

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования

**РОССИЙСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ НЕПРЕРЫВНОГО  
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ**

Министерство здравоохранения Российской Федерации

*На правах рукописи*

**ШАДЫЖЕВА Лейла Идрисовна**

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

14.01.10 – «Кожные и венерические болезни»

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

КОШЕЛЕВА И.В.

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор

СИМОНОВА А.В.

Москва 2018

## Оглавление

|                                                                                                                                          |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>                                                                                                                     | <b>4</b>  |
| <b>ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>                                                                                                    | <b>15</b> |
| 1.1. Основные представления о патогенезе атопического дерматита.....                                                                     | 16        |
| 1.2. Молекулярно-генетические аспекты атопического дерматита.....                                                                        | 21        |
| 1.3. Роль полиморфизма генов <i>GST</i> в патогенезе атопического дерматита...                                                           | 30        |
| 1.4. Роль пищевой аллергии в патогенезе атопического дерматита.....                                                                      | 37        |
| 1.5. Значение патологии органов пищеварения в патогенезе атопического дерматита и ее диагностика.....                                    | 38        |
| 1.6. Перспективные направления оптимизации профилактики обострений атопического дерматита.....                                           | 50        |
| <b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....</b>                                                                                     | <b>54</b> |
| 2.1. Общая характеристика обследованных больных.....                                                                                     | 55        |
| 2.2. Клинические методы исследования.....                                                                                                | 60        |
| 2.3. Лабораторные методы исследования.....                                                                                               | 63        |
| 2.3.1. Методика молекулярно-генетического тестирования генов <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> и <i>GSTP1</i> .....                            | 64        |
| 2.3.2. Метод определения уровней аутоантител к антигенам органов пищеварения.....                                                        | 66        |
| 2.4. Методы статистической обработки данных.....                                                                                         | 72        |
| 2.5. Методы лечения.....                                                                                                                 | 74        |
| <b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....</b>                                                                                 | <b>77</b> |
| 3.1. Результаты молекулярно-генетического исследования .....                                                                             | 77        |
| 3.1.1. Результаты лечения пациентов с атопическим дерматитом с различными генотипами <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> , <i>GSTP1</i> .....    | 83        |
| 3.2. Результаты иммунологического исследования.....                                                                                      | 86        |
| 3.2.1. Исследование уровней аутоантител к антигенам органов пищеварения у пациентов с атопическим дерматитом подросткового возраста..... | 87        |
| 3.2.2. Исследование уровней аутоантител к антигенам органов пищеварения                                                                  |           |

|                                                                                                                  |            |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| у пациентов с атопическим дерматитом с различными генотипами <i>GSTM1</i> ,<br><i>GSTT1</i> , <i>GSTP1</i> ..... | 92         |
| 3.3. Динамика клинических проявлений атопического дерматита.....                                                 | 95         |
| 3.3.1. Динамика индекса SCORAD и интенсивности зуда.....                                                         | 95         |
| 3.3.2. Оценка стабильности клинической ремиссии.....                                                             | 97         |
| 3.4. Клинические случаи.....                                                                                     | 99         |
| <b>ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....</b>                                                           | <b>105</b> |
| <b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>                                                                                           | <b>117</b> |
| <b>ВЫВОДЫ.....</b>                                                                                               | <b>120</b> |
| <b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....</b>                                                                            | <b>122</b> |
| <b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....</b>                                                                     | <b>124</b> |
| <b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>                                                                                    | <b>125</b> |

## ВВЕДЕНИЕ

Атопический дерматит (АД) - один из наиболее распространенных хронических рецидивирующих дерматозов, встречающийся в разных возрастных группах у лиц обоего пола (Кубанова А.А. и соавт., 2015). В последние 10 лет отмечается снижение заболеваемости и распространенности АД, однако, среди молодых людей распространенность АД остается стабильно высокой, без существенных колебаний (А.А.Кубанова и соавт., 2017). Доля АД составляет от 20 до 40% в структуре кожных заболеваний и непрерывно растет (Кубанова А.А. и соавт., 2015; Чикин В.В. и соавт., 2013). У 45% пациентов АД формируется в младенческом периоде, в возрасте от 2 до 6 месяцев, у 60% пациентов - в раннем детстве, в течение первого года жизни. К 7 годам у 65% пациентов отмечается спонтанная ремиссия, а к 16 годам клинические проявления АД регрессируют у 74% заболевших в детстве (Кубанова А.А., 2016). Это означает, что 26% заболевших АД в детстве будут болеть им и в течение взрослой жизни. При этом АД может длительно протекать с проявлениями легкой степени тяжести и хорошо поддаваться лечению и профилактическим мероприятиям. Но при неблагоприятном стечении обстоятельств кожный процесс с течением времени приобретает характер среднетяжёлого и тяжелого течения (Akdis C., 2006).

Современные представления о лечении АД предполагают реализацию принципа ступенчатости терапии, учитывающий степень тяжести течения заболевания и позволяющий предотвратить переход кожного процесса в более тяжелое течение (Кубанова А.А. и соавт., 2015).

Однако, у ряда больных с изначально легким или среднетяжелым течением АД кожный процесс с течением времени стремится к неуклонному прогрессированию, что происходит в первую очередь из-за неполноценности мер профилактики и при недостаточном учете важности того или иного патогенетического фактора.

АД - наследственно обусловленный дерматоз с многофакторным патогенезом. В основе АД лежит взаимодействие генетических и экзогенных факторов (Cookson W.O., 2001; Kiyohara C et al., 2008). Основными средовыми факторами, определяющими развитие и тяжесть течения АД, считаются экзогенные ксенобиотики (чужеродные для организма вещества, имеющие токсичные свойства: промышленные загрязнения, препараты бытовой химии, пестициды, лекарственные средства и др.) (Бахаев Д.В., 2012; Вавилин В.А., 2003; Flohr C., 2014; Wang I.J., 2010). Отмечено, что жители мегаполисов чаще страдают аллергическими заболеваниями и причиной этого может быть значительное загрязнение воздуха промышленными выбросами, бытовой химией и т.п. (Ляпунова А.А., 2004), в то же время, механизм этого явления до конца не раскрыт; имеется гипотеза развития АД как результата активации некоторыми компонентами ксенобиотиков т.н. медиаторов токсичности - арил-гидрокарбоновых рецепторов (АГР, AhR), что приводит к гипериннервации эпидермиса и, следовательно, к повышенной чувствительности кожи и воспалению (Hidaka T. et al., 2017).

Защитными механизмами адаптации к воздействию экзогенных и эндогенных ксенобиотиков (чужеродных веществ, имеющих токсичные свойства) являются механизмы биотрансформации. Большинство ксенобиотиков липофильны, они легко адсорбируются и проникают через мембраны клеток печени, почек, кожи, стенки кишечника, где и подвергаются биотрансформации. Биотрансформация ксенобиотиков в организме происходит в результате двух функционально сопряженных фаз (Hayes J.D. et al., 2000). В течение первой, несинтетической фазы с помощью ферментов семейства цитохромов (основным является цитохром P450), а также ряда неспецифических эстераз, амидаз и монооксигеназ происходит окисление, восстановление или гидролиз ксенобиотиков (Ozawa S., 1997; Sipes I.G. et al., 1986.). Во вторую фазу биотрансформации метаболиты подвергаются дальнейшей детоксикации с последующим выведением из организма. Важнейшую роль во второй фазе

биотрансформации ксенобиотиков играет ферментная группа глутатион-S-трансфераз (GST), участвующая в дезактивации ксенобиотиков, нарушающих метаболизм и физиологические функции клеток, путем катализа конъюгации глутатиона с широким рядом соединений эндогенного и экзогенного происхождения (Чурносов М.И. и соавт., 2011). Нарушения функций GST приводят к уменьшению порога чувствительности к ксенобиотикам и снижению иммунной защиты (Ляхович В.В. и соавт., 2000; Peden D.B., 2000). Известно, что цитоплазматические GST классов M1 и T1 участвуют в механизмах возникновения и развития аллергических реакций, в том числе АД (Chung J. et al., 2015; Cho H.R. et al., 2011; Nebert D.W. et al., 2004), и их полиморфная экспрессия может предопределять различные клинические варианты течения заболевания (Ляпунова А.А., 2004; Pavanello S. et al., 2000). Полиморфизм ферментов биотрансформации определяется наличием нескольких аллельных вариантов кодирующих их генов с разной метаболической активностью фермента. Полиморфная экспрессия ферментов предопределяет различную чувствительность к разным ксенобиотикам, что необходимо учитывать при составлении индивидуальной программы лечения и профилактики (Хрунин А.В. и соавт., 2008).

Отмечено, что максимальный риск развития аллергических заболеваний (в 9,5 раз выше общепопуляционного) зафиксирован для генотипа *GSTM1 0/0 GSTT1 0/0 GSTP1 Ile/Ile* (Вавилин В.А. и соавт., 2003). Данные различных клинических исследований свидетельствуют о том, что наличие «нулевых» аллелей *GSTM1* и *GSTT1* у детей с АД является неблагоприятным признаком: такие дети предрасположены к тяжелому течению АД с диффузным поражением кожных покровов и частым рецидивированием кожного процесса (Беяева Л.М. и соавт., 2010; Ляпунова А.А., 2004). Показано, что нуль-полиморфизм *GSTT1* является генетическим фактором риска возникновения АД (Ляпунова А.А., 2004), что, однако, подтверждается не всеми исследователями (Бахаев Д.В. и соавт., 2012). Взаимосвязь полиморфизмов генов ферментов

биотрансформации ксенобиотиков с предрасположенностью к АД достаточно хорошо изучена у детей (Ляпунова А.А., 2004; Хрунин А.В. и соавт., 2008), в то время как у взрослых их значимость малоизучена. При этом, роль *GSTP1* в патогенезе АД практически не изучена. Известно, что ген *GSTP1* экспрессируется во всех органах и тканях, кроме эритроцитов. Фермент *GSTP1* является основным GST в клетках кожи и плаценты. Есть данные о роли этого фермента в активности системы детоксикации (Gao H. et al., 2016).

У пациентов с АД подросткового и молодого возраста представляется важным изучение не только генетических особенностей (полиморфизма генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*), но и наличие изменений в тканях органах пищеварения. Для подростков с АД пищевая аллергия сохраняет значимость ведущего триггерного фактора обострений кожного процесса; при этом сопутствующая патология органов пищеварения и гепатобилиарной системы, выявляемая более чем у 70% пациентов с АД подросткового возраста (Булина О.В., 2004), за счет повышения абсорбции пищевых аллергенов поддерживает хроническое течение АД и усугубляет кожные проявления (Волкова Е.Н., 2006; Дубровина Л.Н. и соавт., 2009; Caubet J.-Ch. et al., 2013). Однако, диагностика ранней субклинической или стертой патологии представляет определенную сложность, поэтому особую важность приобретают высокочувствительные и нетрудоемкие методы обнаружения неблагополучия органов пищеварения – такие как определение уровней естественных аутоантител к тканевым антигенам в сыворотке крови.

У пациентов с АД впервые было показано, что иммунный ответ, первично индуцированный аллергенами внешней среды, может поддерживаться эндогенными антигенами в 90-х годах XX века (Valenta R. et al., 1991; Valenta R. et al. 1998). В настоящее время известно уже около 140 эндогенных антигенов. У пациентов с АД описаны аутоантитела (АТ) к тканевым антигенам, таким как миозин, кератин, коллаген, эластин, гистон (Watanabe K. et al., 2011). Показано также, что уровни данных аутоантител

прямо коррелируют со степенью тяжести кожного процесса (Самойликов П.В. и соавт., 2012). Естественные аутоантитела класса IgG разной органной специфичности постоянно синтезируются в организме здорового человека и в норме находятся в определенном диапазоне нормальных концентраций (Полетаев А.Б., 2008; Чурилов Л.П., 2008; Cohen I.R., 2005; Harel M. et al., 2006; Shoenfeld Y., 2008). Изменения уровней отдельных естественных аутоантител указывают на нарушения в соответствующих органах и тканях (Зайчик А.Ш. и соавт., 2013; Кошелева И.В., 2013; Пальцев М.А. и соавт., 2010; Полетаев А.Б., 2007; Симонова А.В. и соавт., 2012) и могут предшествовать клинической манифестации патологии, что позволяет остановить дальнейшее развитие патологии путем своевременного терапевтического вмешательства. Исследования уровней аутоантител к тканевым антигенам органов пищеварения (к мембранному антигену клеток стенки желудка, к мембранному антигену клеток стенки тонкого кишечника и к мембранному антигену митохондрий гепатоцитов) у пациентов с АД может иметь высокую диагностическую ценность для обнаружения их ранней субклинической патологии.

Таким образом, установлено, что развитие АД обусловлено наследственной предрасположенностью (Abhishek S. et al., 2016; Al-Shobaili H.A. et al., 2016; Anbunathan H. et al., 2017; Bradley M., 2002), иммунными нарушениями (Зайчик А.М. и соавт., 2013; Barnes K.C., 2009; Cohen I., 2005) и сочетанному действию факторов риска, которые при определенных условиях инициируют патологический процесс и влияют в дальнейшем на его течение (Герасимов Г.А., 2012). При этом роль известных патогенетических факторов у разных пациентов с АД неравнозначна и стандартизованный подход к лечению больных зачастую приводит к низкой эффективности терапии. Известно, что в запуске молекулярных механизмов атопии вовлечено значительное число генов, в том числе кодирующих ферменты GST M1, T1 (Билалова У.Г. и соавт., 2011; Гималова Г.Ф. и соавт., 2016; Bin L. et al., 2016;

Bisgaard H. et al., 2008; Bonness S. et al., 2007; Chung J et al., 2015; Cho H.R et al., 2011; Eyerich K. et al., 2013; Han R.T. et al., 2016; Nebert D.W et al., 2004). Также известно, что в патогенезе АД важная роль отводится патологии органов пищеварения (Галлямова Ю.А., 2010; Дубровина Л.Н. и соавт., 2009; Зарянкина А.И., 2013; Охотникова Е.Н. и соавт., 2014; Caubet J-Ch. et al., 2013; Sidbury R. et al., 2017; Spengel J.M., 2003), хотя характер ее неоднозначен и требует дальнейшего изучения. Определение ранних признаков субклинических нарушений в органах пищеварения и их коррекция могут повысить эффективность терапии пациентов с АД.

Следовательно, для пролонгирования ремиссии после достижения клинического эффекта и для профилактики обострений кожного процесса сформировалась необходимость уточнить роль врожденных дефектов механизмов клеточной детоксикации ксенобиотиков и субклинической патологии органов пищеварения в патогенезе АД и оценить эффективность терапии у больных с данными нарушениями. Полученные результаты генотипирования *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* и плазменных уровней естественных аутоантител к тканевым антигенам органов пищеварения позволят повысить эффективность профилактики обострений у пациентов с АД.

Все вышеперечисленное определило цель и задачи планируемого исследования.

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

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

1. Изучить особенности фенотипа у пациентов с атопическим дерматитом в зависимости от генотипов генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*.
2. Определить плазменные уровни аутоантител к мембранным антигенам митохондрий гепатоцитов, клеток стенки желудка и

клеток стенки тонкого кишечника у пациентов с атопическим дерматитом с различными генотипами *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*.

3. Оценить эффективность терапии с включением энтеросорбента с детоксикационным и пребиотическим действием у пациентов с атопическим дерматитом с учетом генотипирования *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*.
4. Определить возможности использования молекулярно-генетического тестирования и изучения плазменных уровней аутоантител для прогнозирования развития обострений атопического дерматита и персонализации их профилактики.

### **Научная новизна**

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

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

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

### **Практическая значимость**

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

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

Данные мероприятия способствуют наступлению более длительной и стойкой ремиссии.

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

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

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

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

3. Показано, что персонализированные профилактические меры по ограничению контакта с конкретными экзогенными ксенобиотиками и использование в составе лечения энтеросорбирующего средства с детоксикационным и пребиотическим действием у пациентов с atopическим дерматитом с генотипами *GSTT0/0*, *GSTM0/0*, *GSTPVal/Val*, *GSTPIle/Val* и изменениями уровней естественных аутоантител к мембранным антигенам органов пищеварения способствуют наступлению более длительной и стойкой клинической ремиссии atopического дерматита ( $p<0,05$ ).

### **Апробация работы**

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

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

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

### **Соответствие диссертационной работы паспорту научной специальности**

Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 14.01.10 - Кожные и венерические болезни в п. 1 – Исследование различных аспектов патогенеза кожных болезней (проведение клинических, генетических и иммунологических исследований); п. 3 – Изучение современных клинических проявлений кожных болезней, их роль в комплексной диагностике; выявление связи поражения кожи с заболеваниями других органов и систем; совершенствование диагностики дерматозов с использованием клинических, лабораторных, функциональных и других методов исследования.

### **Публикации**

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

### **Объем и структура диссертации**

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

## ГЛАВА 1.

### ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Атопический дерматит (АД) - один из наиболее распространенных хронических рецидивирующих дерматозов, встречающихся во всех странах, у лиц обоего пола и в разных возрастных группах. Согласно данным Федерального статистического наблюдения, в 2015 году в Российской Федерации заболеваемость АД составила 152,7 случаев на 100 000 человек населения. В структуре обращаемости за медицинской помощью в кожно-венерологические диспансеры в 2015 году доля больных АД составила 32%. Среди пациентов, находящихся на диспансерном учете в КВД, с профилактической целью медицинскую помощь получают лишь 41%, а остальные 59% больных лечение проводят в период рецидивов заболевания. Кроме того, отмечается трансформация клинической картины АД в сторону утяжеления течения заболевания и увеличения площади поражения кожи [1, 2, 41, 42, 139, 141]. Несмотря на то, что в последние 10 лет отмечается некоторое снижение заболеваемости и распространенности АД, среди молодых людей распространенность АД остается стабильно высокой, без существенных колебаний [39].

К настоящему времени некоторые звенья патогенеза АД достаточно хорошо изучены. Рядом авторов описаны несколько групп генов, ответственных за развитие АД [82, 85, 87, 89, 97]. Описана роль изменения нуклеотидной последовательности в генах белков цитокиновой сети, в частности интерлейкинов 4, 10, 13, 25, 33, гена тимусного стромального лимфопоэтина - TSLP; нарушения в генах, ответственных за формирование эпидермального барьера, таких как ген филагтрина - белка, формирующего наружный барьерный слой кожи, ген ингибитора сериновых протеаз SPINK5, которые приводят к снижению стабильности эпидермального барьера - потере интеграции рогового слоя эпидермиса, усилению десквамации, что определяет тяжесть течения обострений заболевания; нарушения структуры генов toll-

подобных рецепторов, отвечающих за распознавание микробных компонентов и экспрессирующихся в кератиноцитах, обуславливают склонность пациентов аллергическими заболеваниями к микробным инфекциям, а также изменения генов, кодирующих ферменты-детоксиканты (глутатион S-трансферазы), участвующие в метаболизме ряда эндогенных веществ, реализующих воспалительные и аллергические реакции, играют исключительно важную роль в развитии генетически детерминированных заболеваний, к числу которых относится и АД [8, 15, 92, 93, 96, 117, 130].

Дефекты иммунного ответа у больных АД, обусловленные генетической предрасположенностью, реализуются через разнообразные триггерные механизмы, такие как пищевая аллергия (ПА), в патогенезе которой также важная роль принадлежит нарушению кишечного микробиоценоза, что приводит к функциональным нарушениям органов ЖКТ и утяжелению течения заболевания [201, 206].

Таким образом, комплексный патогенетический подход на основе результатов молекулярно-генетических исследований, определения ранних функциональных изменений органов ЖКТ и коррекции дисбиотических нарушений дают возможность повысить эффективность лечения и профилактики АД [13].

### **1.1. Основные представления о патогенезе АД**

В настоящее время АД рассматривается как мультифакторное заболевание, обусловленное рядом генетических мутаций, выраженностью ПА, сопутствующей патологией ЖКТ, воздействием экзогенных экологических факторов, наличием ксенобиотиков в организме человека и дисфункцией органов и систем, ответственных за их детоксикацию. Значение каждого из факторов может быть разным для каждого больного.

Хотя большинство больных переносят АД в детстве или подростковом возрасте, сопутствующая сенсibilизация к пище и аэроаллергенам в раннем детстве часто являются отправной точкой для прогрессирования развития

астмы и аллергического ринита в более позднем детстве или взрослой жизни в так называемый «атопический марш» [158, 215]. Определение патогенных факторов, влияющих на АД, представляет особую ценность, поскольку может помочь сформулировать терапевтические стратегии, предотвращающие появление и проявления atopического марша [36, 37, 51, 71, 72, 113].

За последние десятилетия значительно расширились знания о генетическом фоне АД. Проведены многочисленные исследования от изучения сцепления микросателлитных маркеров в геноме и исследования связей между отдельными генами, с использованием небольших наборов полиморфизмов одиночных нуклеотидов (SNP) в отдельных генах до изучения геномных ассоциаций в широком диапазоне (GWAS). Кроме того, с развитием новых методов секвенирования были сделаны первые попытки секвенирования экзома для АД [73, 81, 85, 87, 177, 211].

В результате проведенных исследований показано, что развитие АД связано с иммунной дисрегуляцией и с нарушением проницаемости кожного барьера. Изменение синтеза липидов, снижение гидратации, изменение эпидермальной дифференцировки и Т-клеточная инфильтрация были описаны как характерные особенности в коже пациентов с АД [9, 46, 74, 87, 209]. Кроме того, показано, что в коже пациентов с АД активируются гены цитокинов и хемокинов, связанные с аллергическим воспалением. В острой фазе АД преобладает активация Т-хелперных (Th) 2 клеток, тогда как индукция продукции IgE и ответы цитокинов отсроченной гиперчувствительности Th1, Th17 и Th22, являются более доминирующими в хронической фазе [90, 117, 195].

