

*На правах рукописи*

**ШАДЫЖЕВА ЛЕЙЛА ИДРИСОВНА**

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПРОФИЛАКТИКИ ОБОСТРЕНИЙ  
АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА  
С УЧЕТОМ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ  
БИОМАРКЕРОВ**

**14.01.10 – Кожные и венерические болезни**

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2018

Работа выполнена в ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор **Кошелева Ирина Владимировна**

**Научный консультант:**

доктор медицинских наук, профессор **Симонова Альбина Валерьевна**

**Официальные оппоненты:**

**Корсунская Ирина Марковна** - доктор медицинских наук, профессор, ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» Российской академии наук, лаборатория физико-химических и генетических проблем дерматологии, заведующая лабораторией;

**Тамразова Ольга Борисовна** - доктор медицинских наук, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Минобрнауки России, медицинский институт, факультет непрерывного медицинского образования, кафедра дерматовенерологии, профессор кафедры

**Ведущая организация:** ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава России

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 г. в \_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д. 208.040.10 на базе ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8 стр. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, ул. Зубовский бульвар, д. 37/1 и на сайте <http://sechenov.ru>

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

кандидат медицинских наук, доцент

**Чебышева Светлана Николаевна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы

Атопический дерматит (АД) - один из наиболее распространенных хронических рецидивирующих дерматозов, распространенность которого среди молодых людей остается стабильно высокой у лиц обоего пола (Кубанова А.А. и соавт., 2015, 2017). В основе патогенеза АД лежит взаимодействие генетических и экзогенных факторов (Cookson W.O., 2001; Kiyohara C. et al., 2008). Экзогенные ксенобиотики во многом определяют развитие и тяжесть течения АД (Бахаев Д.В., 2012; Вавилин В.А., 2003; Flohr C., 2014; Wang I.J., 2010). Отмечено, что жители мегаполисов чаще страдают аллергическими заболеваниями и причиной этого может быть значительное загрязнение воздуха промышленными выбросами, бытовой химией и т.п. (Ляпунова А.А., 2004; Hye-Jin Kim et al., 2018), в то же время, механизм этого явления до конца не раскрыт; имеется гипотеза развития АД как результата активации некоторыми компонентами ксенобиотиков, так называемых медиаторов токсичности - арил-гидрокарбоновых рецепторов (АГР, AhR), что приводит к гипериннервации эпидермиса и, следовательно, к повышенной чувствительности кожи и воспалению (Hidaka T. et al., 2017). Ключевыми ферментами второй фазы биотрансформации ксенобиотиков в организме человека являются глутатион S-трансферазы (GST) - мультигенное семейство ферментов, определяющее детоксикацию различных химических соединений путем конъюгации с глутатионом (Чурносков М.И. и соавт., 2011). Сегодня хорошо изучены полиморфные варианты генов *GST*, особенно делеционные полиморфизмы генов *GSTT0/0* и *GSTM0/0*, а также *GSTP* (Ile105Val A>G), обуславливающие функционально неактивные нулевые аллели. Считается, что у носителей данных полиморфных вариантов снижена экспрессия генов, следовательно, способность детоксикации химических веществ недостаточна (Peden D.B., 2000; Ляхович В.В. и соавт., 2000). Известно, что цитоплазматические GST классов M1 и T1 участвуют в механизмах возникновения и развития аллергических реакций, в том числе АД (Cho H.R. et al., 2011; Chung J. et

al., 2015; Nebert D.W. et al., 2004) и их полиморфная экспрессия может предопределять различные клинические варианты течения заболевания, что достаточно хорошо изучено у детей (Вавилин В.А. и соавт., 2003; Ляпунова А.А., 2004; Хрунин А.В. и соавт., 2008; Pavanello S. et al., 2000), однако у взрослых пациентов с АД исследовано мало.

Роль гена *GSTP1*, экспрессия которого превалирует в клетках кожи и плаценты в патогенезе АД исследована мало, хотя известно, что *GSTP1* играет важную роль в механизмах детоксикации (Gao H. et al., 2016).

Свой вклад в развитие АД вносит пищевая аллергия, которая для подростков и молодых людей с АД сохраняет значимость ведущего триггерного фактора обострений кожного процесса. Сопутствующая патология органов пищеварения и гепатобилиарной системы, выявляемая более чем у 70% подростков с АД (Булина О.В., 2004), в том числе дисбиоз кишечника, который отмечается у 80-95% пациентов с АД (Галлямова Ю.А., 2010), за счет повышения абсорбции пищевых аллергенов поддерживает хроническое течение заболевания и усугубляет кожные проявления (Волкова Е.Н., 2006; Дубровина Л.Н. и соавт., 2009; Полетаева А.А., 2014; Caubet J.-Ch. et al., 2013; Magen E., 2017). Однако, диагностика ранней субклинической или стертой патологии представляет определенную сложность, поэтому востребованы высокочувствительные и нетрудоемкие методы - такие как определение плазменных уровней естественных аутоантител (АТ) (класса IgG) к тканевым антигенам. Изменения уровней отдельных естественных аутоантител, которые в отсутствии патологических процессов находятся в определенном диапазоне нормальных концентраций, указывают на нарушения в соответствующих органах и тканях, которые могут предшествовать клинической манифестации патологии (Зайчик А.Ш. и соавт., 2013; Кошелева И.В., 2013; Полетаев А.Б., 2007,2011; Пальцев М.А. и соавт., 2010; Симонова А.В. и соавт., 2012; Чурилов Л.П., 2008; Cohen I.R., 2005; Harel M. et al., 2006; Shoenfeld Y., 2008).

