

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ
ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«РОССИЙСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ НЕПРЕРЫВНОГО
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

КРАВЧЕНКО Анжела Сергеевна

**КЛИНИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РОЗАЦЕА
ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ КЛЕЩЕЙ РОДА DEMODEX**

14.01.10 - кожные и венерические болезни

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель: доктор медицинских наук,
доцент Галлямова Юлия Альбертовна

Москва, 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
1.1. Общие сведения о демодекозе	16
1.2. Строение и жизнедеятельность клещей рода <i>Demodex</i>	18
1.3. Жизненный цикл клещей рода <i>Demodex</i>	20
1.4. Эпидемиология	22
1.5. Патогенез демодекоза	23
1.6. Клиническая картина розацеа при наличии клещей рода <i>Demodex</i>	32
1.7. Диагностические методы обнаружения клещей рода <i>Demodex</i>	35
1.8. Антипаразитарная терапия у больных розацеа при наличии клещей рода <i>Demodex</i>	42
1.9. Заключение	47
ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	49
2.1. Общая характеристика респондентов, вошедших в исследование	49
2.2. Методы исследования	50
2.3. Методика исследования	52
2.3.1. Методика определения клещей рода <i>Demodex</i> с помощью световой микроскопии соскобов	53
2.3.2. Методика исследования кожи с помощью с помощью конфокальной лазерной сканирующей <i>in vivo</i> микроскопии	54
2.3.3. Методика определения морфофункциональных показателей кожи методом дерматоскопии на цифровой видеокамере «Aramo SG»	56
2.3.4. Лечебные схемы	59
2.3.5. Описание лекарственных препаратов, использованных в исследовании	60

ГЛАВА III. КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА, ТЕЧЕНИЕ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОЖИ БОЛЬНЫХ И ЗДОРОВЫХ ЛИЦ	63
3.1. Общая характеристика респондентов, вошедших в исследование	63
3.2. Клиническая картина больных розацеа	64
3.3. Определение видовой принадлежности клещей рода Demodex	68
3.4. Влияние видовой принадлежности клещей рода Demodex на клиническую картину и течение розацеа	69
3.5. Морфофункциональные характеристики кожи	71
ГЛАВА IV. ЛАБОРАТОРНАЯ И ИНСТРУМЕНТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА НАЛИЧИЯ КЛЕЩЕЙ РОДА DEMODEX	75
4.1. Сравнительный анализ методов диагностики наличия клещей рода Demodex	75
4.2. Совершенствование лабораторной диагностики на наличие клещей рода Demodex	79
4.3. Конфокальная лазерная сканирующая in vivo микроскопия в диагностике обнаружения клещей рода Demodex	82
ГЛАВА V. ПРОТИВОПАРАЗИТАРНАЯ ТЕРАПИЯ У БОЛЬНЫХ РОЗАЦЕА	87
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	98
ВЫВОДЫ	102
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	104
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	106
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	108

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время, несмотря на актуальность вопроса, в современной литературе открытым остается вопрос о роли клещей рода *Demodex* в развитии клинической картины розацеа.

По мнению некоторых авторов, клещи рода *Demodex* являются представителями условно-патогенной микрофлоры кожи лица наряду с *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* и грибами рода *Malassezia* (Мокроносова М.А. и соавт., 2012). Данное мнение поддерживается тем, что в 55-100% случаев клещи выявляются, как у больных с дерматозами лица, так и у лиц, не имеющих клинических проявлений дерматологических заболеваний (Адаскевич В.П., 2000; Сющ Н.И., 2003; Елистратова Л.Л., 2013). Однако, существуют научные работы доказывающие, что клещи рода *Demodex* способны к патогенному паразитированию и являются наиболее часто выявляемыми микробными агентами при розацеа (Потекаев Н.Н., 2000; Вислобоков А.В., 2005; Хамаганова И.В. и соавт., 2005; Лалаева А.М. и соавт., 2005). В тоже время, обращает на себя внимание отсутствие диагноза «Демодекоз» в Международной классификации болезней X пересмотра, что указывает на тот факт, что клещи рода *Demodex* выступают, скорее, в роли агента, осложняющего течение розацеа (Давыдова И.Б. и соавт., 2008). В настоящее время выделено два вида клещей рода *Demodex*, паразитирующих на коже человека: *Demodex folliculorum longus* и *Demodex folliculorum brevis* (Акбулатова Л.Х., 1968). Данные виды имеют сходные морфофункциональные характеристики, но отличаются по преимущественному месту локализации. В современной литературе не представлены обоснованные научные исследования, указывающие на роль видовой принадлежности возбудителя в формировании клинической картины розацеа.

Существующие предположения не являются в полной мере доказанными. Имеющиеся данные о паразитировании клещей рода *Demodex* у больных розацеа противоречивы и, зачастую, взаимно исключают друг друга. Следовательно, выявление особенностей течения розацеа при наличии клещей рода *Demodex* представляет с одной стороны большой теоретический интерес, с другой – имеет практическую значимость, определяя новые направления терапии этого заболевания.

Важным разделом клинической медицины является вопрос о совершенствовании и внедрении новых диагностических методов исследований. Имеющиеся методы диагностики наличия клещей рода *Demodex* не удовлетворяют требованиям современной медицины, не гарантируют абсолютной достоверности результатов анализов, нередко травматичны. Одним из инструментальных методов диагностики в дерматологии является конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия (Митрошина Е.В., 2012; Sattler E.C. et al., 2012). Это инновационный метод, достоинства которого - неинвазивность и высокая информативность, однако, до настоящего времени, в Российской Федерации данный метод не применялся для выявления клещей рода *Demodex*. Применение конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии может стать альтернативным направлением в современной диагностике клещей рода *Demodex*.

Таким образом, с целью повышения качества диагностики и терапии возникает необходимость проведения научного исследования с анализом клинической картины, сравнением методов диагностики и лечения больных розацеа, ассоциированного с клещами рода *Demodex*.

Степень разработанности проблемы

Вопреки известному факту, что клещи рода *Demodex* являются условно-патогенными паразитами и ни один из авторов со времен обнаружения клещей рода *Demodex* в 19 веке не утверждает, что данный паразит является патогенным для человека. Вопрос о носительстве клеща, до сих пор, остается открытым (Кошевенко Ю.Н., 2008).

В 1968 году Акбулатовой Л.Х. в работе «Морфология двух форм клеща демодекс фолликулорум гоминис и его роль в заболеваниях кожи человека» впервые было выделено и описано две формы клещей рода *Demodex* - *Demodex folliculorum longus* и *Demodex folliculorum brevis*. Автором подробно были изучены и описаны особенности строения двух видов клещей, обитающих на коже человека (Акбулатова Л.Х., 1968).

Акилов О.Е. (2002) в работе «Клиническая оценка взаимосвязи нарушений иммунной системы и особенностей HLA-гистотипа у больных демодекозом кожи» поставил целью изучить особенности клинического течения дерматоза, роль иммунологических и иммуногенетических факторов при клещевой инвазии, а также оптимизировать методы диагностики и лечения больных демодекозом. Результатами исследования стала разработка критериев отличия первичного и вторичного демодекоза кожи человека и выявление нарушения клеточного звена иммунитета, выражающееся в снижении уровня $CD8^+$ и $CD16^+$ клеток, что может являться предрасполагающим фактором к развитию заболевания. Автором разработана методика качественного и количественного определения *Demodex spp.* (изобретение «Акарограмма»), предложен новый способ лечения демодекоза с использованием пилокарпинового геля с прозеринном (Акилов О.Е., 2002).

Розко Т.Е. в работе «Клинические особенности, диагностика и лечение блефароконъюнктивитов демодекозной этиологии» в 2003 году предложила новую схему лечения демодекозного поражения глаз с использованием

электрофореза, позволяющего вводить лекарственное вещество непосредственно в края век. Автор выявила, что демодекозное поражение глаз развивается на фоне вторичного иммунодефицитного состояния, обусловленного течением основного заболевания организма, имеющего хронический характер (Розко Т.Е., 2003).

В диссертационной работе «Клинико-лабораторная диагностика и лечение демодекозного блефароконъюнктивита» 2003 года было предложено расширить арсенал средств терапии демодекозного блефароконъюнктивита путем применения спиртовых настоек полыни горькой и прополиса на основании их высокой терапевтической эффективности, разработан способ оптимального поэтапного их применения, сокращающий сроки лечения и частоту рецидивов заболевания, разработаны лабораторно-диагностические критерии клещевой инвазии (Гумерова Е.И., 2003).

Иконникова Н.А. в работе 2005 года «Комплексная патогенетическая терапия розацеа с учетом данных микробиологического исследования и ультраструктуры кожи» провела определение микробного биоценоза и микробиологического синергизма на фоне показателей *Helicobacter pylori* и разработала методику комплексной терапии различных форм розацеа. В диссертации было обосновано применение инфракрасного лазера в комплексной терапии розацеа в сочетании с патологией ЖКТ, ассоциированной с *Helicobacter pylori* (Иконникова Н.А., 2005).

Кусая Н.В. в работе 2009 года «Особенности иммунного и цитокинового статуса у пациентов с демодекозом кожи» предложила оптимизировать программы этиопатогенетической и иммуномодулирующей терапии на основании комплексного мониторинга цитокинов, а также включить в состав комплексной терапии биологически активную добавку «Гинростим-СТ» (Кусая Н.В., 2009).

Елистратова Л.Л. в диссертационной работе 2013 года «Клинико-микробиологические особенности акнеподобных дерматозов, осложненных демодекозом» установила частоту встречаемости клещей рода *Demodex* у

больных розацеа (88,7%) и периоральным дерматитом (58,8%). Выявила, что наиболее частыми клиническими формами розацеа, осложненного демодекозом являлась пустулезная (43,7%) и папулезная (38,0%), периорального дерматита, осложненного демодекозом - средней тяжести (50,0%) и тяжелое (32,7%) течение, при этом в клинической картине было выявлено увеличение частоты встречаемости субъективных симптомов (69,1% и 62,8% соответственно), преобладание тяжелых форм течения заболеваний и наличие обострений более 4 раз в год (52,9% и 53,5%) (Елистратова Л.Л., 2013).

Несмотря на актуальность темы, остается много неизученных вопросов о влиянии различных видов клещей рода *Demodex* на клиническую картину розацеа; о состоянии кожи при наличии клещей рода *Demodex*; о поиске новых методов лабораторной и инструментальной диагностики и безопасных схем лечения розацеа при наличии клещей рода *Demodex*.

Цель исследования

Усовершенствовать лабораторную и инструментальную диагностику и терапию больных розацеа, ассоциированной с клещами рода *Demodex*, с учетом клинических и диагностических особенностей.

Задачи исследования

1. Изучить влияние клещей рода *Demodex* на клиническую картину и течение розацеа;
2. Изучить особенности клинической картины розацеа, ассоциированной с клещами рода *Demodex* в зависимости от видовой принадлежности клещей рода *Demodex*;

3. Оценить эффективность лабораторных и инструментальных методов диагностики наличия клещей рода *Demodex*;
4. Оценить эффективность наружной терапии, направленной на элиминацию клещей рода *Demodex* у больных розацеа.

Научная новизна

Впервые уточнена роль клещей рода *Demodex* в формировании тяжелых форм розацеа. Впервые установлено, что клиническая картина розацеа и тяжесть течения зависят от видовой принадлежности клещей рода *Demodex*. Вид клеща *Demodex folliculorum longus* оказывает большее влияние на развитие тяжелых форм розацеа, чем *Demodex folliculorum brevis*. Впервые доказано, что конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия является эффективным и специфичным методом диагностики наличия клещей рода *Demodex* на коже лица.

Практическая значимость

Полученные данные обосновывают необходимость диагностики клещей рода *Demodex* у больных розацеа с определением видовой принадлежности, что дает возможность дифференцировать подход к проведению антипаразитарной терапии. Доказана высокая терапевтическая эффективность топического препарата, содержащего 1% ивермектин у больных розацеа, ассоциированной с клещами рода *Demodex*.

Методология и методы исследования

Социологический: анкетирование больных и здоровых лиц;

Клинические: сбор анамнеза, визуальный осмотр;

Лабораторные:

1. Определение наличия и видовой принадлежности клещей рода *Demodex* с помощью световой микроскопии соскобов кожи, содержимого сальных желез, волосяных фолликул ресниц и/или бровей с подсчетом особей на 1 см²,
2. Определение уровня pH кожного покрова лица респондентов.

Инструментальные:

1. Фотографирование здоровых лиц, больных до и после лечения,
2. Дерматоскопия на цифровой видеокамере «Aramo SG» с определением следующих параметров: влажность, жирность, размер пор, гладкость, пигментация, тип кожи.
3. Исследование кожи лица с помощью конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии с определением наличия клещей рода *Demodex* (конфокальный лазерный сканирующий *in vivo* микроскоп VivaScope ® 1500 Lucid Inc., Rochester, NY, USA).

Диссертационная работа представляет собой открытое сравнительное рандомизированное исследование.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Клещи рода *Demodex* оказывают влияние на клиническую картину и течение акне и розацеа, способствуя развитию островоспалительных морфологических элементов.
2. Вид клеща *Demodex folliculorum longus* способствует развитию тяжелых форм розацеа. Тяжесть клинических проявлений заболевания не зависит от количества обнаруженных особей в соскобе.

3. Конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия позволяет обнаружить клещей рода *Demodex* на глубине недоступной для скарификации, идентифицировать видовую принадлежность клещей рода *Demodex*.

Степень достоверности результатов

Статистическая обработка данных выполнялась программой IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY, USA: IBM Corporation. Данные представлены как медиана \pm стандартное отклонение, а также количество наблюдений и их процентное соотношение. Различия считали достоверными при $p < 0.05$.

Нормальность распределения выборки проверялась с помощью критерия Колмогорова-Смирнова с поправкой Большева. Для сравнения групп и подгрупп по степени тяжести розацеа, распределению клещей рода *Demodex*, типов кожи и методов исследования на наличие клещей рода *Demodex* (световая микроскопия соскобов кожи, конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия), использовали хи-квадрат (χ^2) с описанием наблюдаемых значений, расчетом ожидаемых значений и вычислением хи-квадрата для каждой ячейки и общей хи-квадрат статистики.

Оценку различий между двумя независимыми группами по количественному признаку при отсутствии нормального распределения проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни. Для проверки равенства медиан двух и более групп использовали критерии Крускала-Уоллиса. Для установления различий между двумя зависимыми группами и зависимыми изменениями пользовались W-критерием Вилкоксона. Для определения степени корреляции тяжести розацеа и наличия различных видов клещей рода *Demodex* использовали коэффициент корреляции Спирмена.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты проведенного исследования внедрены в программы обучения интернов, ординаторов, аспирантов, слушателей повышения квалификации по специальности 31.08.32 - «Дерматовенерология» и используются в учебном процессе кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ДПО «РМАПО» Минздрава России. По материалам диссертации написано учебное пособие «Демодекоз», утвержденное 13 ноября 2014 года на Ученом совете ГБОУ ДПО «РМАПО» Минздрава России.

Метод лечения больных розацеа, ассоциированного с клещами рода *Demodex* с применением наружного препарата, содержащего 1% ивермектин, внедрен в практическую деятельность кожно-венерологического отделения ФГБУ «3 ЦВКГ им. А.А. Вишневого» Минобр России.

Апробация работы

Состоялась «22» октября 2018 года на научной конференции сотрудников кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ДПО «РМАПО» Минздрава России совместно с сотрудниками кожно-венерологического отделения ФГБУ «3 ЦВКГ им. А.А. Вишневого» Минобр России.

Основные положения диссертации доложены на:

Научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы дерматовенерологии и косметологии». Москва, 7 ноября 2014 г.; VI Конференции молодых ученых РМАПО с международным участием «Современная медицина: традиции и инновации», Москва, 22-23 апреля 2015 г.; XV Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов, Москва, 23-26

июня 2015 г.; V Конференции дерматовенерологов и косметологов Приволжского Федерального округа, Казань, 12-13 ноября 2015 г.; VI Конференции дерматовенерологов и косметологов Южного Федерального округа, Краснодар, 17-18 марта 2016 г.; 1104 заседании МОДВ в клинике кожных болезней имени В.А. Рахманова Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, 19 апреля 2016 г.; XVI Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов, г. Москва, 14-17 июня 2016 г. ; 27-th European Academy of Dermatology and Venereology Congress. Paris, France, 12-16 September 2018.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, из них 4 в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК при Министерстве образования и науки Российской Федерации, 1 в журнале, индексируемом в международной цитатно-аналитической базе данных Scopus.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Автор подготовил обзор литературы по данной проблеме, разработал дизайн исследования, составил и вел протоколы исследования, самостоятельно провел социологический, клинические методы исследования, обследование респондентов на цифровой видеокамере «Agamo SG», измерение уровня pH кожи лица. Автор лично ассистировал при диагностике на конфокальном лазерном сканирующем *in vivo* микроскопе. Автором проанализированы и обработаны полученные данные. По результатам работы подготовлены к публикациям статьи, тезисы и учебное пособие. Подготовлены доклады и презентации для выступлений на научно-практических конференциях и съездах.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа Кравченко А.С. соответствует паспорту специальности 14.01.10 - Кожные и венерические болезни. Медицинские науки и областям исследования:

п. 1. Различные аспекты патогенеза кожных болезней и заболеваний, передаваемых половым путем (клинические, патоморфологические, генетические, иммунологические, биохимические, функциональные, серологические исследования в динамике болезни).

п. 3. Современные клинические проявления кожных и венерических болезней, их роль в комплексной диагностике. Выявление связи поражений кожи с заболеваниями других органов и систем. Клинико-лабораторные параллели при кожных и венерических болезнях. Совершенствование диагностики дерматозов с использованием клинических, лабораторных, функциональных и других методов исследования. Дифференциальный диагноз дерматозов и инфекций, передаваемых половым путем.

п. 4. Совершенствование лечения кожных и венерических заболеваний на основе последних исследований по их этиологии и патогенезу. Новые методы и схемы лечения дерматозов современными медикаментозными средствами, физиотерапевтическими процедурами, диетой, психотерапевтическими воздействиями. Санаторно-курортное лечение. Реабилитационные мероприятия. Разработка новых критериев излеченности.

Структура и объем диссертации

Работа изложена на 119 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, раздела материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических

рекомендаций и списка литературы. Список литературы содержит 133 источника, в том числе 60 отечественных и 73 зарубежных. Текст иллюстрирован 9 рисунками и 23 таблицами.

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Общие сведения о демодекозе

Папулопустулезные дерматозы, такие как розацеа, периоральный дерматит, демодекозный фолликулит, в связи с их широкой распространенностью в популяции являются весьма актуальной проблемой. Учитывая локализацию данных дерматозов на лице и социально активный возраст больных, последствием развития заболевания может быть существенное снижение качества жизни – нарушаются общественные и профессиональные контакты, часто развиваются невротические расстройства и депрессии (Сирмайс Н.С., Абесадзе Г.А., Устинов М.В., 2013). Среди различных причин возникновения заболеваний кожи, сопровождающихся наличием папул и пустул, определенная роль отводится паразитарной теории (Вислобоков А.В., 2005; Батыршина С.В. и соавт., 2005; Хамаганова И.В. и соавт., 2005; Лалаева А.М. и соавт., 2005). Согласно этой теории, основным этиопатогенетическим звеном, приводящим к формированию папул и пустул на коже, является клещ-железница (*Demodex*). В процессе жизнедеятельности паразиты вызывают механическое повреждение фолликулярного и железистого эпителия и антигенное влияние на организм хозяина, приводя к формированию воспалительных инфильтратов с развитием соответствующей клинической картины. По данным Бутова Ю.С., Акилова О.Е. (2003), демодекоз может быть первичным, как самостоятельное заболевание, и вторичным - на фоне основного дерматоза (Бутов Ю.С., Акилов О.Е., 2003). Однако, отсутствие диагноза «Демодекоз» в Международной классификации болезней X пересмотра указывает на тот факт, что клещи рода *Demodex* выступают скорее в роли этиологического агента в развитии акнеподобных дерматозов (Давыдова И.Б. и соавт., 2008). В тоже время, по данным различных авторов, носителями клеща - железницы является 55–100% населения, причем, не

имеющих при этом каких-либо проявлений заболевания, то есть можно сказать, что Demodex — физиологический представитель микрофлоры кожи (Адаскевич В.П., 2000; Сюч Н.И., 2003; Елистратова Л.Л., 2013). Вместе с тем, обращает на себя внимание и тот факт, что в настоящее время отмечается рост хронических и резистентных форм заболевания.

Клещ принадлежит роду Demodex, семейству Demodicidae, подотряда Trombidiformes, отряда Acariformes. Впервые клеща выявил Berger F. в ушной сере слухового прохода человека в 1841 году. В том же году, Jacob Henle F.G. обнаружил клеща на коже человека. А в 1842 году Carl Gustav Theodor Simon выявил наличие паразита в волосяных фолликулах и впервые описал морфологические свойства, назвав их Acarus folliculorum (от греч. - сальное животное) (Chen W., Plewig G., 2014). Позже Simon G. (1842) и Owen R. (1843) отнесли найденных клещей к роду Demodex. Более чем через полвека английский акаролог Hirst S. (1917-1923) выделил 21 вид и несколько подвидов клещей рода Demodex у животных.

Демодекоз (Demodecosis) – распространенное хроническое заболевание, преимущественно кожи лица. Однако, до сих пор, существует неоднозначное отношение к диагнозу «Демодекоз». Так, Давыдова И.Б. и соавт. (2008) считает, что отсутствие диагноза «Демодекоз» в Международной классификации болезней X пересмотра подтверждает теорию о провоцирующем влиянии клеща в развитии некоторых кожных заболеваний (Давыдова И.Б. и соавт., 2008). Также, существование демодекоза, как самостоятельного заболевания ставит под вопрос Иванов О.Л. (2006). В повседневной практике врачи редко ставят диагноз «Демодекоз», хотя наличие клещей подтверждают лабораторными методами. В то же время, согласно Международной классификации болезней X пересмотра, демодекоз можно отнести к шифру B88.0 «Другой акариаз», включающий кроме демодекоза акародерматит, дерматит, вызванный *Dermanyssus gallinae* и т.д.

Несмотря на то, что демодекоз считается часто встречающимся заболеванием, на сегодняшний день до конца не выяснены этиологические факторы, приводящие к патогенности клеща, и не установлен точный механизм развития воспаления кожи при демодекозе. Отсутствие диагноза «Демодекоз» в Международной классификации болезней X пересмотра не дает возможность объективно оценить распространенность данного заболевания и его роль в возникновении папулопустулезных дерматозов лица. Противоречивость мнений различных авторов вызывает много споров и вопросов, требующих дальнейшего исследования.

1.2. Строение и жизнедеятельность клещей рода *Demodex*

Акбулатова Л.Х. (1968) при изучении клещей рода *Demodex* выделила две формы, паразитирующие на коже человека, различающиеся по величине, морфологическим признакам строения, преимущественному месту локализации.

Первая форма *Demodex folliculorum longus* характеризуется длинным вытянутым червеобразным телом (опистосома). Причем, опистосома в 2-3 раза длиннее протеосомы (гнатосома (головной конец) + грудь). Задний конец тела закруглен. Такое строение клещ имеет во всех фазах своего жизненного цикла. Самки и самцы практически равны по длине тела, которая варьирует от 0,272 до 0,480 мм. На последнем членике пальпы расположены палочковидные образования (папилломы) – на каждом по 5 и более. На дорсальной поверхности основания гнатосомы расположены три поперечные складки, на дорсальной стороне средней части пальпы имеются отчетливые небольшие бугорки (по одному с каждой стороны) (Акбулатова Л.Х., 1968; Сющ Н.И., 2003). Hirst S. (1917-1923) полагал, что это щетинки, другие авторы принимают их за глаза. Ноги короткие, пятичленниковые, с наличием на концах 11-12 ноготков. Половое отверстие самок овальной формы, расположено сзади четвертой пары ног, за ним

находится щелевидное анальное отверстие. В отличие от самок, у самцов по бокам имеются две пары хорошо выраженных шиповидных бугорков – щетинок. Половой орган самцов (penis) выходит из щелевидного отверстия на уровне слияния вторых эпимер между второй и четвертой парой ног. Тело клещей покрыто хитиновой оболочкой на всем протяжении. Преимущественным местом локализации *Demodex folliculorum longus* являются волосяные фолликулы.

