

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ  
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

*На правах рукописи*



Слюсарева Елена Сергеевна

**Маркеры системного оксидативного и нитрозативного стресса  
у детей с атопическим дерматитом**

14.01.08 – Педиатрия

14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук, доцент

Кудрявцева Ася Валерьевна

доктор медицинских наук, профессор

Дудникова Элеонора Васильевна

Москва – 2022

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|  |           |
|--|-----------|
| ВВЕДЕНИЕ.....  | 4         |
| <b>ГЛАВА 1. АТОПИЧЕСКИЙ ДЕРМАТИТ: СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ</b>  |           |
| <b>ЭТИОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕЗА .....</b>  | <b>12</b> |
| 1.1. Атопический дерматит: понятие, эпидемиология .....  | 12        |
| 1.2. Этиология и патофизиология атопического дерматита .....   | 12        |
| 1.2.1. Кожный барьер и его защитная функция .....  | 13        |
| 1.2.2. Роль филлагрина в патогенезе атопического дерматита.....  | 17        |
| 1.2.3. Иммунопатогенез атопического дерматита.....   | 19        |
| 1.2.4. О роли иммуноглобулина Е в патогенезе атопического дерматита .....  | 21        |
| 1.2.5. Патофизиология зуда при атопическом дерматите .....   | 22        |
| 1.3. Окислительный стресс.....   | 25        |
| 1.3.1. Роль активных форм кислорода в развитии окислительного стресса .....  | 25        |
| 1.3.2. Роль окислительного стресса в патогенезе атопического дерматита.....  | 27        |
| 1.4. Синтазы оксида азота: биологические эффекты, роль в развитии<br>заболеваний.....  | 33        |
| <b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....</b>  | <b>38</b> |
| 2.1. Дизайн исследования .....   | 38        |
| 2.2. Методы исследования.....  | 41        |
| 2.2.1. Клинико-anamnestическая характеристика .....  | 42        |
| 2.2.2. Иммунологическое обследование .....   | 45        |
| 2.2.3. Исследование показателей окислительного статуса .....   | 45        |
| 2.2.4. Экстракция дезоксирибонуклеиновой кислоты и исследование на<br>полиморфные маркеры (Glu298Asp (rs1799983), C774T (rs1549758), T786C<br>(rs2070744)) в гене эндотелиальной синтазы оксида азота..... | 47        |
| 2.2.5. Статистические методы анализа.....  | 47        |
| <b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....</b>   | <b>50</b> |
| 3.1. Клиническая характеристика пациентов с атопическим дерматитом.....  | 50        |
| 3.1.1. Общая характеристика пациентов с атопическим дерматитом.....  | 50        |

|  |     |
|--|-----|
| 3.1.2. Особенности распределения пациентов с атопическим дерматитом по группам.....  | 51  |
| 3.1.3. Роль отдельных клинико-anamнестических факторов в формировании тяжелых форм атопического дерматита .....                                      | 57  |
| 3.2. Характеристика иммунного статуса у детей с атопическим дерматитом.....  | 66  |
| 3.2.1. Общая характеристика иммунного статуса у детей с атопическим дерматитом.....  | 66  |
| 3.2.2. . Характеристика иммунного статуса в зависимости от степени тяжести атопического дерматита .....  | 68  |
| 3.2.3. Характеристика иммунного статуса у детей в зависимости от клинической формы атопического дерматита.....                                       | 74  |
| 3.3. Изменения уровней циркулирующих биологических перекисей и 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина при атопическом дерматите у детей раннего возраста..... | 80  |
| 3.3.1. Сравнительная характеристика окислительного статуса у детей с атопическим дерматитом и группы контроля .....                                  | 80  |
| 3.4. Ассоциация полиморфизмов гена синтазы оксида азота и формирования клинических форм атопического дерматита у детей.....                          | 88  |
| 3.5. Модель прогнозирования тяжести течения атопического дерматита у детей раннего возраста.....   | 91  |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....   | 95  |
| ВЫВОДЫ .....   | 103 |
| ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....   | 105 |
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....  | 106 |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....   | 108 |

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность исследования

Атопический дерматит (АтД) – распространенное воспалительное заболевание кожи, часто дебютирующее в раннем возрасте [96]. Рост заболеваемости, рецидивирующее течение, нарушение качества жизни пациентов и членов их семей определяют социальную значимость АтД [40, 58, 73, 83].

В основе патогенеза АтД лежат: генетическая предрасположенность, повреждение эпидермального барьера и комплекс иммунных и биохимических процессов, обеспечивающих реакцию воспаления [53, 58].

Метаболическая активность организма в норме сопровождается появлением активных форм кислорода (АФК), при АД происходит чрезмерное накопление АФК, развивается окислительный стресс, в условиях которого повреждаются клеточные структуры и дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) [98, 117].

Самым окисляемым основанием, в структуре ДНК является гуанин, 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин (8-OHdG) – побочный продукт его повреждения. Эндотелиальная синтаза оксида азота (eNOS) – фермент, синтезирующий оксид азота (NO) в низких концентрациях и участвующий в процессах репарации кожи [82].

Работы отечественных [36, 98] и зарубежных авторов [136, 185] посвящены роли АФК в патогенезе АтД, однако исследований, отражающих комплексный подход с изучением интегрального показателя окислительного стресса, продуктов повреждения ДНК, полиморфизмов гена eNOS у детей в зависимости от тяжести течения АтД, клинической формы заболевания с целью формирования более полного представления о данной патологии и прогнозирования развития тяжелых форм, в доступной литературе нет, что и определило актуальность настоящего исследования.

## **Степень разработанности темы исследования**

Несмотря на большое количество исследований, посвященных изучению патогенеза заболевания, в настоящее время нет четких представлений о факторах риска формирования клинико-морфологических форм прогрессирующего течения АтД у детей в возрасте от 1 года до 3-х лет, не выявлены особенности показателей адаптивного и гуморального иммунитета у детей с тяжелым прогрессирующим течением АтД данной возрастной группы, не определены изменения показателей окислительного статуса (8-OHdG, циркулирующих биологических перекисей (ЦБП)) у детей этого возраста с различной тяжестью течения атопического дерматита, в зависимости от клинической формы заболевания, также не определены ассоциации распределения аллелей гена eNOS (Glu298Asp (rs1799983), C774T (rs1549758) и T786C (rs2070744)) с формированием определенных клинических форм АтД у детей в возрасте с 1—3 лет; нет разработанной модели прогнозирования прогрессирующего течения АтД у детей раннего возраста.

Вышеизложенное позволило нам сформулировать цель и задачи настоящего исследования.

### **Цель исследования**

Оценить роль окислительного и нитрозативного стресса в развитии прогрессирующего течения атопического дерматита у детей раннего возраста.

## Задачи исследования

1. Выявить факторы риска формирования клинико-морфологических форм прогрессирующего течения атопического дерматита у детей в возрасте от года до трех лет.
2. Выявить особенности показателей адаптивного клеточного (CD3+/CD45+; CD3+CD4+/CD45+, CD3+CD8+/CD45+; CD19+/CD45+, CD16+56+/CD45+) и гуморального иммунитета (иммуноглобулин А, иммуноглобулин М, иммуноглобулин G, иммуноглобулин Е, циркулирующие иммунные комплексы)) у детей в возрасте от одного года до трех лет с атопическим дерматитом.
3. Оценить изменения показателей окислительного стресса (8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина, циркулирующих биологических перекисей) у детей в возрасте от одного года до трех лет с различной тяжестью течения атопического дерматита в зависимости от клинической формы заболевания.
4. Выявить ассоциации распределения аллелей гена эндотелиальной синтазы оксида азота (Glu298Asp (rs1799983), C774T (rs1549758) и T786C (rs2070744)) с определенной клинической формой атопического дерматита у детей в возрасте от одного года до трех лет.
5. Разработать прогностическую модель прогрессирующего течения атопического дерматита у детей раннего возраста.

## Научная новизна

Впервые выявлены изменения уровней ЦБП в виде повышения в периоде обострения, снижения показателя в периоде ремиссии с сохранением более высоких показателей, чем в группе контроля у детей первых трех лет жизни с АтД.

Впервые определено, что эритематозно-сквамозная с лихенизацией (ЭРСЛ) форма АтД характеризуется наиболее высокими показателями ЦБП в периоде

обострения, по сравнению с экссудативной (ЭКС) и эритематозно-сквамозной без лихенизации (ЭРС).

Впервые установлено, что дети первых трех лет жизни с ЭКС формой АтД демонстрируют наиболее низкие показатели ЦБП в периоде обострения, по сравнению с ЭРСЛ и ЭРС формами.

Впервые установлена прямая корреляционная связь между количественным содержанием 8-OHdG в сыворотке крови и оценкой выраженности клинических проявлений АтД с помощью индекса SCORAD у детей первых трех лет жизни.

Впервые продемонстрирована ассоциация гомозиготного генотипа СС в локусе -786 гена эндотелиальной синтазы оксида азота с развитием у пациентов хронической формы (ЭРСЛ) АтД.

Впервые проведена оценка риска развития тяжелого течения АтД у детей раннего возраста путем разработанной математической модели, включающей количественное содержание ЦБП, уровень 8-OHdG, иммунореактивный индекс (ИРИ), уровень иммуноглобулина А (IgA) в сыворотке крови и площадь поражения кожных покровов.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Среди детей с АтД выделены варианты прогрессирующего течения заболевания на основании клинических проявлений, данных окислительного статуса (ЦБП, 8-OHdG), что позволит усовершенствовать контроль течения заболевания.

Гомозиготный генотип СС в локусе -786 гена eNOS может рассматриваться в качестве маркера риска формирования хронического течения АтД у детей.

Персонифицированная модель прогнозирования клинического течения АтД у детей раннего возраста, может быть использована для определения риска формирования определенного варианта течения заболевания у конкретного пациента.

## **Методология и методы исследования**

Методологическая основа данного исследования спланирована согласно цели и включает последовательное применение методов научного исследования с целью решения поставленных задач.

Объектом исследования явились пациенты с АтД (n=126) и дети группы контроля (n=39) первых трех лет жизни.

67 пациентам с АтД в периоде обострения, затем в периоде ремиссии было проведено лабораторное исследование с определением общего клинического анализа крови, проведением иммунологического обследования, определения показателей окислительного статуса.

Экстракция ДНК и исследование на полиморфные маркеры в гене eNOS проводилась однократно 59 детям, страдающим АтД и в группе контроля.

Сравнение полученных данных было проведено с использованием параметрических и непараметрических методов статистики.

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

1. У детей раннего возраста с АтД в периоде обострения при легком, среднетяжелом и тяжелом течении заболевания установлено достоверное снижение Т-цитотоксических клеток, низкий уровень IgA на фоне гиперпродукции общего иммуноглобулина Е (IgE).

2. Показатели окислительного статуса (уровни ЦБП и 8-OHdG) у детей первых трех лет жизни изменяются при различной тяжести течения, клинической форме АтД, что позволяет рассматривать их в качестве критериев оценки и прогнозирования тяжести течения АтД.

3. Статистически значимая ассоциация гомозиготного генотипа CC в локусе -786 гена eNOS может рассматриваться в качестве фактора, повышающего риск развития ЭРСЛ формы АтД.



4. Использование в практической деятельности модели прогнозирования тяжести течения АтД у детей раннего возраста, позволяет определить предположительный вариант течения АтД у конкретного пациента в будущем.

#### **Степень достоверности и апробация результатов исследования**

Основные результаты исследования были доложены на научной конференции «Молекулярно-генетические подходы в таксономии и экологии» (2013), 67-й Итоговой научной конференции молодых ученых (г. Ростов-на-Дону, 2013), научно-практической конференции педиатров Юга России «Актуальные вопросы педиатрии», посвященной 85-летию д.м.н., профессора, Заслуженного врача Российской Федерации Г.В. Хорунжего (г. Ростов-на-Дону, 2014), международной научно-практической конференции «Проблемы медицины в современных условиях» (г. Казань, 2014), IV Съезде АДАИР (г. Москва, 2018), V Московском городском съезде педиатров "Трудный диагноз в педиатрии (г. Москва, 2019), Конгрессах Европейской Академии аллергологии и клинической иммунологии (г. Лиссабон, Португалия, 2019; г. Краков, Польша 2021), Научно-практической конференции с международным участием «175 лет со дня рождения профессора Н.Ф. Филатова. Храним традиции и развиваем технологии» (г. Москва, 2022), Конференции кафедры детских болезней Сеченовского университета (г. Москва, 2022).

Апробация диссертации состоялась на заседании кафедры детских болезней Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (г. Москва, 12.05.2022, протокол №12).

## **Внедрение результатов диссертации в практику**

Результаты диссертации внедрены в практику диагностической работы пульмонологического отделения Государственного бюджетного учреждения Ростовской области «Областная детская клиническая больница», амбулаторно-поликлинического отделения №4 — «Центр Детского Здоровья» Муниципального бюджетного учреждения здравоохранения «Клинико-диагностический центр «Здоровье» города Ростова-на-Дону»; в учебный процесс кафедры педиатрии и неонатологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

## **Личный вклад автора**

Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования, анализе, обобщении и научном обосновании полученных результатов. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: при постановке задач, их реализации, сборе материала, статистической обработке и анализе полученных данных, обсуждении результатов в научных публикациях и докладах и их внедрении в практику.

## **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Тема и научные положения диссертации соответствуют паспорту научных специальностей 14.01.08 – Педиатрия и 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования данных специальностей.

## **Публикации**

По результатам исследования автором опубликовано 5 работ, в том числе 3 научные статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 1 статья в издании, индексируемом в международной базе Scopus, а также 1 обзорная статья.

## **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 130 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Список литературы включает 208 источников, из них 99 отечественных и 109 зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 11 таблицами и 36 рисунками.

# ГЛАВА 1. АТОПИЧЕСКИЙ ДЕРМАТИТ: СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ЭТИОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕЗА

## 1.1. Атопический дерматит: понятие, эпидемиология

АтД – заболевание кожи, которое характеризуется зудом, хроническим рецидивирующим течением, возрастными особенностями локализации и морфологии очагов поражения [30, 63, 73, 83]. Патогенетическую основу АтД составляют генетическая предрасположенность, повреждение эпидермального барьера и комплекс иммунных и биохимических процессов, инициирующих воспаление [4, 26, 39, 53, 58, 71, 89].

АтД – встречается у людей разного возраста, пола, в различных странах и является тяжким бременем для пациентов и членов их семей в связи с непредсказуемым течением болезни, поражением кожных покровов, наличием зуда, расчесов, с возможностью формирования нарушений сна, развития поведенческих расстройств.

Распространенность АтД неуклонно растет во всем мире, и достигает в промышленно развитых странах 20% среди детского населения [179].

Согласно данным федерального статистического наблюдения (2010—2018 гг.), в 2018 году распространенность АтД среди всего населения Российской Федерации была равна 426,3, заболеваемость — 188,2 на 100 тысяч населения.

Среди детей в возрасте от 0 до 14 лет в 2018 г. показатель распространенности составлял 1589, а заболеваемости достигал 774 на 100 тысяч соответствующего населения, при этом самые высокие показатели распространенности наблюдались у детей младшего возраста [39, 40].

## 1.2. Этиология и патофизиология атопического дерматита

Исследования в области этиологии и патофизиологии АтД позволили выделить основные механизмы его развития, в числе которых можно выделить

генетическую предрасположенность, иммунную дисрегуляцию, нарушение кожного барьера и микробиома кожи, экологические причины [21, 22, 26, 40, 53, 126, 151].

Реализация наследственной предрасположенности к развитию АД зависит от многих экзогенных и эндогенных факторов, в числе которых воздействие аллергенов (преимущественно пищевых), контактных раздражителей, факторов внешней среды, аэрополлютантов, бытовых вредностей, нерационального вскармливания в младенчестве и других [145, 146, 150].

В настоящее время исследования позволили выявить некоторые гены, выполняющие патогенетическую роль при АД, при этом одни из них кодируют белки, регулирующие иммунные реакции, другие – выполняющие роль в структуре эпидермального барьера [5, 53, 106, 108, 122].

Микробиота кожи также очень важна, так, популяция стафилококков, в частности *Staphylococcus aureus*, способна выделять суперантигены, способные инициировать синтез IgE и индуцировать воспаление. Существуют данные о том, что у пациентов с АД снижена продукция кожных антимикробных пептидов, что также усугубляет ситуацию [117].

Таким образом, многие вопросы этиопатфизиологии остаются без ответа и представляет интерес их подробное изучение.

### **1.2.1. Кожный барьер и его защитная функция**

Кожа является органом, покрывающим всю поверхность тела, способным к постоянному обновлению и состоит из трех слоев, составляющих снизу вверх гиподерму, дерму и эпидермис (Рисунок 1.1). Кожный покров выполняет специфические функции защиты, сдерживания, терморегуляции и чувствительности [38, 154].

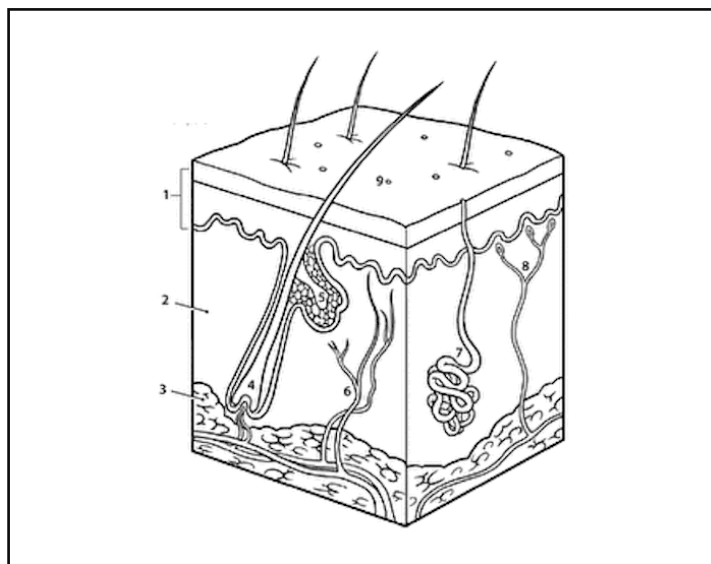


Рисунок 1.1 – Строение кожи

Примечание: 1 – эпидермис, 2 – дерма, 3 – гиподерма

Самым глубоким слоем, лежащим ниже дермы, примыкая к глубокой фасции, покрывающей скелетную мышцу, является гиподерма, он состоит из накопленного жира, рыхлой соединительной ткани [149] и клеток, включающих адипоциты, фибробласты и макрофаги. Гиподерма обеспечивает функции амортизации, терморегуляции и резерва калорий [104].

Следующим слоем, расположенным над гиподермой, является дерма. Дерма состоит из внеклеточного матрикса и коллагеновых и эластиновых волокон, синтезируемых фибробластами. Афферентные нервные окончания и артерии также являются дермальными резидентами.

Функции дермы заключаются в обеспечении тургора, прочности, чувствительности кожи, питания эпидермиса [173, 195].

Дерма содержит иммунные клетки: дермальные и плазмоцитарные дендритные клетки, макрофаги, тучные клетки, гамма дельта Т-клетки (являющиеся основным подмножеством интраэпителиальных лимфоцитов), врожденные лимфоидные клетки [172].

Эпидермис непосредственно покрывает дерму, располагаясь внешне, и является полупроницаемым высокоспециализированным в защите от внешних агентов слоем [202].

Кератиноциты являются основными функциональными и структурными компонентами эпидермального барьера, кроме них в этом слое обнаружены клетки Лангерганса, гамма дельта Т-клетки, резидентные Т-клетки памяти, меланоциты, клетки Меркеля [149, 188]. Во время своего созревания кератиноциты синтезируют и экспрессируют множество различных белков и липидов.

Важную роль в здоровье кожи играет микробиота, благодаря способности модулировать иммунный ответ [118, 174]. Кожная микробиота очень разнообразна и состоит из бактериальных, грибковых и вирусных популяций (важно, что биомасса кожи значительно меньше, относительно таковой в дыхательных путях или кишечнике) [64, 81].

При АтД золотистый стафилококк может вызывать обострения заболевания, при этом колонизация кожи и слизистых оболочек золотистым стафилококком у здоровых людей составляет от 20% до 80%, а у пациентов с АтД достигает 90% [159].

Кожа младенца и взрослого различается как структурно, так и функционально и совершенствование механизмов сохранения и транспортировки воды роговым слоем в сочетании с достижением режима нормальной десквамации занимают годы жизни ребенка.

Физиология кожи динамично меняется в первые годы после рождения, и такие параметры, как содержание воды в роговом слое, рН поверхности кожи и водопроницаемость у детей раннего возраста находятся в процессе дифференцировки.

Роговой слой кожи у младенцев значительно тоньше, чем у взрослых, что может выступать причиной повышенной водопроницаемости [154]. Существуют данные о том, что в коже младенца протеолитические ферменты, влияющие на деградацию корнеодесмосом, действуют гораздо активнее, чем в коже взрослых, что может объяснять зависимые от возраста различия в толщине кожи [156].

Сложное взаимодействие между нарушенным эпидермальным барьером, зудом, воспалением кожи и иммунной дисрегуляцией с учетом генетических и экологических факторов, способствует возникновению, прогрессированию и

хронизации АтД [107, 115, 125]. Пока не ясно, предшествует ли эпидермальная дисфункция иммунной дисрегуляции, или наоборот.

Внешняя теория АтД предполагает, что врожденное повреждение барьерной функции кожи из-за нарушения дифференцировки кератиноцитов облегчает поступление аллергенов с последующей активацией иммунной системы.

С другой стороны, внутренняя теория предполагает, что иммунологический каскад, который происходит в результате активации Th2 в коже приводит к развитию АтД [122, 128].

АтД можно рассмотреть, как двухфазное Т – клеточно-опосредованное заболевание, при котором в острой фазе доминирует передача сигналов Th2 (Рисунок 1.2), в то время как переход от передачи сигналов Th2 к передаче Th1 способствует поддержанию хронического состояния АтД (Рисунок 1.3).

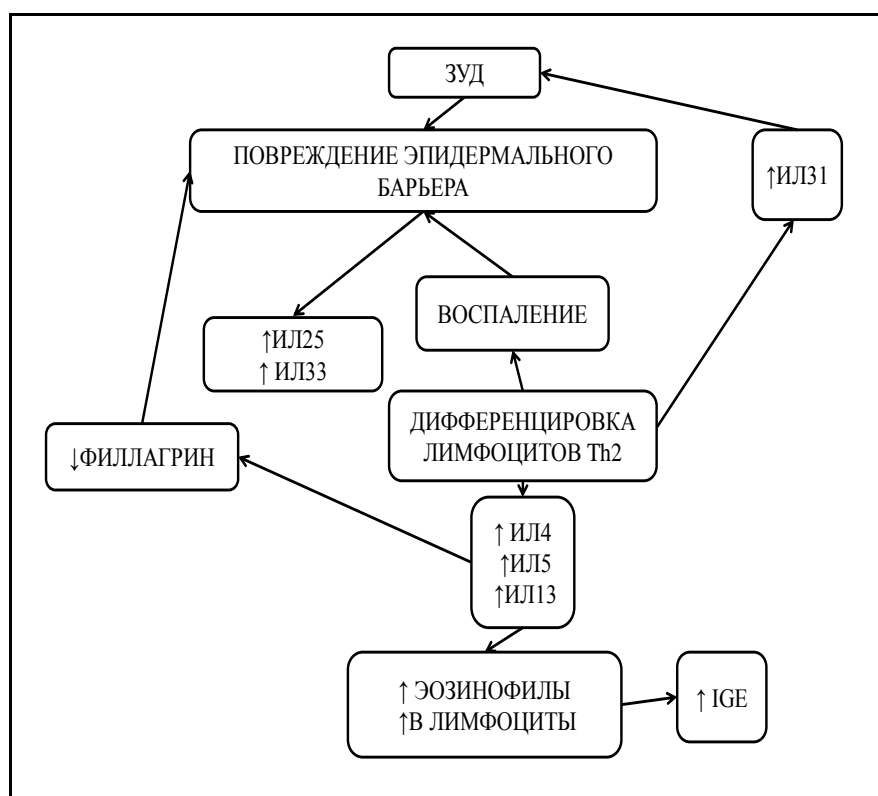


Рисунок 1.2 – Иммунологический каскад при острой фазе атопического дерматита



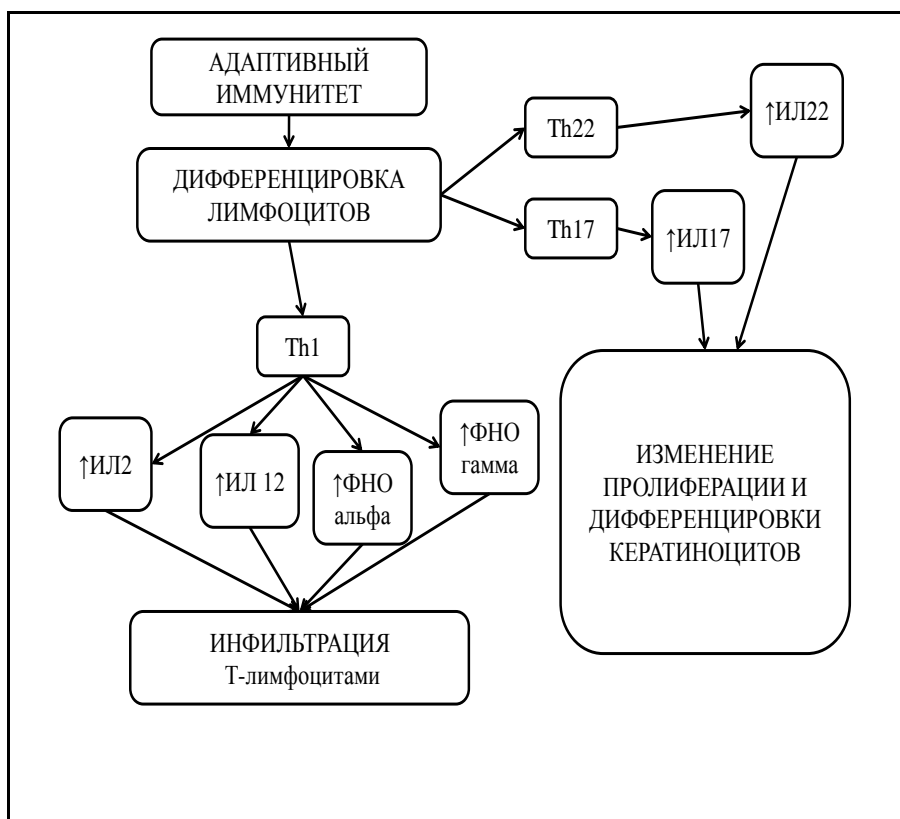


Рисунок 1.3 – Иммунологический каскад при хронической фазе атопического дерматита

### 1.2.2. Роль филлагрина в патогенезе атопического дерматита

АтД – заболевание многофакторной этиологии, фенотип которого является результатом взаимодействия нескольких генов, принадлежащих к системе кожного барьера или иммунной системе, а также факторов окружающей среды [1, 60, 66].

Филлагрин является структурным белком кожи. Ген филлагрина кодирует белок-предшественник – профиллагрин, который подвергается дефосфорилированию и расщеплению с образованием 10—12 копий активного белка филлагрина. Профиллагрин является главным компонентом кератогиалиновых гранул зернистого слоя эпидермиса [126].

Филлагрин, образуя связи с кератином и иными промежуточными белками-филаментами кератинового скелета, формируют тесные связи, в результате чего происходит уплощение клеток на поверхности рогового слоя с образованием чешуек. Он распадается в роговом слое на аминокислоты с высвобождением большого количества гистидина. Гистидин, в свою очередь, метаболизируется в

органические кислоты, которые помогают поддерживать в эпидермисе требуемое значение градиента водородного показателя (рН). Таким образом, мутации с потерей функции филлагрина проявляются в нарушении барьерных функций эпидермиса [135].

Мутации в гене белка-филлагрина, связанные с АтД, располагаются в третьем экзоне и являются мутациями потери функции. Они могут присутствовать только в одной копии гена (гетерозигота) или в обеих копиях (гомозигота). Две разные мутации могут присутствовать у одного и того же человека, образуя сложную гетерозиготу (при этом гетерозигота имеет менее тяжелый фенотип, нежели гомозигота или сложная гетерозигота).

Все мутации обладают эффектом снижения продукции белка филлагрина, но степень снижения зависит от количества мутаций, которые несет индивид, от местоположения на третьем экзоне, от количества копий тандемных повторов, кодирующих этот белок. Wan J. et al. (2017) наблюдали ассоциацию между количеством мутаций в гене филлагрина и ранним дебютом АтД [198].

Взаимодействие между генами, участвующими в поддержании барьерной функции и иммунной регуляции широко не изучалось, тогда как филлагнин остается самым значимым генетическим фактором риска развития АтД, ведь половина пациентов с АтД – обладатели его мутации [5, 16].

Стоит отметить, что АтД может развиваться независимо от мутации гена филлагрина и не все люди, которые несут такие мутации страдают АтД. Эти факты подчеркивают роль иных генов, идентифицированных или еще не идентифицированных, влияния факторов окружающей среды, а также взаимодействия этих факторов в патогенезе АтД.

Wan J. et al. (2017) изучали потенциальное взаимодействие между белком-филлагрином и тимическим стромальным лимфопоэтином – геном, участвующим в созревании антигенпредставляющих клеток, но не нашли доказательств взаимного влияния [198]. Ziyab A.H. et al. (2018) продемонстрировал эпистаз между мутациями белка и гена интерлейкина 4R в развитии аллергической сенсibilизации [207].

Эпигенетические модификации – наследуемые изменения экспрессии генов, которые не связаны с изменением последовательности ДНК и могут возникать из-за воздействия окружающей среды. Высокая наследуемость при АтД (порядка 75%) лишь частично объясняется идентификацией генетических вариантов, включая филлагрин. Считается, что существуют неизвестные, редкие генетические варианты и ожидается, что они будут все чаще определяться с помощью исследований секвенирования экзома и генома.

Эпигенетические механизмы могут быть альтернативным и возможным объяснением отсутствующей наследуемости. Ziyab A.H. et al. (2013) показали, что дифференциальное метилирование ДНК филлагрина - эпигенетический механизм, обеспечивающий в 5,5 раз более высокий риск АтД [208].

Esparza-Gordillo J. et al. (2015) показали эффект родителя-происхождения при АтД в исследовании в европейских семьях. Дети с матерями, обладательницами мутаций филлагрина и аллергической сенсibilизации, имели в 1,5 более высокий риск развития АтД, при этом, риск не зависел от собственного филлагрин статуса ребенка. Таким образом, материнская среда могла напрямую влиять на развитие заболевания у потомства [120].

### **1.2.3. Иммунопатогенез атопического дерматита**

На основании представлений об отдельной специализированной иммунной системе, включающей Т-лимфоциты, мигрирующие эпидермотропные лимфоциты, кератиноциты, клетки Лангерганса (КЛ), Streilein J. в 1978 г. предложил концепцию о кожно-ассоциированной лимфоидной ткани [12, 28, 41, 51, 63, 69, 85, 108, 138].

КЛ происходят из костного мозга, проникая в эпидермис плода уже в первом триместре беременности, их количество увеличивается к моменту родов, составляя у взрослого человека от 2% до 8% всех эпидермальных клеток [9].

КЛ имеют на своей поверхности многочисленные клеточные антигены мембраноассоциированные белки [12, 63], а в цитоплазме содержат характерные

органеллы, по виду напоминающие теннисные ракетки, получившие название «гранулы Бирбека» [12], роль которых заключается в распознавании и презентации антигена [9].

КЛ динамичны, обладают способностью изменять свой поверхностный фенотип, свою локализацию и степень зрелости. Основной функцией КЛ является презентация антигена наивным Т-клеткам эпидермиса, для инициации иммунной реакции [9, 12, 41, 80, 138, 171].

Иммунопатогенез АтД состоит, прежде всего, в изменении дифференцировки Т-лимфоцитов и профиля их цитокиновой секреции. Динамика иммунных реакций обнаруживается преимущественно в Т-клеточном звене на уровне дифференцировки субпопуляций Т-лимфоцитов [41, 63, 79, 138].

Активация Т-хелперов при АтД способствует переключению их в сторону Th2-хелперов и сопровождается повышением продукции специфических Th2-цитокинов – интерлейкина 5, интерлейкина 13 и фактора некроза опухоли – альфа (ФНО - альфа), которые определяют формирование воспалительной реакции [41, 79, 138]. Выраженная дифференцировка Т-хелперов в процессе формирования сенсибилизации определяется как Th1/Th2-парадигма [6, 79, 85].

В инициации иммунного ответа ведущая роль принадлежит кератиноцитам, они, сразу после получения антигенного сигнала, начинают продуцировать тимический стромальный лимфопоэтин в больших количествах, который, в свою очередь, индуцирует миграцию КЛ в лимфатические узлы [79].

Тимический стромальный лимфопоэтин является непосредственным стимулятором Т-клеточной миграции в кожу [41, 79]. Кератиноциты способны к продукции цитокинов (интерлейкина 1, интерлейкина 8, интерлейкина 16, ФНО - альфа и других), что способствует активации клеток иммунной системы. При апоптозе кератиноцитов высвобождаются хемотаксические факторы, что инициирует рекрутинг большого количества Т-клеток в эпидермис [79, 138].

Тканевые базофилы осуществляют мобилизацию иммунной системы в месте локализации патогена. Расположенные в коже тучные клетки имеют на своей поверхности высокоаффинные рецепторы для IgE. Учитывая первичную

сенсibilизацию тучных клеток, полагают, что их регулирующая активность сводится к усилению Th2-зависимого иммунного ответа и привлечению эозинофилов в очаг аллергического воспаления [41, 80, 138, 171].

Эозинофилы выделяют целый ряд активных соединений (главный основной белок, нейротоксин эозинофилов, катионный белок эозинофилов, лизофосфолипазу, миелопероксидазу и другие) [6, 41, 80, 171].

Не менее важно участие в патогенезе АтД моноцитов-макрофагов, которые увеличивают продукцию простагландина E<sub>2</sub>, ингибирующего секреторную активность Th1-клеток, и стимулирует Th2-зависимую продукцию интерлейкина 4, что, в сочетании с уменьшением продукции интерлейкина 10 макрофагами, усугубляет дисбаланс Th1/Th2-клеток [6, 41, 79, 80].

#### **1.2.4. О роли иммуноглобулина E в патогенезе atopического дерматита**

В конце XX в. большинство исследований, касающихся АтД, было посвящено иммунному ответу, была доказана роль IgE-сенсibilизации при этом заболевании [27, 79].

Однако, по мнению некоторых авторов, наличие IgE-сенсibilизации не является необходимым условием для развития клинической манифестации АтД, что привело к введению в практику понятия «IgE-независимый АтД» [27, 43, 74, 79].

Повышение уровней общего и специфических IgE в сыворотке крови является важным диагностическим критерием atopической гиперчувствительности и позволяет установить патогенетический вариант АтД [4].

В настоящее время выделяют IgE-опосредованный внешний тип АтД и внутренний тип АтД, обусловленный T-клеточными реакциями, не связанными с продукцией IgE, обозначаемый как не IgE-опосредованный АтД [4, 43].

IgE-опосредованный АтД характеризуется наличием высокого индекса atopии (то есть выраженным отягощением наследственности аллергическими реакциями и заболеваниями, выявлением у ребенка положительных кожных проб

с экзогенными аллергенами, выявлением малых клинических признаков аллергии), а также активацией CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> лимфоцитов, увеличением продукции интерлейкина 4 и повышением синтеза общего и специфических IgE-антител [4].

У детей с не IgE-опосредованным АтД обнаруживают высокое содержание интерферона гамма и ФНО – альфа в сыворотке крови, нормальные уровни общего IgE и отсутствие в ней специфических IgE [4, 43, 139].

### **1.2.5. Патофизиология зуда при atopическом дерматите**

Диагностика АтД основывается на изучении клинических признаков и симптомов с использованием различных критериев.

Наболее широко используемыми являются диагностические критерии, описанные J. Hanifin и G. Rajka (1980), которые включают в качестве основных факторов для постановки диагноза зуд, экзематозные поражения кожи, хроническое или рецидивирующее течение заболевания АтД [131, 151, 161, 181].

Внешние экзематозные поражения кожи привлекают внимание врача при осмотре, но со стороны пациента первичной жалобой, нарушающей качество жизни, как правило, является зуд. Точечная распространенность хронического зуда при АтД колеблется от 87 до 100%, но фактически все больные страдают от этого симптома [151, 161, 181]. Существуют исследования, выявившие закономерность о возрастании тяжести течения АтД с усилением зуда [145, 183]. Иногда пациенты с АтД испытывают не только зуд, но и болевые ощущения [186].

Динамическую систему, включающую генетическую предрасположенность, активацию иммунных и биологических реакций, воздействие факторов окружающей среды можно представить в качестве «патофизиологического треугольника АтД» (Рисунок 1.4).

