



А.Д. Адо
1909–1997

РОССИЙСКИЙ АЛЛЕРГОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
РОССИЙСКОЙ АССОЦИАЦИИ АЛЛЕРГОЛОГОВ И КЛИНИЧЕСКИХ ИММУНОЛОГОВ (РААКИ)
РЕКОМЕНДОВАН ВАК МИНИСТЕРСТВА ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ДЛЯ ПУБЛИКАЦИЙ ОСНОВНЫХ НАУЧНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИЙ
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ДОКТОРА И КАНДИДАТА НАУК

**Председатель
редакционного совета
академик РАН и РАМН
Р.М. Хаитов**

**Главный редактор
профессор Н.И. Ильина**

**Заместитель
главного редактора
д-р мед. наук Е.С. Феденко**

**Научные редакторы
профессор И.С. Гушин,
д-р мед. наук О.М. Курбачёва**

**Ответственный секретарь
д-р мед. наук Т.Г. Федоскова**

Редколлегия

И.И. Балаболкин, д-р мед. наук, проф.
Т.Э. Боровик, д-р мед. наук, проф.
Г.О. Гудима, канд. биол. наук
А.В. Емельянов, д-р мед. наук, проф.
О.М. Курбачёва, д-р мед. наук
А.С. Лопатин, д-р мед. наук, проф.
Л.В. Лусс, д-р мед. наук, проф.
Н.В. Медуницын, д-р мед. наук, проф.
А.Н. Пампура, д-р мед. наук
Б.В. Пинегин, д-р мед. наук, проф.
О.Ю. Реброва, д-р мед. наук
В.А. Ревякина, д-р мед. наук, проф.
А.С. Симбирцев, д-р мед. наук, проф.
Г.Б. Федосеев, д-р мед. наук, проф.
В.Н. Федосеева, д-р биол. наук, проф.
М.Р. Хаитов, д-р мед. наук
Р.А. Ханферян, д-р мед. наук, проф.
Б.А. Черняк, д-р мед. наук, проф.

Редакционный совет

Н.Г. Астафьева
Е.К. Бельтюков
Т.Г. Вылегжанина
Т.И. Гаращенко
А.В. Жестков
М.М. Кохан
Н.Г. Кочергин
Д.С. Коростовцев
Т.В. Латышева
Р.Я. Мешкова
М.А. Мокроносова
Л.М. Огородова
А.В. Полевщиков
С.А. Польшер
С.Ф. Радунская
Е.Э. Северова
И.В. Сидоренко
Г.И. Смирнова
С.В. Смирнова
Е.Б. Тузлукова
Р.С. Фассахов
Г.И. Цывкина
С.М. Юдина
А.А. Ярилин
М.Н. Ярцев

Содержание

• Обзоры

- М.А. Мокроносова, Ю.С. Куян, Д.М. Мустафаева, Е.В. Смольникова, П.Г. Протасов. Клинико-иммунологические фенотипы хронического полипозного риносинусита 3
С.В. Царев. Значение аллергии к грибам микромицетам в клинической практике 11

• Оригинальные статьи

- Ю.В. Пинчук, А.С. Водунов, И.Г. Мустафин, З.И. Абрамова. Особенности программируемой гибели лимфоцитов больных атопической бронхиальной астмой 32
Т.М. Филимонова, О.Г. Елисютина, Е.С. Феденко, М.Н. Болдырева, В.С. Смирнов. Влияние иммуотропной наружной терапии на экспрессию генов цитокинов в коже и периферической крови больных атопическим дерматитом 40

• Лекции

- В.И. Пыцкий. Причины и механизмы ремоделирования органов при болезнях почек, сердечнососудистой системы и бронхиальной астме 46

• Обмен опытом

- О.Г. Елисютина, Е.С. Феденко. Применение крема пимекролимус 1% в лечении стероидной розацеа у больных атопическим дерматитом 54

• Обучение практических врачей

- Программа ОЛИМП (Основы Клинической Иммунологии для Педиатров) – часть национального проекта по обучению практических врачей педиатров основам клинической иммунологии
А.Ю. Щербина. Общие вопросы формирования иммунного ответа. Клинико-лабораторная оценка иммунологических нарушений 58

• В помощь практическому здравоохранению

- Аллергический ринит и его влияние на астму, 2008 г. (в сотрудничестве с Всемирной организацией здравоохранения, GA2LEN и AllerGen). ARIA-2008. Часть 6 67

• Новости рынка фармацевтических препаратов и медицинской техники

- Н.А. Генпе, М.Н. Снегоцкая, Н.Г. Колосова, О.Ю. Конопелько, Н.Г. Машукова, И.М. Озерская, И.М. Фарбер. Микродисперсный порошок целлюлозы в профилактике аллергического ринита у детей 73
М.А. Мокроносова, Е.С. Коровкина. Аллергенспецифическая иммунотерапия аллергенным экстрактом пыльцы деревьев, адсорбированным на суспензии кальция фосфата 79
А.В. Будневский, В.Т. Бурлачук, И.А. Олышева. Терапевтические подходы к контролю воспаления на уровне мелких бронхов при бронхиальной астме 85

• Хроника научной жизни

- События и даты
Глеб Борисович Федосеев. К 80-летию со дня рождения 96
Конгрессы, конференции, форумы 97