Для второй формы (*Demodex folliculorum brevis*) характерна короткая опистосома, своеобразное строение гнатосомы. Задний конец тела конусовидно заострен. Самцы меньше самок. Длина тела самки 0,160-0,176 мм, ширина – 0,048 мм. Длина тела самцов варьирует от 0,128 до 0,144 мм, а ширина – 0,040 мм. Гнатосома короткая и уплощенная. Ближе к основанию на теле имеются две поперечные складки. На пальцах имеются щетинки, но они едва различимы. Подосома широкая, щетинки на ней отсутствуют. Брюшко покрывает кутикула. После оплодотворения самок, самцы гибнут. *Demodex folliculorum brevis* паразитируют в сальных железах (Акбулатова Л.Х., 1968; Rufli T., Mumcuoglu Y., 1981; Vaima B., Sticherling M., 2002; Сюч Н.И., 2003; Lacey N., Kavanagh K., Tseng S.C., 2009). Сравнительная характеристика строения двух видов клещей представлена в таблице 1.1.

Таблица 1.1. Сравнительная характеристика видов клещей рода *Demodex*

	<i>Demodex folliculorum longus</i>	<i>Demodex folliculorum brevis</i>
Опистосома (тело)	Длинное вытянутое червеобразное	Короткое
Гнатосома (головной конец)	Хорошо дифференцированная	Короткая и уплощенная
Подосома (грудь)	Хорошо дифференцированная с щетинками	Широкая, без щетинок
Кутикула (покрытие)	Прозрачная хитиновая оболочка	Менее прозрачна

Размер	0,3–0,04 мм	Самцы меньше самок
Локализация	Волосяные фолликулы	Сальные железы
Демодекоз	Первичный	Вторичный

Клещи хорошо переносят низкие температуры и пониженную влажность, при этом, сохраняют жизнеспособность и вне хозяина при постоянной влажности и комнатной температуре в темноте до 9 суток. В воде при температуре 12-15 °С клещи активны до 25 дней, на омертвевших частицах кожи при комнатной температуре – 21 день, в гное при 37 °С – 18-20 дней, а при температуре 53-55 °С – гибель клещей наблюдается через 18-20 дней. В сухом воздухе погибают через 1,5 дня. При температуре ниже 14 °С клещи впадают в состояние оцепенения. Наибольшая активность наблюдается при температурах 30-40 °С, при этом, замечено, что клещи передвигаются из более прохладной в зону наивысшей температуры. Самая благоприятная среда обитания для клещей рода *Demodex* – растительное масло, жир, вазелин (Акбулатова Л.Х., 1968; Сюч Н.И., 2003; Елистратова Л.Л., Нестеров А.С., Потатуркина-Нестерова Н.И., 2011).

Учитывая вышеизложенные морфологические характеристики клещей рода *Demodex*, создаются определенные трудности терапии при лечении папулопустулезных дерматозов лица.

1.3. Жизненный цикл клещей рода *Demodex*

Все существование клеща можно разделить на несколько частей. Внутрикожная жизнь включает два периода: созревания и репродукции, и более короткая внекожная (или накожная) (Сюч Н.И., 2003).

Фиксированная на стенке выводного протока сальной железы самка растет и развивается до половозрелого состояния, а затем оплодотворяется, вынашивает и откладывает яйца. На этом заканчивается первый период – созревания. Затем, уже снаружи проходит второй период (метаморфический). Яйца с током сала

быстро выносятся на поверхность кожи. Вылупляющиеся личинки расселяются в устьях волосяных фолликул под чешуйками эпидермиса. Там они претерпевают линьку (метаморфоз) посредством стадий прото- и телеонимфы. Уже взрослые особи – самцы и самки, проникают вглубь выводного протока сальной железы, размножаются там, а затем самки откладывают яйца (Сюч Н.И., 2003).

Репродуктивный цикл развития клеща составляет 15-25 суток. Цикл включает: яйцо, личинку, нимфу 1 (протонимфа), нимфу 2 (дейтонимфа), имаго (половозрелый клещ). После оплодотворения в полости волосяных фолликул самка откладывает яйца. Через 60 часов из яиц появляется личинка. Личинка неподвижна и усиленно питается. Через 40 часов личинка превращается в нимфу 1, а через 72 часа – в нимфу 2. Нимфа 2 обладает подвижностью и способна перемещаться по кожным покровам. Спустя 60 часов нимфа становится взрослой особью, которая возвращается в фолликул, размножается там, откладывает яйца и погибает (Сюч Н.И., 2003). Схематично цикл развития клещей рода *Demodex* представлен на рисунке 1.1. Скорость передвижения клещей рода *Demodex* по поверхности кожи составляет 8-16 мм/час (Hoekzema R. et al., 1995; Demler M., de Kaspar H.M., 1997).

Репродуктивный цикл клещей рода *Demodex* (15-25 суток):

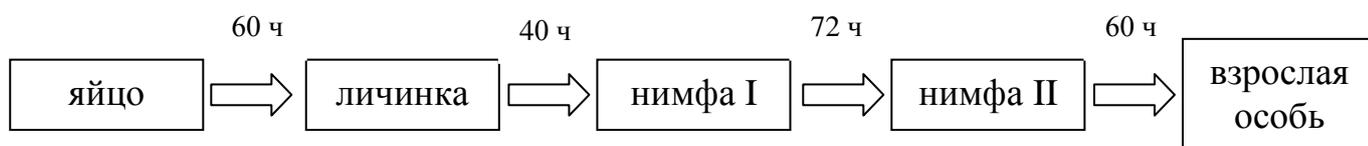


Рисунок 1.1. Схема репродуктивного цикла клещей рода *Demodex*

Существует мнение о суточном ритме клещей. Согласно этому мнению, днем клещи находятся в фолликулах, а на поверхность кожного покрова выходят ночью (Coston T.O., 1980). Н. Garven (1946) предположил, что клещи рода

Demodex могут передаваться от матери ребенку посредством кормления грудью (Garven H.S.D., 1946).

Таким образом, проходя сложный цикл развития, клещ способен паразитировать как на поверхности кожи, так и внутри волосяных фолликулов.

1.4. Эпидемиология

Клещи рода Demodex одинаково распространены среди всех рас и всех возрастных групп. По разным данным, заболеваемость демодекозом составляет от 2 до 5% (Бутов Ю.С., Акилов О.Е., 2002; Верхогляд И.В., 2011) и стоит на седьмом месте по частоте среди кожных болезней. В структуре акнеформных дерматозов демодекоз составляет 10,5% (Сюч Н.И., 2003). Отмечено, что с возрастом частота выявления Demodex folliculorum brevis возрастает, а Demodex folliculorum longus остается на том же уровне или меняется незначительно. У детей регистрируется более низкий уровень клещей. По всей вероятности, это связано с более низкой выработкой кожного сала у детей в сравнении с взрослыми людьми (Сирмайс Н.С., Абесадзе Г.А., Устинов М.В., 2013). Наибольшее количество случаев поражения демодексом отмечается у людей в возрастной группе 20-40 лет (Адаскевич В.П., 2000). Соотношение мужчин и женщин, приблизительно 1:4 (Кошевенко Ю.Н., 2008). Такое распределение, возможно, связано с тем, что женщины предъявляют больше требовательности к собственной внешности. В возрастной группе 15-20 лет инвазия клещей прямо коррелирует с количеством вырабатываемого сала, что может быть напрямую связано с гормональной перестройкой организма. При этом, наблюдаемые минимальные клинические проявления свидетельствуют о высокой иммунореактивности кожи у молодых людей.

Активность клещей в старших возрастных группах (после 45 лет) поддерживается возрастными изменениями кожи и желез, климактерическими

гормональными перестройками, а также различной соматической патологией (Сирмайс Н.С., Абесадзе Г.А., Устинов М.В., 2013). Асимптомное носительство у мужчин отмечается чаще, чем у женщин, в соотношении 2:1 (Roihu T., Kariniemi A.L., 1998). В популяции демодекоз выявляется в 55-100% случаев, включая пациентов с отсутствием папулопустулезных высыпаний на коже лица (Адаскевич В.П., 2000; Сющ Н.И., 2003; Елистратова Л.Л., 2013).

Источник заражения – человек (больной или носитель), домашние животные. Клещ паразитирует у собак, лошадей, крупного рогатого скота. Заболевание распространено повсеместно и во все времена года (Сющ Н.И., 2004). В весенне-летний период отмечается подъем заболеваемости. Можно предположить, что это связано с повышенной инсоляцией, изменением температуры внешней среды, обострением и возникновением иммунных и эндокринологических заболеваний (Данилова А.А., Федоров С.М., 2000). Schaubert J., Gallo R.L. (2008); Peric M., Lehmann V. et al. (2010) предполагают, что выработка витамина Д под действием ультрафиолетового излучения вызывает активный синтез кателецидинов (LL-37), поддерживающих активность воспалительного процесса (Schaubert J., Gallo R.L., 2008; Peric M., Lehmann V. et al., 2010).

Таким образом, наличие, количество, а также активность клещей связаны с возрастными изменениями кожи, а также с наличием патологии со стороны внутренних органов.

1.5. Патогенез демодекоза

Вопреки известному факту, что клещи рода *Demodex* являются условно-патогенными паразитами, ни один из авторов со времен обнаружения демодекса в 19 веке не утверждает, что данный паразит является патогенным для человека, а выявление его на кожных покровах – дерматозоонозом, поэтому вопрос о

носителем клеща до сих пор остается открытым (Baima B., Sticherling M., 2002; Кошевенко Ю.Н., 2008).

До настоящего времени не установлены точные причины, приводящие к патогенности клещей рода *Demodex*, существующие теории разнообразны и противоречивы. Самое распространенное мнение, что одним из пусковых факторов развития заболевания является нарушение микрофлоры кожного покрова. По мнению различных авторов, развитию патогенности клеща благоприятствуют изменения функций сальных желез с последующим изменением состава кожного сала, возникающие вследствие нарушения функций желудочно-кишечного тракта, печени, нервной системы, эндокринных желез, длительного применения топических кортикостероидов (Коган Б.Г., 1995; Данилова А.А., Федоров С.М., 2000; Кошевенко Ю.Н., 2008). Считается, что благоприятным фактором для возникновения демодекоза, является наличие очагов хронической инфекции. Имеются данные, что у мужчин чаще всего выявляются изменения со стороны предстательной железы, у женщин – заболевания щитовидной железы (Сюч Н.И., 2003).

Согласно другим гипотезам, патогенные свойства клещ начинает проявлять в ответ на изменения условий среды обитания. Так, нарушения гомеостаза изменяют постоянство микробиоценоза, что приводит к дисбактериозу кожи. Пусковым фактором для развития заболевания является нарушение симбиоза с коринобактериями и условно-патогенной микрофлорой (Солнцева В.К., Быков А.С. и соавт., 2001, Сюч Н.И., 2003). Бутов Ю.С., Акилов О.Е. (2002) утверждают, что при нормальных условиях клещи обитают на уровне базальной мембраны (Бутов Ю.С., Акилов О.Е., 2002). Эта локализация весьма выгодна, клещи не идентифицируются иммунной системой кожи. Потребляя секрет сальных желез, клещи синтезируют липазу, которая расщепляет триглицериды сала до свободных жирных кислот. Свободные жирные кислоты активируют каллекреин-кининовую систему, изменяя количество поверхностных липидов.

Это оказывает раздражающее действие в целом, приводит к изменению состава условно-патогенной микрофлоры кожного покрова, усилению микробной колонизации (Jimenez-Acosta F., Planas L., Penneys N., 1989; Бутов Ю.С., Акилов О.Е., 2003).

По мнению многих авторов, большую роль в развитии инвазии клещами рода *Demodex* играет иммунная система кожи. Бутов Ю.С., Акилов О.Е. 2003 выявили, что большую склонность к инфицированию клещами имеют люди с ослабленной иммунной системой (Бутов Ю.С., Акилов О.Е., 2003). *Demodex folliculorum* встречается чаще у пациентов декретированных групп, например, при гемодиализе и Т-клеточных лимфомах. Данный факт свидетельствует об иммуносупрессии и склонности к пролиферации облигатных паразитов (Nakagawa T. et al., 1996; Duzgun O. et al., 2007). Gothe R. (1989) связывает переход клинически бессимптомного носительства в заболевание с развитием первичного или вторичного иммунодефицита (Gothé R., 1989). Клинические проявления демодекоза после кортикостероидной терапии в исследовании отметили Voge-Rasmussen T. et al. (1982), а проявления демодекоза после цитостатической терапии у больных СПИДом описали Bosch R.J. et al. (1997) (Voge-Rasmussen T. et al., 1982; Bosch R.J. et al., 1997). Клиническая картина демодекоза может возникать из-за нераспознанного заболевания иммуносупрессивной природы (лимфосаркома, злокачественные опухоли, гепатопатии, гипернадокортицизм) (Voge-Rasmussen T. et al., 1982; Gothe R., 1989; Nakagawa T. et al., 1996; Bosch R.J. et al., 1997; Duzgun O. et al., 2007). Ivy S. P. et al. (1995), обследовав 56 детей с острой лимфобластной лейкемией, получавших химиотерапию, у 11 выявили распространенный демодекоз (Ivy S.P. et al., 1995). Напротив, Aydingoz I.E. et al. (1997) у 30 пациентов с пересаженной почкой, получавших терапию циклоспорином, азатиоприном и преднизолоном, клещей не обнаружили (Aydingoz I.E. et al., 1997). Kaya S. et al. (2013) обнаружили наличие клеща у 1/3 обследуемых детей с наличием злокачественных

опухолей (Kaya S. et al., 2013). Kosik-Bogacka D.I. et al. (2013) сравнивая пациентов с блефаритом, осложненным демодекозом, и пациентов с иммунодефицитом, не выявили разницы в активности клещей рода *Demodex* (Kosik-Bogacka D.I. et al., 2013). Это свидетельствует о том, что не всегда генерализованная иммуносупрессия приводит к развитию демодекоза.

Таким образом, статистически достоверной информации о связи между наличием клещей рода *Demodex* и таким фактором риска, как иммуносупрессия, доказано не было. Бутов Ю.С., Акилов О.Е. (2003) объясняют этот факт тем, что возбудитель способен индуцировать в организме хозяина иммунитет и толерантность одновременно, что в свою очередь обеспечивает равновесие в системе паразит-хозяин (Бутов Ю.С., Акилов О.Е., 2003). Количественная нагрузка паразитов, приводящая к развитию клинической картины, колеблется в интервале 3,3-5 особей на 1 см² кожи (Forton F., Seys B., 1993; Erbagci Z., Ozgoztasi O., 1998; Акилов О.Е., 2002; Сющ Н.И., 2003). По мнению авторов, с увеличением плотности клещей возрастает готовность к апоптозу лимфоцитов, что выражается в усилении экспрессии CD95⁺. Вследствие этого, можно говорить об иммуносупрессивном влиянии клещей на лимфоциты. Бутов Ю.С., Акилов О.Е. (2003) выявили ведущую роль цитотоксических клеток (CD8⁺; CD16⁺) в сдерживании клещевой инвазии *Demodex spp.* (Бутов Ю.С., Акилов О.Е., 2003). В ответ на жизнедеятельность клещей в организме хозяина развиваются различные защитные реакции, при этом, иммунный ответ, с одной стороны, имеет цитотоксическую направленность с ограничением элиминации клещей, с другой стороны, имеет клеточную направленность с дефектами макрофагального звена и неспособностью противостоять инвазии. На этапе колонизации клещу удается избежать иммунного ответа за счет медленной скорости нарастания НК-клеток в ответ на увеличение плотности клещей (Forton F., Seys B., 1993; Erbagci Z., Ozgoztasi O., 1998). По мнению отечественных исследователей, успех клещевой инвазии обеспечивается равной величиной лимфоцитов, несущих Fc-рецептор

готовности к апоптозу и всех Т-лимфоцитов периферической крови в норме уже при плотности 10 клещей на 1 см² (Бутов Ю.С., Акилов О.Е., 2003).

Таким образом, по мнению большинства авторов, предрасполагающим фактором для развития клещевой инвазии, поддержания активности патологического процесса, а также неэффективности проводимой терапии является дисбаланс в цитокиновом каскаде (Акилов О.Е., 2002; Бутов Ю.С., Акилов О.Е., 2003; Сюч Н.И., 2004; Кусая Н.В., 2009; Юцковская Я.А., Кусая Н.В., Ключник С.Б., 2010).

Существуют и другие интересные гипотезы. Например, Бутов Ю.С., Акилов О.Е. (2002) установили наличие связи HLA-антигенов Cw2 и Cw4 с заболеваемостью демодекозом, выявили, что при наличии HLA-A2-антигена в фенотипе, люди устойчивы к заражению клещами (Бутов Ю.С., Акилов О.Е., 2002). Можно сделать вывод, что к заболеванию демодекозом имеется генетическая предрасположенность.

Вопрос о самом механизме развития папулопустулезных высыпаний, осложненных демодекозом, вызывает множество споров и противоречий. В настоящее время, в научной литературе имеется несколько гипотез патогенеза демодекоза.

Как известно, продуктами питания клеща являются клетки эпителия волосяных луковиц и сальных желез, а также секрет сальных желез. Клещи рода *Demodex* разрушают клетки кожного покрова своими хелицерами (челюстями), что в дальнейшем приводит к образованию воспалительных инфильтратов, кератинизации, пигментации. С увеличением продуктов метаболизма клещей в организме хозяина, создаются входные ворота для инфекции (Кошевенко Ю.Н., 2008). Таким образом, клещи рода *Demodex* выступают в роли химического и механического раздражителя, вызывая развитие патологических процессов в коже. В частности, раздражающее действие оказывает хитин клещей, который вызывает активацию Toll-подобных рецепторов кератиноцитов, запуская каскад

воспалительных реакций и иммунного ответа (Da Silva C.A. et al., 2008; Yamasaki K. et al., 2011).

В отличие от клещей *Dermatophagoides pteronyssinus* и других видов семейства *Pyrroglyphidae* из домашней пыли, клещи рода *Demodex* не являются «аллергенными» клещами. По всей вероятности, размеры клещей превосходят размеры частиц, обладающих аллергенной активностью, о чем свидетельствуют исследования Сюч Н.И. (2003), которая отметила увеличение эозинофилов в общем анализе крови только у 8% больных демодекозом (Сюч Н.И., 2003). Хотя, более ранние наблюдения противоречат данному утверждению, Grosshans E. et al. (1980) у 22% больных обнаружили специфические антитела к *Demodex* в сыворотке крови (Grosshans E. et al., 1980).

Следующее предположение строится на том, что клещи рода *Demodex* являются безобидными обитателями сальных желез, но проявляют свои патогенные свойства в качестве переносчика микробов и вирусов в более глубокие отделы волосяных фолликулов и сальных желез (Батыршина С.В. и соавт., 2005; Иванов О.Л., 2006). Такой перенос осуществляется посредством иммунного прилипания, обусловленного иммуноглобулинами в составе биологической пленки на поверхности кожи. Таким образом, формируются демодексгранулемы. Ряд исследований показали возможность заглатывания клещами рода *Demodex* различных бактерий с последующим разносом их на здоровые участки кожного покрова. Такое перемещение клещей из фолликулов на поверхность кожи и обратно создает возможность занесения патогенных пиококков и *Pityrosporum spp.* в глубокие слои фолликулов и сальных желез, что является дополнительным фактором для развития воспалительного гнойно-некротического процесса (Spickett S., 1961; Wolf R. et al., 1988; Clifford C.W., Fulk G.W., 1990; Demmler M., de Kaspar H.M., 1997). В этом случае, заслуживает внимания наблюдение Forton F., Seys B. (1993), которые отметили, что формированию воспалительной реакции способствуют бактерии, обитающие в кишечнике клеща. Они же провоцируют

сенсбилизацию к своим антигенам (Forton F., Seys B., 1993). Бацилла (*Bacillus oleronius*), найденная на поверхности клеща, в результате своей жизнедеятельности, способна повышать активность самих клещей, а также других микроорганизмов – стрептококков, стафилококков, пропион бактерий акне, грибов рода *Malassezia* (Lacey N., Delaney S. et al., 2007; O`Reilly N., Menezes N., Kavanagh K. et. al., 2012; Сирмайс Н.С., Абесадзе Г.А., Устинов М.В., 2013). Подтверждают это наблюдения Мокроносковой М.А. и соавт. (2012), выявившей на коже больных себорейным дерматитом, наряду с наличием клещей *Demodex*, 4 вида дрожжей рода *Malassezia*, среди которых доминировал *Malassezia globosa* (Мокроносова М.А. и соавт., 2012). С другой стороны, *Bacillus oleronius* изолированно от клещей *Demodex* способна синтезировать антигены, запуская каскад воспалительных реакций (Lacey N., Delaney S. et al., 2007).

Варапетов А.Я. (1972) утверждает, что одним из результатов деятельности клеща является застой кожного сала, что приводит к длительной ирритации нервно-рецепторного аппарата сально-волосяного фолликула. Такие изменения усиливают патогенность стафилококков (Варапетов А.Я., 1972).

Следуя другой теории, депрессия клеточного и гуморального звеньев иммунитета характерна для всех паразитарных инфекций и клещи рода *Demodex* не являются исключением. Клещи, имея сложный жизненный цикл, на определенных этапах своего развития способны экспрессировать разные антигены, вызывая различные иммунные реакции. Сами паразиты, при этом, от метаболитов хозяина защищены хитиновым панцирем.

На протяжении нескольких лет, различные исследования демонстрируют, что у пациентов с демодекозом наибольшие изменения происходят в клеточном звене иммунитета. В частности, развитие и течение воспалительных процессов в коже может сопровождаться снижением содержания Т-лимфоцитов (Глухенький Б.Т., 1984; Ruffli T., Buchner S.A., 1984; Коган Б.Г., 1995; Черкасова М.В. и соавт., 1998; Ягофаров Ф.Ф., 1998; Бутов Ю.С., Акилов О.Е., 2003; Юцковская Я.А.,

Кусая Н.В., Ключник С.Б., 2010; Юцковский А.Д. и соавт., 2011). Коган Б.Г. (1995) установил, что активность клеточного иммунитета, в частности Т-лимфоцитарного звена, снижается прямо пропорционально тяжести заболевания в 1,3-1,9 раза, а концентрация всех иммуноглобулинов увеличивается в 1,2-1,65 раз (Коган Б.Г., 1995).

В научной литературе имеются данные о снижении экспрессии маркеров Т-лимфоцитов ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$), показателей фагоцитоза, повышении уровней $CD22^+$, Ig M и усиление маркеров активации ($CD25^+$, $CD95^+$, $HLA-DR^+$) (Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д., 2000; Юцковская Я.А., Кусая Н.В., Ключник С.Б., 2010). Кусая Н.В. (2009) выявила изменения других показателей иммунного ответа, в частности, гиперпродукцию ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-13, Р-70, что служит дополнительным критерием, указывающим на тяжесть процесса. По мнению автора, высокие уровни провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ГМ-КСФ), высокие концентрации ФНО- α и повышение уровней ИЛ-12p70, ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13 свидетельствуют о дефиците клеточного звена иммунитета (Кусая Н.В., 2009). Нормальные значения иммунорегуляторного индекса, натуральных киллеров и гуморального иммунитета, при этом, характеризуют стадию относительной компенсации (Кусая Н.В., 2009; Юцковская Я.А., Кусая Н.В., Ключник С.Б., 2010). Casas C. et al. (2012) анализируя препараты кожи больных розацеа, осложненной демодекозом, методом ПЦР, выявили высокую экспрессию генов, кодирующих провоспалительные цитокины (IL-8, IL-1b, ФНО- α), LL-37 и VEGF, а также CD45RO, MPO и CD163, что еще раз доказывает роль иммунной системы в патогенезе демодекоза (Casas C. et al., 2012).

Супрессивный эффект клещей на иммунную систему человека играет роль в дальнейшей успешной колонизации кожного покрова клещами рода *Demodex* и условно-патогенной микрофлорой (Желтикова Т.М., 2006). Так как клещи рода *Demodex* участвуют в распространении микрофлоры, оказываемый клещами *Demodex spp.* иммуносупрессивный эффект является вариантом

приспособительной реакции и направлен на стабилизацию паразитарной системы. Слабая иммуногенность клеща и его апоптотическое влияние на лимфоциты обуславливают успех дальнейшей клещевой инвазии (Бутов Ю.С., Акилов О.Е., 2002).