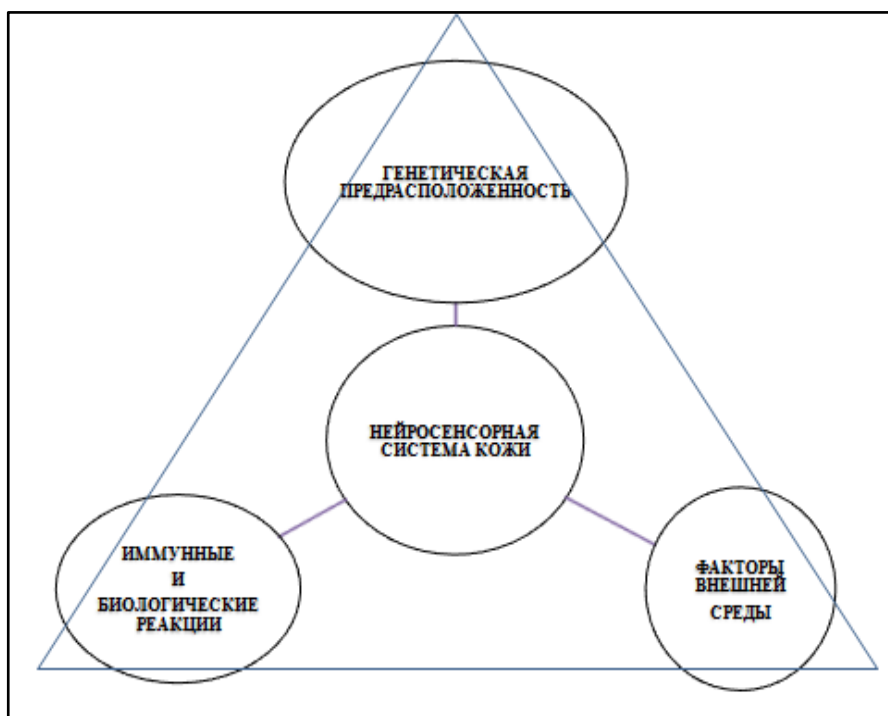


Рисунок 1.4 – «Патофизиологический треугольник при атопическом дерматите»

Дисфункция кожного барьера способствует проникновению аллергенов, раздражителей или микробных агентов внутрь, стимулируя врожденную и адаптивную системы иммунитета.

На фоне стимуляции активируется каскад иммунных и биологических реакций, которые, в свою очередь, оказывая воздействие на эпидермальный барьер, способствуют «открытию пути» для факторов внешней среды [62, 150, 200].

Центральное место в «патофизиологическом треугольнике АтД» занимает нейросенсорная система кожи. Кожные чувствительные нервные окончания, проникают во все слои кожи, включая эпидермис, достигают рогового слоя, располагаясь межклеточном пространстве в непосредственной близости с резидентными клетками кожи, лимфоцитами, тучными клетками, эозинофилами и другими клетками, опосредующими иммунный ответ, что позволяет структурам интенсивно взаимодействовать через множество медиаторов воспаления и рецепторов [62, 112, 205].

Клеточные и гуморальные факторы, инициирующие и поддерживающие процессы воспаления при АтД, играют важную роль в индукции зуда [150, 161, 200].

Афферентные чувствительные нервные волокна из кожи передают зудящий сигнал через клетки спинномозговых ганглиев в их центральные проекции к дорсальным рогам спинного мозга, затем сигнал передается через интернейроны к нервным волокнам латерального спиноталамического тракта, которые переходят на контралатеральную сторону и распространяются на таламус. С этого момента сигнал распространяется на несколько областей мозга и у пациента возникает ощущение зуда и инициируется почесывание [206].

При некоторых неврологических заболеваниях может возникать «невропатический» зуд, для него характерно отсутствие раздражающих кожных стимулов и дерматологических заболеваний при наличии повреждений нервной ткани, такой зуд может сопровождать течение АтД и усугублять последнее [49].

В результате исследований выявлено, что при АтД кожа находится в состоянии нервной сенсibilизации и готова реагировать на сигналы и взаимодействовать с внешней средой, данная особенность обусловлена повышенной плотностью чувствительных волокон в коже пациентов [49, 59, 127, 190].

Такая гипериннервация, усиленная действием воспалительных медиаторов, может снижать порог инициации зуда и способствовать провокации зуда незудящими стимулами [161, 205].

В сети кожных нейронов сенсорные нервы разделяются на чувствительные и нечувствительные к гистамину. Зарубежные ученые показали отсутствие эффекта, либо незначительный эффект (за исключением снотворного действия) при лечении АтД антигистаминными препаратами [205].

При исследовании, включавшем блокирование  $H_4$ -гистаминовых рецепторов, расположенных на иммунных клетках и сенсорных нервах, с помощью специфических  $H_4$ -антагонистов также не выявлено значительного уменьшения зуда или экземы [201].

Таким образом, можно сделать вывод о том, что зуд при АтД воспринимается также через негистаминергические чувствительные нервные окончания, на которые воздействуют медиаторы воспаления [205].



Emrick J.J. et al. (2018) изучали роль гена *Tmem79* в кожном воспалении и зуде. При проведении гомологического анализа для исследования молекулярной функции *Tmem79*, ученые обнаружили, что аминокислотная последовательность *Tmem79* на 30% гомологична аминокислотной последовательности микросомальных глутатионтрансфераз (ГТТ), белков семейства ферментов детоксикации, защищающих клеточные макромолекулы от атаки АФК, таким образом, *Tmem79* может действовать как ГТТ для снижения окислительного стресса в клетках [119].

Экспериментально доказано, что удаление у мышей гена *Tmem79* или его делеция вызывали выраженный кожный зуд и воспаление [119, 197].

Таким образом, на основании представленных данных можно считать с возможностью участия процессов окислительного стресса в индукции важнейшего симптома АД – кожного зуда.

### **1.3. Окислительный стресс**

#### **1.3.1. Роль активных форм кислорода в развитии окислительного стресса**

С времен глубокой древности люди пытались разгадать причину взаимосвязи процессов дыхания и горения. История изучения процессов свободнорадикального окисления (СРО) берет свое начало с появления первой химической научной теории о роли кислорода в окислительных реакциях [2, 63, 85, 93].

АФК – это собирательный термин, включающий супероксидный радикал кислорода ( $O_2\bullet$ ), перекись водорода ( $H_2O_2$ ), гидроксильный радикал ( $\bullet OH$ ), синглетный кислород, пероксильный радикал, алкоксильный радикал, гидропероксид липидов, пероксинитрит, хлорную кислоту, озон и другие радикалы [103, 130, 204].

Первым промежуточным соединением в цепи последовательных одноэлектронных реакций при восстановлении молекулярного кислорода является

$O_2\bullet$ . Предположение о роли  $O_2\bullet$ , как важнейшего агента в реализации токсических эффектов кислорода родилось при обнаружении фермента супероксиддисмутазы (СОД), который катализирует реакцию специфической нейтрализации  $O_2\bullet$  [103, 130, 204].

Уникальность  $O_2\bullet$  состоит в том, что он ведет к образованию очень реактоспособных веществ, даже более активных, чем он сам. Присоединение атома водорода к  $O_2\bullet$  индуцирует появление гидропероксильного радикала ( $HO_2\bullet$ ), при взаимодействии  $O_2\bullet$  с перекисью может происходить образование «синглетного кислорода» [18].

Также  $O_2\bullet$  может превращаться в то или иное соединение, в зависимости от кислотности водной среды.  $O_2\bullet$  превращается в перекись водорода в кислой среде, а в нейтральной –  $HO_2\bullet$ .

Несмотря на короткий период жизни и ограничение в способности к диффузии в среде в два диаметра его молекулы,  $\bullet OH$  считается очень мощным окислителем и обладает возможностью взаимодействовать с огромным спектром органических молекул, включая липиды.

$\bullet OH$  может вырабатываться при реакции Хабер - Вейса (взаимодействие перекиси водорода с  $O_2\bullet$ ) или реакции Фентона (при катализации образования  $\bullet OH$  металлами) и вторым путем – распада пероксинитрита на  $\bullet OH$  и двуокись азота [103, 148, 152].

$H_2O_2$  по определению не относится к свободным радикалам и не располагает достаточной способностью к окислению органических молекул в водной среде.  $H_2O_2$  обладает низким зарядом, что позволяет ей беспрепятственно проникать через гидрофобные мембраны вглубь структур. При взаимодействии с металлами переменной валентности,  $H_2O_2$  выступает источником высокоректогенных молекул  $\bullet OH$ .

В тканях организма под действием синтаз оксида азота (NOS) при окислении L- аргинина до L-цитруллина образуется NO. При физиологических значениях pH с участием  $O_2\bullet$  из NO может образовываться пероксинитрит ( $ONOO^-$ ).  $ONOO^-$  -

соединение, обладающее способностью мощно активировать окислительные процессы.

При взаимодействии ONOO– с СОД генерируются соединения, которые, изменяют белки клетки, вызывают ее дисфункцию и даже гибель. С другой стороны, ONOO– при физиологических значениях рН разделяется на двуокись азота и •ОН [18].

Противодействующей силой в условиях СРО с целью защиты жизненно важных молекул от действия АФК и компенсации вызванных ими повреждений являются антиоксидантные системы.

Антиоксидантом может считаться любое вещество, способное предотвратить, уменьшить или восстановить вызванное АФК повреждение биомолекулы. В биологии и медицине в качестве молекул-мишеней АФК преимущественно выступают белки, липиды, нуклеиновые кислоты [204].

Антиоксидантное действие имеет три основных направления: удаление образовавшихся АФК, ингибирование образования АФК, восстановление повреждений, вызванных АФК.

### **1.3.2. Роль окислительного стресса в патогенезе атопического дерматита**

На протяжении десятилетий исследователи разных стран изучали роль окислительного стресса в патогенезе различных заболеваний [7, 11, 15, 17, 33, 56, 67, 86, 105, 116, 130, 153], однако немногие оценивали его при заболеваниях кожи.

Метаболическая активность организма в норме сопровождается появлением АФК. Часть АФК используется иммунной системой для борьбы с патогенами, некоторые – в качестве медиаторов клеточных сигнальных путей – они являются неотъемлемой частью функционирования кожи и не несут повреждающего действия в связи с противодействием антиоксидантных механизмов но, когда количество окислителей в клетках превышает возможности антиоксидантной защиты, развивается окислительный стресс [18, 46, 50, 137, 140, 192].

АФК непосредственно сами могут выступать медиаторами воспалительных реакций, они способны активировать клеточные сигналы, направленные на выработку и высвобождение провоспалительных цитокинов.

Иммунная система контролирует развитие и течение воспалительных реакций в норме, однако чрезмерная стимуляция и длительность воспаления вызывает повреждение тканей и представляет основной патофизиологический механизм широкого спектра заболеваний человека [137, 192].

При АтД в условиях окислительного стресса возможно повреждение ДНК кератиноцита, окисление липидов, на фоне чего нарушается барьерная функция кожи, происходит усиление выработки провоспалительных цитокинов, активированные наивные Т-клетки запускают клеточную кожную инфильтрацию чем, в конечном итоге, усугубляется течение воспалительного процесса [193].

В последние годы появляются данные, свидетельствующие о том, что окислительный стресс может играть важную роль при многих кожных заболеваниях, в том числе при АтД [166].

Tsukahara H. et al. (2003) наблюдали изменения окислительного статуса и антиоксидантной защиты у детей с АтД в периоде обострения заболевания в виде значительного повышения уровня конечных продуктов гликозилирования мочи и метаболитов окисления билирубина [193].

В обзорной статье Окауама Y. (2005) представили данные, указывающие на то, что аллергические и воспалительные заболевания кожи, такие как АтД, крапивница и псориаз, опосредованы окислительным стрессом [140].

Emre S. et al. (2012) показали результаты исследований, определяющие роль окислительного стресса в этиопатогенезе себорейного дерматита [18]. Существуют также данные о том, что материнский и неонатальный ОС, может влиять на развитие атопических заболеваний у детей в будущем [111, 157].

Shibama S. et al. (2019) в своем исследовании у взрослых предположили, что окисление билирубина при окислительном стрессе в очагах поражения кожи, может быть связано с тяжестью заболевания АтД [178].

Биологические системы антиоксидантной защиты существуют в клетках, включая системы на основе ферментов (СОД, глутатионпероксидаза и другие) и неферментные системы (витамины А, С, и Е, глутатион, полифенолы, и коэнзим Q10) [137, 162].

Antille C. et al. (2002) исследовали клетки рогового слоя кожи у больных с АтД и у здоровых людей, затем оценивали концентрации  $\alpha$ -токоферола и перекиси липидов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и окисления железа соответственно. У больных АтД отмечена более высокая концентрация  $\alpha$ -токоферола по сравнению с группой контроля, а также достоверно более низкая концентрация перекисей липидов, что могло быть следствием активности антиоксидантных систем на фоне хронического воспаления [193].

При перекисном окислении липидов (ПОЛ) происходит взаимодействие СР с липидами клеточных мембран. В результате взаимодействия рождается новый СР, который вновь атакует. При отсутствии должных противодействующих сил, процесс становится малоконтролируемым, что может быть пусковым сигналом различных заболеваний. [102, 177].

Ларина Т.В. с соавторами (2003) при исследовании у детей раннего возраста, выявили высокую интенсивность процессов ПОЛ в периоде обострения АтД [46], Nakai K. et al. (2009) также продемонстрировали, что уровни нитратов и малонового диальдегида (МДА) коррелируют с тяжестью АтД [162]. Chung J. et al. (2009) показали изменение антиоксидантного потенциала крови в виде достоверного повышения МДА у дошкольников с АтД по сравнению с контрольной группой [114].

Копытова Н.А. с соавторами (2012) изучали активность процессов ПОЛ в плазме крови по уровню диеновых конъюгатов в гептановой фазе по методу Ю.Н. Гаврилова (1987), МДА в реакции с тиобарбитуровой кислотой, оснований Шиффа по методу И.А. Волчегорского (1989) у больных распространенными хроническими дерматозами. Они обнаружили, что молекулы липопротеинов очень низкой плотности более подвержены окислительным процессам. Авторы описали нарушение процессов перекисидации как белковой, так и липидной части

липопротеинов, при этом, более выраженные нарушения окислительных процессов были связаны с тяжелым течением дерматоза [36]. Amin M.N. et al. (2013), Sivaranjani N. et al. (2013) при исследовании в группе пациентов от 10 до 60 лет выявили, что больные с АТД более склонны к повреждениям, вызванным АФК или окислителями, чем контрольные случаи. Такой вывод можно было сделать, по результатам обнаруженного увеличения содержания МДА и снижения ферментативных и неферментативных антиоксидантов [102, 185].

Существуют часто используемые способы детекции ПОЛ, но они обладают существенными недостатками, такими, как высокая стоимость и избирательность. В таком случае целесообразным представляется оценка окислительного статуса в биологических образцах путем количественного определения непосредственно перекиси липидов [45, 65, 169].

Накопление АФК может инициировать не только структурные клеточные, но и генетические изменения, которые ложатся в основу развития патологических процессов в будущем.

Согласно данным Kryston T.B. (2011), Cadet J. (2012) в ядерной и митохондриальной ДНК чаще всего наблюдались поражения единичных нуклеотидных оснований, которые могут приводить к мутации в репликации ДНК [109, 147, 177].

Липидные и белковые молекулы, измененные при воздействии СР выводятся, в отличие от ДНК, которую нельзя удалить. В таком случае включаются процессы восстановления [177].

При повреждении ДНК, в процессе окисления гуанина образуется 8-ОНdG. 8-ОНdG был обнаружен в ДНК, выделенной из клеток HeLa после облучения клеток в тканевой культуре рентгеновскими лучами и из печени мышей после облучения целых животных  $\gamma$ -лучами. Количество 8-ОНdG в ДНК послеоблучения *in vivo* было на три порядка ниже, чем после облучения *in vitro*. Количество 8-ОНdG, продуцируемое в ДНК печени при облучении мышей, со временем уменьшалось, что свидетельствовало о наличии репаративного фермента, действующего на 8-ОНdG, в печени мыши.

Обработка клеток *Salmonella typhimurium* перекисью водорода также вызывала увеличение содержания 8-ОНдГ. Эти результаты показывают, что 8-ОНдГ образуется *in vivo* в клеточной ДНК при обработке различными агентами, продуцирующими кислородные радикалы, и поддается восстановлению [142].

8-оксогуанин ДНК-гликозилаза-1 является основным ферментом, ответственным за удаление 8-ОНдГ, образованного в результате воздействия АФК.

8-оксогуанин ДНК-гликозилаза-1 представляет собой бифункциональную гликозилазу, поскольку она способна как расщеплять гликозидную связь мутагенного поражения, так и вызывать разрыв цепи в основной цепи ДНК.

Хотя поврежденная ДНК непрерывно восстанавливается путем эксцизионной репарации оснований в клетках, вызванные СР окислительные поражения являются потенциальными биомаркерами окислительного повреждения ДНК [57, 70, 168, 177, 196].

Omata N., Tsukahara H. (2001) продемонстрировали, что уровень 8-ОНдГ, в моче у детей с АтД выше, чем у детей, не страдающих АтД, таким образом, было высказано предположение о нарушении гомеостаза АФК и участии окислительного стресса в патофизиологии АтД [167].

Tsukahara H. et al. (2003) исследовали пентозидин - усовершенствованный конечный продукт гликирования, образованный последовательным гликированием и окислением пирралина (еще одного конечного продукта гликирования, образованного неокислительным гликированием) и 8-ОНдГ у детей с АтД. Концентрация пентозидина в моче была достоверно выше у пациентов с обострением АтД, чем у здоровых лиц контрольной группы и пациентов в ремиссии АтД. Концентрация 8-ОНдГ в моче была достоверно выше у больных АтД, чем в контрольной группе. Уровни пентозидина в моче достоверно коррелировали с уровнем 8-ОНдГ. У пациентов как мочевого пентозидин, так и 8-ОНдГ достоверно снижались на фоне лечения [194].

В исследованиях Nakai K. et al. (2009) при анализе уровней нитратов и 8-ОНдГ в моче у взрослых пациентов с АтД, выявили, что уровень нитратов в моче

у больных АтД был достоверно выше, чем у здоровых лиц контрольной группы. Тяжесть и степень АтД достоверно коррелировали с уровнем нитратов в моче и уровнем МДА, но не коррелировали с уровнем 8-ОНdG в моче [162].

Исследования отечественных ученых Щелчковой Н.А., Копытовой Т.В. (2012, 2013) показали изменения уровня 8-ОНdG и окислительной модификации белков в крови у взрослых, страдающих АтД [35, 36, 98].

Indraprasta S. et al. (2017) выявили тенденцию к повышению уровня 8-ОНdG в моче в соответствии с увеличением степени тяжести у детей с АтД, что, возможно было обусловлено ролью ОС в патогенезе АтД [136].

Choi M.W. et al. (2019) выявили достоверное повышение уровней 8-ОНdG и МДА в моче у пациентов с АтД, чем в группе контроля. Однако корреляции между тяжестью заболевания или сывороточным IgE и уровнем окислительных продуктов не было выявлено [113].

Наборы иммуноферментного анализа позволяют легко выявлять повреждение ДНК, в то время как более сложные анализы с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым и электрохимическим обнаружением позволяют более точно идентифицировать и количественно определять 8-ОНdG [103, 117].

При окислительном стрессе одна форма АФК довольно быстро может переходить в другую, представляя нашему вниманию каскад биохимических превращений, такая картина затрудняет индикацию основного участника окислительного стресса, поэтому предпочтительным является анализ всей совокупности АФК [18, 113].

Несмотря на накопленные знания, многие вопросы об изменении окислительного статуса у детей с АтД различного возраста, пола, с различной тяжестью течения заболевания, с учетом фенотипа, клинической формы заболевания остаются без ответа.



#### **1.4. Синтазы оксида азота: биологические эффекты, роль в развитии заболеваний**

NO обладает огромным спектром биологических функций, к ним относятся участие в иммунных процессах, нейротрансмиссия, регуляция расслабления гладкой мускулатуры, процессы репарации. NO продуцируется эндогенно многими тканями организма, в том числе – кожей [110, 176]. Исследование эффектов NO позволило достигнуть феноменальных успехов в различных областях генетики, микробиологии, физиологии, иммунологии и медицины в целом [12, 52, 133, 134, 148, 193].

NO образуется в тканях организма при окислении L-аргинина до L-цитруллина с помощью NOS.

Существует 3 изоформы NOS: нейрональная синтаза оксида азота (nNOS), эндотелиальная (eNOS) и индуцибельная (iNOS). eNOS и nNOS являются конститутивными [18, 134].

Кинетика образования NO iNOS очень отличается от конститутивных NOS. eNOS и nNOS продуцируют NO в течение нескольких секунд после стимуляции медиаторами (ацетилхолином, брадикинином, гистамином и др.), а его действие является прямым, кратковременным и проявляется в регуляции биологических процессов. В то время, как iNOS активируется на уровне транскрипции и производит огромные токсичные количества NO, которые принимают участие в противоопухолевой, противомикробной защите, в образовании CP и реализации эозинофильного воспаления.

Таким образом, биологический эффект NO во многом зависит от его концентрации: при низкой концентрации наблюдаются эффекты, связанные с процессами репарации, регуляции сосудистого тонуса, передачи биосигналов [52, 134, 193], а при резком повышении NO на первый план выступают процессы, связанные с высокореактивными соединениями – АФК (Рисунок 1.5) [18, 134].

Клетки организма не имеют специфических рецепторов к NO, таким образом этот необычный молекулярный мессенджер реализует свои эффекты двумя путями:

прямым – непосредственно, как биологический медиатор, и косвенным – стимулируя продукцию АФК.

Прямой путь реализуется посредством конститутивных NOS, а непрямой путь с помощью iNOS, при этом происходит накопление АФК, активируется ПОЛ и повреждается цепь дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК).

Кератиноциты, составляющие основную часть эпидермиса экспрессируют nNOS, тогда, как фибробласты дермы и другие типы клеток экспрессируют eNOS.

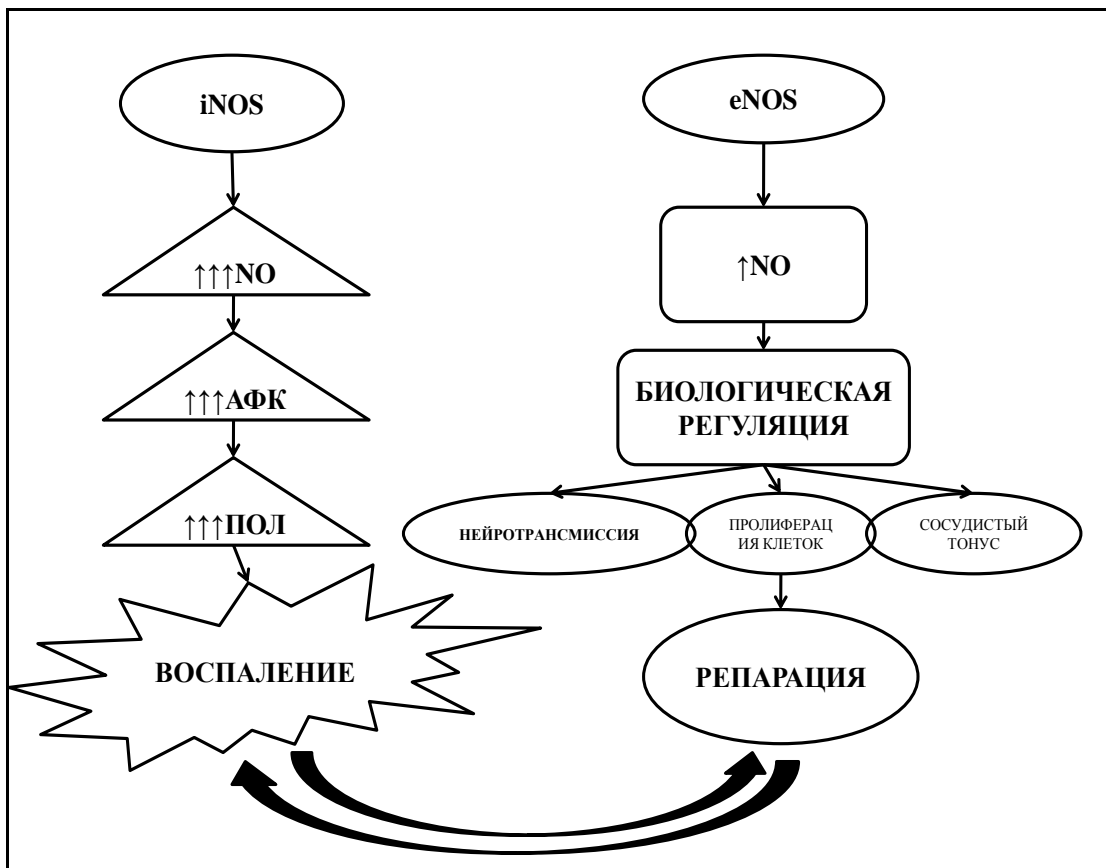


Рисунок 1.5 – Биологическое равновесие между повреждающими и консолидирующими факторами

При определенных условиях почти все клетки кожи способны экспрессировать индуцибельную iNOS. Экспрессия iNOS также тесно связана с заболеваниями кожи, сопровождающимися воспалением.

Конститутивно низкое образование NO в коже играет роль в поддержании барьерной функции и определения скорости кровотока в микроциркуляторном русле, в регуляции процессов репарации.

В ответ на повреждение происходит активация конститутивных NOS, перекрывающаяся с экспрессией iNOS, на фоне чего, активируются различные уровни продукции NO для реализации уникальных защитных функций кожи [101, 121].

Известно, что аминокислота L-аргинин, участвует в заживлении ран, с другой стороны, L-аргинин представляет собой единственный субстрат ферментативной активности NOS. Таким образом, способность L-аргинина улучшать заживление ран, должно быть, тесно переплетена с ферментативными системами NOS.

Существуют исследования, ясно указывающие на участие NO, полученного из iNOS, в заживлении ран [203].

Однако при дефиците eNOS заживление раны характеризовалось значительно более выраженной задержкой, чем при дефиците iNOS. Важен тот факт, что растяжение регенерирующей ткани было заметно снижено при дефиците eNOS.

Также eNOS способствует миграции, пролиферации и дифференцировке эндотелия, участвуя в капилляризации раневого участка во время репарации.

Известны данные о том, что NO, продуцируемый iNOS и eNOS является ключевым посредником иммунных механизмов воспаления, связывая врожденный и адаптивный иммунитет, влияя на дифференцировку Т-хелперных клеток и эффекторные функции Т-лимфоцитов [123].

Таким образом изучение NO в последние годы показало его важную роль в регуляции биологических процессов в коже в норме и при патологии [110, 121].

NO вовлечен в патогенез воспалительных заболеваний, однако их участие в развитии АтД до конца не изучено [148].

Мировые ученые уделяли большое внимание изучению роли NOS в патофизиологии различных заболеваний, так, например, показано, что эктопическая экспрессия nNOS помогает нейронам противостоять токсическому действию алкоголя [141].

При изучении связи полиморфизма гена nNOS человека с аллергическими заболеваниями, сопровождающимися повышенным IgE выявлено, что ген nNOS

мог способствовать повышению общего IgE в сыворотке крови, таким образом, pNOS выступал геном кандидатом для IgE-опосредованных аллергических заболеваний [134].

В дальнейших исследованиях была подтверждена роль нескольких полиморфизмов в гене pNOS в защите от астмы [133]. Однонуклеотидный полиморфизм гена NOS был связан со снижением содержания интерлейкина 13 в крови у детей с бронхиальной астмой, связи с АтД не было выявлено [132].

Выявлены связи гаплотипа восприимчивости СТААТ в гене eNOS с повышенным риском эндотелиальной дисфункции и развития остеопороза у женщин в постменопаузе [184].

При исследованиях у представителей восточноазиатской выборки отмечено влияние полиморфизма rs2070744 гена eNOS на предрасположенность к геморрагическим церебральным сосудистым заболеваниям [199].

Полиморфизм 849g гена eNOS был связан с повышенным риском преэклампсии [100].

Полиморфизм G894T гена eNOS оказывает большое влияние на формирование эссенциальной гипертензии [164], его возможно рассматривать как генетический фактор риска гипергомоцистеинемии у пациентов с когнитивным дефицитом [180].

Галушинская А.В., Микалюк Л.В. (2013) в своих работах при исследовании однонуклеотидной замены G894T (Glu298-Asp) показали связь генотипа ТТ eNOS с эозинофильным воспалением и GG генотипа с риском развития незозинофильного фенотипа бронхиальной астмы [14].

Китайские ученые выявили связь полиморфизмов Glu298-Asp eNOS с риском инсульта [180].

Исследования Смирновой И.Ю. (2009) показали ассоциацию полиморфизма 276 СТ гена pNOS с развитием АтД у детей и с лучшим ответом на базисную терапию [82].

В многочисленных исследованиях доказана роль полиморфизмов гена eNOS в важнейших звеньях патогенеза различных заболеваний, однако описания роли

Glu298Asp и T786C, C774T полиморфизмов гена eNOS в развитии клинических форм АтД, связанных с тяжелым прогрессирующим течением заболевания в источниках литературы не встречается.

Таким образом, получение дополнительных сведений в этой области поможет создать более полное представление об особенностях течения АтД, что позволит прогнозировать и предупреждать развитие тяжелые форм заболевания.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Дизайн исследования

Работа выполнена на кафедре детских болезней КИДЗ имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М.Сеченова Минздрава России. Пациенты для исследования были отобраны на клинической базе ГБУ РО «Областная детская клиническая больница» г. Ростова-на-Дону. Лабораторные исследования выполнены на базе НИИ вакцин и сывороток имени И.М.Мечникова, г. Москва, а также клинико-диагностического центра «Наука» г. Ростова-на-Дону.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг., соглашение 8108.

Выполнение диссертационной работы, форма информированного добровольного согласия одобрены на заседании Локального этического Комитета ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол № 08-22 от 20.04.2022 г.).

В основную группу пациентов с АтД в возрасте до трех лет вошли 126 детей, (Рисунок 2.1), в контрольную группу - 39 здоровых детей (Рисунок 2.1). Родители детей подписали информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

*Критериями включения в группу с АтД* были: типичная морфология и локализация кожных высыпаний, зуд, рецидивирующее течение АтД, а также дополнительные клинические проявления, удовлетворяющие критериям Hanifin – Rajka (1980) для постановки диагноза [131], возраст ребенка до 3-х лет.

*Критериями исключения из группы с АтД* являлись: наличие кожных заболеваний, отличных от АтД, в том числе инфекционных, или клинических состояний, способных влиять на течение АтД; перенесенные острые заболевания в

течение последних 3 месяцев; наличие сопутствующей патологии со стороны других органов и систем; возраст ребенка старше 3-х лет.

*Критериями включения в группу контроля* являлись: нормальное физическое развитие; отсутствие острых инфекционных или соматических заболеваний на момент обследования; возраст ребенка до 3-х лет.

*Критериями исключения из группы контроля* являлись перенесенные острые заболевания в течение последних 3-х месяцев; наличие кожных заболеваний, в том числе АД; наличие острых заболеваний на момент обследования; наличие иных хронических заболеваний, способных оказывать системное действие на организм; возраст ребенка старше 3-х лет.

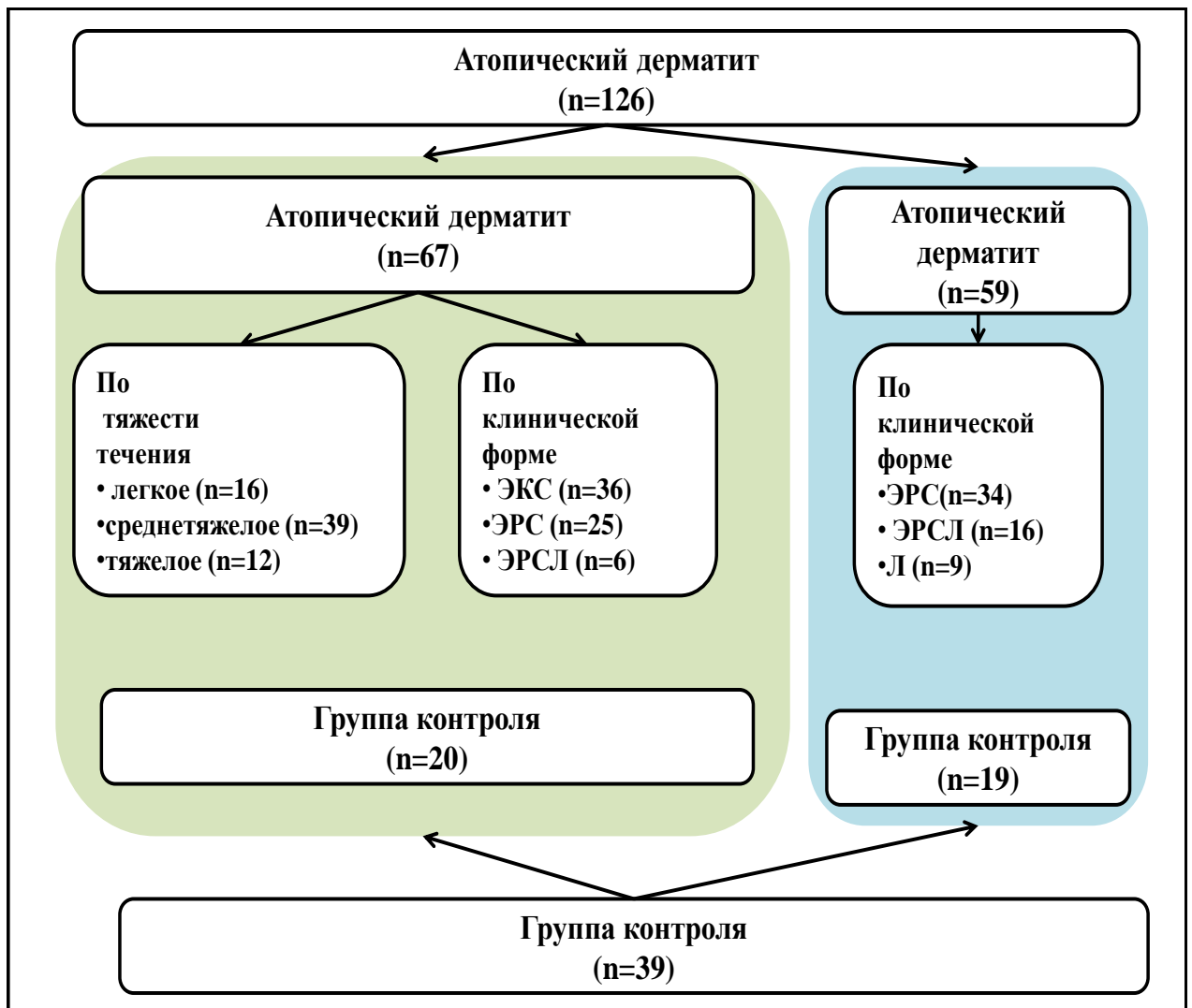


Рисунок 2.1 – Распределение по группам детей, включенных в исследование

На первом этапе исследования 67 детей с АтД были включены в обследование (Рисунок 2.1).

Первично в периоде обострения пациентам с АтД (n=67) проводилось определение общего анализа крови, показателей иммунного статуса (уровней основных иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG, IgE), циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), иммуноцитограммы (CD3+/CD45+; CD3+CD4+/CD45+, CD3+CD8+/CD45+; CD19+/CD45+, CD16+56+/CD45+, ИРИ) и окислительного статуса (ЦБП, 8–ОНdG) (Рисунок 2.2).

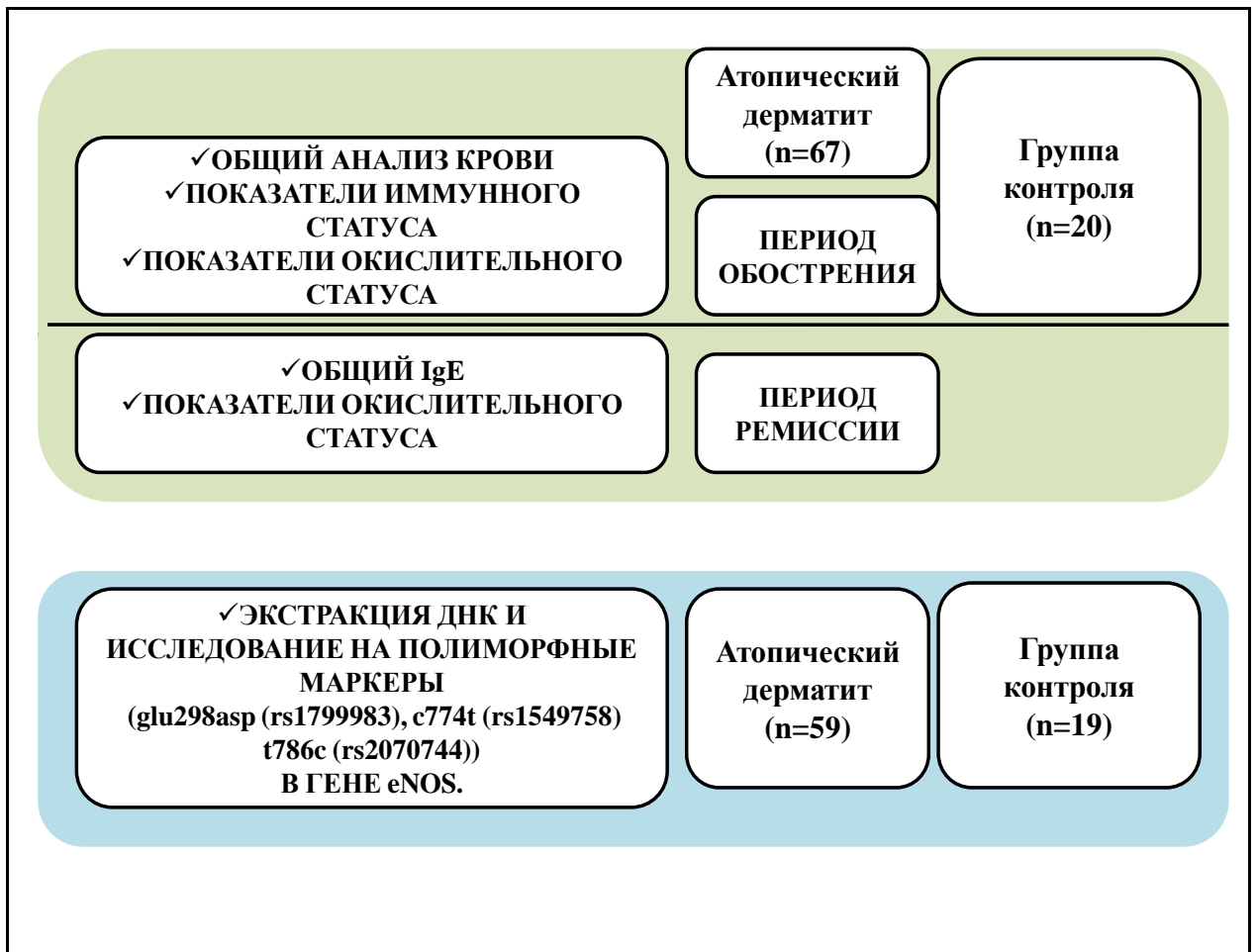


Рисунок 2.2 – Лабораторное обследование в группах детей

Повторно в периоде ремиссии пациентам с АтД (n=67) определяли уровни IgE общего и показателей окислительного статуса (ЦБП, 8–ОНdG) (Рисунок 2.2).