Таким образом, для пролонгирования ремиссии после достижения клинического эффекта и для профилактики обострений кожного процесса, сформировалась необходимость уточнить роль врожденных дефектов механизмов клеточной детоксикации ксенобиотиков и субклинической патологии органов пищеварения в патогенезе АД. Полученные результаты генотипирования *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* и плазменных уровней естественных аутоантител к тканевым антигенам органов пищеварения позволят повысить эффективность профилактики обострений у пациентов с АД. Все вышеперечисленное определило цель и задачи планируемого исследования.

**Цель исследования:** оптимизировать профилактику обострений у пациентов с атопическим дерматитом на основе молекулярно-генетического тестирования и уровня плазменных аутоантител.

Для реализации цели были определены следующие **задачи**:

1. Изучить особенности фенотипа у пациентов с атопическим дерматитом в зависимости от генотипов генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*.
2. Определить плазменные уровни аутоантител к мембранным антигенам митохондрий гепатоцитов, клеток стенки желудка и клеток стенки тонкого кишечника у пациентов с атопическим дерматитом с различными генотипами *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*.
3. Оценить эффективность терапии с включением энтеросорбента с детоксикационным и пребиотическим действием у пациентов с атопическим дерматитом с учетом генотипирования *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*.
4. Определить возможности использования молекулярно-генетического тестирования и изучения плазменных уровней аутоантител для прогнозирования развития обострений атопического дерматита и персонализации их профилактики.

### Научная новизна

Впервые выявлена взаимосвязь фенотипических особенностей у пациентов с атопическим дерматитом подросткового и молодого возраста с генотипами *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1*.

Впервые показана роль нарушений уровней естественных аутоантител к мембранным антигенам органов пищеварения в патогенезе атопического дерматита. У пациентов с атопическим дерматитом определена корреляция степени изменений уровней аутоантител к мембранным антигенам митохондрий гепатоцитов, клеток стенки тонкого кишечника и клеток стенки желудка с наличием полиморфизма генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, кодирующих ферменты второй фазы биотрансформации ксенобиотиков.

Впервые показана зависимость стабильности ремиссии от наличия у пациентов с атопическим дерматитом определенных генотипов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, соблюдения персонализированных профилактических мер, направленных на ограничение контакта с конкретными экзогенными ксенобиотиками и включения в лечебные мероприятия энтеросорбирующего средства с детоксикационным и пребиотическим действием.

### Практическая значимость

Определено, что наличие у пациентов с атопическим дерматитом определенных генотипов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* указывает на целесообразность принятия персонализированных профилактических мер по ограничению контакта с конкретными экзогенными ксенобиотиками, а именно: с продуктами, содержащими бензопирен и стирен-7,8-оксид – для пациентов, имеющих генотип *GSTM0/0*; с продуктами, содержащими метилбромид, метилхлорид, этиленоксид - для пациентов, имеющих генотип *GSTT0/0*; с никотином и другими компонентами табачного дыма, а также с продуктом метаболизма парацетамола N-ацетил-p-бензохинон - для пациентов, имеющих генотип *GSTPVal/Val*.

Показана целесообразность включения в комплексное лечение atopического дерматита энтеросорбирующего средства с детоксикационным и пребиотическим действием.

Данные мероприятия способствуют наступлению более длительной и стойкой ремиссии.

Результаты диссертационного исследования используются в научной, учебной и лечебной деятельности кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России и в подростково-дерматологическом отделении института общей и профессиональной патологии ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора.

### **Положения, выносимые на защиту диссертации**

1. У пациентов с atopическим дерматитом подросткового и молодого возраста генотипы *GSTT0/0*, *GSTM0/0*, *GSTPVal/Val* и *GSTPIle/Val* в различных сочетаниях встречаются достоверно чаще ( $p < 0,0001$ ); их наличие ассоциировано с ранним дебютом заболевания ( $p < 0,0001$ ), с отягощенным семейным ( $p = 0,038$ ) и аллергологическим анамнезом ( $p < 0,0001$ ) и склонностью кожного процесса к частым обострениям ( $p < 0,0001$ ).

2. У пациентов с atopическим дерматитом подросткового и молодого возраста имеются признаки субклинической патологии органов пищеварения, выявляемые достоверными отклонениями от нормальных значений уровней естественных аутоантител к антигенам органов пищеварения, в наибольшей степени - изменениями уровней аутоантител к мембранным антигенам клеток стенки тонкого кишечника и митохондрий гепатоцитов у пациентов с сочетанием генотипов *GSTT0/0*, *GSTM0/0* и *GSTPVal/Val* ( $p < 0,01$ ).

3. Показано, что персонализированные профилактические меры по ограничению контакта с конкретными экзогенными ксенобиотиками и использование в составе лечения энтеросорбирующего средства с детоксикационным и пребиотическим действием у пациентов с atopическим

дерматитом с генотипами *GSTT0/0*, *GSTM0/0*, *GSTPVal/Val*, *GSTPIle/Val* и изменениями уровней естественных аутоантител к мембранным антигенам органов пищеварения способствуют наступлению более длительной и стойкой клинической ремиссии атопического дерматита ( $p < 0,05$ ).

### **Апробация работы**

Результаты исследования доложены на IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Превентивная медицина 2015. Инновационные методы диагностики, лечения и реабилитации пациентов с социально значимыми заболеваниями" (г. Москва, 19 мая 2015 г.) и V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Превентивная медицина 2016. Инновационные методы диагностики, лечения и реабилитации пациентов с заболеваниями, ассоциированными с возрастом" (г. Москва, 18 мая 2016 г.). Апробация диссертации состоялась на расширенном заседании кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, протокол № 45 от 11.04.2018.