Продукты метаболизма клеща вызывают паралич вазомоторов, что ведет к снижению тонуса мелких сосудов кожи лица, спазму артериол. Недостаточное кровоснабжение дермы ведет к развитию дистрофических изменений и возникновению воспаления. Формируются туберкулоидные структуры с наличием клещей в центре (Хамаганова И.В., Иконникова Н.А., Галкина О.А., 2005; Лалаева А.М., Данилов С.И. и соавт., 2005). Местный иммунитет в коже представлен лимфоцитарной инфильтрацией, преимущественно Т-хелперами, более чем в 70% случаев при наличии клещей *Demodex folliculorum* (Rufli T., Buchner S.A., 1984; Roihu T., Kariniemi A.L., 1998).

Параллельно ведутся исследования в области врожденного иммунитета и системе Toll-подобных рецепторов (Toll-like receptor, TLR). Одним из важных его составляющих являются молекулы кателецидинов и дефензинов (Schauber J., Gallo R.L., 2007). Недавно установлено повышенное содержание кателецидинов (LL-37) в коже у больных розацеа (Yamasaki K., Di Nardo A. et al., 2007; Meyer-Hoffert U., Schroder J.M. et al., 2011). Это может быть доказательством участия врожденного иммунитета в ответе на паразитарную инвазию.

Таким образом, несмотря на многолетнюю историю исследования и высокую распространенность клеща рода *Demodex* среди взрослого населения, до сих пор, остается много нераскрытых вопросов в отношении этиологии и патогенеза демодекоза. Предположения, возникшие в прошлом веке, давно утратили свою актуальность, по мере накопления научных данных возникли новые теории и гипотезы, которые носят весьма противоречивый характер. На сегодняшний день, не доказана связь между наличием клещей рода *Demodex* и таким фактором риска, как иммуносупрессия, нет точных данных об

этиологических факторах, приводящих к инвазии клеща, механизме воспалительной реакции и т.д.

1.6. Клиническая картина розацеа при наличии клещей рода *Demodex*

Первая классификация была предложена Акбулатовой Л.Х. в 1968 году, согласно которой она выделила два вида клещей, паразитирующих на коже человека: *Demodex folliculorum longus* и *Demodex folliculorum brevis* (Акбулатова Л.Х., 1968). Позже, Бутов Ю.С. и Акилов О.Е. (2003) предложили разделить демодекоз на первичный и вторичный. По мнению авторов, первичный демодекоз возникает как самостоятельное заболевание, а вторичный является следствием уже имеющихся болезней кожи (Бутов Ю.С., Акилов О.Е., 2003). По типам расположения высыпаний Бутов Ю.С., Акилов О.Е. (2003) выделяют следующие формы демодекоза:

1. Центральный тип (локализация высыпаний преимущественно в области Т-зоны, где наблюдается наибольшая плотность сальных желез).
2. Медиальный тип (локализация высыпаний в области лобных бугров, центральной части щек и области подбородочного выступа).
3. Ассиметричный тип (локализация высыпаний с одной стороны лица).
4. Латеральный тип (локализация высыпаний в боковых областях лица).
5. Тотальный тип (равномерное распределение высыпаний по всей коже лица).

Вторичный демодекоз может осложнять многие кожные заболевания, такие как: различные формы розацеа (эритематозную, папулезную, папулопустулезную, инфильтративно-продуктивную ринофиму); розацеоподобный дерматит; себорейный дерматит; периоральный дерматит (Иконникова Н.А., 2005; Галкина О.А., 2007; Сирмайс Н.С., Абесадзе Г.А., Устинов М.В., 2013; Елистратова Л.Л., 2013). Клещи рода *Demodex* могут, также, вызывать заболевания глаз: блефароконъюнктивит (неосложненный и

осложненный клещевой); эписклерит; кератит (краевой, стромальный, поверхностный); серозный ирит (Майчук Ю.Ф., 1988; Гумерова Е.И., 2003; Розко Т.Е., 2003).

По данным Елистратовой Л.Л. (2013), частота осложнений демодекозом у больных розацеа составляет 88,7%, периоральным дерматитом 58,8%. При этом, клиническое течение таких заболеваний, как розацеа и периоральный дерматит имеет склонность к рецидивированию с частотой два и более раза в год по сравнению с пациентами, кожные заболевания которых не осложнялись демодекозом (Елистратова Л.Л., 2013).

В литературе описаны отдельные случаи атипичного демодекоза: унилатеральный, демодекоз эктопированных сальных желез, слизистой полости рта, демодекс-гранулема, спинулез лица, туберозно-пустулезный демодекоз (Basta-Juzbasic A., Subic J.S., Ljubojevic S., 1992; Pallotta S. et al., 1998).

Основная локализация клещей – сальные железы кожи лица, ушных раковин, спины, груди, мейбомиевые железы, фолликулы кожи в области сосков, редко – в области спины (Потекаев Н.Н. 2000). Атипичные локализации, где могут быть найдены клещи рода *Demodex* – половой член, ягодицы, эктопические сальные железы, слизистая оболочка рта. Stcherbatchoff N. (1903), обнаружив клещей в ресничных фолликулах век человека, доказала роль клеща в развитии блефаритов и блефароконъюнктивитов.

Заболевание возникает внезапно. Субъективно: ощущение зуда, чувство жжения, ползания, распирания, жара. Патологический кожный процесс имеет тенденцию к распространению. Локализуется преимущественно в области Т-зоны лица. Характеризуется наличием папул и пустул на фоне эритемы. Элементы во многом напоминают розовые угри. Шелушение мелкофолликулярное или крупнопластинчатое.

При поражении глаз наблюдается гиперкератоз с наличием чешуек на ресничном крае и «воротничка» вокруг ресниц (Березнюк Л.Г., Сакович В.К., Татарина В.В., 1995).

Нередко у больных демодекозом отмечается очаговое поражение волос и повышенная жирность кожи. Имеется научное предположение о роли клещей рода *Demodex* в формировании андрогенетической алопеции (Mahe Y.F., 1998; Zari J., 2008). Согласно теории, под влиянием клещей рода *Demodex* формируется фолликулярный инфильтрат, активированные Т-клетки индуцируют синтез коллагена, что, в конечном счете, приводит к фиброзу перерождению волосяного фолликула (Mahe Y.F., 1998; Zari J., Abdolmajid F. et al., 2008).

Первичный демодекоз возникает на неизменной коже. Зуд появляется одновременно с высыпаниями. Патологический процесс носит воспалительный характер с наличием на кожном покрове эритемы. При отсутствии лечения эритема прогрессирует в папуло-пустулы. Этиологическим агентом чаще является *Demodex folliculorum longus*. Для него характерна эритематозно-сквамозная форма с центральным типом расположения высыпных элементов и площадью поражения $11,8 \pm 3,8\%$ лица. Из сопутствующих заболеваний, чаще всего, больные имеют патологию со стороны желудочно-кишечного тракта и органов мочевыводящей системы. Сезонной динамики своего заболевания больные не отмечают (Бутов Ю.С., Акилов О.Е., 2003).

Вторичный демодекоз возникает на фоне какого-либо имеющегося дерматоза и зависит от психо-эмоционального состояния, алиментарных и экзогенных причин. В основе заболевания лежит нарушение тонуса сосудов. Чаще всего, развитие вторичного демодекоза вызывает *Demodex folliculorum brevis*. Наблюдается, преимущественно, папулопустулезная форма с медиальным типом расположения высыпных элементов, поражающая до 1/3 лица. Среди сопутствующей патологии встречаются заболевания пищеварительного тракта, патология сердечно-сосудистой системы, гинекологические заболевания и

эндокринопатии. Обострения возникают, преимущественно, в жаркое летнее время года (Бутов Ю.С., Акилов О.Е., 2003).

Длительное хроническое течение демодекоза характеризуется утолщением кожи, чувством стягивания, уменьшением эластичности и мягкости, наличием серозных или кровянисто-гнойных корочек. Кожа выглядит смуглой, в отдельных случаях может приобретать желтовато-коричневый оттенок. Присоединение вторичной пиококковой инфекции сопровождается возникновением крупных пустул, нодулярных элементов, макроабсцессов, что может приводить к обезображиванию лица (Бутов Ю.С., Акилов О.Е., 2003; Кошевенко Ю.Н., 2008).

Гистологическая картина пораженной кожи характеризуется наличием в ней расширенных сосудов с утолщенной стенкой, вокруг которых наблюдается разрастание волокнистой соединительной ткани; очаговая лимфоплазматическая, нейтрофильная и эозинофильная инфильтрации, преимущественно, вокруг устьев волосяных фолликул; гиперпластоз, образование цист и гранулем в дерме; гиперкератоз волосяных фолликул. В биоптате возможно обнаружение отдельных частей клещей (Hsu С.К., Hsu М.М., Lee J.Y., 2009; Елистратова Л.Л., Нестеров А.С., Потатуркина-Нестерова, 2011; Сирмайс Н.С., Абесадзе Г.А., Устинов М.В., 2013).

Таким образом, демодекоз может быть самостоятельным заболеванием (первичный) и осложнением уже имеющегося заболевания - акне, розацеа, себорейный дерматит (вторичный). Помимо кожных проявлений часто встречаются поражения глаз. При гистологическом исследовании характерна картина неспецифического воспаления.

1.7. Диагностические методы обнаружения клещей рода *Demodex*

Постановка диагноза «Демодекоз» возможна только после проведения лабораторной диагностики, в ходе которой будут найдены клещи рода *Demodex*.

Соответственно, клинически выставить диагноз «Демодекоз» не представляется возможным. Процедура диагностики демодекоза в условиях лаборатории проста и информативна, хотя, в настоящее время, далека от идеала и требует доработки.

Лабораторная диагностика основывается на составлении акарограммы путем подсчета личинок, нимф, яиц и имаго и является объективным диагностическим критерием. Для оценки проводимой терапии проводят повторные акарограммы с целью подсчета количества и определения активности клещей. Критерием клещевой активности служит количество более 5 взрослых особей, личинок или яиц на 1 см^2 . Если в соскобе обнаружены исключительно продукты жизнедеятельности и пустые яйцевые оболочки, проводят повторное исследование. В процессе лечения отмечено перемещение клещей рода *Demodex* в зоны, необработанные акарицидными средствами. В таких случаях, чаще всего, клещи локализуются у кромки волосистой части головы. Так как, зачастую, клещи локализуются в глубине сально-волосяных фолликулов, их не всегда удается обнаружить. В связи с этим, световая микроскопия соскобов не является высокоинформативным методом и не доказывает отсутствие клещей (Crawford G.H., Pelle M.T., James W.D., 2004). При диагностике демодекоза ресниц, нормой считается обнаружение одного клеща на 2-4 ресницах (Майчук Ю.Ф., 1998; Можеренков В.П. и соавт., 1998; Азнабаев М.Т., Мальханов В.Б., Гумерова Е.И., 2002).

Клеща возможно обнаружить на поврежденном участке кожи, при экстракции содержимого фолликула или извлечении ресниц/бровей без повреждения волосяных фолликулов. Исследуемый материал помещают на предметное стекло с 10% раствором щелочи (KOH, NaOH), накрывают предметным стеклом и просматривают под малым увеличением микроскопа. Помимо щелочи в качестве иммерсионной среды возможно использование 50% глицерина, иммерсионного масла. Преимущество методики заключается в возможности анализа наличия клещей не только на поверхности кожного покрова,

но и непосредственно в сальных железах. Здесь возникает другая проблема – не всегда удается добраться до клещей в глубине сальных желез. Недостатком является также травматизация эпителия, иногда с возникновением кровотечения, обследование небольших по величине участков поражения, относительная болезненность процедуры, дискомфорт пациентов после эпиляции и затрата времени (Forton F., Song M., 1998; Сирмайс Н.С., Абесадзе Г.А., Устинов М.В., 2013).

Возможно проведение стандартизированной поверхностной кожной биопсии (SSSB) (Bonnar E., Eustace P., Powell F.C., 1993; Forton F., Seys B. 1993; Crawford G.H., Pelle M.T., James W.D., 2004). На обезжиренное покровное стекло наносят каплю клея цианоакрилата (БФ-6, сульфакрилат), затем приклеивают к пораженной поверхности на 1 минуту. На капле цианоакрилата обозначается участок равный 1см^2 для дальнейшего подсчета клещевой количественной нагрузки. После снятия наносится раствор щелочи, накрывается поверх покровным стеклом и рассматривается под микроскопом на малом увеличении (Forton F., Song M., 1998). Недостатками диагностики может служить то, что клещи не всегда адгезируются на поверхность капли клея, а иногда при микроскопии их не удастся выявить из-за того, что между клещами и клеем могут находиться ороговевшие клетки эпителия или кожное сало. Поэтому, перед проведением исследования кожу необходимо обезжиривать эфиром (Forton F., Song M., 1998).

Модификацией методики является использование скотча («скотч-проба»), размером 1 см^2 , который после снятия приклеивается к покровному стеклу на раствор щелочи. При снятии покровного стекла или скотча, на их поверхности остается слой эпидермиса, содержащее сальных желез с имеющимися там клещами. Плюсами метода является проведение процедуры на любом участке кожного покрова, а также простота применения. Травматизация эпителия, трудность получения материала с крыльев носа, неполная стерильность

получаемых препаратов являются недостатком метода (Сирмайс Н.С., Абесадзе Г.А., Устинов М.В., 2013).

Еще одним методом диагностики демодекоза является проведение кожной биопсии с последующей гистологией полученных препаратов. С этой целью пункционным (панч) или эксцизионным (скальпель) методом берут небольшой участок кожи, фиксируют его в течение суток 10% нейтральным раствором формалина, уплотняют парафином и окрашивают гематоксилин-эозином. Гистологическое исследование дает массу преимуществ. В частности, можно полностью посмотреть сальную железу и окружающие ее участки. Главным недостатком метода является травматизация кожного покрова с образованием рубца, а также невозможность обследования большой поверхности кожного покрова (Сирмайс Н.С., Абесадзе Г.А., Устинов М.В., 2013). По мнению М.В. Камакиной (2002), при наличии клинической картины заболевания существует статистическая возможность отрицательного результата анализа, составляющая 1,5% (Камакина М.В., 2002).

В качестве диагностического инструмента для выявления клещей рода *Demodex* Segal R. et al. (2010) предложили использовать дерматоскоп. При использовании дерматоскопии, как метода исследования при демодекозе, автор описывает три патогномоничных характерных признака: «демодекс хвосты» - в виде белесоватых нитей длиной 1-3 мм с локализацией в устье волосяных фолликул или выводных протоках сальных желез; расширенные фолликулы с наличием серых или коричневых пробок внутри, а также горизонтально расположенные расширенные кровеносные сосуды (Segal R. et al., 2010).

Марвин Мински в 1957 г. запатентовал «сканирующий микроскоп с двухстадийной фокусировкой» (термин «конфокальный» - основанный на сопряжении фокусов). Если в обычных флуоресцентных микроскопах в качестве источника света, возбуждающего флуоресценцию, используется ртутная или ксеноновая лампа, то в современных конфокальных микроскопах – это лазер.

Впервые лазер в конфокальной микроскопии применил Давидович П. в 1969 г. В качестве источника монохроматического и когерентного света в современных конфокальных микроскопах используется диодный лазер с целью более точной работы оптической системы микроскопа, снижения числа бликов на изображениях, улучшения фокусировки пучка света (Митрошина Е.В., 2012). Сфокусированный лазерный луч освещает определенную точку кожного покрова (Psaty E.L., Halpern A.C., 2009). Вследствие определенного устройства микроскопа задний фокус конденсора, где установлена «конфокальная» диафрагма фотоприемника, совпадает с передним фокусом объектива, получаются изображения с очень тонкого слоя объекта - «оптические срезы» (Штейн Г.И., 2007). Работа конфокального лазерного сканирующего *in vivo* микроскопа основана, преимущественно, на способности различных структур кожного покрова преломлять лазерное излучение, таким образом, получать изображения слоев эпидермиса и дермы (Rajadhyaksha M., 1998) и оценивать состояние сосудов кожи и волокон дермы (Nwaneshiudu A. et al., 2012). Конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия представляет собой новый метод изучения структур кожи в виде картин бело-серо-черных оттенков. Изображения структур достигается путем преломления света от фокальной области и чем глубже участок, тем более высокая мощность лазера требуется (Hofmann-Wellenhof R. et al., 2012). Меланоциты и кератиноциты на снимках выглядят ярко-белыми, воздух, серозная жидкость - черные (Кубанова А.А. и соавт., 2014). Конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия позволяет определить толщину и визуализировать различные слои кожи. Таким образом, метод предоставляет дополнительную информацию о составе и структуре кожи (Neerken S. et al., 2003). В офтальмологии удается визуализировать изменения мейбомиевых желез в виде расширения или обструкции, наличие воспалительных инфильтратов, а также обнаружить клещей рода *Demodex* (Messmer E.M. et al., 2005). Метод конфокальной лазерной

сканирующей *in vivo* микроскопии можно приравнять к гистологическому исследованию кожи с тем преимуществом, что исследование выполняется неинвазивно (Rajadhyaksha M., 1998). По разным данным, в зависимости от нозологии, чувствительность метода составляет 83-91%, специфичность - 95-99% (Nori S. et al., 2004; Gerger A., Koller S., Kern T. et al., 2005; Gerger A., Koller S., Weger W. et al., 2006).

Использование конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии в дерматологии на сегодняшний день считается одним из наиболее перспективных методов, несмотря на то, что имеет ряд недостатков (получение относительно поверхностных изображений до 200 мкм, что ограничивает возможность исследования более глубоких слоев кожного покрова, отсутствие возможности получения вертикальных изображений, высокая стоимость оборудования и его эксплуатации и, как следствие, недоступность для большего числа дерматологов) (Штиршнайдер Ю.Ю. и соавт., 2011; Nwaneshiudu A. et al., 2012).

По сравнению с обычной световой микроскопией преимуществами метода является получение высококонтрастных изображений с высокой разрешающей способностью, их трехмерная реконструкция, цифровая обработка полученных данных, а также возможность проведения исследования в динамике и, непосредственно, у постели больного вследствие портативности устройства (Штейн Г.И., 2007; Nwaneshiudu A. et al., 2012; Hofmann-Wellenhof R. et al., 2012). Одним из преимуществ метода является возможность обнаружения и количественной оценки *Demodex folliculorum* на коже лица пациентов с розацеа, подсчет количества клещей и фолликул на единицу площади (Sattler E.C. et al., 2012). Sattler E.C. et al. (2012), обследуя кожный покров пациентов с розацеа, описали наличие демодекса в виде округлых или длинных конусообразных структур (Sattler E.C. et al., 2012). Kojima T. et al., (2011) продемонстрировали использование конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии для

диагностики демодекоза глаз (Kojima T. et al., 2011). Авторам удалось обнаружить клещей в терминале луковиц ресниц, воспалительные инфильтраты вокруг мейбомиевых желез и конъюнктивы.

Таким образом, по данным научной литературы конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия является неинвазивным и быстрым методом обнаружения клещей рода *Demodex*, превосходя стандартные методы исследования (Turgut E.A. et al., 2014).

Несмотря на достаточный объем научного материала по изучению дерматозов, сопровождающихся папулопустулезными высыпаниями, актуальным является поиск нетравматичных и достоверных способов оценки кожных изменений. Одним из современных методов является применение конфокального лазерного сканирующего *in vivo* микроскопа. Конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия - инновационный метод, достоинства которого - неинвазивность и высокая информативность. Данный метод для исследования папулопустулезных дерматозов и выявления клеща ранее не применялся, хотя использование неинвазивных методик всегда считается приоритетным в медицине.

Имеющиеся методы диагностики демодекоза не удовлетворяют требованиям современной медицины, не гарантируют абсолютной достоверности результатов анализов, нередко травматичны и не объективны. В таком случае, альтернативным направлением в современной инструментальной диагностике может стать конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия, которая позволит выявить клещей рода *Demodex* неинвазивно с высоким процентом достоверности.

1.8. Антипаразитарная терапия у больных розацеа при наличии клещей рода Demodex

При выборе терапии необходимо учитывать клиническую картину заболевания, тяжесть процесса, а также сопутствующую патологию больного (Франкенберг А.А. и соавт., 2007).

Особенность строения клещей создает дополнительную трудность для терапии. Воздействию препарата мешает плотная кутикула, покрывающая тело клещей. Толщина кутикулы варьирует от 0,11 мкм (толщина скорлупы яиц паразитов) до 0,6 мкм (кутикула взрослых особей в наиболее склерозированных участках). Кутикула клещей рода Demodex имеет три слоя: внешний – эпикутикула, средний – экзокутикула и внутренний – эндокутикула (Верхогляд И.В., 2011). Экзо- и эндокутикула на всем своем протяжении не имеют пор, таким образом, тело клещей труднодоступно для воздействия больших молекул экзогенных веществ, в том числе для акарицидных препаратов. Сообщение с внешней средой клещей происходит путем водного или газового обмена. Все это составляет большую трудность антипаразитарной терапии демодекоза, необходимость назначения длительных курсов терапии и выбора препаратов с минимальным размером молекул (Верхогляд И.В., 2011).

В терапии демодекоза, преимущественно, используют следующие группы препаратов: противовоспалительные, антибактериальные, десенсибилизирующие, антипаразитарные. Важным аспектом является устранение хронических очагов инфекции и лечение сопутствующих заболеваний. Не менее важно проведение профилактических мероприятий.

С целью достижения элиминации клещей применяют антипаразитарные (акарицидные) препараты. На протяжении многих лет наибольшую эффективность доказал метронидазол, являющийся производным нитроимидазольной группы (Потекаев Н.Н., 2000). Данный препарат назначается

курсом от 4 до 6 недель (Жилина В.Г., Скоробогатова В.В., Базыка А.П., 1981; Hsu С.К., Hsu М.М., Lee J.Y., 2009). Установлено, что метронидазол усиливает защитные и регенеративные функции слизистой оболочки желудка и кишечника (Бабаянц Р.С. и соавт., 1983) и вызывает выраженное противоотечное действие (Jansen T., Plewig G., 1996). Препарат обладает бактериостатическим эффектом, затрудняя процессы синтеза ДНК грамотрицательных анаэробных бактерий (Самцов А.В., 2009), а также антипаразитарным в отношении *Demodex folliculorum* (Бабаянц Р.С. и соавт., 1983). В исследованиях Grove D.I. (1997), Nielsen P.G. (1988) доказано супрессивное действие препарата на некоторые показатели клеточного иммунитета, отмечено подавление хемотаксиса лейкоцитов (Nielsen P.G., 1988; Grove D.I., Mahmoud A.A.F., Warren K.S., 1997). Иммуномодулирующее действие препарат оказывает за счет ингибиции факторов роста эндотелия сосудов, препятствуя неоангиогенезу (Тодор Г.Ю. и соавт., 1990). Переносимость препарата в целом удовлетворительная. К побочным эффектам относятся головная боль, тошнота, рвота, сухость во рту, крапивница, кожный зуд, лейкопения, кандидоз (Самцов А.В., 2009). Франкенберг А.А. и соавт. (2007) отмечают, что в последние годы значительно участились неудачи в лечении демодекоза метронидазолом. По его мнению, неэффективность терапии может быть связана с формированием устойчивости бактериально-паразитарной флоры к метронидазолу, применяемому более 40 лет (Франкенберг А.А. и соавт., 2007). Напротив, Юцковская Я.А. и соавт. (2010) отмечают, что при местном применении метронидазола наблюдается хорошая переносимость препарата. Полученное клиническое улучшение выражалось в уменьшении эритемы, папулопустулезных элементов и выраженности воспалительного процесса. Лабораторное выздоровление отмечалось за счет снижения особей *Demodex folliculorum* до 2-3 в соскобе (Юцковская Я.А., Кучая Н.В., Ключник С.Б., 2010).

Также используется орнидазол циклами от 8 до 10 дней. Препарат обладает как противопаразитарным действием, так и бактериостатическим,

повышает активность нейтрофилов, стимулирует адренергические структуры, усиливает репаративные процессы (Гавриленко Я.В. и соавт., 1976; Barnhorst D., Foster J., Chern K., 1996).

При сравнении эффективности применения препаратов орнидазола и метронидазола Франкенбергом А.А. и соавт. (2007) были получены следующие результаты. Терапевтический эффект при применении орнидазола наступает почти в 2 раза быстрее в сравнении с метронидазолом. Переносимость препарата пациентами удовлетворительная. Отмечались незначительные побочные эффекты, среди которых самыми частыми были тошнота и металлический привкус во рту. Показатели анализов крови и мочи пациентов до и после лечения были в пределах нормы. При лечении метронидазолом побочные эффекты отмечались чаще. Среди них: тошнота, металлический привкус во рту, головокружение, развитие кандидоза. В течение 9 месяцев наблюдения за пациентами, принимавшими орнидазол, отмечено отсутствие рецидивов (Франкенберг А.А. и соавт., 2007).