В качестве группы контроля выступали 20 здоровых детей до 3-х лет (Рисунок 2.1). Детям группы контроля определение показателей иммунного статуса



(уровней основных иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG, IgE), ЦИК, иммуноцитогаммы (CD3+/CD45+; CD3+CD4+/CD45+, CD3+CD8+/CD45+; CD19+/CD45+, CD16+56+/CD45+, ИРИ) и окислительного статуса (ЦБП, 8-ОНдG) проводилось однократно (Рисунок 2.2).

Дети с АтД (n=67) были разделены на группы в зависимости от тяжести на легкое (n=16), среднетяжелое (n=39), тяжелое течение (n=12); в зависимости от клинической формы заболевания на ЭКС (n=36), ЭрС (n=25), ЭрСЛ (n=6) формы (Рисунок 2.1).

**На втором этапе исследования** 59 детям с АтД и 19 детям контрольной группы (Рисунок 2.1) проводили экстракцию ДНК и исследование на полиморфные маркеры (Glu298Asp (rs1799983), C774T (rs1549758) и T786C (rs2070744)) в гене eNOS (Рисунок 2.2).

Дети с АтД (n=59) были разделены на группы в зависимости от клинической формы заболевания на ЭрС (n=34), ЭрСЛ (n=16) и лихеноидную (Л) (n = 9) формы (Рисунок 2.1).

Данные клиничко-анамнестического и лабораторного обследования были внесены в индивидуальную регистрационную карту.

## 2.2. Методы исследования

Комплекс клиничко-лабораторных методов исследования включал:

- клиничко-анамнестическую характеристику согласно индивидуальной регистрационной карте пациента;
- общеклиничческое обследование: общий клиничческий анализ крови;
- иммунологическое обследование: уровни основных иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG, IgE), ЦИК, иммуноцитогамма (CD3+/CD45+; CD3+CD4+/CD45+, CD3+CD8+/CD45+; CD19+/CD45+, CD16+56+/CD45+, ИРИ);
- определение показателей окислительного статуса (ЦБП, 8-ОНдG);
- экстракцию ДНК и исследование ассоциации распределения аллелей гена эндотелиальной NO-синтазы (Glu298Asp (rs1799983), C774T (rs1549758) и T786C

(rs2070744)). Биологическим материалом для исследования служили образцы сыворотки и плазмы крови, соскобы со слизистой оболочки, детей.

### 2.2.1. Клинико-anamnestическая характеристика

Для анализа данных анамнеза использовали индивидуальную регистрационную карту пациента, которая включала жалобы на момент осмотра, данные генеалогического анамнеза, аллергоанамнез, данные анамнеза заболевания, жизни (течение пре- и постнатального периодов развития ребенка), длительность и частоту обострений, длительность ремиссий, характер вскармливания ребенка на 1 году жизни, информацию о перенесенных заболеваниях, травмах и операциях.

Объективное обследование осуществлялось по стандартному алгоритму. При постановке диагноза АДД опирались на диагностические критерии J. Hanifin и G. Rajka (1980) с сочетанием 3-х главных и 3 и более дополнительных признаков. Степень тяжести заболевания устанавливали на основании Федеральных клинических рекомендаций по диагностике и лечению атопического дерматита (Таблица 2.1) [32].

Таблица 2.1 – Определение степени тяжести атопического дерматита у детей

| Критерии                            | Степень тяжести            |                  |   |
|-------------------------------------|----------------------------|------------------|---|
|                                     | Легкое                     | Среднетяжелое    | Тяжелое                                 |
| Распространенность кожного процесса | ограниченно-локализованный | распространенный | распространенный или диффузный          |
| Выраженность кожного зуда           | незначительная             | выраженный       | выраженный, приводящий к нарушениям сна |
| Частота обострений (в течение года) | 1–2 и реже                 | 3–4              | более 5                                 |
| Продолжительность рецидива          | до 1 мес.                  | более 1 мес      | до 10,5–11                              |
| Длительность ремиссии               | 8–10 мес. и более          | 2–3 месяца       | 1–1,5                                   |

Тяжесть обострения оценивали с помощью индекса SCORAD [32].

Индекс SCORAD предусматривает балльную оценку шести объективных симптомов: эритема, отек/папулезные элементы, корки/мокнутые, эксфолиации, лихенификация/шелушение, сухость кожи.

Интенсивность каждого признака оценивается по 4-уровневой шкале: 0 – отсутствие, 1 – слабая, 2 – умеренная, 3 – сильная [8, 37].

Для определения площади поражения кожи площадь поверхности ладони ребенка принимали за единицу, которая соответствует 1% поверхности кожного покрова [37].

Интенсивность субъективных симптомов ребенка (в возрасте от 1-3х лет) оценивали с помощью родителей, которые отмечали на линейке точкой выраженность симптома в среднем за истекшие 3 суток [37].

Индекс SCORAD рассчитывали по формуле:

$$\text{SCORAD} = A/5 + 7B/2 + C,$$

где: А – распространенность поражения кожи, В – сумма уровней интенсивности клинических симптомов атопического дерматита, С – сумма оценок субъективных нарушений по визуальной аналоговой шкале [19, 37].

АтД легкой степени тяжести соответствовал значению SCORAD < 25. АтД средней степени тяжести соответствовал значению SCORAD от 25 до 50. Тяжелое течение АтД соответствовало значению SCORAD > 50 [32].

В зависимости от клинической формы АтД дети были разделены на следующие группы: ЭКС, ЭрС, ЭрСЛ, Л [32].

ЭКС форма АтД проявлялась у детей острыми кожными воспалительными проявлениями с высыпаниями в виде папул и микровезикул, выраженной экссудацией и мокнутием. Отмечались жалобы на выраженный зуд кожи, на фоне чего наблюдались расчесы.

Кожные очаги поражения располагались симметрично. При ограниченной форме высыпания локализовались в области лица, щек, лба и подбородка и симметрично на кистях рук. При распространенной форме АтД отмечалось

поражение кожи туловища, конечностей, преимущественно их разгибательных поверхностей [32, 63] (Рисунок 2.3).



Рисунок 2.3 – Клинические формы атопического дерматита у детей

ЭрС форма АтД характеризовалась гиперемией, инфильтрацией и легким шелушением кожи без экссудации. Эритематозные пятна и папулы сопровождалась зудом. Эритема усиливалась вечером и почти не определялась в утренние часы [63] (Рисунок 2.3).

ЭрСЛ форма АтД характеризовалась менее выраженными экссудативными очагами на коже, значительной гиперемией кожной ткани, выраженной сухостью и подчеркнутым рисунком, утолщением складок и гиперкератозом, наличием складчатого характера поражений [63] (Рисунок 2.3).

При Л форме АтД на поверхности кожи преобладали лихеноидные папулы и очаги лихенификации с типичной локализацией в складках кожи. Локализация высыпаний наблюдалась преимущественно в локтевых, подколенных, ягодичных складках, на коже сгибательных поверхностей локтевых и лучезапястных суставов, тыльной поверхности шеи, кистей и стоп [63] (Рисунок 2.3).

### 2.2.2. Иммунологическое обследование

Для иммунофенотипирования крови использовали прибор BDFACS Callibur (Becton Dickinson, США) с отбором и анализом данных с помощью программы Multiset.

BDFACS Callibur работал по принципу проточной цитофлюоиметрии. С помощью флуоресцентных красителей или моноклональных антител клетки помечали, затем пропускали в составе жидкости через проточную ячейку. Клетки, расположившиеся друг за другом, проходили через луч лазера, при этом фиксировали характер светорассеяния и интенсивность флуоресценции.

Количественное определение содержания секреторного иммуноглобулина А, М, G, Е в сыворотке крови проводилось с использованием «сендвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа с помощью наборов: «IgA секреторный – ИФА – БЕСТ» (Россия), «IgM общий – ИФА – БЕСТ» (Россия), «IgG общий – ИФА – БЕСТ» (Россия), «IgE общий – ИФА – БЕСТ» (Россия).

### 2.2.3. Исследование показателей окислительного статуса

Для количественного определения ЦБП в образцах с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) – сыворотки цветометрическим методом в микропланшетном формате использовали набор Biomedica OxyStat (Австрия).

Концентрацию ЦБП определяли с использованием реакции биологической перекиси с пероксидазой. Затем в ячейки вносили ферментный тетраметилбензидиновый субстрат.

Интенсивность развившейся окраски, после добавления стоп-раствора, измеряли цветометрически с помощью микропланшетного ридера при 450 нм. Калибратор использовали для расчета концентрации ЦБП в образце (калибровка по одной точке).

Разница между значениями, полученными при 1-м и при 2-м измерениях пропорциональна концентрации ЦБП в образцах.

В настоящее время 8-OHdG используется для индикации окислительного повреждения ДНК и окислительного стресса.

Специфическое определение и измерение уровня 8-OHdG в сыворотке крови в работе проводили методом «конкурентного» иммуноферментного анализа на автоматическом иммуноферментном анализаторе «Alisei» (Италия) с помощью набора Assay Designs' DNA Damage ELISA в соответствии с инструкциями производителя.

Принцип метода основан на «конкурентном» иммуноферментном методе и предназначен для количественного определения 8-OHdG в образцах сыворотки крови [94].

В методе Assay Designs' DNA Damage ELISA использовались моноклональные антитела к 8-OHdG, для связывания на конкурентной основе с 8-OHdG из образца, стандарта, предварительно нанесенного в лунки 96-луночного планшета.

Анти-8-OHdG, связавшиеся с 8-OHdG образца или стандарта, удалялись при промывке, тогда как антитела, захваченные иммобилизованным 8-OHdG выявлялись вторыми антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена.

В методе использовался тетраметилбензидиновый субстрат, и абсорбция измерялась на микропланшетном фотометре при длине волны 450 нм. Интенсивность желтого окрашивания была обратно пропорциональна концентрации 8-OHdG [94].

Для определения концентраций 8-OHdG, использовали таблицу расчета результатов на веб-странице: <http://www.assaydesigns.com/> (с помощью MS Excel) в соответствии с указаниями и инструкциями на странице.

#### **2.2.4. Экстракция дезоксирибонуклеиновой кислоты и исследование на полиморфные маркеры (Glu298Asp (rs1799983), C774T (rs1549758), T786C (rs2070744)) в гене эндотелиальной синтазы оксида азота**

Для экстракции ДНК был использован комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «Ампли Прайм РИБО-сорб» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, РФ).

Далее полученный материал был исследован на следующие полиморфные маркеры: Glu298Asp (rs1799983), C774T (rs1549758) и T786C (rs2070744) в гене eNOS.

Анализ полиморфных маркеров осуществлялся методом полимеразной цепной реакции в реальном времени при помощи соответствующих коммерческих наборов фирмы Синтол (РФ) и амплификаторов DTprime 4 и DTprime 5 (ДНК технология, РФ). В качестве материала для исследования использовали венозную кровь или соскобы со слизистой оболочки ротоглотки.

#### **2.2.5. Статистические методы анализа**

Нормальность распределения была оценена на основании критерия Колмогорова-Смирнова при  $n > 50$  и Шапиро-Вилка при  $n < 50$ , а также данных эксцессов и асимметрии. При этом количественные показатели были представлены в виде выборочного среднего и среднеквадратичного отклонения при нормальном распределении, при распределении, отличном от нормального данные были представлены в виде медианы и квартилей [97].

Достоверность различий средних величин независимых выборок оценивали с помощью параметрического критерия Стьюдента при нормальном законе распределения и непараметрического критерия Манна-Уитни, Краскелла-Уоллиса при отличии распределения показателей от нормального [97].

При проверке гипотез на различия средних в периоде обострения и ремиссии использовали параметрический критерий Стьюдента при нормальном законе

распределения и непараметрический критерий Вилкоксона при отличии распределения показателей от нормального. Статистическое сравнение долей с оценкой достоверности различий выполняли с использованием критерия Пирсона  $\chi^2$  и Фишера [97].

Во всех процедурах статистического анализа рассчитывали достигнутый уровень значимости ( $p$ ), при этом критический уровень значимости принимался равным 0,05 [97].

Оценка зависимостей между показателями осуществлялась с помощью корреляционного и дисперсионного анализа. При нормальном распределении анализ проводили с помощью коэффициента корреляции Пирсона, при распределении, отличном от нормального – коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Коэффициент корреляции проверяли на уровень доверительной вероятности [97].

Сравнение нескольких групп (три и более) по одному признаку производили с помощью дисперсионного анализа. Нулевую гипотезу об отсутствии взаимосвязи между факторами отбрасывали, если отношение факторной дисперсии к случайной превышало критическое значение  $F$  при анализируемом числе степеней свободы и уровне значимости  $p < 0,05$ . Чем выше критерий Фишера ( $F$ ), тем выше влияние фактора на признаки [97].

Многофакторную модель строили на основе метода множественной регрессии с учетом доверительного интервала 95%. В результате решалась задача моделирования взаимосвязи между признаками. Уравнение множественной регрессии имело вид:

$$z = a + b_1 \cdot X_1 + b_2 \cdot X_2 + \dots + b_n \cdot X_n,$$

где  $z$  – коэффициент прогноза,  $X_1$  – значения независимых переменных,  $b_1$  – коэффициенты, расчёт которых является задачей модуля множественной регрессии,  $a$  – некоторая константа [87].

Диагностическую значимость моделей оценивали по критерию  $F$  и доверительной вероятности.



На базе электронных таблиц Excel, входящих в набор стандартных программ MicrosoftOffice, была создана программа для автоматического расчета коэффициентов прогнозирования [87].

Статистический анализ результатов исследования проводился с помощью программы STATISTICA 7.0 (StatSoftInc., США) и MedCalc (версия 9.3.5.0), программы Microsoft Excel пакета Microsoft Office 2010, R (версия 3.2, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) [76].

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1. Клиническая характеристика пациентов с атопическим дерматитом

#### 3.1.1. Общая характеристика пациентов с атопическим дерматитом

В исследование были включены дети с 1 года до 3-х лет с клиническими проявлениями АтД (n=126).

В группе пациентов преобладали мальчики (n=75), количество девочек составило n=51. Все дети были рождены в срок – 39,7 [39; 41] недель, оценка по шкале Апгар 8/8 баллов наблюдалась у 74 детей (59%), 7/8 баллов у 28 детей (22%), 6/7 – у 24 (19%) новорожденных.

Масса тела при рождении составляла 3393,9 [3100; 3650] грамм, длина тела при рождении 51,3 [50; 52] см., окружность головы – 35,1 [35; 36] см., окружность груди при рождении – 33,7 [33; 34] см.

Таким образом, антропометрические показатели детей с АтД (n=126) при рождении лежали в пределах 25-75 центильного интервала (Таблица 3.1), что свидетельствовало об однородном клинико-возрастном исходном составе группы.

Таблица 3.1 – Клинико-anamнестические показатели детей с атопическим дерматитом

| Показатель              | Дети, страдающие АтД (n =126) |      |      |      |          |
|-------------------------|-------------------------------|------|------|------|----------|
|                         | M                             | Me   | [25  | 75]  | m        |
| Возраст (мес)           | 25,91                         | 25,0 | 17,0 | 33,0 | 1,15856  |
| Возраст матери (лет)    | 27,1                          | 26   | 24   | 29   | 0,56753  |
| Возраст отца (лет)      | 29,5                          | 27   | 25   | 31   | 0,93341  |
| Срок родов (нед)        | 39,7                          | 40   | 39   | 41   | 0,16389  |
| Масса при рождении (гр) | 3393,9                        | 3400 | 3100 | 3650 | 47,15034 |

Продолжение Таблицы 3.1

| Показатель              | M    | Me | [25 | 75] | m       |
|-------------------------|------|----|-----|-----|---------|
| Длина при рождении (см) | 51,3 | 51 | 50  | 52  | 0,25494 |
| Окружность головы (см)  | 35,1 | 35 | 35  | 36  | 0,09153 |
| Окружность груди (см)   | 33,7 | 34 | 33  | 34  | 0,11689 |

### 3.1.2. Особенности распределения пациентов с атопическим дерматитом по группам

При постановке диагноза АтД опирались на диагностические критерии J. Hanifin и G. Rajka (1980) с сочетанием 3-х главных и 3-х и более дополнительных признаков (Таблица 1.1) [131]. У детей оценивали тяжесть течения и обострения АтД. В результате дети с 1 года до 3-х лет с клиническими проявлениями АтД (n=126) были разделены на группы по тяжести течения и клинической форме АтД.

Нормальность распределения показателей была оценена на основании критерия Колмогорова – Смирнова при  $n > 50$  и Шапиро-Вилка при  $n < 50$ , а также данных эксцессов и асимметрии.

Учитывая, что распределение было отличным от нормального, количественные показатели были представлены в виде медианы и квартилей.

Статистическое сравнение долей с оценкой достоверности различий выполняли с использованием критерия Пирсона  $\chi^2$ , сравнение количественных показателей в группах осуществляли с помощью критерия Краскела-Уоллиса. Критический уровень значимости принимался равным 0,05 [87, 97].

Группа с легким течением АтД была представлена 32 (25%) пациентами, со среднетяжелым течением – 61 (49 %) пациентом, с тяжелым течением – 33 (26 %) пациентами (Рисунок 3.1).

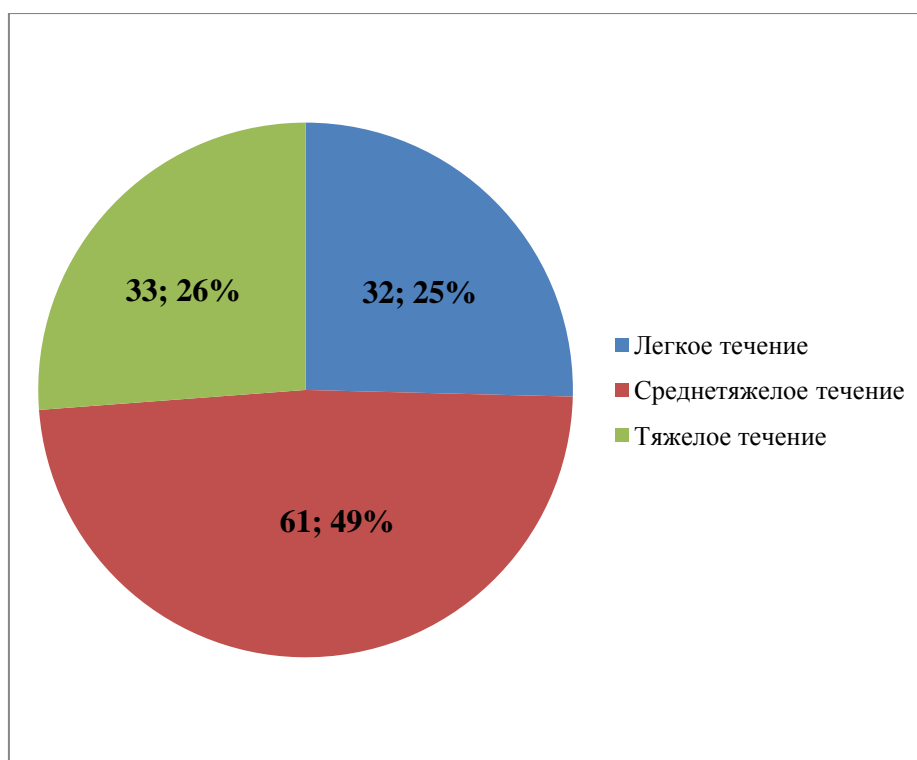


Рисунок 3.1 – Распределение пациентов с атопическим дерматитом по степени тяжести

Группы различались по значениям индекса SCORAD, так в группе с легким течением индекс SCORAD составлял 15,1 [14,4;18] баллов, в группе с среднетяжелым течением – 34,9 [31,8;42] балла, при тяжелом течении АД – 58 [56;72] баллов ( $p < 0,0001$ ) (Таблица 3.2).

Легкое течение заболевания было представлено детьми в возрасте 29 [15,75;38] месяцев, в группе со среднетяжелым течением – 25 [21;38] месяцев, в группе с тяжелым течением – 27 [17;36] месяцев, при этом достоверных межгрупповых различий не наблюдалось ( $p=0,903$ ) (Таблица 3.2).

Таблица 3.2 – Распределение детей с атопическим дерматитом по возрасту и тяжести обострения заболевания

| Показатель  | Легкое течение (n=32) | Среднетяжелое течение (n=61) | Тяжелое течение (n=33) | p                                 |
|---|-----------------------|------------------------------|------------------------|-----------------------------------|
| Возраст (мес.)  | 29 [15,75;38]         | 25 [21;38]                   | 27 [17;36]             | $p=0,903$                         |
| SCORAD (баллы)  | 15,1 [14,4;18]        | 34,9 [31,8;42]               | 58 [56;72]             | <b><math>p &lt; 0,0001</math></b> |
| В таблице средние значения представлены в виде Медиана [Нижний квартиль; Верхний квартиль]. |                       |                              |                        |                                   |

Существует мнение о том, что в различные возрастные периоды преобладают определенные клинические формы АтД, так, при младенческой стадии АтД поражается лицо, туловище, шея, разгибательные поверхности конечностей, в то время как кожа локтевых и коленных сгибов поражается у детей старшего возраста, подростков и взрослых больных при хронизации процесса [44,95]. При анализе распределения пациентов с АтД, мы выявили наиболее многочисленные клинические формы, ими оказались ЭКС (n=36;29%) и ЭРС (n=59; 47%), однако, несмотря на ранний возраст респондентов, были представители ЭРСЛ (n=22; 17%) и даже Л (n=9; 7%) форм АтД (Рисунок 3.2).

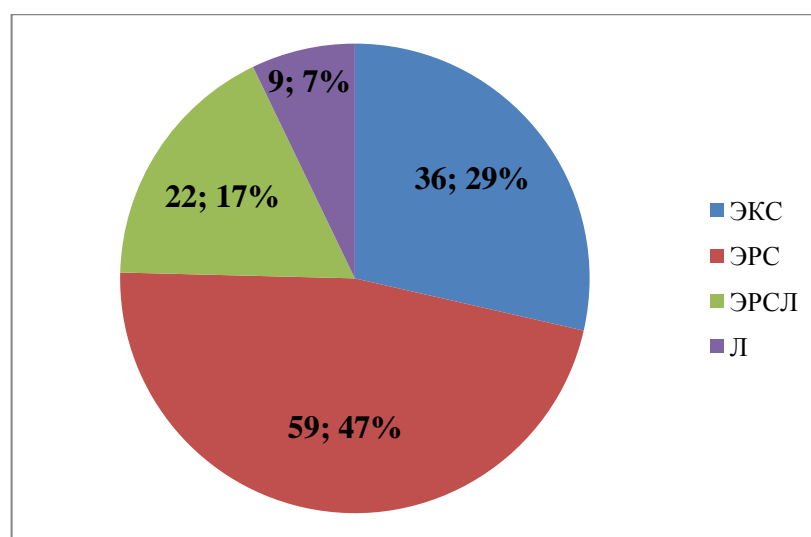


Рисунок 3.2 – Характер распределения пациентов с атопическим дерматитом в зависимости от клинической формы

Полученные данные не противоречат, а согласуются с результатами современных исследований, свидетельствующих о том, что в практической работе достаточно часто встречается «взрослый» характер кожных проявлений у детей первых лет жизни [32].

В группе с ЭКС формой АтД возраст детей был существенно ниже, чем при других формах, и составлял 18,5 [15; 38] месяцев ( $p=0,029$ ), при этом группы с ЭРС (25 [21; 36] месяцев), ЭРСЛ (31 [26; 38] месяц), Л (27 [25,5; 36] месяцев) формами по возрасту не различались ( $p=0,561$ ) (Таблица 3.3).

Таблица 3.3 – Распределение детей с различными клиническими формами атопического дерматитом в зависимости от возраста и тяжести обострения заболевания

|   | ЭКС<br>(n=36)   | ЭРС<br>(n=59) | ЭРСЛ<br>(n=22)   | Л<br>(n=9)        | p  |
|---|-----------------|---------------|------------------|-------------------|--|
|   | 1               | 2             | 3                | 4                 |  |
| Возраст<br>(мес.)   | 18,5<br>[15;38] | 25<br>[21;36] | 31<br>[26;38]    | 27<br>[25,5;36]   | p (1,2,3,4) = 0,029<br>p (2,3,4) = 0,561 |
| SCORAD<br>(баллы)   | 16<br>[15,5;61] | 35<br>[19;59] | 56<br>[38,25;71] | 56<br>[38,22; 72] | p<0,0001                                 |
| В таблице средние значения представлены в виде Медиана [Нижний квартиль; Верхний квартиль]. |                 |               |                  |                   |  |

Значения индекса SCORAD в группе с ЭКС формой АтД составляло 16 [15,5; 61] баллов, в группе с ЭРС формой значения индекса были выше и составляли 35 [19; 59] баллов. В группах с ЭРСЛ и Л формами АтД наблюдались самые высокие значения индекса SCORAD, что выступало индикатором тяжелых проявлений заболевания (Таблица 3.3) (p <0,0001).

При изучении распределения клинических форм АтД у детей с легким, среднетяжелым и тяжелым течением заболевания, мы наблюдали следующую картину: легкое течение АтД было представлено преимущественно ЭКС формой АтД (63%, n=20), на долю ЭРС формы приходился 31% (n=10) наблюдений, ЭРСЛ – 6% (n=2) (p <0,0001). Среди пациентов с легким течением АтД не наблюдалось Л формы заболевания (Рисунок 3.3).

При среднетяжелом течении АтД картина отличалась от легкого и тяжелого – лидирующую позицию по численности занимали пациенты с ЭРС формой заболевания (62%, n = 38). Доля пациентов с ЭКС формой была велика и составляла 20% (n=12), в то время, как пациенты с ЭРСЛ и Л формами АтД были представлены в меньшинстве (11%, n = 7; 7%, n =4) (p <0,0001) (Рисунок 3.3).

Тяжелое течение, в отличие от среднетяжелого и легкого, в подавляющем большинстве было представлено пациентами с ЭРСЛ формой АтД (40%, n=13). ЭРС форма составляла 33% (n=11) наблюдений. На долю ЭКС формы приходилось 12% (n=4) пациентов, а Л – 15% (n=5) (p <0,0001) (Рисунок 3.3).

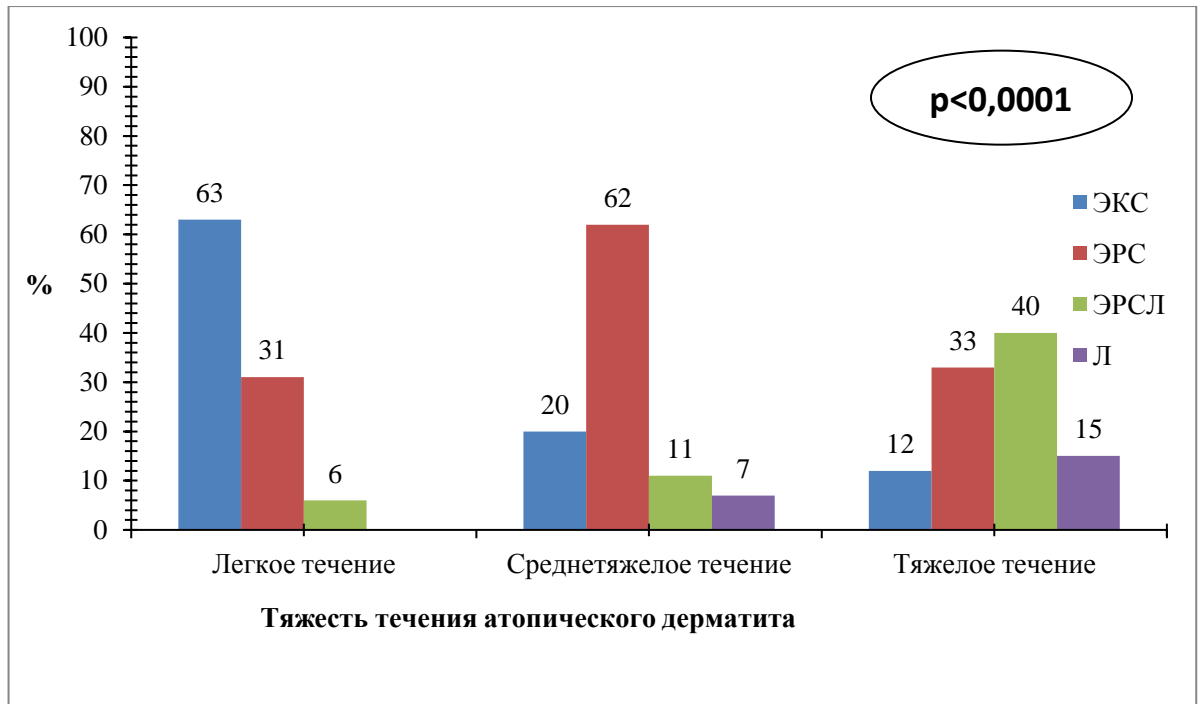


Рисунок 3.3 – Особенности распределения больных с различной тяжестью и клиническими формами атопического дерматита

Рисунок 3.4 позволяет оценить, как распределяется количество обострений в течение года у пациентов с АД в зависимости от клинической формы заболевания.

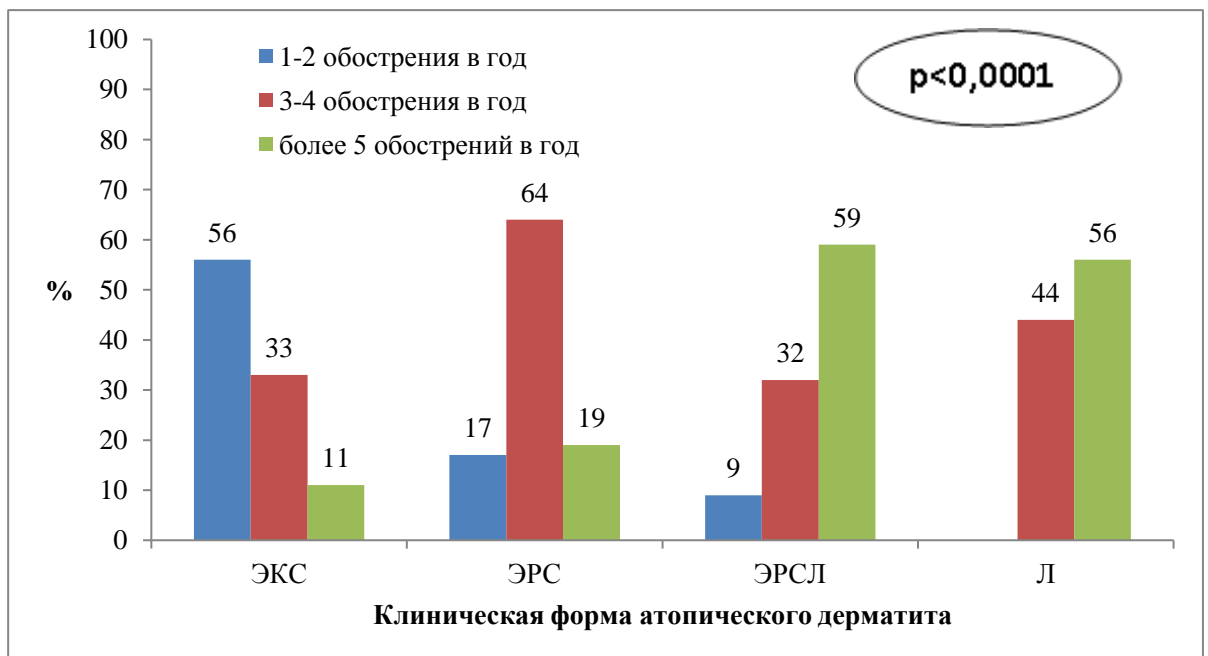


Рисунок 3.4 – Частота обострений атопического дерматита в течение года у больных с различными клиническими формами заболевания

В группе с ЭКС формой АтД у 56% (n=20) пациентов наблюдались редкие (1—2 раза в год обострения), у 33% (n=12) количество обострений в год варьировало от 3 до 4, и только 11% (n=4) пациентов демонстрировали частые (более 5 в год) обострения ( $p < 0,0001$ ) (Рисунок 3.4).

При ЭРС форме АтД большинство – 64% (n=38) детей демонстрировали 3—4 обострения в год, у 17% детей (n=10) заболевание протекало с редкими обострениями, у 19% (n=11) – с частыми ( $p < 0,0001$ ) (Рисунок 3.4).

При ЭРСЛ форме у 59% (n=13) пациентов наблюдались частые обострения заболевания, у 32% (n=7) частота обострений составляла 3—4 раза в год и только у 9% (n=2) детей наблюдались редкие обострения ( $p < 0,0001$ ) (Рисунок 3.4).

Л форма АтД характеризовалась отсутствием детей с редкими обострениями, при этом у 44% (n=4) пациентов обострения возникали 3—4 раза в год, а у 56% (n=5) детей – более 5 раз в год ( $p < 0,0001$ ) (Рисунок 3.4).

Тяжелое течение АтД было представлено в основном ЭрСЛ формой заболевания, при легком течении преобладали пациенты с ЭКС клинической формой ( $p < 0,0001$ ).

ЭРСЛ и Л формы АтД характеризовались наибольшими значениями индекса SCORAD ( $p < 0,0001$ ), что также являлось важным критерием тяжелых проявлений заболевания.

Анализ распределения пациентов с различной частотой обострения АтД в течение года в зависимости от клинической формы заболевания показал межгрупповые различия в виде преобладания пациентов с редкими обострениями в группе с ЭКС формой АтД, при этом, группы с ЭРСЛ и Л формами характеризовались наибольшими долями пациентов с частыми обострениями и обострениями средней частоты ( $p < 0,0001$ ). Дети с редкими обострениями в группе с ЭРСЛ формой АтД были представлены в меньшинстве, а при Л – отсутствовали ( $p < 0,0001$ ).

Таким образом, преобладание среди пациентов с тяжелым течением заболевания, высокие значения индекса SCORAD, высокая частота обострений в



течение года свидетельствуют о тяжелом прогрессирующем, рецидивирующем течение АтД у детей с ЭрСЛ и Л формами заболевания.

### 3.1.3. Роль отдельных клинико-анамнестических факторов в формировании тяжелых форм атопического дерматита

Интерес представлял анализ данных, направленный на выявление факторов, которые могут влиять на формирование тяжелых прогрессирующих клинических вариантов АтД.

В качестве первого фактора была рассмотрена наследственная отягощенность.

Отягощенный аллергоанамнез по линии матери наблюдался при среднетяжелом (70%; n= 43) и тяжелом течении АтД (61%; n=20) достоверно чаще, чем при легком (31%; n=10) ( $p=0,001$ ) (Рисунок 3.5).

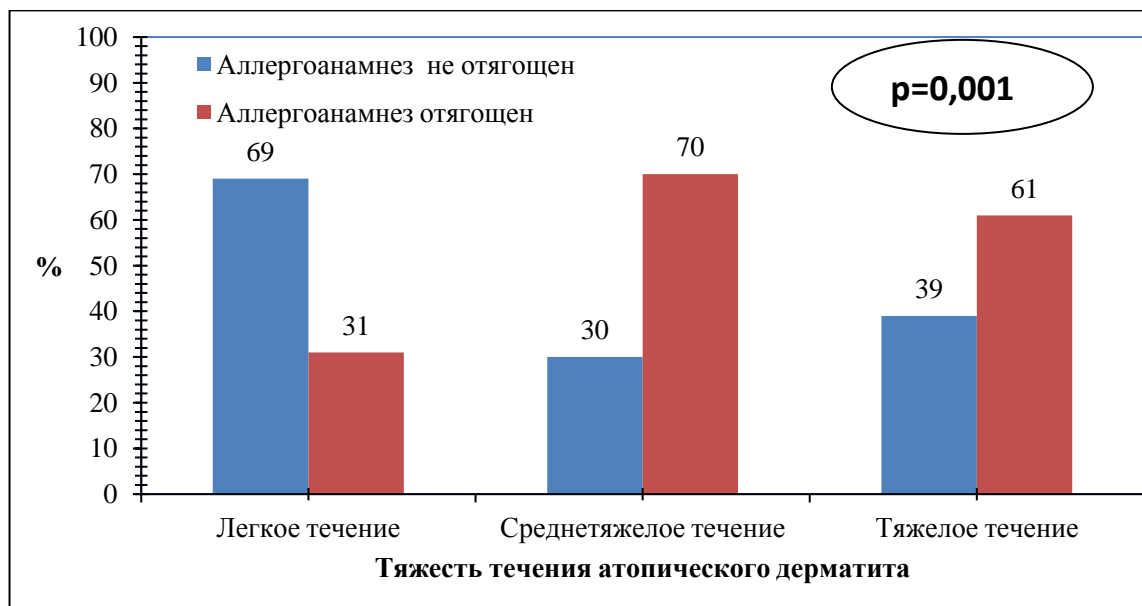


Рисунок 3.5 –Частота выявленной наследственной отягощенности со стороны матери при разной степени тяжести атопического дерматита у детей

Отягощенный аллергоанамнез по линии отца был выявлен у 87% (n=28) представителей группы с легким течением АтД и у 88% (n=29) пациентов, составлявших группу с тяжелым течением заболевания. В группе с среднетяжелым

течением АД наблюдался более низкий показатель наследственной отягощенности по аллергии с отцовской стороны, и он был равен 62% (n=38) (p=0,004) (Рисунок 3.6).