Особым направлением в изучении патогенеза АД является исследование генов, ответственных за протекание иммунных процессов в воспаленной коже. Идентифицированы гены-кандидаты атопии, контролирующие активность Т-лимфоцитов и Th<sub>2</sub>-поляризацию, а также кодирующие синтез цитокинов Th<sub>2</sub>-типа, хемокинов и их рецепторов: ADAM33, 5q31-33, 6p, 12q15-24.1, 14q и др.

Известен и ген, расположенный в хромосоме 3q21, кодирующий ко-стимуляторные молекулы, обеспечивающие процессинг и презентацию белковых антигенов в иммуногенную форму путем связывания в цитоплазме антиген-презентирующих клеток с молекулами главного комплекса гистосовместимости II класса [98, 107, 151].

Сегодня известно несколько групп «генов-кандидатов» АД.

1. Изменения нуклеотидной последовательности в генах белков цитокиновой сети (гены интерлейкинов 4, 10, 13, 25, 33, ген тимусного стромального лимфопоэтина - TSLP) приводят к формированию предрасположенности к аллергическим заболеваниям, в частности, к АД и к разным вариантам течения аллергических реакций [118, 138, 139, 184, 191].

2. Нарушения в генах, ответственных за формирование эпидермального барьера (ген филаггрина - белка, формирующего наружный барьерный слой кожи, ген ингибитора сериновых протеаз SPINK5), приводят к снижению стабильности эпидермального барьера - потере интеграции рогового слоя эпидермиса, усилению десквамации, что определяет тяжесть течения обострений заболевания [93, 99, 50, 227].

3. Нарушения структуры генов toll-подобных рецепторов, отвечающих за распознавание микробных компонентов и экспрессирующихся в кератиноцитах, обуславливают склонность пациентов с аллергическими заболеваниями к микробным инфекциям [16, 31, 112, 119, 145, 149].

4. Изменения генов, кодирующих ферменты-детоксиканты (в первую очередь, глутатион-S-трансферазы), участвующие в метаболизме ряда эндогенных веществ, реализующих воспалительные и аллергические реакции, играют исключительно важную роль в развитии генетически детерминированных (но в большой степени зависящих также от факторов внешней среды) заболеваний, к числу которых относится и АД [106, 108, 175].

По мнению ряда авторов, среди этиологических факторов, приводящих к развитию АД, первостепенное значение принадлежит сенсibilизации к

пищевым аллергенам, особенно в детском возрасте [21, 34, 62]. Это связано с врожденными и приобретенными нарушениями функций пищеварительного тракта, неправильным вскармливанием, ранним введением в рацион питания высокоаллергенных продуктов, кишечным дисбактериозом, который выявляется у 89 - 94,1% детей с АД, наличием высокого титра условно-патогенной флоры (УПФ), нарушением цитопротективного барьера и т.д., что способствует проникновению антигенов из пищи через слизистую оболочку во внутреннюю среду организма и формированию сенсибилизации к пищевым продуктам [3, 12, 115]. Показано, что пищевые продукты, аллергены, переносимые по воздуху, продукты инфекционных патогенов и протеины кожи, выделяемые при расчесывании, могут вызывать выработку у пациентов с АД аллергенспецифических IgE-антител [52, 62, 96, 140, 180].

Несомненно, кишечная микрофлора несет большую функциональную нагрузку и участвует в биомеханизме патологических расстройств у больных с АД. Дефект биоценоза кишечной микрофлоры неминуемо приведёт к усугублению протекания аллергических реакций на коже. В первую очередь это касается так называемой "защитной" микрофлоры, составляющей до 95% всей кишечной микробиоты (лакто- и бифидобактерии и кишечная палочка с нормальными ферментативными свойствами). Этот вид флоры выделяет ряд химических веществ, обладающих избирательным антимикробным действием, что является фактором резистенции, естественным биосорбентом и препятствует адгезии на слизистой патологических микробов, стимулирует клеточное звено иммунитета, а также участвует в синтезе иммуноглобулинов. В соответствии с современными воззрениями, недостаточное количество лактобактерий является основнымотягчающим фактором при АД [12, 24]. Именно лактобактерии в значительной степени препятствуют всасыванию аллергенов в кишечнике и стимулируют синтез IgA, которые, особенно в раннем детском возрасте, являются основными антителами против пищевых аллергенов. Нарушение кишечного микробиоценоза, связанное с изменением

состава постоянной микрофлоры, способствует колонизации патогенными и условно-патогенными бактериями, нарушению основных функций и приводит к формированию дисбиоза [47, 58, 80].

Особую роль в патогенезе АД играют экзогенные токсины. Исследования, проведенные в последние десятилетия, доказали, что заболеваемость АД среди детей, проживающих в городах с высоким уровнем загрязненности, в среднем в 3 раза выше, чем в относительно «чистых» районах. АД поражает более 20% детей в промышленно развитых странах [6, 10, 120, 229]. В процессе эволюции организм выработал определенные механизмы адаптации к воздействию токсичных экзогенных и эндогенных веществ, суть которых сводится к процессам биотрансформации, осуществляемым ферментами биотрансформации ксенобиотиков (ФБК) и элиминации. Механизмы клеточной детоксикации имеют важное значение для защиты организма от воздействия ксенобиотиков [6, 10, 21]. Кроме этого, они также необходимы для защиты клеток от веществ, образующихся в результате нормально протекающих метаболических процессов, продуктов перекисного окисления липидов, активных форм кислорода, биологически активных веществ [45]. Эта функция ФБК эволюционно сложилась раньше, чем активность в отношении экзогенных веществ [10, 45]. Все ферменты биотрансформации характеризуются перекрывающейся субстратной специфичностью, индуцибельностью и генетическим полиморфизмом. Эти свойства ФБК определяют различную индивидуальную чувствительность к воздействию ксенобиотиков за счет изменений баланса их токсификации и детоксификации, а также эндогенных веществ, создавая условия для протекания воспалительных и аллергических реакций разной степени выраженности у разных людей в ответ на один и тот же раздражитель [45, 125].

В последние десятилетия наблюдается рост воздействия химических аллергенов из различных источников, особенно в промышленно развитых странах [9, 147, 125]. Такое воздействие экологических триггеров влияет на

иммунную систему во время ее развития и, в частности, на баланс между иммунными ответами Th1 и Th2 [130, 137, 138]. В исследовании McFadden et al. (2011) высказано предположение, что значительное увеличение распространенности АД и аллергии, наблюдаемое в промышленно развитых странах за последние пять десятилетий, может быть связано с увеличением воздействия химических аллергенов, которое способствует развитию ответа Th2-типа, по крайней мере частично [160].

В последнее десятилетие опубликовано большое число работ, касающихся изучения роли глутатион-S-трансфераз (GST) в развитии генетически детерминированных, но в большой степени зависящих от факторов внешней среды заболеваний [48, 53, 76]. Отмечается взаимосвязь интенсивности воздействия экзогенных факторов со степенью тяжести заболевания органов, выполняющих барьерные функции (печени, почек, стенки кишечника, кожи) и осуществляющих биотрансформацию чужеродных веществ, имеющих токсичные свойства. Воздействие ксенобиотиков нарушает тканевой метаболизм и физиологические свойства мембран клеток, влияет на функцию иммунной системы, что сопровождается изменением реактивности организма, снижением защитных свойств и уменьшением порога чувствительности к аллергенам. Защитными механизмами адаптации к воздействию экзогенных и эндогенных ксенобиотиков являются механизмы элиминации и биотрансформации, важнейшую роль в которых играют GST.

## **1.2. Молекулярно-генетические аспекты атопического дерматита**

Использование современных методов молекулярно-генетических исследований значительно расширило представление о генетических аспектах, как факторов, предрасполагающих к развитию аллергических заболеваний и прогнозированию тяжести их течения. Обнаружены новые гены, полиморфные варианты которых ассоциированы с АД. Современные исследования генетики и патофизиологии АД указывают на значительную

роль структурных нарушений эпидермиса и иммунной регуляции кожи при заболеваниях кожи, развитии астмы и аллергии [19].

Y.-A. Lee и соавторами в 2000 г. был проведен первый полногеномный анализ сцепления АД в группах больных европеоидной расы. Данное исследование выявило связь заболевания с областью на хромосоме 3q21 вблизи маркера D3S3606 [150]. W.O. Cookson с соавторами в полногеномном исследовании, проведенном в 2001 году, выявили сцепление АД с полиморфными локусами на хромосоме 1q21 и 17q25, а в 2002 году в исследовании, проведенном на шведской популяции, обнаружили сцепление с локусами, локализованными на хромосоме 3 в области 3p24-22 [110].

В 2007 году был выявлен первый позиционно-клонированный ген АД - ген COL29A1 на хромосоме 3q, кодирующий эпидермальный коллаген, который играет важную роль в когезии кератиноцитов, а его недостаток приводит к облегченному проникновению аллергенов через эпидермальный барьер [204].

Исследование генома у больных АД, проведенное в 2009 году на немецкой популяции, выявило ассоциацию данного заболевания с полиморфными локусами, расположенным в области 11q13.5 между генами C11orf30 и LRRC32 [116]. Первый ген кодирует регулятор транскрипции EMSY, а второй - мембранный белок LRRC32, содержащий лецитин-богатые повторы. Полногеномный метаанализ, проведенный у европейцев, подтвердил результаты ранее проведенных исследований, а также выявил новые локусы, ассоциированный с АД, которые локализованы в генах KIF3A (rs2897442), OVOL1 (rs479844) и ACTL9 (rs2164983). Ген KIF3A (kinesin family member 3A) расположен в кластере генов цитокинов на хромосоме 5q31.1, а продукты генов OVOL1 (putative transcription factor Ovo-like 1) и ACTL9 (actin-like 9) участвуют в пролиферации и дифференцировке клеток эпидермиса [204].

В 2008 году также были проведены два крупных полногеномных исследования: первый – на немецкой популяции, второй – на китайской. В

немецком исследовании было показано, что АД ассоциирован с полиморфным локусом rs7927894, расположенным на хромосоме 11q13.5. Было обнаружено, что 13% европейцев являются носителями рискованного аллеля по полиморфному локусу. Кроме того, данное исследование продемонстрировало два однонуклеотидных полиморфизма, в высоком ранге ассоциированных с АД и локализованных на хромосомах 1q21 (rs877776) и 9p21 (rs7024096) [116]. Исследование, проведенное в Китае, выявило два новых гена, связанных с развитием АД: 5q22.1 (rs7701890) и 20q13.33 (rs6010620). В изученной популяции была подтверждена ассоциация АД с геном q21.3 (rs3126085), что показывали ранее проведенные исследования в Европе [155, 210]. Позже роль полиморфного локуса rs6010620(20q13.33) была также продемонстрирована немецкими учеными [116].

По мнению ряда авторов, среди определенных к настоящему времени групп «генов-кандидатов», определяющих развитие АД, наибольший интерес представляют изменения нуклеотидной последовательности в генах белков цитокиновой сети, в частности в генах интерлейкинов-4, 10, 13 (ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13), приводящих к формированию предрасположенности к аллергическим заболеваниям, в том числе к АД, путем взаимодействия со своими рецепторами на В-клетках и активации синтеза иммуноглобулина Е [152, 233].

Исследователями доказано, что продукция цитокинов кодируется генами, в которых часто определяются однонуклеотидные замены (single nucleotide polymorphism, SNP) [15, 17, 132]. Эти генетические вариации вносят важный вклад в индивидуальные особенности иммунного ответа и течение иммунозависимых заболеваний. Некоторые из известных SNP генов цитокинов располагаются в регуляторных участках генов и могут напрямую влиять на их транскрипционную активность и, как следствие, на концентрацию данного цитокина в плазме крови [208]. Показано, что полиморфизм в различных участках генов рецепторов для цитокинов оказывает влияние на продукцию соответствующего белка, что может

обуславливать изменение действия цитокинов [26]. В ряде исследований, проведенных в различных популяциях, выявлено сцепление аллергических заболеваний с хромосомной областью 5q31-33, в которой локализован кластер Th2, в том числе гены ИЛ-4 и ИЛ-13, участвующие в развитии IgE-опосредованного воспаления [30, 153, 170, 201]. Выявлена ассоциация замен в промоторной области гена ИЛ-10 с развитием АД у детей в Корее, что, возможно, обуславливает повышенную продукцию ИЛ-10 [146, 172, 173, 205]. Однако сведения об исследованиях полиморфизмов генов ИЛ-4, ИЛ-10 и ИЛ-13 у пациентов с АД в России недостаточны.

Цитокины играют ключевую роль в развитии аллергического воспаления [165, 198]. Инициацию Th2 иммунного ответа регулируют инструктирующие цитокины: тимусный стромальный лимфопоэтин (TSLP), интерлейкин 25 (ИЛ 25) и интерлейкин 33 (ИЛ 33) [98]. TSLP играет важную роль в созревании Т-лейкоцитов через активацию антигенпрезентирующих клеток [132, 133, 191]. Этот цитокин экспрессируется в большей степени в местах проникновения аллергенов: клетки эпидермиса, слизистой оболочки кишечника и легких. Экспрессия TSLP значительно повышается в кератиноцитах воспаленной кожи у больных с АД [132, 133, 227]. Ген TSLP локализован на хромосоме 5q22.1 рядом с цитокиновым кластером, расположенным в области 5q31.2. Во время исследований, проведенных в США на больных европейского и африканского происхождения, ассоциация с АД для полиморфного варианта была показана с геном rs11466749. Также, была обнаружена ассоциация с SNP rs10043985 и rs2289276 [184, 191]. Кроме того, по данным различных исследователей SNP rs1837253, rs2289276, rs3806933 ассоциированы с бронхиальной астмой [132].

В ходе исследований было показано, что проникновение аллергенов также способно индуцировать синтез ИЛ 25, который, в свою очередь, запускает Th2-ответ [143]. Кроме того, ИЛ 25 прямым воздействием на кератиноциты усиливает нарушение эпидермального барьера, снижая синтез

филагтрина. Ген ИЛ 25 картирован на длинном плече 14 хромосомы в области 14q11.2 [22, 98].

Известно, что ИЛ 33 запускает экспрессию Th2 цитокинов ИЛ 5 и ИЛ 13, способствуя увеличению количества эозинофилов крови и сывороточных иммуноглобулинов, а также способен запускать активацию и созревание тучных клеток. Доказано, что уровень мРНК ИЛ 33 в коже больных АД в 10 раз выше показателей здоровых пациентов. Ген данного цитокина расположен на хромосоме 9p24.1 и содержит 7 экзонов [17, 18]. В нескольких полногеномных исследованиях была выявлена связь полиморфных вариантов гена ИЛ 33, таких как, rs1342326 и rs3939286 с развитием бронхиальной астмы [188].

Помимо генов иммунного ответа организма в патогенезе АД задействованы изменения генов кожного барьера/эпидермальной дифференцировки. Установлено, что мутации гена филагтрина (*FLG*) - один из ключевых белков, определяемый в эпидермисе кожи уже на третьем месяце жизни ребенка и препятствующий потере воды через роговой слой - являются важными генетическими факторами риска развития АД [26, 29, 178]. В ряде исследований было показано, что функциональная нестабильность филагтрина - основного белка эпидермального барьера - является важнейшим предрасполагающим фактором развития АД [93, 99, 174]. Ряд исследователей полагают, что ген, кодирующий структурный эпидермальный белок филагтрин, играющий важную роль в дифференцировке кератиноцитов и функции эпидермального барьера, является наиболее важным в предрасположенности к АД [101, 102, 114]. Было показано, что «атопический марш» предполагает тенденцию развития пищевой аллергии, бронхиальной астмы (БА) и аллергического ринита (АР) у больных с АД. При этом мутации гена *FLG* являются факторами риска на каждом шаге в пролонгированном процессе: формирование АД, аллергической сенсибилизации, БА у больных с АД и АР [93, 102, 166]. Таким образом, мутации гена *FLG* являются важным

фактором риска реализации атопии в целом, но с разными шансами для конкретного фенотипа [29, 50, 144]. Тесная связь между мутациями гена *FLG* и АД стала важным этапом в генетическом исследовании аллергических заболеваний [18, 99]. Мутации гена *FLG* объясняют пониженную экспрессию *FLG* и продуктов его деградации у пациентов с АД [29, 93]. В настоящее время мутации гена *FLG* рассматривают как основной фактор риска развития АД, особенно у пациентов с ранним его началом (до 2 лет жизни) и больных с персистирующей бронхиальной астмой [164].

Секвенирование показало, что ген филагтрина (*FLG*) расположен на хромосоме 1q21, в составе эпидермального дифференцирующего комплекса (EDC) - массивный кластер генов, охватывающий регион около 1,9 млн пар нуклеотидов геномной ДНК человека и принимающий участие в терминальной дифференцировке эпидермиса и образовании рогового слоя, который показал ассоциацию с АД еще при исследовании сцепления. EDC содержит набор около 45 генов, экспрессируемых на завершающей стадии дифференцировки эпидермиса - кодирующих структурные эпидермальные белки, участвующие в формировании рогового слоя кожи: инволюкрин, лорикрин, протеин-богатые белки (SPRR), трихохиалин и несколько связывающих кальций белков S100A [163]. Секвенирование генома у больных АД показало активацию связывающих кальций белков S100 и подавление филагтрина и лорикрина [114, 137, 143]. Эти белки вносят вклад в сложный механизм дифференцировки кератиноцитов, в результате чего кератиноциты проходят запрограммированный процесс пролиферации и дифференцировки от митотически активных клеток в базальном слое до безъядерных клеток верхнего слоя, выстраивая так называемую ороговевшую оболочку. Таким образом, EDC является группой структурно и эволюционно связанных генов, при тесном сотрудничестве которых протекает сложный механизм дифференцировки эпидермиса, нарушение которого ведет к развитию АД.

Мутации в гене *FLG*, связанные с потерей его функции, первоначально были описаны как причина для *ichthyosis vulgaris* [82, 196, 197, 236]. Но также они были идентифицированы как весьма значимые факторы риска АД [182, 184]. Впервые С. N. Palmer и соавт. в 2006 году сообщили о снижении или отсутствии экспрессии гена *FLG* вследствие мутаций, связанных с потерей его функций, что ведет к нарушению эпидермального барьера и клиническим проявлениям АД, что впоследствии было подтверждено в совместном исследовании с Н. Bisgaard в 2017 г. [93, 182]. Мутации, приводящие к потере функции *FLG*, ассоциировались с АД во многих исследованиях и разных популяциях (особенно европейских и азиатских), что делает его лучшим геном-кандидатом, обуславливающим генетическую предрасположенность к АД [105, 180, 228]. На сегодняшний день идентифицировано около 40 мутаций гена *FLG* в европейских и азиатских популяциях [18]. Распространенность мутаций гена *FLG* различается по странам Европы, но *p.R501X* и *c.2282del4* являются двумя наиболее часто встречающимися и имеющими существенную связь с АД по всему континенту [99]. Нарушение кожной барьерной функции, вызванной главным образом недостаточностью филагрина, облегчает доступ экологических агентов в кожу и вносит существенный вклад в развитие АД.

Исследователями доказано, что важную роль в развитии АД играют сериновые протеазы, которые участвуют в десквамации эпидермиса и воспалении [142]. Общеизвестно, что в роговом слое эпидермиса активностью сериновых протеаз обладают калликреины: KLKs - группа, состоящая из 15 сериновых протеаз с хемо- и трипсин-подобной специфичностью. Среди них важная функция отведена двум протеазам: KLK5 или трипсин-подобный фермент рогового слоя (KLK5/SCTE) и KLK7 или химотрипсин-подобный фермент рогового слоя (KLK7/SCCE). Оба фермента максимально экспрессируются в зернистом слое эпидермиса, затем транспортируются из ламеллярных телец в межклеточное пространство рогового слоя, где образуют протеолитический каскад. *In vitro* показано, что после активации оба фермента

разрушают десмоглеин, десмоколлин и корнеодесмосин [15, 17, 30, 193]. Выявлено увеличение концентрации трипсиновых ферментов в роговом слое и повышение их экспрессии при АД.

Ген сериновых протеаз (SPINK5), который экспрессируется в верхних слоях эпидермиса, локализован на длинном плече хромосомы 5 в области 5q31-q32, включает 33 экзона, охватывает около 61 кб и кодирует лимфоэпителиальный ингибитор сериновых протеаз типа *Kazal-5* (LEKTI), состоящий из 1064 аминокислот, организованных в 15 доменов [193]. Сериновые протеазы и их ингибиторы играют ключевую роль в различных иммунных и воспалительных процессах, в том числе Т- и В-дифференцировки клеток, активации цитокинов и комплемента, репарации воспалительных тканей [105, 142]. В частности, LEKTI участвует в терминальной дифференцировке кератиноцитов и регуляции протеолиза эпителия. Кроме того, обнаруженная экспрессия LEKTI в тимусе подтверждает его роль в созревании Т-клеток, отборе и/или процессинге антигена. В связи с этим высказано предположение о том, что LEKTI участвует в регуляции эпителиального и слизистого воспаления, а нарушение его экспрессии может привести к несбалансированному Th2-ответу и усилению воспаления в тканях-мишенях. LEKTI экспрессируется в ороговевающем и неороговевающем эпителии, тимусе, миндалинах, паращитовидных железах, волосяных фолликулах и трахее. В эпителии LEKTI экспрессируется в зернистом и самых верхних слоях шиповатого слоя эпидермиса. Мутации гена SPINK5 ведет к преждевременному прекращению транскрипции LEKTI, в результате чего образуется LEKTI «уменьшенного» размера с несколькими ингибирующими областями [28]. Walley и соавт. сообщили о важности однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП), локализованных в экзоне 14 гена SPINK5, в развитии АД [226]. Отмечено, что экспрессия LEKTI обнаруживается в кератиноцитах здоровой кожи и в коже пациентов с АД, но при этом не обнаружена в легочной ткани здоровых индивидов, что указывает на вовлечение SPINK5 в

развитие АД, но его участие в развитии бронхиальной астмы остается под вопросом [105, 193]. В целом же, дисбаланс протеаз по отношению к активности их ингибиторов может провоцировать воспалительную реакцию на коже у больных АД и указывает на его ведущую роль в нарушении барьерной функции, что в свою очередь приводит к увеличению трансэпидермальной потере воды, проникновению аллергенов, антигенов, химических веществ из окружающей среды и потенцирует обострение заболевания [105, 117, 143, 156].