В случае акнеформного типа демодекоза или резистентности к антипаразитарным препаратам целесообразно использовать системные ретиноиды (изотретиноин) в дозировке 0,1-0,5 мг/кг массы тела в сутки в течении 2-4 месяцев (Forton F., 2012).

Антипаразитарными свойствами обладает перметрин (группа пиретроидов). Пиретроиды связываются с липидными структурами мембран нервных клеток, нарушая работу натриевых каналов, которые регулируют поляризацию мембран. Реполаризация мембраны затрудняется, что парализует паразита. Молекулы пиретроидов способны проникать через кутикулу клеща и концентрироваться в гемолимфе (Верхогляд И.В., 2011). 5% крем перметрина наносят дважды в день в течение 15-30 дней. Клинический эффект связан с уменьшением эритемы и регрессом папул (Swenor M.E., 2003; Karıncaoglu M. et al., 2004).

Акарицидную активность оказывают препараты линдан 1%, кротамитон 10%, ивермектин (Forton F., Seys B. et al., 1998; Hsu C.K., Hsu M.M., Lee J.Y., 2009).

Наружная терапия метронидазолом («Клион», «Метрогил», «Розамет») в виде мази или геля в течение 14 дней дала хорошие результаты. Метронидазол обладает действием на неспецифическую резистентность организма и влияет на клеточно-опосредованный иммунитет (Patrizi A., Neri I., Chieregato C., 1997; Pallotta S. et al., 1998). В качестве альтернативной терапии возможно местное применение 10% мази бензилбензоат на ночь (Forton F., Seys B. et al., 1998; Адаскевич В.П., 2000; Елистратова Л.Л., Нестеров А.С., Потатуркина-Нестерова Н.И., 2011). Высокую оценку получил гель «Демотен» (сера, гиалуроновая кислота, сок АлоэВера, поливинилпирролидон) для лечения больных с демодекозом и розацеа (Сирмайс Н.С., Устинов М.В., 2011).

С целью лечения, а также профилактики демодекоза кожи и глаз возможно применение препарата «Гликодем» в форме геля и крем-геля. Он содержит 5-7% метронидазол, гликозаминогликаны, противовоспалительные и антимикробные компоненты, оказывающие мягкое бактериостатическое, противовоспалительное, противоотечное, тонизирующее и восстанавливающее действие на воспаленную кожу век и лица. Препарат «Гликодем» снимает зуд, чувство жжения и дискомфорта, улучшает обменные процессы кожи, стимулирует процессы регенерации.

Хорошие результаты лечения окологлазничной области наблюдаются при применении блефарогеля 1 и 2, блефаролосьона (Полунин Г.С., Сафонова Т.Н., Федоров А.А. и соавт., 2009). Высокую эффективность показал препарат «Спрегаль», содержащий раствор эсдепалетрина и пиперонилабутоксиды. Его используют на пораженные участки кожи, втирая тампоном 1-3 раза в день. Препарат хорошо переносится и не вызывает серьезных побочных эффектов (Данилова А.А., Федоров С.М., 2001; Коган Б.Г., 2002).

Из физиотерапевтических методик рекомендуется использовать свойства узкополосного синего света (405-420 нм). Длины волн голубого света несколько больше длин волн ультрафиолетового излучения, поэтому узкополосный синий свет достигает сетчатого слоя дермы, проникая на глубину до 2,5 мм, соответствующей расположению сальных желез. Также антидемодекозное действие оказывает криотерапия, особенно в сочетании с наружными препаратами, содержащими метронидазол (Адаскевич В.П., 2000; Beridze L.R., Katsitadze A.G., Katsitadze T.G., 2009). Интенсивный импульсный свет (IPL), открытый в 1992 году и имеющий длину волны 515-1200 нм подавляет секрецию сальных желез, приводя к их дальнейшей инволюции, рассасыванию лимфоцитарных инфильтратов и последующей гибели клещей (Prieto V.G. et al., 2002).

Акилов О.Е. (2002) разработал новый способ лечения демодекоза пилокарпиновым гелем с прозеринном. Пилокарпина гидрохлорид обладает выраженным акарицидным действием, а прозерин усиливает действие пилокарпина (Акилов О.Е., 2002). Альбановой В.И. и соавт. (2006) был запатентован препарат МАК (мазевая акарицидная композиция), содержащий салициловую кислоту, окись цинка, серу, деготь, скипидар, ланолин, вазелин и парафин. Мазь рекомендуется наносить вечером (в период активности клещей) на всю кожу лица, за исключением области вокруг глаз на 1,5-2 часа, затем остатки мази смывают. Назначается ежедневно в течение всего периода лечения (не более 30 дней).

Меры профилактики сводятся к соблюдению общегигиенических правил, адекватного и рационального ухода за кожей лица, полноценного питания и отдыха (Wang T.T. et al., 2004). Важно применение защитных средств против ультрафиолетового излучения, а также ограничение пребывания на солнце. Иногда у пациентов проявляются психо-соматические расстройства, связанные с

акарофобией после обнаружения клещей *Demodex spp.*, требующие назначения препаратов, стабилизирующих нервную систему.

Таким образом, применяемые в настоящее время препараты для лечения демодекоза не всегда оказывают желаемый эффект. Нерациональная терапия приводит к хронизации заболевания, а отсутствие клинического эффекта – к усугублению психо-эмоционального статуса больных. Отсутствие четкого алгоритма лечения, большой выбор лекарственных средств влекут за собой низкую приверженность больных терапии.

1.9. Заключение

Папулопустулезные дерматозы, такие как розацеа, периоральный дерматит, себорейный дерматит, розацеоподобный дерматит, демодекозный фолликулит, в связи с их широкой распространенностью в популяции являются весьма актуальной проблемой. По данным современных научных исследований удельный вес акнеподобных дерматозов остается на высоком уровне (Юцковская Я.А., Кучая Н.В., Ключник С.Б., 2010). Учитывая локализацию и социально активный возраст больных, данные дерматозы существенно снижают качество жизни.

На сегодняшний день известно, что определенную роль в развитии дерматозов лица, сопровождающихся появлением папулопустулезных элементов (акне, розацеа, периоральный дерматит), играют клещи рода *Demodex*. Причем, наличие клещей на кожном покрове человека не всегда сопровождается развитием клинической картины заболевания. Можно утверждать, что клещи рода *Demodex* являются условно-патогенными представителями микрофлоры кожи человека.

Постановка диагноза «Демодекоз» (код по МКБ-Х В 88.0 – «Другой акариаз») производится только после подтверждения наличия клещей

лабораторно-инструментальными методами исследования. Имеющиеся методы диагностики демодекоза не удовлетворяют требованиям современной медицины, не гарантируют абсолютной достоверности результатов анализов, нередко травматичны и не объективны. В таком случае, альтернативным направлением в современной инструментальной диагностике может стать конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия, которая позволит выявить клещей рода *Demodex* неинвазивно с высоким процентом достоверности.

В терапии демодекоза, преимущественно, используют следующие группы препаратов: противовоспалительные, антипаразитарные, а также физиотерапевтические методики. Важным аспектом является устранение хронических очагов инфекции и лечение сопутствующих заболеваний. Не менее важно проведение профилактических мероприятий.

Сложности лечения демодекоза и наличие большого разнообразия применяемых средств вызывают необходимость совершенствования терапии и создания стандартизированных терапевтических рекомендаций.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на базе кафедры дерматовенерологии и косметологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на базе кожно-венерологического отделения Федерального государственного бюджетного учреждения «3 Центральный военный клинический госпиталь им. А.А. Вишневского» Министерства обороны Российской Федерации в период с 2013 по 2018 годы.

2.1. Общая характеристика респондентов, вошедших в исследование

За время проведения исследования всего обследовано 212 человек (мужчин и женщин). В исследование были включены здоровые лица, больные с диагнозом розацеа, с наличием и отсутствием клещей рода *Demodex*.

Критерии включения в исследование:

1. Мужчины и женщины с диагнозом розацеа;
2. Возраст старше 18 лет;
3. Информированное согласие на участие в исследовании;
4. Наличие клещей рода *Demodex* у больных розацеа I группы двумя методами исследования (световой микроскопией соскобов и конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопией);
5. Отсутствие клещей рода *Demodex* больных розацеа II группы двумя методами исследования (световой микроскопией соскобов и конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопией);

Критерии невключения:

1. Наличие сопутствующих соматических заболеваний тяжелого течения или неопластического характера;
2. Наличие алкогольной или наркотической зависимости;
3. Беременность и лактация;
4. Сочетанное паразитирование двух видов клещей;

Критерии исключения:

1. Отсутствие желания у пациента продолжать исследование;
2. Возникновение аллергических реакций, а также развитие выраженных побочных эффектов на фоне лечения;
3. Беременность и лактация.

Перед включением в исследование все испытуемые были проинформированы о содержании работы, каждый исследуемый получил «Лист информации участника биомедицинского исследования», подписал информированное согласие о включении в исследование.

2.2. Методы исследования

Социологический: Сбор анамнеза у больных розацеа и здоровых лиц перед включением в исследование и заполнение «Индивидуальной карты». Анкета содержала следующие разделы: паспортная часть, жалобы, анамнез заболевания, аллергический анамнез, объективный статус, status localis, данные инструментально-лабораторных методов исследования, схема терапии.

Клинические: визуальный осмотр, установление диагноза.

Диагноз «Розацеа» устанавливались на основании клинической картины заболевания. Для определения степени тяжести розацеа руководствовались клинико-морфологической классификацией, предложенной Рыжковой Е.И. (1976), которая наиболее полно отражает клинические разновидности заболевания (Рыжкова Е.И., 1976):

- эритематозная;
- папулопустулезная со своеобразной кистозной формой;
- пустулезная;
- инфильтративно-продуктивная.

Всем больным с диагнозом розацеа производилась оценка распространенности морфологических элементов на всей поверхности кожи лица.

Лабораторные:

1. Определение наличия и видовой принадлежности клещей рода Demodex с помощью световой микроскопии соскобов кожи, содержимого сальных желез, волосяных фолликул ресниц и/или бровей, подсчет обнаруженных особей на единицу площади (1 см^2);

2. Определение уровня pH кожи лица.

Инструментальные:

1. Фотографирование больных до и после лечения;
2. Дерматоскопия на цифровой видеокамере «Aramo SG» с определением следующих показателей: влажность, жирность, гладкость, размер пор, пигментация, тип кожи.
3. Исследование кожи лица с помощью конфокальной лазерной сканирующей in vivo микроскопии с определением наличия клещей рода Demodex.

Статистические: Статистическая обработка данных выполнялась программой IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY, USA: IBM Corporation. Данные представлены как медиана \pm стандартное отклонение, а также количество наблюдений и их процентное соотношение. Различия считали достоверными при $p < 0.05$.

Нормальность распределения выборки проверялась с помощью критерия Колмогорова-Смирнова с поправкой Большева. Для сравнения групп и подгрупп по степени тяжести розацеа, распределению клещей рода Demodex, типов кожи и методов исследования на наличие клещей рода Demodex (световая микроскопия

соскобов кожи, конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия), использовали хи-квадрат (χ^2) с описанием наблюдаемых значений, расчетом ожидаемых значений и вычислением хи-квадрата для каждой ячейки и общей хи-квадрат статистики.

Оценку различий между двумя независимыми группами по количественному признаку при отсутствии нормального распределения проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни. Для проверки равенства медиан двух и более групп использовали критерии Крускала-Уоллиса. Для установления различий между двумя зависимыми группами и зависимыми изменениями пользовались W-критерием Вилкоксона. Для определения степени корреляции тяжести розацеа и наличия различных видов клещей рода *Demodex* использовали коэффициент корреляции Спирмена.

2.3. Методика исследования

Клиническая и морфофункциональная оценка состояния кожи лица мужчин и женщин старше 18 лет проводилась на консультативно-диагностическом приеме, до и после лечения. В процессе исследования сформированы три группы: две группы больных (основная и контрольная) и группа сравнения, состоящая из здоровых лиц. Вследствие того, что у 20 больных розацеа клещи рода *Demodex* были обнаружены только одним методом исследования, данные этой группы были использованы для статистической обработки при сравнении эффективности методов диагностики наличия клещей рода *Demodex*

- I группа (основная) – 60 больных розацеа, у которых наличие клещей рода *Demodex* было подтверждено двумя методами исследования (световой микроскопией соскобов и конфокальной лазерной

сканирующей *in vivo* микроскопией), данная группа на время лечения была разделена на две подгруппы:

- подгруппа А (30 человек) получали противопаразитарное лечение в виде 1% ивермектина наружно 1 раз в день в течении 30 дней,
- подгруппа Б (30 человек) получали противопаразитарное лечение в виде метронидазола 250 мг 2 раза в день *per os* в течении 30 дней, наружно – 1% метронидазол 1 раз в день 30 дней.

Наружные препараты использовались больными один раз в сутки на ночь, рекомендовалось наносить их на предварительно очищенную кожу лица тонким слоем. После проведенного антипаразитарного лечения все больные получали соответствующее специфическое лечение розацеа.

- II группа (контрольная группа) - 60 больных с диагнозом розацеа с отсутствием клещей рода *Demodex*. У больных II группы двумя методами исследования клещи рода *Demodex* найдены не были.
- III (группа сравнения) - 72 здоровых добровольца.

2.3.1. Методика определения клещей рода *Demodex* с помощью световой микроскопии соскобов

Наличие клещей рода *Demodex* определяли проведением световой микроскопии соскобов кожи лица, выдавливаем содержимого сальных желез, эпиляцией ресниц и бровей. За два дня до проведения исследования больные не применяли наружных лекарственных средств на кожу лица, в день исследования – не умывались. Исследование проводилось с помощью одноразового скарификатора и пинцета. Материал забирали в местах с наибольшим скоплением сальных желез на лице – крылья носа, подбородок, межбровная область методикой поскабливания, пинцетом выщипывались брови и ресницы. В

заданном месте выбирался участок величиной 1 см^2 и обозначался карандашом. Полученный материал помещался на часовое стекло в каплю 10% раствора КОН и накрывался предметным стеклом на срок двух часов с целью достижения полного растворения эпителиальных клеток. Затем, проводилось микроскопирование материала с обязательным определением видовой принадлежности клещей рода *Demodex* (*Demodex folliculorum longus*, *Demodex folliculorum brevis*) и их количественной нагрузки на единицу площади (1 см^2). Увеличение микроскопа составляло $\times 40$ и $\times 100$. Больные, имеющие количественную нагрузку более 5 взрослых особей клещей на 1 см^2 и клиническую картину заболевания составили первую группу. Через 30 дней после проведенного антипаразитарного лечения была проведена повторная световая микроскопия соскобов.

2.3.2. Методика исследования кожи лица с помощью конфокальной лазерной сканирующей in vivo микроскопии

Оценка параметров кожи проводилась с помощью конфокального лазерного сканирующего in vivo микроскопа VivaScope® 1500 (Lucid Inc., Rochester, NY, USA) в режиме реального времени с помощью пакета программы VivaScan VS 007.11.12.

Принцип работы конфокального микроскопа заключается в способности различных тканей к отражению поляризованного света с возможностью неинвазивной визуализации клеточных структур в режиме реального времени. Сканирующий лазерный конфокальный микроскоп позволяет получать изображения черно-бело-серых оттенков размерами от $3 \text{ мм} \times 3 \text{ мм}$ до $8 \text{ мм} \times 8 \text{ мм}$ (1000 пикселей \times 1000 пикселей), так называемые «оптические срезы» с частотой сканирования до 9 кадров в секунду. Структуры, содержащие меланин и кератин на изображениях имеют белый цвет, воздух и серозная жидкость – черные. Конфокальный лазерный сканирующий in vivo микроскоп VivaScope® 1500 (Lucid® Inc., Rochester, NY, USA) имеет лазерный диод, излучающий

инфракрасные волны, длиной 830 нм. Причем, 830 нм является оптимальным излучением, при котором удастся визуализировать необходимые структуры в коже, но также оно является безопасным, не принося никакого вреда исследуемым. Максимальная выходная мощность лазера равнялась 21,7 mW. Проникающая способность микроскопа составляет 200-300 мкм, то есть, до сосочкового слоя дермы.

Пациент находился в положении лежа на кушетке с целью обеспечения неподвижности при проведении исследования. Стекло микроскопа приклеивали к коже лица акриловым клеем с целью ограничения смещения тканей. Пораженная поверхность кожи располагалась в центре стекла микроскопа. Между поверхностью кожи и датчиком микроскопа находится капля иммерсионного масла. В качестве иммерсионной среды использовали масло Chrodamol STS® или ультразвуковой гель на водной основе, так как их показатель преломления – 1,50 максимально близок к показателю преломления рогового слоя – 1,55.

Исследование патоморфологических характеристик кожи лица проводилось в трех точках (две щеки и лоб), в двух режимах работы микроскопа - VivaBlock и VivaStack. Режим VivaBlock позволяет анализировать горизонтальное изображение кожи на заранее заданной глубине. В данном режиме возможно сделать до 256 последовательных снимков. При использовании VivaStack получается серия снимков от рогового слоя эпидермиса до сосочкового слоя дермы. В режиме VivaCam получали дерматоскопическое изображение исследуемого участка. Производилось сканирование всех слоев эпидермиса до сосочкового слоя дермы. Расстояние срезов от одного снимка до другого равнялось 3 мкм. Была проведена оценка размеров волосяных фолликул, выводных протоков сальных желез, проведена количественная оценка клещей рода Demodex в волосяных фолликулах и выводных протоках сальных желез, глубина залегания клещей, а также количество выводных протоков сальных желез и волосяных фолликул на единицу площади. За единицу площади принимали 1

см². Волосяные фолликулы и выводные протоки сальных желез визуально выглядят резко ограниченными светлыми (при попадании внутрь кислорода) или темными воронкообразными участками. Волосяные фолликулы образованы клетками различного размера, расположенными в зависимости от последовательности их дифференцировки: от маленьких до больших многоугольных клеток. Особенность себоцитов состоит в том, что они имеют высокую преломляющую способность и состоят из центрального круглого темного ядра, окруженного ободком хорошо дифференцированной цитоплазмы (Hofmann-Wellenhof R. et al., 2012). Клещи рода *Demodex* визуализируются округлыми или овальными образованиями.

С помощью конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии всем респондентам, вошедшим в исследование проводился подсчет количества клещей, находящихся в выводном протоке сальной железы или волосяном фолликуле, количество волосяных фолликул и выводных протоков сальных желез на единицу площади, размер клещей, выводных протоков сальных желез и устьев волосяных фолликулов. За единицу площади принимали расстояние равное 5×5 мм, общей площадью 25 мм². Для измерения всех заданных величин использовали программное обеспечение ImageJ, версия 1.34.

2.3.3. Методика оценки морфофункциональных показателей кожи на цифровой видеокамере «Aramo SG»

Оценка морфофункциональных свойств кожи проводилась на цифровой видеокамере «Aramo SG» с использованием программы Skin XP Pro 2.0. Перед исследованием кожа была максимально очищена. Камера находилась в строго вертикальном положении, для исключения дополнительного натяжения кожи при оценке ее рельефа. Эффекты отражения были устранены наличием ультрафиолетового освещения (410 нм, с пиком 470 нм). Таким образом, камера освещала только роговой слой, а отражение нижележащих слоев эпидермиса было

устранено, благодаря чему было получено точное и четкое изображение структуры исследуемого участка кожного покрова. Дерматоскопия на цифровой видеокамере «Aramo SG» предоставляет возможность фотографирования с дальнейшей обработкой полученного изображения, а также интерпретации полученных результатов, приведенных в таблице 2.2.

В ходе первичного осмотра в программу заносилась личная информация о каждом пациенте (фамилия, имя, отчество, возраст, пол, контактные данные, анамнез, фотография), формировалась амбулаторная карта. Таким образом, была создана электронная база респондентов, вошедших в исследование. Создание электронной базы способствует просмотру информации о больном в любой момент времени, а также сравнение изменений морфофункциональных характеристик кожи в процессе наблюдения и лечения.

Таблица 2.1. Параметры микрорельефа, их морфофизиологический смысл

Обозначение параметра	Морфофизиологический смысл параметра
Рельеф	Рельеф кожи, оцененный по объему количества жидкости необходимого, чтобы максимально разгладить рельеф
Морщинистость	Средняя глубина морщин в заданной области измерения
Пористость	Определение размера пор
Шелушение	Наличие или отсутствие участков шелушения

Цифровая видеокамера «Aramo SG» дает возможность проводить следующие исследования на влажность, жирность, определение размера пор, пигментацию, гладкость.

Определение увлажненности кожи проводилось измерителем влажности, который на несколько секунд до появления специфического сигнала контактировал с кожей лица.

Нормативные значения увлажнённости кожи приведены в таблице 2.2.

Таблица 2.2. Пределы нормальных значений увлажнённости кожи (у.е.), согласно программе Skin XP Pro 2.0

Значение	Уровень влажности	Подробная информация	
		45,0 – 99,9	Очень высокий
30,0 – 44,9	Нормальный	40,1- 44,9	Высокий нормальный
		35,1 – 40,0	Средний нормальный
		30,0 – 35,0	Низкий нормальный
0 – 29,9	Низкий	20,1 – 29,9	Низкий
		Ниже 20,0	Очень низкий

Полученные данные каждого пациента сравнивались с нормальными показателями увлажнённости, благодаря чему было оценено объективное состояние кожи.

Для определения жирности кожи применялись одноразовые спонжи, насаженные на держатель спонжа. Розовой поверхностью спонжи прикладывались к поверхности кожи в области U-зоны. Время экспозиции составляло примерно 5 секунд. Затем этой же стороной спонж помещается под камеру с увеличительной линзой ×60 (светодиод синего цвета) на 10-15 секунд, делается фото. Процедуру повторяют с T-зоной. Программа самостоятельно определяет тип кожи пациента.

Для определения рельефа кожи фотографируют участок кожного покрова с использованием увеличительной линзы ×60 (светодиод синего цвета). Программа автоматически анализирует изображение. Полученные результаты представлены в виде графика, а также в форме числового значения. Данные над горизонтальной прямой соответствуют кератину, волосам, воспалительным элементам, под горизонтальной прямой – порам и мелким морщинам.

Определение размера пор. Фотографирование кожи лица производят камерой с линзой ×60 (светодиод синего цвета). При анализе с помощью компьютерной программы результат выдаётся в числовом значении. Доступно сравнение с базой данных программы. Эта функция помогает узнавать больше о состоянии кожи

исследуемого и дополнить информацию по диагностическим критериям типа кожи пациента.

Определение пигментации. Для определения пигментации делают серию фотографий кожи лица камерой с линзой $\times 60$ TPL (светодиод оранжевого цвета). Среднее значение программа формирует автоматически.

Участок кожного покрова фотографируют при помощи камеры с линзой $\times 60$ TPL Lens (светодиод оранжевого цвета). Данная линза имеет поляризацию, благодаря чему появляется возможность анализа состояния капилляров дермы, кератинизации кожного покрова.

По окончании исследования на цифровой видеокамере «Aramo SG», программа Skin XP Pro 2.0 выдает полученный результат, который можно одновременно сравнить с показателями нормы. Результаты представлены в графическом изображении и заносятся в карту пациента автоматически.

Определение pH кожи лица. Для определения pH кожи лица пользовались индикаторными лакмусовыми тест – полосками с шагом равным 0,5 единиц. Тест полоску на 1-2 секунды прикладывали к предварительно очищенному участку кожи лица. Каждому уровню pH соответствует свой определенный цвет. При сравнении изменения цвета лакмусовой тест – полоски и шкалы цвета, определяли соответствующее данному пациенту значение уровня pH кожи лица.

2.3.4. Лечебные схемы

- Подгруппа А – (n=30; 50%) получали противопаразитарное лечение в виде 1% ивермектина в форме крема 1 раз в день в течении 30 дней наружно.
- Подгруппа В – (n=30; 50%) получали противопаразитарное лечение в виде метронидазола 250 мг \times 2 раза в день в течении 30 дней per os, наружно – 1% метронидазол в форме геля 1 раз в день в течении 30 дней.

2.3.5. Описание лекарственных препаратов, вошедших в исследование

Методы лечения были выбраны согласно Клиническим рекомендациям Российского общества дерматологов и косметологов (2015).

«Солантра»

Регистрационный номер: ЛП-003692

Состав: ивермектин 10,0 мг.