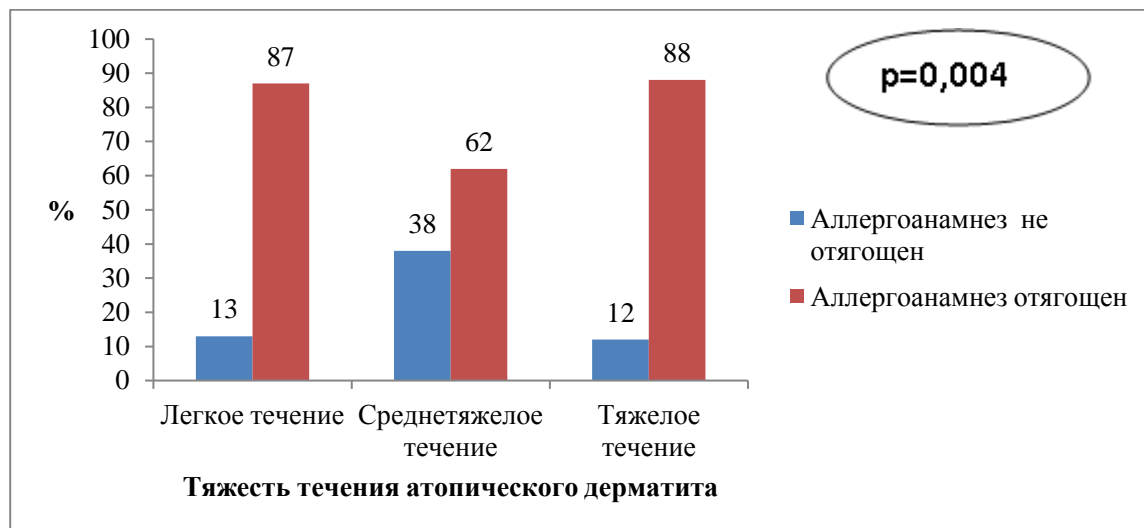


Рисунок 3.6 – Частота выявленной наследственной отягощенности со стороны отца при разной степени тяжести атопического дерматита у детей

При анализе влияния сочетания у обоих родителей отягощенного аллергоанамнеза на тяжесть течения АД у детей существенных различий не выявлено (p=0,08).

Часть пациентов имели сиблингов, страдающих аллергическими заболеваниями. В группе с легким течением АД только у 12% пациентов (n=4) были брат или сестра с аллергическими заболеваниями, тогда как у детей со среднетяжелым течением данный показатель достигал 33% (n=20), а при тяжелом течении – 42% (n=14) (p=0,026) (Рисунок 3.7).

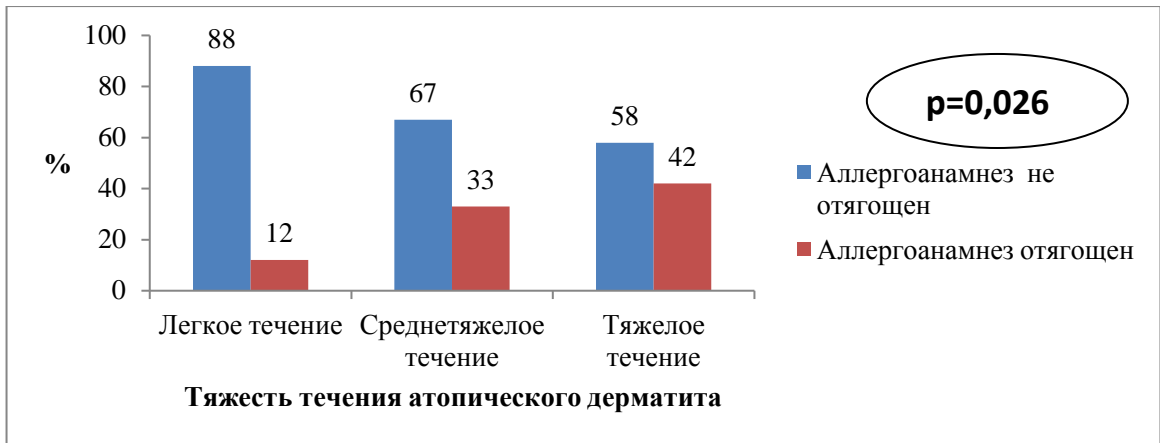


Рисунок 3.7 – Частота обнаружения аллергических заболеваний у сиблингов при различной тяжести течения атопического дерматита

В группе со среднетяжелым течением 29% (n=18) матерей испытывали влияние бытовых вредностей, 67% (n=12) пользовались агрессивными средствами бытовой химии без защитных средств, а 6 матерей (33%) контактировали с плесенью в жилом помещении.

У детей с легким течением АД существенно меньше матерей (12%; n=4) испытывали влияние бытовых вредностей во время беременности, чем в группе со среднетяжелым течением (29%; n=18), самым высоким данный показатель был в группе с тяжелым течением - 49% (n=16), при этом у 14 матерей отмечали контакт со средствами бытовой химии без средств защиты, у 2 женщин отмечался контакт с плесенью в жилом помещении (p=0,007) (Рисунок 3.8).

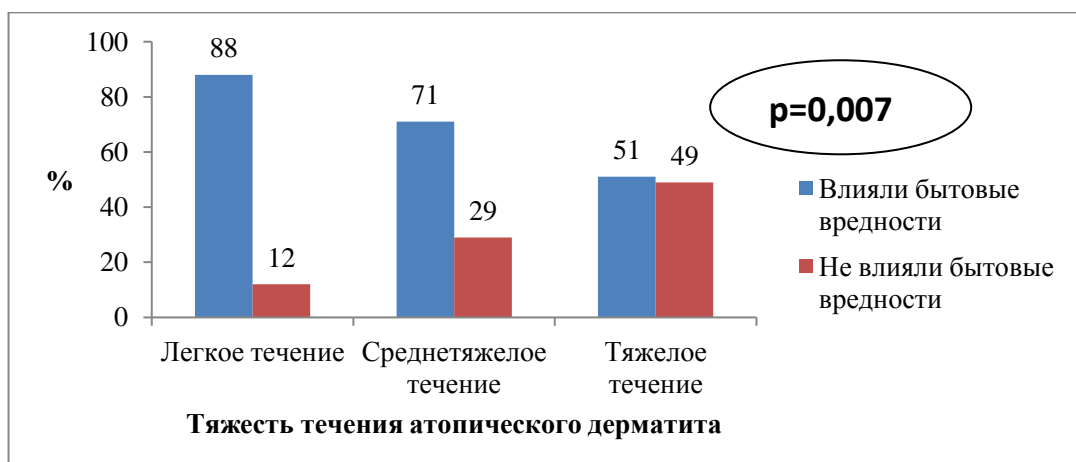


Рисунок 3.8 – Влияние бытовых вредностей матерей во время беременности степень тяжести атопического дерматита у детей

При опросе выявлено, что родители части детей с АтД являлись курильщиками. У детей с тяжелым течением заболевания достоверно чаще, чем при среднетяжелом и легком течении курила мать (52%; n= 17) (p=0,031).

При среднетяжелом течении (46%; n=28) матерей были курильщиками, тогда как при легком течении только у 12 % (n=7) была выявлена вредная привычка (p=0,031) (Рисунок 3.9).

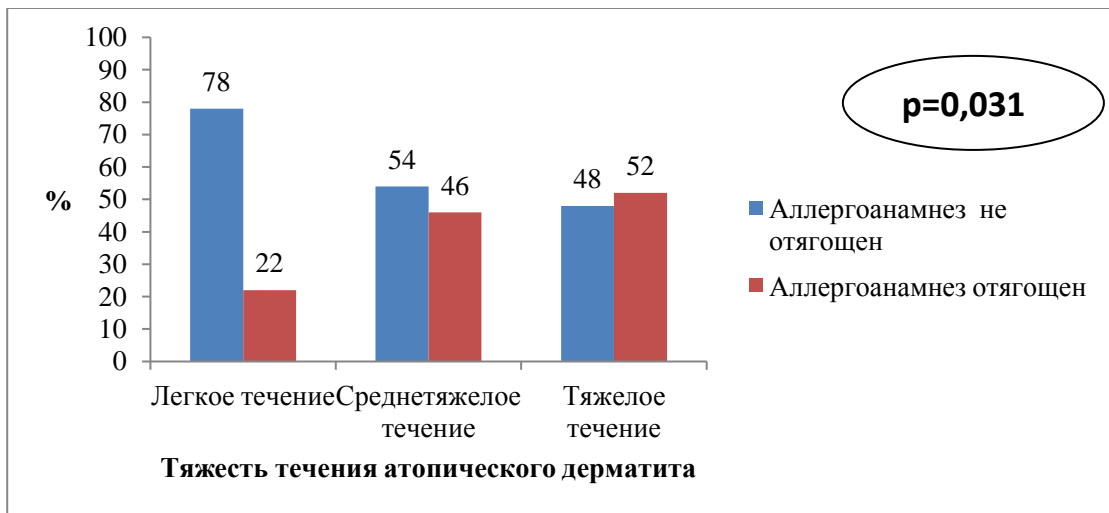


Рисунок 3.9 – Влияние курения матери на риск тяжелого течения атопического дерматита у ее ребенка

Курение отцов в группе детей с тяжелым течением АтД наблюдалось достоверно чаще (73%; n=24), чем в группах со среднетяжелым (66%; n=40) и легким (34%; n=11) течением (p=0,003) (Рисунок 3.10).

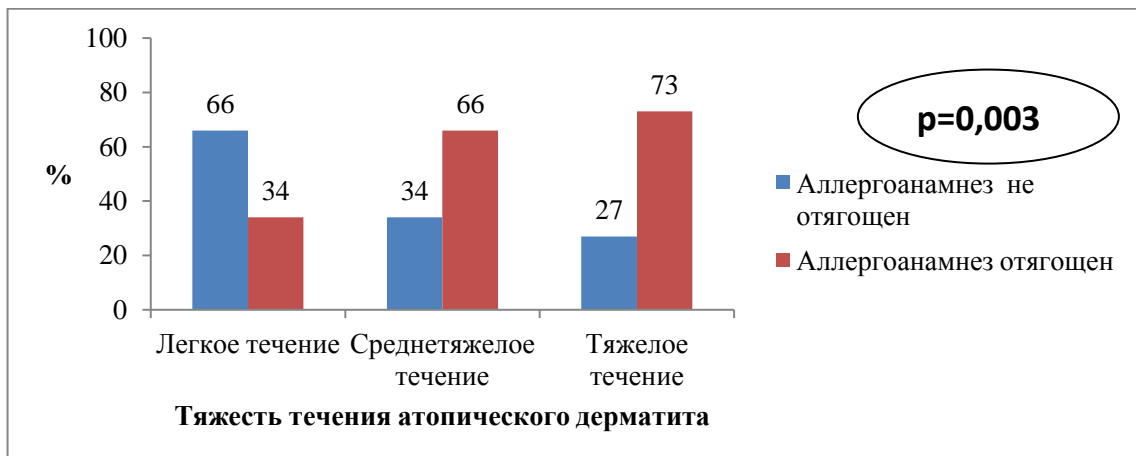


Рисунок 3.10 – Влияние курения отцов на течение атопического дерматита у детей

В группе с легким течением АтД только у 6% (n=2) курили оба родителя, тогда, как при среднетяжелом течении оба родителя курили у 33% (n=20) детей, самый высокий показатель наблюдался при тяжелом течении – у 46% (n=15) (p=0,002) (Рисунок 3.11).

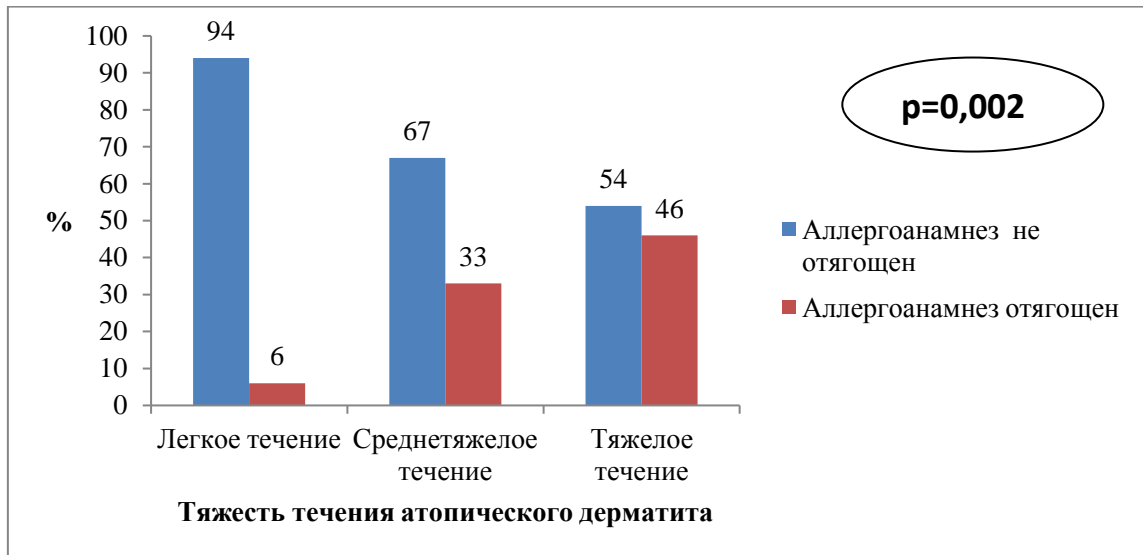


Рисунок 3.11 – Влияние курения обоих родителей течение атопического дерматита у детей

Связи между курением родителей (p=0,66), воздействием бытовых вредностей (p=0,14) и формированием клинических форм АтД у детей проследить не удалось.

Способ родоразрешения не показал значимых различий у детей с различной тяжестью течения АтД (p = 0,42). На формирование клинических форм АтД у детей способ родоразрешения матерей также не оказывал влияния (p= 0,12).

Представлял интерес анализ сроков дебюта заболевания у пациентов с различной тяжестью течения АтД. При легком течении заболевания первые симптомы возникали преимущественно в течение 2-го полугодия жизни (72%; n=23). Среднетяжелое течение включало как пациентов с ранним дебютом (46%; n=28), так и с появлением симптомов во втором полугодии жизни (41%; n=25) и после года (13%; n=8). Пациенты с тяжелым течением демонстрировали первые симптомы заболевания достоверно раньше, чем при легком и среднетяжелом

течении – большинство – в первые четыре месяца жизни (94%; n=31) ( $p < 0,0001$ ) (Рисунок 3.12) [25].

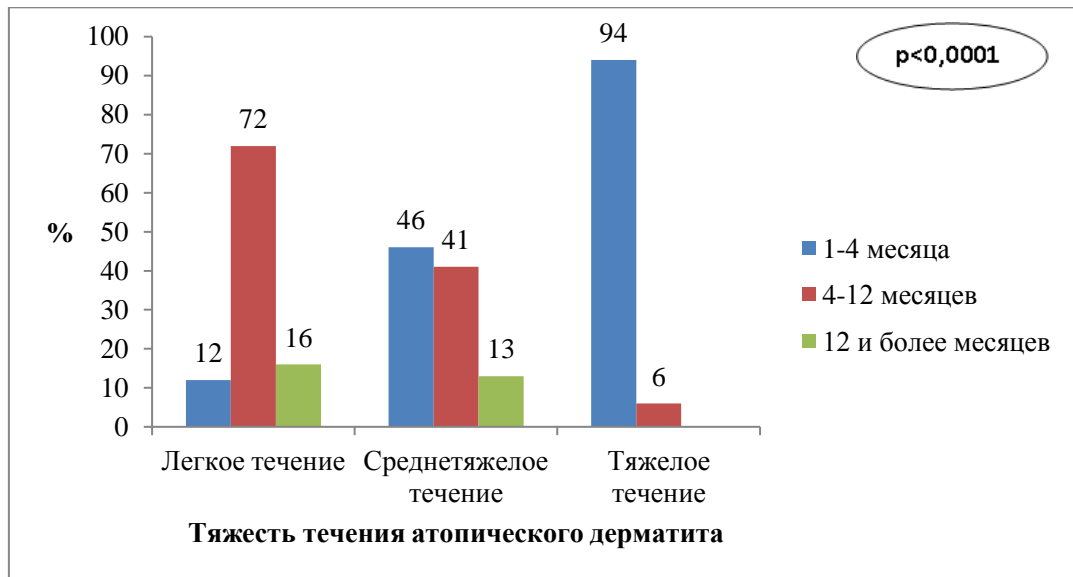


Рисунок 3.12 – Сроки дебюта atopического дерматита у детей с различной тяжестью заболевания

Ранний дебют также наблюдался у детей с ЭРСЛ (82%; n=18) и Л формой заболевания (67%; n=6) достоверно чаще относительно ЭКС формы (12%; n=8) ( $p < 0,0001$ ) (Рисунок 3.13).

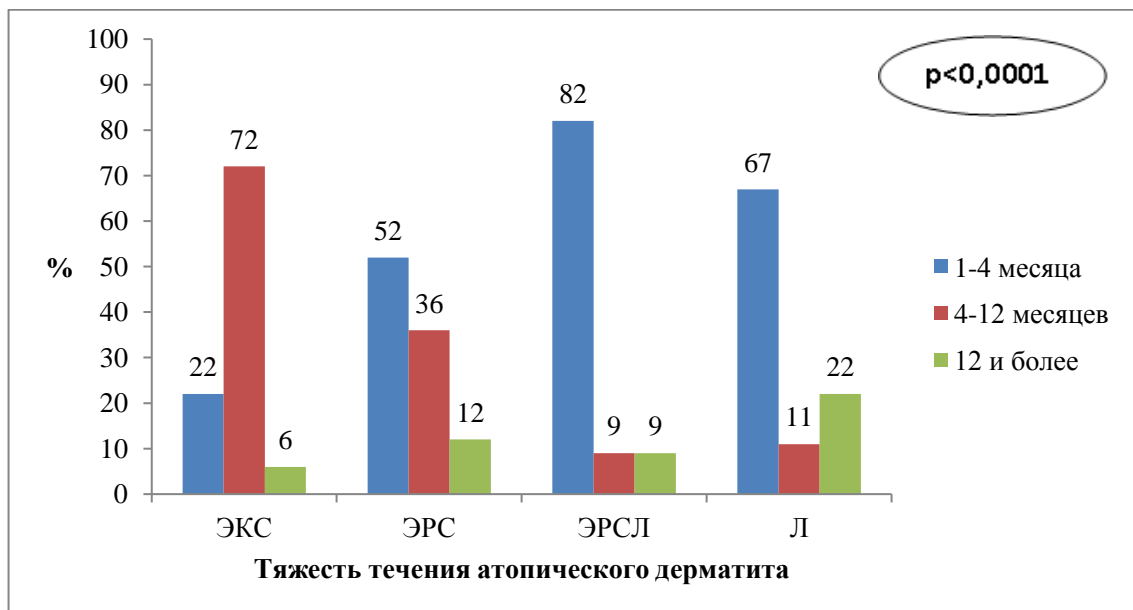


Рисунок 3.13 – Сроки дебюта atopического дерматита в зависимости от клинической формы заболевания

Учитывая ранний возраст пациентов, важным является изучить аспекты вскармливания. На момент дебюта АД преимущественное количество детей, вне зависимости от тяжести течения болезни, получали материнское молоко ( $p=0,56$ ) (Рисунок 3.14), но длительность грудного вскармливания варьировала в зависимости от тяжести заболевания (Рисунок 3.15).

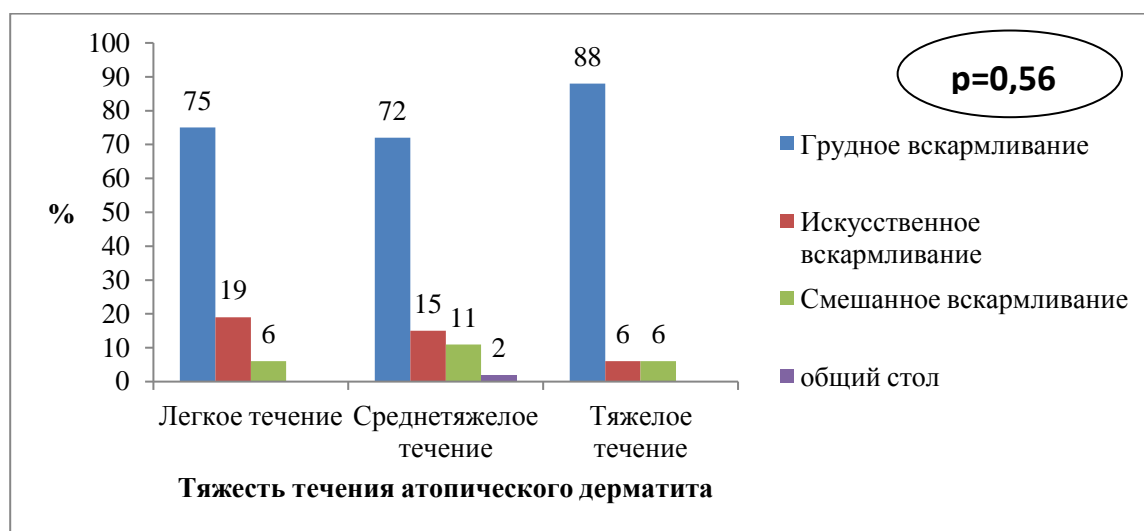


Рисунок 3.14 – Характер вскармливания детей с atopическим дерматитом на момент дебюта заболевания

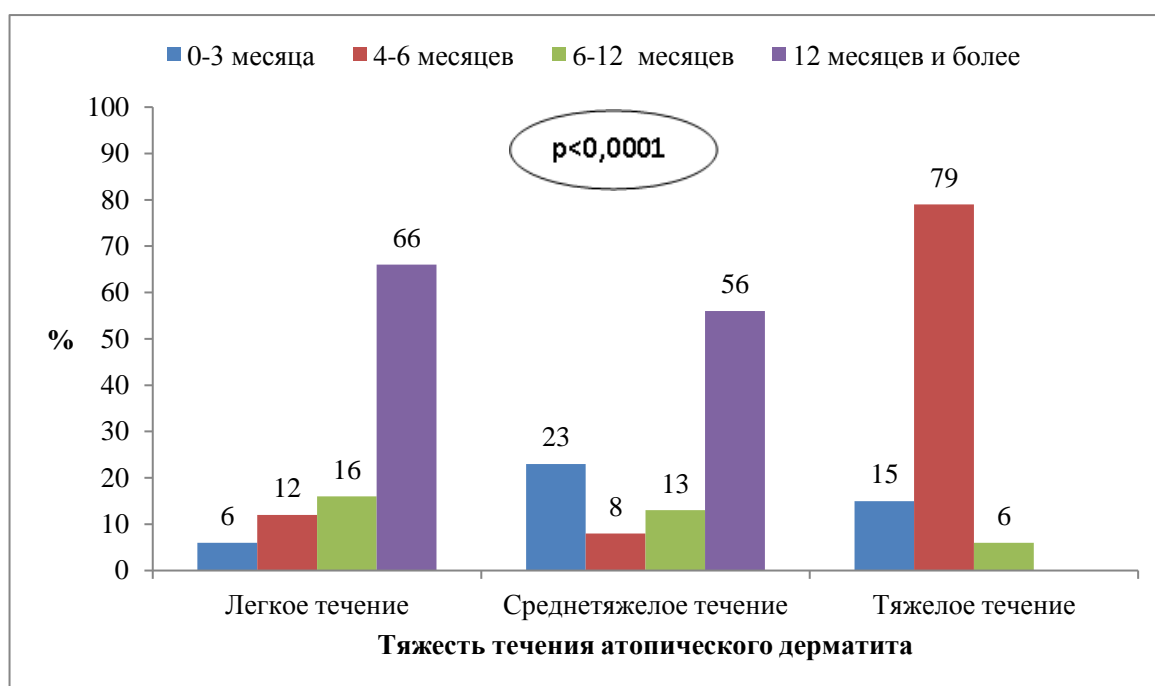


Рисунок 3.15 – Влияние длительности грудного вскармливания детей на течение atopического дерматита

При легком и среднетяжелом течении АТД большинство детей (66% (n=21) и 56% (n=34)) получали молоко матери более года ( $p < 0,0001$ ). В группе с тяжелым течением заболевания длительность грудного вскармливания (ГВ) была существенно ниже, чем при легком и среднетяжелом течении и составляла в 79% (n= 26) 4—6 месяцев, в 15% (n=5) 0—3 месяца ( $p < 0,0001$ ) (Рисунок 3.15).

При изучении дебюта АТД провоцирующие факторы разделили на 3 группы: 1 группа – молочные смеси, 2 – употребление в пищу кормящей матерью продуктов-триггеров, 3 – продукты-триггеры, которые употреблял в пищу ребенок. Первые проявления АТД при легком течении заболевания у детей были вызваны в основном продуктами питания, употребляемыми в пищу ребенком (81%, n = 26), среднетяжелое течение дебютировало с полным спектром возможных причин (факторы в питании ребенка – 42% (n = 26), факторы питания кормящей матери 38% (n = 23), искусственная смесь – 20% (n = 12)). Среди причин дебюта у детей с тяжелым течением АТД ведущую роль играли факторы, употребляемые в пищу кормящей матерью (82%, n = 27) ( $p < 0,0001$ ) (Рисунок 3.16), при этом у 5 женщин это стало причиной отказа от ГВ в пользу искусственной лечебной смеси, что, вероятно, связано с недостаточной информированностью матерей.

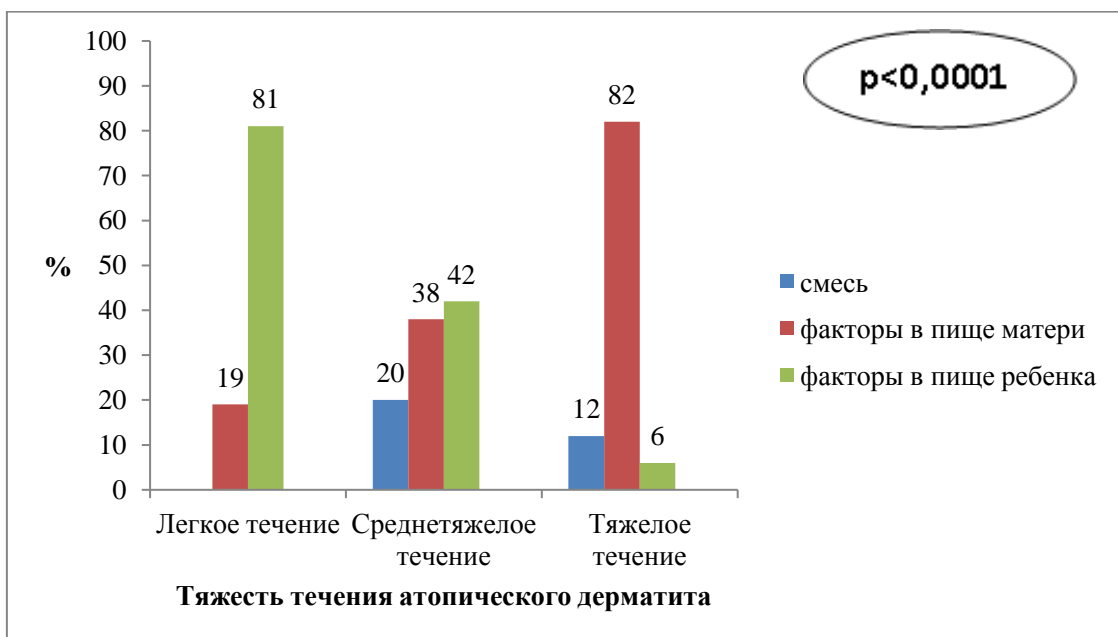


Рисунок 3.16 – Факторы, вызвавшие дебют атопического дерматита у детей



Известно, что у детей на ГВ с симптомами АтД, связанными с приемом пищевых аллергенов матерью, необходимо исключить из рациона женщины причинно значимые аллергены, но не прекращать ГВ [146], ведь ГВ является фактором защиты ребенка от развития тяжелых форм АтД [165].

Уровень образования родителей не влиял на тяжесть течения АтД у детей ( $p=0,297$ ,  $p=0,396$ ).

В результате проведенного исследования выявлено, что отягощенный аллергоанамнез по линии матери и со стороны сиблингов наблюдался существенно чаще у детей с тяжелым и среднетяжелым течением АтД, чем с легким ( $p=0,001$ ). При этом влияния сочетания отягощенного аллергоанамнеза обоих родителей и тяжести течения АтД выявить не удалось ( $p=0,08$ ).

Доля матерей (49%;  $n=16$ ), имеющих бытовые вредности (такие, как сырость, плесень в помещении; использование лакокрасочных покрытий; использование агрессивной бытовой химии без средств защиты) во время беременности была значительно выше в группе детей с тяжелым течением АтД относительно детей с легким и среднетяжелым течением болезни ( $p=0,007$ ).

У детей с тяжелым течением АтД достоверно чаще, чем при среднетяжелом и легком течении заболевания в семье отмечалось курение со стороны матери ( $p=0,003$ ), отца ( $p=0,003$ ), или сочетание вредной привычки у обоих родителей ( $p=0,002$ ).

Связи между курением родителей ( $p=0,66$ ), воздействием бытовых вредностей ( $p=0,14$ ) и формированием клинических форм АтД у детей проследить не удалось.

Способ родоразрешения не оказывал существенного влияния на вероятность развития тяжелого течения и определенной клинической формы заболевания у детей с АтД ( $p=0,42$ ;  $p=0,12$ ).

Пациенты с тяжелым течением демонстрировали первые симптомы АтД достоверно раньше, чем при легком и среднетяжелом течении, большинство – в первые четыре месяца жизни ( $p < 0,0001$ ).

Ранний дебют был характерен для детей с ЭРСЛ (82%; n=18) и Л формой заболевания достоверно чаще, чем для ЭКС формы (12%; n=8) ( $p < 0,0001$ ).

На момент дебюта АтД большинство детей, вне зависимости от тяжести течения болезни, получали материнское молоко ( $p=0,56$ ).

В группах с легким и среднетяжелым течением АтД большинство детей (66% (n=21) и 56% (n=34)) получали молоко матери больше года ( $p < 0,0001$ ).

В группе с тяжелым течением заболевания длительность ГВ была существенно ниже, чем при легком и среднетяжелом течении и составляла в 79% наблюдений 4—6 месяцев (n= 26), в 15% – 0—3 месяца (n=5) ( $p < 0,0001$ ).

Среди причин дебюта у детей с тяжелым течением АтД ведущую роль играло употребление в пищу матерью облигатных аллергенов (82%, n = 27) ( $p < 0,0001$ ).

Уровень образования родителей не оказывал существенного влияния на тяжесть течения АтД у детей ( $p= 0,297$ ,  $p=0,396$ ).

Таким образом, можно сделать вывод о том, что отягощенный аллергоanamнез со стороны матери, сиблингов, влияние бытовых вредностей во время беременности, курение родителей ребенка, ранний дебют заболевания (в первые 4 месяца жизни), небольшая продолжительность ГВ (первые 4—6 месяцев жизни) могут влиять на развитие тяжелого прогрессирующего течения АтД.

## **3.2. Характеристика иммунного статуса у детей с атопическим дерматитом**

### **3.2.1. Общая характеристика иммунного статуса у детей с атопическим дерматитом**

Для выявления особенностей иммунного статуса у детей с АтД, проводили сравнение группы пациентов с АтД (n=67) и представителей группы контроля (n=20).

Нормальность распределения была оценена на основании критерия Колмогорова-Смирнова при  $n > 50$  и Шапиро-Вилка при  $n < 50$ , а также данных эксцессов и асимметрии.

Учитывая нормальность распределения, количественные показатели были представлены в виде выборочного среднего и среднеквадратичного отклонения. Достоверность различий средних величин независимых выборок оценивали с помощью параметрического критерия Стьюдента. [76, 87].

Сравнение показателей иммуноцитогаммы выявило снижение относительного количества В-лимфоцитов в группе пациентов с АД до  $20,83 \pm 0,52\%$  относительно группы контроля ( $23,15 \pm 0,57\%$ ) ( $p=0,023$ ) (Рисунок 3.17).

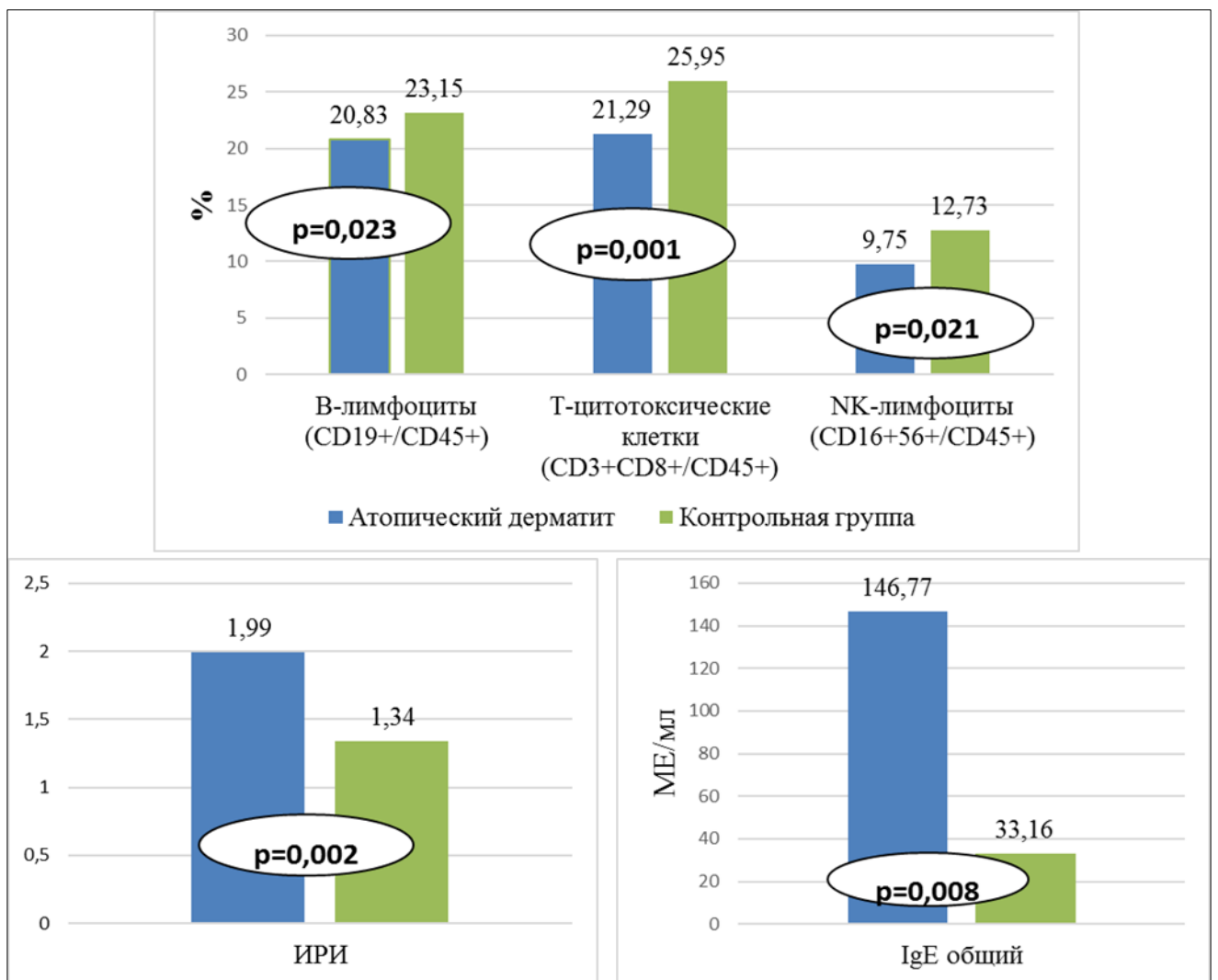


Рисунок 3.17 – Особенности иммунного статуса у детей с атопическим дерматитом

Уровни Т-цитотоксических клеток ( $21,29 \pm 0,73\%$ ) и NK-лимфоцитов ( $9,75 \pm 0,58\%$ ) были существенно ниже у пациентов с АД, чем в контрольной группе ( $p = 0,001$ ;  $p = 0,021$ ) (Рисунок 3.17).

У детей с АД наблюдалось более высокое значение ИРИ ( $1,99 \pm 0,11$ ), чем в контрольной группе ( $1,34 \pm 0,05$ ) ( $p = 0,002$ ) (Рисунок 3.17).

Также наблюдалось повышение уровней IgE общего до  $146,77 \pm 22,57$  МЕ/мл у детей с АД, относительно контрольной группы, в которой показатель варьировал в пределах  $33,16 \pm 3,58$  МЕ/мл ( $p = 0,008$ ) (Рисунок 3.17).

Значения IgG, IgA, IgM, ЦИК в группе детей с АД и группе контроля были сопоставимы ( $p = 0,139$ ;  $p = 0,124$ ;  $p = 0,723$ ;  $p = 0,896$ ).

Таким образом, в группе пациентов с АД наблюдались особенности иммунного статуса, связанные со снижением количества Т-цитотоксических клеток, повышением ИРИ на фоне дефицита относительного количества В-лимфоцитов и NK-лимфоцитов, сопровождающиеся резким повышением уровня общего IgE по сравнению с группой контроля.

### **3.2.2. Характеристика иммунного статуса**

#### **в зависимости от степени тяжести атопического дерматита**

В работе сравнивали показатели иммуноцитогаммы и гуморального звена иммунитета у детей с различной тяжестью течения АД и группой контроля, а также между собой.

