

Заславский Д.В.¹, Сыдилов А.А.², Гарюткина Л.В.¹, Садыков А.И.³, Чупров И.Н.⁴,
Козлова Д.В.¹

Новые аспекты патогенеза ограниченной склеродермии: практическое обоснование

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия;

²Ташкентский государственный стоматологический институт, г. Ташкент, Республика Узбекистан;

³ООО «Клиника XXI век», г. Санкт-Петербург, Россия;

⁴ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия

АКТУАЛЬНОСТЬ. В последнее время отмечается рост числа больных склеродермией.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ – практическое обоснование иммунопатогенеза ограниченной склеродермии (ОС).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. За период с 2010 по 2019 г. на базе Ленинградского областного Центра специализированных видов медицинской помощи (ЛеноблЦентр) проведено проспективное исследование среди пациентов ($n = 77$) с клиническими проявлениями ОС. На основании гистологического исследования диагноз ОС был верифицирован у 40 из них. Пациенты с ОС ($n = 40$) составили I-ю группу исследования и были разделены на две подгруппы на основании срока давности появления первых симптомов заболевания: у пациентов I подгруппы ($n = 20$) заболевание манифестировало не позднее чем за 1,7 мес до обращения в клинику; во II подгруппу вошли больные ($n = 20$) со сроком давности заболевания 1,5 года. Пациентам обеих подгрупп ($n = 40$) проведено также иммуногистохимическое (IL-2, IL-4, CD4, CD8, виментин, TLR7) и иммунологическое исследование крови с определением аутоантител. С целью улучшения дифференциальной диагностики ОС мы провели сравнительную оценку клинических проявлений и гистологических признаков у больных ОС ($n = 40$) и пациентов с клинически схожими дерматозами ($n = 37$): кольцевидной гранулёмой ($n = 12$, из них 7 женщин и 5 мужчин, средний возраст 44 ± 12 лет), мелкобляшечным ($n = 15$, из них 6 женщин и 9 мужчин, средний возраст 42 ± 4 года) и крупнобляшечным ($n = 10$, из них 5 женщин и 5 мужчин, средний возраст 59 ± 8 лет) параспориозом. По результатам гистологического исследования, у пациентов со сроком манифестации ОС 1,7 мес от начала заболевания преобладали воспалительные изменения, в то время как у пациентов с длительным сроком (1,5 года) – фиброзные.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Экспрессия CD4, CD8, IL-2, TLR7 была более выраженной в тканях пациентов I подгруппы, тогда как у пациентов II подгруппы преобладала экспрессия IL-4, CD4, виментина. У всех пациентов с локализованной склеродермией аутоантитела в крови не определялись. Полученные результаты позволяют разделить патогенез ОС на две фазы – воспалительную и фиброзную. Дисрегуляция иммунитета и фиброз протекают параллельно, однако в зависимости от фазы преобладает тот или иной процесс.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. В перспективе детальное понимание патогенеза ОС поможет улучшить диагностический и терапевтический алгоритмы, снизить частоту рецидивов и осложнений заболевания.

Ключевые слова: ограниченная склеродермия; морфеа; иммунопатогенез, иммуногистохимическое исследование.

Для цитирования: Заславский Д.В., Сыдилов А.А., Гарюткина Л.В., Садыков А.И., Чупров И.Н., Козлова Д.В. Новые аспекты патогенеза ограниченной склеродермии: практическое обоснование // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. 2020;23(4):227-37. DOI: <https://doi.org/10.17816/dv48907>

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 07.09.2020

Принята к печати 12.10.2020

Для корреспонденции:

Заславский Денис Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры дерматовенерологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский ГПМУ» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: venerology@gmail.com

For correspondence:

Denis V. Zaslavsky, MD, PhD, DSc, Professor dermatovenereology department, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation. E-mail: venerology@gmail.com

Information about the authors:

Zaslavsky D.V., <https://orcid.org/0000-0001-5936-6232>; Sidikov A.A., <https://orcid.org/0000-0002-0909-7588>;

Chuprov I.N., <https://orcid.org/0000-0000-4988-2014>

Zaslavsky D.V.¹, Sidikov A.A.², Garyutkina L.V.¹, Sadykov A.I.³, Chuprov I.N.⁴, Kozlova D.V.¹

New aspects of localized scleroderma pathogenesis: practical basis

¹St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;

²Tashkent State Dental Institute, Tashkent, Uzbekistan;

³LCC "Medical clinic XXI century", St. Petersburg, Russian Federation;

⁴North-Western State Medical University na II Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation

BACKGROUND: Recently there has been an increase in the number of patients with scleroderma.

AIM: This study aimed to investigate the pathogenesis and course and present the immunopathogenesis of localized scleroderma (LS) or morphea.

MATERIALS AND METHODS: From 2010 to 2019, a prospective study of 77 patients with LS was conducted on the basis of the Leningrad regional center for specialized types of medical care. Based on histological examination, LS diagnosis was verified in 40 of 77 patients. Patients with LS ($n = 40$) were included in the first research group and were then divided into two subgroups based on the limitation period for the first symptoms of the disease: in subgroup I ($n = 20$), the disease manifested no later than 1.7 months before clinic visit; in subgroup II ($n = 20$), the limitation period was 1.5 years.

RESULTS: Patients of both subgroups ($n = 40$) underwent immunohistochemical (IL-2, IL-4, CD4, CD8, vimentin, Toll-like receptor – TLR7) tissue analysis and immunological blood tests to determine autoantibodies. To improve the differential diagnosis of LS, a comparative assessment of clinical manifestations and histological signs was performed in patients with LS ($n = 40$) and patients with clinically similar dermatoses ($n = 37$): annular granuloma ($n = 12$, 7 women and 5 men, average age 44 ± 12 years), small plaque ($n = 15$, 6 women and 9 men, average age 42 ± 4 years), and large plaque ($n = 10$, 5 women and 5 men, average age 59 ± 8 years) parapsoriasis. According to the results of the histological examination, inflammatory changes are dominant in patients with LS manifestation period of 1.7 months from the onset of the disease, while fibrotic changes are apparent in patients with a manifestation period of 1.5 years. The expressions of CD4, CD8, IL-2, and TLR7 were more pronounced in subgroup 1, while those of IL-4, CD4, and vimentin were high in subgroup 2. No autoantibodies were detected in the blood of patients with LS. The results allow us to divide the pathogenesis of LS into two phases: inflammatory and fibrotic. Immune dysregulation and fibrosis occur simultaneously, but with phase dependant predominance.

CONCLUSIONS: In the future, a detailed understanding of the pathogenesis of LS will help improve diagnostic and therapeutic algorithms and reduce the frequency of relapse and complications.

Key words: localized scleroderma; Morphea; immunopathogenesis; immunohistochemical assay.