В последнее десятилетие интенсивно исследуются функции и экспрессия в норме и при патологии toll-подобных рецепторов (TLRs), сигнальных PRRs (рецепторы, распознающие «образы» патогенов (pattern recognition receptors - PRRs). Роль TLRs в патогенезе АД до конца не изучена. В литературе приводятся данные о влиянии бактериальной микрофлоры на течение воспалительного процесса у больных АД [16, 185, 219, 221]. В частности, была установлена взаимосвязь тяжести течения АД у детей и показателей обсемененности кожи стафилококковой флорой, выявлена перестройка микробиоценоза кожи при экземе [86], показано увеличение уровня антибактериальных пептидов ( $\beta$ -дефенина, кателицидина и дермцидина) в очагах пораженной кожи. В исследованиях ряда авторов установлена роль полиморфизма генов TLRs и/или молекул сигнальных путей у больных АД. В частности, более повышенную восприимчивость к *S. aureus* и понижение способности к его элиминации наблюдали в группе больных АД, имеющих нуклеотидную замену (R>Q) в позиции 753 гена TLR2 по сравнению с больными, не имеющими такого полиморфизма [185]. Другие исследования опровергают связь полиморфизма TLR2 с тяжестью течения заболевания у больных АД. В исследованиях 2007-2017 гг приводятся данные, свидетельствующие о том, что полиморфизм генов TLR2, TLR9 и TOLLIP может способствовать ингибированию функции адаптерных белков, участвующих в каскаде передачи сигнала [101, 176, 190, 192]. Это приводит к

нарушению функционального реагирования и повышению восприимчивости больных АД к бактериальным и вирусным инфекциям.

### 1.3. Роль полиморфизма генов *GST* в патогенезе АД

Основным средовым фактором, определяющим развитие и тяжесть течения АД, считается воздействие экзогенных ксенобиотиков - чужеродных, токсичных для живых организмов химических веществ [110,144]. Экзогенные ксенобиотики подразделяются: на инфекционные (бактериальные, грибковые и вирусные агенты и продукты их взаимодействия с тканями организма человека), неинфекционные (бытовые, лекарственные, химические, пылевые и эпидермальные – волосы и шерсть животных), пищевые продукты также по сути являются ксенобиотиками и подразделяются по виду происхождения на растительные и животные (рис.1).



Рисунок 1 - Виды ксенобиотиков (<http://biofile.ru/bio/16479.html>)

Защитными механизмами адаптации к воздействию являются процессы их биотрансформации. Большинство ксенобиотиков липофильны, они легко

адсорбируются и проникают через мембраны клеток печени, почек, кожи, стенки кишечника, где и подвергаются биотрансформации. Биотрансформация ксенобиотиков в организме происходит в результате двух функционально сопряженных фаз [129]. В течение первой, несинтетической фазы с помощью ферментов семейства цитохромов (основным является цитохром P450), а также ряда неспецифических эстераз, амидаз и монооксигеназ происходит окисление, восстановление или гидролиз ксенобиотиков [179, 199]. В течение второй фазы биотрансформации метаболиты подвергаются дальнейшей дезинтоксикации посредством реакций конъюгации, осуществляемыми глутатион-, N-ацетил-, сульфо-, УДФ-глюкуронозил-трансферазами [45]. В реализации аллергенных свойств ксенобиотиков существенное значение имеет активность ферментов 2-ой фазы биотрансформации, а именно глутатион-S-трансфераз (GST), катализирующих реакции конъюгации глутатиона - трипептида, состоящего из аминокислот L-глутамата, L-цистеина и глицина и синтезирующегося почти во всех эукариотических клетках - с различными электрофильными ксенобиотиками. GST участвуют в метаболизме эндогенных медиаторов воспаления и являются важным компонентом антиоксидантной, антиперекисной, антирадикальной защиты клетки [45, 48]. GST катализируют конъюгацию глутатиона с широким рядом неполярных соединений, содержащих электрофильные атомы углерода, серы, азота и фосфора, предохраняя таким образом клетки от вредного действия ксенобиотиков [77]. GST также участвуют в реакциях широкого ряда эндогенных субстратов, играющих важную роль в регуляции бронхоспазма и воспаления - серотонина, дофамина, лейкотриена E<sub>4</sub>, простагландина E [45, 48, 126]. У млекопитающих GST присутствует практически во всех органах и тканях, при этом содержание фермента в печени наибольшее. Выделяют три субсемейства GST: митохондриальные, микросомальные и цитозольные, на долю которых приходится примерно 90% активности GST в клетке. Микросомальные изоформы GST – это интегральные мембранные белки, которые в настоящее

время получили название «мембрансвязанных белков метаболизма эйкозаноидов и глутатиона» (MAPEG, от англ. membrane-associated proteins in eicosanoid and glutathione metabolism) [45, 48]. Изоформы микросомального MAPEG субсемейства разделяются на 4 субгруппы (I–IV), у представителей которых сходство аминокислотных последовательностей составляет менее чем 20%. У человека обнаружены 6 изоферментов, принадлежащих к I, II и IV субгруппам [45, 48, 175]. Как и представители цитозольных изоформ GST, микросомальные изоформы катализируют конъюгацию восстановленного глутатиона GSH с электрофильными соединениями, но, кроме того, принимают участие в процессах изомеризации ненасыщенных соединений и биосинтезе лейкотриенов и простагландинов [45, 48].

Цитозольные GST на основании сходства аминокислотной последовательности подразделяются на пять семейств с частично перекрывающейся субстратной активностью: альфа, мю (M), пи (P), тэта (T), зэта, которые объединяют 17 изоформ и кодируются 16-ю генами, локализованными на разных хромосомах [76, 175]. У человека цитозольные изоформы в пределах одного класса имеют более 40% гомологии (иногда этот показатель превышает 90%), между разными классами гомология сохраняется менее чем на 25%. Наибольший интерес представляют нарушения функции цитоплазматических GST классов M1, T1 и P1, которые участвуют в механизмах возникновения и развития аллергических реакций, в том числе и АД, а их полиморфная экспрессия может предопределять клинический полиморфизм заболевания [106, 108]. Изоформа GST M1 катализирует детоксикацию таких эпоксидных цитотоксинов, мутагенов и канцерогенов, как бензопирен, стирен-7,8-оксид, афлатоксин B1. GSTT1 и GSTT2 содержатся преимущественно в эритроцитах и печени. Характерная реакция для этого класса GST: глутатион-зависимая конъюгация галогенопроизводных метана (в частности, дихлорметана). Индивидуальные различия метаболизма метилбромида, этиленоксида и метилхлорида в крови разных людей

связаны с полиморфизмом генов *GSTT*. *GSTP1* является основной GST в клетках плаценты и кожи. Особенностью *GSTP1* является то, что кроме участия в классических для GST реакций, *GSTP1* выступает в качестве ингибитора JNKs (с-Jun N-terminal kinases) – группы протеинкиназ, участвующих в процессах клеточной пролиферации и апоптоза, поэтому отмечена его роль при развитии онкологических заболеваний, и патологиях репродуктивной сферы [15].

Все цитозольные формы GST являются полиморфными. Полиморфизм ферментов биотрансформации определяется наличием нескольких аллельных вариантов кодирующих их генов с разной метаболической активностью фермента [76]. Полиморфная экспрессия ферментов предопределяет различную чувствительность к разным ксенобиотикам, что необходимо учитывать при составлении индивидуальной программы лечения и профилактики [76].

Наибольшая экспрессия гена *GSTM1* наблюдается в печени, почках и желудке. В результате делеции около 15 т.п.н (тысяч пар нуклеотидов) гена *GSTM1*, частота которой в популяции составляет 40-45%, образуются укороченные белковые продукты без выраженной ферментативной активности, что приводит к дисбалансу глутатион-опосредованной биотрансформации ксенобиотиков [76, 175]. Для *GSTM* и *GSTT* описан нуль-полиморфизм, при котором отмечается делеция соответствующих генов *GSTM1* и *GSTT1*. А в последовательности гена, кодирующего GSTπ (*GSTP1*), обнаружена замена аденина (А) на гуанин (Г) в 313 положении, приводящая к замене изолейцина 105 на валин (Ile105Val) в субстрат-связывающем Н-участке фермента, что приводит к изменению ферментативных свойств в отношении ряда субстратов [53, 76].

*GSTM1* имеет значение для развития онкологических заболеваний, психических заболеваний, патологии репродуктивной сферы. Имеются литературные данные, что нулевой аллель *GSTM1* модулирует течение аллергических реакций, в том числе АД и бронхиальная астма [10, 106, 108].

В исследованиях показано, что *GSTT1* экспрессируется в печени и в эритроцитах. Ген *GSTT1* существует в двух аллельных вариантах: функционально активном и неактивном, или «нулевом». В случае частичной или полной делеции гена *GSTT1*, частота которой в популяции составляет 16-25%, образуется аллель *GSTT1\*0*, с характерным снижением или даже полным отсутствием белкового продукта. Для наследования GST характерен эффект дозы. Гомозиготы *GSTT1 0/0* полностью лишены соответствующего фермента, гетерозиготы *GSTT1 +/0* имеют пониженную активность фермента («медленные конъюгаторы»), а в случае отсутствия делеции, гомозиготы *GSTT1 +/+* имеют нормальную глутатионтрансферазную способность («быстрые конъюгаторы») [61]. Измеров Н.Ф. с соавт. в 2012 г. показали, что сочетание неблагоприятных гетеро- и гомозиготных аллелей генов *CYP1A1*, *CYP3A4*, *EPHX1*, а также нулевых генотипов *GSTM1* и *GSTT1* характеризуется ранним развитием и неблагоприятным прогнозом в отношении профессиональной патологии кожи у лиц, имеющих стаж работы во вредных условиях до 5 лет [25].

Данные различных клинических исследований свидетельствуют, что наличие «нулевых» аллелей *GSTM1* и *GSTT1* у детей с АД является неблагоприятным признаком: такие дети предрасположены к тяжелому течению АД с диффузным поражением кожных покровов и частыми рецидивами [27, 106, 108], а нуль-полиморфизм *GSTT1* является генетическим фактором риска возникновения АД [27].

Роль *GSTP1* в патогенезе АД практически не изучена. Известно, что ген *GSTP1* локализован на хромосоме 11 (11q13) и экспрессируется во всех органах и тканях, кроме эритроцитов [125, 229]. Описаны два диаллельных полиморфизма гена *GSTP1*. Один приводит к замене основания аденин на гуанин (A/G) в 313 положении в 5 экзоне, следствием чего является замена аминокислоты изолейцина на валин (*Ile/Val*) в 105 положении пептида [17, 76]. При другом полиморфизме происходит замена цитозина на тимин (C/T) в 341

положении в 6 экзоне гена *GSTP*, в результате аминокислота аланин меняется на валин в 114 положении (*Ala/Val*). При различных комбинациях этих полиморфизмов возможно 4 варианта аллелей: *GSTP1\*A* - аллель «дикого» типа, который кодирует «активный» вариант фермента и измененные аллели – *GSTP1\*B*, *GSTP1\*C*, *GSTP1\*D*, кодирующие «медленные» варианты белка [76]. Аллель *GSTP1\*A* – кодирует белок, имеющий *Ile* в 105 положении и *Ala* в 114. Аллель *GSTP1\*B* представляет собой комбинацию *Val* в 105 и *Ala* в 114 положениях. Аллель *GSTP1\*C* имеет *al* в 105 и 114 положениях. Аллель *GSTP1\*D* характеризуется наличием в 105 положении *Ile* и в 114 - *Val*. При сравнительном анализе аллели, кодирующие «медленные» варианты белка можно объединять в одну группу [28, 30, 76]. Полиморфизм A313G в 5 экзоне гена *GSTP1* проявляется заменой изолейцина 105 на валин (*Ile105Val*). М.А. Watson показал, что носители аллеля G (*Ile/Val* и *Val/Val*) характеризуются сниженной конъюгационной активностью фермента по сравнению с индивидуумами, имеющими генотип AA (*Ile/Ile*) [231].

Полиморфизм гена *GSTP1* ассоциирован также с развитием эндометриоза. У пациенток с преэклампсией выявлен более низкий уровень *GSTP1* в плаценте, по сравнению с плацентой здоровых женщин, что позволило сделать предположение о роли этого фермента для снижения активности системы детоксикации [30, 76]. Однако, роль полиморфизма гена *GSTP1* в развитии и тяжести протекания АД изучена недостаточно.

В последнее время активно изучается связь между полиморфными вариантами генов *GST* и повышенным риском развития опухолей различного типа – в связи с тем, что фермент *GSTP* характеризуется как ингибитор Junкиназ (JNK), вовлеченных в проапоптотический сигналинг, а *GSTM1* связывает и ингибирует активность белка ASK1, который также является активируемой киназой [218]. Освобождаясь из комплексов с *GST*, эти киназы начинают активно стимулировать клеточный рост и пролиферацию, чем способствуют опухолеобразованию [134].

По мнению исследователей, практический интерес представляют гомозиготные носители «нулевого аллеля», т.к. только в этом случае следует ожидать отсутствие в организме соответствующей активной GST, в то время как у гетерозигот 0/+ происходит компенсация отсутствующего аллеля за счет полноценного второго. В исследованиях отмечено, что максимальный риск развития atopических заболеваний (в 9,5 раз выше общепопуляционного) зафиксирован для генотипа *GSTM1 0/0 GSTT1 0/0 GSTP1 Ile/Ile* [10, 76, 108]. В одном из отечественных исследований было изучено влияние взаимодействия между полиморфизмом в генах *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1* и связь с предрасположенностью к atopической бронхиальной астме. По мнению авторов, предрасположенность к atopической бронхиальной астме увеличивается с накоплением гомозиготных мутантных аллелей *GST* [222].

Наличие полиморфизма генов *GST* с большой степенью вероятности можно связать с нарушенной биотрансформацией в организме конкретных ксенобиотиков, за детоксикацию которых отвечают конкретные представители семейства *GST*. Полиморфные изменения *GSTM1* приводят к дефектам детоксикации бензопирена (экотоксикант, канцероген, содержащийся в продуктах горения, автомобильных выхлопах, табачном дыме, а также в жареном мясе, копченостях, рыбе, выловленной в зонах загрязнения воды нефтепродуктами, грибах, злаках и травах, растущих вдоль автомобильных трасс), стирен-7,8-оксида (содержится в сельскохозяйственных инсектицидах, используется при производстве пластика и некоторых косметических средств) и афлатоксина В1 (продукт жизнедеятельности плесневых грибов) [14,104]. Полиморфизм *GSTT1* свидетельствует о неполноценном метаболизме метилбромид (инсектицид), этиленоксида (применяется при изготовлении лакокрасочных изделий, растворителей, антифризов, моющих средств) и метилхлорида (растворитель, применяемый для изготовления жидкости для снятия лака для ногтей, растворимого кофе и др. сублимированных продуктов) [67]. О дефекте

фермента GSTP1 известно, что, кроме того, что он приводит к нарушению защитных антиокислительных механизмов и накоплению продуктов окислительного стресса, также делает неполной детоксикацию никотина и других компонентов табачного дыма, а также - продукта метаболизма парацетамола: NAPQI (N-ацетил-р-бензохинон) [32, 55].

Взаимосвязь полиморфизмов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков с предрасположенностью к АД достаточно хорошо изучена в группах детей. Интерес к проведению этих исследований в первую очередь связан с большей чувствительностью детей к воздействию ксенобиотиков, вследствие генетически детерминированной повышенной проницаемости и нестабильности клеточных мембран, приводящих к аномальной направленности иммунного ответа. Кроме того, активность ферментов биотрансформации у детей ниже, чем у взрослых, что приводит к более тяжелым последствиям воздействия токсических экзогенных и эндогенных веществ [26, 125, 186].

Таким образом, в настоящее время генетическая детерминированность АД не вызывает сомнений. Однако, до сих пор не получены данные о главном локусе, ответственном за проявления болезни. Кроме того, генетический фон не позволяет объяснить быстрый рост атопических заболеваний, наблюдаемый в последние годы: очевидно участие внешнесредовых факторов в развитии АД у предрасположенных лиц. Следовательно, в настоящее время АД определяют, как патологию, обусловленную реализацией фенотипа, т. е. проявлением генотипа, опосредованного рядом внешнесредовых факторов [17, 124].

#### **1.4. Роль пищевой аллергии в патогенезе АД**

Пищевая аллергия (ПА) является одним из важнейших триггерных механизмов, через которые реализуются генетически обусловленные дефекты иммунного ответа у больных АД [11, 24, 34]. ПА в РФ имеют от 30 до 56% детей и около 20% взрослых, страдающих АД. В последнее время отмечается

сохранение большой значимости ПА при АД во всех возрастных категориях больных, хотя и отмечена неоднозначная значимость ПА как патогенетического фактора для пациентов с АД разного возраста: так называемые пище-индуцированные обострения АД имеют место примерно у 1/3 детей раннего возраста, у 5 - 10% детей старшего возраста и являются редкостью у взрослых больных, страдающих умеренной и тяжелой формами АД [225].

Признается, что значимость ПА возрастает при средней и тяжелой степени тяжести АД [62]. Показано, что 35 - 40% больных со средней и тяжелой формами АД имеют IgE-опосредованную ПА, а также - что с возрастом значимость ПА достоверно снижается и у большинства взрослых больных, страдающих АД, она играет весьма слабую роль [60, 70, 216]. Однако в большинстве клинических случаев элиминационная диета с исключением облигатных пищевых аллергенов чаще всего приводит к улучшению или купированию клинических симптомов болезни, что необходимо учитывать при составлении индивидуальной программы профилактики обострений АД. Кроме того, следует учитывать, что сопутствующая патология органов пищеварения - ферментная недостаточность, кишечный дисбактериоз и т.п. усугубляет протекание ПА [21, 24, 103].

### **1.5. Значение патологии органов пищеварения в патогенезе АД и ее диагностика**

Патология органов пищеварения - важный патогенетический фактор в возникновении и развитии АД. Известно, что классическая сенсibilизация к пищевым антигенам происходит через гастроинтестинальный тракт. Поэтому, следует предположить, что нарушение барьерной функции кишечника и повышение абсорбции пищевых аллергенов у больных АД будут способствовать развитию пищевой аллергии [56, 57, 121]. Следовательно, дефект биоценоза кишечной микрофлоры неминуемо приведёт к усугублению протекания аллергических реакций на коже. Значительная роль в этом

процессе отдается так называемой "защитной" микрофлоре, составляющей до 95% всей кишечной микробиоты (лакто- и бифидобактерии и кишечная палочка с нормальными ферментативными свойствами). В соответствии с современными воззрениями, недостаточное количество лактобактерий является основным отягчающим фактором при АД. Именно лактобактерии в значительной степени снижают всасывание аллергенов в кишечнике и стимулируют синтез IgA, которые, особенно в раннем детском возрасте, являются основными антителами против пищевых аллергенов [58, 75, 194, 234].

Давно общепризнано, что поддержание в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) нормофлоры является важным аспектом при ведении пациентов с АД. Нормофлора выполняет важнейшие физиологические и иммунологические функции в макроорганизме и составляет с ним единое целое. Общая численность бактерий кишечника достигает  $10^{14}$  клеток, что почти на порядок больше числа клеток всех органов и тканей макроорганизма. Кроме нормофлоры, в кишечнике человека может присутствовать сапрофитная флора и условно патогенная флора (УПФ). Сапрофитная флора представлена эпидермальным и сапрофитным стафилококками, энтерококками, дрожжами, нейссериями и другими видами бактерий. УПФ кишечника может быть представлена гемолитическими стрептококками, золотистым стафилококком, спорообразующими анаэробами, лактозонегативными энтеробактериями, гемолизирующей кишечной палочкой, грибами рода *Candida*. В норме количество УПФ не должно превышать  $10^3$ - $10^6$  КОЕ в 1 г фекалий, или 10% общего количества микробов [58].

Нормофлора кишечника участвует во многих жизненно важных процессах макроорганизма, который, в свою очередь, является для нее средой обитания. Основные функции кишечной микрофлоры можно сформулировать следующим образом: барьерная (как механическая защита слизистой оболочки от различных повреждений, так и защита от

проникновения в слизистую оболочку и системный кровоток нежелательных веществ); ферментативная (участие в пищеварении, в том числе синтез лактазы); участие в процессах опорожнения (за счет выделяющихся в процессе жизнедеятельности бактерий веществ, стимулирующих моторику ЖКТ); участие в обмене веществ (синтез и усвоение многих витаминов и микроэлементов); участие в иммунных процессах (в том числе конкуренция с УПФ). Нормофлора пищеварительного тракта играет важную роль в защите организма от токсических воздействий экзогенных и эндогенных субстратов и метаболитов. Она защищает макроорганизм от токсичных соединений, не только поступающих в организм с пищей, водой, воздухом, но и образующихся внутри него. Это первое звено в каскаде защитных реакций организма на повреждающие воздействия. Слой «слизь - IgA - нормофлора» занимает все поверхности, образуемые энтероцитами, и защищает слизистую оболочку от дегидратации макромолекул, физической и химической агрессии, а также от атак микроорганизмов, бактериальных токсинов, паразитов [59]. Нормофлора тормозит процессы декарбоксилирования пищевого гистидина, уменьшая тем самым синтез гистамина, и, следовательно, снижает для детского организма аллергический потенциал энтерального питания [58, 80].