Вспомогательные вещества: глицерол 40,0 мг, изопропилпальмитат 40,0 мг, карбомер сополимер тип В 2,0 мг, диметикон 20 Cst 5,0 мг, династрия эдетат 0,5 мг, лимонной кислоты моногидрат 0,5 мг, цетиловый спирт 35,0 мг, стеариловый спирт 25,0 мг, макрогола цетостеалировый эфир 30,0 мг, сорбитана стеарат 20,0 мг, метилпарагидроксибензоат 2,0 мг. Пропилпарагидроксибензоат 1,0 мг, феноксиэтанол 10,0 мг, пропиленгликоль 20,0 мг, олеиловый спирт 20,0 мг, натрия гидроксида раствор 10 % до pH 6,3±0,3, вода очищенная до 1000 мг.

Показания: Лечение воспалительных поражений кожи при розацеа (папуло-пустулезная форма) у взрослых пациентов.

Противопоказания:

- повышенная чувствительность к действующему веществу или любому другому компоненту препарата;
- беременность;
- период грудного вскармливания;
- детский возраст до 18 лет (безопасность и эффективность препарата для данной возрастной категории не изучалась).

Побочные действия: Наиболее частые нежелательные реакции, такие как чувство жжения, раздражение кожи, зуд и сухость кожи были отмечены менее чем у 1 % пациентов.

«Метрогил»

Регистрационный номер: П N011666/01-010411

Состав: Метронидазол 10,0 мг

Вспомогательные вещества: метилпарагидроксибензоат, пропилпарагидроксибензоат, карбомер 940, динатрия эдетат, натрия гидроксид, пропиленгликоль, вода очищенная.

Показания:

- розовые угри (в т.ч. постстероидные);
- вульгарная угревая сыпь;
- жирная себорея, себорейный дерматит.

Противопоказания:

- повышенная чувствительность к компонентам препарата.

Побочные действия: При местном применении риск развития системных побочных эффектов невелик.

Редко могут наблюдаться аллергические реакции (крапивница, кожная сыпь); гиперемия, шелушение, легкая сухость и жжение кожи, слезотечение (если гель нанесен близко к глазам).

«Трихопол»

Регистрационный номер: 014703/01-2003

Состав: Активное вещество: метронидазол 250 мг

Вспомогательные вещества: крахмал картофельный, желатин, патока крахмальная, магния стеарат.

Показания:

- трихомониаз;

— бактериальный вагиноз.

Противопоказания:

— повышенная чувствительность к метронидазолу и другим нитроимидазольным производным, а также к любым другим ингредиентам препарата.

Побочные действия:

Со стороны мочеполовой системы: кандидоз, боль во влагалище.

Аллергические реакции: кожная сыпь, зуд, крапивница, многоформная экссудативная эритема, крайне редко – гнойничковые высыпания.

ГЛАВА III. КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА, ТЕЧЕНИЕ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОЖИ БОЛЬНЫХ И ЗДОРОВЫХ ЛИЦ

3.1. Общая характеристика респондентов, вошедших в исследование

Под наблюдением находилось, в общей сложности, 192 респондента в возрасте от 18 до 69 лет (средний возраст 43.5 ± 5.9). Лиц мужского пола было 82 человек, женского – 110. Диагноз розацеа был выставлен 120 больным.

Распределение больных по полу, возрасту, диагнозу и наличию клещей рода *Demodex* представлено в таблице 3.1

Таблица 3.1. Распределение больных по полу, возрасту, диагнозу и наличию клещей рода *Demodex*

I группа (с наличием клещей рода <i>Demodex</i>)			Всего (n; %)
Пол	Мужчины (n; %)	Женщины (n; %)	
	n=28; 46.7%	n=32; 53.3%	60 (100%)
Возраст \pm SD	47 \pm 10.4	51 \pm 17.6	
II группа (с отсутствием клещей рода <i>Demodex</i>)			60 (100%)
Пол	Мужчины (n; %)	Женщины (n; %)	
	n=24; 40.0%	n=36; 60.0%	72 (100%)
Возраст \pm SD	41 \pm 6.3	33 \pm 2.9	
III группа (здоровые лица)			72 (100%)
Пол	Мужчины (n; %)	Женщины (n; %)	
	n=30; 41.7%	n=42; 58.3%	72 (100%)
Возраст \pm SD	26 \pm 1.4	31 \pm 3.1	

Данные представлены, как среднее значение \pm SD-стандартное отклонение

В первую группу с диагнозом «Розацеа», при наличии клещей рода *Demodex* вошло 28 мужчин (46.7%) и 32 женщины (53.3%). Средний возраст больных данной группы составил 51 год (min=33, max=69).

Во вторую группу с диагнозом «Розацеа» с отсутствием клещей рода *Demodex* вошли 24 мужчины (40%) и 36 женщин (60%), со средним возрастом 39 лет (min=30, max=48).

В третью группу здоровых добровольцев вошли лица с отсутствием диагноза розацеа. Мужчин было 30 человек (41.3%), женщин – 42 человека (58.3%). Средний возраст больных данной группы – 29 лет (min=24, max=34).

3.2. Клиническая картина больных розацеа

Локальный статус (*Status localis*) был описан на первичном приеме больных. Патологический кожный процесс оценивался на лице, после чего данные были занесены в форму первичной документации.

На рисунках 3.1 – 3.6 представлены больные с диагнозами розацеа с наличием и отсутствием клещей рода *Demodex*, вошедшие в I и II группы.



Рисунок 3.1. Больная З., 28 лет, вошедшая во II группу исследования. Диагноз: Розацеа, I степень тяжести.



Рисунок 3.2. Больная А., 32 года, вошедшая во II группу исследования. Диагноз: Розацеа, II степень тяжести.



Рисунок 3.3. Больная К., 35 лет, вошедшая в I группу исследования. Диагноз: Розацеа, IV степень тяжести, ассоциированное с клещами рода *Demodex*. Клещевая нагрузка составила 10 клещей на 1 см² в соскобе



Рисунок 3.4. Больная Н., 64 года, вошедшая во II группу исследования. Диагноз: Розацеа, эритематозно-телеангиэктатическая форма.



Рисунок 3.5. Больной В., 61 год, вошедший в I группу исследования. Диагноз: Розацеа, пустулезная форма, ассоциированное с клещами рода *Demodex*. Клещевая нагрузка составила 12 клещей на 1 см² в соскобе.



Рисунок 3.6. Больной Р., 67 лет, вошедший в I группу исследования. Диагноз: Розацеа, папулезная форма, ассоциированное с клещами рода *Demodex*. Клещевая нагрузка составила 7 клещей на 1 см² в соскобе.

Распределение больных в зависимости от степени тяжести розацеа представлено в таблице 3.2.

Таблица 3.2. Распределение больных розацеа I и II групп по степени тяжести заболевания

Форма заболевания	Эритематозно-телеангиэктатическая	Папулезная	Пустулезная	Инфильтративно-продуктивная	Итого
Группа					
I группа	5 (16.5) [8.02]	8 (15.0) [3.27]	22 (15.5) [2.73]	25 (13.0) [11.08]	60
II группа	28 (16.5) [8.02]	22 (15.0) [3.27]	9 (15.5) [2.73]	1 (13.0) [11.08]	60
Итого	33	30	31	36	120

Таблица содержит следующую информацию: наблюдаемые значения, (ожидаемые значения) и χ^2 статистика для каждой ячейки], $p < 0.05$

χ^2 равен 50.1691, значение $p < 0.00001$. Результат значителен при $p < 0.05$.

Таким образом, отвергая нулевую гипотезу, клещи рода *Demodex* влияют на формирование тяжелых форм заболевания (пустулезная, инфильтративно-продуктивная формы).

Для объективности исследования больные розацеа I и II групп были распределены по выраженности клинических проявлений заболевания розацеа (папулы, пустулы, открытые комедоны, милиум, телеангиэктазии, перифокальная эритема, эксфолиации, пигментация, жирный блеск). Частота встречаемости клинических проявлений розацеа у больных, вошедших в исследование, представлена в таблице 3.3.

Таблица 3.3. Частота встречаемости клинических проявлений розацеа у больных I и II групп

Группа	I группа (%)	II группа (%)	S1 Values	S1 Ranks	S2 Values	S2 Ranks
Морфологические элементы						
Папулы	87	48	48	8.5	19	1.5

Пустулы	72	22	50	10.5	19	1.5
Открытые комедоны	87	41	56	12	22	3
Милиум	50	47	65	13	24	4
Телеангиэктазии	48	50	68	14	30	5
Перифокальная эритема	65	19	72	15	41	6
Экскориации	56	24	82	16	47	7
Пигментация	82	19	87	17.5	48	8.5
Жирный блеск	68	30	87	17.5	50	10.5

Mann-Whitney U Test, two-tailed, $p < 0.05$

<p><i>Для I группы:</i> сумма рангов: 124 значения рангов: 13.78 ожидаемая сумма рангов: 85.5 ожидаемое значение рангов: 9.5 значение U: 2 ожидаемое значение U: 40.5</p> <p><i>Для I и II групп:</i> Сумма рангов: 171 значения рангов: 9.5 стандартное отклонение: 11.3248</p>	<p><i>Для II группы:</i> сумма рангов: 47 значения рангов: 5.22 ожидаемая сумма рангов: 85.5 ожидаемое значение рангов: 9.5 значение U: 79 ожидаемое значение U: 40.5</p>
---	---

Таблица 3.3 подтверждает, что у больных I группы при наличии клещей рода *Demodex* превалировали более тяжелые клинические случаи с наличием глубоких папулопустулезных элементов, узлов, перифокальной эритемы кожи лица, жирного блеска ($p < 0.05$). У больных II группы отмечались папулы, пустулы, небольшое количество телеангиэктазий и пигментации. Значение U равно 2. Критическое значение U при $p < 0.05$ равно 17. Следовательно, результат значителен при $p < 0.05$. Z-значение - 3.35548. Значение $p = 0.00078$. Результат значителен при $p < 0.05$.

При анализе обнаружения клещей рода *Demodex* на ресницах и бровях, диагностически значимого превышения количества клещей выявлено не было. Клещи рода *Demodex* отсутствовали или обнаруживались в количестве 1 особи на 2-4 ресницах. Клинически ни одного случая офтальморозацеа не наблюдалось.

При сравнении количества первичных и вторичных морфологических элементов получена статистическая разница между I и II группами наблюдения. Такие патологические образования, как глубокие папулопустулезные элементы, узлы, эритема кожи лица, жирный блеск более выражены у представителей I группы, что еще раз подтверждает, что наличие клещей рода *Demodex* предрасполагает к возникновению островоспалительных элементов, способствуя развитию более тяжелых клинических форм заболевания.

3.3. Определение видовой принадлежности клещей рода *Demodex*

Видовая принадлежность клещей рода *Demodex* (*Demodex folliculorum longus* и *Demodex folliculorum brevis*) определялась методом световой микроскопии соскобов с последующей световой микроскопией у больных I группы. В 1968 г. Акбулатова Л.Х. дала точное описание двух видов, паразитирующих на коже человека (Акбулатова Л.Х., 1968). Оба вида (*Demodex folliculorum longus*, *Demodex folliculorum brevis*) имеют четкие различия.

Наибольшее количество случаев розацеа у больных I группы было связано с паразитированием *Demodex folliculorum longus* (n=47; 78.3%), *Demodex folliculorum brevis* был обнаружен у 13 больных (21.7%).

При обследовании 72 здоровых лиц методом световой микроскопии соскобов, клещи рода *Demodex* были выявлены в шести случаях (n=6; 8.3%), в остальных 66 случаях (91.7%) выявить клещей не удалось. При определении видовой принадлежности клещей рода *Demodex* у здоровых лиц, выявлено паразитирование *Demodex folliculorum brevis* во всех шести случаях.

3.4. Влияние видовой принадлежности клещей рода *Demodex* на клиническую картину и течение розацеа

Клещи рода *Demodex* сопровождали все случаи розацеа у больных I группы.

Все больные розацеа I группы на первичном приеме были разделены по степени тяжести проявлений заболевания согласно клинической классификации. Среди этих больных было изучено влияние видовой принадлежности клещей рода *Demodex*. Распределение видов клещей рода *Demodex* среди больных розацеа I группы представлено в таблице 3.4 (по классификации Рыжковой Е.И., 1976).

Таблица 3.4. Распределение видов клещей рода *Demodex* среди больных розацеа I группы

Форма заболевания	Эритематозно-телеангиэктатическая	Папулезная	Пустулезная	Инфильтративно-продуктивная	Итого
Вид клеща					
<i>Demodex folliculorum longus</i>	1 (3.92) [2.17]	2 (6.27) [2.90]	21 (17.23) [0.82]	23 (19.58) [0.60]	47
<i>Demodex folliculorum brevis</i>	4 (1.08) [7.85]	6 (1.73) [10.50]	1 (4.77) [2.98]	2 (5.42) [2.16]	13
Итого	5	8	22	25	60

Таблица содержит следующую информацию: наблюдаемые значения, (ожидаемые значения) и [χ^2 статистика для каждой ячейки], $p < 0.05$

χ^2 равен 29.983, значение $p < 0.00001$. Результат значителен при $p < 0.05$.

Анализируя полученные данные, выявлено, что *Demodex folliculorum longus* обнаруживался при всех формах розацеа, но значимо преобладал при инфильтративно-продуктивной форме заболевания ($n=25$; 41.7%) ($p < 0.05$).

Demodex folliculorum brevis обнаруживался при легких формах розацеа (эритематозно-телеангиэктатической и папулезной) (n=10; 16.7%).

Среди больных с диагнозом розацеа при исследовании методом соскоба с последующим проведением световой микроскопии были обнаружены клещи *Demodex folliculorum longus* и *Demodex folliculorum brevis*. Более чем в половине случаев обнаруживался *Demodex folliculorum longus* (n=47; 78.3%). В структуре диагноза розацеа было установлено, что *Demodex folliculorum longus* сопровождает более тяжелые формы заболевания (пустулезную и инфильтративно-продуктивную формы розацеа) (n=21; 35% и n=25; 41.7% соответственно). При исследовании здоровых лиц методом соскоба и световой микроскопии, клещи были выявлены у 6 респондентов (8.3%), по видовой принадлежности во всех трех случаях был обнаружен *Demodex folliculorum brevis*.

Таким образом, установлено, что клещи рода *Demodex folliculorum longus* оказывают непосредственное влияние на клиническую картину розацеа. Более того, тяжесть клинических проявлений заболевания прямо коррелирует с видовой принадлежностью клещей *Demodex* ($r=1$; $p<0.05$; критерий корреляции Спирмена). Обнаружение клещей *Demodex folliculorum longus* при более тяжелых формах розацеа (пустулезная и инфильтративно-продуктивная форма розацеа) дает повод утверждать, что клещ отягощает клинические проявления розацеа, вызывая развитие папул, пустул, узлов.

Обнаружение *Demodex folliculorum brevis* при более легких степенях тяжести розацеа (эритематозно-телеангиэктатическая и папулезная формы розацеа n=10; 16.7%), а также наличие его у здоровых лиц (n=6; 8.3%) свидетельствует о том, что на клиническую картину розацеа *Demodex folliculorum brevis* влияния не оказывает. Обнаружение *Demodex folliculorum brevis* обратно коррелирует со степенью тяжести розацеа ($r=-0.6$; критерий корреляции Спирмена), статистической значимости выявлено не было. Это свидетельствует о том, что *Demodex folliculorum brevis* является сапрофитом кожи лица.

3.5. Морфофункциональные характеристики кожи

Основным питательным материалом для клещей рода *Demodex* является секрет сальных желез, а также кожные чешуйки. На сегодняшний день до конца не известно, какие изменения морфофункциональных характеристик кожи (рН, влажность, жирность, размер пор, гладкость, пигментация) способствуют паразитированию клещей рода *Demodex*.

Для определения морфофункциональных характеристик кожи лица у больных розацеа I и II групп, а также здоровых лиц III группы была проведена дерматоскопия с использованием цифровой видеокамеры «Aramo SG».

На цифровой видеокамере «Aramo SG» у всех исследуемых изучались следующие морфофункциональные характеристики кожи: влажность, жирность, размер пор, гладкость, пигментация. С помощью лакмусовых тест – полосок был измерен уровень рН кожи лица респондентов. Полученные данные внутри групп, а также сравнительные данные между группами представлены в таблице 3.5.

Таблица 3.5. Показатели морфофункциональных характеристик кожи у больных и здоровых лиц (дерматоскопия на цифровой видеокамере «Aramo SG»)

Группа	Группа I	Группа II	Группа III
Морфофункциональные параметры			
Жирность U	27.1±7.8	15.7±2.1	7.9±2.8
Жирность T	39.4±5.4	21.2±6.0	10.7±4.4
Пигментация	45.5±1.2	30.1±3.1	19.2±6.2
Размер пор	32.3±3.7	17.8±1.5	9.8±2.7
Гладкость	47.1±4.0	31.3±4.3	14.4±3.0

Kruskal – Wallis Test; статистически значимые различия между группами $p < 0.05$

Данные представлены, как среднее значение±SD-стандартное отклонение

При сравнительном анализе морфофункциональных характеристик кожи лица больных I, II групп и здоровых лиц (III группа) выявлены статистически

значимые различия между показателями жирности в U и T-зонах, пигментации, размером пор, гладкости.

Кроме того, было отмечено изменение показателей влажности (в I группе – 20.1, во II группе – 42.3, в III группе – 45.7, $p < 0.05$). Статистическая разница в показателях влажности между группами связана с повышенной трансэпидермальной потерей влаги у больных розацеа I и II групп по сравнению со здоровыми лицами.

Повышение уровня жирности кожи у больных розацеа в U- и T-зонах лица связана с повышенной выработкой кожного сала при розацеа.

Статистически достоверная разница гладкости кожи выявлена между тремя группами и связана с наличием воспалительных и не воспалительных первичных и вторичных элементов на коже лица, изменяющих нормальную архитектуру кожи.

Увеличение размеров выводных протоков сальных желез связано с наличием розацеа, повышенной выработкой сальными железами кожного сала, нарушением его оттока и увеличением размеров сальных желез, что создает благоприятные условия не только для формирования заболевания, но и для успешной колонизации клещами рода *Demodex*.

Смещение уровня pH у больных I группы в щелочную сторону говорит о снижении защитных свойств кожи, что, скорее всего, является благоприятным условием для заражения клещами рода *Demodex* (в I группе – 7.1, во II группе – 6.0, в III группе – 5.5).

По данным уровней жирности кожи в U- и T-зонах, цифровая видеокамера «Aramo SG» позволяет автоматически определить тип кожи (нормальная, сухая, жирная, комбинированная). В таблице 3.6 представлено распределение типов кожи у участников, вошедших в группы исследования.

Таблица 3.6. Распределение типов кожи у респондентов

Тип кожи Группа	Нормальная	Сухая	Жирная	Комбинированная	Итого
I группа	2 (20.62) [16.82]	2 (5.62) [2.34]	38 (23.75) [8.55]	18 (10.00) [6.40]	60
II группа	8 (20.62) [7.73]	10 (5.62) [3.40]	34 (23.75) [4.42]	8 (10.00) [0.40]	60
III группа	56 (24.75) [39.46]	6 (6.75) [0.08]	4 (28.50) [21.06]	6 (12.00) [3.00]	72
Итого	66	18	76	32	192

Таблица содержит следующую информацию: наблюдаемые значения, (ожидаемые значения) и χ^2 статистика для каждой ячейки], $p < 0.05$

χ^2 равен 113.6614, значение $p < 0.00001$. Результат значителен при $p < 0.05$.

Анализируя типы кожи у респондентов трех групп, выявлено, что в I и II группах статистически значимо чаще больные имели жирную кожу ($n=38$; 19.8% и $n=34$; 17.7%) ($p < 0.05$). У здоровых лиц III группы статистически достоверно чаще преобладала нормальная кожа ($n=56$; 29.2%) ($p < 0.05$).

Таким образом, у больных розацеа кожа лица является более жирной, чем у здоровых лиц. По полученным данным выявлено, что при наличии клеща у больных имеются статистически достоверное изменение функциональных характеристик кожи.

При сравнении морфофункциональных характеристик кожи лица, полученных на цифровой видеокамере «Aramo SG», выявлены статистические различия между группами. При наличии клеща у больных имеются статистически достоверное изменения морфофункциональных характеристик кожи в сторону ухудшения показателей влажности, жирности, пигментации, размера пор, гладкости кожи ($p < 0.05$) и смещение уровня pH в щелочную сторону по сравнению с больными, не зараженными клещом, и здоровыми. При наличии клещей рода *Demodex* у больных розацеа достоверно чаще встречается жирный тип кожи лица ($p < 0.05$).

Таким образом, в процессе исследования установлено, что у больных розацеа при наличии клещей рода *Demodex* статистически достоверно наличие

клещей рода *Demodex* способствует развитию островоспалительных элементов (глубоких папулопустулезных элементов, узлов), перифокальной эритемы кожи лица, жирного блеска. При сравнении видовой принадлежности, вид клеща *Demodex folliculorum longus*, отягощает клиническую картину розацеа, сопровождая более тяжелые клинические формы заболевания (пустулезная и инфильтративно-продуктивная формы розацеа). Вследствие чего, в проведении анализа на обнаружение клещей рода *Demodex* нуждаются все больные розацеа для определения дальнейшей тактики терапии, а в проведении антипаразитарной терапии нуждаются все больные с диагнозом розацеа, у которых подтвердилось наличие клещей *Demodex folliculorum longus* в соскобе независимо от его количественной нагрузки. При этом, в случаях обнаружения *Demodex folliculorum brevis*, больные розацеа в специфической антипаразитарной терапии не нуждаются, так как данный вид клеща обнаруживался у больных с легкими формами заболевания и у здоровых лиц и является сапрофитом кожи лица.

Исходя из этого, непременно важным является диагностика на наличие клещей рода *Demodex* у всех больных розацеа с обязательным определением их видовой принадлежности.

ГЛАВА IV. ЛАБОРАТОРНАЯ И ИНСТРУМЕНТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА НАЛИЧИЯ КЛЕЩЕЙ РОДА DEMODEX

4.1. Сравнительный анализ методов диагностики наличия клещей рода Demodex

На данный момент, традиционным способом диагностики на наличие клещей рода Demodex является проведение световой микроскопии соскобов кожи с последующим микроскопическим анализом содержимого сальных желез, поверхностных кератиноцитов и эпилированных бровей/ресниц. Сравнение достоинств и недостатков нового метода конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии и традиционного метода световой микроскопии соскобов, являющегося «золотым стандартом» определения клещей рода Demodex, представлено в таблице 4.1

Таблица 4.1. Сравнение методов соскоба с последующей световой микроскопией и конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии в диагностике наличия клещей рода Demodex

Соскоб с последующей световой микроскопией		Конфокальная лазерная сканирующая <i>in vivo</i> микроскопия	
Преимущество	Недостаток	Преимущество	Недостаток
Возможность обнаружения клещей рода Demodex в содержимом сальных желез	Невозможность обнаружения клещей рода Demodex в глубине сально-волосяных фолликул	Получение высококонтрастных изображений с высокой разрешающей способностью	Отсутствие возможности получения вертикальных изображений
Низкая стоимость процедуры	Травматизация эпителия	Трехмерная реконструкция и цифровая обработка изображений	Трудность диагностики на крыльях носа, глазах, бровях

Относительная простота выполнения исследования	Возникновение кровотечения	Возможность обнаружения клещей рода Demodex не только на поверхности кожного покрова, но и в протоке сально-волосяного фолликула	Получение поверхностных изображений (до 200 мкм глубиной)
Возможность определения видовой принадлежности клещей рода Demodex (Demodex folliculorum longus, Demodex folliculorum brevis)	Обследование небольших диффузно расположенных участков	Возможность определения видовой принадлежности клещей рода Demodex (Demodex folliculorum longus, Demodex folliculorum brevis)	Высокая стоимость оборудования и эксплуатации
	Относительная болезненность метода	Возможность оценки окружающих тканей, волокон, сосудов	
	Дискомфорт пациентов	Неинвазивность	
	Затрата времени (от 2 ч до 1 суток)	Отсутствие субъективных ощущений у больных	
	Неполная достоверность полученных результатов анализа	Быстрота выполнения исследования (Real-time)	
	Необходимость предварительной подготовки	Достоверность полученных результатов	

	больных (за два дня до исследования не применять наружных лекарственных средств, в день исследования – не умываться)	анализа	
		Отсутствие необходимости предварительной подготовки больных к исследованию	

Как видно из таблицы, оба метода имеют свои достоинства и недостатки. Обращает внимание то, что конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия имеет на порядок больше преимуществ по сравнению с методом световой микроскопии соскобов.

