

**Б.Н. Гамаюнов, Н.Г. Короткий, М.А. Стенина,
Л.И. Кривов, О.Р. Катунина**

Российский государственный медицинский университет, Москва

Оценка эффективности парентерального введения высоких доз метилпреднизолона в период манифестации и прогрессирования гнездной алопеции на экспериментальной модели мышей линии HRS

При изучении гнездной алопеции (ГА) значительный интерес представляет использование экспериментальных моделей. В постнатальном онтогенезе гомозиготных мышей линии HRS существуют периоды вылинивания с формированием тотального облысения, что напоминает манифестацию и прогрессирование ГА у человека. Цель исследования – оценка эффективности парентерального введения высоких доз метилпреднизолона в период манифестации и прогрессирования ГА на модели мышей линии HRS. Согласно полученным данным, парентеральное введение метилпреднизолона задерживает процесс вылинивания. Мыши из группы контроля, получавшие инъекции физиологического раствора, вылинивали полностью. Для морфологической оценки состояния кожи и ее придатков у мышей в процессе исследования проводили биопсию кожи.

Ключевые слова: гнездная алопеция, облысение, пульс-терапия, метилпреднизолон, биопсия кожи.

Контактная информация: Короткий Николай Гаврилович, д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой дерматовенерологии РГМУ. Тел.: (495) 936-93-88.

E-mail: derma@rdkb.ru.

© Коллектив авторов, 2011

B.N. GAMAYUNOV, N.G. KOROTKIY, M.A. STENINA, L.I. KRIVOV, O.R. KATUNINA

Effectiveness of high-dose parenteral methylprednisolone administration during the manifestation and progressive course of alopecia on a model of HRS mice

The use of experimental models is of great importance for the study of alopecia areata (AA). In the postnatal ontogenesis of homozygous HRS mice, there are moulting periods with the formation of total alopecia, which resembles the manifestation and progression of AA in man. The purpose of the investigation was to evaluate the efficiency of parenteral administration of high-dose methylprednisolone during the manifestation and progression of AA on a model of HRS mice. According to the findings, the parenteral administration of methylprednisolone retards the moulting process. The control mice given injections of saline solution shed their hair completely. For the morphological evaluation of the skin and its appendages in mice, its biopsy was made during the investigation.

Key words: alopecia areata, baldness, pulse therapy, methylprednisolone, skin biopsy.

Гнездная алопеция (ГА) – актуальная проблема современной дерматологии. Заболеваемость ГА составляет примерно 17:100000, а преимущественная ее распространенность независимо от пола отмечается среди детей и молодых взрослых. Описаны семейные случаи заболевания, имеется связь с аутоиммунной патологией щитовидной железы, атопическим дерматитом и витилиго.

Клиническая картина ГА обычно легко узнаваема. В типичных случаях неожиданно возникает круговидное облысение без выраженных воспалительных явлений или формирования рубцовой ткани в очагах поражения. Очаги выпадения волос не сопровождаются субъективными симптомами, но облысение для пациента часто становится довольно тяжелым психотравмирующим фактором [1, 2].

С точки зрения этиологии ГА рассматривают как гетерогенное заболевание, в развитии которого важную роль играют генетическая предрасположенность, эмоциональный стресс, состояние кровообращения, эндокринные изменения, дефицит микроэлементов, травма, перенесенная инфекция, иммунные нарушения, но при обследовании больных с ГА часто не удается обнаружить провоцирующий фактор [3, 4].

На сегодняшний день большинство исследователей считает ГА тканеспецифическим аутоиммунным заболеванием, опосредованным аутоактивированными Т-лимфоцитами, в патогенезе которого ключевую роль играет меланоцит- и/или анаген-ассоциированный аутоантиген волосяных фолликулов. Участие иммунной системы в патогенезе ГА подтверждают морфологические исследования биоптатов кожи волосистой части головы из очагов поражения – обнаружение лимфоцитарных инфильтратов внутри и вокруг волосяных фолликулов [5, 6].