Нарушения адаптационных механизмов в организме, проявляющиеся в виде аллергических заболеваний, в том числе, АД - это неоправданно сильный, извращенный ответ макроорганизма на какие-либо воздействия как извне, так и изнутри. Общеизвестно, что в патогенезе АД имеют значение не только иммунные нарушения, но и нарушения в микробиологии ЖКТ (обозначаемые как дисбактериоз кишечника). Нарушение кишечного микробиоценоза, связанное с изменением состава постоянной микрофлоры, способствует колонизации патогенными и условно-патогенными бактериями, нарушению основных функций и приводит к формированию дисбиоза. Дисбиоз кишечника отмечается у 80-95% больных АД, при этом наряду с дефицитом лактобактерий и бифидобактерий наблюдается избыточный рост

*Staphylococcus aureus*, *E. coli* с измененными свойствами, грибов рода *Candida*. Наличие патогенной микрофлоры вызывает аутоенсибилизацию организма с развитием иммуно-аллергических реакций в основном по IgE-зависимому типу [62, 70, 121, 157]. Помимо этого, определенные штаммы *Staphylococcus aureus* выделяют токсины, которые выступают в роли суперантигенов, способных активировать до 10% лимфоцитов [69]. Безусловно, все эти факторы, наряду с усилением пищевой сенсибилизации из-за нарушений барьерной функции кишечника, в значительной степени утяжеляют течение АД, приводят к хронизации процесса. Это подтверждается многочисленными исследованиями, в результате которых выявлена корреляция между степенью выраженности дисбиоза и тяжестью клинических проявлений АД, а также данными о повышении эффективности проводимого лечения при целенаправленном воздействии на микрофлору кишечника [47]. Наиболее частыми причинами развития кишечного дисбиоза, наряду с искусственным вскармливанием и нехваткой пищеварительных ферментов, являются прием современных лекарственных средств, снижающих желудочную секрецию (блокаторы H<sub>2</sub>-гистаминовых рецепторов), способных снизить резистентность естественной кишечной микрофлоры и применение иммунодепрессантов (цитостатиков, глюкокортикоидов), снижающих иммунорезистентность организма [3, 200]. Поскольку вышеупомянутые группы препаратов являются наиболее часто применяемыми компонентами традиционного медикаментозного лечения АД, проблема дисбиоза ЖКТ представляется ещё более значимой [19].

Доказана связь неатопических экзем с инфекционными агентами, в частности со стафилококковой, стрептококковой инфекциями, грибами рода *Candida*, гемолитической *E. coli* и другими представителями УПФ. В некоторых исследованиях получены данные о том, что продукты расщепления стафилококкового энтеротоксина и других микроорганизмов высокомологичны IgE-рецептору [46, 69]. Микробные энтеротоксины

фиксируются на В-лимфоцитах, что стимулирует синтез IgE, вызывая вторичную гиперсенсibilизацию. Это играет важную роль в поддержании кожного воспаления при АД. Кроме того, продукты жизнедеятельности микроорганизмов (токсины) могут накапливаться в организме человека [59]. У здоровых людей они инактивируются бактериями нормофлоры. В условиях дисбактериоза кишечника эти токсины вызывают реактивное воспаление поджелудочной железы, печени, нарушают функцию этих органов, что вызывает еще более выраженный дисбактериоз кишечника, в результате которого нарушаются расщепление и усвоение жизненно важных питательных веществ [46, 59, 62].

Немногочисленные исследования указывают на роль нарушений гепато-интестинальной регуляции, процессов детоксикации в печени и субклинической патологии желудка и кишечника в патогенезе развития АД. В соответствии с исследованиями ряда авторов у пациентов с АД имеют место функциональные нарушения в гепатобилиарной системе, поджелудочной железе и интестинальном отделе ЖКТ. Авторы исследований функционального состояния гепатобилиарной системы больных АД выявили дискинезию желчевыводящих путей, приводящую к функциональным изменениям гепатоцитов, нарушению реологии желчи, а, следовательно, и патологическим изменениям детоксикационной функции системы. Актуальным является тот факт, что дисбиотические изменения в кишечнике у больных АД имеют корреляционную связь с ферментативной активностью ЖКТ, которую нельзя считать полноценной при нарушениях подобного генеза. Данный процесс неминуемо приводит к неполному расщеплению белков и других нутриентов с образованием средних молекул. Средние молекулы представляют собой неидентифицированные низкомолекулярные пептиды с молекулярной массой 500-5000 Д, обладающие биологической активностью, а их накопление в крови оказывает влияние на патологические сдвиги гомеостаза и развитие синдрома эндогенной интоксикации [81, 159].

Но, учитывая отсутствие диагностически значимых изменений биохимических показателей крови, выраженных клинических симптомов и морфологических изменений в тканях ЖКТ, данная патология у больных АД чаще протекает субклинически. Однако, на основании клинических наблюдений известно, что коррекция патологии ЖКТ приводит к значительным улучшениям со стороны кожного процесса [56, 57].

Болезни органов пищеварения являются одним из значимых триггерных факторов в течении АД не только у детей, а также у взрослых. По наблюдениям исследователей отмечается рост заболеваемости в старших возрастных группах по сравнению с младшими в 4,1 раза. На долю хронического гастродуоденита у пациентов с АД приходится 52 - 68% случаев в структуре хронических заболеваний ЖКТ [56, 57, 83]. Среди этиологических факторов хронического гастродуоденита выделяют алиментарные факторы, наследственную предрасположенность, психоэмоциональные факторы, дисбаланс вегетативной нервной системы, снижение общей резистентности организма, пищевую аллергию, инфекционные факторы, заболевания других органов и систем [57, 169]. Среди инфекционных факторов наиболее распространены *Helicobacter pylori*, лямблии, а в Хьюстонской модификации Сиднейской системы есть указание на возможную этиологическую роль вирусов [127]. Патогенез хронического гастродуоденита связан с нарушением баланса между факторами агрессии и защитными свойствами слизистой оболочки на фоне нарушения нейроэндокринной регуляции функционального состояния гастродуоденальной зоны и зависит от этиологического фактора. Среди патогенетических вариантов гастрита выделяют гастрит типа А (аутоиммунный, со сниженной или нормальной кислотообразующей функцией желудка, по механизму отрицательной обратной связи с повышением уровня гастрина в сыворотке крови, выявлением антипариетальных антител, морфологическое исследование биоптатов выявляет поражение фундального отдела желудка с атрофией желез,

встречается в 5% случаев), гастрит типа В (бактериальный, с поражением антрального отдела желудка, повышенной или нормальной кислотообразующей функцией желудка, при развитии атрофии в антральном отделе желудка снижается уровень гастрина в крови), смешанный вариант А и В, гастрит типа С (химически индуцированный, ассоциированный с дуоденогастральным рефлюксом) [127]. У детей в возрасте 5-6 лет инфицирование *Helicobacter pylori* отмечается в 40 - 45% случаев, к 14 - 15 годам жизни инфицируются 60-70% детей, а при эрозивно-язвенных процессах частота выявления *Helicobacter pylori* достигает 80-90% случаев [122]. Патогенез гастрита типа В связан с заселением *Helicobacter pylori* слизистой оболочки желудка и воздействием его факторов патогенности на эпителий с последующим изменением кислотообразующей функции желудка. В работах ряда авторов показано, что при инфицировании *Helicobacter pylori* желудочный эпителий приобретает свойства антигенпрезентирующих клеток, при этом происходит стимуляция CD4-Т-лимфоцитов и, таким образом, в присутствии *Helicobacter pylori* эндотелий желудка участвует в местном иммунном ответе [148]. По данным других авторов, антитела, вырабатываемые организмом к *Helicobacter pylori*, могут повреждать париетальные клетки, нарушать дифференцировку эпителия, что приводит к его атрофическим изменениям [171]. Этиопатогенез аутоиммунного гастрита до недавнего времени оставался неясным и трактовался как аутоиммунное повреждение обкладочных клеток после предшествующего изменения их свойств под действием ряда антигенов. Среди этиологических факторов аутоиммунного гастрита в последнее время большое внимание уделяется вирусам группы герпеса, особенно вирусу Эпштейна - Барр (ВЭБ). ВЭБ представляет собой вирус группы герпеса 4-го типа, размножающийся и персистирующий в клетках иммунной системы, эпителиоцитах полости рта, желудочно-кишечного тракта, дыхательных путей. Антитела к ВЭБ выявляются в 40–60% случаев у детей дошкольного возраста и в 80% случаев

у взрослых [234]. Инфицированные вирусом клетки утрачивают способность к апоптозу, что приводит к их неограниченной пролиферации.

В других исследованиях показано, что ВЭБ может усиливать или угнетать транскрипцию гастрина, который регулирует кислотообразующую функцию желудка, а также является фактором роста для желудочного эпителия [59, 79]. По данным авторов, хроническая ВЭБ-инфекция диагностировалась у 76,6% - 80 % пациентов с гастродуоденитом, из них в 12 - 39,6% случаев в биоптатах слизистой оболочки желудка выявлялась ДНК ВЭБ. У половины всех пациентов с гастродуоденитом одновременно выявлялись и вирусная инфекция, и *Helicobacter pylori*. По данным ряда исследователей, у 46,5% больных, страдающих патологией гастродуоденальной зоны, имеются аллергические заболевания [148].

Одной из главных причин рецидивирующих болей в животе у детей младшего возраста является аллергия на белок коровьего молока [11, 24]. Пищевая аллергия встречается у 94% детей первого года жизни и у 70% пациентов старшего возраста [137]. Патогенез АД связывают с дисбалансом Th 1/Th 2-иммунного ответа и последующей гиперпродукцией Ig классов E и G4 к причинно значимым аллергенам [167]. Известно, что у всех детей в антенатальном и раннем постнатальном периоде отмечается транзиторное смещение иммунного ответа в сторону Th 2-лимфоцитов. В соответствии с гигиенической гипотезой созревание Th 1-иммунного ответа происходит в дальнейшем под влиянием микробной стимуляции, в том числе кишечной микрофлоры. У взрослых пациентов молодого возраста с аллергическими заболеваниями сохраняется преобладание Th2 иммунного ответа [90]. Известно, что разные виды и штаммы микроорганизмов стимулируют разные звенья иммунитета. В ряде работ показано, что некоторые антигены *Helicobacter pylori* могут переключать иммунный ответ с Th2 на Th1 и снижают вероятность развития аллергических заболеваний. Согласно данным других авторов, CagA-позитивные штаммы *Helicobacter pylori* поддерживают

течение атопического дерматита за счет стимуляции синтеза IgE. По данным ученых *Helicobacter pylori* усиливает транспорт аллергенов через поврежденную слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта в экспериментальных моделях, что приводит к нарушению формирования оральной толерантности [56, 122]. На формирование сенсibilизации помимо генетических факторов влияет и состояние иммунной системы в момент контакта с аллергеном. По данным других авторов, сопутствующая вирусная инфекция герпетической группы, в том числе вызванная ВЭБ, индуцирует гиперпродукцию IgE [151, 169].

Одной из превентивных мер, направленных на предотвращение прогрессирования АД, является диагностика ранних субклинических нарушений органов пищеварения. Патология органов пищеварения - один из важнейших факторов прогрессирования АД. Однако, коррекция органов пищеварения у больных АД традиционно проводится по общепринятым схемам, без учета индивидуальных особенностей и характера поражений. Кроме того, от внимания зачастую ускользает ранняя субклиническая патология или стертые формы иного заболевания. В связи с этим исключительный интерес представляют скрининговые методы исследования, позволяющие обнаружить ранние изменения в органах пищеварения с помощью диагностических биомаркеров, а именно - методика определения титров естественных аутоантител (АТ) к тканевым антигенам, позволяющая проводить раннюю диагностику патологии органов пищеварения.

Показано, что иммунный ответ, первично индуцированный аллергенами внешней среды, может поддерживаться эндогенными антигенами: они обнаружены в иммунных комплексах с Ig-E сыворотки крови пациентов с АД. В 90-х годов XX века впервые было обнаружено, что при АД развивается аутоиммунный ответ [223, 224]. Впоследствии антигены, связанные с IgE-антителами и способные вызвать аллергическую реакцию немедленного типа, были выделены, охарактеризованы и клонированы. Они вошли в

номенклатуру ВОЗ как "ara Hom S1-S5" (atopy related antigens Homo sapiens: человеческие антигены, связанные с атопией). В настоящее время насчитывается около 140 антигенов, способных связываться с IgE - антителами, либо активировать Т-лимфоциты у больных АД [23, 103, 111]. Были также выявлены IgE -антитела к внутриклеточным белкам человека. В сыворотке крови больных АД были обнаружены связанные с атопией антигены, рекомбинантные аналоги которых вошли в международную номенклатуру аллергенов как Home S1-S5 [52, 103]. Было показано, что аутоаллергены, высвобождаемые из поврежденных тканей, могут индуцировать иммунные реакции с участием тучных клеток, базофилов, Т-клеток и IgE [60, 109]. Также, были обнаружены IgG - антитела к тканевым антигенам, таким как миозин и гистон и к "фактору роста эпителия хрусталика глаза", локализованному также в коже, преимущественно в ядрах клеток базального слоя эпидермиса. Этот фактор рассматривается как главный антиген при АД, к которому были обнаружены также и Ig-E-антитела. В дальнейшем антигены были обнаружены и в поверхностных структурах кератиноцитов [43]. При исследовании IgE и IgG - антител к тканевым антигенам (кератин, коллаген, эластин, миозин и др.) у детей с АД выяснилось, что их уровни прямо коррелируют со степенью тяжести кожного процесса [60, 74, 230].

Очевидно, что изучение у пациентов с АД функции иммунной системы, заключающейся в элиминации из организма не только внешних раздражителей, но и токсических метаболитов, внесет существенный вклад в понимание тонких механизмов иммуногенеза АД. Теория о клининговой («очищающей») функции естественных аутоантител (реализуемой совместно с макрофагами) была высказана впервые И.И. Мечниковым в конце XIX в. [161,162] и поддержана впоследствии P.Grabar [128], И.Е.Ковалевым [33] и современными иммунологами I. Cohen [109], Y. Shoenfeld [212], И.П. Ашмариным [5] и А.Б. Полетаевым [63].

Согласно данной концепции, иммунная система осуществляет постоянный антигенный скрининг состава организма и его сравнение с исходным оптимальным образом-матрицей и при выявлении расхождений запускает работу механизмы коррекции [61,78]. Специфические аутоантитела, образовавшиеся в результате иммунного ответа на неблагополучие собственных органов или тканей, являются своеобразными молекулярными маркерами, присоединяемыми к продуктам жизнедеятельности организма, нуждающихся в утилизации (в основном - макрофагами) по физиологическим (старение) и патологическим (болезнь) причинам [33, 237, 238]. Таким образом, иммунная система участвует в поддержании общего метаболического гомеостаза [64]. Аутоантитела класса IgG, направленные к самым разным антигенам собственного организма, синтезируются в организме человека на протяжении всей индивидуальной жизни [4, 23, 64, 63, 78]. У здоровых лиц содержание в сыворотке крови аутоантител конкретной органной специфичности находится в определенном диапазоне нормальных значений [70, 33, 109, 131, 213], которые заметно меняются при развитии многих хронических заболеваний [168]. Характерно, что при развитии патологических изменений, сдвиги в содержании многих аутоантител появляются существенно раньше, чем патологический процесс, который может быть зарегистрирован с помощью общепринятых инструментальных и лабораторных показателей (УЗИ, КТ, биохимическое исследование крови) [94, 90, 131]. Это обусловлено тем, что задолго до клинической манифестации болезни начинаются перманентные изменения уровней продукции определённых антигенов в тех или иных клеточных популяциях и происходит активация апоптоза определенных групп клеток, сопровождающаяся избыточным поступлением клеточных антигенов в межклеточные пространства и кровотока [213]. Основываясь на динамике изменений сывороточного содержания аутоантител можно оценивать выраженность

нарушений в органах, прогнозировать течение заболевания, дифференцированно подбирать терапию и оценивать ее эффективность [213].

Было показано, что при исследовании сывороточных уровней естественных аутоантител у большинства обследованных пациентов с разными дерматозами имелись проявления иммуноактивации и активного воспаления, а также иммунные признаки сосудистых изменений [23, 60, 74], однако у пациентов с АД такие исследования до сих пор проводились только при очень ограниченном наборе тканевых антигенов.

Определение уровней аутоантител к антигенам органов пищеварения является инновационным высокочувствительным методом диагностики ранних изменений (нарушений) (обследование «Иммунная карта» по технологии «Иммункулус» - метод группы Эли-тест). Данная технология позволяет оценить содержание АТ к тканевым (органным) антигенам (используются отечественные тест-системы ООО «Биомаркер», прошедшие международную сертификацию). Данная технология иммунологического исследования основана на представлении о том, что естественные регуляторные аутоантитела класса IgG разной органной специфичности постоянно синтезируются в организме здорового человека, при отсутствии патологии находятся в определенном диапазоне нормальных концентраций и выполняют, в частности, функцию удаления продуктов апоптоза из органов и тканей [64, 78, 109, 131, 213]. Изменения уровня АТ могут являться маркерами ранних изменений в органах и тканях (так как развитие любой болезни, как правило, сопровождается патологической активацией апоптоза клеток определенных органов и увеличением выброса соответствующих антигенов, что влечет за собой изменения продукции аутоантител определенной специфичности) и предшествовать клинической манифестации заболевания, что позволяет использовать данный метод диагностики в программах диспансеризации, в сложных клинических случаях, в прогностических целях [23, 38, 60, 69]. Оценка АТ по технологии «Иммункулус» применяется более

20 лет при хронических инфекционных, воспалительных процессах, при иммунопатологических состояниях [84]. Выявление стойких аномалий содержания аутоантител определенной специфичности позволяет контролировать изменения в организме пациента (в том числе на этапах предболезни), обосновать назначение лечебных препаратов и оценить эффективность проводимой терапии [63].

Было показано, что с помощью анализа содержания в сыворотке крови аутоантител разной специфичности возможно выявить органические нарушения, в том числе и не диагностированные ранее [61]. Среди обследованных лиц с алкогольной зависимостью (70 человек) у 30% имелись признаки изменений со стороны внутренних органов, в том числе – пищеварительной системы (поджелудочной железы – аутоантиген *Ins*, желудка – аутоантиген *GaM*, кишечника – аутоантиген *Itm*), причем в части случаев отмечены признаки иммуноактивации, а в части – иммуносупрессии, т.е. уровни антител изменялись разнонаправленно. В исследовании А.Б. Полетаева (2013) у 84 % обследованных лиц с метаболическим синдромом и сахарным диабетом 2 типа определялись сниженные уровни *GaM* – мембранных антигенов клеток слизистой оболочки желудка, *ItM* – мембранных антигенов клеток слизистой оболочки тонкой кишки, *HeS* – цитоплазматических антигенов ткани печени, *HMMP* – антигенов митохондрий клеток печени [65].

#### **1.6. Перспективные направления оптимизации профилактики обострений АД**

Таким образом, на сегодняшний день известно, что в патогенезе АД важнейшая роль принадлежит наследственной предрасположенности, иммунным нарушениям и сочетанному действию факторов риска, которые при определенных условиях "запускают" патологический процесс и влияют в дальнейшем на его течение. При этом роли известных патогенетических факторов у разных больных АД неравнозначны, и стандартизованный подход

к лечению зачастую приводит к его неэффективности: торпидности кожного процесса и усугублению тяжести течения заболевания.

Молекулярно-генетические исследования АД последних лет значительно расширили знания о генетических факторах, обуславливающих наследственную предрасположенность к данному заболеванию. Определены гены, полиморфные варианты которых ассоциированы с АД, однако результаты исследований характеризуются значительной межпопуляционной вариабельностью, что и определяет дальнейшее направление научного поиска в сторону выявления комбинации прогностических факторов развития АД. Это позволит выстроить план персонализированной системы лечения и профилактики обострений АД, предотвратить переход заболевания в тяжелую степень протекания и избежать, таким образом, негативных побочных эффектов от необходимости назначения «*therapia magna*» - системной иммуносупрессивной терапии, а также послужат направлением нового поиска в смежных областях исследования. Интенсивный анализ генетических и эпигенетических факторов, влияющих на патогенез АД, а также критических взаимодействий между генами и окружающей средой позволит разработать персонализированные терапевтические и профилактические подходы к проблеме АД. Например, показано, что обработка кожи увлажняющими средствами с целью восстановления функции эпидермального барьера эффективно на ранней стадии снижает риск развития АД [136], хотя проведение систематических исследований для сравнения индивидуальных увлажняющих средств по-прежнему представляется оправданным [154]. Кроме того, предложены различные стратегии, направленные на увеличение количества или восстановление дефектного филагрина в эпидермисе. Так, в результате скрининга библиотеки биоактивных веществ идентифицировано небольшое соединение (JTC801), которое увеличивает экспрессию филагтрина в кератиноцитах человека и подавляет воспалительные поражения АД-типа в мышинной модели дерматоза [181]. В другом исследовании был разработан

функциональный рекомбинантный мономер филаггрина, который после местного нанесения на кожу пораженных мышей проникал в дерму и восстанавливал нормальную барьерную функцию кожи [208].

Поскольку на развитие АД влияет как нарушение барьерной функции кожи, так и иммунная дисрегуляция, были разработаны терапевтические средства, которые модифицируют иммунные пути (например, путь IL4 и IL13), некоторые из которых уже находятся на стадии клинических испытаний [232]. В целом, коррекция функции кожного барьера и воздействие на иммунные нарушения у генетически предрасположенных к ним индивидуумов являются перспективными эффективными терапевтическими и профилактическими стратегиями, направленными на АД [207].

Также, в свете активного развития постгеномных технологий показаны связи между полиморфизмами системы детоксикации GST и диетой. Воздействие окружающей среды и/или определенная диета могут быть потенциально опасными для человека [217]. Как питательные вещества, так и ксенобиотики имеют тенденцию модулировать специфические последовательности в промоторных регуляторных областях генов, называемые реагирующие элементами, таким образом, оказывая влияние на экспрессию гена. Напротив, генетический полиморфизм в ферментах, которые метаболизируют ксенобиотики, регулирует воздействие конкретных питательных веществ путем изменения их структуры в результате биотрансформации [183]. Эти «антиокислительные реагирующие элементы» (ARE), обнаруженные в промоторных областях многочисленных ферментов детоксикаторов узнаются монофункциональными индукторами, такими как транскрипционный фактор NF-E2-зависимый фактор 2 и Maf- протеин. ARE активируют экспрессию гена, имеют решающее значение для функционирования защиты организма от стресса, факторов окружающей среды и, следовательно, от опухолеобразования [214]. Отдельные генотипы полиморфных ферментов детоксикации изменяют биодоступность,

метаболизм, сродство и активность некоторых диетических составляющих с потенциальной канцерогенной активностью.