• Для авторов

- Требования к оформлению рукописей 98

ВЛИЯНИЕ ИММУНОТРОПНОЙ НАРУЖНОЙ ТЕРАПИИ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ В КОЖЕ И ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

Т.М. Филимонова¹, О.Г. Елисютина¹, Е.С. Феденко¹, М.Н. Болдырева¹, В.С. Смирнов²

¹ ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, г. Москва

² Медико-биологический научно-производственный комплекс «Цитомед», г. Санкт-Петербург

Ключевые слова: атопический дерматит, иммунный ответ, гены цитокинов, биопсия кожи, иммуностропные препараты, тимоген

Цель. Изучить клиническую эффективность наружной иммуностропной терапии кремом тимоген 0,05% и ее влияние на некоторые иммунологические параметры в коже и крови больных атопическим дерматитом (АтД).

Материалы и методы. В исследование включены 40 человек, которые разделены на основную (больные АтД, n=20) и контрольную группы (здоровые доноры, n=20). Всем больным АтД проведен непрерывный курс лечения кремом тимоген 0,05% в течение 14 дней. Пациенты наносили препарат на все пораженные участки кожи 2 раза в день тонким слоем. Клиническую эффективность лечения оценивали по изменению следующих параметров: исследовательской глобальной оценки, субъективной оценки интенсивности зуда и сухости кожи по отношению к исследуемому участку кожи. Материалом для иммунологического исследования служили образцы кожных биоптатов и периферическая кровь больных АтД и здоровых доноров. Экспрессию генов цитокинов в коже и периферической крови больных АтД определяли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Результаты исследования. На фоне терапии кремом тимоген 0,05% в течение 14 дней у всех больных АтД отмечен положительный клинический эффект: уменьшение сухости, высыпаний, интенсивности зуда кожи. При иммунологическом исследовании показателей экспрессии генов цитокинов в коже до и после лечения кремом тимоген 0,05% выявлено достоверное увеличение уровня экспрессии гена цитокина интерлейкина-7 (ИЛ-7), уменьшение экспрессии генов цитокинов ИЛ-8, ИЛ-5 ($p < 0,05$). В периферической крови больных АтД до и после лечения кремом тимоген 0,05% в сравнении со здоровыми донорами достоверных различий в показателях экспрессии генов цитокинов не выявлено.

Заключение. Крем тимоген 0,05% обладает местной иммуностропной активностью, влияет на интенсивность воспаления и приводит к клиническому улучшению состояния больных АтД. Изменений иммунных показателей в крови в процессе исследования не выявлено.

Введение

Атопический дерматит (АтД) – аллергическое заболевание кожи, возникающее, как правило, в раннем детском возрасте у лиц с наследственной предрасположенностью к атопическим заболеваниям, имеющее хроническое рецидивирующее течение, возрастные особенности локализации и морфологии очагов воспаления, характеризующееся кожным зудом и обусловленное гиперчувствительностью как к аллергенам, так и к неспецифическим раздражителям [1].

Кожа является высокоорганизованным органом иммунной системы и обладает необходимым составом иммунокомпетентных клеток, взаимодействующих с помощью поверхностных рецепторных структур и цитокинов [2]. В коже выявлено большое количество различных субпопуляций Т-лимфоцитов, которые вместе с системой региональных лимфатических узлов осуществляют функцию местного адаптивного иммунитета. Кроме того, в коже содержится большое количество вспомогательных клеток, таких как дендритные клетки Лангерганса, макрофаги, тучные клетки, которые осуществляют антигенпрезентирующую и фагоцитирующую функции [3]. Большинство из этих клеток имеют миелоидное происхождение. На поверхности иммунокомпетентных клеток представлено большое количество разнообразных мембранных структур, отвечающих за осуществление их основных функций. Основным типом антигенпрезентирующих клеток (АПК) являются дендритные клетки Лангерганса.

Адрес для корреспонденции

Елисютина Ольга Гурьевна
E-mail: el-olga@yandex.ru

Функцию этих клеток могут также выполнять макрофаги, тучные клетки. Так, на поверхности АПК содержатся продукты генов гистосовместимости 1- и 2-го классов (МНС I, II), посредством которых осуществляется представление антигенных пептидов Т-клеткам. На поверхности большинства клеток представлены рецепторы для Fc-фрагментов IgG, IgA, IgE, IgM. Взаимодействие иммуноглобулинов с соответствующими рецепторами приводит к активации клеток с последующим синтезом ряда цитокинов. Значительную группу мембранных структур макрофагов, дендритных и тучных клеток образуют рецепторы для компонентов компонента, а также молекулы адгезии. Эти рецепторы предназначены для распознавания иммунных комплексов, осуществления фагоцитоза и регуляции иммунных процессов [4].

Известно, что стромальные клетки (эпителиоциты, фибробласты, эндотелиоциты кожных капилляров) могут также вовлекаться в осуществление иммунного ответа. Так, под влиянием цитокинов, активированных дендритных клеток, макрофагов и Т-лимфоцитов стромальные клетки приобретают некоторые новые свойства, в частности способность осуществлять эндоцитоз и переваривание патогенов, экспрессировать молекулы адгезии, продуцировать целый ряд цитокинов и хемокинов [5].