For citation: Zaslavsky DV, Sidikov AA, Garyutkina LV, Sadykov AI, Chuprov IN, Kozlova DV. New aspects of localized scleroderma pathogenesis: practical basis. *Russian Journal of Skin and Venereal Diseases*. 2020;23(4):227-37. (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.17816/dv48907>

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 07 Sept 2020

Accepted 12 Oct 2020

Актуальность

Ограниченная склеродермия (ОС), или морфеа, – хроническое заболевание соединительной ткани, клинически характеризуемое появлением на различных участках тела воспалительных очагов, в дальнейшем переходящих в фиброзные. ОС манифестирует преимущественно у пациентов молодого возраста с гендерным преобладанием женщин, а его общая инцидентность достигает 0,26% [1, 2]. В последнее время отмечается рост числа больных склеродермией. Заболевание встречается во всех возрастных группах (начиная с 1–2 лет жизни до пожилого возраста). За рубежом средняя годовая заболеваемость составляет 27 случаев на 1 млн населения. Самая высокая заболеваемость среди подростков отмечена в Великобритании и Ирландии – 34 случая на 1 млн населения. Половое соотношение среди пациентов составляет 2,6–6:1 с преобладанием женского населения [3]. Общемировая средняя продолжительность заболевания – 2,5 года, однако у пациентов нашего исследования она составила 1,5 года [4].

Этиология ОС до конца не изучена, однако результаты ранее проведенных исследований указывают

на генетически опосредованный аутоиммунный механизм патогенеза, характеризующийся снижением иммунологической толерантности, на что указывают семейный анамнез; наличие у родственников аутоиммунных заболеваний, связанных с патологиями системы тканевой совместимости человека (human leukocyte antigens, HLA); наличие провоспалительных хемокинов и цитокинов в тканях, а также циркулирующих аутоантител в крови [5, 6].

Классификации ОС отличаются разнообразием: в нашем исследовании использована градация по основным (ограниченной, линейной, распространённой, пансклеротической и смешанной) клиническим формам заболевания в зависимости от глубины и распространения очагов поражения [7, 8]. При распространении склероза вглубь наиболее часто поражаются мышцы, нервные окончания и волокна, реже – сухожилия и костные структуры [9, 10]. При прогрессировании ОС в системный вариант пациенты отмечают появление артралгий, миалгий; могут развиваться мышечная атрофия, суставные контрактуры, приводящие к инвалидизации.

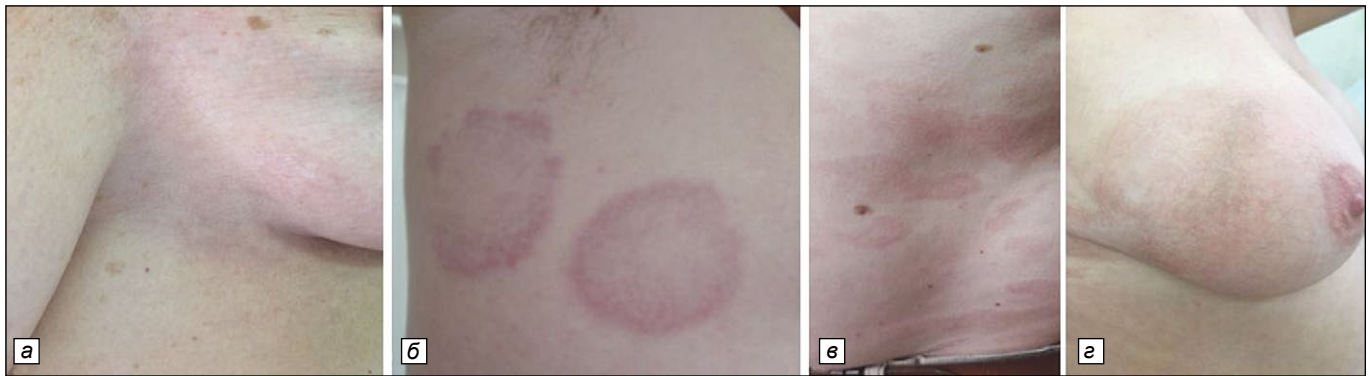


Рис. 1. Клинические формы ограниченной склеродермии и схожих с ней дерматозов.

а – ограниченная склеродермия у пациента 1-й группы: высыпания представлены эритематозными пятнами с лиловым оттенком, неправильной формы, в центре очага окраска элемента несколько светлее, чем в краевой области; *б* – кольцевидная гранулёма у пациента 2-й группы: высыпания представлены эритематозными пятнами с лиловым венчиком по периферии; *в* – мелкобляшечный параспориоз у пациента 3-й группы: высыпания представлены эритематозными пятнами различной формы, с чёткими границами, диаметром 5–10 см; отмечается более интенсивное окрашивание периферической части очагов поражения; *г* – крупнобляшечный параспориоз у пациента 4-й группы: высыпания представлены эритематозными пятнами на коже туловища и молочных желёз.

Ранняя диагностика ОС довольно сложна, поскольку в дебюте дерматоз проявляется единичными или множественными эритематозными пятнами, напоминающими воспалительные или лимфопролиферативные заболевания, в число которых входят кольцевидная гранулёма, мелкобляшечный и крупнобляшечный параспориоз. Учитывая незначительную специфичность ранних клинических проявлений заболевания, целесообразно применение новых и наиболее информативных методов диагностики. На сегодняшний день одним из диагностических мероприятий при ОС остаётся определение циркулирующих аутоантител в крови пациентов, хотя исследование не является специфичным и не ведёт к постановке диагноза.

Цель исследования – дальнейшее изучение иммунопатогенеза и клинической картины заболевания. вследствие недостатка информации о заболевании как среди врачей, так и среди пациентов.

Материалы и методы

С 2010 по 2019 г. на базе Ленинградского областного Центра специализированных видов медицинской помощи (далее ЛеноблЦентр) были обследованы 77 пациентов с клиническими проявлениями ОС. Диагноз всем пациентам ($n = 77$) был выставлен на основании сбора анамнеза, объективного осмотра, а также верифицирован с помощью гистологического исследования кожи. В первую исследовательскую группу вошли 40 пациентов, у которых была подтверждена ОС. Остальные 37 участников исследования сформировали группы сравнения с целью улучшения дифференциальной диагностики ОС: пациенты с кольцевидной гранулёмой ($n = 12$; 2-я группа), крупнобляшечным параспориозом ($n = 10$; 3-я группа), мелкобляшечным параспориозом ($n = 15$; 4-я группа).

В 1-ю группу исследования вошли 40 пациентов с ОС. Диагноз ОС был установлен пациентам на основании клинической картины (эритематозные пятна округлой формы с чёткими границами, размером от 2 до 10 см в диаметре, красно-коричневого цвета с лиловым оттенком по периферии или с фиброзными изменениями в центре, с преимущественной локализацией на туловище (рис. 1, *а*). Данные объективного осмотра были сопоставлены с результатами гистологического исследования с целью верификации диагноза, а также с клинической картиной у пациентов с кольцевидной гранулёмой, крупнобляшечным и мелкобляшечным параспориозом. В дальнейшем всем пациентам с ОС ($n = 40$) было проведено иммуногистохимическое исследование. Для проведения иммуногистохимического исследования биоптатов пациенты 1-й группы были разделены на две подгруппы на основании срока давности первичной манифестации клинических симптомов ОС: I подгруппу составили 18 женщин и 2 мужчин, средний возраст 26 ± 5 лет, срок появления первых клинических симптомов – 1,7 мес; II подгруппу – 17 женщин и 3 мужчин, средний возраст 29 ± 6 лет, высыпания у которых с учётом рецидивов существовали в среднем 1,5 года. Иммуногистохимическое исследование было выполнено на парафине с применением антител к CD4, CD8, TLR7, виментину, IL-2, IL-4 (табл. 1). У всех пациентов с ОС ($n = 40$) был проведён анализ венозной крови для определения спектра специфичных аутоантител – ANA (антиядерные антитела, IgG), Ss-DNA (к одноцепочечной ДНК), SS-B (к цитоплазматическому антигену), Sm (к ядерным антигенам), антигистоны, центромера B, RP11, RP155 (антитела к РНК-полимеразам), Dc-DNA (антитело к двухцепочечной ДНК), центромера A, Scl-70 (anti-topoisomerase I), anti-Th/T0, anti-RNase 3 (к двухцепочечной РНК), Jo-1 (антитела к гистидин-тРНК-синтетазе).