Настоящее исследование на конфокальном лазерном сканирующем *in vivo* микроскопе VivaScope 1500 ® (Lucid Inc., Rochester, NY, USA) осуществлялось в трех точках (2 щеки и лоб) выбранных случайным образом, в двух режимах работы микроскопа VivaBlock и VivaStack. Кожный покров пациентов визуализировался в виде квадратов, размерами 5мм×5мм, мощность лазера составляла 21,7 mW. С помощью конфокального лазерного сканирующего *in vivo* микроскопа проведен подсчет количества клещей в фолликулах, количество фолликул на единицу площади, определены средние размеры фолликул и клещей, глубина залегания клещей.

Для оценки достоверности метода конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии обследование проводилось во всех трех группах исследуемых и у респондентов, не вошедших в исследование (n=212). Проведено сравнительное исследование по эффективности методов конфокальной лазерной сканирующей *in*

vivo микроскопии и соскоба с последующим микроскопическим исследованием. Полученные данные представлены в таблице 4.2.

Таблица 4.2. Сравнительный анализ методов исследования на наличие клещей рода Demodex в диагностически значимых количествах

Идентификация клещей Demodex (>5 особей на 1см ²)	Положительный анализ	Отрицительный анализ	Итого
Световая микроскопия соскобов			
Больные розацеа	60 (43.58) [6.18]	80 (96.42) [2.79]	140
Здоровые лица	6 (22.42) [12.02]	66 (49.58) [5.43]	72
Итого	66	146	212
Идентификация клещей Demodex (>5 особей на 1см ²)	Положительный анализ	Отрицительный анализ	Итого
Конфокальная лазерная сканирующая in vivo микроскопия			
Больные розацеа	80 (60.75) [6.1]	60 (79.25) [4.67]	140
Здоровые лица	12 (31.25) [11.85]	60 (40.75) [9.09]	72
Итого	92	120	212

Таблица содержит следующую информацию: наблюдаемые значения, (ожидаемые значения) и [χ^2 статистика для каждой ячейки], $p < 0.05$

χ^2 для световой микроскопии соскобов равен 26.4324, результат значителен при $p < 0.05$, χ^2 для конфокальной лазерной сканирующей in vivo микроскопии равен 31.7122, результат значителен при $p < 0.05$.

Сравнивая результаты, полученные методом соскоба и световой микроскопии и конфокальной лазерной сканирующей in vivo микроскопии у больных розацеа и здоровых лиц выявлено, что в большем количестве случаев клещи рода Demodex обнаруживаются методом конфокальной лазерной сканирующей in vivo микроскопии, тогда как соскоб у данных больных был отрицательный ($p < 0.05$). Положительный результат на наличие клещей рода Demodex методом световой микроскопии соскобов имели 60 больных розацеа

(28.3%), методом конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии – 80 больных (37.7%).

Методом конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии также удалось выявить клещей рода *Demodex* у здоровых лиц ($n=12$; 5.7%), причем, при проведении световой микроскопии соскобов клещи рода *Demodex* в количестве 5 особей на 1 см^2 были обнаружены только у шести здоровых лиц ($n=6$; 2.8%), у остальных 66 человек (31.1%) данные световой микроскопии соскобов были отрицательными ($p<0.05$). Полученные данные демонстрируют не только высокую информативность метода конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии, но и его превосходство над микроскопической диагностикой. Положительный результат у здоровых лиц подтверждает предположения некоторых авторов о том, что клещи могут быть сапрофитами (Бутов Ю.С., Акилов О.Е., 2003; Сирмайс Н. С., Абесадзе Г.А., Устинов М.В., 2013).

4.2. Совершенствование лабораторной диагностики по определению клещей рода *Demodex*

В настоящее время нет четких алгоритмов и рекомендаций по порядку проведения световой микроскопии соскобов для определения наличия клещей рода *Demodex*. Забор материала производится стерильным скальпелем с нескольких наиболее пораженных зон лица, а анализ считается положительным при нахождении хотя бы одной особи. При этом в клинической практике диагноз «Демодекоз» не выставляется вообще, а целесообразность назначения противопаразитарного лечения решает врач.

В научной литературе при проведении стандартизированной поверхностной кожной биопсии (SSSB) считается, что клещи рода *Demodex* начинают проявлять патогенные свойства при количественной нагрузке более 5 клещей на 1 см^2

(Forton F., Seys B. 1993). Руководствуясь этими данными, забор материала проводился методом световой микроскопии соскобов на заранее очерченном участке кожи в 1 см^2 . По нашим данным, обнаружить клеща методом световой микроскопии соскобов на 1 см^2 кожи довольно сложно (таблица 4.3).

Таблица 4.3. Обнаружение клещей рода Demodex методом световой микроскопии соскобов

Больные розацеа с наличием клещей рода Demodex	Больные розацеа с отсутствием клещей рода Demodex	Здоровые лица			Итого
		Наличие клещей рода Demodex $>5/\text{см}^2$	Наличие клещей рода Demodex $<5/\text{см}^2$	Отсутствие клещей рода Demodex	
60; 28.3	80; 37.8	2; 0.9	4; 1.9	66; 31.1	212;
60; 28.3	80; 37.8	72; 33.9			100

Таблица содержит следующую информацию: n=количество наблюдений; процентное соотношение (%)

За время исследования метод световой микроскопии соскобов кожи с целью обнаружения клещей рода Demodex был проведен 212 респондентам, включая больных розацеа и здоровых лиц. Причем, клещи рода Demodex в диагностически значимом количестве (>5 особей на 1 см^2) выявились у 60 больных розацеа (28.3%), вошедших в I группу. У 80 больных розацеа (37.8%) клещи рода Demodex отсутствовали вовсе при развернутой клинической картине заболевания.

Интересные данные получены при обследовании здоровых лиц. Отрицательный анализ на наличие клещей рода Demodex имели 66 человек

(31.1%), при этом, клещи рода *Demodex* обнаруживались в диагностически значимом количестве (более 5 особей на 1 см²) у двоих исследуемых (0.9%), у четверых респондентов клещи обнаружались в количестве менее 5 особей на 1 см² (1.9%). Учитывая способность клещей к передвижению по поверхности кожного покрова со скоростью 8-16 мм/ч (Hoekzema R. Et al., 1995; Demler M., de Kaspar H.M., 1997), а также случайный выбор исследуемого участка, данный факт не доказывает отсутствие клещей. Учитывая видовую принадлежность клещей рода *Demodex* у здоровых лиц (у всех был обнаружен *Demodex folliculorum brevis*), отсутствие клинической картины заболевания подтверждает, что данный вид относится к сапрофитам кожи лица.

При исследовании тех же респондентов методом конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии, были получены следующие данные (таблица 4.4):

Таблица 4.4. Обнаружение клещей рода *Demodex* методом конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии

Больные розацеа с наличием клещей рода <i>Demodex</i>	Больные розацеа с отсутствием клещей рода <i>Demodex</i>	Здоровые лица		Итого
		Наличие клещей рода <i>Demodex</i> >5/см ²	Отсутствие клещей рода <i>Demodex</i>	
80; 37.8	60; 28.3	12; 5.7	60; 28.3	212; 100
80; 37.8	60; 28.3	72; 34		

Таблица содержит следующую информацию: n=количество наблюдений; процентное соотношение (%)

При анализе данных таблицы 4.4 обращает на себя внимание тот факт, что методом конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии удастся детально проанализировать большую поверхность кожного покрова, просмотреть

большое количество выводных протоков сальных желез и волосяных фолликул. Менее 5 особей клещей на 1 см² ни в одном случае обнаружено не было.

Таким образом, конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия, являясь более точным методом диагностики на наличие клещей рода *Demodex* по сравнению со световой микроскопией соскобов, доказывает, что при наличии хотя бы одного клеща в соскобе, имеется высокая вероятность паразитирования клещей в других местах кожи лица или в недоступных для соскоба зонах.

Забор материала с разных зон лица при проведении световой микроскопии соскобов на наличие клещей рода *Demodex* увеличивает вероятность обнаружения клещей. Отрицательный анализ световой микроскопии соскобов на наличие клещей рода *Demodex* не доказывает его достоверного отсутствия на коже, поэтому также важным является анализ биологического материала с нескольких областей лица, проведение нескольких последовательных соскобов или подтверждение наличия/отсутствия клещей рода *Demodex* другим диагностическим методом.

4.3. Конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия в диагностике наличия клещей рода *Demodex*

При проведении конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии клещи рода *Demodex* были обнаружены у всех больных розацеа I группы (n=60) и у здоровых лиц (n=12).

Данные, полученные двумя методами исследования – соскобом с последующей микроскопией и конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопией на наличие клещей рода *Demodex* совпали у больных I группы. Опровергая данные, полученные при проведении световой микроскопии соскобов, методом конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии клещи рода *Demodex* были также найдены у больных розацеа II группы (n=20;

9.4%) и у здоровых лиц в большем количестве случаев ($n=12$; 5.7%). Клещи рода *Demodex* определялись в виде округлых или длинных конусообразных образований в устьях волосяных и сальных желез с наличием контурации по периферии (рисунок 4.1) в количестве от одной до 25 особей (в среднем 3.37).

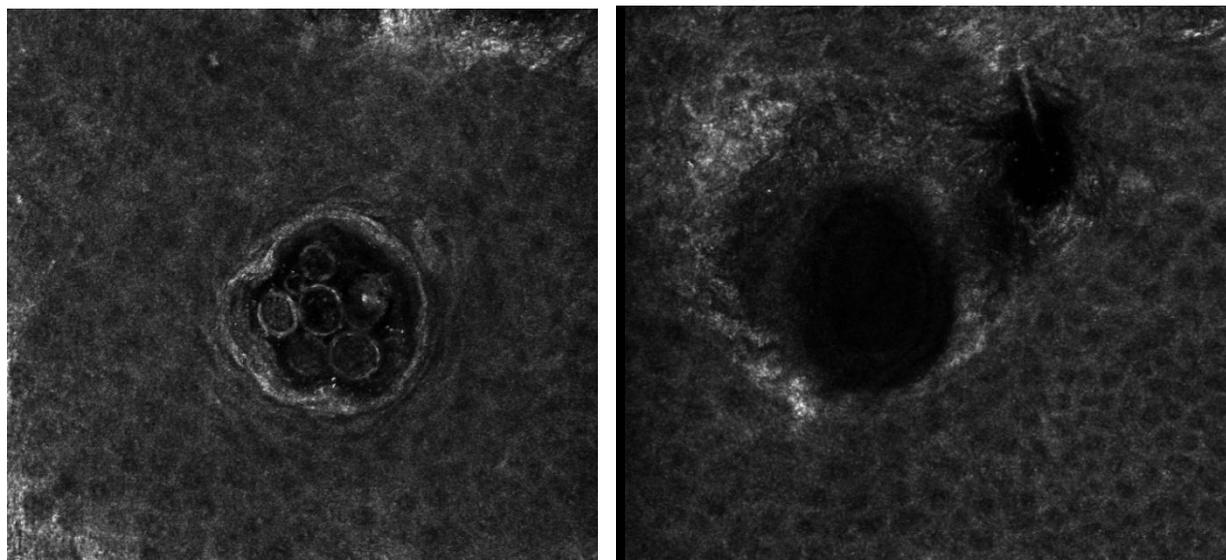


Рисунок 4.1. Изображения, полученные на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе VivaScope 1500 ® (Lucid Inc., Rochester, NY, USA). Волосяные фолликулы и протоки сальных желез с наличием (слева) и отсутствием (справа) клещей рода *Demodex*

Получая поочередно снимки всех слоев эпидермиса с шагом в 3 мкм, конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия позволяет обнаружить клеща на глубине залегания, недоступного для скарификации, как, например, в протоках сальных желез. Клещ регистрировался на всем протяжении эпидермиса. Средняя глубина залегания клещей составляет 46.63 ± 6.78 мкм, что соответствует уровню шиповатого слоя эпидермиса. Пенетрации паразита в верхние слои дермы выявлено не было.

Использование конфокального лазерного сканирующего *in vivo* микроскопа позволило определить средние размеры клещей рода *Demodex*. При определении размеров клещей от 100 до 200 мкм, считали, что в данном случае наблюдается *Demodex folliculorum brevis*, при этом, средняя длина клеща равнялась 125 мкм; от 200 до 400 мкм – *Demodex folliculorum longus* со средней длиной 293 мкм.

При сравнении данных, полученных с помощью конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии с данными, полученными при проведении соскоба и световой микроскопии, было выявлено, что результаты обследования больных розацеа совпали. У здоровых лиц во всех случаях обнаруживался *Demodex folliculorum brevis* (n=12; 5.7%), что подтверждает, что этот вид может быть сапрофитом и не вызывать заболевания, либо сопровождать более легкие клинические формы розацеа.

На уровне шиповатого слоя, там, где чаще всего обнаруживается клещ рода *Demodex*, так же измерялась ширина клещей. Средний размер ширины клещей рода *Demodex* был равен 24 мкм.

При измерении размеров устьев волосяных фолликул и оценке количества фолликул на единицу площади, за которую принимали случайным образом выбранный участок, равный 25 мм², выявлены статистически значимые различия между тремя группами. Установлено, что размеры устьев фолликул и их количество на единицу площади во всех трех группах достоверно отличаются (таблицы 4.5, 4.6).

Таблица 4.5. Диаметр устьев фолликул и выводных протоков сальных желез в группах исследования

I группа (мкм)	II группа (мкм)	III группа (мкм)
145.1±25	89.4±32	72.2±29

Kruskal – Wallis Test; статистически значимые различия между группами p<0.05
Данные представлены, как среднее значение±SD-стандартное отклонение

При анализе различий между диаметром устьев фолликул и выводных протоков сальных желез выявлена статистически достоверная разница между всеми тремя группами ($p < 0.05$).

Таблица 4.6. Количество фолликул и выводных протоков сальных желез в группах исследования на единицу площади (25 мм^2)

I группа	II группа	III группа
324.3 ± 11	114.0 ± 6	28.4 ± 7

Kruskal – Wallis Test; статистически значимые различия между группами $p < 0.05$

Данные представлены, как среднее значение \pm SD-стандартное отклонение

Статистически достоверная разница выявляется также при сравнении количества фолликул и выводных протоков сальных желез между респондентами трех групп ($p < 0.05$). Наибольший размер устьев волосяных фолликул и выводных протоков сальных желез имели больные I группы, ассоциированные с клещами рода *Demodex*. Данный факт дает возможность предположить, что анатомически большой размер пор является благоприятным условием для инвазии клещей, либо под воздействием эндогенных факторов, а также повышенной выработки кожного сала происходит компенсаторное растяжение и увеличение размеров сальных желез, что создает благоприятные условия для последующей колонизации клещами рода *Demodex*.

Полученные данные доказали высокую информативность конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии в диагностике наличия клещей рода *Demodex* и ее превосходство над световой микроскопической диагностикой. Конфокальный лазерный сканирующий *in vivo* микроскоп дает возможность визуализировать клещей, находящихся в более глубоких слоях кожи, недоступных для скарификации.

Данный метод обладает высоким потенциалом диагностических возможностей, а именно, дает возможность сканировать различные слои кожи,

что позволяет определить глубину залегания клещей (уровень шиповатого слоя эпидермиса); подсчитать количество и установить размер клещей, таким образом, полностью сочетая в себе совокупность различных методов диагностики в дерматологии (световая микроскопия соскобов, дерматоскопию, гистологическое исследование). Отсутствие травматизации эпителия и болезненности процедуры являются дополнительными преимуществами метода.

В результате исследования больных розацеа и здоровых лиц установлена высокая информативность и специфичность конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии в диагностике наличия клещей рода *Demodex* и его преимущества над обычной световой микроскопией соскобов.

ГЛАВА V. АНТИПАРАЗИТАРНАЯ ТЕРАПИЯ У БОЛЬНЫХ РОЗАЦЕА

В настоящее время, «золотым стандартом» и единственным рекомендованным препаратом для элиминации клещей рода *Demodex* является метронидазол. При проведении антипаразитарной терапии используются как наружные формы лекарственных средств, содержащие 0,75 – 1% метронидазола, так и системное использование метронидазола в форме таблеток. Препарат сам по себе оказывает много побочных действий, имеет ряд противопоказаний и в отдельных случаях субъективно плохо переносится больными. Учитывая то, что актуальной темой в медицине всегда является поиск новых методов лечения, оказывающих наименее отрицательное воздействие на организм, в исследовании поставлена задача оценить эффективность наружной терапии с целью элиминации клещей рода *Demodex* препаратом, обладающим антипаразитарным действием, основным действующим веществом которого является 1% ивермектин, в сравнении с традиционной терапией, включающей комбинированное использование препарата метронидазол.

Анализ эффективности будет основываться на результатах сравнения до и после проведенной терапии жалоб больных, клинических проявлений заболевания, морфофункциональных характеристик кожи лица, полученных при дерматоскопии на цифровой видеокамере «Aramo SG», микроскопического исследования методом соскоба кожи, эпиляции бровей и ресниц, выдавливания содержимого сальных желез и инструментального исследования с помощью конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии на наличие клещей рода *Demodex*.

На данном этапе в исследование вошли больные розацеа, ассоциированные с клещами рода *Demodex*, удовлетворяющие следующим условиям:

- положительный результат светового микроскопического исследования соскобов кожи на наличие клещей рода *Demodex*;
- положительный результат исследования на наличие клещей рода *Demodex* методом конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии;
- отсутствие системного приема других медицинских препаратов;
- завершение клинического исследования без нарушений протокола.

После получения положительного результата исследований на наличие клещей рода *Demodex* двумя методами исследования, больные были рандомизированы по схемам лечения на две равные подгруппы (А и В соответственно) по 30 человек в каждой методом конвертов.

Пациенты, вошедшие в подгруппу А, получали только наружную терапию препаратом, содержащим 1% ивермектин в виде крема 1 раз в день в течении 30 дней.

Пациенты, включенные в подгруппу В, получали препарат, содержащий 250 мг метронидазола системно 2 раза в день, наружно – 1% метронидазола в форме геля 1 раз в день в течение 30 дней.

Повторный визит больных состоялся через 30 дней непрерывной терапии, после чего все больные получали соответствующее специфическое лечение розацеа.

Субъективно обе схемы лечения больными переносились хорошо, побочных эффектов отмечено не было, ни один пациент не был исключен из исследования.

Результаты повторной световой микроскопии соскобов кожи на наличие клещей рода *Demodex* после окончания лечения представлены в таблице 5.1. Клещи рода *Demodex* в соскобах после лечения в двух подгруппах отсутствовали примерно в равном количестве случаев (45% и 33,3% случаев соответственно). Причем, у одного больного подгруппы А клещ рода *Demodex* был найден на границе роста волос. То есть, под воздействием наружной противопаразитарной

терапии, клещ мигрировал в зону, не обрабатываемую препаратом. У шести больных при световой микроскопии был выделен *Demodex folliculorum longus* в количестве менее 5 особей на 1см².

Таблица 5.1. Данные световой микроскопии соскобов кожи на наличие клещей рода *Demodex* у больных подгрупп А, В после терапии

Наличие клещей рода <i>Demodex</i> Подгруппа	Наличие клещей рода <i>Demodex</i>	Отсутствие клещей рода <i>Demodex</i>	Итого
Подгруппа А	3 (6.5) [1.88]	27 (23.5) [0.52]	30
Подгруппа В	10 (6.5) [1.88]	20 (23.5) [0.52]	30
Итого	13	47	60

Таблица содержит следующую информацию: наблюдаемые значения, (ожидаемые значения) и [χ^2 статистика для каждой ячейки], $p < 0.05$

χ^2 равен 4.8118, значение $p < 0.00001$. Результат значителен при $p < 0.05$.

Результаты инструментального исследования больных, проведенного с помощью конфокального лазерного сканирующего *in vivo* микроскопа, после лечения представлены в таблице 5.2.

Таблица 5.2. Данные конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* на наличие клещей рода *Demodex* у больных подгрупп А, В после терапии

Наличие клещей рода <i>Demodex</i> Подгруппа	Наличие клещей рода <i>Demodex</i>	Отсутствие клещей рода <i>Demodex</i>	Итого
Подгруппа А	9 (14.5) [2.09]	21 (15.5) [1.95]	30
Подгруппа В	20 (14.5) [2.09]	10 (15.5) [1.95]	30
Итого	29	31	60

Таблица содержит следующую информацию: наблюдаемые значения, (ожидаемые значения) и [χ^2 статистика для каждой ячейки], $p < 0.05$

χ^2 равен 8.0756, значение $p < 0.004486$. Результат значителен при $p < 0.05$.

Таким образом, после проведения терапии больным розацеа, ассоциированного с клещами рода Demodex, клещи рода Demodex были обнаружены двумя методами. Сравнивая частоту обнаружения клещей при проведении соскоба кожи и световой микроскопии с конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопией (таблица 5.3), можно сделать вывод, что конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия дает более точный результат обнаружения клещей рода Demodex ($p < 0.05$).

Таблица 5.3 Сравнение методов обнаружения клещей рода Demodex в обеих подгруппах

Наличие клещей рода Demodex	Наличие клещей рода Demodex	Отсутствие клещей рода Demodex	Итого
Метод исследования			
Световая микроскопия соскобов кожи	13 (21) [3.05]	47 (39) [1.64]	60
Конфокальная лазерная сканирующая <i>in vivo</i> микроскопия	29 (21) [3.05]	31 (39) [1.64]	60
Итого	42	78	120

Таблица содержит следующую информацию: наблюдаемые значения, (ожидаемые значения) и [χ^2 статистика для каждой ячейки], $p < 0.05$

χ^2 равен 9.3773, значение $p < 0.002197$. Результат значителен при $p < 0.05$.

При сравнении эффективности проведенной терапии, выявлено, что статистически достоверно чаще клещи рода Demodex обнаруживались после проведенной терапии методом конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии ($p < 0.05$), что еще раз демонстрирует превосходство конфокальной

лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии над методом световой микроскопии соскобов кожи.

При анализе полученных данных, можно констатировать, что высокую противопаразитарную эффективность имели оба метода лечения. Учитывая то, что статистически достоверной разницы при отрицательных анализах на наличие клещей рода *Demodex* при проведении как лабораторной, так и инструментальной диагностики выявлено не было, можно говорить о высокой противопаразитарной эффективности топического препарата, содержащего 1% ивермектин в сравнении с комбинированным лечением системным препаратом метронидазола и топическим средством, содержащим 1% метронидазола.

Для сравнительной оценки эффективности методов лечения в подгруппах А и В на следующем этапе сопоставлялась клиническая картина больных розацеа, ассоциированного с клещами рода *Demodex* до и после лечения.

Как видно из таблицы 5.4, после лечения статистически достоверно снизились жалобы больных на высыпания, жжение, боль, зуд, красноту. Причем, у больных подгруппы А снизились жалобы на жирный блеск кожи, что является дополнительным преимуществом топической терапии. Полученные результаты представлены в таблице 5.4.

Таблица 5.4. Сравнение субъективных жалоб больных розацеа, ассоциированного с клещами рода *Demodex* до и после лечения

Подгруппы (до и после лечения)	Подгруппа А		Подгруппа В	
	До лечения (%)	После лечения (%)	До лечения (%)	После лечения (%)
Жалобы				
Высыпания	100	73	100	66
Боль	69	33	76	32
Жжение	60	36	64	31
Краснота	68	40	71	40
Зуд	72	22	55	12

Пигментация	44	24	35	18
Наличие корочек/эксориаций	45	32	39	20
Сосудистые звездочки	63	41	57	41
Жирный блеск кожи	74	38	68	37

Wilcoxon Test; two-tailed; $p < 0.05$

<p><i>Для подгруппы А:</i></p> <p>W-значение: 0</p> <p>Разница значений: 33.11</p> <p>Сумма позитивных рангов: 45</p> <p>Сумма негативных рангов: 0</p>	<p><i>Для подгруппы В:</i></p> <p>W-значение: 0</p> <p>Разница значений: 30.78</p> <p>Сумма позитивных рангов: 45</p> <p>Сумма негативных рангов: 0</p>
---	---

Для подгрупп А и В, значение W в тесте Вилкоксона равно 0. Критическое значение W для $n=9$ при $p \leq 0.05$ – 5. Таким образом, результат значителен при $p < 0.05$. Объективный анализ клинической картины больных розацеа, ассоциированного с клещами рода *Demodex*, после проведенной терапии показал, что достоверно регрессировали следующие морфологические элементы в подгруппах А и В: папулы, пустулы, перифокальная эритема, эксориации ($p < 0.05$) по сравнению с первоначальными данными (таблица 5.5).