### **Личный вклад автора в проведенное исследование**

Автор самостоятельно сформулировал цель и задачи исследования, а также разработал его дизайн и осуществил анализ современной научной литературы по теме исследования. Набор материала для клинико-лабораторного исследования: включение и обследование пациентов (сбор анамнеза, заполнение регистрационных карт, определение индекса SCORAD), лабораторные исследования (молекулярно-генетическое – методом ПЦР; иммунологическое – методом твердофазного ИФА), динамическое наблюдение за пациентами, заполнение цифровых баз данных, статистическая обработка, анализ и обобщение полученных результатов, написание статей и диссертации выполнены лично автором. Личный вклад автора является определяющим и заключается в его непосредственном участии во всех этапах проведения исследования и анализе его результатов.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертация соответствует шифру научной специальности: 14.01.10 – кожные и венерические болезни (кожные и венерические болезни – область медицинской науки, изучающая кожный покров и видимые слизистые оболочки в норме и патологии) и 1 и 3 пунктам формулы специальности.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 15 печатных работ, в том числе 5 в научных рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ из них 1 в издании, входящем в международную научную базу Scopus.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 152 страницах компьютерного текста, состоит из введения, литературного обзора, главы «Материалы и методы», описания результатов исследования, обсуждения полученных результатов исследования, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Содержит 238 источников литературы (81 отечественных и 157 зарубежных авторов), 15 таблиц, 6 рисунков, 6 фотографий.

### **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**Материалы исследования. Общая характеристика обследованных пациентов:** в исследование были включены 102 пациента подросткового и молодого возраста с АД легкого (49 человек) и среднетяжелого (53 человека) течения (*таблица 1*) без жалоб и анамнестических указаний на патологию органов пищеварения, которые были разделены на две группы, сопоставимые по половозрастному составу и клиническим проявлениям АД: основную группу (52 человека) и группу сравнения (50 человек). В исследование вошли 55 женщин (54%) и 47 мужчин (46%), в возрасте от 15 до 44 лет (*таблица 1*). Давность заболевания АД у пациентов в обеих группах варьировала от 15 до 44 лет.

Таблица 1 - Распределение обследованных пациентов с АД по полу, возрасту и степени тяжести процесса

Легкое течение АД, n=49				
Возраст, пол	15-18 (n=38)	19-25 (n=29)	26-35 (n=27)	36-44 (n=8)
Ж (n=28)	12	7	7	2
М (n=21)	8	5	5	3
Всего	20	12	12	5
Среднетяжелое течение АД, n=53				
Ж (n=27)	10	7	9	1
М (n=26)	8	10	6	2
Всего	18	17	15	3

У обследованных пациентов диагностированы эритематозно-сквамозная форма АД с очагами лихенификации – у 74 (72,5%) пациентов или без очагов лихенификации – у 16 (15,7%), а также лихеноидная форма АД – у 12 (11,7%) пациентов. У 23 (44,2%) пациентов в основной группе и у 20 (40%) пациентов в группе сравнения высыпания были скудными и ограничивались преимущественно областями кистей и лица, однако кожный процесс у данных пациентов демонстрировал тенденцию к частому рецидивированию - не реже 1 раза в 1-2 месяца. Частые обострения кожного процесса как основную жалобу отмечали 48 (92,3%) человек в основной группе и 42 человека (84%) в группе сравнения.

Лечебно-диагностические мероприятия проводились на базе дневного и круглосуточного стационаров отделения клинической дерматологии ФГБУ ГНЦДК Минздрава России и подростково-дерматологического отделения института общей и профессиональной патологии ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора.

#### **Клинические методы исследования**

Диагноз «атопический дерматит» базировался на данных анамнеза и дерматологического статуса. Использовались диагностические критерии J.M. Hanifin и G. Rajka (1980), дополненные Б.Т. Глухеньким и С.А. Грандо (1990).

Клиническую форму, стадию, распространенность кожного процесса и тяжесть течения заболевания определяли в соответствии с «Федеральными клиническими рекомендациями по ведению пациентов с атопическим дерматитом» (2015). Интенсивность зуда оценивалась по 10 - балльной субъективной шкале. Для оценки тяжести течения АД использовался индекс SCORAD (Scoring Atopic Dermatitis): 0 до 20 баллов - легкое течение, 20-40 баллов – среднетяжелое, 40 баллов и выше – тяжелое. Критерием клинической эффективности лечения являлось уменьшение показателей индекса SCORAD: на 80% и более от исходного показателя расценивалось как достижение клинической ремиссии; на 50-80 % - значительное улучшение; на 30-50% - улучшение; менее 30% - отсутствие эффекта. Контроль эффективности лечения проводился 1 раз в неделю, на 7-й, 14-й и 21-й день от начала лечения. Стабильность достигнутой ремиссии оценивалась по факту отсутствия или крайне незначительной выраженности клинических проявлений АД через 1, 3, 6, 9, 12 и 18 месяцев от начала лечения.

### **Лабораторные методы исследования**

В процессе обследования пациентам с АД проводились клинические анализы крови и мочи, биохимический анализ крови, определение общего уровня IgE. Проводилось *молекулярно-генетическое исследование*: определение полиморфизма генов *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1* методом ПЦР в основной группе и *иммунологическое исследование*: определение уровней естественных аутоантител к антигенам органов пищеварения: АТ к мембранному антигену клеток стенки желудка (АТ к GaM-02), АТ к мембранному антигену клеток стенки тонкого кишечника (АТ к ItM-07) и АТ к мембранному антигену митохондрий гепатоцитов (АТ к НММР) методом твердофазного ИФА - пациентам с АД в обеих группах до и после лечения.