Результаты иммуногистохимического исследования у пациентов с ограниченной склеродермией

Локализованная склеродермия, группа	Антитело					
	CD4	CD8	Vimentin	IL-2	IL-4	TLR7
	клон*:					
	AF-379-SP	MAV1509	MAV3440-SP	202-IL-010	204-IL-010	4536/10 resiquimod
<i>Изменения в эпидермисе</i>						
I подгруппа	14/20 (+++) 6/20 (++)	20/20 (+++)	0/20 (–)	15/20 (++) 5/20 (++)	0/20 (–)	12/20 (++) 8/20 (++)
II подгруппа	0/20 (–)	0/20 (–)	0/20 (–)	12/20 (+) 8/20 (–)	10/20 (+) 10/20 (–)	9/20 (+)
<i>Изменения в дерме</i>						
I подгруппа	20/20 (+++)	20/20 (+++)	0/20 (–)	20/20 (+++)	0/20 (–)	15/20 (+++) 5/20 (++)
II подгруппа	20/20 (+++)	13/20 (++)	16/20 (+++) 4/20 (++)	14/20 (+) 6/20 (–)	10/20 (+) 10/20 (–)	5/20 (+)

Примечание. Оценку экспрессии маркеров проводили полуколичественным методом с подсчётом числа клеток в четырёх полях зрения при ув. 400. Экспрессию исследуемого маркера расценивали как слабую (+) при наличии окрашенных гранул в 1–50 клетках; умеренную (++) – в 51–100 клетках; резко выраженную (+++) – в 101 и более клетках. * – все клоны производства R&D systems (McKinley Place NE, США).

Во 2-ю анализируемую группу включили 12 пациентов (7 женщин и 5 мужчин), средний возраст которых составил 44 ± 12 лет, с диагнозом кольцевидной гранулёмы, установленным на основании клинической картины (единичные эритематозные пятна или бляшки тёмно-красного цвета, иногда с лиловым оттенком, более интенсивным по периферии элемента, до 5 см в диаметре, преимущественно округлой формы, с чёткими границами, локализацией преимущественно в области верхних конечностей; **рис. 1, б**). Всем пациентам 2-й группы ($n = 12$) было проведено патоморфологическое исследование кожи с целью верификации диагноза и детального сравнения результатов с гистологическими признаками пациентов 1-й исследовательской группы ($n = 40$).

В 3-ю группу вошли 15 пациентов (6 женщин, 9 мужчин), средний возраст которых составил 42 ± 4 года, с диагнозом мелкобляшечного параспориоза, установленным на основании клинической картины (симметрично расположенные бледные пятна желтовато-розового цвета, преимущественно полосовидной формы, с заострёнными концами, шириной до 6 см, без тенденции к слиянию; **рис. 1, в**).

В 4-ю группу включили 10 пациентов (5 женщин и 5 мужчин), средний возраст которых составил 59 ± 8 лет, с диагнозом крупнобляшечного параспориоза, установленного на основании клинической картины (распространённые эритематозные пятна красно-коричневого цвета с синюшным оттенком, неправильной формы, диаметром до 15 см, с преимущественной локализацией в области туловища; **рис. 1, г**), а также данных анамнеза заболевания (первые зарегистрированные клинические признаки,

положительный клинический ответ на применение топических стероидов).

У пациентов всех групп проанализировано наличие коморбидных заболеваний и вредных привычек (**табл. 2**). Всем участникам исследования ($n = 77$) врачом-дерматовенерологом проведены сбор анамнеза, объективный осмотр и диагностическая инцизионная биопсия кожи из очага поражения.

У всех пациентов биопсийный материал взят из периферической части очагов поражения с последующей фиксацией в 40% растворе формалина сроком на 24 ч, затем срезы толщиной 4–5 мкм, сделанные из парафиновых блоков, окрашивали гематоксилином и эозином. Анализ результатов гистологического исследования проводили на кафедре патологической анатомии с курсом судебной медицины Санкт-Петербургского ГПМУ.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета IBMSPSS 23, используя непараметрический тест Манна–Уитни. Различия между группами принимали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Ранние клинические проявления у всех пациентов, принимавших участие в исследовании ($n = 77$), были малоспецифичны и схожи. Так, высыпания на коже характеризовались преимущественно единичными или множественными эритематозными пятнами, красно-коричневого цвета, иногда с лиловым оттенком, размерами от 2 до 15 см в диаметре. Отличительным клиническим признаком, вызывающим трудности при дифференциальном диагнозе, было

Таблица 2

Исходные характеристики пациентов анализируемых групп

Характеристика	1-я группа, $n = 40$		2-я группа, $n = 12$		3-я группа, $n = 15$		4-я группа, $n = 10$	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Возраст, лет ($M \pm \sigma$)	28 ± 7		44 ± 12		42 ± 4		59 ± 8	
Пол:								
женщины	35	87,5	7	58	6	40	5	50
мужчины	5	12,5	5	42	9	60	5	50
Курение:								
> 1 пачки в день	3	7,5	1	8,3	2	13	3	30
< 1 пачки в день	6	15	3	25	2	13	2	20
нерегулярное курение	1	2,5	2	16,7	3	20	1	10
не курят	30	75	6	50	8	54	4	40
Масса тела (индекс):								
нормальная (18,5–25)	24	60	8	67	10	67	5	50
повышенная (25–30)	12	30	3	25	4	27	3	30
ожирение (более 30)	4	10	1	8	3	20	6	60
Получают регулярную медикаментозную терапию	2	5	1	8	3	20	6	60
Сопутствующие заболевания:								
сердечно-сосудистые	2	5	4	33	3	20	4	40
сахарный диабет	3	7,5	0	0	1	6	3	30
болезни печени	1	2,5	0	0	1	6	1	10
болезни почек	1	2,5	1	8	0	0	0	0
вирус иммунодефицита человека	0	0	0	0	0	0	0	0
другие аутоиммунные заболевания	1	2,5	1	8	0	0	0	0

более интенсивное окрашивание очагов поражения по периферии, подобное так называемому венчику гиперемии, характерному для ОС (табл. 3).