Нормальность распределения оценивали на основании критерия Колмогорова-Смирнова при  $n > 50$  и Шапиро-Вилка при  $n < 50$ , а также данных эксцессов и асимметрии. Учитывая нормальность распределения, количественные показатели были представлены в виде выборочного среднего и среднеквадратичного отклонения.

Достоверность различий средних величин независимых выборок оценивали с помощью параметрического критерия Стьюдента [76]. Сравнение в группах с

различной тяжестью течения заболевания производили с помощью дисперсионного анализа [97].

В группе с легким течением заболевания ( $n=16$ ) наблюдались изменения, выражавшиеся в снижении относительного количества Т-цитотоксических клеток ( $22,10 \pm 1,29\%$ ) по сравнению с группой контроля ( $25,95 \pm 0,34\%$ ) ( $p=0,003$ ) и повышении ИРИ ( $1,72 \pm 0,20$ ) относительно аналогичного показателя у детей группы контроля ( $1,34 \pm 0,05$ ) ( $p=0,046$ ), другие показатели клеточного звена иммунитета были близки к таковым в группе контроля и не имели достоверных различий (Рисунок 3.18).

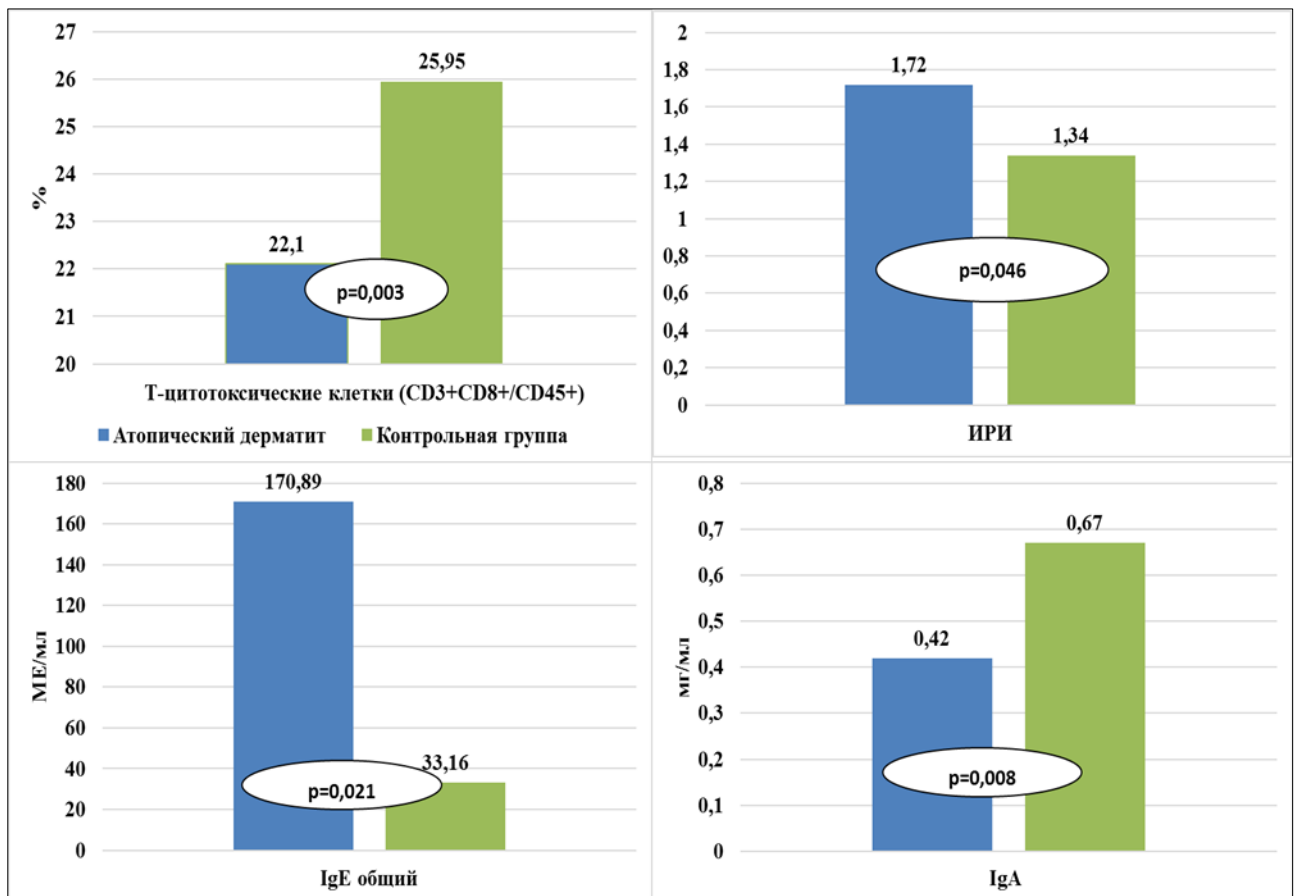


Рисунок 3.18 – Особенности иммунного статуса у детей с легким течением атопического дерматита

Изменения в гуморальном звене иммунитета характеризовались достоверным повышением общего IgE ( $170,89 \pm 63,55$  МЕ/мл) по сравнению с группой контроля ( $33,16 \pm 3,58$  МЕ/мл) ( $p=0,021$ ) (Рисунок 3.18).

Уровень IgA при легком течении АД был достоверно ниже ( $0,42 \pm 0,05$  мг/мл), чем в контрольной группе ( $0,67 \pm 0,07$  мг/мл) ( $p=0,008$ ) (Рисунок 3.18).

При АД средней тяжести ( $n=39$ ) выявлено статистически значимое снижение Т-цитотоксических лимфоцитов до  $20,51 \pm 1,06\%$ , возрастание уровня Т-хелперов до  $39,70 \pm 1,15$  по сравнению с контрольной группой ( $p=0,001$ ;  $p=0,016$ ). ИРИ составлял до  $2,18 \pm 0,16$  и был выше, чем в группе контроля ( $1,34 \pm 0,05$ ) ( $p=0,001$ ). Уровни NK-лимфоцитов ( $9,08 \pm 0,78\%$ ) и В-лимфоцитов ( $20,89 \pm 0,70\%$ ) были ниже по сравнению с контрольной группой ( $p=0,012$ ;  $p=0,037$ ) (Рисунок 3.19).

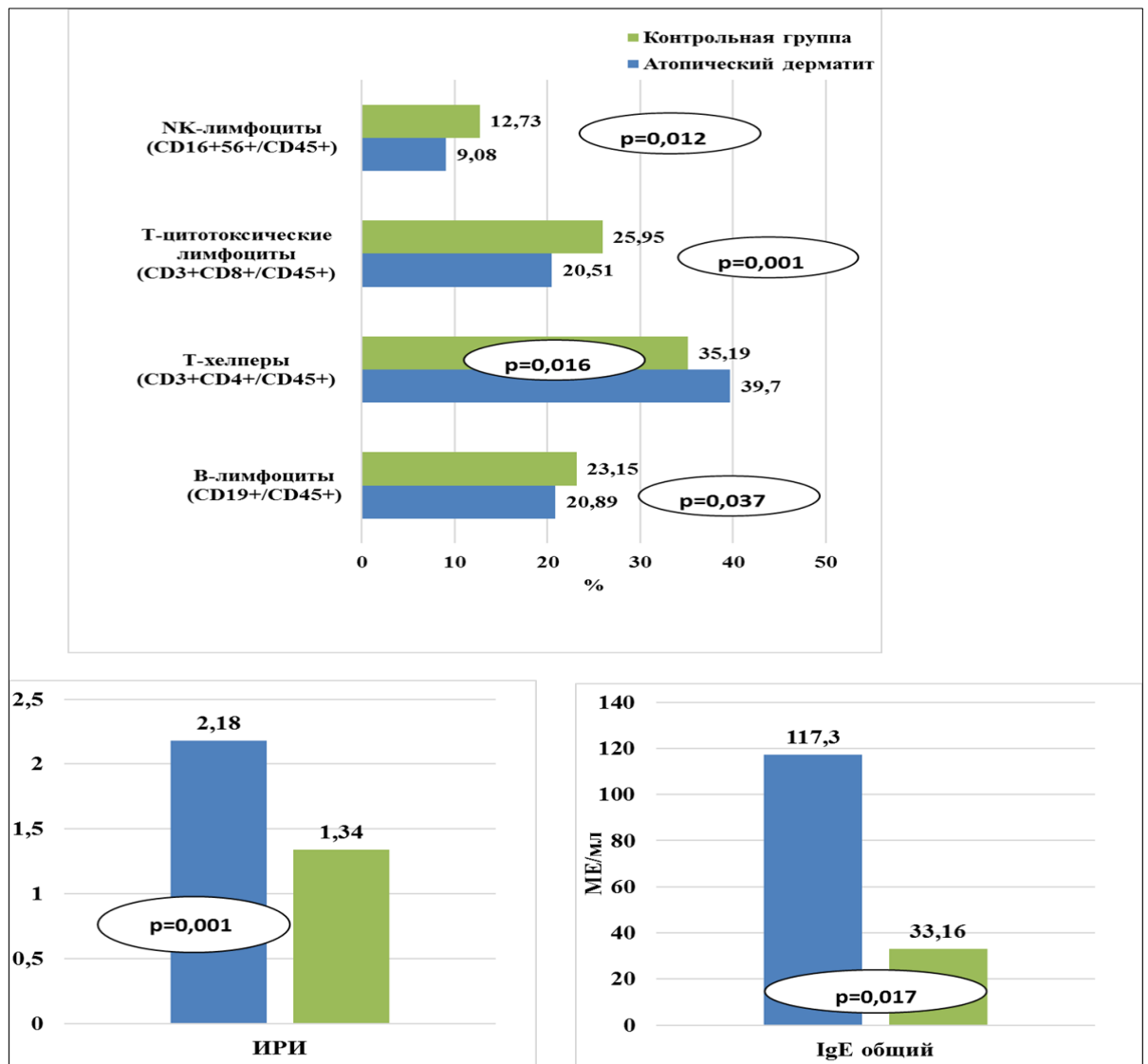


Рисунок 3.19 – Особенности иммунного статуса у детей со среднетяжелым течением атопического дерматита

У детей со среднетяжелым течением АДД уровень IgE ( $117,30 \pm 24,32$  МЕ/мл) был выше, чем в контрольной группе ( $33,16 \pm 3,58$  МЕ/мл) ( $p = 0,017$ ) (Рисунок 3.19).

У детей с тяжелым течением АДД ( $n=12$ ) уровень лейкоцитов в периферической крови был выше ( $9,83 \pm 0,90 \cdot 10^9/\text{л}$ ), а лимфоцитов ( $40,50 \pm 2,65\%$ ) – ниже, чем в группе контроля ( $p=0,002$ ;  $p=0,014$ ) (Рисунок 3.20). Также наблюдалось снижение Т-цитотоксических клеток ( $22,74 \pm 1,27\%$ ), и повышение ИРИ ( $1,79 \pm 0,14$ ) ( $p=0,05$ ;  $p=0,002$ ) (Рисунок 3.20).

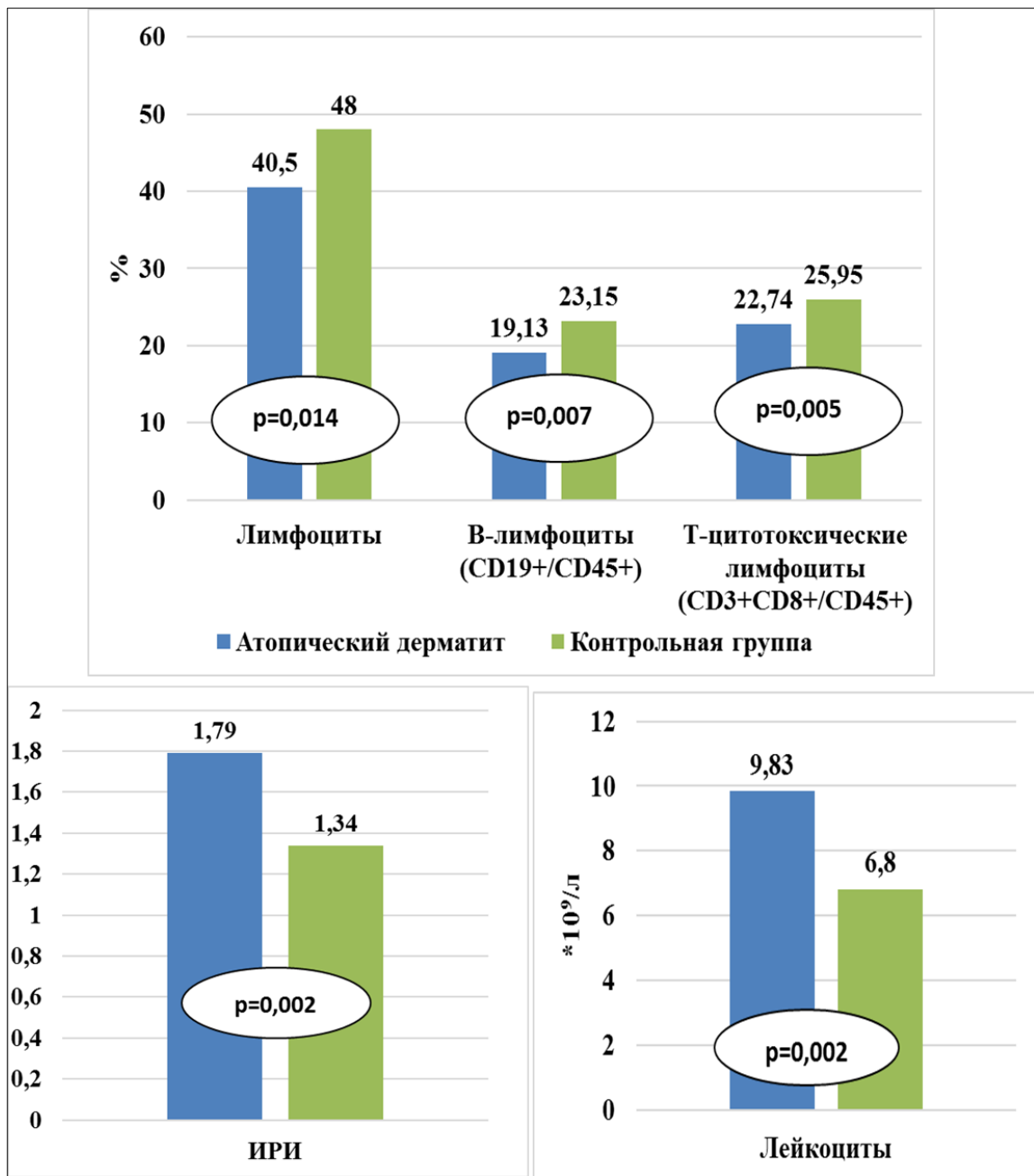


Рисунок 3.20 – Особенности иммуноцитогаммы у детей с тяжелым течением атопического дерматита

В показателях гуморального звена иммунитета наблюдались различия с контрольной группой в виде выраженного повышения IgE ( $210,40 \pm 48,82$  МЕ/мл) и почти двукратного снижения IgA ( $0,35 \pm 0,06$  мг/мл) ( $p = 0,0001$ ;  $p=0,002$ ) (Рисунок 3.21).

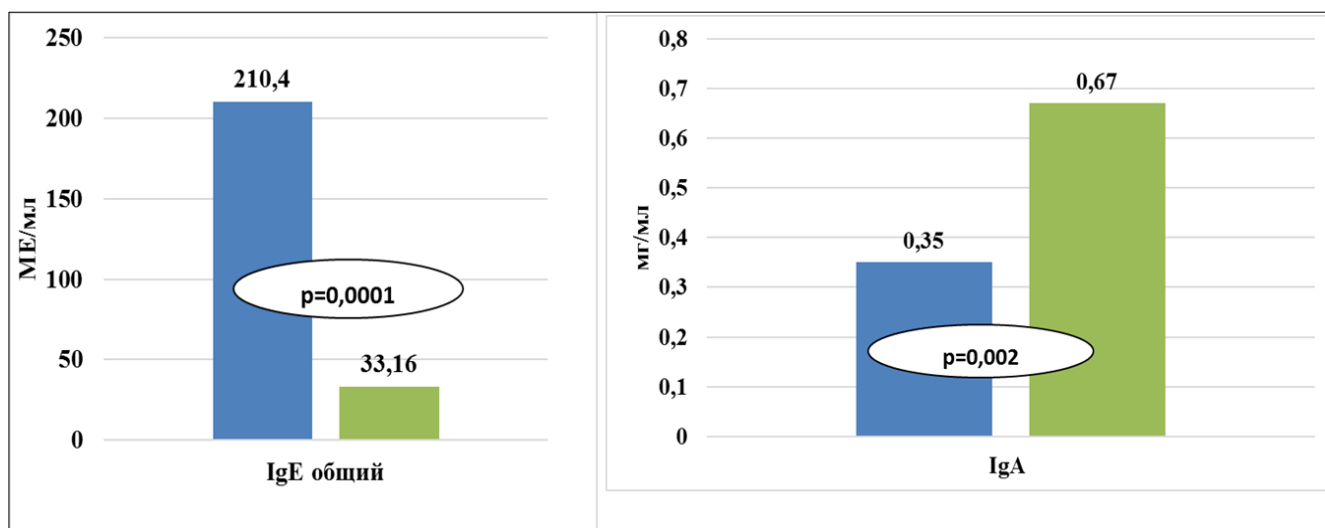


Рисунок 3.21 – Особенности гуморального звена иммунитета у детей с тяжелым течением атопического дерматита

Группы с легким, среднетяжелым и тяжелым течением между собой сравнивали методом дисперсионного анализа, который показал значимые различия по уровням лейкоцитов ( $F=4,76$ ;  $p=0,012$ ). При легком течении АтД уровни лейкоцитов составляли  $7,34 \pm 0,69 \cdot 10^9$ /л, при среднетяжелом -  $6,92 \pm 0,46 \cdot 10^9$ /л, а при тяжелом были выше  $9,83 \pm 0,9 \cdot 10^9$ /л ( $p=0,026$ ;  $p=0,003$ ).

Группы с различной тяжестью течения заболевания отличались по количеству лимфоцитов ( $F=3,20$ ;  $p=0,048$ ).

У детей с тяжелым течением АтД уровень относительного количества лимфоцитов составлял  $40,50 \pm 2,65\%$  и был ниже аналогичного показателя, чем у детей с АтД средней тяжести ( $49,85 \pm 2,23\%$ ) и легким ( $52,50 \pm 3,30\%$ ) ( $p=0,034$ ;  $p=0,019$ ).

Пациенты с тяжелым ( $39,70 \pm 1,15\%$ ) и среднетяжелым АтД ( $38,82 \pm 1,56\%$ ) показывали более высокий уровень Т-хелперов, чем с легким ( $34,58 \pm 1,26\%$ ) ( $p=0,04$ ;  $p=0,009$ ).



У детей с легким течением АтД в отличие от контрольной группы выявлен существенно более низкий уровень Т-цитотоксических клеток в сочетании с изменением показателей гуморального звена иммунитета в виде снижения уровня IgA, на фоне резкого повышения общего IgE.

У пациентов с АтД средней тяжести в иммуноцитограмме отмечены особенности по сравнению с группой контроля в виде снижения Т-цитотоксических клеток и НК – лимфоцитов и повышения Т-хелперов.

Пациенты с тяжелым течением АтД демонстрировали, в отличие от контрольной группы, высокие уровни лейкоцитов и повышение ИРИ, уровни относительного количества лимфоцитов и Т-цитотоксических клеток были снижены. Изменения в гуморальном звене иммунитета характеризовались не только повышением общего IgE, но и двукратным снижением IgA.

Данная картина изменения иммунного статуса больных, вероятно, была связана с острой фазой воспалительной реакции с включением дополнительных механизмов клеточного иммунитета в процесс с миграцией части лимфоцитов к органу мишени. При увеличении тяжести АтД выраженность изменений в иммунограмме возрастала. Изменения в клеточном звене иммунитета сопровождались дефицитом IgA, что могло сопровождаться ослаблением местных защитных механизмов на фоне гиперпродукции IgE.

У детей с легким, среднетяжелым и тяжелым течением АтД наблюдались межгрупповые различия: в группе с тяжелым течением заболевания наблюдались самый высокий уровень лейкоцитов и снижение относительного количества лимфоцитов в крови.

При легком АтД у пациентов уровень Т-хелперов был ниже, чем при среднетяжелом и тяжелом.

Таким образом, тяжелое течение АтД, в отличие от легкого и среднетяжелого, сопровождалось более высокими уровнями лейкоцитов в периферической крови и низким количеством лимфоцитов. У детей с прогрессирующим течением АтД было выявлено снижение числа

Т-цитотоксических клеток с более высокими значениями ИРИ и IgE, двукратным снижением IgA по сравнению с группой контроля.

### **3.2.3. Характеристика иммунного статуса у детей в зависимости от клинической формы атопического дерматита**

В процессе исследования сравнивали показатели иммунологического профиля и гуморального звена иммунитета у детей групп с ЭКС (n=36), ЭРС (n=25) и ЭРСЛ (n=6) клиническими формами АтД и группы контроля, а также у детей групп с ЭКС, ЭРС и ЭРСЛ формами АтД между собой.

Нормальность распределения оценивали на основании критерия Шапиро-Вилка при  $n < 50$ , данных эксцессов и асимметрии.

Учитывая отличное от нормального распределение, количественные показатели были представлены в виде медианы и квартилей. Сравнение осуществляли с помощью теста Манна-Уитни и Краскала-Уоллиса [87].

У детей с ЭКС формой АтД наблюдались достоверно более низкие уровни как абсолютного (0,58 [0,51; 0,74]  $10^9/л$ ), так и относительного (20,5 [18; 24] %) числа лимфоцитов по сравнению с группой контроля ( $p=0,01$ ). Содержание Т-цитотоксических клеток (21,9 [16,4; 24,1] %) и NK-лимфоцитов (7,65 [6,3; 13,5] %) у детей с ЭКС формой АтД отличалось более низкими значениями, чем в группе контроля ( $p= <0,0001$ ;  $p = 0,006$ ). У детей с ЭКС формой АтД наблюдалось повышение ИРИ до 1,86 [1,46; 2,49], относительно группы контроля, в которой данное значение составляло 1,43 [1,15; 1,5] ( $p=0,0007$ ) (Таблица 3.4).

При изучении гуморального звена иммунитета у детей с ЭКС формой АтД и контрольной группы наблюдались достоверные различия в виде более низких уровней IgA у детей с АтД (0,38 [0,2; 0,66] мг/мл;  $p = 0,02$ ), при этом уровень IgE был выше, чем в группе контроля ( $p=0,03$ ) (Таблица 3.4).

У детей с ЭРС формой заболевания наблюдалось уровень Т-цитотоксических клеток составлял 22 [17,1; 25] % , ИРИ - 1,93 [1,35; 2,52], данные показатели были ниже контрольных значений ( $p = 0,0007$ ;  $p = 0,02$ ) (Таблица 3.4).

Таблица 3.4 – Показатели иммунного статуса у детей с различными клиническими формами атопического дерматита и группы контроля

|  | Клиническая форма АД                                |  |   |                     |
|--|---|--|---|---------------------|
|  | ЭКС   | ЭрС  | ЭрСЛ  | К                   |
| <b>n</b>   | <b>36</b>   | <b>25</b>                                      | <b>6</b>  | <b>20</b>           |
|  | <b>1</b>  | <b>2</b>                                       | <b>3</b>  | <b>к</b>            |
| Исследование клеточного звена иммунитета               |   |  |   |                     |
| Лейкоциты<br>(10 <sup>9</sup> /л)                      | 6<br>[5; 7]<br>p (к-1)= 0,3                         | 6,6<br>[6; 11]<br>p (к-2)= 0,2                 | 10,6<br>[7; 13]<br>p (к-3)= <b>0,01*</b>        | 6,3<br>[5,6; 8,35]  |
| Лимфоциты<br>(%)                                       | 52<br>[47; 58]<br>p (к-1)= 0,1                      | 46<br>[38; 8]<br>p (к-2)= 0,6                  | 37,5<br>[26; 46]<br>p (к-3)= <b>0,004*</b>      | 51<br>[47; 52]      |
| Т-лимфоциты<br>(CD3+/CD45+)<br>(%)                     | 66<br>[62,3; 69,9]<br>p (к-1)= 0,2                  | 63<br>[60,2; 67]<br>p (к-2)= 0,9               | 67<br>[67; 70,5]<br>p (к-3)= 0,2                | 65,8<br>[59;67,2]   |
| Т-лимфоциты<br>(CD3+/CD45+)<br>(10 <sup>9</sup> /л)    | 1,97<br>[1,52; 2,45]<br>p (к-1)= 0,1                | 2,18<br>[1,56; 3,36]<br>p (к-2)= 1             | 2,26<br>[1,68; 3,43]<br>p (к-3)= 0,9            | 2,11<br>[1,8; 2,7]  |
| В-лимфоциты<br>(CD19+/CD45+)<br>(%)                    | 20,5<br>[18; 24]<br>p (к-1)= <b>0,01*</b>           | 21,2<br>[20; 23,5]<br>p (к-2)= 0,09            | 19,6<br>[10,1; 21,2]<br>p (к-3)= 0,2            | 21<br>[21; 25,4]    |
| В-лимфоциты<br>(CD19+/CD45+)<br>(10 <sup>9</sup> /л)   | 0,58<br>[0,51; 0,74]<br>p (к-1)= <b>0,01*</b>       | 0,78 [0,5; 1,02]<br>p (к-2)= 0,6               | 0,67<br>[0,34; 1,03]<br>p (к-3)= 0,4            | 0,73<br>[0,7;0,77]  |
| Т-хелперы<br>(CD3+CD4+/CD45+)<br>(%)                   | 38,9<br>[32,8; 43,7]<br>p (к-1)= 0,09               | 36,2<br>[32,1; 41]<br>p (к-2)= 0,4             | 40,9<br>[38,1; 44,5]<br>p (к-3)= 0,08           | 36,5<br>[32; 40]    |
| Т-цитотоксические<br>клетки<br>(CD3+CD8+/CD45+)<br>(%) | 21,9<br>[16,4; 24,1]<br>p (к-1)= <b>&lt;0,0001*</b> | 22<br>[17,1; 25]<br>p (к-2)= <b>0,0007*</b>    | 21,5<br>[20,8; 24,4]<br>p (к-3)= <b>0,0002*</b> | 25,4<br>[25; 26,1]  |
| Иммунорегуляторный<br>индекс                           | 1,86<br>[1,46; 2,49]<br>p (к-1)= <b>0,0007*</b>     | 1,93<br>[1,35; 2,52]<br>p (к-2)= <b>0,02*</b>  | 1,82<br>[1,56; 2,07]<br>p (к-3)= <b>0,01*</b>   | 1,43<br>[1,15;1,5]  |
| НК-лимфоциты<br>(CD16+56+/CD45+)<br>(%)                | 7,65<br>[6,3; 13,5]<br>p (к-1)= <b>0,006*</b>       | 8,2 [6,8; 13]<br>p (к-2)= 0,08                 | 7,92<br>[4; 18,8]<br>p (к-3)= 0,4               | 11<br>[9; 15]       |
| Исследование гуморального звена иммунитета             |   |  |   |                     |
| IgG общий (мг/мл)                                      | 8,57<br>[6,77; 11]<br>p (к-1)= 0,5                  | 9,75<br>[7,56; 12,4]<br>p (к-2)= 0,08          | 8,4<br>[8,29; 9,82]<br>p (к-3)= 0,6             | 7,57<br>[5,0;11,6]  |
| IgA общий (мг/мл)                                      | 0,38<br>[0,2; 0,66]<br>p (к-1)= <b>0,02*</b>        | 0,36<br>[0,2; 0,52]<br>p (к-2)= <b>0,0005*</b> | 0,42<br>[0,2; 0,48]<br>p (к-3)= <b>0,005*</b>   | 0,52<br>[0,47;0,88] |
| IgM общий (мг/мл)                                      | 1,08<br>[0,82; 1,7]<br>p (к-1)= 0,4                 | 1,44<br>[0,93; 1,57]<br>p (к-2)= 0,9           | 1,05<br>[0,93; 1,21]<br>p (к-3)= <b>0,02*</b>   | 1,36<br>[1,24;1,62] |

Продолжение Таблицы 3.4

|  | Клиническая форма АД                         |   |   |                        |
|--|--|---|---|------------------------|
|  | ЭКС  | ЭрС   | ЭрСЛ  | К                      |
| n  | 36   | 25  | 6   | 20                     |
|  | 1  | 2   | 3   | к                      |
| Уровень IgE в сыворотке крови в период обострения АД (МЕ/мл) | 53,2<br>[15,5; 165]<br>p (к-1)= <b>0,03*</b> | 76,3<br>[21,9; 126]<br>p (к-2)= <b>0,001*</b> | 385<br>[284; 485]<br>p (к-3)= <b>0,003*</b> | 32,66<br>[18,05;45,87] |
| ЦИК  | 38,5<br>[23; 59]<br>p (к-1)= 0,8             | 35<br>[22; 43]<br>p (к-2)= 0,4                | 28,5<br>[22; 35]<br>p (к-3)= 0,4            | 33<br>[20; 60,5]       |

Обозначения: к – группа контроля (n=20), 1 — экссудативная форма(n=36), 2 – эритематозно-сквамозная форма (n=25), 3 – эритематозно-сквамозная с лихенизацией форма (n=6).  
 В таблице средние значения представлены в виде медианы, нижнего квартиля, верхнего квартиля; сравнение осуществлялось с помощью теста Манна-Уитни.  
 Различия показателей достоверны (\* —  $p < 0,05$ ) по сравнению с таковыми в группе контроля.

Особенности гуморального звена иммунитета у детей с ЭрС формой АД относительно группы контроля характеризовались, как и при ЭКС форме, более низкими уровнями IgA (0,36 [0,2; 0,52]), чем в группе контроля ( $p = 0,0005$ ) повышением уровней IgE общего до 76,3 [21,9; 126] МЕ/мл ( $p = 0,001$ ) (Таблица 3.4).

В группе с ЭрСЛ формой заболевания по сравнению с контрольной группой отмечены достоверно более высокий уровень абсолютного количества лейкоцитов, который составил 10,6 [7; 13]  $10^9/л$  ( $p = 0,01$ ). Относительное содержание лимфоцитов было выше у детей с ЭрСЛ формой АД (37,5 [26; 46] %), чем в контрольной группе (51 [47; 52] %) ( $p = 0,004$ ) (Таблица 3.4).

Пациенты с ЭрСЛ формой АД, как и дети с ЭКС, ЭрС формами АД демонстрировали картину в виде достоверно более низких уровней относительного количества Т-цитотоксических клеток и ИРИ по сравнению с группой контроля ( $p = 0,0002$ ;  $p = 0,01$ ) (Таблица 3.4).

Изменения в гуморальном звене иммунитета у детей с ЭрСЛ клинической формой АД характеризовались не только достоверно более низким уровнем IgA, (0,42 [0,2; 0,48] мг/мл) по сравнению с группой контроля - 0,52 [0,47; 0,88] мг/мл

( $p=0,005$ ), но и снижением иммуноглобулина М (IgM) до 1,05 [0,93; 1,21] мг/мл по сравнению с контрольной группой, где он составлял 1,36 [1,24; 1,62] мг/мл ( $p=0,02$ ), при этом, наблюдалось резкое повышение уровня IgE общего до 385 [284; 485] МЕ/мл ( $p=0,003$ ) (Таблица 3.4).

При анализе показателей клеточного звена иммунитета у детей с различными, клиническими формами АтД выявлен достоверно более высокий уровень абсолютного количества лейкоцитов в группе с ЭрСЛ формой, который составил  $10,6 [7; 13] \cdot 10^9/\text{л}$ , относительно уровней  $6 [5; 7] \cdot 10^9/\text{л}$  и  $6,6 [6; 11] \cdot 10^9/\text{л}$  в группах с ЭКС и ЭрС формами соответственно ( $p=0,007$ ).

Уровень относительного количества лимфоцитов в группе с ЭрСЛ формой был достоверно ниже контрольных значений ( $p=0,01$ ). Другие проанализированные показатели клеточного иммунитета в группах с ЭКС ЭрС ЭрСЛ формами заболевания были сопоставимы (Таблица 3.5).

Таблица 3.5 – Сравнительный анализ показателей иммунного статуса у детей с атопическим дерматитом в зависимости от клинической формы заболевания

|   | Клиническая форма АтД |                   |                   | p            |
|---|-----------------------|-------------------|-------------------|--------------|
|   | ЭКС                   | ЭрС               | ЭрСЛ              |              |
| n   | 36                    | 25                | 6                 |              |
| Исследование клеточного звена иммунитета      |                       |                   |                   |              |
| Лейкоциты ( $10^9/\text{л}$ )                 | 6 [5; 7]              | 6,6 [6; 11]       | 10,6 [7; 13]      | <b>0,007</b> |
| Лимфоциты (%)                                 | 52 [47; 58]           | 46 [38; 58]       | 37,5 [26; 46]     | <b>0,01</b>  |
| Т-лимфоциты (CD3+/CD45+) (%)                  | 66 [62,3; 69,9]       | 63 [60,2; 67]     | 67 [67; 70,5]     | 0,3          |
| Т-лимфоциты (CD3+/CD45+) ( $10^9/\text{л}$ )  | 1,97 [1,52; 2,45]     | 2,18 [1,56; 3,36] | 2,26 [1,68; 3,43] | 0,4          |
| В-лимфоциты (CD19+/CD45+) (%)                 | 20,5 [18; 24]         | 21,2 [20; 23,5]   | 19,6 [10,1; 21,2] | 0,4          |
| В-лимфоциты (CD19+/CD45+) ( $10^9/\text{л}$ ) | 0,58 [0,51; 0,74]     | 0,78 [0,5; 1,02]  | 0,67 [0,34; 1,03] | 0,3          |
| Т-хелперы (CD3+CD4+/CD45+) (%)                | 38,9 [32,8; 43,7]     | 36,2 [32,1; 41]   | 40,9 [38,1; 44,5] | 0,5          |

Продолжение Таблицы 3.5

|  | Клиническая форма АтД |                   |                   | p            |
|--|-----------------------|-------------------|-------------------|--------------|
|  | ЭКС                   | ЭрС               | ЭрСЛ              |              |
| n  | 36                    | 25                | 6                 |              |
| Исследование клеточного звена иммунитета   |                       |                   |                   |              |
| Т-цитотоксические клетки (CD3+CD8+/CD45+) (%)  | 21,9 [16,4;24,1]      | 22 [17,1; 25]     | 21,5 [20,8;24,4]  | 0,9          |
| Иммунорегуляторный индекс  | 1,86 [1,46; 2,49]     | 1,93 [1,35; 2,52] | 1,82 [1,56; 2,07] | 0,9          |
| НК-лимфоциты (CD16+56+/CD45+) (%)  | 7,65 [6,3;13,5]       | 8,2 [6,8; 13]     | 7,92 [4;18,8]     | 0,9          |
| Исследование гуморального звена иммунитета   |                       |                   |                   |              |
| IgG общий (мг/мл)  | 8,57 [6,77; 11]       | 9,75 [7,56;12,4]  | 8,4 [8,29;9,28]   | 0,4          |
| IgA общий (мг/мл)  | 0,38 [0,2;0,66]       | 0,36 [0,2;0,52]   | 0,42 [0,2;0,48]   | 0,9          |
| IgM общий (мг/мл)  | 1,08 [0,82; 1,7]      | 1,44 [0,93; 1,57] | 1,05 [0,93; 1,21] | 0,4          |
| ЦИК  | 38,5 [23; 59]         | 35 [22; 43]       | 28,5 [22; 35]     | 0,3          |
| Уровень IgE в сыворотке крови в период обострения АтД (МЕ/мл)  | 53,2 [15,5; 165]      | 76,3 [21,9; 126]  | 385 [284; 485]    | <b>0,047</b> |
| Уровень IgE в сыворотке крови в период ремиссии АтД (МЕ/мл)  | 45,6 [22,3; 144]      | 67,2 [23,1; 132]  | 260 [174; 346]    | <b>0,045</b> |
| В таблице средние значения представлены в виде медианы, нижнего квартиля, верхнего квартиля; сравнение осуществлялось с помощью теста Краскала-Уоллиса. Различия показателей достоверны (* — $p < 0,05$ ) по сравнению с таковыми в группе контроля. |                       |                   |                   |              |

Исследование гуморального звена иммунитета у детей с различными клиническими формами АтД не выявило достоверных межгрупповых различий в уровнях иммуноглобулинов и ЦИК ( $p=0,4$ ;  $p=0,9$ ;  $p=0,4$ ;  $p=0,3$ ) (Таблица 3.5).

У детей с ЭрСЛ клинической формой АтД наблюдался наиболее высоким уровень IgE общего в периоде обострения (385 [284; 485] ммоль/л), относительно пациентов с ЭКС и ЭрСЛ формами АтД ( $p=0,047$ ). В ремиссии заболевания у детей с ЭрСЛ формой АтД наблюдалось снижение уровня общего IgE до 260 [174; 346] МЕ/мл, при этом он был достоверно выше, чем у пациентов с ЭКС и ЭрС формами ( $p=0,045$ ) (Таблица 3.5).

У детей с ЭКС клинической формой АтД наблюдалось снижение как абсолютного, так и относительного количества В-лимфоцитов, Т-цитотоксических клеток и NK-лимфоцитов повышение ИРИ, снижение IgA и повышение общего IgE.

При ЭрС клинической форме АтД наблюдались низкие уровни относительного количества Т-цитотоксических клеток, ИРИ и IgA относительно контрольной группы, при этом уровень IgE был существенно повышен.

ЭРСЛ форма АтД характеризовалась более высоким уровнем абсолютного количества лейкоцитов, относительного содержания лимфоцитов, снижением уровней относительного количества Т-цитотоксических клеток и ИРИ, а также низким уровнем IgA, снижением IgM при высоких показателях общего IgE.