Решающее значение для предотвращения обострений кожного процесса имеет профилактика обострений АД и, учитывая подтвержденную роль врожденных дефектов механизмов биотрансформации в развитии АД, активные превентивные и профилактические меры должны быть направлены на ограничение контакта предрасположенных к атопии лиц с экзогенными ксенобиотиками различного рода.

Таким образом, имеющиеся научные предпосылки свидетельствуют о том, что для пролонгирования клинической ремиссии и профилактики обострений кожного процесса сформировалась необходимость уточнить роль нарушений механизмов клеточной детоксикации ксенобиотиков и субклинической патологии органов пищеварения в патогенезе АД. Полученные результаты позволят повысить эффективность профилактики обострений у пациентов с АД с учетом имеющихся различных генотипов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* и степени выраженности изменений уровней естественных аутоантител к мембранным антигенам органов пищеварения.

## ГЛАВА 2.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Материал исследования:** 102 пациента подросткового и молодого возраста (по критериям ВОЗ) с АД легкого и среднетяжелого течения без жалоб и анамнестических указаний на патологию органов пищеварения.

**Методы исследования:** клинические (анализ жалоб, анамнеза, определение индекса SCORAD и интенсивности зуда) и лабораторные – *молекулярно-генетические* (определение полиморфизмов генов *GSTM1* *GSTT1* и *GSTP1* методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и *иммунологические* (определение сывороточных уровней аутоантител к антигенам органов пищеварения методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА).

**Критериями включения** в группы исследования были: подростковый и молодой возраст (согласно критериям ВОЗ) и отсутствие жалоб и анамнестических указаний на патологию органов пищеварения, так как выбранный метод исследования – определение уровней аутоантител к мембранным антигенам органов пищеварения – может служить методом ранней диагностики субклинической патологии.

**Критерии исключения:** пациенты с тяжелым течением АД, беременность, лактация, тяжелая онкологическая и инфекционная (например, туберкулез) патология, сахарный диабет, сопутствующая соматическая патология в стадии декомпенсации, проводимая 3 месяца назад и позже системная терапия кортикостероидными и/или цитостатическими препаратами.

Все обследованные пациенты были проинформированы о целях и задачах исследования, после чего подписали бланк-форму информированного согласия на участие в исследовании.

Лечебно-диагностические мероприятия проводились на базе дневного и круглосуточного стационаров отделения клинической дерматологии Федерального государственного бюджетного учреждения "Государственный

научный центр дерматовенерологии и косметологии" Минздрава России, подростково-дерматологического отделения института общей и профессиональной патологии ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, в лаборатории «СМ-Клиника» - общество с ограниченной ответственностью «Лабораторно-диагностический центр» (ООО «ЛДЦ») и в лаборатории эпигенетики ФГБНУ «Медико-генетический центр». На каждого больного заполнялся протокол исследования, с данными анамнеза, объективного осмотра, дополнительных методов исследования и лечения.

Перед началом лечения всем пациентам проводилось общеклиническое обследование, в состав которого входило исследование общих анализов крови, мочи, биохимический анализ крови, общий уровень IgE в сыворотке крови. Тщательно собирался анамнез, при этом особое внимание обращалось на остроту и распространенность кожного процесса, частоту обострений АД, эффективность и переносимость проводимого ранее лечения. Учитывались перенесенные и сопутствующие заболевания, давность заболевания, наследственная предрасположенность, аллергологический анамнез.

## **2.1. Общая характеристика обследованных больных**

В исследование вошло 102 пациента подросткового и молодого возраста (согласно критериям ВОЗ) с АД легкого и среднетяжелого течения, без жалоб и анамнестических указаний на патологию органов пищеварения, которые были разделены на две группы: основную группу (52 человека) и группу сравнения (50 человек), сопоставимые по поло-возрастному составу и клиническим проявлениям АД, отличающиеся тем, что основную группу составили пациенты с АД, в комплексное лечение которых, помимо терапии в соответствии с «Федеральными клиническими рекомендациями по ведению пациентов с атопическим дерматитом» (2015), дополнительно было включено энтеросорбирующее средство с детоксикационным и пребиотическим действием и персонализированные профилактические мероприятия по ограничению контакта с экзогенными ксенобиотиками. В исследование вошли

55 женщин (54%) и 47 мужчин (46%) (рис. 2), в возрасте от 15 до 44 лет (рис. 3). Легкое течение АД было диагностировано у 49 человек, среднетяжелое - у 53 (таблица 1). В основной группе было 23 пациента с АД легкого течения (13 женщин и 10 мужчин) и 29 пациентов со среднетяжелым течением АД (15 женщин и 14 мужчин) (рис. 4), в группе сравнения: 26 пациентов с легким течением АД (15 женщин и 11 мужчин) и 24 со среднетяжелым (12 женщин и 12 мужчин) (рис. 5). Давность заболевания АД у пациентов в обеих группах варьировала от 15 до 44 лет.

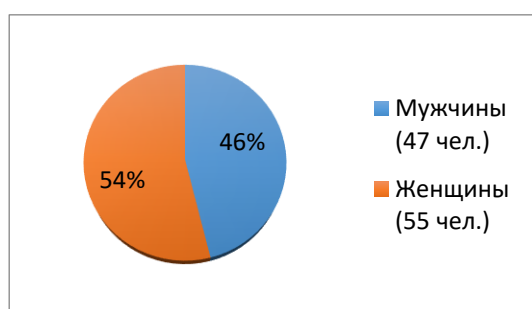


Рисунок 2 - Распределение пациентов по полу

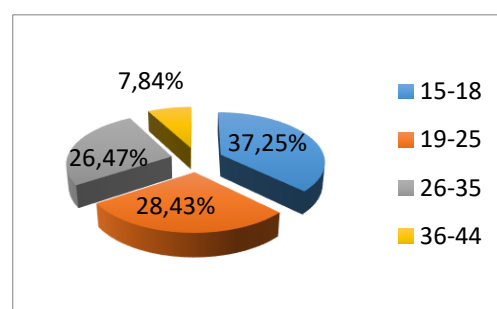


Рисунок 3 - Распределение пациентов по возрасту

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

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

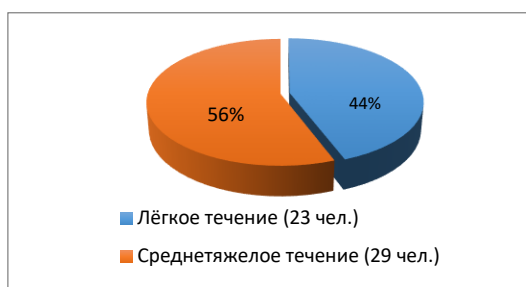


Рисунок 4 - Распределение пациентов по степени тяжести АД (основная группа)



Рисунок 5 – Распределение пациентов по степени тяжести АД (группа сравнения)

Учитывая тот факт, что обследованные пациенты с АД находились в подростковом и молодом возрасте, неудивительно, что они не сообщали о значительном количестве перенесенных и сопутствующих заболеваний. О перенесенных детских инфекциях (ветряная оспа, инфекционный паротит, краснуха) сообщили 73 человека (71,6%), гепатит А - 3 человека (2,9%); частые ангины и ОРВИ в детском возрасте отмечали 36 человек (35,3%). Наличие сопутствующих хронических заболеваний аллергического генеза (аллергический ринит, аллергический бронхит, пищевая аллергия) отмечали 49 человек (48,0%): 28 человек из основной группы исследования и 21 человек – из группы сравнения. По 1 человеку сообщили о наличии хронического обструктивного бронхита, хронического пиелонефрита и кисты яичника.

Клинические формы заболевания были представлены преимущественно эритематозно-сквамозным вариантом с очагами лихенификации 74 (72,5%) человека или без очагов лихенификации 16 (15,7%) человек, а также лихеноидной формой АД 12 (11,7%) человек.

Обращала на себя внимание частота рецидивирования высыпаний на коже пациентов. У 23 (44,2%) пациентов из основной группы и 20 (40%) человек из группы сравнения несмотря на то, что высыпания на коже были крайне скудными (ограничивались преимущественно областями кистей и лица) (*фото 1, 2*), кожный процесс демонстрировал тенденцию к частому рецидивированию - не реже 1 раза в 1-2 месяца.



Фото 1 - Пациент Г., 20 лет. Ограниченно-локализованный АД, эритематозно-сквамозная форма; обострения кожного процесса - до 10 раз в год, ремиссии нестойкие



Фото 2 - Пациентка А., 24 года. Ограниченно-локализованный АД, эритематозно-сквамозная форма с лихенификацией; обострения кожного процесса: 4-5 раз в год, ремиссии нестойкие

Остальные пациенты, составившие группы исследования, указывали на обострения кожного процесса различной степени интенсивности в течение 3-4 месяцев после очередного курса лечения. В целом, нестабильность клинических ремиссий в течение всего периода заболевания как основную жалобу отмечали абсолютное большинство пациентов в обеих группах наблюдения: 48 (92%) из обследованных 52-х пациентов в основной группе и 42 (84%) человек из 50 пациентов в группе сравнения. Среди причин, провоцирующих возникновение обострения кожного процесса, пациенты указывали: психоэмоциональный стресс – 83 (81,4%) человека, контакт с препаратами бытовой химии – 76 (74,5%) человек, нарушение гипоаллергенной диеты – 53 (52,0%) человека; при этом 74 (72,5%) человека, наряду с указанием конкретных причин обострения отмечали, что рецидивы кожного процесса у них происходят в том числе и без связи с какими-либо провоцирующими факторами, а 19 (18,6%) человек вообще не могли указать причины, с которыми можно было бы связать спонтанные обострения кожного процесса.

Обострения АД связывали с нарушениями диеты в основном молодые люди: так, в основной группе из 28 пациентов, указавших на обострение кожного процесса при употреблении в пищу аллергенных продуктов, 19 были в возрасте от 15 до 18 лет, в группе сравнения из 25 пациентов, связывавших обострения АД с пищевой аллергией, 16 человек были в возрасте от 15-18 лет.

У пациентов, вошедших в исследование, медиана индекса SCORAD до лечения была равна 26 и 28 баллам в основной группе и в группе сравнения соответственно (*таблица 2*).

Таблица 2 - Индекс SCORAD у обследованных пациентов с АД в основной группе и в группе сравнения ( $M \pm m$ ), (медиана)

| Группы пациентов          | Значения SCORAD до лечения (в баллах) |
|---------------------------|---------------------------------------|
| ОСНОВНАЯ ГРУППА,<br>n=52  | $26 \pm 1,42$ [26]*                   |
| ГРУППА СРАВНЕНИЯ,<br>n=50 | $28 \pm 1,5$ [28]*                    |

\* $P > 0,05$

Также, при оценке клинической картины придавалось значение динамике зуда, как важного компонента клинической картины АД, существенно влияющего на качество жизни пациентов с АД (таблица 3).

Таблица 3 - Интенсивность зуда у обследованных пациентов с АД в основной группе и в группе сравнения ( $M \pm m$ ), (медиана)

| Группы пациентов          | Интенсивность зуда (в баллах) |
|---------------------------|-------------------------------|
| ОСНОВНАЯ ГРУППА,<br>n=52  | $4 \pm 0,13$ [4]*             |
| ГРУППА СРАВНЕНИЯ,<br>n=50 | $4 \pm 0,16$ [4]*             |

\* $P > 0,05$

## 2.2. Клинические методы исследования

В каждом случае диагноз АД устанавливался на основании изучения жалоб пациента, анамнеза заболевания, дерматологического статуса, определение индекса SCORAD и интенсивности зуда.

Сбор анамнеза у всех пациентов проводился с использованием специально разработанной рабочей анкеты, позволявшей детально собрать и стандартизировать анамнестические сведения по целому ряду параметров: время дебюта заболевания, острота и распространенность кожного процесса, частота рецидивирования обострений АД, эффективность и переносимость

проводимого ранее лечения. Наряду со специальным дерматологическим исследованием, учитывались перенесенные и сопутствующие заболевания, наследственная предрасположенность, аллергологический анамнез. Оценивался соматический статус пациента: перенесенные им соматические болезни, инфекции, хронические заболевания, имеющиеся в момент обследования, производственные факторы, негативно влияющие на здоровье. Особое внимание уделялось выявлению заболеваний, отнесенных к атопическому маршу - аллергической риносинусопатии, бронхиальной астме, крапивнице, лекарственной непереносимости, рецидивирующему отеку Квинке.

Формулировка диагноза осуществлялась на основании Международной классификации болезней 10-го пересмотра, принятой 43-ей Всемирной Ассамблеей Здравоохранения, введенной в действие на территории Российской Федерации с 01.01.1999 (приказ МЗ РФ от 27 мая 1997 №170). Диагноз АД базировался на данных анамнеза и дерматологического статуса. Нами использовались диагностические критерии J. M. Hanifin и G. Rajka (1980) (при наличии 3 основных и 3 дополнительных критериев), дополненные Б.Т. Глухеньким и С.А. Грандо (1990). Клиническую форму, стадию, распространенность кожного процесса и степень тяжести заболевания определяли в соответствии с рекомендациями в «Федеральных клинических рекомендациях по ведению пациентов с атопическим дерматитом» (2015) [37].

Для оценки тяжести течения использовался индекс SCORAD (Scoring Atopic Dermatitis). Индекс SCORAD рассчитывался до и после лечения. Измерение индекса основывалось на оценке объективных (интенсивности и распространённости кожных поражений) и субъективных (нарушению сна и интенсивности кожного зуда) критериев.

Для измерения интенсивности клинических проявлений проводили оценку по 6 признакам: наличию эритемы, отёка или папул, сухости кожи

(оцениваемой на участках, лишенных высыпаний), лихенификации или шелушения, корок или мокнутия, эксфолиаций. Каждый из соответствующих признаков оценивался по четырехуровневой шкале от нуля до трех баллов (при этом за 0 принималось отсутствие признака, 1 - признак слабо выражен, 2 - признак выражен умеренно, 3 - признак резко выражен). Оценка признака производилась на участке кожи с максимальной выраженностью признака, при этом для оценки интенсивности любого количества симптомов мог быть использован один и тот же участок кожи.

Для оценки площади поражения применялось правило «ладони» - когда за единицу принималась площадь, равная ладонной поверхности кисти, составляющая около одного процента общей поверхности кожного покрова. При оценке площади поражения кожного покрова следует использовать правило «девятки», в котором за единицу измерения принята площадь поверхности ладони пациента, эквивалентная одному проценту всей поверхности кожи; при этом поверхность шеи и головы принималась за девять процентов, верхние конечности - по девять, нижние - по восемнадцать, промежность - один процент.

Индекс SCORAD рассчитывался по формуле:  $SCORAD = A/5 + 7B/2 + C$ , где за «А» принималась распространенность (площадь поражения кожи), за «В» принималась интенсивность выраженности клинических симптомов, за «С» - сумма баллов субъективных симптомов. Значения индекса варьируют от 0 (нет проявлений заболевания) до 103 баллов (при максимально тяжёлом течении АД). При этом в исследовании за легкое течение принималось значение индекса от 0 до 20 баллов, среднетяжелое течение - от 20 до 40 баллов, тяжелое - выше 40 баллов. В исследование вошли пациенты с легким и среднетяжелым течением АД, что соответствовало величине индекса SCORAD от 0 до 40 баллов.

Зуд оценивался по десятибалльной субъективной шкале. Незначительный - зуд, возникающий периодически и не являющийся

мучительным и доминирующим симптомом заболевания (0-1-2 балла). Умеренный - зуд, беспокоящий пациентов практически постоянно, имеющий чаще всего локализованный характер и редко нарушающий ночной сон (3-6 баллов). Интенсивный, постоянный - зуд, носящий биопсирующий характер, вызывающий психоэмоциональное перенапряжение и бессонницу (7-10 баллов). Субъективные симптомы имели диапазон от нуля до десяти баллов и оценивались усреднено за последние трое суток. Таким образом, сумма баллов субъективных симптомов могла колебаться от нуля до двадцати баллов.

Оценка эффективности проводимого лечения, период наблюдения за пациентами, вошедшими в исследование, определялась не менее, чем 12 - 18 месяцев после окончания курса лечения. Состояние пациентов оценивалось до начала лечения (1-й визит), каждые 7 дней в течение лечения (2 и 3-й визиты), в течение 5-7 дней после его окончания (4-й визит), затем через 1, 3, 6, 9, 12 и 18 месяцев после окончания лечения (соответственно, 5 - 10-й визиты). Кроме того, о признаках обострения кожного процесса пациенты имели возможность сообщить по телефонной связи, после чего приглашались на внеплановый визит.

Критерием клинической эффективности лечения являлось уменьшение показателей индекса SCORAD: на 80% и более от исходного показателя расценивалось как достижение клинической ремиссии; на 50-80 % - значительное улучшение; на 30-50% - улучшение; менее 30% - отсутствие эффекта.

### **2.3. Лабораторные методы исследования**

Перед началом лечения всем пациентам проводилось общеклиническое обследование, включающее клинические анализы крови и мочи, биохимический анализ крови, определение общего уровня IgE в сыворотке крови.

### 2.3.1. Методика молекулярно-генетического тестирования генов *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1*

Молекулярно-генетическое тестирование генов *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1* проводили пациентам основной группы (52 человека) на базе лаборатории эпигенетики ФГБНУ «Медико-генетический центр» (зав. лабораторией - проф. В.В.Стрельников) по протоколам лаборатории.

#### *Выделение ДНК из лимфоцитов периферической крови.*

Для выделения ДНК из лимфоцитов периферической крови к 700 мкл размороженной венозной крови обследуемых пациентов добавляли 700 мкл бидистиллированной воды и центрифугировали в течение 15 мин со скоростью 12 тыс. об/мин. Надосадочную жидкость удаляли, оставшийся осадок пипетировали в 1000 мкл бидистиллированной воды, затем еще раз центрифугировали 15 мин со скоростью 12 тыс. об/мин. Полученный осадок снова пипетировали в 270 мкл 0,2М р-ра ацетата натрия. Добавляли 30 мкл 10% р-ра SDS (додецилсульфат натрия) и осторожно перемешивали переворачиванием. Затем добавляли 300 мкл насыщенного раствора NaCl, и интенсивно перемешивали содержимое пробирки, к полученной смеси добавляли 200 мкл хлороформа и снова интенсивно перемешивали. Затем фазы разделяли центрифугированием 15 мин со скоростью 12 тыс. об/мин. и отбирали супернатант в отдельную пробирку. К супернатанту добавляли двукратный объем этанола и выдерживали образец в течение 30 мин при температуре - 20°C. Пробу центрифугировали в течение 15 мин со скоростью 12 тыс. об/мин., затем промывали осадок 70%-ным этанолом. Полученный осадок ДНК высушивали и растворяли в 150 мкл деионизированной воды.

#### *Определение полиморфизмов генов *GSTM1* и *GSTT1*.*

Реакционная смесь (25 мкл) при анализе полиморфизма *GSTM1* содержала следующие компоненты: 1-2 мкл растворенной ДНК, 2.0 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.5 mM каждого dNTP, по 2 пмоль прямого (F) и обратного (R) праймеров, 1 ед. термостабильной Taq-полимеразы, 5 мкл 5-кратного буфера

для ПЦР («Интерлабсервис», Москва) и 0,2 мкг исследуемой ДНК, деионизированной воды до 25 мкл. Реакция амплификации проводилась с использованием термоциклера «Терцик» («ДНК-технология», Россия), в следующем режиме термоциклирования: 1-ый цикл - разделение цепей ДНК при 94С (5 мин), 2-ой и последующие 33 цикла - 94С (1 мин), 60С (1,3 мин), 72С (2 мин), далее полимеразная реакция при 72С (5 мин). В качестве контроля ПЦР использовали праймеры на последовательность гена *HBB*.

При анализе *GSTT1* реакционная смесь (25 мкл) содержала следующие компоненты: 1-2 мкл растворенной ДНК, 2.0 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.5 mM каждого dNTP, по 2 пмоль прямого (F) и обратного (R) праймеров, 1 ед. термостабильной Taq-полимеразы, 5 мкл 5-кратного буфера для ПЦР («Интерлабсервис», Москва), деионизированной воды до 25 мкл. Реакция амплификации проводилась с использованием термоциклера «Терцик» («ДНК-технология», Россия), в следующем режиме термоциклирования: 1-ый цикл - разделение цепей ДНК при 94С (5 мин), 2-ой и последующие 33 цикла - 94С (1 мин), 62С (1,3 мин), 72С (2 мин), далее полимеразная реакция при 72С (5 мин). В качестве контроля ПЦР использовали праймеры на последовательность гена *HBB*.

Оба метода различали гомозиготную делецию генов *GSTM1* и *GSTT1* (нуль-генотип, *GSTM1* «-» и *GSTT1* «-») от гетерозигот и «диких» гомозигот, которые объединялись как «плюс-генотип» (*GSTM1* «+» и *GSTT1* «+»).

#### *Определение полиморфизма гена GSTP1.*

Ile105/Val105-полиморфизм *GSTP1* определяли с помощью полимеразной цепной реакции с последующим рестрикционным анализом по методу Harries L.W. et al., 1997. Полученный в результате амплификации фрагмент в 176 пар нуклеотидов (п.н.) подвергали рестрикции эндонуклеазой BsoMA I («Сибэнзим», Новосибирск) в течение 16 час при 55°С с последующим разделением фрагментов в 7,5 % полиакриламидном геле. «Дикая» гомозигота *GSTP1*Ile/Ile характеризовалась одной полосой 176 п.н.,

мутантная гомозигота GSTP1Val/Val двумя полосами 85 и 91 п.н., а гетерозигота GSTP1Ile/Val – всеми тремя.