При анализе 77 гистологических препаратов пациентов с ОС ($n = 40$), кольцевидной гранулёмой ($n = 12$), мелкобляшечным ($n = 15$) и крупнобляшечным ($n = 10$) парапсориазом нами было выделено два гистологических паттерна воспаления – поверхностный и глубокий периваскулярный дерматит и

склерозирующий/фиброзирующий дерматит. Первый определялся у пациентов 3-й (мелкобляшечный парапсориаз) и 4-й (крупнобляшечный парапсориаз) групп. У пациентов 1-й группы с ОС и 2-й группы с кольцевидной гранулёмой во всех гистологических препаратах ($n = 52$) определялся второй гистологический паттерн – склерозирующий/фиброзирующий дерматит, поэтому гистологические препараты пациентов этих групп были проанализированы более

Таблица 3

Клинические характеристики пациентов анализируемых групп

Анамнез заболевания и клинический симптом	Ограниченная склеродермия, $n = 40$		Кольцевидная гранулёма, $n = 12$		Крупнобляшечный парапсориаз, $n = 10$		Мелкобляшечный парапсориаз, $n = 15$	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Генетическая предрасположенность	40	100	12	100	0	0	0	0
Ранние эпизоды	7	17,5	4	33	0	0	3	20
Зуд кожи	3	7,5	0	0	10	100	3	20
Наличие волосяных фолликулов в очаге поражения	15	37,5	12	100	10	100	15	100
Уплотнение кожи	22	55	4	33	0	0	0	0
Шелушение кожи	0	0	0	0	4	40	2	13,3
Пигментация кожи	0	0	0	0	10	100	6	40
Прогрессирование заболевания вне зависимости от терапии	13	32,5	0	0	3	30	2	13,3
Повышение температуры тела	0	0	0	0	1	10	0	0
Локализация высыпаний:								
туловище	36	90	0	0	10	100	15	100
верхняя конечность	4	10	8	67	0	0	1	6,7
нижняя конечность	0	0	4	33	0	0	1	6,7

Гистопатологические признаки у пациентов с ограниченной склеродермией и кольцевидной гранулёмой

Гистологический признак	Ограниченная склеродермия, $n = 40$		Кольцевидная гранулёма, $n = 12$	
	абс.	%	абс.	%
<i>Изменения в эпидермисе</i>				
Атрофия	5	12,5	0	0
Гипоплазия	8	20	0	0
Сглаженность дермо-эпидермального сочленения	21	52,5	0	0
<i>Изменения в дерме</i>				
Экстравазаты эритроцитов в дерме	5	12,5	0	0
Расширенные сосуды в сосочковом слое дермы	25	62,5	0	0
Фибриноидная дегенерация	5	12,5	0	0
Гомогенизация коллагена в сосочковой дерме	15	37,5	0	0
Утолщенные волокна коллагена в сосочковом и сетчатом слоях дермы	25	62,5	11	91,6
Отложение муцина	0	0	5	41
Склероз сосочкового слоя	5	12,5	0	0
Септальный фиброз или склероз	1	2,5	0	0
Диффузный интерстициальный инфильтрат:	40	25	12	100
из лимфоцитов	40 (> 100 кл. в п/зр.)	100	12 (> 100 кл. в п/зр.)	100
из гистиоцитов	40 (25–50 кл. в п/зр.)	100	12 (> 100 кл. в п/зр.)	100
из эозинофилов	2 (до 25 кл. в п/зр.)	5	0	0
из меланофагов	10 (до 25 кл. в п/зр.)	25	0	0
из плазмочитов	40 (50–100 кл. в п/зр.)	100	0	0
Отсутствие придатков	16	40	0	0
Гипоплазия эккринных и апокриновых желёз	18	45	0	0
Гиперпигментация	35	87,5	0	0

детально: изменения в эпидермисе, выявленные у всех пациентов, носили неспецифический характер и были представлены сглаженностью дермо-эпидермального сочленения в 21 (52,5%) из 40 случаев, атрофией у 5/40 (12,5%) и гипоплазией у 8/40 (20%). В сетчатом слое дермы у большинства пациентов был обнаружен периваскулярный и интерстициальный инфильтрат из лимфоцитов с примесью плазмочитов и фибробластов. В сосочковом слое дермы

у 2/40 (5%) пациентов обнаружены эозинофилы, у 10/40 (25%) (препараты пациентов с длительным течением заболевания) – меланофаги. Наблюдалось утолщение коллагеновых волокон у 25/40 (62,5%) и их гомогенизация у 15/40 (37,5%) пациентов. Придатки кожи отсутствовали в 16/40 (40%) случаях ОС. Кроме того, в 18/40 (45%) случаях отмечалась гипоплазия эккринных и апокриновых потовых желёз (табл. 4; рис. 2, а).

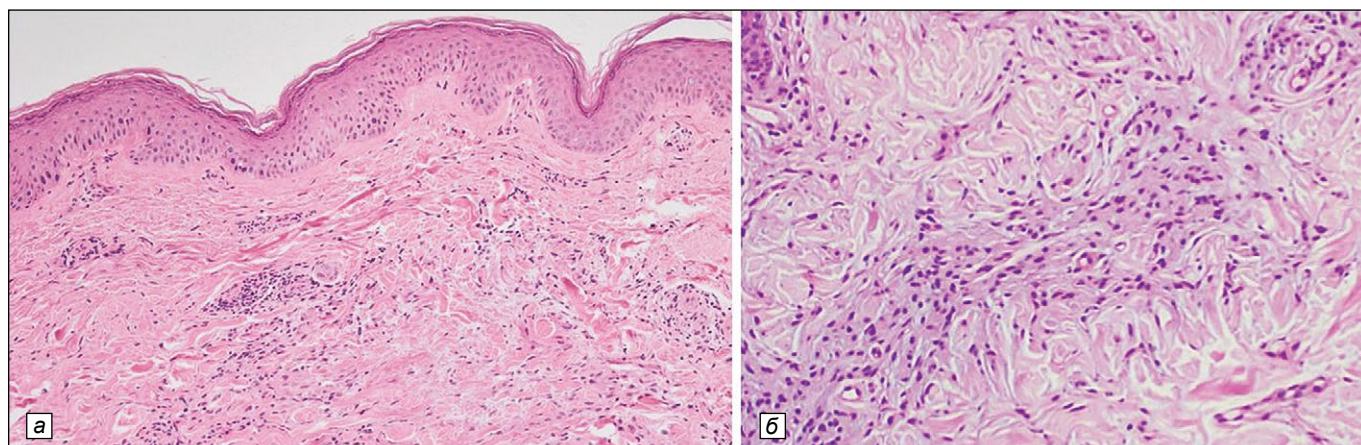


Рис. 2. Гистологическая картина пациентов с ограниченной склеродермией (а) и кольцевидной гранулёмой (б).

а – ограниченная склеродермия: в гистологическом препарате отмечаются сглаженность дермо-эпидермального сочленения, гомогенизация коллагеновых волокон в сосочковой дерме, диффузный и периваскулярный лимфогистиоцитарный инфильтрат с примесью плазмочитов в ретикулярной дерме. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 200; б – кольцевидная гранулёма: на микрофотографии гистологические изменения в ретикулярной дерме представлены утолщёнными коллагеновыми волокнами, скудным лимфогистиоцитарным инфильтратом; изменения в эпидермисе отсутствуют. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 400.