В группе с ЭРСЛ формой АтД уровень абсолютного количества лейкоцитов был существенно выше, чем у детей с ЭКС и ЭрС формами. Уровень относительного количества лимфоцитов в группе с ЭрСЛ формой был достоверно ниже, чем при ЭКС и ЭрС формах.

У детей с ЭрСЛ клинической формой АтД наблюдался наиболее высокий уровень общего IgE в периоде обострения относительно пациентов с ЭКС и ЭрСЛ формами АтД. В ремиссии заболевания у детей с ЭрСЛ формой АтД наблюдалось снижение уровня общего IgE, при этом он оставался достоверно выше, чем у пациентов с ЭКС и ЭрС формами.

Таким образом, у детей с различными клиническими формами и различной тяжестью течения АтД наблюдалась общая тенденция в изменении показателей иммунограммы в виде снижения Т-цитотоксических клеток, изменения показателей гуморального звена иммунитета в виде снижения IgA и гиперпродукции IgE.

При этом, в отличие от более легких форм АтД при тяжелом течении болезни наблюдалось значимое увеличение числа лейкоцитов, снижение количества лимфоцитов, а также изменении соотношения Т-хелперов/Т-цитотоксических клеток, влекущее за собой повышение ИРИ.

Сравнивая наши данные с литературными, можно было сделать вывод о том, что большинство авторов научных статей не показывали общей картины изменений показателей иммунного статуса при различных клинических проявлениях заболевания. В то же время отмечалась общая тенденция к изменению показателей, в траекторию которой вписывались и результаты, полученные при нашем исследовании [23, 29, 48].

### **3.3. Изменения уровней циркулирующих биологических перекисей и 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина) при atopическом дерматите у детей раннего возраста**

При нормальной жизнедеятельности организма АФК выполняют ряд важных функций, но в условиях воспаления, при нарушении баланса между образованием и нейтрализацией окислителей, развивается ОС. Взаимодействие СР и биомолекул вызывает генерацию новых радикалов, и процесс приобретает лавинообразный характер, при этом, может наблюдаться разрушение клеточных структур и повреждение ДНК [18, 46, 50, 137, 140, 192].

8-ОНdG образуется при окислении гуанина в составе ДНК. ЦБП, определенный с помощью набора Oxystat, Австрия находится в прямой зависимости от количественного содержания АФК в биообразцах [57, 84]. Таким образом, определение ЦБП и 8-ОНdG в биологических образцах у детей раннего возраста – комплекс исследований, позволяющий на современном уровне оценить роль процессов СРО в патофизиологии воспаления при АтД.

#### **3.3.1. Сравнительная характеристика окислительного статуса у детей с atopическим дерматитом и группы контроля**

Определение показателей окислительного статуса (ЦБП, 8-ОНdG) в сыворотке крови было выполнено пациентам с АтД (n=67) и 20 детям группы



контроля. Детям с АД (n=67) анализ проводили два раза: в периоде обострения и ремиссии болезни. В контрольной группе детей обследовали однократно.

Нормальность распределения была оценена на основании критерия Колмогорова-Смирнова при  $n > 50$  и Шапиро-Вилка при  $n < 50$ , а также данных эксцессов и асимметрии.

Учитывая, что распределение отличалось от нормального, количественные показатели были представлены в виде медианы и квартилей. Анализ данных осуществляли с помощью теста Манна-Уитни, критерия Вилкоксона, теста Краскала-Уоллиса, коэффициента ранговой корреляции Спирмена [87].

Анализ изменений количественного содержания ЦБП у детей с АД (n=67) показал повышение показателя в периоде обострения заболевания до 536 [321;841] ммоль/л, относительно группы контроля, в которой он составлял 325 [310; 354] ммоль/л ( $p = 0,003$ ). В периоде ремиссии уровень ЦБП снижался до 424 [328; 544] ммоль/л, относительно периода обострения ( $p=0,0003$ ), но оставался достоверно более высоким, чем в контрольной группе ( $p=0,0003$ ) (Рисунок 3.22, Таблицы 3.6, 3.7) [78].

Уровень 8-OHdG у детей с АД (n=67) в периоде обострения АД составлял 12,2 [8,6; 15] нг/мл, а в периоде ремиссии – 12,7 [10,1; 13,2] нг/мл, при этом показатели не имели между собой достоверных различий ( $p=0,77$ ), но были достоверно ниже контрольных значений ( $p=0,01$ ;  $p < 0,0001$ ) (Рисунок 3.23, Таблицы 3.6, 3.7).

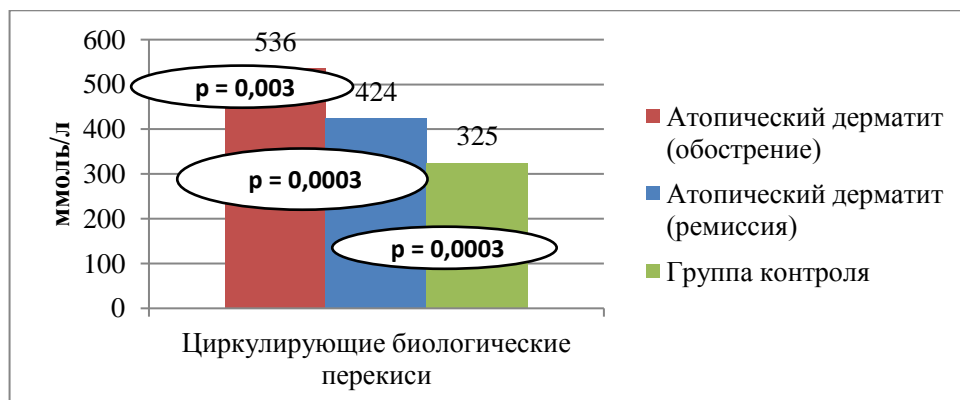


Рисунок 3.22 – Динамика изменений, циркулирующих биопероксидов у детей с атопическим дерматитом в зависимости от периода заболевания

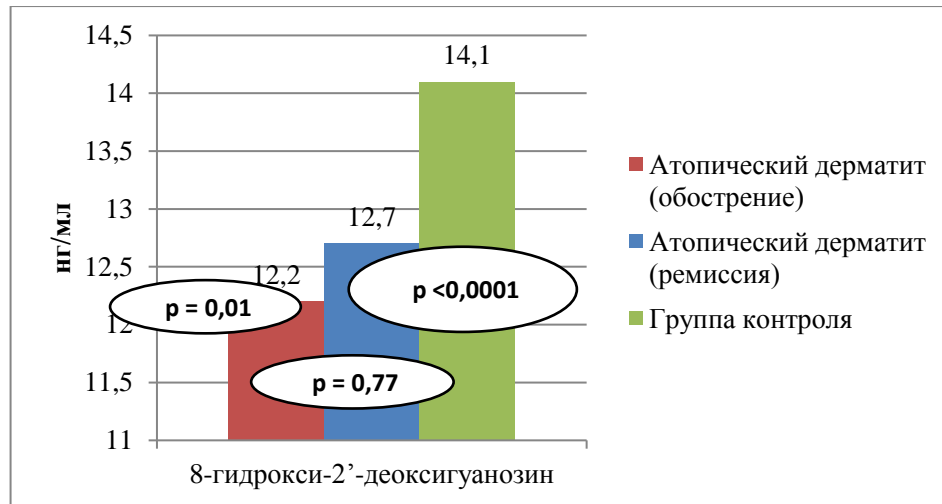


Рисунок 3.23 – Динамика изменений 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина у детей с атопическим дерматитом в зависимости от периода заболевания

Таблица 3.6 – Сравнительный анализ показателей окислительного статуса у детей с атопическим дерматитом с учетом периода заболевания и группы контроля

| Показатель            |                | Пациенты с АтД (n=67) | Группа контроля (n=20) | p       |
|-----------------------|----------------|-----------------------|------------------------|---------|
| Период обострения АтД | 8 OHdG (нг/мл) | 12,2 [8,6; 15]        | 14,1 [13,7; 14,4]      | 0,01    |
|                       | ЦБП (ммоль/л)  | 536 [321; 841]        | 325 [310; 354]         | 0,003   |
| Период ремиссии АтД   | 8 OHdG (нг/мл) | 12,7 [10,1; 13,2]     | 14,1 [13,7; 14,4]      | <0,0001 |
|                       | ЦБП (ммоль/л)  | 424 [328; 544]        | 325 [310; 354]         | 0,0003  |

В таблице средние значения представлены в виде медианы, нижнего квартиля, верхнего квартиля; сравнение осуществлялось с помощью теста Манна-Уитни.

Статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой (\* —  $p < 0,05$ ).

Интерес представлял анализ изменения показателей окислительного стресса у пациентов с разной тяжестью заболевания.

В группе с легким течением заболевания (n=16) уровень ЦБП в крови в периоде обострения составлял 289 [225; 576] ммоль/л и не имел достоверных различий с группой контроля (p=0,4).

В периоде ремиссии концентрация ЦБП составляла 363 [325; 453] ммоль/л и достоверно не отличалась от периода обострения (p= 0,82), но была выше, чем в контрольной группе (p= 0,04) (Рисунок 3.24; Таблицы 3.7, 3.8).

Таблица 3.7 – Динамика изменения показателей окислительного статуса у детей с атопическим дерматитом в зависимости от периода и тяжести течения заболевания

| Клиническая группа           | Показатель     | Период обострения АтД | Период ремиссии АтД | p             |
|------------------------------|----------------|-----------------------|---------------------|---------------|
| Пациенты с АтД (n=67)        | ЦБП (ммоль/л)  | 536 [321; 841]        | 424 [328; 544]      | <b>0,0003</b> |
|                              | 8 OHdG (нг/мл) | 12,2 [8,6; 15]        | 12,7 [10,1; 13,2]   | 0,77          |
| Легкое течение (n=16)        | ЦБП (ммоль/л)  | 289 [225; 576]        | 363 [325; 453]      | 0,82          |
|                              | 8 OHdG (нг/мл) | 9,1 [8,3; 13,9]       | 12,8 [11,4; 13,3]   | <b>0,016</b>  |
| Среднетяжелое течение (n=39) | ЦБП (ммоль/л)  | 599 [406; 876]        | 424 [342; 783]      | <b>0,001</b>  |
|                              | 8 OHdG (нг/мл) | 12,4 [9; 14,4]        | 11,5 [9,34; 13,2]   | 0,44          |
| Тяжелое течение (n=12)       | ЦБП (ммоль/л)  | 733 [478; 862]        | 477 [353; 544]      | <b>0,03</b>   |
|                              | 8 OHdG (нг/мл) | 13,8 [10,8; 15,6]     | 13,3 [10,5; 14,2]   | <b>0,04</b>   |

В таблице средние значения представлены в виде Медиана [Нижний квартиль, Верхний квартиль]; сравнение осуществлялось с помощью критерия Вилкоксона.

Различия показателей достоверны (\* —  $p < 0,05$ ) по сравнению с таковыми в группе контроля.

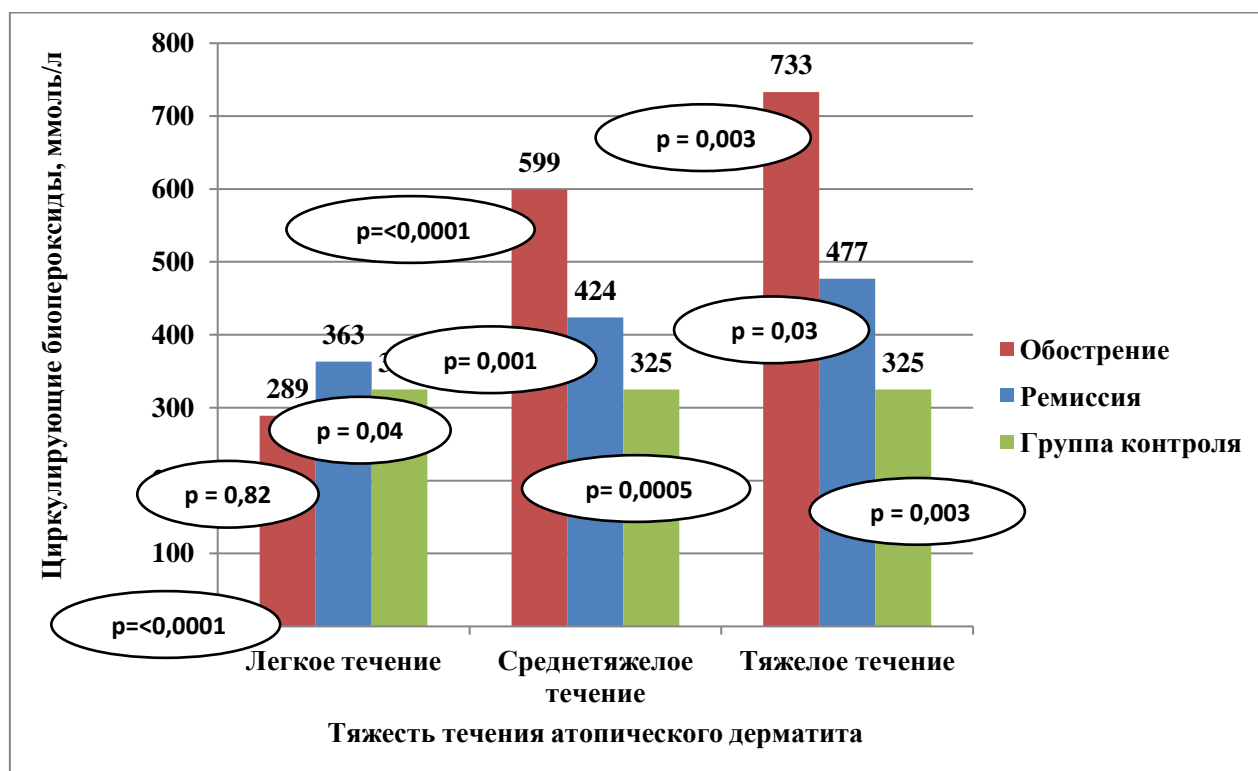


Рисунок 3.24 – Динамика изменений циркулирующих биопероксидов у детей с атопическим дерматитом в зависимости от тяжести заболевания

Таблица 3.8 – Сравнительный анализ показателей окислительного статуса у детей с atopическим дерматитом различной тяжести течения с учетом периода заболевания и контрольной группы

| Период заболевания    | Показатель     | Группа контроля (n=20) | Легкое течение (n=16)        | p                 |
|-----------------------|----------------|------------------------|------------------------------|-------------------|
| Период обострения АтД | 8 OHdG (нг/мл) | 14,1 [13,7; 14,4]      | 9,1 [8,3; 13,9]              | <b>0,01</b>       |
|                       | ЦБП (ммоль/л)  | 325 [310; 354]         | 289 [225; 576]               | 0,4               |
| Период ремиссии АтД   | 8 OHdG (нг/мл) | 14,1 [13,7; 14,4]      | 12,8 [11,4; 13,3]            | <b>&lt;0,0001</b> |
|                       | ЦБП (ммоль/л)  | 325 [310; 354]         | 363 [325; 453]               | <b>0,04</b>       |
| Период заболевания    | Показатель     | Группа контроля (n=20) | Среднетяжелое течение (n=39) | p                 |
| Период обострения АтД | 8 OHdG (нг/мл) | 14,1 [13,7; 14,4]      | 12,4 [9; 14,4]               | <b>0,009</b>      |
|                       | ЦБП (ммоль/л)  | 325 [310; 354]         | 599 [406; 876]               | <b>&lt;0,0001</b> |
| Период ремиссии АтД   | 8 OHdG (нг/мл) | 14,1 [13,7; 14,4]      | 11,5 [9,34; 13,2]            | <b>&lt;0,0001</b> |
|                       | ЦБП (ммоль/л)  | 325 [310; 354]         | 424 [342; 783]               | <b>0,0005</b>     |
| Период заболевания    | Показатель     | Группа контроля (n=20) | Тяжелое течение (n=12)       | p                 |
| Период обострения АтД | 8 OHdG (нг/мл) | 14,1 [13,7; 14,4]      | 13,8 [10,8; 15,6]            | 1                 |
|                       | ЦБП (ммоль/л)  | 325 [310; 354]         | 733 [478; 862]               | <b>0,003</b>      |
| Период ремиссии АтД   | 8 OHdG (нг/мл) | 14,1 [13,7; 14,4]      | 13,3 [10,5; 14,2]            | <b>0,04</b>       |
|                       | ЦБП (ммоль/л)  | 325 [310; 354]         | 477 [353; 544]               | <b>0,003</b>      |

В таблице средние значения представлены в виде Медиана [Нижний квартиль, Верхний квартиль]; сравнение осуществлялось с помощью теста Манна-Уитни.

Различия показателей достоверны (\* —  $p < 0,05$ ) по сравнению с таковыми в группе контроля.

У детей с АтД средней тяжести ( $n = 39$ ), в периоде обострения, уровень ЦБП в крови составлял 599 [406; 876] ммоль/л и статистически значимо превышал контрольные значения ( $p = <0,0001$ ).

В периоде ремиссии отмечено снижение показателя до 424 [342; 783] ммоль/л ( $p=0,001$ ), но значение достоверно превышало аналогичный показатель контрольной группы ( $p=0,0005$ ) (Рисунок 3.24, Таблицы 3.7, 3.8).

Тяжелое течение АтД ( $n=12$ ) характеризовалось накоплением ЦБП в периоде обострения до 733 [478; 862] ммоль/л относительно группы контроля ( $p=0,003$ ), и достоверным снижением показателя в периоде ремиссии, относительно обострения ( $p=0,03$ ), но сохранением более высокого уровня, чем в контрольной группе ( $p=0,003$ ) (Рисунок 3.24, Таблицы 3.7, 3.8).

Уровень 8-OHdG у детей с легким течением заболевания ( $n=16$ ) в периоде обострения АтД составлял 9,1 [8,3; 13,9] нг/мл, то есть ниже, чем в контрольной группе ( $p=0,01$ ).

В периоде ремиссии показатель несколько возрос до 12,8 [11,4; 13,3] нг/мл ( $p=0,016$ ), но характеризовался более низким уровнем, чем в группе контроля ( $p < 0,0001$ ) (Рисунок 3.25, Таблицы 3.7, 3.8).

При среднетяжелом течении АтД количественное содержание 8-OHdG в крови достоверно не изменялось в периоде ремиссии относительно обострения ( $p=0,44$ ) и оставалось ниже контрольных значений ( $p=0,009$ ;  $p < 0,0001$ ) (Рисунок 3.25, Таблицы 3.7, 3.8).

При тяжелом течении в периоде обострения уровень 8-OHdG составлял 13,8 [10,8; 15,6] нг/мл и достоверно снижался в периоде ремиссии ( $p=0,04$ ) (Рисунок 3.25, Таблицы 3.7, 3.8).

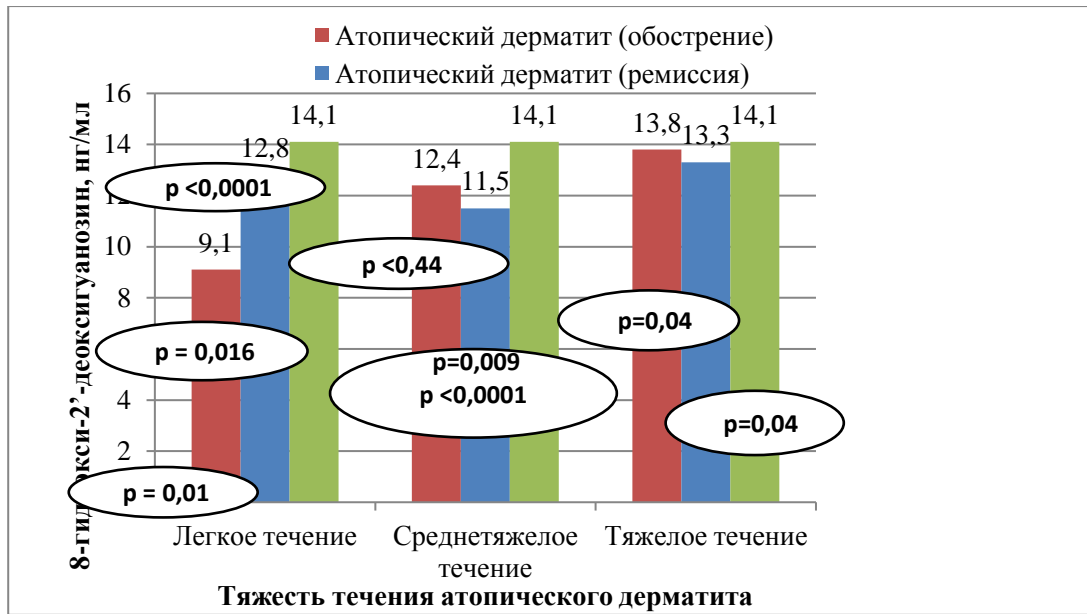


Рисунок 3.22 – Динамика изменений 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина у детей с атопическим дерматитом в зависимости от тяжести заболевания

Отмечено, что уровни 8-OHdG находились в прямой корреляционной связи значениями индекса SCORAD ( $r=0,63$ ;  $p=0,0001$ ) (Рисунок 3.26).

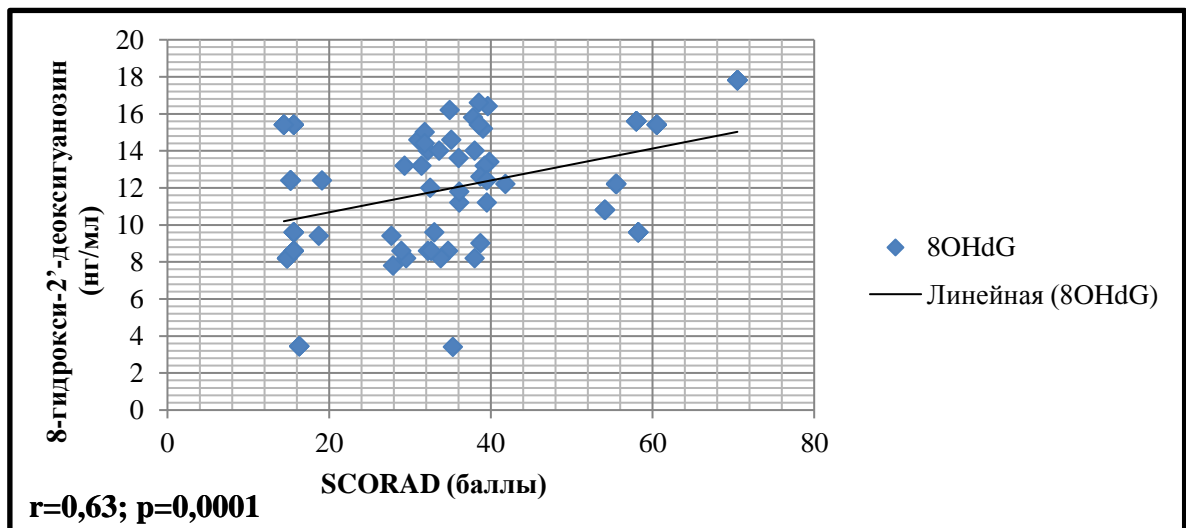


Рисунок 3.26 – Связь между количественным содержанием 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина в сыворотке крови у детей с атопическим дерматитом и тяжестью заболевания

С учетом клинической формы заболевания, пациентов разделили на группы: ЭКС (n=36), ЭРС (n=25), ЭРСЛ (n=6) формы.

При анализе данных выявлено, что уровень ЦБП в периоде обострения АД у детей с ЭРСЛ формой составлял 971 [728; 1192] ммоль/л и был достоверно выше,

чем в группах с ЭКС и ЭРС формами ( $p=0,02$ ). В группе с ЭКС формой АтД уровень ЦБП составлял 482 [318; 672] ммоль/л и был ниже, чем у детей с ЭРСЛ и ЭРС формами ( $p=0,02$ ) (Рисунок 3.27, Таблица 3.9).

Таблица 3.9 – Сравнительный анализ показателей окислительного статуса у детей с различными клиническими формами атопического дерматита с учетом периода заболевания

| Период заболевания    | Показатель     | Клиническая форма АтД |                   |                   | p           |
|-----------------------|----------------|-----------------------|-------------------|-------------------|-------------|
|                       |                | ЭКС                   | Эрс               | ЭрсЛ              |             |
|                       |                | n=36                  | n=25              | n=6               |             |
| Период обострения АтД | ЦБП (ммоль/л)  | 482 [318; 672]        | 605 [233; 876]    | 971 [728; 1192]   | <b>0,02</b> |
|                       | 8 OHdG (нг/мл) | 12,8 [9,2; 15,4]      | 11,2 [8,4; 13,2]  | 12,2 [12,2; 17,8] | 0,2         |
| Период ремиссии АтД   | ЦБП (ммоль/л)  | 387 [347; 472]        | 432 [321; 845]    | 657 [522; 782]    | 0,08        |
|                       | 8 OHdG (нг/мл) | 12,7 [10,2; 13,3]     | 11,5 [9,72; 13,2] | 11,5 [10,5; 14,2] | 0,8         |

В таблице средние значения представлены в виде Медиана [Нижний квартиль, Верхний квартиль]; сравнение осуществлялось с помощью теста Краскала-Уоллиса. Различия показателей достоверны (\* —  $p<0,05$ ) по сравнению с таковыми в группе контроля.

В ремиссии заболевания количественное содержание ЦБП в группах больных с ЭКС, ЭРС, ЭРСЛ формами АтД достоверно не различалось ( $p=0,08$ ) (Рисунок 3.27, Таблица 3.9).

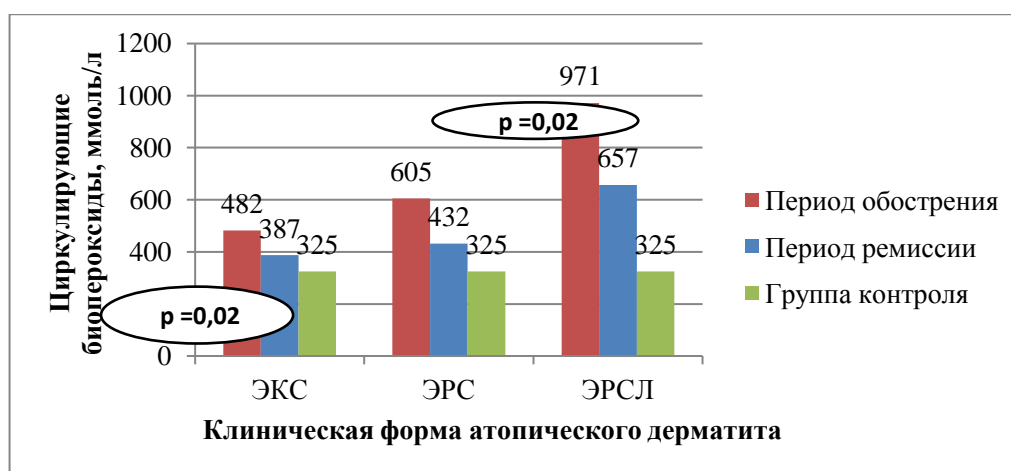


Рисунок 3.27 – Динамика изменений циркулирующих биопероксидов у детей с атопическим дерматитом в зависимости от клинической формы заболевания

Уровни 8-OHdG в зависимости от клинической формы заболевания не различались в периоде обострения и ремиссии ( $p=0,2$ ;  $p=0,8$ ) (Рисунок 3.27, Таблица 3.9).

Обобщив полученные результаты, можно было полагать, что достоверное повышение уровня ЦБП у детей с АтД в периоде обострения заболевания и снижение его в период ремиссии являлось отражением выраженности окислительного стресса, сопровождающего воспаление кожных покровов при этом заболевании.

Среднетяжелое и тяжелое течение АтД в периоде обострения сопровождалось резким повышением концентрации ЦБП, которая в периоде ремиссии снижалась, стремясь к нормальным значениям, при этом, сохраняла достоверно более высокий уровень по сравнению с группой контроля.

Концентрация ЦБП изменялась в зависимости от клинической формы АтД в периоде обострения, ЭрСЛ форма характеризовалась наибольшими показателями окислительного стресса, ЭКС – наименьшими.

Уровни 8-OHdG изменялись в зависимости от интенсивности клинических проявлений, оцененных с помощью индекса SCORAD ( $r=0,63$ ;  $p=0,0001$ ) и оставались ниже контрольных значений при любой тяжести течения заболевания. Такая картина расценена нами как адаптационная реакция организма, направленная на защиту структур ДНК.

С учетом изложенных данных, можно сделать заключение о том, что ЦБП и 8-OHdG могут служить биологическими маркерами выраженности клинических проявлений АтД у детей первых лет жизни.

#### **3.4. Ассоциация полиморфизмов гена синтазы оксида азота и формирования клинических форм атопического дерматита у детей**

Для определения роли экспрессии гена eNOS в формировании различных клинических форм АтД, было обследовано 59 детей с 1 года до 3-х лет с АтД. В качестве контрольной группы выступали 19 здоровых детей с 1 года до 3-х лет.



У детей брали образцы биологического материала (соскоб со слизистой ротоглотки или кровь) и в них проводили экстракцию ДНК и исследование на полиморфные маркеры (Glu298Asp (rs1799983), C774T (rs1549758) и T786C (rs2070744)) в гене eNOS. Исследование проводили однократно.

Пациенты с АтД в зависимости от клинической формы заболевания, были разделены на 3 группы: ЭРС форма (n= 34), ЭРСЛ форма (n=16) и Л форма (n= 9).

Нормальность распределения была оценена на основании критерия Шапиро-Вилка (при  $n < 50$ ), данных эксцессов и асимметрии. Статистическое сравнение долей с оценкой достоверности различий выполняли с использованием критерия Пирсона  $\chi^2$  и точного критерия Фишера [87].

При исследовании полиморфного маркера Glu298Asp (rs1799983) в гене eNOS наблюдалась тенденция к увеличению встречаемости аллеля Т и снижению встречаемости генотипа GG у детей с ЭРС формой АтД по сравнению с группой контроля, при этом данные по распределению частот генотипов и аллелей не имели статистической значимости ( $p > 0,05$ ) (Таблица 3.10).

Сравнительный анализ полиморфных маркеров C774T (rs1549758) и T786C в гене eNOS у пациентов с ЭРС формой АтД и представителей контроля не показал существенных различий (Таблица 3.10).

Изучение полиморфного маркера T768C (rs2070744) в гене eNOS у детей с ЭРСЛ формой АтД показало статистически значимое повышение риска развития ЭРСЛ формы АтД у носителей генотипа CC ( $\chi^2 = 4,439$ ,  $p < 0,05$ ), чем у детей контрольной группы ( $p < 0,05$ ), также в этой группе наблюдалась тенденция к снижению риска развития ЭРСЛ формы относительно группы контроля у носителей генотипа TC ( $\chi^2 = 3,569$ ,  $p > 0,05$ ) (Таблица 3.10) [77].

Анализ аллелей и генотипов полиморфных маркеров Glu298Asp (rs1799983), C774T (rs1549758) и T786C (rs2070744) в гене eNOS у пациентов с Л формой и у совокупности выборок с АтД не показал каких-либо существенных различий. Данные по распределению частот аллелей и генотипов в изучаемых локусах гена eNOS при различных формах АтД представлены в Таблице 3.15.

Таблица 3.10 – Распределение частот аллелей и генотипов в полиморфных маркерах Glu298Asp (rs1799983), C774T (rs1549758) и T786C (rs2070744) гена eNOS у пациентов с атопическим дерматитом и в контрольной группе

| Позиция<br>в<br>гене<br>eNOS                       | Аллель/<br>Генотип | Группы обследуемых (форма атопического дерматита) |          |                   |               |                   |          |                    |
|--|--------------------|---|----------|-------------------|---------------|-------------------|----------|--------------------|
|  |                    | ЭРС   |          | ЭРСЛ              |               | Л                 |          | группа<br>контроля |
|  |                    | частота<br>(доли)                                 | $\chi^2$ | частота<br>(доли) | $\chi^2$      | частота<br>(доли) | $\chi^2$ | частота<br>(доли)  |
| Glu298<br>Asp                                      | G                  | 0,559   | 2,745    | 0,833             | 0,065         | 0,9               | 0,028    | 0,875              |
|  | T                  | 0,441   |          | 0,167             |               | 0,1               |          | 0,125              |
|  | GT                 | 0,412   | 0,359    | 0,333             | 0,079         | 0,2               | 0,032    | 0,25               |
|  | GG                 | 0,353   | 2,085    | 0,667             | 0,079         | 0,8               | 0,032    | 0,75               |
|  | TT                 | 0,235   | 1,163    | 0                 | -             | 0                 | -        | 0                  |
| C774T  | C                  | 0,529   | 0,084    | 0,5               | 0,06          | 0,556             | 0,151    | 0,5                |
|  | T                  | 0,471   |          | 0,5               |               | 0,444             |          | 0,5                |
|  | CT                 | 0,882   | 0,019    | 0,875             | 0,033         | 0,889             | 0,002    | 0,895              |
|  | CC                 | 0,088   | 0,221    | 0,063             | 0,016         | 0,111             | 0,315    | 0,053              |
|  | TT                 | 0,029   | 0,181    | 0,062             | 0,016         | 0                 | 0,491    | 0,052              |
| T786C  | T                  | 0,604   | 0,066    | 0,5               | 0,869         | 0,556             | 0,269    | 0,636              |
|  | C                  | 0,396   |          | 0,5               |               | 0,444             |          | 0,364              |
|  | TC                 | 0,708   | 0,013    | 0,333             | 3,569         | 0,667             | 0,087    | 0,727              |
|  | TT                 | 0,25  | 0,02     | 0,333             | 0,01          | 0,222             | 0,067    | 0,273              |
|  | CC                 | 0,042   | 0,472    | 0,334             | <b>4,439*</b> | 0,111             | 1,287    | 0                  |
| Различия показателей достоверны (* — $p < 0,05$ ). |                    |   |          |                   |               |                   |          |                    |

Сопоставление полученных распределений аллелей в локусах с международными данными (National Center for Biotechnology Information) подтвердило соответствие распределению аллелей в европейской популяции.

Таким образом, в исследовании наблюдалась статистически значимая ассоциация гомозиготного генотипа CC в локусе -786 (rs2070744) гена eNOS с развитием у пациентов тяжелой хронической формы АД – ЭРСЛ, что позволило рассматривать гомозиготный генотип CC в локусе -786 (rs2070744) гена eNOS в качестве фактора, повышающего риск развития ЭРСЛ формы АД.

### 3.5. Модель прогнозирования тяжести течения атопического дерматита у детей раннего возраста

Для формирования прогноза течения АД у детей, с учетом клинических данных, показателей окислительного и иммунного статусов была разработана математическая модель с использованием метода множественной регрессии. В нее были ключены такие показатели, как 8-OHdG, ЦБП, уровень IgA, ИРИ и площадь поражения кожных покровов.

Показатели прогностической модели обладали высокой детерминационной значимостью и сильным влиянием друг на друга, о чем свидетельствовали коэффициенты детерминации ( $R^2=0,89$ ) и множественной корреляции ( $0,5$ ;  $p=0,002$ ).

Математическое выражение, отражающее математическую модель прогнозирования тяжести течения АД у детей выглядело следующим образом:  
 $KПТТ = -0,05 + 0,04 * ИРИ - 0,066 * IgA + 0,0001 * ЦБП + 0,014 * S + 0,02 * 8OHdG$ .

Для расчета коэффициента прогнозирования тяжести течения (КПТТ) необходимо в формулу подставить результаты обследования конкретного пациента. При значении КПТТ более 0,5 риск развития тяжелого течения АД высокий, а при КПТТ менее 0,5 – низкий.

Для ускорения и упрощения расчета прогностического коэффициента мы создали компьютерную программу с использованием электронных таблиц Excel (Microsoft Office), которая мгновенно определяет значение коэффициента прогноза (Рисунок 3.28).

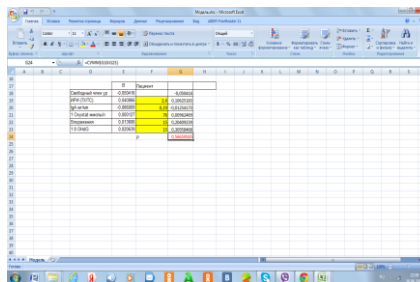


Рисунок 3.28 – Окно автоматического расчета коэффициента прогнозирования тяжелого течения атопического дерматита у детей раннего возраста

Математическая модель была апробирована на выборке пациентов (n=31) в результате диагностическая чувствительность модели была равна 85,7%, диагностическая специфичность – 76,5%, диагностическая точность – 80,6%. Исходя из полученных данных, можно говорить о том, что расчет КПТТ АтД помогает клиницисту определять группы пациентов с высоким риском тяжелого течения заболевания.

#### Клинические примеры использования КПТТ:

##### *Пример 1.*

Девочка С., 1 года., рожденная от первых родов путем кесарева сечения, при сроке гестации 40 недель, с массой тела 2400 грамм, длиной тела 48 см. с оценкой по шкале Апгар 9/9 баллов. Закричала сразу. К груди приложена в родильном зале.

При изучении анамнестических данных, вывлено, что мать девочки страдает бронхиальной астмой, а двоюродный брат девочки по линии матери – атопическим дерматитом.

Первые высыпания у девочки появились в возрасте 3 месяцев, мать связывает их с употреблением ею в пищу пресного молока впервые с начала грудного вскармливания ребенка. Девочка с рождения по настоящее время получает молоко матери, до 6 месяцев она получала исключительно грудное молоко, с 6 месяцев начат прикорм с общего стола.

В течение первого года жизни у девочки отмечалось 3 обострения АтД с значениями индекса SCORAD 16, 18, 14.