*Анализ результатов ПЦР-исследования.*

Разделение продуктов рестрикции проводилось в 8%-ном полиакриламидном геле методом вертикального электрофореза в течение 2-3-х часов. Состав для приготовления 30 мл 8% ПААГ: 8,4 мл 30% раствора АА (29:1), 1,5 мл 10х буфера TBE, до 30 мл дистиллированной воды, 600 мкл 10% аммония персульфата (APS), 26 мкл TEMED.

В качестве контроля молекулярного веса ДНК использовали ДНК стандартного молекулярного веса pUC19/Msp1. Визуальный контроль пробега проб ДНК проводили по ксиленцианолу и бромфеноловому синему. Окрашивание геля нитратом серебра для визуализации продуктов ПЦР проводили по приведенной ниже методике.

Окрашивание гелей проводили по усовершенствованной методике Liberman. После электрофореза гель инкубировали в растворе 0,011 М AgNO<sub>3</sub> в течение 10-15 минут, затем трижды промывали в дистиллированной воде. Проявление проводили в модифицированном растворе проявителя (увеличена концентрация HCHO) следующего состава: 0,75 М NaOH; 0,5 М HCHO; 2,3mM Na(BH<sub>4</sub>) около 10-15 минут, в зависимости от интенсивности проявления геля.

### **2.3.2. Метод определения уровней аутоантител к антигенам органов пищеварения**

Проводилось исследование уровня аутоантител (АТ) в сыворотке крови у пациентов с АД в основной группе и в группе сравнения - до начала лечения и в течение недели после окончания курса лечения. Исследование проводилось в лаборатории «СМ-Клиника» - общество с ограниченной ответственностью «Лабораторно-диагностический центр» (ООО «ЛДЦ»), зав. лабораторией Омариёва М. А. В работе использованы наборы для определения аутоантител МИЦ «Иммункулус» (г. Москва).

Определение содержания аутоантител к тканевым антигенам позволяет судить о наличии и степени выраженности патологических изменений в исследуемых органах и тканях, а также контролировать эффективность проводимого лечения. Метод предназначается для выявления имеющихся или начинающихся заболеваний и мониторинга их динамики с целью выявления патологических изменений со стороны органов пищеварения.

Определение уровней аутоантител к антигенам органов пищеварения в сыворотке крови осуществлялось методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА), лежащего в основе методов группы ЭЛИ-Тест (сокращение от ELISA - Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay). Данный метод позволяет выявить отклонения в сывороточных уровнях аутоантител класса IgG определенной антигенной специфичности.

Проведение исследования с помощью данного метода предполагает следующую последовательность: антигенные компоненты сорбируются на твердой фазе (в лунках полистироловом планшете) для выявления антител к ним. Затем к ним в лунки планшета добавляются биопроба (исследуемая проба сыворотки крови пациента) и контрольная сыворотка. Система подвергается инкубации в течение определенного времени, в ходе которого часть специфических антител из сыворотки пациента взаимодействует с антигеном на твердой фазе, не взаимодействующие компоненты отмываются, т.е., после инкубации устанавливается равновесие между связанными и свободными антителами к соответствующим антигенам. Далее содержимое лунок удаляется и в них добавляется раствор конъюгата антивидовых (кроличьих) антител к IgG человека с пероксидазой хрена и система вновь подвергается инкубации. Происходит сорбция молекул конъюгата в количестве, прямо пропорциональном количеству связавшихся аутоантител; антивидовые антитела взаимодействуют с определяемыми специфическими антителами и образуют «сэндвич». После удаления избытка несвязанного конъюгата для определения активности пероксидазы проводится ферментативная реакция

пероксидазы с перекисью водорода в присутствии хромогена: в систему добавляется раствор перекиси водорода и бесцветного хромогенного субстрата (тетраметилбензидина; ТМБ), который каталитически разлагается под действием конъюгата фермента с антивидовыми антителами с образованием окрашенного соединения, выявляемого визуально, либо фотометрически. Интенсивность окраски хромогена пропорциональна концентрации антител в анализируемом образце. После остановки пероксидазной реакции стоп-реагентом оценка результатов проводится фотометрически при длине волны 450 нм.

Результат цветовой ИФА-реакции регистрируется с помощью фотометра вертикального сканирования (ИФА-ридера). Далее проводится расчет результатов относительной иммунореактивности определяемых антител в пробах - определяется интенсивность реакции, которая оказывается прямо пропорциональной количеству специфических антител в биопробе, выраженной в процентах от иммунореактивности контрольной сыворотки. По оптической плотности растворов рассчитывается содержание антител в относительных единицах (рис. 6).

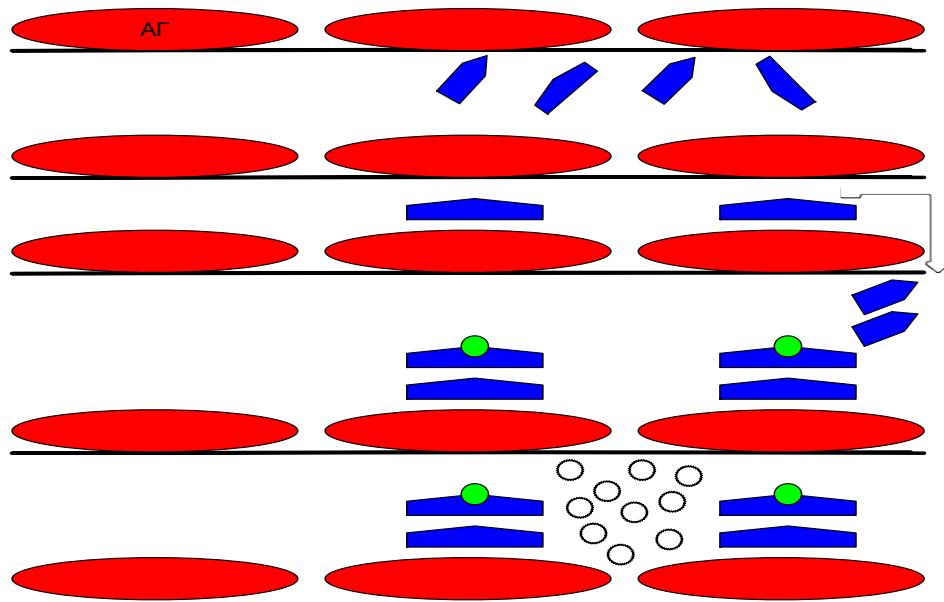


Рисунок 6 - Принципиальная схема твердофазного неконкурентного ИФА, лежащего в основе методов группы ЭЛИ-Тест (Полетаев А.Б., Кузьменко Л.Г., 2006)

Средняя индивидуальная иммунореактивность каждого анализируемого образца сыворотки крови со всеми используемыми антигенами рассчитывается по формуле:

$$\text{СИР} = \left( \frac{R(\text{ar1}) \times 100}{R(\kappa1)} - 100 + \frac{R(\text{ar2}) \times 100}{R(\kappa2)} - 100 + \frac{R(\text{ar24}) \times 100}{R(\kappa24)} - 100 \right) : N$$

где:

СИР - средняя индивидуальная иммунореактивность сыворотки конкретного пациента, выраженная в процентах от среднепопуляционных (контрольных) значений,

$R(\text{ar1}, \text{ar2}, \dots)$  - величина оптической плотности анализируемой сыворотки крови в лунках с антигенами - 1, 2 и т.д.

$R(\kappa1, \kappa2, \dots)$  - величина оптической плотности контрольной сыворотки крови в лунках с антигенами - 1, 2 и т.д.

$N$  – количество исследуемых антигенов.

Отклонения иммунореактивности анализируемого образца сыворотки крови с каждым из используемых антигенов (в процентах от среднего нормализованного уровня) рассчитываются по формуле:

$$R(\text{норм}) \text{ ar1} = \left( \frac{\text{ОП}(\text{ar1}) \times 100}{\text{ОП}(\kappa1)} \right) - 100 - \text{СИР}$$

$$R(\text{норм}) \text{ ar2} = \left( \frac{\text{ОП}(\text{ar2}) \times 100}{\text{ОП}(\kappa2)} \right) - 100 - \text{СИР}$$

$$K(\text{норм}) \text{ ar2} = \left( \frac{\text{ОП}(\text{ar2}) \times 100}{\text{ОП}(\kappa2)} \right) - 100 - \text{СИР},$$

где:  $R(\text{норм}) \text{ ar1}, \text{ ar2}$  и т.д. - отклонения (в процентах от среднего нормализованного уровня) иммунореактивности анализируемого образца сыворотки крови с антигеном-1, антигеном-2 и т.д.

$\text{ОП}(\text{ar1}, \text{ar2}, \dots)$  - оптическая плотность реакции образца сыворотки крови с антигенами  $\text{ar1}, \text{ar2}$  и т.д.

$\text{ОП}(\kappa1, \kappa2, \dots)$  - оптическая плотность реакции контрольной сыворотки с антигенами  $\text{ar1}, \text{ar2}$  и т.д.

СИР - средняя индивидуальная иммунореактивность сыворотки конкретного пациента, выраженная в процентах от среднепопуляционных (контрольных) значений. Для расчетов используется соответствующая компьютерная программа.

При иммунологическом исследовании у пациентов определяли сывороточное содержание аутоантител класса IgG, направленных к ряду антигенов органов пищеварения:

1) антитела - маркеры изменений в стенках желудка и тонкого кишечника:

- АТ к мембранному антигену клеток стенки желудка (АТ к GaM-02): изменения уровней антител к нему часто указывает на воспалительные и дегенеративные изменения в стенке желудка;

- АТ к мембранному антигену клеток к стенки тонкого кишечника (АТ к ItM-07), изменения уровней антител к нему часто указывает на наличие воспалительных или дегенеративных изменений в стенке тонкого кишечника;

2) антитела - маркеры изменений в ткани печени:

- АТ к мембранному антигену митохондрий гепатоцитов (АТ к НММР), изменения уровней антител к нему часто указывают на патологические изменения в паренхиме печени;

Указанные антигены являются основными антигенами-мишенями, измененный синтез АТ к которым наблюдается при разных видах патологии органов ЖКТ (язвенная болезнь, гастриты, колиты и др.), печени: иммуноактивации или иммуносупрессии (иммунодефицита). При разных формах органной патологии наблюдаются изменения сывороточного содержания аутоантител к одному или нескольким антигенам той или иной органной направленности, зависящей от локализации патологического процесса.

Полученные данные интерпретируются следующим образом: оптимум

значений среднего индивидуального уровня иммунореактивности в сравнении с контролем, рассчитанным, по формуле, находится в диапазоне от -20% до +10% от среднего уровня реакции контрольной сыворотки с используемыми антигенами, т.е. нормальные значения уровней АТ находятся в диапазоне -20 до +10 отн. ед. Если средний индивидуальный уровень иммунореактивности исследуемой сыворотки превышает +10 % от среднего уровня реакции контрольной сыворотки с используемыми антигенами - это указывает на поликлональную иммуноактивацию, типичную для острых инфекционных заболеваний, обострения хронических инфекций, воспалительных процессов, системных аутоиммунных болезней. Если средний индивидуальный уровень иммунореактивности исследуемой сыворотки ниже -20 % от среднего уровня реакции контрольной сыворотки с используемыми антигенами - это указывает на поликлональную иммуносупрессию, типичную для массивных латентных внутриклеточных инфекций, хронических интоксикаций, иммунодефицитов любого происхождения.

Наиболее информативно патологические изменения в организме могут отражаться в изменениях соотношений между АТ к разным антигенам. Методы группы ЭЛИ-Тест, направленные на одновременную количественную оценку изменений в содержании множества АТ, позволяют системно оценить парциальные изменения в содержании разных АТ. Наиболее наглядно это достигается при анализе гистограмм, отражающих отклонения иммунореактивности АТ каждой специфичности, выраженные в процентах от индивидуального среднего уровня сывороточной реактивности. Патологические изменения, происходящие в организме, отражаются в изменениях сывороточной концентрации отдельных АТ. Подъем относительного содержания (иммунореактивности) тех или иных АТ выше 20% от индивидуального среднего уровня следует рассматривать как возможный индикатор имеющихся или формирующихся воспалительных нарушений. Эти иммунологические изменения являются самым ранним

признаком начинающихся патологических органных изменений, которые лишь через несколько месяцев или даже лет могут достичь стадии характерных биохимических изменений (например, в виде повышения уровня глюкозы или содержания билирубина в сыворотке крови). Еще позже появятся клинические симптомы органной недостаточности. При этом более ранние биохимические и более поздние клинические признаки отражают уже ощутимую функциональную неполноценность органа, тогда как изменения со стороны АТ отражают патологическую интенсификацию процессов отмирания специализированных клеток органа или субклеточных структур, являющуюся самым первым этапом в формировании болезни, намного опережающим появление любых признаков органной недостаточности. Нормализация показателей теста отмечается обычно при затухании острого процесса (например, через 2-4 недели после адекватного лечения).

#### **2.4. Методы статистической обработки данных**

Для количественных данных рассчитывались средние значения и ошибка средней ( $M \pm m$ ) и/или медиана и квартили - для порядковых данных рассчитывались медиана и квартили. Описательная характеристика порядковых и количественных данных, распределения которых отличались от нормальных, приведена с использованием медиан, нижних и верхних квартилей.

Предварительный анализ вида распределения данных проводили с помощью построения гистограмм распределения признака и сравнения их с кривой нормального распределения. Для подтверждения вида распределения использовали критерии Лиллиефорса и Шапиро-Уилка.

Часть исследуемых показателей при условии их нормального распределения сравнивали со значениями соответствующих показателей в популяции. При этом с помощью 95% доверительного интервала для среднего значения и метода проверки гипотез с использованием t-критерия Стьюдента

определяли достоверность различий с показателями в популяции. Результаты представляли, как среднее и стандартное отклонение [54].

При сравнении относительных частот признака в двух группах и коэффициентов корреляций производили проверку гипотез об их равенстве с помощью двустороннего критерия статистической значимости [54].

Распределение пациентов в соответствии со значениями двух качественных признаков оценивали с помощью таблиц сопряженности. Для сопоставления групп по качественному признаку использовали критерий хи-квадрат (метод максимального правдоподобия) [54].

Поскольку часть полученных данных не подчинялась закону нормального распределения, статистическую обработку проводили с помощью непараметрических методов. Оценку межгрупповых различий в двух независимых группах проводили с помощью критерия Манна-Уитни, а также медианный критерий для независимых выборок. При сравнении нескольких независимых групп применяли метод Краскела-Уоллиса. Для сравнения малых выборок применяли точный критерий Фишера. Силу и направление корреляции между различными показателями определяли с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена [54].

Длительность периода ремиссии до наступления обострения атопического дерматита оценивали по методу Каплана-Майера. Оценку достоверности различий между группами проводили с использованием логрангового критерия, критерия Бреслоу и критерия Тарона-Уэра [54].

Определение связи между параметрами осуществлялось с использованием коэффициента корреляции Пирсона. Различие показателей считалось достоверно значимым при величине  $p < 0,05$ .

Вычисления проводили с использованием программно-аналитического комплекса SPSS.

## 2.5. Методы лечения

Лечение пациентов с АД проводилось в соответствии с «Федеральными клиническими рекомендациями по ведению пациентов с атопическим дерматитом» (2015) [44], предусматривающими ступенчатость терапии: каждая ступень соответствует тяжести протекания заболевания и является дополнением к следующей. Всем пациентам предписывалось соблюдение гипоаллергенной диеты и применение эмолиентов (в период обострения АД и вне него). В период обострения кожного процесса пациентам с легким течением АД назначали топические глюкокортикостероиды и/или блокаторы кальциневрина: метилпреднизолона ацепонат, бетаметазона дипропионат, мометазона фуроат, гидрокортизона бутират, такролимус и пимекролимус – по утвержденным схемам. Пациентам со среднетяжелым течением АД дополнительно назначали пероральные антигистаминные препараты (клемастина гидрофумарат, хлоропирамина гидрохлорид, цетиризина дигидрохлорид, дезлоратадин – в среднетерапевтических дозах) и узкополосную средневолновую ультрафиолетовую терапию (УФ-терапию получали 11 человек со среднетяжелым течением АД в основной группе и 19 человек в группе сравнения. Продолжительность курса лечения составляла 21 день.

Дополнительно пациентам в основной группе исследования разъяснялись и предписывались активные персонализированные профилактические мероприятия по строгому ограничению контакта с экзогенными ксенобиотиками, а также назначалось энтеросорбирующее средство с детоксикационным и пребиотическим действием, содержащее лигнин гидролизный (полифан) и лактулозу [66] («Лактофильтрум» производства ПАО «АВВА РУС», г. Киров, РФ) по 1 таб. 2 раза в день, в течение 3-х недель.

Контроль эффективности лечения (скорость регресса жалоб и клинических проявлений) проводился 1 раз в неделю, на 7, 14 и 21 день от

начала лечения. Стабильность достигнутой ремиссии оценивалась по факту отсутствия или крайне незначительной выраженности клинических проявления АД через 1, 3, 6, 9, 12 и 18 месяцев от начала лечения.

Пациентам в основной группе при обнаружении полиморфных вариантов генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* рекомендовались строгие персонализированные профилактические мероприятия по ограничению контакта с экзогенными ксенобиотиками. При выявлении у пациентов с АД полиморфизма *GSTM0/0*, который с большой вероятностью снижает в организме детоксикацию бензопирена и стирен-7,8-оксида, рекомендовалось выбирать место жительства в так называемых спальных районах; установить в квартире систему принудительного приточного вентилирования с фильтрацией воздуха; максимально сократить время пребывания на городских улицах и вблизи крупных автомобильных трасс; при экстремальном загрязнении воздуха промышленным смогом или при аномальной жаре - носить на открытом воздухе респираторы или прикрывать рот и нос влажной тканевой маской; пользоваться только гипоаллергенной косметикой; не употреблять в пищу жареные и копченые блюда, а также продукты с нарушенной герметичностью упаковки; в повседневном меню отдавать предпочтение так называемым органическим продуктам, выращенным без применения химических удобрений. При выявлении у пациентов с АД полиморфизма *GSTT0/0*, приводящего к дефекту биотрансформации метилбромида, метиленхлорида и этиленоксида рекомендовалось избегать контакт с моющими средствами, инсектицидами, лакокрасочными изделиями, растворителями, а также исключить употребление растворимого кофе, каши, супов быстрого приготовления и др. сублимированных продуктов. При обнаружении у пациентов с АД полиморфизма *GSTPVal/Val*, повышающего чувствительность к продукту метаболизма парацетамола N-ацетил-р-бензохинону, а также к никотину и другим компонентам табачного дыма, настоятельно рекомендовалось отказаться от приема лекарственных средств,

содержащих парацетамол, а также исключение табакокурения, в том числе, пассивного.

## ГЛАВА 3.

### РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1. Результаты молекулярно-генетического исследования

Исследования генотипирования *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1* проводились у 52 пациентов основной группы с легким и среднетяжелым течением АД, в возрасте от 15 до 44 лет, 28 женщин и 24 мужчин. Исследование проводилось однократно, после распределения по группам, до начала лечения. Для проведения исследования в условиях процедурного кабинета осуществлялся забор 2 мл венозной крови в стандартную стеклянную пробирку. В качестве антикоагулянта в пробирку добавлялся 200 мкл 2% раствора динатриевой соли этилендиаминотетрауксусной кислоты (ЭДТА), затем кровь помещалась в пробирки типа «эппендорф» и до транспортировки в лабораторию хранилась в морозильной камере при температуре -20°C.

Молекулярно-генетическое тестирование генов *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1* проводили на базе лаборатории эпигенетики ФГБНУ «Медико-генетический центр» (зав. лабораторией - проф. В.В. Стрельников) по протоколам лаборатории.

По результатам генотипирования все обследованные пациенты были разделены на подгруппы с учетом имеющихся полиморфизмов в генах *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1*:

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

2 подгруппа - «один полиморфный вариант» - включала 24 пациента (11 - легкое течение; 13 - среднетяжелое течение) с наборами полиморфизмов: *GSTT0/0* или *GSTM0/0* или *GSTPVal/Val* - т.е., имеющих один нулевой генотип по *GSTT0/0* или *GSTM0/0*, или *GSTPVal /Val* в гомозиготном состоянии.

Каждый из генотипов в таком состоянии снижает экспрессию гена, но в меньшей степени, чем их сочетание;

3 подгруппа - «полиморфная замена в гетерозиготном состоянии» - 12 пациентов (7 - легкое течение; 5 - среднетяжелое течение) с полиморфизмом *GSTP1*Ile/Val, при *GSTT1*/1 и *GSTM1*/1 - без нулевых полиморфизмов *GSTT1*/1 и *GSTM1*/1, замена в *GSTP1* Ile/Val у них определялась только в гетерозиготном состоянии; при таких полиморфных вариантах функция *GSTM1* и *GSTT1* не изменяется, а экспрессия *GSTP1* снижается незначительно и частично сохраняется за счет второго аллеля без замены;

4 подгруппа - «без полиморфных вариантов» - 6 пациентов (1 - легкое течение; 5 - среднетяжелое течение) без полиморфных вариантов генов *GSTT1*/1, *GSTM1*/1, *GSTP1*Ile/Ile.

Такое разделение по подгруппам обусловлено представлением о том, что сочетание нескольких полиморфных вариантов в генах *GST* приводят к более значительному снижению их функции в детоксикации ксенобиотиков. Известно, что система глутатион-трансфераз также является важной антиоксидантной системой, которая препятствует образованию и накоплению в организме активных форм кислорода. Глутатион-опосредованная детоксикация играет ключевую роль в обеспечении резистентности клеток к перекисному окислению липидов, свободным радикалам, алкилированию белков и в предотвращении повреждений ДНК. Полиморфизм *GSTM1* и *GSTT1* обусловлен наличием протяженной делеции в кодирующей области («нулевой генотип»), в результате чего синтез соответствующего белкового продукта не происходит. Делеция в обеих хромосомах приводит к полному отсутствию белкового продукта, кодируемого геном.