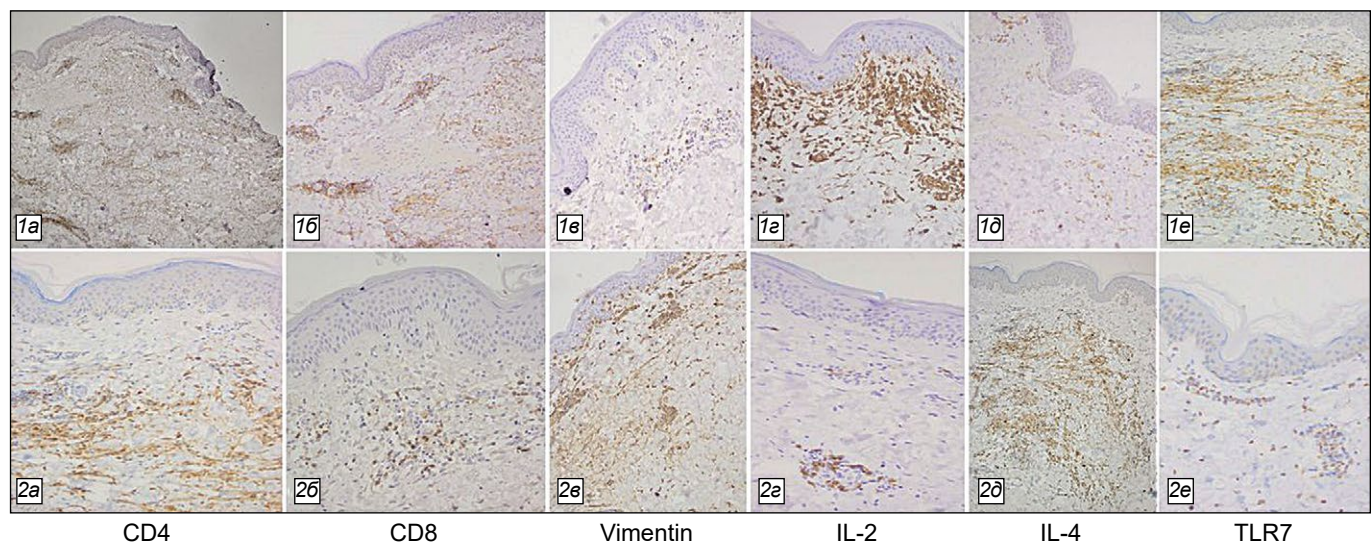


Рис. 3. Иммуногистохимическое исследование у пациентов с ограниченной склеродермией I и II подгрупп.

1а, 2а – резко выраженная положительная реакция в дерме пациентов I и II подгрупп. Иммуногистохимическая реакция с использованием антител к CD4⁺-лимфоцитам. Окрашивание ядерное. 1а – ув. 40, 2а – ув. 100; 1б – резко выраженная положительная реакция в дерме пациентов I подгруппы; 2б – умеренно выраженная положительная реакция в дерме пациентов II подгруппы. Иммуногистохимическая реакция с использованием антител к CD8⁺-лимфоцитам. Окрашивание ядерное и цитоплазматическое. 1б, 2б – ув. 100; 1с – слабая экспрессия виментина в дерме пациентов I подгруппы; 2с – сильно выраженная экспрессия виментина в дерме пациентов II подгруппы. Иммуногистохимическая реакция с использованием антител к виментину. Окрашивание цитоплазматическое. 1с, 2с – ув. 40; 1д – сильно выраженная экспрессия IL-2 в дерме пациентов I подгруппы; 2д – слабая экспрессия IL-2 в дерме пациентов II подгруппы. Иммуногистохимическая реакция с использованием антител к IL-2. Окрашивание цитоплазматическое. 1д, 2д – ув. 100; 1е – слабая экспрессия IL-4 в дерме пациентов I подгруппы; 2е – сильно выраженная экспрессия IL-4 в дерме пациентов II подгруппы. Иммуногистохимическая реакция с использованием антител к IL-4. Окрашивание цитоплазматическое. 1е, 2е – ув. 40; 1ф – сильно выраженная экспрессия TLR7 в дерме пациентов I подгруппы; 2е – слабая экспрессия TLR7 в дерме пациентов II подгруппы. Иммуногистохимическая реакция с использованием антител к TLR7. Окрашивание ядерное и цитоплазматическое. 1е – ув. 40; 2е – ув. 100.

При анализе гистологических срезов от пациентов с кольцевидной гранулёмой ($n = 12$) изменения в эпидермисе не наблюдались. Главным гистологическим признаком, наблюдаемым во всех 12 (100%) случаях кольцевидной гранулёмы, был интерстициальный лимфогистиоцитарный инфильтрат. В структурах дермы в 11 (91,6%) случаях отмечалась дезорганизация коллагена, т.е. хаотичное расположение коллагеновых волокон с их локальным утолщением и разрушением (см. табл. 3; рис. 2, б).

Результаты иммуногистохимического исследования биоптатов показывают, что IL-2, TLR7, CD4, CD8 более интенсивно экспрессированы в дерме пациентов I подгруппы, в эпидермисе отмечается умеренная экспрессия данных маркеров (см. табл. 1). Во II подгруппе отмечалась более выраженная экспрессия IL-4, чем в I, при неизменно выраженной экспрессии CD4, что интерпретируется как смена преобладания Th1 (клеточной иммунной реакции) на Th2 (гуморальной реакции). Снижение экспрессии маркера CD8 с переходом ОС из эритематозной стадии (I подгруппа) в фиброзную (II подгруппа) подтверждает полученные нами результаты в отношении IL-2, активирующего и поддерживающего клеточные иммунные реакции, и IL-4, который опосредует гуморальный ответ. Примечательно также, что у пациентов II подгруппы отмечалась более

выраженная экспрессия экстрацеллюлярного белка виментина, а также IL-4 (рис. 3, а–е).

При проведении пациентам с ОС ($n = 40$) иммунологического исследования крови с определением спектра специфических аутоантител, характерных для ОС (ANA, SS-DNA, антигистоны, центромеры А, центромеры В, RP11, RP155), а также для системной дезорганизации соединительной ткани (Scl-70, anti-Sm (Smith), anti-Jo-1), нами получен отрицательный результат по каждому исследуемому антителу для всех пациентов.

Обсуждение

В нашем исследовании клиническая картина пациентов с недавним сроком заболевания характеризовалась наличием единичных эритематозных пятен с лиловым венчиком по периферии; у пациентов с более длительным анамнезом высыпаний наблюдалась атрофия в центре очага поражения с уплотнением тканей. У пациентов 2–4-й групп клиническая картина была схожа с проявлениями ОС, поэтому всем участникам исследования ($n = 77$) было проведено гистологическое исследование кожи. Так как при проведении гистологического исследования изменения коллагена в дерме были зарегистрированы только у пациентов 1-й и 2-й групп, они были обследованы более детально (см. табл. 4).

На основании сопоставления данных клинической картины пациентов с ОС и результатов патоморфологического исследования биоптатов кожи, взятых у больных из очагов поражения, можно сделать вывод, что локализация патоморфологических изменений, степень воспаления и фиброза зависят от стадии заболевания.

Согласно данным К. Togok и соавт. [11], в качестве гистологических паттернов выделяют поверхностный, средней глубины и глубокий фиброзы, которые соответствуют ограниченной, генерализованной и линейной формам заболевания. В нашем исследовании не зарегистрировано пациентов с поражением тканей, располагающихся глубже гиподермы. Сравнительный анализ гистологических препаратов от пациентов с ОС и кольцевидной гранулёмой показал, что среди пациентов с ОС воспалительный инфильтрат содержит преимущественно гистиоциты, лимфоциты и плазмоциты, в то время как при кольцевидной гранулёме характеризуется полным отсутствием плазмоцитов. При сопоставлении данных гистологического исследования с анамнезом и клинической картиной пациентов с ОС обнаружено, что с прогрессией заболевания снижается соотношение лимфоцитов и гистиоцитов с плазмócитами, дезорганизация коллагеновых волокон распространяется от сосочкового слоя дермы к гиподерме, поражение более глубоких тканей чаще сопровождается субъективными ощущениями. При сравнении гистологических изменений в 1-й и 2-й группах отмечено, что для кольцевидной гранулёмы нехарактерны изменения эпидермиса, придатков и пигментация. В целом, дермальный инфильтрат более скудный при локализованной склеродермии, а изменения коллагена, наоборот, преобладают. С прогрессированием ОС у пациентов 1-й группы увеличивался очаг фиброза. Стоит отметить, что изменения коллагена возникали на месте, где располагался воспалительный клеточный инфильтрат, что подтверждает связь между иммунокомпетентными клетками и активацией фибробластов в окружающей дерме и подкожно-жировой клетчатке [12]. Однако гипотеза об ОС как аутоиммунном заболевании была выдвинута на основании наличия у пациентов аутоантител в крови [13], что свидетельствует об обнаружении антигена среди собственных органов и тканей. Так, в ходе проводимых за рубежом исследований была обнаружена повышенная экспрессия TLR4 – внутриклеточного рецептора, в норме ответственного за распознавание бактериальной стенки [14]. Экстрацеллюлярный матрикс, вырабатываемый активированными фибробластами, вероятнее всего, распознается TLR4 в качестве чужеродного белка, так как имеет структурное и молекулярное сходство с бактериальной клеточной стенкой. В нашем исследовании не было