Среди механизмов развития АД ведущее значение придается иммунным нарушениям [6, 7]. Условно иммунный ответ при АД можно разделить на 2 фазы: острую и хроническую, или раннюю и позднюю [8]. В патогенезе АД в разное или в одно и то же время принимают участие цитокины с противоположным действием, продуцируемые антагонистическими популяциями Th1- и Th2-лимфоцитов.

При остром воспалении, т. е. в раннюю фазу развития АД, наблюдается преобладание активности Th2-ответа. Выделяют разные причины, обуславливающие сдвиг иммунологических реакций в сторону Th2-звена. Прежде всего следует отметить наследственные факторы. Известно около 20 генов, ассоциируемых с атопической предрасположенностью. Особый интерес заслуживает область на 5-й хромосоме (5q31-33), содержащая кластер генов ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13 и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ). Установлены ассоциации аллергических заболеваний с маркерами ИЛ-4 этого кластера, полиморфизм по промотору ИЛ-4 связан с высоким содержанием IgE. Местные факторы, обуславливающие дифференцировку Th0-клеток в Th2, включают цитокиновое окружение, тип антигена и костимуляции, воздействие разных гуморальных компонентов.

Для Th2-ответа характерен высокий уровень цитокинов ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13, а также общего IgE. Однако при этом отмечается сниженная продукция

γ-интерферона (ИНФ-γ). ИЛ-4 подавляет продукцию ИНФ-γ и иммунный ответ по Th1-типу, способствует синтезу IgE. Кроме того, он стимулирует экспрессию сосудистых молекул адгезии 1, которые обеспечивают миграцию эозинофилов и моноцитов в очаг воспаления, т. е. клеточную инфильтрацию, характерную для развития поздней фазы аллергической реакции. По данным других авторов, при АД с помощью иммуногистохимического исследования в коже выявлено преобладание экспрессии хемокина-CLA (кожный лимфоцитарный антиген) на поверхности Th-2 [9–11].

ИЛ-5 главным образом стимулирует дифференцировку и эндотелиальную адгезию эозинофилов [12]. В зоне острого воспаления количество тучных клеток нормальное, однако они находятся на разных стадиях дегрануляции, что свидетельствует об активности текущего процесса.

Вследствие постоянного воздействия экзогенных факторов, хронического повреждения кожных покровов (зуд, расчесывание), высвобождения внутриклеточных белков, которые действуют как аутоантигены, воспалительный процесс приобретает хроническое течение, для которого характерно преобладание активности Th1-ответа, повышение синтеза ИЛ-12 макрофагами и эозинофилами, повышение уровня ИЛ-5, ИЛ-8 и ИНФ-γ, которые являются маркерами хронического воспаления в коже, а при длительном аллергическом процессе — также ИЛ-3 и ГМ-КСФ [12].

При хронической стадии доминирует активация макрофагов и эозинофилов, которые продуцируют ИЛ-12. Доказано, что рецептор к ИЛ-12 экспрессируется только на Th1-клетках, но не на Th2-клетках [13].

В очагах хронического воспаления количество тучных клеток возрастает. Они способны синтезировать и секретировать ИЛ-4, инициирующий дифференцировку и пролиферацию Th2-лимфоцитов.

Выявленный дисбаланс между субклассами Т-хелперов и установление его роли в развитии поражения кожи при АД изменили представление о диагностическом значении повышения числа Т-хелперов и иммунорегуляторного индекса (Т-хелперы/Т-супрессоры). Иммунопатогенез АД характеризуется прежде всего не количеством Т-хелперов и Т-супрессоров, а изменением дифференцирования Т-лимфоцитов (Th0) и профиля их цитокиновой секреции [14].

Кроме особенностей системной реакции иммунитета, существенное патогенетическое значение имеет оценка состояния иммунокомпетентных структур кожи и обусловленных ими патогистологических изменений в эпидермисе и дерме. Гистологические изменения при АД также зависят от степени остроты процесса и длительности повреждения кожи. Обычно при гистологическом исследовании

довании кожи в острой стадии АтД в эпидермисе выявляют различной степени выраженности гиперкератоз, спонгиоз, внутриклеточный отек кератиноцитов и умеренную гиперплазию эпидермиса, в дерме — периваскулярные инфильтраты различной степени плотности, расширение сосудов поверхностной сети, отек эндотелия капилляров и в меньшей степени — его гиперплазию. Дермальный инфильтрат в острой стадии состоит преимущественно из лимфоцитов с небольшим количеством гистиоцитов (дермальных макрофагов), эозинофильные и нейтрофильные лейкоциты встречаются редко. Тучные клетки обычно обнаруживаются в различных стадиях дегрануляции. Однако данные о состоянии этой клеточной популяции в коже при АтД малочисленны. Найдено некоторое снижение их числа в кожном биоптате при тяжелом течении заболевания, что связывают с активацией дегрануляции и разрушением клеток [15]. В хронической стадии болезни более выражены гиперкератоз и гиперплазия эпидермиса, межклеточный отек отсутствует или минимален, количество эпидермальных клеток Лангерганса повышено, а гистиоциты доминируют в дерме, где также увеличивается количество эозинофильных лейкоцитов [16].