Отчетливой корреляции с тяжестью течения кожного процесса АД с наличием и видами полиморфизма генов *GST* выявлено не было. Исходя из задач исследования, представлялось важным оценить клинические

особенности протекания АД, эффективность терапии и длительность ремиссии у пациентов с АД с полиморфизмами генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*.

Анализ фенотипических особенностей в зависимости от генотипов *GSTT1*, *GSTM1* и *GSTP1* представлен в таблице 4.

В результате проведенного анализа выяснилось, что среди пациентов с АД, имеющие полиморфизмы системы биотрансформации ксенобиотиков в генах *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1*, представлены достоверно чаще ( $p < 0,0001$ ; *таблица 4*).

Нестабильность клинических ремиссий в течение всего периода заболевания как основную жалобу отмечали 48 (92%) из обследованных 52 пациентов; при этом полиморфные варианты в генах *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* отмечены у 43 (82,7%) обследованных человек ( $p < 0,0001$ ; *таблица 4*).

При сопоставлении фенотипических данных и генетического исследования выяснилось, что у пациентов с ранней манифестацией АД (44 (84,6%) человека из 52 обследованных пациентов в основной группе) полиморфизмы генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* встречаются достоверно чаще у 40 (76,9%) человек ( $p < 0,0001$ ; *таблица 4*).

Среди пациентов с отягощенным аллергологическим анамнезом (28 (53,8%) человек из 52 обследованных пациентов в основной группе), полиморфизмы генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* выявлены достоверно чаще у 22 (42,3%) человек ( $p < 0,0001$ ; *таблица 4*), при этом у всех имелись признаки наличия пищевой аллергии разной степени выраженности и указание на ассоциацию обострений кожного процесса вследствие нарушения диеты.

Таблица 4 - Результаты анализа фенотипических особенностей у пациентов с АД в зависимости от генотипов *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*

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

Таким образом, очевидно, что у пациентов с частыми обострениями кожного процесса, с ранней манифестацией заболевания и отягощенным

аллергологическим анамнезом полиморфизмы генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* встречаются достоверно чаще.

Среди пациентов с отягощенным семейным анамнезом (17 (32,7%) человек из 52 обследованных пациентов в основной группе) количество полиморфных вариантов было представлено достоверно чаще у 12 (70,5%) человек ( $p=0,038$ ; *таблица 4*).

В тоже время следует отметить, что у 4-х человек (из 17 пациентов с отягощенным семейным анамнезом) обнаружен полиморфизм гена незначительно снижающую экспрессию *GSTP1*, а у 5 человек (из 17 пациентов с отягощенным семейным анамнезом) вовсе не обнаружен полиморфизм генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, в связи с чем, можно предположить, что семейный характер течения АД, связан с действием многих различных генов, в том числе и генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*.

Показано, что наличие только «нулевых генотипов» и замены *GSTPVal/Val* у пациентов с АД не ассоциировано с отягощенным семейным ( $p=1,00$ ) и аллергологическим анамнезом ( $p=0,42$ ), а также ранним дебютом заболевания ( $p=0,055$ ) (*таблица 4*), но достоверно чаще являются прогностическим фактором склонности кожного процесса к частым обострениям ( $p=0,04$ ) (*таблица 4*).

Для последующего анализа были объединены две подгруппы пациентов: «без полиморфных вариантов» (6 пациентов) и подгруппа с полиморфной заменой в гетерозиготном состоянии A313G в 5 экзоне гена *GSTP1* (12 пациентов), поскольку замена только в одной хромосоме может изменять количество белкового продукта незначительно и иметь компенсацию за счет нормального аллеля. При таком разделении на подгруппы среди 18 (34,6%) пациентов с отсутствием полиморфных вариантов генов *GST* или с незначительной степенью их изменений, достоверной связи с отягощенным аллергологическим анамнезом и/или ранним дебютом заболевания выявлено не было. Однако, при опросе у 15 из 18 пациентов (83,3% человек, из

подгруппы пациентов с вариантами полиморфизмов незначительно снижающим экспрессию *GSTP* или совсем без таковых) не была установлена четкая связь обострений с нарушениями диеты; данные пациенты отмечали, что обострения АД у них в большей степени связаны с психоэмоциональным стрессом.

Таким образом, среди обследованных 52 пациентов полиморфизмы генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* отсутствовали всего у 6 (11,5%) человек, у остальных был выявлен полиморфизм генов, связанный с нарушением системы детоксикации. У 34 (65,4%) человек были выявлены полиморфизмы генов *GST*, приводящие к появлению нулевых аллелей *GSTT0/0* и *GSTM0/0*, или их сочетание: *GSTT0/0+GSTM0/0+GSTPile/Val* или *GSTT0/0+GSTM0/0+GSTPVal/Val* (10 (19,2%) человек); *GSTT0/0* или *GSTM0/0* или *GSTPVal/Val* (24 (46,2%) человека) (таблица 8). У 12 (23,1%) человек выявлены полиморфные замены в гетерозиготном состоянии с полиморфизмом *GSTPile/Val*, при *GSTT1/1* и *GSTM1/1* с незначительным снижением экспрессии *GSTP1* (таблица 4).

В результате проведенного исследования показано, что у пациентов с АД имеются генетически детерминированные нарушения процессов детоксикации ксенобиотиков, что подтверждается наличием полиморфных вариантов генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, связанных со снижением функции ферментов детоксикации.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что выявленные у пациентов с АД врожденные дефекты механизмов биотрансформации ксенобиотиков для предотвращения обострений АД и пролонгации клинической ремиссии после проведенного лечения требуются активные персонализированные профилактические меры, направленные на ограничение контакта с экзогенными ксенобиотиками.

### 3.1.1. Результаты лечения пациентов с АД с различными генотипами *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*

При оценке результатов лечения в основной группе выявлено, что эффективность лечения у больных АД с различными полиморфными вариантами генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* существенно не отличается (*таблица 5*), однако для больных без полиморфизмов генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* и с полиморфизмом *GSTP1*lle/Val, лишь незначительно снижающим экспрессию *GSTP1*, характерен более быстрый регресс клинических симптомов - невзирая на то, что из 18 пациентов у 10 человек отмечалось длительное среднетяжелое течение АД с ранним дебютом заболевания в младенческом или раннем детском возрасте и только 3-м из этих 10 человек проводилась УФ-терапия.

Следует отметить, что среди пациентов с АД с выявленным полиморфизмом *GSTP1*lle/Val и без полиморфизмов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* (18 человек) в процессе лечения был отмечен более быстрый регресс клинических симптомов: у 17 человек из них к концу 2 недели лечения (*таблица 5*).

К концу второй недели (3-й визит) клиническая ремиссия была констатирована уже у 6 (60,0%) пациентов с выявленными тремя полиморфными вариантами генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, у 11 (45,8%) человек с одним нулевым генотипом по *GSTT0/0* или *GSTM0/0*, или *GSTPVal /Val* в гомозиготном состоянии, у 11 (91,7%) пациентов с выявленным одним полиморфизмом *GSTP1*lle/Val в гетерозиготном состоянии и у всех больных без полиморфизмов генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* (*таблица 5*).

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

*GSTP*, а у 1-го - один нулевой генотип по *GSTT0/0* или *GSTM0/0* или *GSTPVal/Val* в гомозиготном состоянии (таблица 5).

Таблица 5 - Результаты лечения пациентов с АД с различными генотипами *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* в основной группе

| Полиморфные варианты генов<br><i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> , <i>GSTP1</i> у<br>пациентов с АД,<br>(n=52)                                | Скорость наступления клинического<br>излечения, значительного улучшения,<br>улучшения,<br>п |                            |                            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                                                                                                                                        | 1- я нед.                                                                                   | 2- я нед.                  | 3- я нед.                  |
| Сочетание трех полиморфных<br>вариантов<br>( <i>GSTT0/0</i> , <i>GSTM0/0</i> и<br><i>GSTPVal/Val</i> или <i>GSTIle/Val</i> )<br>(n=10) | 1                                                                                           | 5                          | 4                          |
| Один полиморфный вариант<br>( <i>GSTT0/0</i> или <i>GSTM0/0</i> или<br><i>GSTPVal /Val</i> )<br>(n=24)                                 | 4                                                                                           | 7                          | 13                         |
| <b>Итого: n = 34</b>                                                                                                                   | <b>5</b><br>(итого 5)*                                                                      | <b>12</b><br>(итого 17) ** | <b>17</b><br>(итого 34)*** |
| Полиморфная замена в<br>гетерозиготном состоянии<br>( <i>GSTPIle/Val</i> , при <i>GSTT1/1</i> и<br><i>GSTM1/1</i> )<br>(n=12)          | 5                                                                                           | 6                          | 1                          |
| Без полиморфных вариантов<br>(n=6)                                                                                                     | 5                                                                                           | 1                          | -                          |
| <b>Итого: n =18</b>                                                                                                                    | <b>10</b><br>(итого 10)*                                                                    | <b>7</b><br>(итого 17)**   | <b>1</b><br>(итого 18)***  |
| <b>P</b>                                                                                                                               | <b>*P = 0,006</b>                                                                           | <b>**P= 0,002</b>          | <b>***P= 1</b>             |

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

| Полиморфные варианты генов <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> , <i>GSTP1</i> у пациентов с АД, (n=52)                                                                  | Стабильность клинической ремиссии, n |                   |                   |                      |                      |                       |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|-------------------|-------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
|                                                                                                                                                                 | 1 мес.                               | 3 мес.            | 6 мес.            | 9 мес.               | 12 мес.              | 18 мес.               |
| Сочетание трех полиморфных вариантов ( <i>GSTT0/0</i> , <i>GSTM0/0</i> , <i>GSTP Val/Val</i> или <i>GSTT0/0</i> , <i>GSTM0/0</i> , <i>GSTP Ile/Val</i> ) (n=10) | 9                                    | 7                 | 5                 | 1                    | 1                    | -                     |
| Один полиморфный вариант ( <i>GSTT0/0</i> или <i>GSTM0/0</i> или <i>GSTP Val /Val</i> ) (n=24)                                                                  | 22                                   | 18                | 17                | 11                   | 10                   | -                     |
| <b>Итого: n = 34</b>                                                                                                                                            | <b>31*</b>                           | <b>25**</b>       | <b>22***</b>      | <b>12****</b>        | <b>11*****</b>       | <b>0*****</b>         |
| Полиморфная замена в гетерозиготном состоянии ( <i>GSTP Ile/Val</i> , при <i>GSTT1/1</i> и <i>GSTM1/1</i> ) (n=12)                                              | 11                                   | 11                | 10                | 8                    | 7                    | 1                     |
| Без полиморфных вариантов (n=6)                                                                                                                                 | 6                                    | 6                 | 5                 | 5                    | 5                    | 1                     |
| <b>Итого: n =18</b>                                                                                                                                             | <b>17*</b>                           | <b>17**</b>       | <b>15***</b>      | <b>13****</b>        | <b>12*****</b>       | <b>2*****</b>         |
| <b>P</b>                                                                                                                                                        | <b>*P= 0,677</b>                     | <b>**P= 0,136</b> | <b>***P= 0,28</b> | <b>**** P =0,039</b> | <b>*****P =0,037</b> | <b>***** P =0,692</b> |

При оценке длительности клинической ремиссии констатировано, что через 6 месяцев после окончания лечения в основной группе лечения стабильность достигнутого клинического эффекта, независимо от наличия каких-либо полиморфизмов генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, демонстрировали 37 (71,2%) пациентов, через 12 месяцев - 23 (44,2%) пациента (таблица 6, таблица 15), в то время как в группе сравнения эти цифры составляли соответственно 19 (38,0%) и 3 (6,0%) (таблица 15). Важно отметить, что среди 28 пациентов основной группы, связывающих обострения АД в основном с пищевой аллергией, у 22 (42,3%) из которых были выявлены различные

полиморфизмы генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, большинство пролеченных пациентов (20 (71,4%) человек с пищевой аллергией) в течение 1 года наблюдения не демонстрировали обострений кожного процесса. В то же время, у 25 больных в группе сравнения, связывающих обострения АД с пищевой аллергией, длительность клинической ремиссии после окончания лечения, не превышала 4-8 недель. Это позволяет сделать вывод о том, что применение энтеросорбирующего средства с детоксикационным и пребиотическим действием способствует наступлению более стабильной ремиссии у пациентов с АД, обострения кожного процесса у которых связаны с проявлениями пищевой аллергии.

### **3.2. Результаты иммунологического исследования**

Проводилось определение уровней аутоантител к различным мембранным антигенам органов пищеварения в сыворотке крови пациентов с АД (всего 102 человека), у которых на момент начала исследования или в анамнезе отсутствовали жалобы и/или указания на какую-либо патологию органов пищеварения. В основной группе исследование проводилось 28 женщинам и 24 мужчинам, из них 23 пациента - с легким течением АД и 29 - со среднетяжелым. Результаты сравнивались с таковыми в группе сравнения: 50 пациентов аналогичного пола - возрастного состава и тяжестью течения АД – 27 женщин и 23 мужчины с легким течением АД -26 пациентов, со среднетяжелым течением АД - 24 человека.

Определение уровней аутоантител в сыворотке крови проводилось до начала лечения и через 1 неделю после окончания лечения методом иммуноферментного анализа (ИФА) в лаборатории «СМ-Клиника» - общество с ограниченной ответственностью «Лабораторно-диагностический центр» (ООО «ЛДЦ»), зав. лабораторией Омариева М. А. В работе использованы отечественные тест-системы для определения антител «Иммунная карта» по технологии МИЦ «Иммункулус» (г. Москва).

В результате проведенного исследования обнаружено, что средние

значения уровней аутоантител к мембранным антигенам органов пищеварения в целом по основной группе и в группе сравнения не выходили за пределы нормы (таблица 7).

Таблица 7 - Исходные уровни АТ к антигенам органов пищеварения у пациентов с АД в основной группе и в группе сравнения

| АТ к антигенам органов пищеварения                                      | До лечения ( $M \pm m$ ) |                        |
|-------------------------------------------------------------------------|--------------------------|------------------------|
|                                                                         | Основная группа, n=52    | Группа сравнения, n=50 |
| АТ к мембранному антигену митохондрий гепатоцитов (АТ к НММР)           | $-13,55 \pm 4,86^*$      | $-11,93 \pm 5,85^*$    |
| АТ к мембранному антигену клеток стенки тонкого кишечника (АТ к ItM-07) | $-11,75 \pm 4,40^*$      | $1,55 \pm 6,70^*$      |
| АТ к мембранному антигену клеток стенки желудка (АТ к GaM-02)           | $-6,67 \pm 4,00^*$       | $0,275 \pm 5,15^*$     |

(диапазон нормальных значений уровней АТ: от -20 до +10 отн. ед.);  $*p > 0,05$

Однако, при рассмотрении результатов исследования отдельно в выделенных менее многочисленных подгруппах обследованных пациентов с АД были выявлены определенные изменения иммунологических показателей.

### 3.2.1. Исследование уровней аутоантител к антигенам органов пищеварения у пациентов с АД подросткового возраста

В основную группу исследования было включено 22 пациента с АД, подросткового возраста обоего пола (женского - 14 человек, мужского - 8 человек) в возрасте от 15 до 18 лет с легким и среднетяжелым течением кожного процесса. Для сравнения оценивались результаты исследования у 16 пациентов аналогичного возраста легкой и среднетяжелой степенью тяжести в группе сравнения (женского пола 8 человек и мужского пола – 8 человек).

Эта группа была отдельно выделена для рассмотрения в процессе исследования с учетом важного патогенетического значения патологии органов пищеварения для пациентов с АД подросткового возраста. Диагностика ранней субклинической патологии органов пищеварения у пациентов с АД подросткового возраста имеет особое значение для успеха комплексного лечения. В этой возрастной категории пищевой фактор сохраняет важную роль в индуцировании обострений кожного процесса. Из 22 пациентов этой возрастной подгруппы связь обострений АД с погрешностями в диете отмечали 19 человек. Наличие скрытой, бессимптомной патологии органов пищеварения (кишечный дисбактериоз, нарушение кишечной проницаемости и т.п.) в этом случае представляется крайне вероятным и требует коррекции.

При наличии жалоб и явных симптомов патологии органов пищеварения диагностика ее, как правило, не представляет особых трудностей, равно как и подбор адекватной терапии. Основные диагностические проблемы связаны с обнаружением ранней субклинической патологии или стертых форм того или иного заболевания. Кроме того, следует учесть, что подростки и молодые люди, страдающие АД, обычно не настроены на длительное, трудоемкое и малопривлекательное по субъективным ощущениям обследование органов пищеварения, включающее такие манипуляции, как эзофагогастродуоденоскопия, ультразвуковое исследование органов брюшной полости, анализ кала и т.п., особенно если для проведения такого обследования нет достаточных оснований. Следовательно, возможность применения для данной возрастной категории пациентов такого высокочувствительного, информативного и не инвазивного скринингового метода обнаружения ранних симптомов неблагополучия органов пищеварения приобретает особую важность – с учетом «подросткового» образа жизни, предполагающего отсутствие зачастую правильного распорядка дня и невозможность соблюдения гипоаллергенной диеты в связи со значительной

ролью фаст-фуда в ежедневном рационе питания. Своевременное выявление и коррекция субклинической патологии органов пищеварения будут способствовать пролонгации межрецидивного периода АД, уменьшению степени выраженности обострений кожного процесса, а также предотвращению перехода кожного процесса в более тяжелое течение.

В результате проведенного исследования у 77,3% обследованных подростков (17 человек из 22) при отсутствии жалоб и явных клинических признаков неблагополучия со стороны того или иного органа пищеварения, сывороточные уровни АТ к антигенам одного или нескольких из них (к мембранному антигену клеток стенки тонкого кишечника и к мембранному антигену митохондрий гепатоцитов) были достоверно ( $p < 0,05$ ) изменены (*таблица 8*). Аналогичные изменения были зарегистрированы у 16 пациентов такого же возраста в группе сравнения (*таблица 8*).

Таблица 8 - Исходные уровни АТ к антигенам органов пищеварения у пациентов с АД подросткового возраста в основной группе и в группе сравнения

| АТ к антигенам органов пищеварения                                      | Основная группа, n=22, ( $M \pm m$ ) |                                            | Группа сравнения, n=16, ( $M \pm m$ ) |                                             |
|-------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------------|
|                                                                         | Пациенты с легким течением АД, n=14  | Пациенты со среднетяжелым течением АД, n=8 | Пациенты с легким течением АД, n=6    | Пациенты со среднетяжелым течением АД, n=10 |
| АТ к мембранному антигену митохондрий гепатоцитов (АТ к НММР)           | $-24,5 \pm 12,1$                     | $-36,7 \pm 16,6^*$                         | $-32,5 \pm 12,6^*$                    | $-34,0 \pm 12,2^*$                          |
| АТ к мембранному антигену клеток стенки тонкого кишечника (АТ к ItM-07) | $-35,6 \pm 12,8^*$                   | $-42,8 \pm 18,4^*$                         | $-30,2 \pm 10,2^*$                    | $-40,2 \pm 18,4^*$                          |
| АТ к мембранному антигену клеток стенки желудка (АТ к GaM-02)           | $-28,7 \pm 15,6$                     | $-22,2 \pm 10,6$                           | $-24,7 \pm 13,4$                      | $14,7 \pm 14,0$                             |

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

Проводимое лечение все пациенты в основной группе перенесли без побочных эффектов. По результатам повторных тестов на содержание аутоантител к антигенам органов пищеварения после лечения констатирована их нормализация (таблица 9), что коррелировало с достижением клинического эффекта. После проведения курса лечения у всех обследованных пациентов констатировано купирование обострения кожного процесса: регресс кожных высыпаний до состояния «клиническое излечение» или «значительное улучшение». Стойкая клиническая ремиссия, невзирая на

погрешности в гипоаллергенной диете, констатирована на протяжении 3 месяцев - у 14 (63,6%) из 22 пациентов, 6 месяцев – у 8 (36,4%) пациентов, 1 года – у 6 (27,3%) человек.

Однако, при этом в группе сравнения динамика показателей состояния органов пищеварения была менее выраженной; изначально измененные уровни АТ к мембранному антигену клеток стенки тонкого кишечника достоверно не изменялись (таблица 9). Нормализацию уровней АТ к мембранному антигену митохондрий гепатоцитов следует отнести, вероятно, на результат соблюдения гипоаллергенной диеты, предписанной на время прохождения курса лечения.

Таблица 9 - Динамика уровней АТ к антигенам органов пищеварения у пациентов с АД подросткового возраста в основной группе и в группе сравнения

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

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

Нормализация уровней аутоантител в основной группе после проведенной терапии свидетельствовала о раннем функциональном характере данных нарушений у пациентов с АД подросткового возраста.

### **3.2.2. Исследование уровней аутоантител к антигенам органов пищеварения у пациентов с АД с различными генотипами *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1***

В результате проведенного иммунологического исследования обнаружено, что средние значения уровней АТ к антигенам органов пищеварения в целом по основной группе находились в пределах нормы (таблица 7).