пациентов, которые имели бы аутоантитела в крови, однако, по статистике, у 30–50% пациентов они определяются [15]. Стоит отметить, что выработка аутоантител положительно коррелирует с глубиной поражения тканей при ОС, потому наиболее часто аутоантитела выявляются у пациентов с линейной и пансклеротической формами заболевания [16]. Таким образом, тесты на определение аутоантител не имеют диагностической ценности, однако могут быть предвестниками поражения глуболежащих тканей, появления мышечных и суставных контрактур, и, соответственно, ограничения функции конечности/органа.

Наиболее часто (30–70%) ANA и до 50% anti-ssDNA вырабатываются у пациентов с линейной формой склеродермии. Антитела, характерные для системного склероза (anti-centromere, anti-topoisomerase), можно обнаружить в 3–18% случаев, у 12% пациентов определяются anti-RNA-polymerase III. К сожалению, на данный момент времени не выявлено связи между определённым антителом и формой заболевания, однако некоторые авторы считают, что по наличию в крови аутоантител можно судить об активности заболевания и глубине поражения тканей. Некоторые авторы предлагают определение уровня креатинфосфокиназы (КФК-ММ) и альдолазы в крови у пациентов с линейной склеродермией в качестве маркеров степени мышечной деструкции, однако тестирование на антитела имеет преимущество, так как может являться прогностическим признаком, тогда как ферменты в крови появляются уже после распада мышечного волокна [17].

Долгое время состав клеток, играющих роль в патогенезе ОС, оставался предметом дискуссии. На сегодняшний день выявлены основные задействованные виды клеток – лимфоциты, гистиоциты, плазмоциты и фибробласты. По данным С. Harrington и I. Dunsmore [18], у пациентов с ОС в крови и в тканях преобладает популяция CD4⁺, в то время как количество Т-регуляторных клеток резко снижено. Т-регуляторные клетки ответственны за иммунологическую толерантность, именно они сдерживают провоспалительную активность Т-хелперов (CD4⁺) и цитотоксических клеток (CD8). Отсутствие достаточного количества Т-регуляторных клеток, а также распознавание аутоантигенов у пациентов с ОС свидетельствует о генетической предрасположенности к заболеванию, а именно о мутациях в генах HLA. Наряду с потерей толерантности к собственным тканям мутации в генах HLA также проявляются повышенной активностью системы гамма-интерферона (gamma interferon, INF γ), который в свою очередь поддерживает активность ответственных за клеточный иммунный ответ Th1 [19].

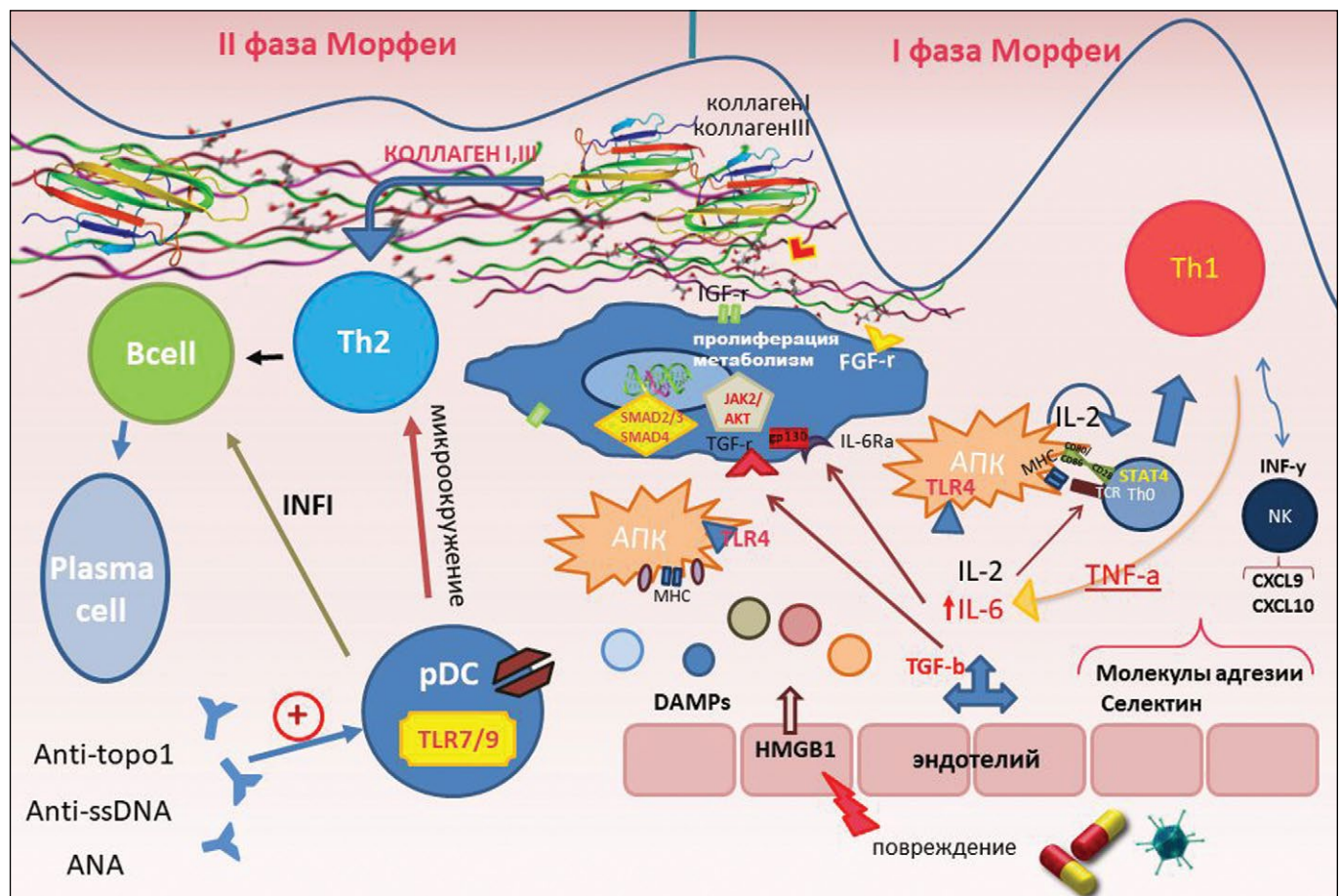


Рис. 4. Патогенез ограниченной склеродермии.