Патогенетическое лечение АтД должно действовать на все звенья патологического процесса, лежащего в основе заболевания, и предполагает комплекс мероприятий, направленных на устранение контакта с виновным аллергеном и триггерными факторами, ступенчатый подход к наружной терапии, фармакотерапию, а также аллерген-специфическую иммунотерапию. Наружная терапия является важнейшей составной частью лечения больных АтД и направлена на купирование проявлений кожного воспаления, устранение зуда, восстановление поврежденного эпителия и улучшение барьерных функций кожи. Большинство существующих на сегодняшний день схем наружной терапии основано на принципе использования топических ГКС в период обострения заболевания АтД и использования средств по уходу за кожей в период ремиссии заболевания [17]. В последнее время все чаще выявляются случаи тяжелого течения АтД, резистентного к традиционной наружной терапии, отмечается увеличение потребности в ГКС, длительное применение которых в ряде случаев является необходимым. Однако имеются существенные сомнения в полной безопасности их применения, в особенности длительного, ввиду нежелательных побочных эффектов, в первую очередь местных: атрофия кожи, появление телеангиоэктазий, гипопигментации, акне, а также системных эффектов: угнетение гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, повышение риска развития глаукомы, катаракты и синдрома Кушинга. В этой связи актуальной является проблема поиска альтер-

нативных методов наружной терапии АтД. Это обстоятельство обосновывает включение в комплексную терапию АтД иммуностропных препаратов оказывающих воздействие на иммунное воспаление в коже. В качестве такого средства может быть использован пептидный тимомиметик крем тимоген 0,05 % (альфа-глутамил-триптофан).

Ранее проведенные исследования установили модулирующее действие крема тимоген на продукцию цитокинов. Так, исходно повышенный уровень цитокинов ИЛ-1 α , ИЛ-8 и фактора некроза опухоли α (ФНО α) в крови снижался под влиянием тимогена, в то время как при относительно низком исходном содержании этих цитокинов их концентрация в крови возрастала. Также выявлено его стимулирующее влияние на дифференцировку Т-лимфоцитов, опосредующих гиперчувствительность замедленного типа, усиление эффекторной активности Т-лимфоцитов в реакциях трансплантационного иммунитета [18].

Поскольку при АтД кожа является органом-мишенью аллергического воспаления, углубленное изучение именно локального иммунного ответа может оказаться наиболее информативным и позволит определить иммунные маркеры активности воспаления на разных стадиях заболевания и выявить критерии эффективности проводимой терапии, в особенности наружными препаратами.

Целью исследования явилось изучение клинической эффективности наружной иммуностропной терапии кремом тимоген 0,05% и ее влияние на некоторые иммунологические параметры в коже крови больных АтД.

Материалы и методы исследования

В исследование включены 40 человек, из них 23 женщины в возрасте от 17 до 50 лет и 17 мужчин в возрасте от 20 до 32 лет.

Группу больных АтД составили 20 человек в возрасте от 16 до 48 лет. Диагноз АтД был установлен согласно критериям Hanifin и Rajka [19], модифицированным отечественными авторами и отраженным в Российском национальном согласительном документе по АтД [1]. У 16 пациентов (80%) дебют АтД отмечался в возрасте до 2 лет, при этом длительность заболевания составляла от 15 до 48 лет, частота обострений составляла от 3 до 5 раз в год, у 9 (45%) больных заболевание носило торпидный характер с кратковременными периодами улучшения длительностью до 1 мес. При поступлении все больные АтД находились в фазе обострения основного заболевания. Всем пациентам было проведено клинико-лабораторное аллергологическое и иммунологическое обследование.

Группу контроля составили 20 человек (практически здоровые лица без признаков атопии в возрасте от 19 до 32 лет).

довании кожи в острой стадии АтД в эпидермисе выявляют различной степени выраженности гиперкератоз, спонгиоз, внутриклеточный отек кератиноцитов и умеренную гиперплазию эпидермиса, в дерме — периваскулярные инфильтраты различной степени плотности, расширение сосудов поверхностной сети, отек эндотелия капилляров и в меньшей степени — его гиперплазию. Дермальный инфильтрат в острой стадии состоит преимущественно из лимфоцитов с небольшим количеством гистиоцитов (дермальных макрофагов), эозинофильные и нейтрофильные лейкоциты встречаются редко. Тучные клетки обычно обнаруживаются в различных стадиях дегрануляции. Однако данные о состоянии этой клеточной популяции в коже при АтД малочисленны. Найдено некоторое снижение их числа в кожном биоптате при тяжелом течении заболевания, что связывают с активацией дегрануляции и разрушением клеток [15]. В хронической стадии болезни более выражены гиперкератоз и гиперплазия эпидермиса, межклеточный отек отсутствует или минимален, количество эпидермальных клеток Лангерганса повышено, а гистиоциты доминируют в дерме, где также увеличивается количество эозинофильных лейкоцитов [16].