Девочка получала лечение в соответствии с Федеральными клиническими рекомендациями по диагностике и лечению атопического дерматита [32]

На момент осмотра у ребенка наблюдалось обострение АтД с наличием полиморфных пятнисто-папулезных элементов на коже бедер, единичных – на коже живота, туловища, щек. Отмечались жалобы на зуд. Кожные покровы отличались сухостью, шелушением. Площадь поражения кожи составила 22%. Оценка по шкале SCORAD — 40 баллов, что соответствует АтД средней тяжести.

При исследовании лабораторных показателей получены следующие данные: ИРИ =2,51, уровень IgA — 0,7, ЦБП- 326 ммоль/л, 8ОНdG — 15 нг/мл.

В выражение математической модели были подставлены показатели ребенка и рассчитан КПТТ:

$$\text{КПТТ} = -0,05 + 0,04 * 2,51 - 0,066 * 0,7 + 0,0001 * 326 + 0,014 * 22 + 0,02 * 15 = \underline{0,93}$$

Значение КПТТ =0,93 свидетельствует о высоком риске тяжелого течения АтД у ребенка.

Через 6 месяцев девочка вновь явилась на прием. Последние месяцы характеризовались 5 обострениями со значениями индекса SCORAD более 40 баллов. Анализ представленных данных свидетельствует о нарастании тяжести течения АтД у ребенка.

#### *Пример 2.*

Мальчик Р., 1 год 9 месяцев, рожденный от 2 беременности, 2 физиологических родов при сроке гестации 38 недель с оценкой по шкале Апгар 9/9 баллов, закричал сразу. К груди приложен в родильном зале. Масса тела при рождении составляла 3500 грамм, длина тела- 49 см.

При анализе данных анамнеза выявлено, что бабушка ребенка по линии матери страдает аллергическим ринитом, у матери в детстве наблюдались явления АтД. Ребенок до 12 месяцев получал молоко матери. Первый прикорм был введен в 7 месяцев.

Впервые кожные высыпания у ребенка отмечались в возрасте 6 месяцев, со слов матери, наблюдалась реакция на продукты прикорма. Обострения АтД носили среднетяжелый характер и возникали каждые 3-4 месяца.

На момент осмотра жалобы на сухость кожных покровов, полиморфные пятнисто-папулезные высыпания на коже лица, живота. При поступлении у ребенка отмечалось обострение АтД, проявлявшееся жалобами на высыпания на коже щек, кожный зуд. Площадь поражения кожи составила 6%. Оценка по шкале SCORAD — 32 балла, что соответствует АтД средней тяжести. При исследовании лабораторных показателей получены следующие данные: ИРИ =1,02, уровень IgA — 0,64, ЦБП- 567,2 ммоль/л, ОНdG — 14 нг/мл.

В выражение математической модели были подставлены показатели ребенка и рассчитан КПТТ:

$$\text{КПТТ} = -0,05 + 0,04 * 1,02 - 0,066 * 0,64 + 0,0001 * 326 + 0,014 * 6 + 0,02 * 14 = \underline{0,36}$$

Значение КПТТ = 0,36 свидетельствует о низком риске тяжелого течения АД у ребенка.

Через 6 месяцев мальчик вновь на приеме, при этом за истекший период наблюдалось одно краткое обострение с клиническими проявлениями, соответствовавшими индексу SCORAD = 18. Таким образом, у ребенка наблюдалась положительная динамика.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

АтД является мультифакториальным, хроническим воспалительным заболеванием кожи, которым могут страдать дети и взрослые разного пола и возраста, в различных странах.

Распространенность АтД по всему миру широка и достигает 20% среди детского населения [179]. Показатель распространенности в Российской Федерации среди детей 0—14 лет составляет 1589, показатель заболеваемости – 744 на 100 тысяч соответствующего населения, причем самые высокие цифры распространенности наблюдаются у детей младшего возраста [32, 39].

Хроническое рецидивирующее течение болезни, поражение кожных покровов, мучительный зуд, нарушение сна, поведенческие расстройства делают АтД тяжким бременем для пациентов и членов их семей, значительно нарушая качество жизни.

Отправной точкой в патогенетической цепочке заболевания является дисфункция кожного барьера, открывающего путь для проникновения в организм аллергенов, чужеродных веществ, токсинов бактерий. Стимулируя врожденную и адаптивную системы иммунитета они запускают каскад иммунных и биологических реакций, оказывающих негативное влияние на эпидермальный барьер, замыкая патологический круг [62, 115, 117].

Жизнедеятельность организма сопровождается генерацией АФК. АФК сами могут выступать медиаторами воспалительных реакций и способны активировать клеточные сигналы, направленные на выработку и высвобождение провоспалительных цитокинов [18, 46, 50, 137, 140, 192]. Они не несут повреждающего действия, однако при превышении окислителями в клетках возможностей антиоксидантной защиты возникает окислительный стресс.

На протяжении десятилетий исследователи разных стран изучали роль окислительного стресса в патогенезе различных заболеваний [7, 11, 15, 17, 31, 56, 67, 86, 105, 116, 130, 153], однако немногие оценивали его при заболеваниях кожи.

В условиях окислительного стресса при АтД в коже происходит окисление липидов и, возможно, повреждение ДНК кератиноцитов [193]. 8-ОНdG образуется при окислении гуанина в составе ДНК.

NO образуется в тканях организма при окислении L-аргинина до L-цитруллина с помощью NOS. Существует 3 изоформы NOS: nNOS, eNOS и iNOS. eNOS и nNOS являются конститутивными [18, 133].

После стимуляции медиаторами (ацетилхолином, брадикинином, гистамином и др.) eNOS в течение нескольких секунд, начинает продукцию NO в низкой концентрации, его действие прямое, кратковременное, направлено на репарацию тканей и регуляцию биологических процессов. iNOS активируется на уровне транскрипции и производит огромные количества NO, которые участвуют в противомикробной, противоопухолевой защите, образовании CP и реализации эозинофильного воспаления [52, 133, 134, 193].

Отечественные и зарубежные ученые проявляли интерес к роли показателей окислительного стресса в патогенезе АтД в своих исследованиях. Они изучали уровни нитратов [189], конечных продуктов гликозилирования мочи, метаболитов окисления билирубина [193] и других веществ с характеристиками АФК в различных возрастных группах. Получая различные результаты в ряде работ, одни исследователи показали увеличение показателей в периоде обострения заболевания [35, 36, 46, 98, 102, 114, 162, 185], в работах других они не изменялись [167], у одних были связаны с тяжестью [136, 167], у других – нет [113, 162].

NO вовлечен в патогенез ряда заболеваний, однако его участие в развитии АтД до конца не изучено [148]. Публикаций о участии Glu298Asp (rs1799983), C774T (rs1549758) и T786C (rs2070744) полиморфизмов гена eNOS в развитии клинических форм АтД, связанных с тяжелым прогрессирующим течением заболевания мы не встретили..

При окислительном стрессе одна форма АФК довольно быстро может переходить в другую, поэтому при изучении механизмов развития окислительного стресса предпочтительным является анализ всей совокупности АФК [18, 113]. Для индикации окислительного повреждения ДНК мы определяли уровни 8-ОНdG.



Стремясь реализовать комплексный подход к исследованию, мы изучали клинические особенности течения АтД и особенности иммунного статуса, интегрального показателя окислительного стресса, продуктов повреждения ДНК, полиморфизмов гена eNOS, у детей с разной тяжестью АтД, в зависимости от клинической формы заболевания с целью формирования более полного представления о данной патологии и прогнозирования развития тяжелых форм заболевания.

В исследовании участвовали 126 пациентов от 1 года до 3-х лет с АтД и 39 здоровых детей, составивших контрольную группу.

Для анализа клинико-anamнестических данных, дети с АтД (n=126) были разделены на группы по тяжести течения: легкое (n = 32; 25%), среднетяжелое (n=61; 49%), тяжелое (n=33; 26%) и в зависимости от клинической формы заболевания: ЭКС (n=36; 29%), ЭРС (n=59; 47%), ЭРСЛ (n=22; 17%), Л (n=9; 7%).

Тяжелое течение АтД было представлено преимущественно пациентами с ЭРСЛ формой (40%, n=13; p= <0,0001). Дети с ЭРСЛ и Л формами АтД демонстрировали наибольшие значения индекса SCORAD (56 [38,25;71] баллов, 56 [38,22; 72] баллов; p <0,0001) и в их составе преобладали пациенты с частыми обострениями 59% (n=13) (p <0,0001). Дети с редкими обострениями при ЭРСЛ форме были представлены в меньшинстве 9% (n=2), а при Л отсутствовали (p <0,0001). Перечисленные данные являются подтверждением тяжелого прогрессирующего характера течения заболевания в группах с ЭРСЛ и Л формами АтД.

Наследственная отягощенность по материнской линии (61%; n=20) и со стороны сиблингов 42% (n=14) встречалась существенно чаще у детей с тяжелым и среднетяжелым течением, относительно легкого (p=0,001; p=0,026). Дубровина Л.Н. и др., 2009 в своих исследованиях отмечали связь отягощенности наследственного аллергоанамнеза и тяжести течения АтД у детей, при этом в их работах не отмечалось лидирующей роли материнского аллергоанамнеза [24]. Мы не наблюдали статистически достоверного влияния, отягощенного аллергоанамнеза у обоих родителей на тяжесть течения АтД (p=0,08).

Доля матерей (49%; n=16), имеющих бытовые вредности (такие, как сырость, плесень в помещении; использование лакокрасочных покрытий; использование агрессивной бытовой химии без средств защиты) во время беременности была значительно выше в группе детей с тяжелым АтД, относительно детей с легким и среднетяжелым течением болезни (p=0,007). Эрднеева Н.В., Даутов Ф.Ф. (2012) в своих работах также отмечали, что у матерей, имеющих подобные вредности дети раньше дебютировали симптомами АтД и заболевание протекало тяжелее, чем у сверстников без влияния на течение болезни указанных факторов [99].

У детей с тяжелым течением АтД достоверно чаще, чем при среднетяжелом и легком течении заболевания в семье отмечалось курение со стороны матери (p=0,003), отца (p=0,003), или сочетание вредной привычки у обоих родителей (p=0,002). Вострикова С. А. и др. (2020) также наблюдали, что среди детей с тяжелым течением АтД показатель курения в семьях был значительно выше, чем у детей группы сравнения [13]. Связи между курением родителей, воздействием бытовых вредностей и формированием клинических форм АтД у детей нам проследить не удалось (p=0,66; p=0,14).

В нашем исследовании не наблюдалось статистически достоверной связи способа родоразрешения матерей и развития тяжелого течения или определенной клинической формы АтД у детей (p= 0,42;p= 0,12), в то время, как данные литературы свидетельствуют о роли оперативного родоразрешения в качестве фактора риска развития пищевой аллергии в раннем детском возрасте, предположительно, из-за отсутствия воздействия на эпителиальные барьеры сапрофитных вагинальных и перианальных бактерий [85].

Пациенты с тяжелым течением демонстрировали первые симптомы АтД достоверно раньше, чем при легком и среднетяжелом течении - большинство - в первые четыре месяца жизни (p <0,0001). Ранний дебют был характерен для детей с ЭРСЛ (82%; n=18) и Л формой заболевания достоверно чаще, чем для ЭКС формы (12%; n=8) (p <0,0001). Файзуллина Р.М. и др. (2020) также показали в своих работах увеличение риска тяжелого течения заболевания у детей с ранней манифестацией симптомов АтД [92].

На момент дебюта АтД большинство детей, вне зависимости от тяжести течения болезни, получали материнское молоко ( $p=0,56$ ). При легком и среднетяжелом течении АтД большинство детей (66% ( $n=21$ ) и 56% ( $n=34$ )) получали молоко матери более года ( $p < 0,0001$ ). В группе с тяжелым течением заболевания длительность ГВ была существенно ниже, чем при легком и среднетяжелом течении и составляла в 79% ( $n= 26$ ) наблюдений 4-6 месяцев, в 15% ( $n=5$ ) 0-3 месяца ( $p < 0,0001$ ). Закономерность такой картины можно объяснить протективными свойствами ГВ относительно развития тяжелых вариантов АтД [165].

Среди причин дебюта у детей с тяжелым течением АтД ведущую роль играло употребление в пищу матерью облигатных аллергенов (82%,  $n = 27$ ) ( $p < 0,0001$ ), только у 5 женщин данная ситуация явилась причиной отказа от ГВ в пользу кормления ребенка лечебной молочной смесью. Матерям детей с АтД, находящихся на ГВ можно сохранять кормление грудью путем исключения из рациона матери причинно значимых аллергенов [165].

Уровень образования родителей не оказывал существенного влияния на тяжесть течения АтД у детей ( $p= 0,297$ ,  $p=0,396$ ).

В результате анализа данных, в соответствии с поставленной задачей, мы выявили факторы риска формирования клинико-морфологических форм прогрессирующего течения АтД у детей в возрасте от 1-3 лет. В число факторов риска вошли: отягощенный аллергоанамнез со стороны матери, сиблингов, влияние бытовых вредностей во время беременности, курение родителей ребенка, ранний дебют заболевания (в первые 4 месяца жизни), небольшая продолжительность ГВ (первые 4—6 месяцев жизни).

67 детям с АтД в периоде обострения заболевания проводили исследование общего анализа крови, показателей иммунного статуса, включающего в себя определение уровней основных иммуноглобулинов (IgA, IgM, иммуноглобулинов G (IgG), IgE), ЦИК, иммуноцитограмму (CD3+/CD45+; CD3+CD4+/CD45+, CD3+CD8+/CD45+; CD19+/CD45+, CD16+56+/CD45+), ИРИ и показатели окислительного статуса (ЦБП, 8-ОНдГ). В периоде ремиссии

пациентам с АтД (n=67) повторно определяли уровни IgE общего и показателей окислительного статуса (ЦБП, 8-OHdG).

В качестве группы контроля выступали 20 здоровых детей 1-3-х лет. Детям группы контроля определение показателей иммунного статуса (уровни основных иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG, IgE), ЦИК, иммуноцитограмма (CD3+/CD45+; CD3+CD4+/CD45+, CD3+CD8+/CD45+; CD19+/CD45+, CD16+56+/CD45+, ИРИ) и окислительного статуса (ЦБП, 8-OHdG) проводили однократно.

Дети с АтД (n=67) были разделены на группы в зависимости от тяжести течения заболевания (легкое (n=16), среднетяжелое (n=39), тяжелое течение (n=12)) и в зависимости от клинической формы заболевания на ЭКС (n=36), ЭрС (n=25), ЭрСЛ (n=6).

Исследование показателей иммунологического профиля показало, что у детей с различными клиническими формами и различной тяжестью течения АтД наблюдался общий вектор изменений в виде снижения Т-цитотоксических клеток, изменения показателей гуморального звена иммунитета в виде снижения IgA и гиперпродукции IgE.

При этом, в отличие от более легких вариантов течения АтД, при прогрессировании болезни отмечалось повышение абсолютного числа лейкоцитов, снижение уровня лимфоцитов и изменение соотношения Т-хелперов/Т-цитотоксических клеток, влекущее за собой повышение ИРИ.

Данные литературы, в большинстве своем, не показывали стандартной картины изменения показателей иммунного статуса при АтД, но прослеживалась общая тенденция, в траекторию которой вписывались результаты, полученные при нашем исследовании [23, 29, 48].

При оценке показателей окислительного стресса у детей с 1-3 лет с АтД было выявлено резкое повышение концентрации ЦБП в периоде обострения при среднетяжелом и тяжелом течении АтД ( $p < 0,0001$ ;  $p = 0,003$ ). В периоде ремиссии показатели снижались, стремясь к нормальным значениям, но все же оставались на более высоком уровне, чем в группе контроля ( $p = 0,0005$ ;  $p = 0,003$ ).

Концентрация ЦБП отличалась в зависимости от клинической формы болезни в периоде обострения, при этом ЭРСЛ вариант течения АтД характеризовался наибольшими показателями окислительного стресса, а ЭКС форма – наименьшими ( $p=0,02$ ).

Уровни 8-OHdG, изменялись, находясь в зависимости от интенсивности клинических проявлений, оцененных с помощью индекса SCORAD ( $r=0,63$ ;  $p=0,0001$ ) и оставались ниже контрольных значений при любой тяжести течения заболевания. В доступных литературных источниках нам встретилось описание однонаправленного изменения содержания 8-OHdG и клинических проявлений АтД, но в преимущественном большинстве работ наблюдалось повышение показателя в периоде обострения [113, 136, 167, 194], при этом, показатель измеряли в моче у респондентов возрастной группы, отличной от нашей.

Основываясь на полученных данных, можно сделать заключение о том, что ЦБП и 8-OHdG могут служить биологическими показателем интенсивности клинических изменений при АтД.

Для определения ассоциаций распределения аллелей гена eNOS (Glu298Asp (rs1799983), C774T (rs1549758) и T786C (rs2070744)) с клиническими формами АтД у детей в возрасте до трех лет, 59 детям с 1 года до 3 лет с АтД и 19 детям контрольной группы проводили экстракцию ДНК и исследование на полиморфные маркеры (Glu298Asp (rs1799983), C774T (rs1549758) и T786C (rs2070744)) в гене eNOS.

Дети с АтД ( $n=59$ ) были разделены на следующие группы: ЭрС ( $n=34$ ), ЭрСЛ ( $n=16$ ) и Л ( $n=9$ ) формы заболевания.

В результате исследования мы выявили достоверную ассоциацию гомозиготного генотипа СС в локусе -786 (rs2070744) гена eNOS с развитием у пациентов хронической непрерывно рецидивирующей ЭрСЛ формы АтД.

Ранее в исследованиях *in vitro* было показано, что замена тимина на цитозин в положении -786 примерно на 50% снижает транскрипционную активность гена [163]. Вероятно, этот эффект возникает из-за того, что репликационный белок А1 (RPA1), который действует как репрессор, имеет большее сродство к цитозину,

нежели к тимину [160]. Можно было предположить, что у пациентов, не имеющих аллеля T (то есть гомозиготных CC) снижена экспрессия eNOS, которая обеспечивает базальную секрецию NO [170], осуществляющего регуляторную и сигнальную функции в организме. Таким образом, недостаток NO приводит к повышенному риску развития ЭрсЛ формы АтД по сравнению с пациентами, несущими аллель T, что позволяет рассматривать гомозиготный генотип CC в качестве фактора, повышающего риск развития у детей раннего возраста хронического воспаления кожи - лихенизации.

Для формирования прогноза течения АтД у детей, с учетом клинических данных, показателей окислительного и иммунного статусов была разработана математическая модель с использованием метода множественной регрессии. В нее были ключены такие показатели, как 8-OHdG, ЦБП, уровень IgA, ИРИ и площадь поражения кожных покровов.

Математическое выражение, отражающее математическую модель прогнозирования тяжести течения АтД у детей выглядело следующим образом:  
$$\text{КПТТ} = -0,05 + 0,04 * \text{ИРИ} - 0,066 * \text{IgA} + 0,0001 * \text{ЦБП} + 0,014 * S + 0,02 * 8\text{OHdG}.$$

Для расчета коэффициента прогнозирования тяжести течения (КПТТ) необходимо в формулу подставить результаты обследования конкретного пациента. При значении КПТТ более 0,5 риск развития тяжелого течения АтД был высоким, а при КПТТ менее 0,5 – низким.

Для ускорения и упрощения расчета прогностического коэффициента нами создана компьютерная программа с использованием электронных таблиц Excel (Microsoft Office) которая мгновенно определяет значение коэффициента прогноза.

## ВЫВОДЫ

1. Отягощенный аллергоанамнез со стороны матери, сиблингов, влияние бытовых вредностей во время беременности, курение родителей ребенка, ранний дебют заболевания (в первые 4 месяца жизни), небольшая продолжительность грудного вскармливания (первые 4—6 месяцев жизни) можно рассматривать в качестве факторов, предрасполагающих к развитию тяжелого прогрессирующего течения атопического дерматита.

2. У детей с различными клиническими формами и различной тяжестью течения атопического дерматита наблюдалась общая тенденция в изменении показателей иммунограммы в виде снижения Т-цитотоксических клеток, снижения иммуноглобулинов класса А и гиперпродукции иммуноглобулинов класса Е.

3. Среднетяжелое и тяжелое течение атопического дерматита в периоде обострения сопровождалось резким повышением концентрации циркулирующих биологических пероксидов, которая в периоде ремиссии снижалась, стремясь к нормальным значениям, при этом, сохраняла достоверно более высокий уровень относительно контрольной группы. Концентрация циркулирующих биологических пероксидов изменялась в зависимости от клинической формы атопического дерматита в периоде обострения, эритематозно-сквамозная с лихенизацией форма характеризовалась наибольшими показателями окислительного стресса, экссудативная – наименьшими. Уровни 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина изменялись в зависимости от интенсивности клинических проявлений, оцененных с помощью индекса SCORAD ( $r=0,63$ ;  $p=0,0001$ ) и оставались ниже контрольных значений при любой тяжести течения заболевания.

4. Выявлена ассоциация гомозиготного генотипа СС в локусе -786 (rs2070744) гена eNOS с развитием у пациентов тяжелой хронической формы атопического дерматита – эритематозно-сквамозной с лихенизацией.

5. Разработана модель прогнозирования тяжести течения атопического дерматита у детей: так, при полученном значении прогностического коэффициента тяжести течения атопического дерматита более 0,5 необходимо отнести данного

ребенка в группу риска, с целью подбора оптимальной тактики ведения для предупреждения тяжелого течения заболевания.



## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Определение показателей окислительного статуса (циркулирующих биологических перекисей, 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина) может быть использовано в качестве факторов контроля течения и разработке методов терапии atopического дерматита.

2. Экстракция дезоксирибонуклеиновой кислоты и исследование на полиморфный маркер T786C (rs2070744) в гене эндотелиальной синтазы оксида азота с определением гомозиготного генотипа CC в локусе -786 гена эндотелиальной синтазы оксида азота позволяет прогнозировать развитие хронических форм atopического дерматита.

3. Модель прогнозирования клинического течения atopического дерматита у детей раннего возраста, позволяет рассчитать предположительный вариант течения заболевания у данного пациента в будущем: при полученном значении более 0,5 необходимо отнести данного ребенка в группу риска, с целью подбора оптимальной тактики ведения пациента для предупреждения тяжелого течения atopического дерматита.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

|                               |  |
|-------------------------------|--|
| АтД                           | атопический дерматит                     |
| АФК                           | активные формы кислорода                 |
| ДНК                           | дезоксирибонуклеиновая кислота           |
| 8-OHdG                        | 8-гидрокси-2' дезоксигуанозин            |
| eNOS                          | эндотелиальная синтаза оксида азота      |
| NO                            | оксид азота                              |
| ЦБП                           | циркулирующие биологические перекиси     |
| ЭРСЛ                          | эритематозно - сквамозная с лихенизацией |
| ЭКС                           | экссудативная                            |
| ЭРС                           | эритематозно - сквамозная                |
| ИРИ                           | иммунореактивный индекс                  |
| IgA                           | иммуноглобулины класса А                 |
| IgE                           | иммуноглобулины класса Е                 |
| pH                            | водородный показатель                    |
| КЛ                            | клетки Лангерганса                       |
| ФНО - альфа                   | фактор некроза опухоли – альфа           |
| ТК                            | тучные клетки                            |
| ГТТ                           | глутатионтрансфераза                     |
| СРО                           | свободнорадикальное окисление            |
| O <sub>2</sub> •              | супероксидный радикал кислорода          |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | перекись водорода                        |
| •ОН                           | гидроксильный радикал                    |
| СОД                           | супероксиддисмутаза                      |
| HO <sub>2</sub> •             | гидропероксильный радикал                |
| NOS                           | синтаза оксида азота                     |
| ONOO-                         | пероксинитрит                            |
| ПОЛ                           | перекисное окисление липидов             |

|      |  |
|------|--|
| CP   | свободный радикал  |
| МДА  | малоновый диальдегид   |
| nNOS | нейрональная синтаза оксида азота                                  |
| iNOS | индуцибельная синтаза оксида азота                                 |
| ЦИК  | циркулирующие иммунные комплексы                                   |
| ЭДТА | этилендиаминтетрауксусная кислота                                  |
| F    | критерий Фишера  |
| ГВ   | грудное вскармливание  |
| IgM  | Иммуноглобулин М   |
| КПТТ | коэффициент прогнозирования тяжести течения атопического дерматита |
| IgG  | иммуноглобулины класса G   |

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Адаскевич В.П. Барьерная функция кожи при atopическом дерматите: роль филаггрина // Дерматовенерология. Косметология. – 2021. – Т. 7. – №. 1. – С. 54—62.
2. Александрович Ю.С. Мониторинг кислородного статуса при критических состояниях у детей / Ю.С. Александрович, К.В. Пшениснов // Тольяттинский медицинский консилиум. – 2011. – №. 5—6. – С. 7—13.
3. Асирян Е.Г. Клинико-иммунологическое обоснование применения иммунокорректирующего лечения у детей с бронхиальной астмой [Текст] / Е.Г. Асирян. – Витебск: ВГМУ, 2018. – 243 с.
4. Балаболкин И.И. Атопический дерматит у детей: иммунологические аспекты патогенеза и терапии / И.И. Балаболкин, В.А. Булгакова, Т.И. Елисеева // Педиатрия. – 2017. – Т. 96. – № 2. – С. 128–135.
5. Балаболкин И.И. Состояние эпидермального барьера и возможности корнеотерапии при atopическом дерматите у детей / И.И. Балаболкин, В.А. Булгакова, Т.И. Елисеева // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2019. – Т. 98. – № 3. – С. 64-171.
6. Баранов А.А. Научная школа детской аллергологии НИИ педиатрии АМН СССР-НЦЗД РАМН / А.А. Баранов, Л.С. Намазова-Баранова // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2012. – Т. 91. – №. 3. – С. 82—89.
7. Баринов А.Н. Роль окислительного стресса в заболеваниях нервной системы-пути коррекции // Трудный пациент. – 2012. – Т. 10. – № 1. – С. 10—13.
8. Бен М.М. Клинико-диагностическое и прогностическое значение хемокинов у детей с atopическим дерматитом: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.10 / Бен Мбарек Макрем. – М., 2018. – 143 с.
9. Боровик Т.Э. Кожа как орган иммунной системы / Т.Э. Боровик, С.Г. Макарова, С.Н. Дарчия, А.В. Гамалеева, С.Г. Грибакин // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2010. – Т. 89. – № 2. – С. 132—136.

10. Бунина Ю.А. Исследование роли  $\beta$ -дефенсина-2 в грудном молоке при атопическом дерматите у детей / Ю.А. Бунина, А.В. Кудрявцева, Е.П. Быстрицкая [и др.] // Врач. – 2020. – Т. 31. – № 5. – С. 85—87.

11. Васенина Е.Е. Окислительный стресс в патогенезе нейродегенеративных заболеваний: возможности терапии / Е.Е. Васенина, О.С. Левин // Современная терапия в психиатрии и неврологии. – 2013. – № 3—4. – С. 39—46.

12. Власов Б.Я. Сигнальная роль активных форм кислорода в клетках животных (мини-обзор) / Б.Я. Власов, А.Г. Булавинцев, А.К. Подшивалова // Научно-практический журнал “Вестник ИрГСХА”. – 2009. – № 35. – С. 24—30.

13. Вострикова С.А. Медико-социальная характеристика детей с атопическим дерматитом / С.А. Вострикова, Н.И. Пенкина, Н.М. Попова, М.А. Иванова // Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики. – 2020. – №3. – С. 1—15.

14. Галущинская А.В. Аллельный полиморфизм eNOS у детей при различных воспалительных фенотипах бронхиальной астмы / А.В. Галущинская, Л.В. Микалюк // Медицинский журнал Западного Казахстана. – 2013. – № 4 (40). – С. 37—39.

15. Геппе Н.А. Оксид азота как маркер воспаления при бронхиальной астме / Н.А. Геппе, С.К. Соодаева, Е.Г. Белоусова [и др.] // Вопросы практической педиатрии. – 2007. – Т. 2. – №4. – С. 27—31.

16. Глухова Е.А. Предикторы тяжелого течения атопического дерматита / Е.А. Глухова, В.А. Мухортых, О.Б. Тамразова, А.В. Таганов, В.А. Ревякина // Вопросы питания. – 2022. – Т. 91. – № 1 (539). – С. 76—85.

17. Горудко И.В. Функциональная активность нейтрофилов при сахарном диабете и ишемической болезни сердца: роль миелопероксидазы в развитии окислительного стресса / И.В. Горудко, В.А. Костевич, А.В. Соколов [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 154. – № 7. – С. 28—32.

18. Гребенчиков О.А. Молекулярные механизмы окислительного стресса / О.А. Гребенчиков, Т.С. Забелина, Ж.С. Филипповская [и др.] // Вестник интенсивной терапии. – 2016. – № 3. – С. 13—21.

19. Давидова М.Э. Оптимизация терапии atopического дерматита: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.11 / Давидова Милана Эдуардовна. – М., 2008. – 95 с.

20. Данилова В.И. Раннее искусственное вскармливание как фактор риска развития пищевой аллергии / В.И. Данилова, А.М. Танташева // Смоленский медицинский альманах. – 2018. – № 1. – С. 81—85.

21. Делягин В.М. Генетика бронхиальной астмы и атопии / В.М. Делягин, Е.Е. Аракчеева, А. Уразбагамбетов, Ю.И. Будчанов // Медицинский совет. – 2012. – № 5. – С. 33—39.

22. Делягин В.М. Полиморфизм гена лактазы у детей с atopическими заболеваниями / В.М. Делягин, К.Г. Каграманова, Е.Г. Шугурина [и др.] // Педиатрия. Журнал им. Г. Н. Сперанского. – 2008. – № 87 (4). – С. 15—17.

23. Дементьева Е.А. Особенности клеточного и гуморального иммунитета при atopическом дерматите у детей первого года жизни / Е.А. Дементьева, О.П. Гурина, А.Е. Блинов [и др.] // Педиатр. – 2019. – Т. 10. – № 6. – С. 35—44.

24. Дубровина Л.Н. Atopический дерматит у подростков: факторы риска, триггерные факторы и спектр сенсibilизации / Л.Н. Дубровина, Л.Ф. Казначеева, Н.В. Геращенко, В.В. Массерова // Вестник Новосибирского государственного университета. – 2009. – Т. 7. – № 2. – С. 108—113.

25. Дудникова Э.В. Особенности течения atopического дерматита у детей раннего возраста / Э.В. Дудникова, Н.Н. Кобзева, Е.С. Приходская [и др.] // Медицинский вестник Юга России. – 2013. – № 3. – С. 44—47.

26. Дудникова Э.В. Современный взгляд на профилактику atopического дерматита у детей раннего возраста / Э.В. Дудникова, Н.Н. Кобзева, Е.С. Приходская [и др.] // Медицинский вестник Юга России. – 2013. – № 3. – С. 8—11.

27. Елисютина О.Г. Особенности иммунного ответа и роль некоторых цитокинов при atopическом дерматите / О.Г. Елисютина, Е.С. Феденко, М.Н.

Болдырева, Г.О. Гудима // Российский аллергологический журнал. – 2015. – № 1. – С. 3—14.

28. Жигачева И.В. Сигнальные функции оксида азота / И.В. Жигачева, С.В. Васильева // Содержание Материалов конференции IT+ M&Eс2018. – Ялта-Гурзуф, 2018. – С. 64—68.

29. Жильцова Е.Е. Роль иммунологических нарушений в развитии atopического дерматита / Е.Е. Жильцова, Л.Р. Чахоян // Исследования и практика в медицине. – 2018. – Т.5. – №1. – С. 45—51.

30. Заславский Д.В. Пробиотики в профилактике и терапии atopического дерматита у детей / Д.В. Заславский, В.П. Новикова, И.Н. Чупров [и др.] // Вопросы практической педиатрии. – 2016. – № 11 (2). – С. 51—57.

31. Калюжин О.В. Персистирующее субклиническое воспаление в коже как фактор риска обострений atopического дерматита: от патофизиологии к лечению // Российский аллергологический журнал. – 2017. – Т. 14. – №. 4—5. – С. 108—119.

32. Клинические рекомендации «Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению atopического дерматита» / Профессиональная организация «Российское общество дерматовенерологов и косметологов», «Российская ассоциация аллергологов и клинических иммунологов», «Союз педиатров России», 2020. – 75 с.

33. Колесникова Л.И. Окислительный стресс как неспецифическое патогенетическое звено репродуктивных нарушений (обзор) / Л.И. Колесникова, М.А. Даренская, Л.А.Гребенкина [и др.] // Сибирский научный медицинский журнал. – 2012. – Т. 32. – № 1. – С. 58—66.

34. Копанев Ю.А. Atopический дерматит у детей раннего возраста. Нарушение адаптации. Целесообразность введения лечебных смесей / Ю.А. Копанев, А.Л. Соколов // Лечащий врач. – 2020. – № 6. – С. 7—11.

35. Копытова Т.В. Оценка окислительной модификации белков у больных хроническими распространенными дерматозами / Т.В. Копытова, Г.А. Пантелеева, О.Н. Дмитриева, Е.В. Коткова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2014. – Т. 59. – № 2. – С. 41—44.

36. Копытова Т.В. Значение окислительной модификации липопротеинов для диагностики нарушений обменных процессов при хронических распространенных дерматозах / Т.В. Копытова, Н.А. Щелчкова, О.Н. Дмитриева, Л.Н. Химкина // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – Т. 1. – № 8—1. – С. 82—85.

37. Короткова Т.Н. Селектины и молекулы адгезии в патогенезе атопического дерматита у детей: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.09 / Короткова Татьяна Николаевна. – М., 2006. – 134 с.

38. Круглова Л.С. Вопросы противозудной терапии на фоне ксероза кожи / Л.С. Круглова, Е.В. Типаева // *Медицинский алфавит*. – 2021. – №. 27. – С. 37—41.

39. Кубанов А.А. Организация и результаты оказания медицинской помощи по профилю «дерматовенерология» в Российской Федерации. Итоги 2018 года / А.А. Кубанов, Е.В. Богданова // *Вестник дерматологии и венерологии*. – 2019. – Т. 95. – №4. – С. 8–23.

40. Кубанов А.А. Атопический дерматит / А.А. Кубанов, Л.С. Намазова-Баранова, Р.М. Хаитов // *Российский Аллергологический Журнал*. – 2021. – Т. 18. – №. 3. – С. 44—92.

41. Кудрявцева А.В. Патогенетическое обоснование комплексного лечения тяжелых форм атопического дерматита у детей и подростков: дис. ... док. мед. наук: 14.01.08; 14.03.09 / Кудрявцева Ася Валерьевна. – М., 2012. – 269 с.

42. Кудрявцева А.В. Нарушение кожного барьера как ведущий фактор формирования местного воспалительного процесса при атопическом дерматите // *Вестник дерматологии и венерологии*. – 2017. – №. 4. – С. 82—89.

43. Кудрявцева А.В. Современные аспекты патогенеза атопического дерматита у детей // *Российский аллергологический журнал*. – 2010. – № 5. – С. 48—57.

44. Кудрявцева А.В. Циклоспорин в терапии тяжелых форм атопического дерматита у детей / А.В. Кудрявцева, И.И. Балаболкин // *Вопросы практической педиатрии*. – 2009. – Т. 4. – №. 5. – С. 18—21.

45. Кулакова В.А. Прогнозирование гипоксии-ишемических поражений мозга плода при комплексной оценке адаптационных особенностей системы «мать –



плацента – плод»: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01 / Кулакова Валерия Андреевна. – Волгоград., 2015. – 139 с.

46. Ларина Т.В. Клинико-метаболические особенности атопического дерматита у детей раннего возраста / Т.В. Ларина, А.М. Ожегов, Н.И. Пенкин // Педиатрия. Журнал им. ГН Сперанского. – 2003. – Т. 82. – № 6. – С. 1—6.

47. Мальченко Е.Е. Исследование ассоциации ряда генетических маркеров с псориазом и экземой: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.10 / Мальченко Екатерина Евгеньевна. – Новосибирск., 2018. – 178 с.

48. Мамедова С.М. Клинико-иммунологическая характеристика наблюдаемых детей с тяжёлым течением распространённого атопического дерматита // Медицинское образование сегодня. – 2019. – Т.1. – №5. – С. 6—19.

49. Манина И.В. Иммунопатология и биохимические основы терапии атопических состояний / И.В. Манина, А.Ю. Сергеев, И.Н. Григорьева, Е.В. Кудрявцева // Лечащий врач. – 2012. – № 4. – С. 6.

50. Мартусевич А.К. Оксидативный стресс и его роль в формировании дизадаптации и патологии / А.К. Мартусевич, К.А. Карузин // Биорадикалы и антиоксиданты. – 2015. – Т. 2. – № 2. – С. 5—11.

51. Махнева Н.В. Клеточные и гуморальные компоненты иммунной системы кожи // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2016. – Т. 19. – № 1. – С. 12—17.

52. Меньщикова Е.Б. Современные подходы при анализе окислительного стресса, или как измерить неизмеримое / Е.Б. Меньщикова, Н.К. Зенков // Acta Biomedica Scientifica. – 2016. – Т. 1. – № 3—2 (109). – С. 174—179.

53. Мигачёва Н.Б. Эволюция представлений об атопическом дерматите: от патогенеза к лечению и профилактике // Педиатрия им. Г.Н. Сперанского. – 2019. – Т. 98. – №3. – С. 207—216.

54. Мигачёва Н.Б. Эволюционные аспекты эпидемиологии, лечения и профилактики атопического дерматита: дис. ... док. мед. наук: 14.03.09 / Мигачёва Наталья Бегиевна. – М., 2020. – 283 с.

55. Мингалиев Р.А. Атопический дерматит у детей как мультифакториальное заболевание, причины возникновения и особенности лечения / Р.А. Мингалиев, А.В. Кудрявцева // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2017. – № 1 (48). – С. 8—12.