### **Статистические методы**

Для количественных данных рассчитывались средние значения и ошибка средней ( $M \pm m$ ) и/или медиана и квартили. Для порядковых данных

рассчитывались медиана и квартили. Для обработки результатов исследования использовались параметрические и непараметрические методы статистической обработки данных, критерии Лиллиефорса, Шапиро-Уилка, t-критерий Стьюдента, Манна-Уитни, точный критерий Фишера, критерий Бреслоу, критерий Тарона-Уэра, метод Краскела-Уоллиса, метод Каплана-Майера. Определение связи между параметрами осуществлялось с использованием коэффициентов корреляции Пирсона и Спирмена. Различие показателей считалось достоверно значимым при величине  $p < 0,05$ . Вычисления проводились с использованием программно-аналитического комплекса SPSS.

### **Методы лечения**

Лечение проводилось в соответствии с «Федеральными клиническими рекомендациями по ведению пациентов с атопическим дерматитом» (Кубанова А.А. и соавт., 2015). Продолжительность курса лечения: 21 день.

В основной группе пациентам дополнительно назначалось энтеросорбирующее средство с детоксикационным и пребиотическим действием, содержащее лигнин гидролизный и лактулозу («Лактофильтрум» ПАО «АВВА РУС», г. Киров, РФ), по 1 таблетке 2 раза в день в течение 3-х недель. Пациентам, у которых были выявлены полиморфные варианты генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* разъяснялись и предписывались персонализированные профилактические мероприятия по строгому ограничению контакта с конкретными экзогенными ксенобиотиками.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

### **Результаты молекулярно-генетического исследования**

Генотипирование *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* проводилось у 52 пациентов с АД основной группы с легким ( $n=23$ ) и среднетяжелым ( $n=29$ ) течением - 28 женщин и 24 мужчин в возрасте от 15 до 44 лет. По результатам генотипирования все обследованные пациенты были разделены на подгруппы с учетом имеющихся полиморфизмов в генах *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*:

1 подгруппа - «сочетание трех полиморфных вариантов» - включала 10 пациентов (4 - легкое течение; 6 – среднетяжелое течение), имеющих два полиморфизма *GSTT0/0*, *GSTM0/0*, а также *GSTPVal/Val* или *GSTT0/0*, *GSTM0/0* и *GSTPile/Val* – т.е., полиморфизмы, снижающие экспрессию во всех трех генах *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1*;

2 подгруппа - «один полиморфный вариант» - включала 24 пациента (11 – легкое течение; 13 – среднетяжелое течение) с наборами полиморфизмов: *GSTT0/0* или *GSTM0/0* или *GSTPVal/Val* – т.е., имеющих один нулевой генотип по *GSTT0/0* или *GSTM0/0*, или *GSTPVal/Val* в гомозиготном состоянии. Каждый из генотипов в таком состоянии снижает экспрессию гена, но в меньшей степени, чем их сочетание;

3 подгруппа - «полиморфная замена в гетерозиготном состоянии» - 12 пациентов (7 – легкое течение; 5 – среднетяжелое течение) с полиморфизмом *GSTPile/Val*, при *GSTT1/1* и *GSTM1/1* - без нулевых полиморфизмов *GSTT1/1* и *GSTM1/1*, замена в *GSTPile/Val* у них определялась только в гетерозиготном состоянии; при таких полиморфных вариантах функция *GSTM1* и *GSTT1* не изменяется, а экспрессия *GSTP* снижается незначительно и частично сохраняется за счет второго аллеля без замены;

4 подгруппа - «без полиморфных вариантов» - 6 пациентов (1 – легкое течение; 5 – среднетяжелое течение) без полиморфных вариантов генов *GSTT1/1*, *GSTM1/1*, *GSTPile/ile*.

Анализ фенотипических особенностей в зависимости от генотипов *GSTT1*, *GSTM1* и *GSTP1* представлен в *таблице 2*.

Таблица 2 - Результаты анализа фенотипических особенностей у пациентов с АД в зависимости от генотипов *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*

Полиморфные варианты генов <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> , <i>GSTP1</i> у пациентов с АД	<i>GSTT0/0</i> , <i>GSTM0/0</i> и <i>GSTPVal/Val</i> или <i>GSTPile/Val</i>	<i>GSTT0/0</i> или <i>GSTM0/0</i> или <i>GSTPVal/Val</i>	<i>GSTPile/Val</i>	без полиморфизма
Пациенты с АД, <b>n=52</b>	<b>n=10</b>	<b>n=24</b>	<b>n=12</b>	<b>n=6</b>
*P=0,0031 (OR = 1,9; 95% CI 0,8-4,5)	34*		18*	
**P<0,0001 (OR = 7,5; 95% CI 2,5-25,3)	46**			6**
<b>Фенотипические особенности</b>				
Пациенты с отягощенным семейным анамнезом, <b>n=17</b>	3	5	4	5
*P=1,00 (OR=0,89; 95% CI 0,19-4,16)	8*		9*	
**P= 0,038, (OR=1,82; 95% CI 0,4-9,4)	12**			5**
Пациенты с отягощенным аллергологическим анамнезом, <b>n=28</b>	5	7	10	6
*P=0,42 (OR=0,75; 95% CI 0,23-2,4)	12*		16*	
**P<0,0001 (OR 3,58; 95% CI 1,002-14,27)	22**			6**
Пациенты с ранним дебютом заболевания, <b>n=44</b>	10	17	13	4
*P=0,055 (OR=1,58; 95% CI 0,63-4,04)	27*		17*	
**P<0,0001 (OR=9,73; 95% CI 2,8-43,8)	40**			4**
Пациенты с частыми обострениями АД, <b>n=48</b>	10	21	12	5
*P=0,04 (OR=1,8; 95% CI 1,008-3,384)	31*		17*	
** P<0,0001 (OR=8,6; 95% CI 3,61-24,59)	43**			5**