Патогенетическое лечение АтД должно действовать на все звенья патологического процесса, лежащего в основе заболевания, и предполагает комплекс мероприятий, направленных на устранение контакта с виновным аллергеном и триггерными факторами, ступенчатый подход к наружной терапии, фармакотерапию, а также аллерген-специфическую иммунотерапию. Наружная терапия является важнейшей составной частью лечения больных АтД и направлена на купирование проявлений кожного воспаления, устранение зуда, восстановление поврежденного эпителия и улучшение барьерных функций кожи. Большинство существующих на сегодняшний день схем наружной терапии основано на принципе использования топических ГКС в период обострения заболевания АтД и использования средств по уходу за кожей в период ремиссии заболевания [17]. В последнее время все чаще выявляются случаи тяжелого течения АтД, резистентного к традиционной наружной терапии, отмечается увеличение потребности в ГКС, длительное применение которых в ряде случаев является необходимым. Однако имеются существенные сомнения в полной безопасности их применения, в особенности длительного, ввиду нежелательных побочных эффектов, в первую очередь местных: атрофия кожи, появление телеангиоэктазий, гипопигментации, акне, а также системных эффектов: угнетение гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, повышение риска развития глаукомы, катаракты и синдрома Кушинга. В этой связи актуальной является проблема поиска альтер-

нативных методов наружной терапии АтД. Это обстоятельство обосновывает включение в комплексную терапию АтД иммуностропных препаратов, оказывающих воздействие на иммунное воспаление в коже. В качестве такого средства может быть использован пептидный тимомиметик крем тимоген 0,05 % (альфа-глутамил-триптофан).

Ранее проведенные исследования установили модулирующее действие крема тимоген на продукцию цитокинов. Так, исходно повышенный уровень цитокинов ИЛ-1 α , ИЛ-8 и фактора некроза опухоли α (ФНО α) в крови снижался под влиянием тимогена, в то время как при относительно низком исходном содержании этих цитокинов их концентрация в крови возрастала. Также выявлено его стимулирующее влияние на дифференцировку Т-лимфоцитов, опосредующих гиперчувствительность замедленного типа, усиление эффекторной активности Т-лимфоцитов в реакциях трансплантационного иммунитета [18].

Поскольку при АтД кожа является органом-мишенью аллергического воспаления, углубленное изучение именно локального иммунного ответа может оказаться наиболее информативным и позволит определить иммунные маркеры активности воспаления на разных стадиях заболевания и выявить критерии эффективности проводимой терапии, в особенности наружными препаратами.

Целью исследования явилось изучение клинической эффективности наружной иммуностропной терапии кремом тимоген 0,05% и ее влияние на некоторые иммунологические параметры в коже и крови больных АтД.

Материалы и методы исследования

В исследование включены 40 человек, из них 23 женщины в возрасте от 17 до 50 лет и 17 мужчин в возрасте от 20 до 32 лет.

Группу больных АтД составили 20 человек в возрасте от 16 до 48 лет. Диагноз АтД был установлен согласно критериям Hanifin и Rajka [19], модифицированным отечественными авторами и отраженным в Российском национальном согласительном документе по АтД [1]. У 16 пациентов (80%) дебют АтД отмечался в возрасте до 2 лет, при этом длительность заболевания составляла от 15 до 48 лет, частота обострений составляла от 3 до 5 раз в год, у 9 (45%) больных заболевание носило торпидный характер с кратковременными периодами улучшения длительностью до 1 мес. При поступлении все больные АтД находились в фазе обострения основного заболевания. Всем пациентам было проведено клинико-лабораторное аллергологическое и иммунологическое обследование.

Группу контроля составили 20 человек (практически здоровые лица без признаков атопии в возрасте от 19 до 32 лет).

Всем больным АД проведено лечение обострения АД: антигистаминная терапия, местная увлажняющая терапия, непрерывный курс лечения кремом тимоген 0,05% в течение 14 дней. На протяжении всего периода исследования больные АД не получали ни системные, ни топические ГКС. Пациенты наносили препарат на все пораженные участки кожи 2 раза в день тонким слоем. Эффективность терапии кремом тимоген 0,05% оценивали на ограниченном участке пораженной кожи верхних или нижних конечностей размером 10×10 см.

Материалом для исследования служили образцы кожных биоптатов, взятые методом пункционной биопсии, и периферическая кровь больных АД и здоровых доноров. Забор материала у больных АД проводили до лечения в период обострения и на 14-й день лечения кремом тимоген 0,05%, а у здоровых доноров однократно.

Пункционную биопсию производили в асептических условиях с помощью одноразового стерильного пробойника диаметром 3 мм (Stumpp Medizintechnik GmbH, Германия) под местной анестезией 2% раствором лидокаина гидрохлорида. Экспрессию генов цитокинов в коже и периферической крови больных АД определяли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Для выделения клеток из периферической крови и кожи использовали твердотельный термостат «Термит» производства компании «ДНК-Технологии» (Россия). Для постановки обратной транскрипции использовали твердотельный термостат «Гном» производства компании «ДНК-Технологии» (Россия). Постановку полимеразной цепной реакции в реальном времени проводили на детектирующем термоциклере «ДТ-96» «ДНК-Технологии» (Россия). Учет результатов реакции осуществляется автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с детектирующим амплификатором. В биологических образцах, содержащих мРНК исследуемого цитокина, программа фиксирует положительный результат и определяет значение индикаторного цикла (Cp). Уровень экспрессии исследуемого цитокина измеряли в относительных единицах.