Учитывая значение иммунных нарушений в развитии гнездной алопеции, один из основных подходов к лечению этого заболевания – использование иммуносупрессивных методов лечения, которые включают как системные, так и топические иммуносупрессанты. Самым ранним этапом развития этого терапевтического направления было использование глюкокортикостероидов (ГКС). Патофизиологическим обоснованием применения ГКС является их способность активно взаимодействовать с системой иммунитета и подавлять воспалительные реакции.

ГКС стали неотъемлемой частью терапии многих заболеваний с того момента, когда Хенч в 1948 году впервые успешно применил кортизон в лечении пациентки с ревматоидным артритом. В 1952 году сообщили о высокой эффективности лечения алопеции кортизоном. Впоследствии амплитуда мнений по поводу применения ГКС колебалась от эйфорического притягивания до категорического отрица-

ния. Это объясняется, с одной стороны, впечатляющими, ранее считавшимися невозможными клиническими эффектами, а с другой – временами тяжелыми побочными действиями [7].

Потребность в оптимизации ГКС-терапии сохраняется. Так, в ряде клинических областей используют низкодозированную терапию, в то же время происходит расширение показаний в высокодозированной и пульс-терапии ГКС. В частности, накоплен клинический опыт применения пульс-терапии в лечении различных дерматологических заболеваний, таких как вульгарная пузырчатка, токсикоэпидермальный некролиз, дерматомиозит и др. [8].

Внутривенное введение высоких, ударных доз ГКС, или пульс-терапию (от англ. *pulse* – толчок, удар), начали применять в клинической практике в середине 1970-х годов. Наибольшее распространение пульс-терапия получила в медицине критических состояний – септический шок, астматический статус, отек Квинке, отек мозга, синдром Лайела и др. Успешное применение пульс-терапии у больных с кризом отторжения трансплантата, в основе которого лежит целый ряд иммунных нарушений, послужило основой для использования пульс-терапии у больных с аутоиммунными заболеваниями [8].

В многочисленных исследованиях убедительно доказано, что именно внутривенное введение высоких доз ГКС обладает наиболее выраженными противовоспалительными и иммуносупрессивными эффектами и значительно превосходит по эффективности пероральный прием ГКС в аналогичных дозировках. Фармакокинетика ГКС при внутривенном введении такова, что максимальная их концентрация в плазме наблюдается, в частности для метилпреднизолона, через 1 ч с последующим быстрым снижением в течение 6–7 ч, при этом препарат способен активно накапливаться в тканях, в особенности в очагах воспаления. Через несколько дней после внутривенного введения высоких доз ГКС в периферической крови обнаруживают только следовые количества ГКС. Поэтому большое преимущество пульс-терапии даже при длительном, программном применении в сравнении с пероральным приемом ГКС – отсутствие формирования гормонозависимости и связанных с этим побочных эффектов, таких как симптомокомплекс Иценко–Кушинга, стероидный диабет, остеопороз, спондилопатия, изъязвление желудочно-кишечного тракта, артериальная гипертензия и др. [8].

Выраженный противовоспалительный и иммуносупрессивный эффект внутривенного введения высоких доз ГКС, возможность многомесячного лечения, практически лишенного серьезных осложнений, позволяют применять пульс-терапию в лечении ГА.

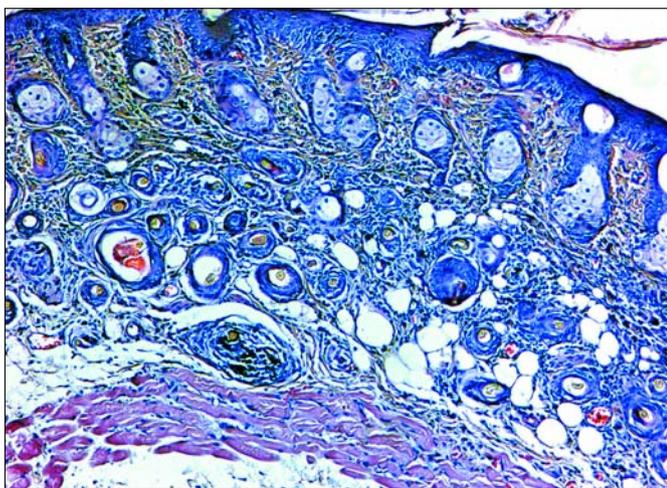
Для изучения ГА большой интерес представляет использование экспериментальных моделей. Наиболее часто в качестве экспериментальных моделей ГА используют лысых крыс Дунди (DEBR) и инбредных мышей СЗН/HeJ. Мы использовали мышей HRS из состава репродуктивной колонии, поддерживаемой в РГМУ. Мыши линии HRS первоначально были получены в научно-исследовательской лаборатории экспериментально-биологических моделей РАМН. У взрослых гомозиготных особей линии HRS генетический дефект проявляется тотальным отсутствием волосяного покрова при сохранении усиков.