## Результаты иммунологического исследования

Исходные значения уровней плазменных аутоантител к антигенам органов пищеварения 102-х пациентов с атопическим дерматитом в основной группе и в группе сравнения в среднем находились в пределах нормальных значений. Однако, анализ результатов исследования отдельно у пациентов с АД подросткового возраста (22 человека в основной группе и 16 - в группе сравнения) показал достоверные ( $p < 0,05$ ) изменения уровней естественных аутоантител к антигенам одного или нескольких органов пищеварения (таблица 3).

Таблица 3 - Исходные уровни АТ у пациентов с АД подросткового возраста

АТ к антигенам органов пищеварения	ОСНОВНАЯ ГРУППА, n=22, (M±m)		ГРУППА СРАВНЕНИЯ, n=16, (M±m)	
	с легким АД, n=14	со среднетяж. АД, n=8	с легким АД, n=6	со среднетяж. АД, n=10
АТ к НММР	-24,5 ± 12,1	-36,7 ± 16,6*	-32,5 ± 12,6*	-34,0 ± 12,2*
АТ к ItM-07	-35,6 ± 12,8*	-42,8 ± 18,4*	-30,2 ± 10,2*	-40,2 ± 18,4*
АТ к GaM-02	-28,7 ± 15,6	-22,2 ± 10,6	-24,7 ± 13,4	14,7 ± 14,0

(норма АТ: от -20 до +10 отн. ед.); (\* $p < 0,05$ ).

Также, при анализе значений уровней аутоантител к антигенам органов пищеварения всех пациентов основной группы, наиболее значительные отклонения уровней аутоантител к мембранному антигену клеток стенки тонкого кишечника и митохондрий гепатоцитов были выявлены у 10 пациентов с сочетанием трех полиморфных вариантов генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*. У 24 пациентов с выявленным одним полиморфизмом в генах *GST* в гомозиготном состоянии обнаружались аналогичные, но менее выраженные, изменения уровней аутоантител (таблица 4). У 12 пациентов с полиморфной заменой в гетерозиготном состоянии *GSTP1* уровни аутоантител ко всем исследованным антигенам оставались в пределах нормальных показателей (таблица 4).

Таблица 4 - Исходные уровни АТ к антигенам органов пищеварения у пациентов с АД с различными генотипами *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1*

Подгруппы: пациенты с АД, n=52	<i>GSTT0/0</i> , <i>GSTM0/0</i> и <i>GSTPVal/Val</i> или <i>GSTPile/Val</i> , n=10	<i>GSTT0/0</i> или <i>GSTM0/0</i> или <i>GSTPVal/Val</i> , n=24	<i>GSTPile/Val</i> , n=12	без полиморфиз- ма, n=6
АТ к НММР	-31,67±5,66**	-25,88±5,64*	-5,15±6,18	-6,17±7,16
АТ к ItM-07	-23,67±3,43**	-21,88±1,30*	-2,63±6,48	-22,81±2,34*
АТ к GaM-02	-9,33±5,89	-4,25±4,21	-1,55±6,05	-21,5 ± 1,45*

(норма АТ: от -20 до +10 отн. ед.); (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ).

У пациентов без полиморфизма генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* были зафиксированы изменения уровней аутоантител к мембранному антигену клеток стенки желудка и клеток стенки тонкого кишечника (таблица 4). Выявленные изменения уровней аутоантител, согласно современным представлениям, свидетельствуют о вероятном наличии в органах пищеварения субклинических нарушений метаболического характера.

#### **Оценка эффективности терапии АД с включением энтеросорбента с детоксикационным и пребиотическим действием**

После проведения лечения отмечено, что эффективность стандартной терапии с присоединением энтеросорбирующего средства с детоксикационным и пребиотическим действием существенно не отличалась у пациентов с АД с различными полиморфными вариантами генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, однако для пациентов без полиморфизма генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* или с полиморфизмом *GSTPile/Val* (18 человек) был характерен более быстрый регресс клинических симптомов в конце 2-ой недели (таблица 5;  $p = 0,002$ ).

К окончанию курса лечения (конец 3-й недели) положительный клинический эффект был достигнут у всех пациентов в основной группе: у 29 человек было констатировано клиническое излечение, а у 19 - значительное улучшение; среди 4-х пациентов с наименее выраженным эффектом от проведенного лечения (улучшение) у 3-х было выявлено наличие полиморфизмов, снижающих экспрессию во всех трех генах *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, а у 1-го - один

нулевой генотип по *GSTT0/0* или *GSTM0/0*, или *GSTPVal/Val* в гомозиготном состоянии (таблица 5).