В нашем исследовании мы изучали экспрессию маркеров, характерных для клеточного (CD8, CD4, IL-2) и гуморального (IL-4) иммунного ответа, процессов распознавания антигенов (TLR7), а также нарушений продукции межклеточного вещества (виментин). Примечательно, что у пациентов с эритематозной стадией ОС экспрессия маркеров CD4, CD8, IL-2, TLR7 была более выраженной, в то время как у пациентов с более давним сроком заболеваемости преобладала экспрессия IL-4, CD4 и виментина.

В нашем исследовании прослеживалась смена преобладания экспрессии IL-2 (Th1) на IL-4 (Th2) при неизменном количестве CD4, что свидетельствует о переключении типа иммунного ответа с клеточного на гуморальный.

Мы провели оценку выраженности экспрессии Toll-подобного рецептора 7 (Toll-like receptor 7, TLR7) – мембранного белка, входящего в группу TLR, обеспечивающих функционирование врождённого иммунитета. По данным Т. Kawai и S. Akira [20], экспрессия TLR4 очень выражена у больных ОС, что может указывать на бактериальное повреждение сосудистой стенки, которое в дальнейшем ведёт к возникновению очага склероза. Так, TLR7 локализуется в эндосомах и распознаёт одноцепочечные молекулы РНК, являясь, наряду с TLR3 и TLR9, компонентом

противовирусной системы защиты организма, однако, по данным исследований, экспрессия TLR3 и TLR9 не выходила за пределы нормы у пациентов с ОС.

У пациентов 1-й группы с недавним сроком появления высыпаний была зарегистрирована более выраженная экспрессия TLR7 (в сосочковой и ретикулярной дерме периваскулярно), что может указывать на вирусное повреждение сосудистой стенки.

На основании полученных нами данных и анализа зарубежных и отечественных литературных источников мы предполагаем следующий патогенетический механизм ОС (**рис. 4**). Иницирующим событием в патогенезе ОС является травма сосудистой стенки. Повреждённые клетки эндотелия начинают продуцировать стрессорные молекулы амфотеринов (HMGB1) и молекулы группы DAMPs, воспринимаемые антигенпрезентирующими клетками (АПК). АПК участвуют в поляризации иммунного ответа: при распознавании собственных белков посредством контакта молекул главного комплекса гистосовместимости (major histocompatibility complex, МНС) и антигенраспознающих рецепторов Т-клеток (T-cell receptors, TCR) обычно происходит превращение Th0 в Treg, однако у пациентов с ОС взаимодействие АПК и Th0 осуществляется с участием активатор-

ных костимулирующих молекул, ввиду чего Th0 превращаются в Th1. В то же время в области травматизации сосудистой стенки вследствие выработки эндотелием сосудов молекул адгезии, селектинов и хемокинов наблюдается миграция Th1 в ткани. Стоит отметить, что Th1 продуцируют факторы некроза опухоли альфа (TNF α) и INF γ , которые угнетающе воздействуют на Т-регуляторные клетки, а следовательно, оказывают дополнительное провоспалительное воздействие. Под влиянием TNF α эндотелиоциты продуцируют IL-6 и трансформирующий ростовой фактор бета (TGF β), которые, присоединяясь к рецепторам фибробластов, активируют их метаболизм и пролиферацию через сигнальные пути JAK2/AKT (для IL-6) и молекулы SMAD2/3-SMAD4 (для TGF β). Известно, что в тканях пациентов с линейной склеродермией может находиться растворимый рецептор к IL-6, который, активизируясь, на мембране фибробластов задействует белки gp130, также передающие пролиферативные сигналы по пути JAK2/STAT3 [21]. TGF β также осуществляет индукцию позитивной регуляции транскрипции ДНК фибробласта, что ведёт к повышению скорости его метаболизма и усиленной продукции экстрацеллюлярного матрикса (коллагена 1-го и 3-го типов).

Активированные эндотелиоциты могут длительно продуцировать HMGB1 и хемокины, которые привлекают к очагу поражения плазмоцитоподобные дендритные клетки. Последние способствуют поляризации Th0 в Th2, в то время как уже достаточно выраженные очаги фиброза способствуют миграции Th2 в очаг поражения. Однако механизм поляризации в данном случае не до конца изучен: вероятно, иммунологическое микроокружение способно направлять эти процессы по различным путям (плазмоцитоподобные дендритные клетки могут направлять поляризацию иммунного ответа также по 1-му и 17-му путям). В свою очередь, Th2 потенцируют процессы фиброза и поликлональную активность В-лимфоцитов, которые в дальнейшем дифференцируются в плазмциты и продуцируют антитела.

Заключение

Наши результаты показывают, что при подозрении на ОС необходимо проводить тщательную дифференциальную диагностику, не ограничивающуюся объективным осмотром, гистологическим исследованием и обнаружением аутоантител в периферической крови. Солитарные или множественные эритематозные пятна, располагающиеся преимущественно на коже туловища и иногда конечностей, могут указывать не только на ОС, но и на раздражённую форму мелкобляшечного параспориоза, кольцевидную гранулёму, а также на уже латентную форму грибовидного микоза – крупнобляшечный параспориоз. В нашем исследовании обнаружение аутоан-

тител, гистологическое и иммуногистохимическое исследование были направлены на изучение патогенеза локализованной склеродермии, а также на обоснование исключения системности заболевания.

Перспективным и значимым представляется детальное изучение факторов, ведущих к появлению ОС, с целью дальнейшего усовершенствования терапевтических методик (проведения патогенетической терапии) и снижения частоты рецидивов у пациентов, а также внедрение новых диагностических тестов (иммуногистохимическое исследование кожи, ультразвуковое исследование кожи на средней несущей частоте 70 МГц, определение тканевой кислородной перфузии в очаге поражения) с целью раннего обнаружения локализованной склеродермии и предотвращения осложнений у пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ананьева Л.П. *Лечение системной склеродермии с учетом национальных рекомендаций и рекомендаций Европейской лиги по борьбе с ревматизмом* (eular). М.: Бионика медиа; 2014:79-86.
2. Родионов А.Н., Насыров Р.А., Заславский Д.В. и др. *Диффузные болезни соединительной ткани: клиника и морфология кожных поражений*. СПб.: Навои; 2015.
3. Dharamsi J.W., Victor S., Aguwa N., Ahn C., Arnett F., Mayes M.D., Jacobe H. Morphea in adults and children cohort III: nested case-control study – the clinical significance of autoantibodies in morphea. *JAMA Dermatol.* 2013;149(10):1159-65.
4. Mayes M.D. Classification and epidemiology of scleroderma. *Semin Cutan Med Surg.* 1998;17(1):22-6.
5. Родионов А.Н., Заславский Д.В., Сыдинов А.А., Чупров И.Н., Агаев Р.А., Скрек С.В. и др. *Иллюстрированное руководство клинической диагностики по профессору Родионову А.Н.* М.: Издательский дом Граница; 2018.
6. Олисова О.Ю., ред. *Кожные и венерические болезни*. М.: Практическая медицина; 2015.
7. Родионов А.Н., Заславский Д.В., Сыдинов А.А. *Клиническая дерматология*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2019.
8. Дубенский В.В., Некрасова Е.Г., Дубенский В.В., Александрова О.А., Муравьева Е.С., Иванова А.С. Клинические разновидности локализованной склеродермии // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. 2019;22(1):46-50.
9. Zulian F., Vallongo C., Woo P., Russo R., Ruperto N., Harper J., et al.; Juvenile Scleroderma Working Group of the Pediatric Rheumatology European Society (PRES). Localized scleroderma in childhood is not just a skin disease. *Arthritis Rheum.* 2005;52(9):2873-81. doi: 10.1002/art.21264
10. Kister I., Inglese M., Laxer R.M., Herbert J. Neurologic manifestations of localized scleroderma: a case report and literature review. *Neurology.* 2008;71(19):1538-45. doi: 10.1212/01.wnl.0000334474.88923.e3
11. Torok K.S., Li S.C., Jacobe H.M., Taber S.F., Stevens A.M., Zulian F., Lu T.T. Immunopathogenesis of pediatric localized scleroderma. *Front Immunol.* 2019;10:908. doi: 10.3389/fimmu.2019.00908
12. Родионов А.Н., Заславский Д.В., Чупров И.Н., Насыров Р.А., Зайцев В.С., Ибрагимов К.У. и др. *Дерматопатология воспалительных заболеваний кожи*. Ташкент: Baktria Press; 2014.
13. Odonwodo A., Badri T., Hariz A. Scleroderma (Systemic Sclerosis). In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020.
14. Chia J.J., Lu T.T. Update on macrophages and innate immunity in scleroderma. *Curr Opin Rheumatol.* 2015;27(6):530-6.