В связи с проблемой патогенеза ГА представляет интерес то обстоятельство, что в постнатальном

Фото 1. Мышата линии HRS, находящиеся в процессе первичного вылинивания, на 15-й день от начала терапии: введение метилпреднизолона (слева) или физиологического раствора (справа)



Фото 2. Гистологическая картина кожи гомозиготной мыши линии HRS на 15-й день от начала лечения метилпреднизолоном: задержка вылинивания



онтогенезе мышей линии HRS существуют периоды вылинивания с формированием у гомозиготных мышей тотального облысения, что напоминает манифестацию и прогрессирование ГА у человека.

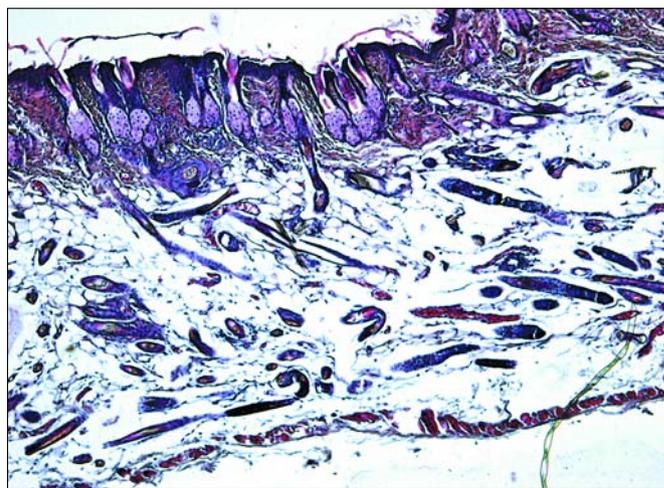
Цель исследования – определение эффективности парентерального введения высоких доз метилпреднизолона в период манифестации и быстрого прогрессирования ГА на модели мышей линии HRS [9].

Мышата линии HRS рождаются голыми, с усиками, а затем покрываются волосами. В возрасте 2–3 недель у гомозиготных особей процесс первичного вылинивания начинается с образования очагов облысения на коже вокруг носа и глаз. Вылинивание распространяется от мордочки к хвосту и заканчивается в течение недели. В полуторамесячном возрасте мыши вновь покрываются волосом – более редким, чем раньше, а к двухмесячному возрасту вторично вылинивают с сохранением усиков. Тотальное облысение сохраняется на протяжении всей дальнейшей жизни гомозиготных особей HRS.

Мы использовали синтетический глюкокортикоид метилпреднизолон для внутримышечного и внутривенного введения. Гомозиготным мышатам в начале периода первичного или вторичного вылинивания производили трехкратное с интервалом 5 дней внутримышечное введение раствора метилпреднизолона в дозе 0,005 мг/г. Контрольные гомозиготные HRS мыши получали внутримышечные инъекции физиологического раствора по той же схеме, что и в опытной группе.

Клинический эффект препарата оценивали ежедневно по степени оволосения мышей. Для морфологической оценки состояния фолликулярно-го аппарата кожи после проведенного лечения

Фото 3. Гистологическая картина кожи гомозиготной мыши линии HRS на 15-й день от начала введения физиологического раствора: вылинивание завершилось



проводили биопсию кожи области спины. Биопсийный материал подвергали стандартной гистологической проводке, заливали в парафиновые блоки. На микротоме изготавливали срезы толщиной 5–6 мкм, растягивали на предметных стеклах, окрашивали гематоксилином и эозином. Препараты исследовали в световом микроскопе, изображение фиксировали цифровой фотокамерой.