Таблица 5 - Результаты лечения у пациентов с АД с различными генотипами *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*

Генотипы <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> , <i>GSTP1</i> у пациентов с АД, (n=52)	Скорость наступления клинического излечения, значительного улучшения, улучшения, n		
	1- я нед.	2- я нед.	3- я нед.
<i>GSTT0/0</i> , <i>GSTM0/0</i> и <i>GSTPVal/Val</i> или <i>GSTPile/Val</i> , (n=10)	1	5	4
<i>GSTT0/0</i> или <i>GSTM0/0</i> или <i>GSTPVal/Val</i> , (n=24)	4	7	13
Итого: n = 34	5 (итого 5)*	12 (итого 17)**	17 (итого 34)***
<i>GSTPile/Val</i> , (n=12)	5	6	1
Без полиморфизма, (n=6)	5	1	-
Итого: n =18	10 (итого 10)*	7 (итого 17)**	1 (итого 18)***
P	<b>*P = 0,006</b>	<b>**P = 0,002</b>	<b>***P = 1,00</b>

Через 6 месяцев после окончания лечения в основной группе сохранялся достигнутый клинический эффект, независимо от наличия полиморфизма генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* у 37 (71,2%) пациентов, через 12 месяцев – у 23 (44,2%) пациентов (таблица 6; таблица 10); в группе сравнения, соответственно 19 (38,0%) и 3 (6,0%) пациента (таблица 10).

После проведенной терапии в целом у пациентов в обеих группах все значения уровней исследованных аутоантител изменялись в пределах диапазона нормальных значений, достоверных отличий не отмечено. У подростков с АД нарушенные уровни нормализовывались, однако, в группе сравнения динамика была менее выраженной; изначально измененные уровни аутоантител к мембранному антигену клеток стенки тонкого кишечника достоверно не изменялись (таблица 7).

Таблица 6 - Длительность ремиссии у пациентов с АД с различными генотипами *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*

Генотипы <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> , <i>GSTP1</i> у пациентов с АД, (n=52)	Стабильность клинической ремиссии, n					
	1 мес.	3 мес.	6 мес.	9 мес.	12 мес.	18 мес.
<i>GSTT0/0</i> , <i>GSTM0/0</i> и <i>GSTPVal/Val</i> или <i>GSTPile/Val</i> , (n=10)	9	7	5	1	1	-
<i>GSTT0/0</i> или <i>GSTM0/0</i> или <i>GSTPVal/Val</i> , (n=24)	22	18	17	11	10	-
Итого: n = 34	31*	25**	22***	12****	11*****	0*****
<i>GSTPile/Val</i> , (n=12)	11	11	10	8	7	1
Без полиморфизма, (n=6)	6	6	5	5	5	1
Итого: n =18	17*	17**	15***	13****	12*****	2*****
P	*P= 0,677	**P= 0,136	***P= 0,28	****P =0,039	*****P =0,037	*****P =0,692

Таблица 7 - Динамика уровней АТ у пациентов с АД подросткового возраста

АТ к антигенам органов пищеварения	АТ к HMMP (M±m)	АТ к ItM-07 (M±m)	АТ к GaM-02 (M±m)
ОСНОВНАЯ ГРУППА. Легкое течение АД, n =14			
До лечения	- 24,5 ± 12,1	- 35,6 ± 12,8	- 28,7 ± 15,6
После лечения	- 5,8 ± 11,4**	3,0 ± 2,6*	- 18,0 ± 9,4**
ОСНОВНАЯ ГРУППА. Среднетяжелое течение АД, n = 8			
До лечения	- 36,7 ± 16,6	- 42,8 ± 18,4	- 22,2 ± 10,6
После лечения	- 2,7 ± 1,9*	- 26,0 ± 17,4*	- 16,1 ± 11,0
ГРУППА СРАВНЕНИЯ. Легкое течение АД, n =6			
До лечения	- 32,5 ± 12,6	- 30,2 ± 10,2	- 24,7 ± 13,4
После лечения	- 25,0 ± 9,4*	- 27,3 ± 14,5	- 26,2 ± 11,2
ГРУППА СРАВНЕНИЯ. Среднетяжелое течение АД, n = 10			
До лечения	- 34,0 ± 12,2	- 40,2 ± 18,4	14,7 ± 14,0
После лечения	- 23,1 ± 9,9*	- 38,0 ± 14,8	16,6 ± 9,4

(норма АТ: от -20 до + 10 отн. ед.); (\*p<0,05; \*\*p<0,01).

### Динамика клинических проявлений атопического дерматита.

После проведения курса лечения клиническое излечение или значительное улучшение констатировано у 48 (92,3%) пациентов в основной группе и у 44 (88,0%) человек в группе сравнения (таблица 8).

Таблица 8 - Результаты лечения у обследованных пациентов с АД

Результат лечения	Клиническое излечение, n, (%)	Значительное улучшение, n, (%)	Улучшение, n, (%)	Незначительное улучшение или отсутствие эффекта, n, (%)
ОСНОВНАЯ группа, n=52	29 (55,77%)	19 (36,5%)	4 (7,69%)	0 (0%)
Группа СРАВНЕНИЯ, n=50	24 (48%)	20 (40%)	5 (10%)	1 (2%)
<i>P</i>	<i>P</i> >0,05	<i>P</i> >0,05	<i>P</i> >0,05	<i>P</i> >0,05

У пациентов в основной группе индекс SCORAD уменьшился по ( $M \pm m$ )  $2 \pm 0,145$ ; по медиане до [2] баллов, что сравнимо с результатами лечения в группе сравнения - по ( $M \pm m$ )  $4 \pm 0,48$ ; по медиане [4] балла (таблица 9). Также, отмечен быстрый регресс интенсивности зуда (таблица 9).