56. Мирекина Е.В. Роль дисбаланса оксидантно-антиоксидантной системы в развитии гемокоагуляционных нарушений при некоторых инфекционных заболеваниях / Е.В. Мирекина, Х.М. Галимзянов, Н.Р. Бедлинская // Астраханский медицинский журнал. – 2017. – Т. 12. – № 2. – С.15—21.

57. Моргуль Е.В. Перспективы профилактики повреждений ДНК при аллергических заболеваниях у детей с помощью пробиотических препаратов / Е.В. Моргуль, В.А. Чистяков, Н.Н. Кобзева, Е.С. Слюсарева // Валеология. – 2013. – №2. – С. 20—26.

58. Мурашкин Н.Н. Роль нарушений эпидермального барьера при атопическом дерматите: современные концепции патогенеза заболевания / Н.Н. Мурашкин, Э.Т. Амбарчян, А.И. Материкин, Р.В. Епишев // Вопросы современной педиатрии. – 2018. – Т. 17. – № 1. – С. 85–88.

59. Мурашкин Н.Н. Синдром чувствительной кожи при атопическом дерматите у детей: особенности патогенеза и терапевтической тактики / Н.Н. Мурашкин, Р.В. Епишев, Д.В. Фёдоров [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2019. – № 18 (4). – С. 285–293.

60. Мурашкин Н.Н. Филаггрин и атопический дерматит: клинико-патогенетические параллели и возможности терапевтической коррекции / Н.Н. Мурашкин, Р.А. Иванов, Э.Т. Амбарчян [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2021. – Т. 20. – № 5. – С. 435–440.

61. Мурашкин Н.Н. Особенности микробиома кожи у детей с атопическим дерматитом и новые возможности для патогенетической терапии / Н.Н. Мурашкин, А.И. Материкин, Л.А. Опрятин [и др.] // Педиатрическая фармакология. – 2019. – № 16 (5). – С. 304–309.

62. Мурашкин Н.Н. Зуд при атопическом дерматите: от этиологических особенностей к терапевтической тактике / Н.Н. Мурашкин, Л.А. Опрятин, Р.В. Епишев [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2020. – № 19 (6). – С. 468–476.
63. Намазова-Баранова Л.С. Атопический дерматит у детей: современные клинические рекомендации по диагностике и терапии / Л.С. Намазова-Баранова, А.А. Баранов, А.А. Кубанова [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2016. – № 15 (3). – С. 279–294.
64. Никитина А.В. Микробиота кожи и её влияние на течение атопического дерматита у детей // Российский педиатрический журнал. – 2019. – Т. 22. – № 5. – С. 295–296.
65. Никитина В.В. Влияние концентраций оксида азота и активности оксиданта на развитие воспалительных изменений сосудистой стенки / В.В. Никитина, Н.Б. Захарова, Г.П. Гладилин // Клиническая лабораторная диагностика. – 2014. – Т. 59. – № 5. – С. 11–13.
66. Орлова Е.А. Роль филагрина в развитии атопического дерматита / Е.А. Орлова, Ю.А. Кандрашкина, Е.М. Костина // Практическая аллергология. – 2021. – № 2. – С. 96–100.
67. Панченко Л.Ф. Окислительный стресс при алкогольной болезни печени / Л.Ф. Панченко, Б.В. Давыдов, Н.Н. Терехина, В.Ю. Баронец, А.С. Журавлева // Биомедицинская химия. – 2013. – Т. 59. – № 4. – С. 452–458.
68. Петрова Ю.Г. «Школа ухода за пациентами» при проведении медицинской реабилитации после церебрального инсульта: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.11 / Петрова Юлия Геннадьевна. – М., 2015. – 124 с.
69. Пожилова Е.В. Активные формы кислорода в физиологии и патологии клетки / Е.В. Пожилова, В.Е. Новиков, О.С. Левченкова // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2015. – Т. 14. – № 2. – С. 13–22.
70. Празднова Е.В. Антимутагенная активность пробиотических препаратов / Е.В. Празднова, В.А. Чистяков, Т.С. Колмакова [и др.] // Врач-аспирант. – 2014. – № 5.1 (66). – С. 164–171.

71. Ревякина В.А. Биологические препараты в терапии атопического дерматита и бронхиальной астмы: фокус на дупилумаб / В.А. Ревякина, Н.А. Геппе, А.Б. Малахов [и др.] // Педиатрия. Приложение к журналу Consilium Medicum. – 2021. – № 2. – С. 129—137.

72. Ревякина В.А. Проблема пищевой аллергии на современном этапе // Вопросы питания. – 2020. – № 89 (4). – С. 186—192.

73. Ревякина В.А. Фенотипы пищевой аллергии у детей / В.А. Ревякина, И.А. Ларькова, Е.Д. Кувшинова, М.И. Шавкина, В.А. Мухортых // Вопросы питания. – 2016. – № 85 (1). – С. 75—80.

74. Ревякина В.А. Современные эпидемиологические и теоретические аспекты атопического дерматита у детей / В.А. Ревякина, А.В. Таганов, Т.Н. Короткова [и др.] // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2019. – Т. 98. – № 3. – С. 202—207.

75. Садикова Т.Е. Клинико-иммунологические особенности атопического дерматита у детей и эффективность патогенетической терапии: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.09; 14.03.09 / Садикова Тамара Евгеньевна. – М., 2011. – 149 с.

76. Сафроненко А.В. пути преодоления фармакорезистентности при лечении артериальной гипертензии: дис. ... док. мед. наук: 14.03.06 / Сафроненко Андрей Владимирович. – М., 2016. – 259 с.

77. Свитич О.А. Ассоциация полиморфизма гена NOS3 с риском развития атопического дерматита у детей / О.А. Свитич, А.В. Кудрявцева, Е.С. Слюсарева [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2020. – Т. 170. – № 12. – С. 778—782.

78. Слюсарева Е.С. Динамика изменения концентрации биопероксидов в крови при атопическом дерматите у детей раннего возраста / Е.С. Слюсарева, Э.В. Дудникова, А.Ю. Нуртазина [и др.] // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2019. – № 4 (59). – С. 14—21.

79. Смирнова Г.И. Атопический дерматит у детей: достижения и перспективы // Российский педиатрический журнал. – 2017. – Т. 20. – № 2. – С. 99—107.

80. Смирнова Г.И. Актуальный атопический: проблемы и перспективы // Российский аллергологический журнал. – 2017. – Т. 14. – № 4—5. – С. 30—39.

81. Смирнова Г.И. Нарушения микробиоты кожи и формирование атопического дерматита у детей / Г.И. Смирнова, А.А. Корсунский // Российский педиатрический журнал. – 2019. – Т. 22. – № 4. – С. 243—250.

82. Смирнова И.Ю. Роль полиморфизма гена нейрональной NO-синтазы в формировании атопического дерматита у детей и чувствительности к терапии // Педиатрическая фармакология. – 2009. – Т. 6. – № 2. – С. 17—19.

83. Смолкин Ю.С. Согласительный документ АДАИР: атопический дерматит у детей — обновление 2019 (краткая версия) / Ю.С. Смолкин, И.И. Балаболкин, И.А. Горланов [и др.] // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2020. – № 1 (60). – С. 4—25.

84. Смолкина О.Ю. Взаимосвязь атопического дерматита и пищевой аллергии / О.Ю. Смолкина, Е.В. Дворянкова, З.А. Невозинская З.А. [и др.] // Педиатрия. Приложение к журналу Consilium Medicum. – 2020. – № 3. – С. 43—46.

85. Соловьева Э.Ю. От концепции окислительного стресса к модуляции клеточной сигнализации / Э.Ю. Соловьева, Д.Т. Чипова // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2015. – Т. 115. – № 8. – С. 105—111.

86. Соодаева С.К. Нарушения окислительного метаболизма при заболеваниях респираторного тракта и современные подходы к антиоксидантной терапии / С.К. Соодаева, И.А. Климанов // Практическая пульмонология. – 2009. – № 1. – С. 34—38.

87. Сушкина И.Ф. Оценка функционального состояния эндотелия, факторов иммунного ответа и качества жизни у больных с острым коронарным синдромом и нарушением углеводного обмена: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.04 / Сушкина Ирина Федровна. – Ростов-на-Дону, 2015. – 184 с.

88. Тамразова О.Б. Факторы риска развития атопического дерматита у грудных детей и первичная профилактика заболевания // Медицинский совет. – 2018. – № 17. – С. 182—186.

89. Тамразова О.Б. Новые представления об этиопатогенезе атопического дерматита и тактике ведения больных / О.Б. Тамразова, А.С. Стадникова // Педиатрия. Consilium Medicum. – 2015. – Т. 1. – С. 64—65.

90. Тончева К.С. Роль элиминационной диеты матери в профилактике атопического дерматита у детей, находящихся на исключительно грудном вскармливании / К.С. Тончева, Э.Ф. Геращенко, Г.И. Неуймина // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2020. – № 3. – С. 76—80.

91. Узбеков М.Г. Перекисное окисление липидов и антиоксидантные системы при психических заболеваниях. Сообщение I // Социальная и клиническая психиатрия. – 2014. – Т. 24. – № 4. – С. 97—103.

92. Файзуллина Р.М. Сравнительный анализ факторов риска при атопическом дерматите у детей, проживающих в сельской местности / Р.М. Файзуллина, Л.Ф. Ганиева, З.А. Шангареева // Медицинский вестник Башкортостана. – 2020. – Т. 15. – № 5 (89). – С. 5—8.

93. Фархутдинова Л.М. Окислительный стресс. История вопроса // Вестник Академии наук Республики Башкортостан. – 2015. – Т. 20. – № 1 (77). – С. 42—49.

94. Федорович С.В. Генетические маркеры предпатологического состояния здоровья населения / С.В. Федорович, С.М. Соколов, А.Н. Ганькин [и др.] // Военная медицина. – 2018. – № 3 (48). – С. 79—83.

95. Фокина Р.А. Особенности течения атопического дерматита в условиях Якутии у детей и подростков в сравнительном аспекте // Дальневосточный медицинский журнал. – 2007. – № 4. – С. 18—19.

96. Шадыжева Л.И. Совершенствование профилактики обострений атопического дерматита с учетом молекулярно-генетических и иммунологических биомаркеров: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.10 / Шадыжева Лейла Идрисовна. – М., 2018. – 152 с.

97. Шатова Ю.С. Клинико-эпидемиологические аспекты люминарного рака молочной железы и возможные пути его профилактики / Ю.С. Шатова, Л.Н. Ващенко, В.В. Токмаков, А.Н. Хугаева // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2017. – №2. – С. 63—72.

98. Щелчкова Н.А. 8-он-2'-дезоксигуанозин как маркер окислительной модификации ДНК у больных хроническими распространенными дерматозами / Н.А. Щелчкова, Т.В. Копытова, Л.Н. Химкина, Г.А. Пантелеева // Клиническая лабораторная диагностика. – 2013. – № 1. – С. 34—36.

99. Эрднеева Н.В. Аллергическая заболеваемость детей работников производства резинотехнических изделий / Н.В. Эрднеева, Ф.Ф. Даутов // Фундаментальные исследования. – 2012. – Т. 1. – № 4. – С. 163—166.

100. Abbasi H. Association of Endothelial Nitric Oxide Synthase 894G > T Polymorphism with Preeclampsia Risk: A Systematic Review and Meta-Analysis based on 35 Studies / H. Abbasi, S.A. Dastgheib, A. Hadadan [et al.] // Fetal and Pediatric Pathology. – 2021. – Vol. 40 (5). – P. 455—470.

101. Albrecht E.W. Protective role of endothelial nitric oxide synthase / E.W. Albrecht, C.A. Stegeman, P. Heeringa [et al.] // The Journal of Pathology. – 2003. – Vol. 199. – № 1. – P. 8—17.

102. Amin M.N. Effect of lipid peroxidation, antioxidants, macro minerals and trace elements on eczema / M.N. Amin, K.F. Liza, M.S. Sarwar [et al.] // Archives of Dermatological Research. – 2015. – Vol. 307. – №7. – P. 617–623.

103. Ayaz A. Oxidative Stress and Overview of Pediatric Disease // Journal of Pediatric Biochemistry. – 2015. – Vol. 5. – № 1. – P. 8—11.

104. Baroni A. Structure and function of the epidermis related to barrier properties / A. Baroni, E. Buommino, V. De Gregorio [et al.] // American Journal of Clinical Dermatology. – 2012. – Vol. 30. – № 3. – P. 257–262.

105. Bondia-Pons I. Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity / I. Bondia-Pons, L. Ryan, J.A. Martinez // Journal of physiology and biochemistry. – 2012. – Vol. 68. – № 4. – P. 701—711.

106. Bouwstra J.A. The skin barrier in healthy and diseased state / J.A. Bouwstra, M. Ponc // Biochimica et Biophysica Acta. – 2006. – Vol. 1758. – №12. – P. 2080—2095.

107. Cabanillas B. Atopic dermatitis phenotypes and the need for personalized medicine / B. Cabanillas, A.-C. Brehler, N. Novak // *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. – 2017. – Vol. 17. – № 4. – P. 309–315.
108. Cabanillas B. Atopic dermatitis and filaggrin / B. Cabanillas, N. Novak // *Current opinion in immunology*. – 2016. – № 42. – P. 1–8.
109. Cadet J. Biologically relevant oxidants and terminology, classification and nomenclature of oxidatively generated damage to nucleobases and 2-deoxyribose in nucleic acids / J. Cadet, S. Loft, R. Olinski [et al.] // *Free Radical Research*. – 2012. – Vol. 46. – № 4. – P. 367–381.
110. Cals-Grierson M.M. Nitric oxide function in the skin / M.M. Cals-Grierson, A.D. Ormerod // *Nitric oxide*. – 2004. – Vol. 10. – № 4. – P. 179–193.
111. Chang H.Y. Prenatal maternal distress affects atopic dermatitis in offspring mediated by oxidative stress / H.Y. Chang, D.I. Suh, S.-I. Yang [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2016. – Vol. 138. – № 2. – P. 468–475.
112. Choi J.E. Skin neurogenic inflammation / J.E. Choi, A. Di Nardo // *Semin Immunopathol*. – 2018. – Vol. 40. – № 3. – P. 249–259.
113. Choi M.W. Urine malondialdehyde and 8-hydroxydeoxyguanosine levels as indices of oxidative damage in patients with atopic dermatitis / M.W. Choi, Y.S. Kim, J.H. Lee, T.Y. Han // *International Journal of Professional Science*. – 2019. – Vol. 57. – № 8. – P. 457–463.
114. Chung J. Association of glutathione-S-transferase polymorphisms with atopic dermatitis risk in preschool age children / J. Chung, S.-Y. Oh, Y.-K. Shin // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. – 2009. – Vol. 47. – № 12. – P. 1475–1481.
115. Dainichi T. The epithelial immune microenvironment (EIME) in atopic dermatitis and psoriasis / T. Dainichi, A. Kitoh, A. Otsuka [et al.] // *Nature Immunology*. – 2018. – Vol. 19. – № 12. – P. 1286–1298.
116. Diep Q.N. PPAR $\alpha$  activator effects on Ang II–induced vascular oxidative stress and inflammation / Q.N. Diep, F. Amiri, R.M. Touyz [et al.] // *Hypertension*. – 2002. – Vol. 40. – № 6. – P. 866–871.



117. Drake D.M. Measurement of the Oxidative DNA Lesion 8-Oxoguanine (8-oxoG) by ELISA or by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) with Electrochemical Detection / D.M. Drake, A.M. Shapiro, P.G. Wells // *Developmental Toxicology*. – 2019. – № 1965. – P. 313—328.

118. Edslev S.M. Staphylococcal Communities on Skin Are Associated with Atopic Dermatitis and Disease Severity / S.M. Edslev, C.M. Olesen, L.B. Nørreslet [et al.] // *Microorganisms*. – 2021. – Vol. 9. – № 2. – P. 432.

119. Emrick J.J. Tissue-specific contributions of Tmem79 to atopic dermatitis and mast cell-mediated histaminergic itch / J.J. Emrick, A. Mathur, J. Wei [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2018. – Vol. 115. – № 51. – P. E12091—E12100.

120. Esparza-Gordillo J. Maternal filaggrin mutations increase the risk of atopic dermatitis in children: an effect independent of mutation inheritance / J. Esparza-Gordillo, A. Matanovic, I. Marenholz [et al.] // *PLoS Genet*. – 2015. – Vol. 11. – № 3. – P. e1005076.

121. Frank S. Nitric oxide drives skin repair: novel functions of an established mediator / S. Frank, H. Kämpfer, C. Wetzler, J. Pfeilschifter // *Kidney international*. – 2002. – Vol. 61. – № 3. – P. 882—888.

122. Furue M. Atopic dermatitis: Immune deviation, barrier dysfunction, IgE autoreactivity and new therapies / M. Furue, T. Chiba, G. Tsuji [et al.] // *Allergology International*. – 2017. – Vol. 66. – № 3. – P. 398–403.

123. García-Ortiz A. Nitric oxide signaling in T cell-mediated immunity / A. García-Ortiz, J.M. Serrador // *Trends in molecular medicine*. – 2018. – Vol. 24. – № 4. – P. 412—427.

124. Go Y.M. The redox proteome / Y.M. Go, D.P. Jones // *Journal of Biological Chemistry*. – 2013. – Vol. 288. – № 37. – P. 26512–26520.

125. Grice E. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome / E. Grice, H. Kong, S. Conlan [et al.] // *Science*. – 2009. – Vol. 324. – № 5931. – P. 1190–1192.

126. Gupta J. Filaggrin gene mutations with special reference to atopic dermatitis / J. Gupta, D.J. Margolis // *Curr Treat Options Allergy*. – 2020. – Vol. 7. – № 3. – P. 403—413.
127. Guseva D. Neuronal branching of sensory neurons is associated with BDNF-positive eosinophils in atopic dermatitis / D. Guseva, U. Rüdrieh, N. Kotnik [et al.] // *Clinical and Experimental Allergy*. – 2020. – Vol. 50. – № 5. – P. 577–584.
128. Guttman-Yassky E. Atopic dermatitis: pathogenesis / E. Guttman-Yassky, A. Waldman, J. Ahluwalia, P.Y. Ong, L. Eichenfield // *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*. – 2017. – Vol. 36. – № 3. – P. 100–103.
129. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease // *Annual Review of Nutrition*. – 1996. – № 16. – P. 33—50.
130. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? / B. Halliwell, J.M. Gutteridge, C.E. Cross // *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. – 1992. – Vol. 119. – № 6. – P. 598–620.
131. Hanifin J.M. Diagnostic features of atopic dermatitis / J.M. Hanifin, G. Rajka // *Acta Dermato-Venereologica*. – 1980. – № 92. – P. 44–47.
132. Hoffjan S. Genetic variation in immunoregulatory pathways and atopic phenotypes in infancy / S. Hoffjan, I. Ostrovnaja, D. Nicolae [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2004. – Vol. 113. – № 3. – P. 511—518.
133. Holla L.I. Analysis of the inducible nitric oxide synthase gene polymorphisms in Czech patients with atopic diseases / L.I. Holla, A. Stejskalova, V. Znojil, A. Vasku // *Clinical and Experimental Allergy*. – 2006. – Vol. 36. – № 12. – P. 1592—1601.
134. Hollá L.I. Neuronal nitric oxide synthase gene polymorphism and IgE-mediated allergy in the Central European population / L.I. Hollá, M. Schüller, D. Bucková [et al.] // *Allergy*. – 2004. – Vol. 59. – № 5. – P. 548—552.
135. Hooper J.K. The Discovery and Function of Filaggrin / J.K. Hooper, L.L. Eggink // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 27. – № 3. – P. 1455.

136. Indraprasta S. Increasing of Urinary 8-Hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) Levels in Children with Atopic Dermatitis / S. Indraprasta, I. Zulkarnain, E. Ervianti // *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin*. – 2017. – Vol. 28. – № 3. – P. 186—193.
137. Ji H. Oxidative stress in atopic dermatitis / H. Ji, X.-K. Li // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2016. – Vol. 2016. – P. 2721469.
138. Kabashima K. New concept of the pathogenesis of atopic dermatitis: interplay among the barrier, allergy, and pruritus as a trinity // *Journal of Dermatological Science*. – 2013. – Vol. 70. – № 1. – P. 3—11.
139. Kabashima K. The immunological anatomy of the skin / K. Kabashima, T. Honda, F. Ginhoux [et al.] // *Nature Reviews Immunology*. – 2019. – Vol. 19. – № 1. – P. 19—30.
140. Kannan K. Oxidative stress and apoptosis / K. Kannan, S.K. Jain // *Pathophysiology*. – 2000. – Vol. 7. – № 3. – P. 153–163.
141. Karaçay B. The neuronal nitric oxide synthase (nNOS) gene and neuroprotection against alcohol toxicity / B. Karaçay, D.J. Bonthius // *Cellular and Molecular Neurobiology*. – 2015. – Vol. 35. – № 4. – P. 449—461.
142. Kasai H. Formation of 8-hydroxyguanine moiety in cellular DNA by agents producing oxygen radicals and evidence for its repair / H. Kasai, P.F. Crain, Y. Kuchino [et al.] // *Carcinogenesis*. – 1986. – Vol. 7. – № 11. – P. 1849—1851.
143. Kemter A.M. Influences on allergic mechanisms through gut, lung, and skin microbiome exposures / A.M. Kemter, C.R. Nagler // *Journal of Clinical Investigation*. – 2019. – Vol. 129. – № 4. – P. 1483–1492.
144. Kim B.E. Significance of skin barrier dysfunction in atopic dermatitis / B.E. Kim, D.Y.M. Leung // *Allergy, asthma & immunology research*. – 2018. – Vol. 10. – № 3. – P. 207—215.
145. Kim J. Pathophysiology of atopic dermatitis: Clinical implications / J. Kim, B.E. Kim, D.Y.M. Leung // *Allergy and asthma proceedings*. – 2019. – Vol. 40. – № 2. – P. 84—92.

146. Kramer M.S. Maternal dietary antigen avoidance during pregnancy or lactation, or both, for preventing or treating atopic disease in the child / M.S. Kramer, R. Kakuma // *Evidence-Based Child Health: A Cochrane Review Journal*. – 2012. – №9. – CD000133.
147. Kryston T.B. Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis / T.B. Kryston, A.B. Georgiev, P. Pissis [et al.] // *Mutation Research*. – 2011. – Vol. 711. – № 1—2. – P. 193—201.
148. Kubo M. Reactive nitrogen species formation in eosinophils and imbalance in nitric oxide metabolism are involved in atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice / M. Kubo, Y. Kambayashi, K. Takemoto [et al.] // *Free Radical Research*. – 2005. – Vol. 39. – № 7. – P. 719—727.
149. Lancerotto L. Layers of the abdominal wall: Anatomical investigation of subcutaneous tissue and superficial fascia / L. Lancerotto, C. Stecco, V. Macchi [et al.] // *Surgical and Radiologic Anatomy*. – 2011. – Vol. 33. – № 10. – P.835–842.
150. Langan S.M. Atopic dermatitis / S.M. Langan, A.D. Irvine, S. Weidinger // *Lancet*. – 2020. – Vol. 396. – № 10247. – P. 345—360.
151. Legat F.J. Itch in Atopic Dermatitis – What Is New? // *Frontiers in Medicine*. – 2021. – Vol. 8. – P. 629—640.
152. Li R. Defining ROS in Biology and Medicine / R. Li, Z. Jia, M.A. Trush // *Reactive Oxygen Species*. – 2016. – Vol. 1. – № 1. – P. 9—21.
153. Liguori I. Oxidative stress, aging, and diseases / I. Liguori, G. Russo, F. Curcio [et al.] // *Clinical interventions in aging*. – 2018. – Vol. 13. – P. 757—772.
154. Liu Q. Infant Skin Barrier, Structure, and Enzymatic Activity Differ from Those of Adult in an East Asian Cohort / Q. Liu, Y. Zhang, S.G. Danby [et al.] // *BioMed research international*. – 2018. – Article ID 1302465.
155. Lodge C.J. Breastfeeding and asthma and allergies: A systematic review and meta-analysis / C.J. Lodge, D.J. Tan, M.X. Lau [et al.] // *Acta Paediatrica*. – 2015. – Vol. 104. – № 467. – P. 38–53.
156. Mack M.C. Water-holding and transport properties of skin stratum corneum of infants and toddlers are different from those of adults: studies in three

geographical regions and four ethnic groups / M.C. Mack, M.R. Chu, N.K. Tierney [et al.] // *Pediatric Dermatology*. – 2016. – Vol. 33. – № 3. – P. 275–282.

157. Manti S. “Cumulative Stress”: the effects of maternal and neonatal oxidative stress and oxidative stress-inducible genes on programming of atopy / S. Manti, L. Marseglia, G. D’Angelo [et al.] // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2016. – Vol. 2016. – P. 8651820.

158. Maruo K. Expression of neuronal nitric oxide synthase in dermal infiltrated eosinophils in eosinophilic pustular folliculitis / K. Maruo, K.I. Kayashima, T. Ono // *The British journal of dermatology*. – 1999. – Vol. 140. – № 3. – P. 417—420.

159. Masiuk H. Determination of nasal carriage and skin colonization, antimicrobial susceptibility and genetic relatedness of *Staphylococcus aureus* isolated from patients with atopic dermatitis in Szczecin, Poland / H. Masiuk, A. Wcisłek, J. Jursa-Kulesza // *BMC Infectious Diseases*. – 2021. – Vol. 21. – № 1. – P. 701.

160. Miyamoto Y. Replication protein A1 reduces transcription of the endothelial nitric oxide synthase gene containing a -786T→C mutation associated with coronary spastic angina / Y. Miyamoto, M. Saito, M. Nakayama [et al.] // *Human Molecular Genetics*. – 2000. – Vol. 9. – № 18. – P. 2629—2637.

161. Mollanazar N.K. Mediators of chronic pruritus in atopic dermatitis: getting the itch out? / N.K. Mollanazar, P.K. Smith, G. Yosipovitch // *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*. – 2016. – Vol. 51. – № 3. – P. 263–292.

162. Nakai K. Urinary biomarker of oxidative stress in patients with psoriasis vulgaris and atopic dermatitis / K. Nakai, K. Yoneda, R. Maeda [et al.] // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2009. – Vol. 23. – № 12. – P. 1405–1408.

163. Nakayama M. T-786 C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm / M. Nakayama, H. Yasue, Y. Shimasaki [et al.] // *Circulation*. – 1999. – Vol. 99. – № 22. – P. 2864—2870.

164. Nassereddine S. The polymorphism G894 T of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene is associated with susceptibility to essential hypertension (EH) in

Morocco / S. Nassereddine, H. Hassani Idrissi, R. Habbal [et al.] // *BMC Medical Genetics*. – 2018. – Vol. 19. – № 1. – P. 127.

165. Nuzzi G. Breastfeeding and Allergic Diseases: What's New? / G. Nuzzi, M.E. Di Cicco, D.G. Peroni // *Children*. – 2021. – Vol. 8. – № 5. – P. 330.

166. Okayama Y. Oxidative stress in allergic and inflammatory skin diseases // *Current Drug Targets-Inflammation and Allergy*. – 2005. – Vol. 4. – № 4. – P. 517—519.

167. Omata N. Increased oxidative stress in childhood atopic dermatitis / N. Omata, H. Tsukahara, S. Ito [et al.] // *Life Sciences*. – 2001. – Vol. 69. – № 2. – P. 223–228.

168. Pao P.C. HDAC1 modulates OGG1-initiated oxidative DNA damage repair in the aging brain and Alzheimer's disease / P.C. Pao, D. Patnaik, L.A. Watson [et al.] // *Nature communications*. – 2020. – Vol. 11. – № 1. – P. 2484.

169. Pavlov V.A. Antioxidant and antimutagenic metabolites in animals with opposite sensitivity to tuberculosis mycobacteria and mutagenic xenobiotics / V.A. Pavlov, V.V. Kotomtsev, A.I. Doronin [ et al.] // *Bulletin of experimental biology and medicine*. – 2016. – Vol. 162. – № 1. – P. 63—65.

170. Pechkovsky D.V. Pattern of NOS2 and NOS3 mRNA expression in human A549 cells and primary cultured AEC II / D.V. Pechkovsky, G. Zissel, T. Goldmann [et al.] // *American Journal of Physiology – Lung Cellular and Molecular Physiology*. – 2002. – Vol. 282. – № 4. – P. 684—692.

171. Peng W. Pathogenesis of atopic dermatitis / W. Peng, N. Novak // *Clinical & Experimental Allergy*. – 2015. – Vol. 45. – № 3. – P. 566—574.

172. Pilkington S. Aged human skin accumulates mast cells with altered functionality that localize to macrophages and vasoactive intestinal peptide-positive nerve fibres / S. Pilkington, M. Barron, R. Watson, C. Griffiths, S. Bulfone-Paus // *British Journal of Dermatology*. – 2018. – Vol. 180. – № 4. – P. 849–858.

173. Pittet J.-C. Evaluation of Elastin/Collagen Content in Human Dermis in-Vivo by Multiphoton Tomography — Variation with Depth and Correlation with Aging / J.-C. Pittet, O. Freis, M.-D. Vazquez-Duchêne, G. Périé, G. Pauly // *Cosmetics*. – 2014. – Vol. 1. – № 3. – P. 211–221.

174. Reiger M. The skin microbiome as a clinical biomarker in atopic eczema: Promises, navigation, and pitfalls / M. Reiger, C. Traidl-Hoffmann, A.U. Neumann // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2020. – Vol. 145. – № 1. – P. 93–96.
175. Rekima A. A role for early oral exposure to house dust mite allergens through breast milk in IgE-mediated food allergy susceptibility / A. Rekima, C. Bonnart, P. Macchiaverni [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2020. – Vol. 145. – № 5. – P. 1416–1429.
176. Rowe A. Constitutive endothelial and inducible nitric oxide synthase in inflammatory dermatoses / A. Rowe, A.M. Farrell, C.B. Bunker // *British Journal of Dermatology*. – 1997. – Vol. 136. – № 1. – P. 18—23.
177. <http://rusmedserv.com> (дата обращения: 31.05.2022)
178. Shibama S. Bilirubin oxidation derived from oxidative stress is associated with disease severity of atopic dermatitis in adults / S. Shibama, T. Ugajin, T. Yamaguchi, H. Yokozeki // *Clinical and experimental dermatology*. – 2019. – Vol. 44. – № 2. – P. 153—160.
179. Shin J. *Epidemiology of Atopic Dermatitis // Practical Insights into Atopic Dermatitis*. – Singapore. – 2021. – P. 1—20.
180. Shyu H.-Y. Association of eNOS and Cav-1 gene polymorphisms with susceptibility risk of large artery atherosclerotic stroke / H.-Y. Shyu, M.-H. Chen, Y.-H. Hsieh [et al.] // *PLoS One*. – 2017. – Vol. 12. – № 3. – P. e0174110.
181. Silverberg J.I. Patient burden and quality of life in atopic dermatitis in US adults: a population-based cross-sectional study / J.I. Silverberg, J.M. Gelfand, D.J. Margolis [et al.] // *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. – 2018. – Vol. 121. – № 3. – P. 340–347.
182. Silverberg J.I. Association between severe eczema in children and multiple comorbid conditions and increased healthcare utilization / J.I. Silverberg, E.L. Simpson // *Pediatric Allergy and Immunology*. – 2013. – Vol. 24. – № 5. – P. 476 – 486.
183. Simpson E.L. Patient burden of moderate to severe atopic dermatitis: insights from a phase 2b clinical trial of dupilumab in adults / E.L. Simpson, T. Bieber,

L. Eckert [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2016. – Vol. 74. – № 3. – P. 491–498.

184. Singh P. Investigation of eNOS gene polymorphism exposes a genetic association between endothelial dysfunction and osteoporosis in postmenopausal women / P. Singh, M. Singh, S. Valecha [et al.] // *Menopause*. – 2020. – Vol. 27. – № 6. – P. 714—721.

185. Sivaranjani N. Role of reactive oxygen species and antioxidants in atopic dermatitis / N. Sivaranjani, S. Venkata Rao, G. Rajeev // *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. – 2013. – Vol. 7. – № 12. – P. 2683–2685.

186. Ständer S. Clinical relevance of skin pain in atopic dermatitis / S. Ständer, E.L. Simpson, E. Guttman-Yassky [et al.] // *Journal of Drugs in Dermatology*. – 2020. – Vol. 19. – № 10. – P. 921–926.

187. Strachan D.P. Hay fever, hygiene, and household size // *British Medical Journal*. – 1989. – Vol. 299. – № 6710. – P. 1259—1260.

188. Szabo P.A. Location, location, location: Tissue resident memory T cells in mice and humans / P.A. Szabo, M. Miron, D.L. Farber // *Science Immunology*. – 2019. – Vol. 4. – № 54. – P. eaas9673.

189. Testa A. The GLU298ASP variant of nitric oxide synthase interacts with asymmetric dimethyl arginine in determining cardiovascular mortality in patients with end-stage renal disease / A. Testa, B. Spoto, G. Tripepi [et al.] // *Journal of Hypertension*. – 2005. – Vol. 23. – № 10. – P. 1825—1830.

190. Tominaga M. Decreased production of semaphorin 3A in the lesional skin of atopic dermatitis / M. Tominaga, H. Ogawa, K. Takamori // *British Journal of Dermatology*. – 2008. – Vol. 158. – № 4. – P. 842–844.

191. Tong P.L. The Skin Immune Atlas: Three-Dimensional Analysis of Cutaneous Leukocyte Subsets by Multiphoton Microscopy / P.L. Tong, B. Roediger, N. Kolesnikoff [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2015. – Vol. 135. – № 1. – P. 84–93.



192. Trouba K.J. Oxidative stress and its role in skin disease / K.J. Trouba, H.K. Hamadeh, R.P. Amin, D.R. Germolec // *Antioxidants and Redox Signaling*. – 2002. – Vol. 4. – № 4. – P. 665—673.
193. Tsukahara H. Oxidative stress and altered antioxidant defenses in children with acute exacerbation of atopic dermatitis / H. Tsukahara, R. Shibata, Y. Ohshima [et al.] // *Life sciences*. – 2003. – Vol. 72. – № 22. – P. 2509—2516.
194. Tsukahara H. High levels of urinary pentosidine, an advanced glycation end product, in children with acute exacerbation of atopic dermatitis: relationship with oxidative stress / H. Tsukahara, R. Shibata, N. Ohta [et al.] // *Metabolism*. – 2003. – Vol. 52. – № 12. – P. 1601—1605.
195. Ventre M. The effect of composition and microstructure on the viscoelastic properties of dermis / M. Ventre, F. Mollica, P.A. Netti // *Journal of Biomechanics*. – 2009. – Vol. 42. – № 4. – P. 430—435.
196. Visnes T. Targeting OGG1 arrests cancer cell proliferation by inducing replication stress / T. Visnes, C. Benítez-Buelga, A. Cázares-Körner [et al.] // *Nucleic acids research*. – 2020. – Vol. 48. – № 21. – P. 12234—12251.
197. Voisin T. Molecular link between itch and atopic dermatitis / T. Voisin, I.M. Chiu // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2018. – Vol. 115. – № 51. – P. 12851—12853.
198. Wan J. Influence of FLG mutations and TSLP polymorphisms on atopic dermatitis onset age / J. Wan, N. Mitra, O.J. Hoffstad, D.J. Margolis // *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. – 2017. – Vol. 118. – № 6. – P. 737—738.
199. Wang Q. eNOS rs2070744 polymorphism might influence predisposition to hemorrhagic cerebral vascular diseases in East Asians: A meta-analysis / Q. Wang, H. Sun, X. Qi, M. Zhou // *Brain, Behavior, and Immunity*. – 2020. – Vol. 10. – № 5. – P. e01538.
200. Weidinger S. Atopic dermatitis / S. Weidinger, L.A. Beck, T. Bieber, K. Kabashima, A.D. Irvine // *Nature Reviews Disease Primers*. – 2018. – Vol. 4. – № 1. – P. 1.

201. Werfel T. Efficacy and safety of the histamine H<sub>4</sub> receptor antagonist ZPL-3893787 in patients with atopic dermatitis / T. Werfel, G. Layton, M. Yeadon [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2019. – Vol. 143. – № 5. – P. 1830–1837.
202. Wong R. The dynamic anatomy and patterning of skin / R. Wong, S. Geyer, W.J. Weninger, J.-C. Guimberteau, J.K. Wong // *Experimental Dermatology*. – 2015. – Vol. 25. – № 2. – P. 92–98.
203. Yamasaki K. Reversal of impaired wound repair in iNOS-deficient mice by topical adenoviral-mediated iNOS gene transfer / K. Yamasaki, H.D. Edington, C. McClosky [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 1998. – Vol. 101. – № 5. – P. 967–971.
204. Yang B. Reactive Oxygen Species (ROS)-Based Nanomedicine / B. Yang, Y. Chen, J. Shi // *Chemical Reviews*. – 2019. – Vol. 119. – № 8. – P. 4881–4985.
205. Yosipovitch G. Neuroimmune interactions in chronic itch of atopic dermatitis / G. Yosipovitch, T. Berger, M.S. Fassett // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2020. – Vol. 34. – № 2. – P. 239–250.
206. Yosipovitch G. Clinical practice. Chronic pruritus / G. Yosipovitch, J.D. Bernhard // *The New England Journal of Medicine*. – 2013. – Vol. 368. – № 17. – P. 1625–1634.
207. Ziyab A.H. Epistasis between FLG and IL4R Genes on the Risk of Allergic Sensitization: Results from Two Population-Based Birth Cohort Studies / A.H. Ziyab, J. Hankinson, S. Ewart [et al.] // *Scientific Reports*. – 2018. – Vol. 8. – № 1. – P. 3221–3229.
208. Ziyab A.H. DNA methylation of the filaggrin gene adds to the risk of eczema associated with loss-of-function variants / A.H. Ziyab, W. Karmaus, J.W. Holloway [et al.] // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2013. – Vol. 27. – № 3. – P. e420–423.