Проводили оценку экспрессии генов в клетках кожи и периферической крови следующих цитокинов: ИЛ-1β, ИЛ-2, ИЛ-2γ, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12α, ИЛ-12β, ИЛ-15, ИЛ-15SP, ИЛ-17α, ИЛ-18, ИЛ-23, ИЛ-28, ИЛ-29, IFNG, TNF, TGFB, FOXP3.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0».

Клиническую эффективность крема тимоген 0,05% оценивали на основании изменения исследовательской глобальной оценки (IGA – Investigators' Global Assessment) по 6-балльной шкале, где 0 баллов – чистая кожа (без признаков воспаления),

1 балл – почти чистая кожа (едва определяемая эритема, единичные папулы), 2 балла – легкий АД (слабая эритема, папулы, инфильтрация), 3 балла – среднетяжелый АД (умеренная эритема, умеренно выраженные папулы), 4 балла – тяжелый АД (выраженная эритема, инфильтрация, папулы), 5 баллов – очень тяжелый АД (выраженная эритема, тяжелая инфильтрация, папулы с образованием корочек), субъективной оценки интенсивности зуда и сухости кожи по 4-балльной шкале по отношению к исследуемому участку кожи.

Результаты и обсуждение

В основную группу были включены 20 человек, страдающих АД, осложненным вторичной инфекцией, у всех пациентов поражение кожи носило распространенный характер с локализацией на лице, шее, спине, груди и сгибательной поверхности лучезапястных, локтевых и коленных суставов, отмечалось присоединение вторичной инфекции в виде мокнутия, фолликулита, присутствовал зуд от умеренного до сильного, усиливающийся в ночное время суток. Среднее значение индекса исследовательской глобальной оценки у больных АД (n=20) при поступлении в период обострения составило $3,2 \pm 2,1$, индекса зуда – $2,5 \pm 2,1$, индекса сухости кожи – $3,1 \pm 1,7$.

Эффективность крема тимоген 0,05% у больных АД

На фоне проводимой терапии кремом тимоген 0,05% у большинства больных АД в течение 14 дней отмечалось значительное уменьшение основных симптомов заболевания: зуда, сухости кожи, площади поражения кожи, количества высыпаний, что отразилось в достоверном уменьшении средних значений индекса исследовательской глобальной оценки до $1,8 \pm 1,5$, субъективных оценок зуда и сухости кожи – $1,6 \pm 1,2$ и $2,2 \pm 1,4$ ($p < 0,05$ по критерию Уилкоксона) (рис. 1).