15. Arisi M., Cavazzana I., Cerutti M.E., Ferrari F., Carabellese N., Rossi M.T., et al. Antibodies against antigens related to scleroderma in a cohort of patients with morphea. *G Ital Dermatol Venereol.* 2018;153(4):451-8.
16. Khatri S., Torok K.S., Mirizio E., Liu C., Astakhova K. Autoantibodies in morphea: An update. *Front Immunol.* 2019;10:1487. doi: 10.3389/fimmu.2019.01487
17. Wu E.Y., Li S.C., Torok K.S., Virkud Y., Fuhlbrigge R.C., Rabinovich C.E. Childhood Arthritis and Rheumatology Research Alliance (CARRA) Legacy Registry Investigators. Baseline description of the juvenile localized scleroderma subgroup from the childhood arthritis and rheumatology research alliance legacy registry. *ACR Open Rheumatol.* 2019;1(2):119-24. doi: 10.1002/acr2.1019
18. Harrington C.I., Dunsmore I.R. An investigation into the incidence of auto-immune disorders in patients with localized morphea. *Br J Dermatol.* 1989;120(5):645-8.
19. Jacobe H., Ahn C., Arnett F.C., Reveille J.D. 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. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66(11):3170-7.
20. Kawai T., Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol.* 2010;11(5):373-84.
21. Kurzinski K., Torok K.S. Cytokine profiles in localized scleroderma and relationship to clinical features. *Cytokine.* 2011;55(2):157-64. doi: 10.1016/j.cyto.2011.04.001
8. Dubensky VV, Nekrasova EG, Dubensky VI V, Aleksandrova OA, Muraveva ES, Ivanova AS. Rare forms of localized scleroderma. *Russian Journal of Skin and Venereal Diseases.* 2019;22(1):46-50. (in Russian)
9. Zulian F, Vallongo C, Woo P, Russo R, Ruperto N, Harper J, et al.; Juvenile Scleroderma Working Group of the Pediatric Rheumatology European Society (PRES). Localized scleroderma in childhood is not just a skin disease. *Arthritis Rheum.* 2005;52(9):2873-81. doi: 10.1002/art.21264
10. Kister I, Inglese M, Laxer RM, Herbert J. Neurologic manifestations of localized scleroderma: a case report and literature review. *Neurology.* 2008;71(19):1538-45. doi: 10.1212/01.wnl.0000334474.88923.e3
11. Torok KS, Li SC, Jacobe HM, Taber SF, Stevens AM, Zulian F, Lu TT. Immunopathogenesis of pediatric localized scleroderma. *Front Immunol.* 2019;10:908. doi: 10.3389/fimmu.2019.00908
12. Rodionov AN, Zaslavsky DV, Chuprov IN, Nasyrov RA, Zaitsev VS, Ibragimov KU, et al. *Dermatopathology of Inflammatory Skin Diseases.* Tashkent: Baktaria Press; 2014. (in Russian)
13. Odonwodo A, Badri T, Hariz A. Scleroderma (Systemic Sclerosis). In: *StatPearls.* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020.
14. Chia JJ, Lu TT. Update on macrophages and innate immunity in scleroderma. *Curr Opin Rheumatol.* 2015;27(6):530-6.
15. Arisi M, Cavazzana I, Cerutti ME, Ferrari F, Carabellese N, Rossi MT, et al. Antibodies against antigens related to scleroderma in a cohort of patients with morphea. *G Ital Dermatol Venereol.* 2018;153(4):451-8.
16. Khatri S, Torok KS, Mirizio E, Liu C, Astakhova K. Autoantibodies in morphea: An update. *Front Immunol.* 2019;10:1487. doi: 10.3389/fimmu.2019.01487
17. Wu EY, Li SC, Torok KS, Virkud Y, Fuhlbrigge RC, Rabinovich CE. Childhood Arthritis and Rheumatology Research Alliance (CARRA) Legacy Registry Investigators. Baseline description of the juvenile localized scleroderma subgroup from the childhood arthritis and rheumatology research alliance legacy registry. *ACR Open Rheumatol.* 2019;1(2):119-24. doi: 10.1002/acr2.1019
18. Harrington CI, Dunsmore IR. An investigation into the incidence of auto-immune disorders in patients with localized morphea. *Br J Dermatol.* 1989;120(5):645-8.
19. Jacobe H, Ahn C, Arnett FC, Reveille JD. 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. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66(11):3170-7.
20. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol.* 2010;11(5):373-84.
21. Kurzinski K, Torok KS. Cytokine profiles in localized scleroderma and relationship to clinical features. *Cytokine.* 2011;55(2):157-64. doi: 10.1016/j.cyto.2011.04.001

REFERENCES

1. Ananieva LP. Treatment of systemic scleroderma based on national recommendations and recommendations of the European League against rheumatism (eular). Moscow: Bionica Media; 2018:79-86. (in Russian)
2. Rodionov AN, Nasyrov RA, Zaslavsky DV, et al. *Diffuse connective tissue disease: clinical features and morphology of the skin lesions.* St.Petersburg: Navoi; 2015. (in Russian)
3. Dharamsi JW, Victor S, Aguwa N, Ahn C, Arnett F, Mayes MD, Jacobe H. Morphea in adults and children cohort III: nested case-control study—the clinical significance of autoantibodies in morphea. *JAMA Dermatol.* 2013;149(10):1159-65.
4. Mayes MD. Classification and epidemiology of scleroderma. *Semin Cutan Med Surg.* 1998;17(1):22-6.
5. Rodionov AN, Zaslavsky DV, Sidikow AA, Chuprov IN, Agaev RA, Skrek SV, et al. *Illustrated handbook of clinical diagnosis by professor Rodionov AN.* Moscow: Publishing House “Granitsa”; 2018. (in Russian)
6. Olisova OYu, ed. *Skin and Venereal Diseases.* Moscow: Praktical Medicina; 2015. (in Russian)
7. Rodionov AN, Zaslavsky DV, Sidikov AA. *Clinical dermatology.* Moscow: GEOTAR-Media; 2019. (in Russian)