeman G., Elewaut D. Targeting inflammation using selective glucocorticoid receptor modulators. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2010; 10(4): 497–504.
  11. Oakley R.H., Sar M., Cidlowski J.A. The human glucocorticoid receptor beta isoform. Expression, biochemical properties, and putative function. *J. Biol. Chem.* 1996; 271(16): 9550–9.
  12. Li L.B., Leung D.Y., Hall C.F., Goleva E. Divergent expression and function of glucocorticoid receptor beta in human monocytes and T cells. *J. Leukoc. Biol.* 2006; 79(4): 818–27.
  13. Lewis-Tuffin L.J., Jewell C.M., Bienstock R.J., Collins J.B., Cidlowski J.A. Human glucocorticoid receptor b binds RU-486 and is transcriptionally active. *Mol. Cell. Biol.* 2007; 27(6): 2266–82.
  14. Kino Y., Washizu C., Oma Y., Onishi H., Nezu Y., Sasagawa N., et al. MBNL and CELF proteins regulate alternative splicing of the skeletal muscle chloride channel CLCN1. *Nucl. Acids Res.* 2009; 37(19): 6477–90.
  15. Cobra J.F., Melo M.R., Faria C.C., Longui C.A., Monte O. Simultaneous evaluation of in vivo glucocorticoid sensitivity and expression of glucocorticoid receptor alpha-isoform in rheumatoid arthritis patients. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 2009; 53(1): 24–30.
  16. Ayroldi E., Riccardi C. Glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ): a new important mediator of glucocorticoid action. *FASEB J.* 2009; 23(11): 3649–58.
  17. Perretti M., D'Acquisto F. Annexin A1 and glucocorticoids as effectors of the resolution of inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* 2009; 9(1): 62–70.
  18. Ozaki T., Yasuoka S., Nakayama T., Tsubura E. Glucocorticoid receptors, in human alveolar macrophages and peripheral blood cells. *Clin. Exp. Immunol.* 1982; 47(2): 505–11.
  19. Grijalva C.G., Chen L., Delzell E., Baddley J.W., Beukelman T., Winthrop K.L., et al. Initiation of tumor necrosis factor- $\alpha$  antagonists and the risk of hospitalization for infection in patients with autoimmune diseases. *JAMA.* 2011; 306(21): 2331–9.
  20. Surjit M., Ganti K.P., Mukherji A., Ye T., Hua G., Metzger D., et al. Widespread negative response elements mediate direct repression by agonist-liganded glucocorticoid receptor. *Cell.* 2011; 145(2): 224–41. doi: 10.1016/j.cell.2011.03.027.
  21. Lippman M.E., Allegra J.C., Thompson E.B., Simon R., Barlock A., Green L., et al. The relation between estrogen receptors and response rate to cytotoxic chemotherapy in metastatic breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 1978; 298(22): 1223–8.
  22. Потекаев Н.С., Теплюк Н.П., Заборова В.А., Кабаева Т.И., Ситникова Е.В. Терапия истинной пузырчатки. *Клиническая дерматология и венерология*. 2004; 4: 11–4.
  23. Потекаев Н.С., Теплюк Н.П., Сергеев Ю.В., Ястребова Р.И., Шкробет С.В., Паничкина Г.С. и др. Схема снижения низких доз кортикостероидных гормонов при истинной пузырчатке. *Клиническая дерматология и венерология*. 2003; 3: 36–40.
  24. Теплюк Н.П., Теплюк Д.А., Шарафетдинов Х.Х. Современные подходы к комплексной терапии истинной акантолитической пузырчатки. *Клиническая дерматология и венерология*. 2011; 4: 37–41.

Поступила 01.04.14

## REFERENCES

1. Dukhanin A.S., Potekaev N.S., Teplyuk N.P., Kochergin N.G., Lepekhova A.A., Kupriyanova A.A. The possible reasons of steroid resistance at pemphigus vulgaris and a way of it overcoming. *Vrach.* 2013; 2: 68–75. (in Russian)
2. Teplyuk N.P., Dukhanin A.S., Ogurtsov S.I., Belysheva T.S. Effect of prednisolone on the exchange of second messengers in lymphocytes of patients with pemphigus vulgaris. In: *Materials XII Russian national congress "Person and medicine" (Materialy XII Rossiyskogo natsionalnogo kongressa "Chelovek i lekarstvo")*. Moscow, 18–22 April 2005. Moscow; 2005: 259. (in Russian)
3. Kochergin N.G., Shkrubets S.V., Smirnova L.M. Intravenous cyclosporin A in steroid resistant pemphigus. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol.* 1999; 12(Suppl. 2): S300.
4. Antonucci A., Negosanti M., Tabanelli M., Varotti C. Treatment of refractory pemphigus vulgaris with anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab): five cases. *J. Dermatol. Treat.* 2007; 18(3): 178–83.
5. Dupuy A., Viguier M., Bédane C., Cordoliani F., Blaise S., Aucouturier F., et al. Treatment of refractory pemphigus vulgaris with rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody). *Arch. Dermatol.* 2004; 140(1): 91–6.
6. Goh M.S., McCormack C., Dinh H.V., Welsh B., Foley P., Prince H.M. Rituximab in the adjuvant treatment of pemphigus vulgaris: a prospective open-label pilot study in five patients. *Br. J. Dermatol.* 2007; 156(5): 990–6.
7. Gross K.L., Lu N.Z., Cidlowski J.A. Molecular mechanisms regulating glucocorticoid sensitivity and resistance. *Mol. Cell Endocrinol.* 2009; 300 (1–2): 7–16.
8. Dukhanin A.C., Erina T.A., Bulaeva N.N., Chernov V.M., Stankevich L.I., Kondratchik K.L., et al. Interaction of glucocorticoids with lymphoblasts receptors of marrow at acute leucosis. *Byullyuten eksperimentalnoy biologii i meditsiny*. 1993; 2: 164–5. (in Russian)
9. Potekaev N.S., Teplyuk N.P., Sergeev Yu.V., Yastrebova R.I., Shkrubets S.V., Panichkina G.C. et al. The scheme of decrease in low doses of the glucocorticoid hormones at pemphigus vulgaris. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya*. 2003; 3: 36–40. (in Russian)
24. Teplyuk N.P., Teplyuk D.A., Sharafetdinov H.H. Modern approaches to complex therapy of pemphigus vulgaris. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya*. 2011; 4: 37–41. (in Russian)

Received 01.04.14