Таблица 5.5. Частота встречаемости клинических проявлений розацеа до и после лечения у больных подгрупп А и В

Подгруппы (до и после лечения)	Подгруппа А		Подгруппа В	
	До лечения (%)	После лечения (%)	До лечения (%)	После лечения (%)
Морфологические элементы				
Папулы	100	43	74	48
Пустулы	82	30	63	42
Открытые комедоны	87	42	87	47
Милиум	60	23	41	14

Телеангиэктазии	41	14	56	12
Перифокальная эритема	56	20	75	36
Экскориации	45	11	68	21
Пигментация	74	53	90	63
Жирный блеск	65	25	72	56

Wilcoxon Test; two-tailed; $p < 0.05$

<p><i>Для подгруппы А:</i></p> <p>W-значение: 0</p> <p>Разница значений: 37.78</p> <p>Сумма позитивных рангов: 45</p> <p>Сумма негативных рангов: 0</p>	<p><i>Для подгруппы В:</i></p> <p>W-значение: 0</p> <p>Разница значений: 27.56</p> <p>Сумма позитивных рангов: 45</p> <p>Сумма негативных рангов: 0</p>
---	---

Для подгрупп А и В, значение W в тесте Вилкоксона равно 0. Критическое значение W для $n=9$ при $p \leq 0.05$ – 5. Таким образом, результат значителен при $p < 0.05$. При сравнении данные до и после лечения методом подсчета клинических проявлений заболевания согласно шкале оценки тяжести розацеа, было выявлено, что после лечения клиническая картина заболевания улучшилась (таблица 5.5), таким образом, можно сделать вывод, что после элиминации клещей рода *Demodex* клиническая картина заболевания улучшилась, таким образом подтвердить роль клещей рода *Demodex* в отягощении клинического течения процесса.

При проведении дерматоскопии на цифровой видеокамере «Aramo SG» в подгруппа А и В были получены данные, представленные в таблице 5.6.

Таблица 5.6. Морфофункциональные характеристики кожи у больных розацеа, ассоциированного с клещами рода *Demodex* подгрупп А и В до и после лечения (дерматоскопия на цифровой видеокамере «Aramo SG»)

Подгруппы (до и после лечения)	Подгруппа А	Подгруппа В
--------------------------------	-------------	-------------

Морфофункциональные характеристики	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
pH	6.7±0.8	6.1±0.4	7.0±0.6	6.4±0.2
Жирность U	26.9±1.7	16.9±2.4	27.3±2.6	14.2±3.1
Жирность T	40.4±2.6	24.2±1.9	38.7±4.1	24.1±5.3
Пигментация	49.6±9.4	40.6±8.4	43.5±2.8	34.3±7.0
Размер пор	35.0±4.6	28.1±2.0	31.2±5.1	27.6±4.7
Гладкость	48.4±3.7	30.1±1.4	45.9±5.1	32.8±2.8

Wilcoxon Test; two-tailed; $p < 0.05$

<p><i>Для подгруппы А:</i></p> <p>W-значение: 0</p> <p>Разница значений: 17.6</p> <p>Сумма позитивных рангов: 21</p> <p>Сумма негативных рангов: 0</p>	<p><i>Для подгруппы В:</i></p> <p>W-значение: 0</p> <p>Разница значений: 18.07</p> <p>Сумма позитивных рангов: 21</p> <p>Сумма негативных рангов: 0</p>
--	---

Для подгрупп А и В, значение W в тесте Вилкоксона равно 0. Критическое значение W для $n=6$ при $p \leq 0.05$ – 0. Таким образом, результат значителен при $p < 0.05$. Из таблицы видно, что после проведенной терапии достоверно значимо изменились морфофункциональные характеристики кожи в сторону улучшения показателей у больных подгрупп А и В - снизилась жирность кожи в U и T-зонах, уменьшилась пигментация кожи, размер пор, кожа лица стала более гладкая. Кроме того, улучшилась влажность кожи в подгруппе А (19.7±4.1 до лечения и 30.2±5.1 после лечения), в подгруппе В (20.4±3.3 до лечения и 28.3±6.1 после лечения). У больных подгруппы А снизилось значение pH кожи лица ($p < 0.05$).

Анализируя клиническую картину больных розацеа в зависимости от видовой принадлежности клещей рода *Demodex* было выявлено, что у больных при наличии клещей *Demodex folliculorum brevis*, несмотря на отсутствие субъективных жалоб, и улучшении морфофункциональных характеристик кожи, клиническая картина заболевания оставалась практически на неизменном уровне, несмотря на то, что удалось добиться лабораторного излечения больных. Этот

факт свидетельствует о том, что клещи *Demodex folliculorum brevis*, по-видимому не несут патогенных свойств и не способны ухудшать течение розацеа (таблица 5.7).

Таблица 5.7. Результаты антипаразитарного лечения больных в зависимости от видовой принадлежности клещей рода *Demodex*

Исход заболевания	Ремиссия	Клиническое улучшение	Отсутствие эффекта	Итого
Вид клеща				
<i>Demodex folliculorum longus</i>	2 эритематозно-телеангиэктатическая форма – 1; папулезная форма – 1	44 пустулезная форма - 21; инфильтративно-продуктивная форма - 23	1 папулезная форма - 1	47
<i>Demodex folliculorum brevis</i>	3 пустулезная форма - 1; инфильтративно-продуктивная форма - 2	10 эритематозно-телеангиэктатическая форма – 4; папулезная форма – 6	0	13
	5	54	1	60

После проведенного антипаразитарного лечения, у двух больных с диагнозом розацеа была выявлена клиническая ремиссия (эритематозно-телеангиэктатическая и папулезная формы заболевания). В соскобах кожи ранее был выявлен *Demodex folliculorum longus*. Клиническое улучшение отмечалось у 44 (73.3%) больных розацеа (пустулезная и инфильтративно-продуктивная формы), у которых ранее был выявлен *Demodex folliculorum longus*. После лечения *Demodex folliculorum longus* был выявлен методом конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии у 14 (23.3%) больных с клиническим улучшением картины заболевания. Отсутствие эффекта от лечения было зафиксировано у 1 (1.7%) больного с папулезной формой розацеа. В анализах обнаружен *Demodex folliculorum longus*.

У всех больных розацеа с наличием *Demodex folliculorum brevis* клещ был обнаружен после лечения (13; 21.6%). Полная ремиссия была зафиксирована у 3 (5%) больных розацеа (пустулезная и инфильтративно-продуктивная формы), клинической улучшение с регрессом патологических элементов наблюдалось у 10 (16.7%) больных (эритематозно-телеангиэктатическая и папулезная формы заболевания).

Таким образом, еще раз подтверждая, что *Demodex folliculorum longus* способен утяжелять клиническое течение розацеа, а также более тяжело поддается терапии. Вероятно, возможность клеща мигрировать в зоны труднодоступные для обработки антипаразитарными препаратами дает возможность в дальнейшем развитию хронических и резистентных форм, трудно поддающихся терапии. Частота обнаружение клещей рода *Demodex* после проведенной антипаразитарной терапии в зависимости от видовой принадлежности представлена в таблице 5.8:

Таблица 5.8. Видовая принадлежность клещей рода *Demodex* после проведенной антипаразитарной терапии

Форма заболевания	Эритематозно-телеангиэктатическая	Папулезная	Пустулезная	Инфильтративно-продуктивная	Итого
Вид клеща					
<i>Demodex folliculorum longus</i>	0	1; 1.7	9; 15	6; 10	16; 26.7
<i>Demodex folliculorum brevis</i>	4; 6.6	6; 10	1; 1.7	2; 3.3	13; 21.6
Отсутствие клещей	1; 1.7	1; 1.7	12; 20	17; 28.3	31; 51.7
Итого	5; 8.3	8; 13.4	22; 36.7	25; 41.6	60; 100

Таблица содержит следующую информацию: n=количество наблюдений; процентное соотношение (%)

Оценивая результаты лечения больных розацеа, ассоциированного с клещами рода *Demodex*, можно констатировать, что эффективность терапии в обеих подгруппах была равной. Данное положение складывается из отрицательных результатов микроскопического исследования и инструментального исследования с помощью конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии на наличие клещей рода *Demodex*, уменьшении жалоб больных, анализа остаточных клинических проявлений, улучшения морфофункциональных характеристик кожи после лечения.

Анализ клинической картины показал положительную динамику терапии, которая проявлялась в достоверном снижении количества морфологических элементов, характеризующих остроту воспаления ($p < 0.05$). Эффективность терапии подтверждалась уменьшением субъективных жалоб больных после проведенного лечения, причем, у пациентов, получавших только наружную терапию, отсутствовали жалобы на ощущение жирности кожи и появление жирного блеска, что является дополнительным преимуществом. После проведения антипаразитарной терапии статистически улучшились морфофункциональные параметры кожи ($p < 0.05$). Таким образом, клинические наблюдения продемонстрировали отсутствие превосходства в комбинированной терапии с использованием системного препарата метронидазола, по сравнению с наружной терапией с использованием препарата, содержащего 1% ивермектин в виде крема, что подтверждено результатами статистического анализа.

При сравнении частоты обнаружения клещей рода *Demodex* у больных после терапии на повторном приеме, выявлено, что при использовании конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии, клещи обнаруживались чаще. Это еще раз доказывает превосходство данного метода исследования перед проведением соскоба кожи и световой микроскопии.

Проведенное нами исследование доказало, что применение наружного средства, содержащего 1% ивермектин в течение 30 дней по эффективности

сравнимо с комбинированным лечением с применением системного препарата метронидазола 250 мг per os в течение 30 дней. Наружное применение 1% ивермектина оказывает выраженное антипаразитарное действие, улучшает морфофункциональные параметры кожи лица, благоприятствует регрессу воспалительных элементов, дает возможность снизить риск развития побочных эффектов терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проблема розацеа остается актуальной по сей день. Отсутствие достоверных знаний о патогенезе и морфофункциональных изменениях тканей кожи, происходящих при наличии данной патологии, диктует необходимость применения совершенно новых методов исследования. Несмотря на достаточный объем научного материала по изучению розацеа, до сих пор до конца не выяснены основные причины, приводящие к формированию патологического процесса на коже лица, поддержанию стойкого воспаления, а также частым рецидивам. Существуют различные теории, по одной из которых, розацеа сопровождается клещ-железница - *Demodex*, являющийся одной из этиопатогенетических причин формирования заболевания. Клещи рода *Demodex* являются условно-патогенными представителями микрофлоры кожи лица человека. Хотя данные клещи являются достаточно изученными, многие вопросы до сих пор остаются неясными. В частности, в работе изучался вопрос о разнообразии клинической картины розацеа в зависимости от видовой принадлежности клещей рода *Demodex*. Актуальным является поиск нетравматичных и достоверных способов поиска клещей на поверхности кожи лица, а также оценки кожных изменений. Одним из современных методов, является применение конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии. Конфокальный лазерный сканирующий *in*

vivo микроскоп - инновационный метод исследования кожных изменений, преимуществом которого является неинвазивность и высокая информативность.

Работа была выполнена на базе кафедры дерматовенерологии и косметологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на базе кожно-венерологического отделения Федерального государственного бюджетного учреждения «3 Центральный военный клинический госпиталь им. А.А. Вишневского» Министерства обороны Российской Федерации. За время проведения исследования всего обследовано 212 человек (мужчин и женщин). В исследование были включены здоровые лица, больные с диагнозом розацеа, с наличием и отсутствием клещей рода *Demodex*, которые были разделены на три группы и две подгруппы.

При анализе клинической картины поражений кожи лица и тяжести патологического процесса при розацеа установлено, что клещи рода *Demodex* вызывают стойкое развитие островоспалительных морфологических элементов (глубоких папулопустулезных элементов, узлов), перифокальной эритемы кожи лица, жирного блеска. Оценивая влияние видовой принадлежности клещей рода *Demodex* (*Demodex folliculorum longus* и *Demodex folliculorum brevis*) выявлено, что *Demodex folliculorum longus* имеет большее значение в развитии тяжелых проявлений заболевания (пустулезная и инфильтративно-продуктивная формы розацеа) (n=44; 73.3%), по сравнению с *Demodex folliculorum brevis* (n=3; 5%). Установлено, что при обнаружении в анализах *Demodex folliculorum longus*, все больные розацеа нуждаются в проведении антипаразитарной терапии, независимо от количественной нагрузки в соскобе. *Demodex folliculorum brevis* напротив сопровождает более легкие формы заболевания (эритематозно-телеангиэктатическую n=4; 6.7% и папулезную формы розацеа n=12; 10%), а

также обнаруживается у здоровых добровольцев (n=12; 16.7%). В случаях наличия *Demodex folliculorum brevis* в анализах, необходимо принимать его за сапрофита кожи лица и проводить терапию основного заболевания (розацеа).

При исследовании морфофункциональных характеристик кожи лица методом дерматоскопии на цифровой видеокамере «Aramo SG» установлено достоверное ухудшение параметров (влажности, жирности в зонах U и T, пигментации, размера пор и смещение уровня pH в щелочную сторону) у больных розацеа, ассоциированного с клещами рода *Demodex* по сравнению с больными розацеа, не зараженными клещами *Demodex* и здоровыми лицами. Также установлено ухудшение показателей морфофункциональных характеристик кожи в зависимости от увеличения длительности заболевания.

В ходе исследования было установлено, что метод конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии имеет значительные преимущества перед световой микроскопией соскобов кожи лица и анализом содержимого сальных желез. Определены оптимальные параметры прибора для нахождения клещей рода *Demodex* в эпидермисе на глубине $46,63 \text{ мкм} \pm 6,78 \text{ мкм}$. Определены размеры клещей рода *Demodex* с целью их последующей идентификации по видовой принадлежности (от 100 до 200 мкм - *Demodex folliculorum brevis*; от 200 до 400 мкм - *Demodex folliculorum longus*). Установлено, что все больные с диагнозом «Розацеа» нуждаются в проведении анализа наличия клещей рода *Demodex* с обязательным определением видовой принадлежности.

На основании полученных данных определена высокая эффективность антипаразитарного лекарственного препарата ивермектин - наружная форма (крем), в концентрации 1%, 1 раз в день, общим курсом 30 дней у больных розацеа, ассоциированного с клещами рода *Demodex*. Установлено, что препарат является первой линией при обнаружении у данных больных клещей рода *Demodex*, в частности *Demodex folliculorum longus*. Использование 1%

ивермектина наружно позволяет в короткие сроки достичь элиминации клещей с отсутствием побочных эффектов.

ВЫВОДЫ

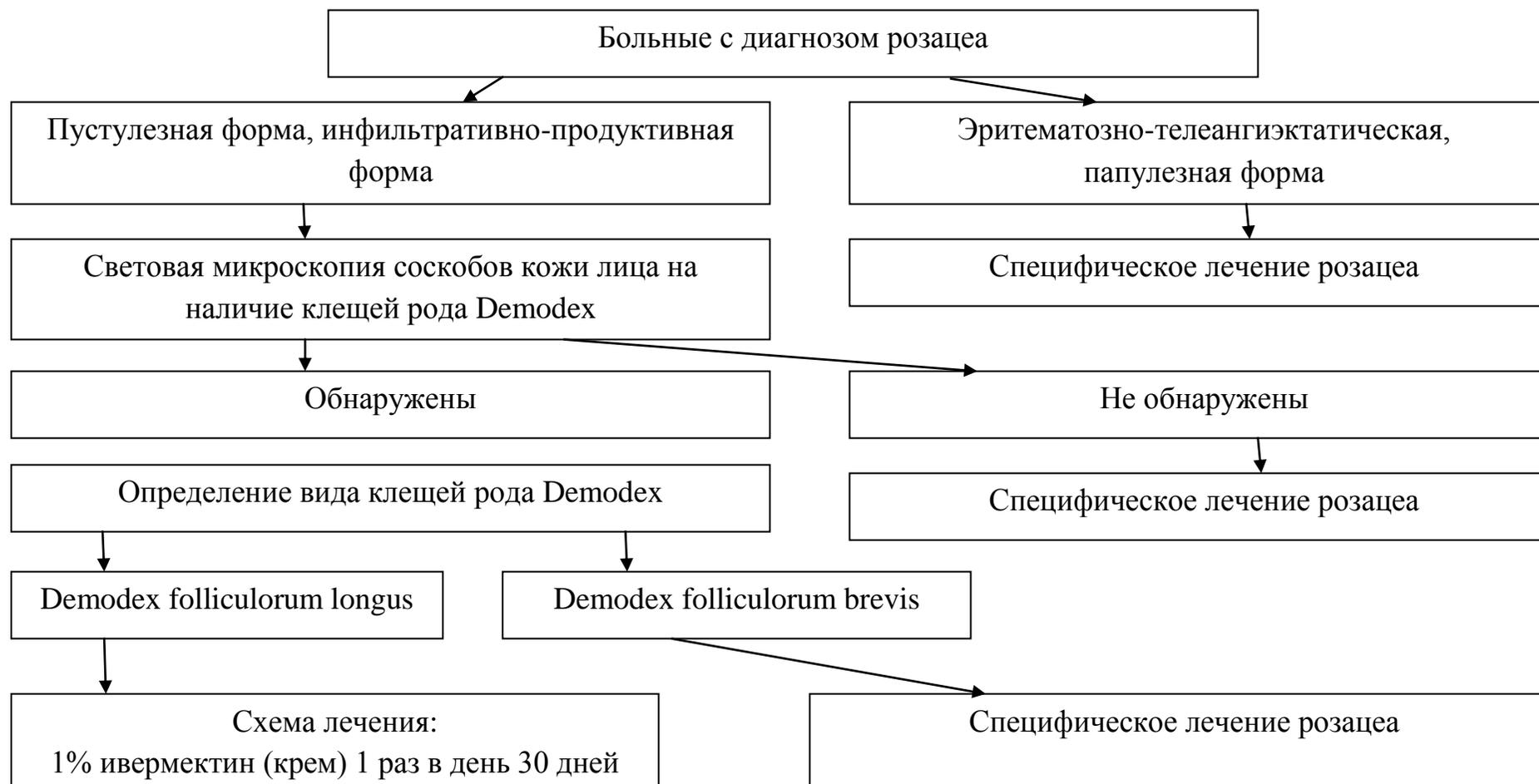
1. Клещи рода *Demodex* осложняют клиническую картину и течение розацеа, способствуя развитию островоспалительных морфологических элементов (глубоких папулезных, пустулезных элементов, узлов, перифокальной эритемы). Тяжесть клинических проявлений розацеа не зависит от количества обнаруженных особей методом световой микроскопии соскобов кожи лица. Наиболее значимыми факторами, предрасполагающими к развитию осложнений являются: морфофункциональные характеристики кожи (повышенная жирность, сниженная влажность, смещение pH в щелочную сторону, большой размер пор).
2. У больных с тяжелыми проявлениями заболевания (пустулезная и инфильтративно-продуктивная формы розацеа) достоверно чаще обнаруживается вид клеща *Demodex folliculorum longus* ($p < 0.05$). *Demodex folliculorum brevis* обнаруживается при легких формах заболевания и у здоровых лиц ($p < 0.05$).
3. Конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия является эффективным методом диагностики с целью обнаружения клещей рода *Demodex* не требующим предварительной подготовки к анализу и позволяющим обнаружить клещей рода *Demodex* на уровне 46.63 ± 6.78 мкм, что соответствует шиповатому слою эпидермиса, который недоступен для скарификации, идентифицировать видовую принадлежность по размеру клещей рода *Demodex* (от 100 до 200 мкм - *Demodex folliculorum brevis*; от 200 до 400 мкм - *Demodex folliculorum longus*).
4. Антипаразитарный лекарственный препарат ивермектин, в виде - наружной формы (крем), в концентрации 1% (1 раз в день, общим курсом 30 дней) имеет высокую терапевтическую эффективность у больных розацеа, ассоциированного с клещами рода *Demodex*. Эффективность наружной терапии препаратом, содержащим 1% ивермектин (курс 30 дней), сравнима с комбинированным лечением с применением системного препарата метронидазола 250 мг per os 2

раза в день и наружного применения 1% метронидазола (гель) 1 раз в день в течение 30 дней.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Всем больным с диагнозом «Розацеа пустулезная и инфильтративно-продуктивная формы» показано обследование на наличие клещей рода *Demodex* с определением их видовой принадлежности.
2. При обнаружении *Demodex folliculorum longus* независимо от его количественной нагрузки показано лечение противопаразитарными препаратами.
3. При обнаружении *Demodex folliculorum brevis* лечение противопаразитарными препаратами не показано.
4. В качестве противопаразитарного препарата в лечении розацеа, ассоциированного с клещами рода *Demodex* рекомендовано использовать 1% ивермектин в виде крема в течение 30 дней наружно. Препарат необходимо наносить тонким слоем на предварительно очищенную кожу лица на ночь. Последующее лечение проводить в соответствии с основным диагнозом. Алгоритм обследования больных с диагнозом розацеа представлен на рисунке 9.

Алгоритм обследования и лечения больных с диагнозом розацеа



СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

CD16⁺ - гликопротеин, низкоаффинный рецептор для агрегированного IgG

CD163⁺ - входит в семейство рецепторных белков гемоглобина, богатых цистеином. Предполагается его значение как маркера рециркулирующего пула моноцитов крови и формируемых из них макрофагов

CD25⁺ - гликозилированный и сульфатированный белок с молекулярной массой 55 кДа

CD3⁺ - мультипротеиновый комплекс на поверхности Т-лимфоцитов, являющийся основным корецептором Т-клеточного рецептора

CD4⁺ - мономерный трансмембранный гликопротеин надсемейства иммуноглобулинов с молекулярной массой 55 кД, содержит 4 внеклеточных домена, трансмембранный домен и цитоплазматический участок, является маркером Т-хелперов

CD45RO - одна из изоформ общего лейкоцитарного антигена выступает в качестве передатчика сигнала внутрь клетки при формировании антигенраспознающего комплекса

CD8⁺ - трансмембранный гликопротеин, служащий корецептором Т-клеточных рецепторов

CD95⁺ - трансмембранный белок I типа относится к семейству рецепторов фактора некроза опухоли

CW2 - антиген главного комплекса гистосовместимости (HLA)

CW4 - антиген главного комплекса гистосовместимости (HLA)

HLA - главный комплекс гистосовместимости

HLA-A2 - первый антиген гистосовместимости человека

HLA-DR⁺ - антитела к антигенам HLA класса II. Эти антигены присутствуют на поверхности моноцитов и В-лимфоцитов

IL-1b - интерлейкин 1b

IL-8 - интерлейкин 8

LL-37 - антимикробный пептид семейства кателицидинов

NK - естественные киллеры (или натуральные, или нормальные, от англ. Natural killer)

TLR - Toll-подобные рецепторы (Toll-like receptor)

VEGF - (Vascular endothelial growth factor) фактор роста сосудистого эндотелия

ГМ-КСФ - гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор

ИЛ-12 - интерлейкин 12

ИЛ-12p70 - интерлейкин 12p70

ИЛ-13 - интерлейкин 13

ИЛ-4 - интерлейкин 4

ИЛ-6 - интерлейкин 6

МРО – миелопероксидаза

ПЦР - полимеразная цепная реакция

Р-70 - белок, входящий в состав белка RPA (HSSB), необходим для репликации ДНК и репаративного синтеза

ФНО- α - фактор некроза опухоли-альфа

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адаскевич В.П. Акне и розацеа. – СПб.: Ольга, 2000. – 132 с.
2. Адаскевич В.П. Диагностические индексы в дерматологии : руководство / В.П. Адаскевич. – Москва : Медицинская книга, 2004. – 165 с.
3. Азнабаев М.Т., Мальханов В.Б., Гумерова Е.И. Демодекоз глаз: Уч. - метод. пос. - Уфа, 2002. - 8 с.
4. Акбулатова Л.Х. Морфология двух форм клеща *Demodex folliculorum hominis* и его роль в заболеваниях кожи человека: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Ташкент, 1968. - 27 с.
5. Акилов О.Е. Клиническая оценка взаимосвязи нарушения иммунной системы и особенности HLA –гистiotипа у больных демодекозом кожи: автореф. дисс. ... канд. мед. наук. - М, 2002. - 22 с.
6. Бабаянц Р.С., Ильинская А.В., Громова С.А. и др. Метронидазол в терапии розацеа и периорального дерматита // Вестник дерматологии – 1983 - №1. – С. 13-17.
7. Батыршина С.В., Гордеева А.М., Богданова М.А., Булгакова Д.Р. Эффективность геля скинорен в наружной терапии больных угревой болезнью и розацеа. Вестн дерматол и венерол. - 2005; 4: С. 44-46.
8. Березнюк Л.Г., Сакович В.К., Татарина В.В. // Офтальмологический журнал. – 1995. – №3. – С. 186–187.
9. Бутов Ю.С., Акилов О.Е. Клинические особенности и вопросы классификации демодикоза кожи. Рос журн кожных и венерич бол. - 2003; №2. С. 53-58.
10. Бутов Ю.С., Акилов О.Е. Роль иммунных нарушений в патогенезе демодикоза кожи. Рос журн кожных и венерич бол. - 2003; №3. С. 65-68.
11. Бутов Ю.С., Акилов О.Е. Факторы успешной колонизации клещами *Demodex spp.* кожи человека. Вестн последипломн мед образ. - 2002; 1:87.