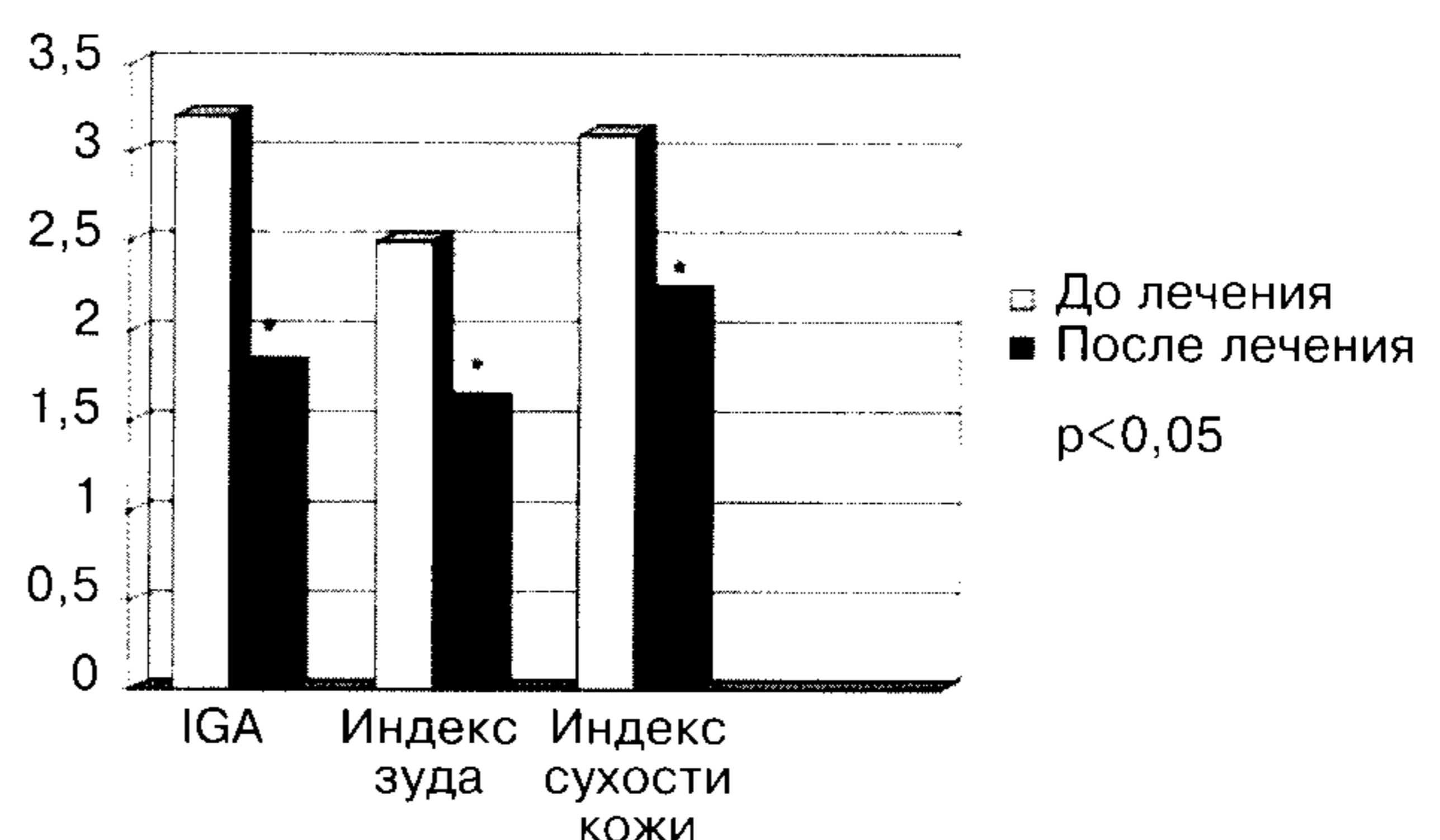


Рис. 1. Клиническая эффективность крема тимоген 0,05%.

* – ($p < 0,05$ по критерию Уилкоксона).

По оси абсцисс: критерии оценки клинической эффективности крема тимоген 0,05%, по оси ординат – шкала в баллах

Таким образом, использование крема тимоген 0,05% приводит к уменьшению основных симптомов АТД, а именно к уменьшению сухости, интенсивности зуда, площади поражения кожи, что свидетельствует о противовоспалительных, противозудных и увлажняющих свойствах препарата и о его эффективности при АТД.

Влияние крема тимоген 0,05% на экспрессию генов цитокинов в коже и периферической крови больных АТД

При сравнении показателей экспрессии генов цитокинов в коже до лечения и после лечения кремом тимоген 0,05% в течение 14 дней отмечено достоверное увеличение уровня экспрессии гена цитокина ИЛ-7 ($p=0,047$), уменьшение экспрессии генов ИЛ-8 ($p=0,009$) и ИЛ-5 ($p=0,047$) в коже больных АТД по сравнению с теми же показателями до начала лечения. При сравнении данных показателей у больных АТД после лечения и у здоровых доноров достоверных различий не выявлено ($p>0,05$ по критерию Манна-Уитни) (рис. 2).

ле лечения, приблизившихся к показателям здоровых доноров. Крем тимоген 0,05% обладает иммуноотропной активностью, влияет на экспрессию генов цитокинов в коже больных АТД и приводит к клиническому улучшению течения заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Российский национальный согласительный документ по atopическому дерматиту. Под ред. Р.М. Хаитова, А.А. Кубановой. Атопический дерматит: рекомендации для практических врачей. М., «Фармарус Принт». 2002, 24 с.
2. Hogan A.D., Burks A.W. Epidermal Langerhans cells and their function in the skin immune system. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 1995, v. 71 (1), p. 5-10.
3. Hauser C. The interaction between Langerhans cells and CD4⁺ T-cell. *J. Dermatol.* 1992, v. 19 (11), p. 722-725.
4. Robert C., Kupper T.S. Inflammatory skin diseases, T-cell, and immune surveillance. *N. Engl. J. Med.* 1999, v. 341, p. 1817-188.
5. Agace W.W., Higgins J.M., Sadasivan B. et al. T-lymphocyte – epithelial cell interactions: integrin α Eb7, LEEP-CAM and chemokines. *Curr. Opin. Cell Biol.* 2000, v. 12, p. 563-568.
6. Кунгуров Н.В. Иммунологические аспекты atopического дерматита. *Вестн. дерматол.* 1999, № 6, с. 14-17.

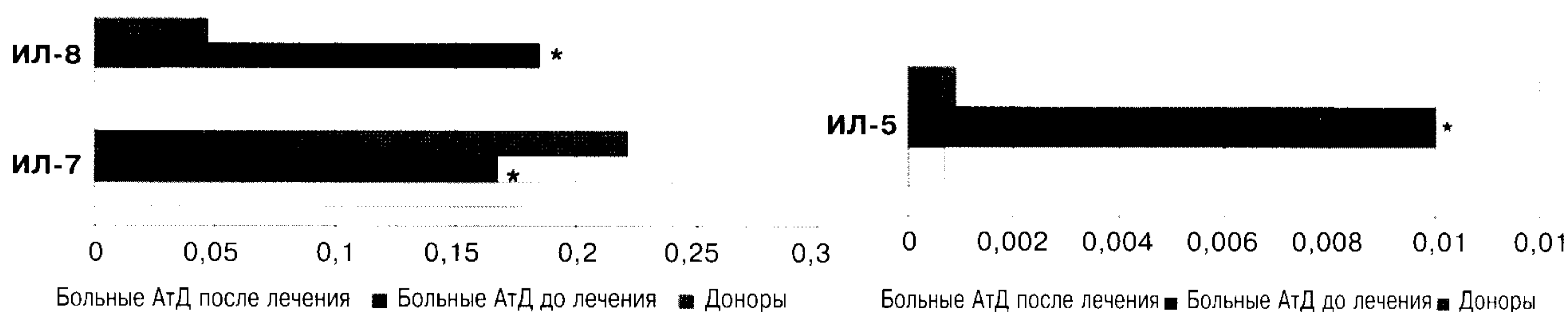


Рис. 2. Сравнение экспрессии генов цитокинов в коже больных АТД и здоровых доноров до и после лечения кремом тимоген 0,05%.