Таблица 9 - Динамика индекса SCORAD и интенсивности зуда у обследованных пациентов с АД ( $M \pm m$ ), (медиана)

Группы наблюдения	Значения SCORAD (в баллах)		Интенсивность зуда (в баллах)	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
ОСНОВНАЯ группа, n=52	$26 \pm 1,42$ [26]*	$2 \pm 0,145$ [2]*	$4 \pm 0,13$ [4]***	0***
группа СРАВНЕНИЯ, n=50	$28 \pm 1,5$ [28]**	$4 \pm 0,48$ [4]**	$4 \pm 0,16$ [4]****	0****
<i>P</i>	* <i>p</i> <0,05; ** <i>p</i> <0,05		*** <i>p</i> <0,05; **** <i>p</i> <0,05	

Клинический эффект был достигнут у всех пациентов с АД в обеих группах. При этом стабильная достигнутая клиническая ремиссия в основной группе отмечена достоверно у большего количества пациентов ( $p < 0,05$ ) (таблица 10).

Таблица 10 – Длительность ремиссии у пациентов с АД после лечения

Группы наблюдения	1 мес.	3 мес.	6 мес.	9 мес.	12 мес.	18 мес.
ОСНОВНАЯ группа, n=52	n=48 (92,3%)	n=42 (80,8%,)	n=37 (71,2%)	n=25 (48,1%)	n=23 (44,2%)	n=2 (3,8%)
группа СРАВНЕНИЯ, n=50	n=41 (82,0%)	n=37 (74,0%)	n=19 (38,0%)	n=5 (10,0%)	n=3 (6,0%)	n=0 (0%)
<i>P</i>	$P > 0,05$	$P > 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P > 0,05$

## ВЫВОДЫ

1. Выявлены фенотипические особенности у пациентов с атопическим дерматитом в зависимости от генотипов *GSTT1*, *GSTM1* и *GSTP1*; показано, что генотипы *GSTT0/0*, *GSTM0/0* и *GSTPVal/Val* или их сочетания достоверно чаще встречаются у пациентов с ранним дебютом заболевания ( $p < 0,0001$ ), с отягощенным семейным анамнезом ( $p = 0,038$ ), с отягощенным аллергологическим анамнезом ( $p < 0,0001$ ) и склонностью кожного процесса к частым обострениям ( $p < 0,0001$ ). Установлено, что у 31 человека из 52 обследованных пациентов (59,6%) сочетания генотипов *GSTT0/0+GSTM0/0* и *GSTPile/Val* или *GSTPVal/Val* достоверно чаще являются прогностическим фактором склонности кожного процесса к частым обострениям ( $p = 0,04$ ).

2. У пациентов с атопическим дерматитом подросткового и молодого возраста в зависимости от генотипов *GSTT1*, *GSTM1* и *GSTP1* выявлены изменения плазменных уровней аутоантител к мембранным антигенам органов пищеварения, свидетельствующие о вероятном наличии субклинических нарушений метаболического характера: у пациентов с сочетанием трех полиморфных вариантов генов *GST* к мембранным антигенам митохондрий

гепатоцитов и клеток стенки тонкого кишечника:  $-31,67 \pm 5,66$  ( $p < 0,01$ ) и  $-23,67 \pm 3,43$  ( $p < 0,01$ ); у пациентов с одним полиморфным вариантом в гомозиготном состоянии соответственно:  $-25,88 \pm 5,64$  ( $p < 0,05$ ) и  $-21,88 \pm 1,30$  ( $p < 0,05$ ); у пациентов без полиморфизма генов *GST* к мембранным антигенам клеток стенки желудка и тонкого кишечника:  $-21,5 \pm 1,45$  ( $p < 0,05$ ) и  $-22,81 \pm 2,34$  ( $p < 0,05$ ).

3. Показано, что эффективность терапии с включением энтеросорбирующего средства с детоксикационным и пребиотическим действием существенно не отличается в зависимости от генотипов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, однако среди пациентов, имеющих сочетание генотипов *GSTT0/0+GSTM0/0* и *GSTP1Ile/Val* или *GSTP1Val/Val* клинический эффект лечения к концу 2-й недели достигнут только у 50,0% - по сравнению с 94,4% пациентов без полиморфных вариантов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* ( $p = 0,002$ ).

4. Обнаружение у пациентов с атопическим дерматитом нулевых и неактивных генотипов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, а также достоверных отклонений от нормальных значений уровней аутоантител к мембранным антигенам митохондрий гепатоцитов, клеток стенки тонкого кишечника и клеток стенки желудка указывают на целесообразность назначения активных персонализированных профилактических мероприятий по ограничению контакта с конкретными экзогенными ксенобиотиками и включения в комплексное лечение энтеросорбирующего средства с детоксикационным и пребиотическим действием. Данные мероприятия не повышают эффективность лечения ( $p > 0,05$ ), но способствуют наступлению более длительной и стойкой клинической ремиссии ( $p < 0,05$ ).

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам подросткового и молодого возраста с атопическим дерматитом легкого и среднетяжелого течения, а также детям, имеющим отягощенный семейный анамнез по атопическому дерматиту, рекомендуется проводить молекулярно-генетическое исследование генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*.

Обнаружение нулевых и неактивных генотипов у пациентов указывают на необходимость принятия персонализированных и более активных, чем общепринятые, профилактических мер по ограничению контакта с конкретными экзогенными ксенобиотиками для продления клинической ремиссии и профилактики развития АД. При выявлении у пациентов нулевого генотипа *GSTM0/0* следует ограничить контакт с загрязненным воздухом мегаполиса, не употреблять в пищу жареные и копченые блюда, в повседневном меню отдавать предпочтение так называемым органическим продуктам, выращенным без применения химических удобрений. При выявлении у пациентов генотипа *GSTT0/0* следует избегать контакта с моющими средствами, инсектицидами, лакокрасочными изделиями, а также исключить употребление в пищу сублимированных продуктов. При обнаружении у пациентов полиморфизма *GSTPVal/Val* следует рекомендовать отказ от приема лекарственных средств, содержащих парацетамол, а также исключить табакокурение, в том числе, пассивное.