12. Верхогляд И.В. Современные представления о демодекозе. Леч врач. - 2011; 5.
13. Варাপетов А.Я. Фолликулярный демодекс в патологии кожи. // Тезисный доклад на научно-практической конференции, Московский НИИ косметологии МЗ РСФСР. М., - 1972, С. 38-39.
14. Вислобоков А.В. Опыт лечения розацеа и периорального дерматита. Рос журн кож и вен бол. - 2005; 3: С. 37-40.
15. Владимиров В.В. Роль классификации фототипов кожи при выборе рациональной фармакотерапии // Вестник дерматологии и венерологии. – 2009. - №4. – С. 65-68.
16. Гавриленко Я.В., Вазило В.Е., Паршков Е.М. и др. // Тер арх. – 1976 - №5 – С. 74-79.
17. Галкина О.А. Применение широкополосного интенсивного импульсного светового излучения при лечении пациентов с розацеа: автореф. дис. ... канд. мед. наук. - М.: 2007. - 20 с.
18. Глухенький Б.Т., Сницаренко О.В. Розацеа и демодекоз. Врач дело. - 1984; 2: 94-96.
19. Давыдова И.Б., Чхатвал Н.А., Королева М.А. Местное применение метронидазола в терапии акне и акнеформных дерматозов. Клини дерматол венерол. - 2008; (5): 73-75.
20. Данилова А.А., Федоров С.М. Паразитарные болезни кожи. Демодекоз // Рус мед журн. – 2000.- Т. 8, №6. – С. 249-254.
21. Елистратова Л.Л. Клинико-микробиологические особенности акнеподобных дерматозов, осложненных демодекозом: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Л.Л. Елистратова; Санкт-Петербург, 2013. - 20 с.
22. Елистратова Л.Л., Нестеров А.С., Потатуркина-Нестерова Н.И. Современное состояние проблемы демодекоза. Фундаментальные исследования. - 2011. - №9. - С. 67- 69.

23. Желтикова Т.М. Демодекоз - диагноз или симптом? // Мед вестн. - 2006. №38. - С. 16.
24. Жилина В.Г., Скоробогатова В.В., Базыка А.П. Лечение больных розацеа трихополом // Вестник дерматологии. – 1981. - №11.- С. 66-67.
25. Иванов О.Л. Кожные и венерические болезни: учеб. для студентов мед. вузов / О.Л. Иванов и др.; УМО по мед. и фармацев. образованию вузов России — Москва: Шико, 2006. - 478 с.: ил.
26. Иконникова Н.А. Комплексная патогенетическая терапия розацеа с учетом данных микробиологического исследования и ультраструктуры кожи: автореф. дис. ... канд. мед. наук. - М.: 2005. - 22 с.
27. Камакина М.В. Акне у взрослых: автореф. дис. ... канд. мед. наук. - Москва, 2002. - 27 с.
28. Коган Б.Г. Клинико-иммунопатологические особенности, диагностика и лечение демодекоза: автореф. дис. ... канд. мед. наук. - К., 1995. - 23 с.
29. Коган Б.Г. Современные аспекты патогенеза и клинического течения демодекоза // Укр жур дерм, венерол, косметол. - 2002. - №6.
30. Корнышева Е.А. Эпидемиология и статистика как инструменты доказательной медицины / Е.А. Корнышева, Д.Ю. Платонов, А.А. Родионов, А.Е. Шабашов; изд. второе испр. и доп. - Тверь, 2009. - 80 с.
31. Кошевенко Ю.Н. Кожа человека. Руководство для врачей и студентов. – Москва: Изд «Медицина», 2008. – 753 с.
32. Куклин И.А., Панферова Е.В., Кислицина Л.Ю., Лалетин В.Г., Зеленин В.Н. Эффективность различных методов диагностики. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН, 2006. - №6 (52). - С. 68-70.
33. Кубанова А.А., Чикин В.В., Штиршнайдер Ю.Ю., Катунина О.Р. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия *in vivo* в диагностике меланоцитарных новообразований кожи. Вестн дерматол венерол. - 2014; 3: С. 85-94.

34. Кусая Н.В. Особенности иммунного и цитокинового статуса у пациентов с демодекозом кожи: автореф. дис. ... канд. мед. наук. / Н.В. Кусая; Владивосток, 2009. - 22 с.
35. Лалаева А.М., Данилов С.И., Пирятинская В.А., Грибанова Т.В. Розамет крем – высокоэффективное средство лечения розацеа. Вестн дерматол и венерол. - 2005; 5: С. 40-44.
36. Майчук Ю.Ф. Паразитарные заболевания глаз. - М.: Медицина, 1988. - С. 221-244.
37. Митрошина Е.В. Оптический имиджинг в приложении к исследованию нейробиологических систем мозга. - Электронное учебно-методическое пособие. – Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет. - 2012. – 40 с.
38. Мокроносова М.А., Глушакова А.М., Голышева Е.В., Желтикова Т.М. Клещи рода *Demodex* и дрожжи рода *Malassezia* у пациентов с себорейным дерматитом. Вестн дерматол венерол. - 2012; 3:92-98.
39. Музыченко А.В. Розацеа: учеб. - метод. пособие / А.П. Музыченко. - Минск: БГМУ, 2014. - 20 с.
40. Полуниин Г.С., Сафонова Т.Н., Федоров А.А., Полунина Е.Г., Пимениди М.К., Забегайло А.О. Роль хронических блефароконъюнктивитов в развитии синдрома сухого глаза. Бюллетень СО РАМН, №4 (138). - 2009. - С. 123-126.
41. Потееаев Н.Н. Розацеа: монография/ Н.Н. Потееаев. – М., Спб: Бином, Невский диалект, 2000 – 144 с.
42. Розко Т.Е. Клинические особенности, диагностика и лечение блефароконъюнктивитов демодекозной этиологии: автореф. дис. ... канд. мед. наук. - Красноярск. - 2003. - 24 с.
43. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология: Пер. с англ. В.И. Кандрора и др. - М.: Мир, 2000. - 592 с.
44. Рыжкова Е.И. Клинико-морфологические особенности, патогенез и лечение розацеа: дис. доктора мед. наук. М., 1976. - 216 с.

45. Самцов А.В. Акне и акнеформные дерматозы. Монография – М.: ООО «ЮТКОМ», 2009. – 288 с.: ил.
46. Сирмайс Н.С. Оптимизация терапии больных с торпидно протекающими формами розацеа: автореф. дис. ... канд. мед. наук. - М.: 2012. - 25 с.
47. Сирмайс Н.С., Абесадзе Г.А., Устинов М.В. Демодекоз: патогенетические аспекты при различных дерматозах лица // Метод пос. - Москва. - 2013. – 26 с.
48. Сирмайс Н.С., Устинов М.В. Клиническая эффективность геля «Демотен» в комплексном лечении и профилактике демодикоза и розацеа. - Вестн дерматол и венерол. - 2011. - №6. - С. 85-90.
49. Солнцева В.К., Быков А.С., Воробьев А.А. и др. Роль клещей рода демодекс и кокковой флоры в патологии кожи. - Мед паразитол. - 2001. - №2. - С. 23-25.
50. Сюч Н.И. Лабораторная диагностика чесотки и демодекоза // Уч. пос. – Москва. - 2003. – 30 с.
51. Сюч Н.И. Паразитарные болезни кожи. Демодекоз: этиология, патогенез, клиника, лабораторная диагностика. - Consilium medicum. – 2004. – Т 6, №3 - С. 191-194.
52. Тодор Г.Ю., Завгородняя В.П., Чеибер З.Т. и др. Офтальмологический журнал. - 1990. - №7. - С. 443-445.
53. Франкенберг А.А., Шевченко В.А., Кривко С.В., Шляхова В.К. Опыт применения препарата «Орнизол» в комплексной терапии демодикоза. - Червень. - 2007. - №2. - С. 10-12.
54. Хамаганова И.В., Иконникова Н.А., Галкина О.А. Трихопол в комплексной терапии розацеа. Consilium medicum: Дерматология (приложение). - 2005. - С. 22-25.
55. Черкасова М.В., Сергеев Ю.В., Лобанова Е.В. и др. // Вестн дерматол. - 1999. - №6. - С. 28-30.
56. Штейн Г.И. Руководство по конфокальной микроскопии - СПб: ИНЦ РАН, 2007. - 77 с.; ил.

57. Штиршнайдер Ю.Ю., Миченко А.В., Катунина О.Р., Зубарев А.Р. Современные неинвазивные технологии визуализации в дерматологии. Вестн дерматол венерол. - 2011; 5: С. 41-53.
58. Юцковская Я.А., Кусая Н.В., Ключник С.Б. Обоснование патогенетической терапии при акнеподобных дерматозах, осложненных клещевой инвазией *Demodex folliculorum*. - Клинич дерматол и венерол. - 2010. - №3. - С. 60-63.
59. Юцковский А.Д., Юцковская Я.А., Кусая Н.В. Особенности иммунного статуса у пациентов с демодекозом кожи. Terra medica №3-4/2011. - С. 33-36.
60. Ягофаров Ф.Ф. Иммунореабилитация больных демодикозом / Ф.Ф. Ягофаров // Тез докл 4 Междунар конгр «Иммунореабилитация и реабилитация в медицине», (Сочи, 5-9 июля 1998). // Int J Immunorehabil. - 1998. - №8 - С. 45.
61. Aydingoz I.E., Mansur T., Dervent B., 1997. *Demodex folliculorum* in renal transplant patients. *Dermatology*, 195: 232-234.
62. Aylesworth R., Vance C. *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* in cutaneous biopsies. *J Am Acad Dermatol*. - 1982; 7:583-9.
63. Baima B., Sticherling M. Demodicidosis revisited. *Acta Derm Venereol*. - 2002; 82: 3-6.
64. Barnhorst D., Foster J., Chern K. The efficacy of topical metronidazole in the treatment of ocular rosacea. // *Ophthalmology*. - 1996; 103 (11): 1880-3.
65. Basta-Juzbasic A., Subic J.S., Ljubojevic S. *Demodex folliculorum* in development of dermatitis rosaceiformis steroidica and rosacea-related diseases. *Clin Dermatol*. - 2002; 20:135–40.
66. Beridze L.R., Katsitadze A.G., Katsitadze T.G. Cryotherapy in treatment of skin demodecosis. *Georgian Med News*. - 2009 May. - (170):43-5.
67. Boge-Rasmussen T., Christensen J.D., Gluud B., Kristensen G., Norn M.S. *Demodex folliculorum hominis* (Simon): Incidence in a normomaterial and in patients under systemic treatment with erythromycin or glucocorticoid. *Acta Derm Venereol*. - 1982; 62:454-6.

68. Bonnar E., Eustace P., Powell F.C. The Demodex mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol.* - 1993; 28:443–8.
69. Bosch R.J., Fernandez F., Sanchez P. et al. // Abstract of the 19-th World Congress of Dermatology. – Sydney. - 1997. P. 4101.
70. Casas C., Paul C., Lahfa M., Livideanu B., Lejeune O., Alvarez-Georges S., Saint-Martory C., Degouy A., Mengeaud V., Ginisty H., Durbise E., Schmitt A.M., Redoules D. Quantification of Demodex folliculorum by PCR in rosacea and its relationship to skin innate immune activation. *Exp Dermatol.* - 2012. 21 (12):906-10.
71. Chen W., Plewig G. Human demodicosis: revisited and a proposed classification. *Br J of Dermatol.* - 2014. - 170. - P. 1219-1225.
72. Clifford C.W., Fulk G.W. // *J Med Entomol* – 1990. – Vol. 27, №4 – p. 467-470
73. Coston T.O. In: Fracunfelder F.T., Rou F.H., Hrsg. *Current ocular therapy.* – 1980. – Philadelphia, London, Toronto: W.B. Saunders company.
74. Crawford G.H., Pelle M.T., James W.D. Rosacea: Etiology, pathogenesis, and subtype classification. *J Am Acad Dermatol.* - 2004; 51:327–44.
75. Da Silva C.A., Hartl D., Liu W., Lee C.G., Elias J.A. TLR-2 and IL-17A in chitin-induced macrophage activation and acute inflammation. *J Immunol.* - 2008; 181:4279–4286.
76. Demler M., de Kaspar H.M. // *J. Ophthalmol.* – 1997. – Vol. 94, №3. – P. 191–193.
77. Erbagci Z., Ozgoztasi O. The significance of Demodex folliculorum density in rosacea. *Int J Dermatol.* - 1998; 37:421-5.
78. Finlay A.Y., Khan G.K. The Dermatology Life Quality Index: A simple practical measure for routine clinical use. *British Association of Dermatologists Annual Meeting, Oxford, July 1993. British Journal of Dermatology, 1993; 129 (Suppl 42): 27.*
79. Forton F., Seys B. Density of Demodex folliculorum in rosacea: a case-control study using standardized skin-surface biopsy. *Br J Dermatol.* - 1993; 128(6):650-659.

80. Forton F., Song M. Limitations of standardized skin surface biopsy in measurement of the density of *Demodex folliculorum*. A case report. *Br J Dermatol* 1998; 139: 697–700.
81. Forton F., Seys B., Marchal J.L., Song A.M. *Demodex folliculorum* and topical treatment: acaricidal action evaluated by standardized skin surface biopsy. *Br J Dermatol.* - 1998 Mar; 138 (3):461-466.
82. Forton F.M.N. Papulopustular rosacea, skin immunity and *Demodex*: pityriasis folliculorum as a missing link. *JEADV.* - 2012. 26, 19-28.
83. Garven H.S.D. *Demodex folliculorum* in human nipple. - 1946. - *Lancet*, 2: 44-45.
84. Gerger A, Koller S, Kern T, Massone C, Steigner K, et al. Diagnostic applicability of in vivo confocal laser scanning microscopy in melanocytic skin tumors. *J Invest Dermatol* 2005; 124(3): 493–498.
85. Gerger A, Koller S, Weger W, Richtig E, Kerl H, et al. Sensitivity and specificity of confocal laser-scanning microscopy for in vivo diagnosis of malignant skin tumors. *Cancer* 2006; 107(1): 193–200.
86. Gothe R. Demodicosis of dogs – a factorial disease? *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* - 1989; 102:293-7.
87. Grosshans E., Dungler T., Kien T.T., Kremer M. // *Z. Hantkt.* - 1980. - Bd 55, №18.
88. Grove D.I., Mahmoud A.A.F., Warren K.S. Supression of cellmediated Immunity by Metronidazole // *Int Archs Allergy Appl Immunol.* - 1997. - 54. - P. 422-426.
89. Hoekzema R., Hulsebosch H.J., Bos J.D. Demodecosis or rosacea: what did we treat? *Br J Dermatol.* - 1995; 133: 294-299.
90. Hofmann-Wellenhof R., Pellacani G, Malvehy J., Soyer H.P. Reflectance confocal microscopy for skin diseases. *Springler.* Berlin. 484.
91. Hsu C.K., Hsu M.M., Lee J.Y. Demodicosis: A clinicopathological study. *J Am Acad Dermatol.* - 2009; 60:453-62.

92. Ivy S.P., Mackall C.L., Gore L., Gress R.E., Hartley A.H. Demodicidosis in childhood acute lymphoblastic leukemia: An opportunistic infection occurring with immunosuppression. *J Pediatr.* - 1995; 127:751-4.
93. Jansen T., Plewig G. *Klinik und Therapie der Rosazea.* H+G. B 71, H 2. - 1996. - P. 88-95.
94. Jimenez-Acosta F., Planas L., Penneys N. Demodex mites contain immunoreactive lipase. *Arch Dermatol.* - 1989; 125:1436-7.
95. Karıncaoglu M., Bayram N., Aycan O., Esrefoglu M. The clinical importance of demodex folliculorum presenting with nonspecific facial signs and symptoms. *J Dermatol.* - 2004; 31: 618-26.
96. Kaya S., Selimoglu M.A., Kaya O.A., Ozgen U. Prevalence of Demodex folliculorum and Demodex brevis in childhood malnutrition and malignancy. *Pediatr Int.* - 2013. 55 (1):85-9.
97. Kojima T., Ishida R., Sato E.A., Kawakita T., Ibrahim O.M., Matsumoto Y., Kaido M., Dogru M., Tsubota K. In vivo evaluation of ocular demodicosis using laser scanning confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* - 2011. Feb 1; 52 (1):565-9.
98. Kosik-Bogacka D.I., Lanocha N., Lanocha A., Czepita D., Grobelny A., Zdziarska B., Kalisinska E. Demodex folliculorum and Demodex brevis in healthy and immunocompromised patients. *Ophthalmic Epidemiol.* - 2013. 20 (3):159-63.
99. Lacey N., Delaney S., Kavanagh K., Powell F.C. Mite-related bacterial antigens stimulate inflammatory cells in rosacea. *Br J Dermatol.* - 2007; 157:474-81.
100. Lacey N., Kavanagh K., Tseng S.C. Under the lash: Demodex mites in human diseases. *Biochem (Lond).* - 2009. 31, 2-6.
101. Mahe Y.F. Inflammatory perifollicular fibrosis and alopecia. *Int J Dermatol.* - 1998; 37:416-7.
102. Messmer E.M., Torres S.E., Mackert M.I., Zapp D.M., Kampik A. In vivo confocal microscopy in blepharitis. *Klin Monbl Augenheilkd.* - 2005. - Nov; 222 (11):894-900.

103. Meyer-Hoffert U., Schroder J.M. Epidermal proteases in the pathogenesis of rosacea. *J Invest Dermatol Symp Proc.* - 2011; 15:16-23.
104. Nakagawa T., Sasaki M., Fujita K., Nishimoto M., Takaiwa T. Demodex folliculitis on the trunk of a patient with mycosis fungoides. *Clin Exp Dermatol.* - 1996; 21:148-50.
105. Neerken S., Gerald W., Lucassen G.W., Lenderink E., Nuijs T.A.M. In vivo imaging of human skin: a comparison of optical coherence tomography and confocal laser scanning microscopy. *Biomedicine VII*, 299 (July 1, 2003).
106. Nielsen P.G. Metronidazole treatment in rosacea // *Int J Dermatol* - 1988. - №27. - P. 1-5.
107. Nori S, Rius-Diaz F, Cuevas J, Goldgeier M, Jaen P, et al. Sensitivity and specificity of reflectance-mode confocal microscopy for in vivo diagnosis of basal cell carcinoma: a multicenter study. *J Am Acad Dermatol* 2004; 51(6): 923–930.
108. Nwaneshiudu A., Kuschal C., Sakamoto F.H., Anderson R.R., Schwarzenberger K., Young R.C. Introduction to Confocal Microscopy. *J of Invest Dermatol.* - 2012. - 132, e3.
109. O'Reilly N., Menezes N., Kavanagh K. Positive correlation between serum immunoreactivity to Demodex-associated Bacillus proteins and erythematotelangiectatic rosacea. *Br J Dermatol.* - 2012. Nov; 167 (5):1032-6.
110. Pallotta S., Cianchini G., Martelloni E., Ferranti G., Girardelli C.R., Di Lella G., Puddu P. // *Eur J Dermatol.* – 1998. – Vol. 8, №3. – P.191–192.
111. Patrizi A., Neri I., Chiericato C. Demodicosis in immunocompetent young children: report of eight cases. *Dermatology.* - 1997; 195:239-242.
112. Peric M., Lehmann B., Vashina G., Dombrowski Y., Koglin S., Meurer M., et al. UV-B-triggered induction of vitamin D3 metabolism differentially affects antimicrobial peptide expression in keratinocytes. *J Allergy Clin Immunol.* - 2010; 125:746-749.
113. Plewig G., Kligman A.M. *Acne and Rosacea*, 3rd edn. Berlin Heidelberg: Springer, - 2000.

114. Prieto V.G., Sadick N.S., Lloreta J., Nicholson J., Shea C.R. Effects of intense pulsed light on sun-damaged human skin, routine and ultrastructural analysis. *Lasers Surg Med.* - 2002; 30 (2):82-5.
115. Psaty E.L., Halpern A.C. Current and emerging technologies in melanoma diagnosis: the state of the art. *Clin Dermatol.* - 2009; 27 (1):35-45.
116. Rajadhyaksha M. Confocal Reflectance Microscopy: Diagnosis of Skin Cancer Without Biopsy? // *Frontiers of Engineering.* – 1998: 24–33.
117. Roihu T., Kariniemi A.L. Demodex mites in acne rosacea. *J Cutan Pathol.* - 1998. 25 (10):550-2.
118. Rufli T., Buchner S.A. T-cell subsets in acne rosacea lesions and the possible role of Demodex folliculorum. *Dermatologica.* - 1984; 169:1-5.
119. Rufli T., Mumcuoglu Y. The hair follicle mites Demodex folliculorum and Demodex brevis: Biology and medical importance. A review. *Dermatologica.* - 1981; 162:1-11.
120. Sattler E.C., Maier T., Hoffmann V.S., Hegyi J., Ruzicka T., Berking C. Noninvasive in vivo detection and quantification of Demodex mites by confocal laser scanning microscopy. *Br J Dermatol.* - 2012; 167 (5):1042-7.
121. Schaubert J., Gallo R.L. Expanding the roles of antimicrobial peptides in skin: alarming and arming keratinocytes. *J Invest Dermatol.* - 2007; 127:510-512.
122. Schaubert J., Gallo R.L. The vitamin D pathway: a new target for control of the skin's immune response? *Exp Dermatol.* - 2008; 17:633-639.
123. Segal R., Mimouni D., Feuerman H., Pagovitz O., David M. Dermoscopy as a diagnostic tool in demodicidosis. *Int J Dermatol.* - 2010. – Sep; 49 (9):1018-23.
124. Spickett S. // *Lepr Rev.* – 1961. – Vol. 32 – P.263-268.
125. Swenor M.E. Is permethrin 5% cream effective for rosacea? *J Fam Pract.* – 2003; 52:183-4.

126. Turgut Erdemir A., Gurel M.S., Koku-Aksu A.E., Bilgin K.F., Incel P., Kutlu-Haytoglu N.S., Falay T. Reflectance confocal microscopy vs standardized skin surface biopsy for measuring the density of Demodex mites. *Skin Res Technol.* - 2014. – Feb 13. - 1-5.
127. Wang T.T., Nestel F.P., Bourdeau V., Nagai Y., Wang Q., Liao J., et al. Cutting edge: 1,25-dihydroxyvitamin D3 is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. *J Immunol.* - 2004; 173:2909-2912.
128. Wilkin J. et al. Standard grading system for rosacea: report of the National Rosacea Society Expert Committee on the classification and staging of 127 rosacea // *J. Am. Acad. Dermatol.* — 2004. — Vol. 50. — №6. — P. 907– 912.
129. Wolf R., Ophir J., Avigad J., Lengy J., Krakowski A. The hair follicle mites (*Demodex* spp.). Could they be vectors of pathogenic microorganisms? *Acta Derm Venereol.* - 1988; 68:535-537.
130. Yagdiran Duzgun O., Aytakin S. Comparison of *Demodex folliculorum* density in haemodialysis patient with a control group. *J Eur Academ Dermatol Venereol.* - 2007 Apr. - 21(4):480-3.
131. Yamasaki K., Di Nardo A., Bardan A., Murakami M., Ohtake T., Coda A., et al. Increased serine protease activity and cathelicidin promotes skin inflammation in rosacea. *Nat Med.* - 2007; 13:975-980.
132. Yamasaki K., Kanada K., Macleod D.T., Borkowski A.W., Morizane S., Nakatsuji T., et al. TLR2 expression is increased in rosacea and stimulates enhanced serine protease production by keratinocytes. *J Invest Dermatol.* -2011; 131:688-697.
133. Zari J., Abdolmajid F., Masood M., Vahid M., Yalda N. Evaluation of the relationship between androgenetic alopecia and *Demodex* infestation. *Indian J Dermatol.* - 2008; 53:64–7.