По оси абсцисс – значения экспрессии генов цитокинов в коже, по оси ординат – исследуемые цитокины

В периферической крови больных АТД до и после лечения кремом тимоген 0,05% различий в показателях экспрессии генов цитокинов не отмечено.

Таким образом, в результате проведенного исследования показано, что при сравнении экспрессии генов цитокинов в коже больных АТД до и после лечения кремом тимоген 0,05% отмечается уменьшение экспрессии генов цитокинов ИЛ-5 и ИЛ-8, которые являются маркерами хронического воспаления, и увеличение экспрессии гена регуляторного цитокина ИЛ-7, выявлена тенденция к нормализации данных показателей у больных АТД пос-

7. Elkord E. Role of regulatory T-cells in allergy: implications for therapeutic strategy. *Inflamm. Allergy. Drug Targets.* 2006, v. 5 (4), p. 211-217.
8. Leung D. Pathogenesis of atopical dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1999, v. 104, p. 99-108.
9. Reinhold U. et al. Cytokine release from cultured peripheral blood mononuclear cells of patients with severe atopical dermatitis. *Acta Derm. Venereol. (Stockh.).* 1989, v. 69, p. 497-502.
10. Leung D. Atopic dermatitis: the skin as a window into the pathogenesis of chronic allergic disease. *J. All Clin. Immunol.* 1995, v. 96, p. 312-319.
11. Komine M. Analysis of the mechanism for the development of allergic skin inflammation and the application for its

- treatment: keratinocytes in atopic dermatitis – their pathogenic involvement. *J. Pharmacol Sci.* 2009, v. 110 (3), p. 260-264.
12. Weller P.F. Role of eosinophils in allergy. *Curr. Opin Immunol.* 1999, v. 4, p. 782-787.
 13. Mudde G.C., Van Reijssen F.C., Boland G.J. et al. Allergen presentation by epidermal Langerhans cells from patients with atopic dermatitis is mediated by IgE. *Immunol.* 1990, v. 69, p. 41, 335.
 14. Leung D. Pathogenesis of atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1999, v. 104, p. 99-108.
 15. Leung Y.M., Soter N.A. Cellular and immunologic mechanisms in atopic dermatitis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2001, v. 44, p. 1-12.
 16. Hogan A.D., Burks A.W. Epidermal Langerhans cells and their function in the skin immune system. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1995, v. 71 (1), p. 5-10.
 17. Akdis C.A. Review article Diagnosis and treatment of atopic dermatitis in children and adults: European Academy of Allergology and Clinical Immunology. American Academy of Allergy, Asthma and Immunology. PRACTALL Consensus report. *Allergy.* 2006, v. 61, p. 969-987.
 18. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., Малинин В.В. Пептидные тимомиметики. СПб., «Наука». 2000, с. 158.
 19. Hanifin J.M., Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm. Venerol.* 1980, v. 92, p. 44-47.

Статья поступила 18.05.2010 г., принята к печати 01.06.2010 г.
Рекомендована к публикации Пинегиным Б.В.

TOPICAL IMMUNOTHERAPY INFLUENCE ON CITOKINES GENES EXPRESSION IN SKIN AND BLOOD IN ATOPIC DERMATITIS PATIENTS

Filimonova T.M.¹, Elisyutina O.G.¹, Fedenko E.S.¹, Boldyreva M.N.¹, Smirnov V.S.²

¹ Institute of Immunology, Moscow, Russia

² Medical and biological scientific and industrial complex «Cytomed», St. Peterburg, Russia

Key words: atopic dermatitis, immune response, skin biopsies, cytokines genes, topical immune modulators, thymogen

Background. To study the clinical effectiveness of topical immune modulator cream thymogen 0,05% and its influence on some immunological parameters in the skin and blood of atopic dermatitis (AD) patients.

Materials and methods. 40 people were included in the study, who were divided into main (AD patients, n=20) and a control group (healthy donors, n=20). All AD patients received topical treatment with cream thymogen 0,05% during 14 days. Patients applied cream to affected skin 2 times daily. Clinical efficacy of the treatment was assessed by changes of following parameters: investigated global assessment (IGA), subjective evaluation of the itch intensity and skin dryness. Samples of skin biopsies and peripheral blood of AD patients and healthy donors were tested for gene expression of cytokines by polymerase chain reaction in real time.

Results. Topical treatment with cream thymogen 0,05% during 14 days in all AD patients showed positive clinical effect: reduction of dryness and itch. Immunological analysis revealed a significant increasing of cytokine IL-7 gene expression and decreasing of cytokines IL-8, IL-5 genes expression ($p < 0,05$). In the peripheral blood no significant differences of cytokines genes expression before and after the treatment with cream thymogen 0,05% in comparison with healthy donors have been detected.

Conclusion. Cream thymogen 0,05% showed a local immunomodulating activity resulted in the decreasing of the intensity of skin inflammation and clinical improvement in AD patients. Changes of cytokines genes expression in skin, but not in blood were identified.