2. Пациентам подросткового и молодого возраста с атопическим дерматитом легкого и среднетяжелого течения рекомендуется проводить диагностику нарушений уровней естественных аутоантител к антигенам органов пищеварения, свидетельствующих о возможном наличии ранних субклинических нарушений функций органов пищеварения метаболического характера, что может служить дополнительным фактором прогрессирования кожного процесса. Своевременное включение в комплексное лечение атопического дерматита энтеросорбирующего средства с детоксикационным и пребиотическим действием способствует пролонгации клинической ремиссии.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. **Шадыжева Л.И.** Изучение новых звеньев патогенеза атопического дерматита // Материалы II Всероссийской XIII Межрегиональной с международным участием научной сессии молодых ученых и студентов. - Нижний Новгород, 2015. - №1. - С. 197-198.

2. **Шадыжева Л.И.** Современные представления о молекулярно-генетических основах атопического дерматита // Материалы VI конференции молодых ученых РМАПО с международным участием. - Москва, 2015. - С. 350-354
3. Кошелева И.В., **Шадыжева Л.И.**, Симонова А.В. Новые звенья патогенеза аллергических заболеваний. Атопический дерматит: современные подходы к выбору тактики лечения // Материалы IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Превентивная медицина 2015. Инновационные методы диагностики, лечения и реабилитации пациентов с социально значимыми заболеваниями» - Москва, 2015. – С. 65-68
4. Кошелева И.В., Симонова А.В., **Шадыжева Л.И.** Основные принципы персонализированного подхода к лечению атопического дерматита // Материалы XV Всероссийского съезда дерматовенерологов и косметологов. – Москва, 2015. – С. 12-13
5. **Шадыжева Л.И.** Стратегия лечения и профилактики атопического дерматита на основе концепции «3П» медицины // Материалы VII Международной конференции. Современные аспекты реабилитации в медицине. – Ереван, 2015. – С. 297-300
6. Кошелева И.В., **Шадыжева Л.И.** К вопросу о роли патологии ЖКТ в патогенезе атопического дерматита // Вестник последипломного медицинского образования. – Москва 2015. - № 4. – С. 56
7. **Шадыжева Л.И.**, Симонова А.В. Определение состояния физиологического аутоиммунитета – инновационный способ ранней диагностики патологии желудочно-кишечного тракта у больных атопическим дерматитом // Сборник тезисов XXXIII юбилейной научно-практической конференции с международным участием «Рахмановские чтения: от дерматологии А.И. Пospelова до наших дней – 170 лет». – Москва, 2016. – С. 125-127
8. **Шадыжева Л.И.**, Кошелева И.В. и соавт. Новые возможности диагностики и лечения патологии желудочно-кишечного тракта у больных с атопическим дерматитом // **Фарматека. Специальный выпуск.** – 2016. – С. 22-26

9. **Шадыжева Л.И.**, Горшкова Ю.В. Новые подходы к профилактике обострений атопического дерматита у взрослых // Материалы VII конференции молодых ученых РМАПО с международным участием. – Москва, 2016. – С. 202-204.
10. Симонова А.В., Кошелева И.В., **Шадыжева Л.И.** Оптимизация лечения и профилактики обострений атопического дерматита с учетом основных патогенетических факторов (обзор) // **Лечащий врач.** – 2016. - №5. – С. 66-69
11. Кошелева И.В., Немцова М.В., Гладских Л.В., **Шадыжева Л.И.** Совершенствование лечения и профилактики атопического дерматита с учетом полиморфизма генов глутатион-S-трансфераз // Тезисы научных работ XVI Всероссийского съезда дерматовенерологов и косметологов. – Москва, 2016. – С.16
12. Кошелева И.В., **Шадыжева Л.И.** и соавт. Исследование полиморфизма генов цитокинов и системы детоксикации ксенобиотиков – основа персонализированного патогенетического подхода к лечению и профилактики атопического дерматита (обзор) // **Лечащий врач.** – 2016. - № 11. – С. 25-29
13. Кубанов А.А., Кошелева И.В., Немцова М.В., **Шадыжева Л.И.** Показатели аутоиммунитета у больных атопическим дерматитом с различными полиморфизмами в генах глутатион – S – трансфераз // **Лечащий врач.** – 2017. - № 5. – С. 50-53
14. Кубанов А.А., Кошелева И.В., Немцова М.В., **Шадыжева Л.И.** Полиморфизм генов глутатион –S– трансфераз и иммунные нарушения у больных атопическим дерматитом // Тезисы научных работ XVII Всероссийского съезда дерматовенерологов и косметологов. – Москва, 2017. – С. 23
15. Кошелева И.В., Биткина О.А., Кливитская Н.А., **Шадыжева Л.И.** Возможности реабилитации больных атопическим дерматитом и профилактики обострений нелекарственными методами (обзор) // **Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры.** – 2017. - № 4. – С. 35-42

### **Список использованных сокращений**

АД - атопический дерматит

АТ - аутоантитела

НММР – мембранный антиген митохондрий гепатоцитов

GaM-02 – мембранный антиген клеток стенки желудка

ItM-07 – мембранный антиген клеток стенки тонкого кишечника

ИФА - иммуноферментный анализ

ПЦР - полимеразная цепная реакция

УФ - ультрафиолетовый свет

GST - глутатион-S-трансферазы

Val - валин

Ис - изолейцин

SCORAD index - оценочная шкала Scoring Atopic Dermatitis