В процессе эксперимента мыши были размещены в отдельных клетках при обычных условиях содержания и кормления. Проводили регулярное взвешивание и фотографирование животных.

Согласно полученным нами данным парентеральное введение метилпреднизолона задерживало процесс выпадения волос у гомозиготных мышат линии HRS [9]. Так, на 15-й день от начала введения метилпреднизолона мышатам, находящимся в процессе первичного или вторичного вылинивания, особи из опытной группы сохраняли первичный или вторичный волосяной покров, в то время как в контрольной группе начавшееся выпадение волос уже полностью закончилось (*фото 1*).

По результатам проведенного гистологического исследования биоптатов кожи мышата из опытной и контрольной групп имели различную морфологическую картину кожи и ее придатков [9]. У мышей опытной группы, получавших инъекции метилпреднизолона, эпидермис обычной толщины, пилосебацейные комплексы сформированы в полном объеме, залегают вплоть до подкожно-жирового слоя. Большинство фолликулов содержит волосяные стержни. Перифолликулярно отмечается скудная лимфогистиоцитарная инфильтрация. У мышей контрольной группы, получавших инъекции физиологического раствора, эпидермис обычной толщины, пилосебацейные комплексы залегают в пределах средних отделов дермы, однако не формируют волосяных стержней, расширенные их устья заполнены рыхлыми роговыми пробками. В дерме отмечается скудная лимфогистиоцитарная инфильтрация (*фото 2, 3*).

На взрослых гомозиготных особей HRS, полностью лишенных волосяного покрова, парентеральное введение метилпреднизолона не оказало никакого влияния.

ВЫВОДЫ

На экспериментальной модели мышей линии HRS с генетически детерминированным у гомозиготных особей облысением было показано, что парентеральное введение метилпреднизолона эффективно в периоды вылинивания, напоминающие манифестацию и прогрессирование ГА у человека [9].

Литература

1. *Абек Д., Бурддорф В., Кремер Х.* Болезни кожи у детей (Пер. с англ.). – М.: Медицинская литература, 2007, 160 с., ил.
2. *Короткий Н.Г., Шарова Н.М., Аветисян Г.А.* Нарушение психоэмоциональной сферы у детей, страдающих гнездовой алопецией // Росс. журнал кожных и венерических болезней, 2002, №5, с. 92–94.
3. *McDonagh A.J., Tazi-Ahnni R.* Epidemiology and genetics of alopecia areata. *Clin Exp Dermatol* 2002; 27: 405–9.
4. *Кошевенко Ю.Н.* Иммуноморфологическая картина пораженной кожи при гнездовой алопеции // Росс. журнал кожных и венер. болезней, 1999, №3, с. 60–64.
5. *Gilhar A., Kalish R.S.* Alopecia areata: a tissue specific autoimmune disease of the hair follicle. *Autoimmun Rev* 2006; 5: 64–9.
6. *Цветкова Г.М., Самсонов В.А., Гетлинг З.М., Вавилов А.М., Фомкина И.Г.* Гистологические и электронно-микроскопические исследования кожи волосистой части головы больных гнездовой алопецией // Вест. дерматол. и венерол., 1999, №3, с. 63–65.
7. *Reinhold U., Buttgerit F.* Hochdosis-Steroid-Pulstherapie. Gibt es Indikationen in der Dermatologie? *Hautarzt* 2000; 51: 738–45.
8. *Соловьев С.К.* Лечение ревматических заболеваний ударными дозами Метипреда (пульс-терапия). – М.: МИК, 1999.
9. *Короткий Н.Г., Степина М.А., Кривов Л.И., Катунина О.Р., Гамаюнов Б.Н.* Пульс-терапия в период манифестации и прогрессирующего течения алопеции на модели мышат линии HRS (экспериментальное исследование) // Клиническая дерматология и венерология, 2009, №5.