Однако, при рассмотрении в основной группе результатов иммунологического исследования отдельно в каждой из подгрупп пациентов с разными полиморфизмами генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, выяснилось, что у 10 пациентов с сочетанием трех полиморфных вариантов генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* были выявлены наиболее значительные отклонения от нормальных значений уровней АТ к антигенам органов пищеварения: к мембранному антигену митохондрий гепатоцитов  $-31,67 \pm 5,66$  и к мембранному антигену клеток стенки тонкого кишечника  $-23,67 \pm 3,43$  (таблица 10). У 24 пациентов с выявленным одним полиморфизмом в генах *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* в гомозиготном состоянии обнаружили аналогичные изменения уровней АТ, но выраженные в меньшей степени: АТ к мембранному антигену митохондрий гепатоцитов  $-25,88 \pm 5,64$ , АТ к мембранному антигену клеток стенки тонкого кишечника  $-21,88 \pm 1,30$  (таблица 10). У 12 пациентов без нулевых полиморфизмов *GSTT1/1* и *GSTM1/1*, только с заменой в *GSTP* Ile/Val в гетерозиготном состоянии уровни АТ ко всем исследованным антигенам органов пищеварения оставались в пределах нормальных показателей (таблица 10). У пациентов, у которых не были выявлены никакие полиморфизмы *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, были зафиксированы незначительные нарушения уровней аутоантител к

мембранному антигену клеток стенки тонкого кишечника и к мембранному антигену клеток стенки желудка, соответственно:  $-22,81 \pm 2,34$  и  $-21,5 \pm 1,45$  (таблица 10). Данный факт указывает на то, что нарушения в органах пищеварения связаны не обязательно только с нарушением системы детоксикации и гепато-интестинальной циркуляции.

Таблица 10 - Исходные уровни АТ к антигенам органов пищеварения у пациентов с АД с различными генотипами *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1*

| Результаты генотипирования                                                                |                                                                                                   |                                                                          |                              |                               |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| Подгруппы:<br>пациенты с<br>АД, n=52                                                      | <i>GSTT0/0</i> ,<br><i>GSTM0/0</i> и<br><i>GSTPVal/Val</i><br>или<br><i>GSTPIle/Val</i> ,<br>n=10 | <i>GSTT0/0</i> или<br><i>GSTM0/0</i> или<br><i>GSTPVal/Val</i> ,<br>n=24 | <i>GSTPIle/Val</i> ,<br>n=12 | без<br>полиморфиз-<br>ма, n=6 |
| Результаты иммунологического исследования ( $M \pm m$ )                                   |                                                                                                   |                                                                          |                              |                               |
| АТ к<br>мембранному<br>антигену<br>митохондрий<br>гепатоцитов<br>(АТ к НММР)              | $-31,67 \pm 5,66^{**}$                                                                            | $-25,88 \pm 5,64^{*}$                                                    | $-5,15 \pm 6,18$             | $-6,17 \pm 7,16$              |
| АТ к<br>мембранному<br>антигену<br>клеток стенки<br>желудка<br>(АТ к GaM-<br>02)          | $-9,33 \pm 5,89$                                                                                  | $-4,25 \pm 4,21$                                                         | $-1,55 \pm 6,05$             | $-21,5 \pm 1,45^{*}$          |
| АТ к<br>мембранному<br>антигену<br>клеток стенки<br>тонкого<br>кишечника<br>(АТ к ItM-07) | $-23,67 \pm 3,43^{**}$                                                                            | $-21,88 \pm 1,30^{*}$                                                    | $-2,63 \pm 6,48$             | $-22,81 \pm 2,34^{*}$         |

(диапазон нормальных значений уровней АТ: от -20 до + 10 отн. ед.);  $^{*}p < 0,05$ ;  $^{**}p < 0,01$ .

По результатам повторных иммунологических тестов после проведения лечения в целом по основной группе и по группе сравнения все значения уровней исследованных естественных АТ к антигенам органов пищеварения изменялись в пределах диапазона нормальных значений, достоверных отличий не отмечено (таблица 11).

Таблица 11 - Динамика уровней АТ к антигенам органов пищеварения у пациентов с АД в основной группе и в группе сравнения (до и после лечения)

| АТ к<br>антигенам<br>органов<br>пищеварения                                               | до лечения<br>( $M \pm m$ ) |                              | после лечения<br>( $M \pm m$ ) |                              |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
|                                                                                           | Основная<br>группа,<br>n=52 | Группа<br>сравнения,<br>n=50 | Основная<br>группа,<br>n=52    | Группа<br>сравнения,<br>n=50 |
| АТ к<br>мембранному<br>антигену<br>митохондрий<br>гепатоцитов<br>(АТ к НММР)              | -13,55 $\pm$ 4,86           | - 11,93 $\pm$ 5,85           | -13,7 $\pm$ 2,72*              | - 9,82 $\pm$ 3,33*           |
| АТ к<br>мембранному<br>антигену<br>клеток стенки<br>тонкого<br>кишечника<br>(АТ к ItM-07) | -11,75 $\pm$ 4,40           | 1,55 $\pm$ 6,70              | - 9,2 $\pm$ 2,62*              | 3,92 $\pm$ 1,36*             |
| АТ к<br>мембранному<br>антигену<br>клеток стенки<br>желудка (АТ к<br>GaM-02)              | - 6,67 $\pm$ 4,00           | 0,275 $\pm$ 5.15             | -3,44 $\pm$ 3,42*              | 1,63 $\pm$ 1,32*             |

(диапазон нормальных значений уровней АТ: от -20 до +10 отн. ед.); \* $p > 0,05$

### 3.3. Динамика клинических проявлений атопического дерматита

В процессе обследования проводилось динамическое наблюдение и оценка результатов лечения 102 пациентов с АД легкого и среднетяжелого течения, вошедших в исследование. В процессе наблюдения оценивались: динамика клинических проявлений АД путем определения индекса SCORAD, оценки интенсивности зуда по десятибалльной субъективной шкале, а также стабильности наступившей клинической ремиссии в течение не менее чем 12-18 месяцев после окончания курса лечения.

#### 3.3.1. Динамика индекса SCORAD и интенсивности зуда

После проведения курса лечения клиническое излечение или значительное улучшение (в виде купирования обострения кожного процесса) констатировано почти у всех обследованных пациентов: у 92,3% пациентов в основной группе и у 88,0% в группе сравнения (таблица 12).

Таблица 12 - Результаты лечения у обследованных пациентов с АД в основной группе и в группе сравнения

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

В основной группе у пациентов с легким и среднетяжелым течением АД индекс SCORAD уменьшился (по ( $M \pm m$ )  $2 \pm 0,145$ ; по медиане [2]), что

сравнимо с результатами лечения в группе сравнения (по  $(M \pm m)$   $4 \pm 0,48$ ; помедиане [4]) ( $p > 0,05$ ), (таблица 13).

Таблица 13 - Динамика индекса SCORAD у обследованных пациентов с АД в основной группе и в группе сравнения ( $M \pm m$ ), (медиана)

| Группы исследования        | Значения SCORAD (в баллах) |                    |
|----------------------------|----------------------------|--------------------|
|                            | до лечения                 | после лечения      |
| ОСНОВНАЯ ГРУППА,<br>n = 52 | $26 \pm 1,42$ [26]*        | $2 \pm 0,145$ [2]* |
| ГРУППА СРАВНЕНИЯ,<br>n=50  | $28 \pm 1,5$ [28]**        | $4 \pm 0,48$ [4]** |

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,05$

При оценке динамики интенсивности зуда непосредственно после окончания курса лечения наряду с быстрым регрессом воспалительных явлений на коже отмечено и быстрое исчезновение неприятных субъективных ощущений (таблица 14).

Таблица 14 - Динамика интенсивности зуда у обследованных пациентов с АД в основной группе и в группе сравнения ( $M \pm m$ ), (медиана)

| Группы наблюдения         | Интенсивность зуда (в баллах) |               |
|---------------------------|-------------------------------|---------------|
|                           | До лечения                    | После лечения |
| ОСНОВНАЯ ГРУППА,<br>n=52  | $4 \pm 0,13$ [4]*             | 0*            |
| ГРУППА СРАВНЕНИЯ,<br>n=50 | $4 \pm 0,16$ [4]**            | 0**           |

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,05$

Скорость регресса воспалительных явлений на коже была примерно одинаковой у пациентов в основной группе и в группе сравнения. Отмечено, что раньше других подвергались регрессу эритематозно-сквамозные очаги поражения, локализованные на лице и на сгибательных поверхностях локтевых суставов: 38 пациентов с такой клинической формой и локализацией очагов поражения (37,3% обследованных) отмечали их регресс не менее, чем

наполовину уже на 5-6-й день от начала лечения; у остальных пациентов с эритематозно-сквамозной формой АД клинический эффект наступал не позднее окончания 2-й недели лечения. Наиболее устойчивыми к терапии оказались эритематозно-сквамозные высыпания с очагами лихенификации и очаги, соответствующие лихеноидной форме АД (отмечены у 34 человек – 33,3% обследованных) – из них у 15 пациентов они регрессировали к окончанию курса лечения, т.е., на 3-й неделе от начала лечения.

Значительное снижение интенсивности зуда все пациенты с легким и среднетяжелым течением АД в основной группе и группе сравнения отмечали к середине 2-й недели лечения – примерно на 9 - 10-й день от начала лечения.

### **3.3.2. Оценка стабильности клинической ремиссии**

В целом, можно констатировать, что проводимое лечение в обеих группах наблюдения привело к стабилизации кожного процесса у всех обследованных пациентов с АД. У 39 человек из 43-х со скудными, но непрерывно рецидивирующими высыпаниями (в обеих группах наблюдения) отмечено существенное удлинение ремиссии до 3-х месяцев после окончания курса лечения, причем у 13 ремиссия была спролонгирована до 1 года.

Основные различия при оценке динамики клинических симптомов в основной группе и в группе сравнения были выявлены при сравнении стабильности достигнутой клинической ремиссии. Длительность клинической ремиссии в основной группе претерпела существенное изменение после лечения (*таблица 15*).

Таблица 15 - Длительность ремиссии у пациентов с АД после лечения в основной группе и в группе сравнения

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

Очевидно, что в основной группе исследования большинство пациентов (71,2%) демонстрировали стабильность достигнутого после лечения клинического эффекта на протяжении 6 месяцев наблюдения; почти половина пациентов в основной группе (48,1%) не отмечала рецидива заболевания в течение 9-ти месяцев наблюдения, а 44,2% человек – на протяжении 1 года. В то же время, в группе сравнения у такого же количества пациентов (74,0%) стабильность достигнутой клинической ремиссии не превышала 3-х месяцев, а отсутствие обострения процесса в течение года отмечалось только у 6,0% больных (таблица 15).

Среди 28 пациентов основной группы, связывающих обострения АД в основном с пищевой аллергией, в результате соблюдения индивидуального ограничения контакта с конкретными экзогенными ксенобиотиками и приема энтеросорбирующего средства с детоксикационным и пребиотическим действием, у 20 пациентов в течение 1 года наблюдения не было отмечено обострения АД. В то же время, у 25 пациентов в группе сравнения, обострения кожного процесса у которых в основном были связаны с нарушениями диеты, стабильного улучшения со стороны кожного процесса отмечено не было –

длительность клинической ремиссии после окончания лечения не превышала 4-8 недель.

Таким образом, после проведения курса лечения клиническое излечение или значительное улучшение (в виде купирования обострения кожного процесса) констатировано у абсолютного большинства обследованных пациентов (90,2%), при этом скорость регресса воспалительных явлений на коже была одинаковой у пациентов в основной группе и в группе сравнения. Основные различия при оценке динамики клинических симптомов в основной группе и в группе сравнения были выявлены при сравнении длительности достигнутой клинической ремиссии – в основной группе она была существенно стабильнее.

### **3.4. Клинические случаи**

#### **Клинический случай 1.**

Пациент Б., 19 лет, студент. Обратился с жалобами на высыпания на коже кистей и передней поверхности шеи (*фото 3*), зуд и связанное с ним нарушение сна. Болен с раннего детства, обострения заболевания отмечает в осенне-зимний период, причины обострения ни с чем, кроме сезонности, не связывает; продолжительность каждого рецидива - 3-5 недель. Жалоб на работу органов пищеварения никогда не предъявлял. Ранее назначалась элиминационная диета с ограничением традиционных высокоаллергенных пищевых продуктов: яиц, орехов, газированных напитков и т.п., которая соблюдалась нерегулярно. Обострения кожного процесса напрямую с нарушениями диеты не связывал. Неоднократно получал амбулаторное лечение по поводу АД легкого течения антигистаминными препаратами, наружными кортикостероидными препаратами, в межрецидивный период – эмолиентами (нерегулярно). Лечение давало временный положительный эффект в виде регресса высыпаний и прекращения зуда, однако по прошествии 4 месяцев после окончания последнего лечебного курса отмечено обострение кожного процесса в виде появления интенсивно зудящих высыпаний на коже

шеи и тыльной стороны кистей. Локальный статус: кожа шеи и кистей гиперемирована, отечна, на ней имеются множественные свежие эксфолиации и серозно-геморрагические корочки. Субъективно: резкий зуд, особенно в вечернее и ночное время.

По данным лабораторного обследования: выявлен нулевой генотип по *GSTT0/0* и достоверное изменение уровня аутоантител к мембранным антигенам клеток стенки желудка и стенки тонкого кишечника.

Клинический диагноз: ограниченный атопический дерматит в стадии обострения, легкое течение.



Фото 3 - Атопический дерматит, легкое течение  
(до лечения)

Был назначен курс медикаментозной терапии: бетаметазона валерат 0,01% наружно (мазь "Целестодерм В") на очаги поражения 2 раза в день, лоратадин перорально (таблетки "Кларитин" 10 мг) по 1 таблетке 1 раз в сутки. Одновременно было назначено энтеросорбирующее средство с детоксикационным и пребиотическим действием (таблетки «Лактофильтрум») по 1 таблетке 2 раза в день, была рекомендована элиминационная диета с

исключением из рациона традиционных аллергенов, а также, с учетом результатов генетического исследования: строгое ограничение контакта с предметами бытовой химии, лакокрасочными изделиями и исключение из рациона растворимого кофе и других подобных сублимированных продуктов (растворимые супы, каши и т.п.).

В результате проведенного в течение 3-х недель курса лечения отмечено полное исчезновение высыпаний и зуда (*фото 4*), нормализация ночного сна.

Стойкая клиническая ремиссия отмечена в течение 6 месяцев. Высыпания, расцененные как очередной рецидив АД, манифестировались на 7-й месяц наблюдения на крайне ограниченном участке кожного покрова (концевые фаланги двух пальцев правой кисти), просуществовали в течение нескольких дней и самопроизвольно, без лечения, регрессировали.

Констатировано, что в результате проведенного лечения отмечено значительное увеличение межрецидивного периода, уменьшение длительности течения очередного рецидива и тяжести его протекания.



Фото 4 - Атопический дерматит, легкое течение  
(после лечения)

## Клинический случай 2.

Пациентка К., 34 лет, журналист. Обратилась с жалобами на высыпания на коже лица, кистей, локтевых и коленных сгибов (*фото 5*) и тыла стоп, интенсивный зуд. Болеет АД с раннего детства, обострения заболевания связывает с нарушениями диеты (прием алкоголя) и эмоциональными стрессами. Активно жалоб на состояние органов пищеварения не предъявляла, но при подробном настоящем расспросе выяснилось, что изредка отмечается чувство дискомфорта в эпигастрии. Назначаемая дерматологами гипоаллергенная элиминационная диета не соблюдалась. Неоднократно получала амбулаторное лечение по поводу АД среднетяжелого течения антигистаминными препаратами, наружными кортикостероидными препаратами, узкополосную средневолновую ультрафиолетовую терапию; в межрецидивный период назначались эмолиенты и курортотерапия. Лечение давало временный положительный эффект, однако по истечении 2 месяцев последнего межрецидивного периода после сильного эмоционального стресса отмечено резкое обострение кожного процесса в виде появления интенсивно зудящих высыпаний на коже тыльной стороны кистей, стоп, голеней, верхней части бедер и локтевых сгибов, а также единичные шелушащиеся высыпания на коже лица. Одновременно впервые отметила периодически появляющееся чувство дискомфорта в эпигастрии («сосет под ложечкой»), возникшее впервые в жизни. Локальный статус: кожа кистей, стоп, локтевых и коленных сгибов гиперемирована, лихенифицирована, на ней имеются свежие эскориации и скудное шелушение. На коже щек и лба - единичные эритематозно-сквамозные очаги округлых очертаний. Субъективно: умеренный зуд.



Фото 5 - Атопический дерматит, среднетяжелое течение  
(до лечения)

По данным лабораторного обследования: выявлена замена в *GSTPile/Val* в гетерозиготном состоянии и достоверное изменение уровней аутоантител к мембранному антигену клеток тонкого кишечника.

Клинический диагноз: распространенный атопический дерматит в стадии обострения, среднетяжелое течение.

Был назначен курс медикаментозной терапии: бетаметазона дипропионат 0,05% наружно (мазь "Белодерм") на очаги поражения 2 раза в день, пимекролимус 1% наружно на кожу лица (крем "Элидел") 2 раза в день, акривастин перорально (таблетки "Акривастин" 8 мг) 3 раза в сутки. От проведения фототерапии пациентка отказалась. Одновременно назначалось энтеросорбирующее средство с детоксикационным и пребиотическим действием (таблетки «Лактофильтрум») по 1 таблетке 2 раза в день. Также была назначена традиционная гипоаллергенная элиминационная диета.



Фото 6 - Атопический дерматит, среднетяжелое течение  
(после лечения)

В результате проведенного в течение 21 дня курса лечения отмечено полное исчезновение высыпаний и зуда (*фото 6*), исчезновение чувства дискомфорта в области эпигастрия, улучшение качества жизни.

Стойкая клиническая ремиссия в течение 7 месяцев; очередной рецидив был связан с нарушением диеты и манифестировался гораздо более скудными высыпаниями, чем обычно: единичными высыпаниями на лице без резкого зуда. Таким образом, после проведенного лечения констатирован переход заболевания в легкое течение.

## ГЛАВА 4.

### ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

Для достижения цели исследования были определены следующие **задачи**:

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

**Материал исследования** составили 102 пациента с АД легкого и среднетяжелого течения подросткового и молодого возраста (от 15 до 44 лет). Критериями исключения из исследования были: беременность, лактация, тяжелая онкологическая и инфекционная патология, сахарный диабет, сопутствующая соматическая патологии в стадии декомпенсации, проводимая

3 месяца назад и позже системная терапия кортикостероидными и/или цитостатическими препаратами. Также, из исследования были исключены пациенты с жалобами и анамнестическими указаниями на патологию со стороны органов пищеварения.

Для выполнения цели исследования были сформированы 2 группы пациентов, основная (52 человека) и группа сравнения (50 человек), отличающиеся тем, что основную группу составили пациенты, которым дополнительно назначали энтеросорбирующее средство с детоксикационным и пребиотическим действием, а также разъяснялись и предписывались активные персонализированные профилактические мероприятия по строгому ограничению контакта с конкретными экзогенными ксенобиотиками. В обеих группах стандартная базисная терапия проводилась в соответствии с «Федеральными клиническими рекомендациями по ведению пациентов с атопическим дерматитом» (2015 г.). Всем пациентам в основной группе дополнительно назначалось энтеросорбирующее средство с детоксикационным и пребиотическим действием, содержащее лигнин гидролизный (полифан) и лактулозу по 1 таблетке 2 раза в день, в течение 3-х недель.

Были применены следующие методы исследования: клинические (изучение жалоб и анамнестических данных, клинического течения заболевания, дерматологического статуса, определение интенсивности зуда, индекса SCORAD), лабораторные: общий анализ крови и мочи, биохимический анализ крови, определение общего уровня IgE в сыворотке крови, иммунологические исследования (определение сывороточных уровней аутоантител к мембранным антигенам органов пищеварения до и после лечения: сравнивались результаты, полученные в начале исследования и после проведения курса лечения), дополнительно пациентам в основной группе проводилось молекулярно-генетическое исследование (определение методом ПЦР полиморфизмов генов *GSTM1* *GSTT1* и *GSTP1*).

По окончании исследования были получены следующие **результаты**: у обследованных пациентов с АД подросткового и молодого (по критериям ВОЗ) возраста с отсутствием жалоб и анамнестических указаний на патологию органов пищеварения обнаружены полиморфизмы генов системы биотрансформации ксенобиотиков *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, а также отклонения от нормальных значений уровней АТ к мембранным антигенам органов пищеварения, в первую очередь – к мембранным антигенам клеток стенки тонкого кишечника и к мембранным антигенам митохондрий гепатоцитов. Добавление в традиционный лечебный комплекс энтеросорбирующего средства с детоксикационным и пребиотическим действием и персонализированные профилактические мероприятия по строгому ограничению контакта с конкретными экзогенными ксенобиотиками приводили к нормализации уровней АТ к мембранным антигенам органов пищеварения и пролонгации клинической ремиссии.

Показано, что проводимое лечение было эффективным в обеих группах. Клиническое излечение или значительное улучшение в виде купирования обострения кожного процесса и зуда констатировано почти у всех обследованных пациентов – у 48 (92,3%) пациентов в основной группе и у 44 (88,0%) пациентов - в группе сравнения. Скорость регресса воспалительных явлений на коже была примерно одинаковой у пациентов в обеих группах.

Стабилизация кожного процесса в виде существенного удлинения ремиссии после окончания курса лечения была достигнута у 90,7% пациентов с непрерывно рецидивирующими высыпаниями в обеих группах наблюдения, причем у 30,2% из них ремиссия была спрлонгирована до 1 года. Однако, стабильность достигнутой клинической ремиссии в значительной степени разнилась среди больных основной группы и группы сравнения. В основной группе исследования большинство больных (71,2%) демонстрировали стабильность достигнутого после лечения клинического эффекта на протяжении 6 месяцев наблюдения; 48,1% пациентов - в течение 9 месяцев, а

44,2% пациентов – на протяжении 1 года. В то же время, в группе сравнения у 74,0% пациентов стабильность ремиссии не превышала 3-х месяцев, а в течение года отмечена только у 6,0% пациентов.

Таким образом, констатировано, что в основной группе клиническая ремиссия после проведенного лечения была существенно стабильнее. Учитывая тот факт, что группы наблюдения были идентичны по половозрастному составу, проявлениям и течением АД, и единственным отличием было включение в комплексное лечение пациентов основной группы энтеросорбирующего средства с детоксикационным и пребиотическим действием и настоятельными рекомендациями по ограничению контакта с конкретными экзогенными ксенобиотиками в зависимости от полиморфизма генов. Следует сделать заключение, что даже не диагностированные, субклинические нарушения пищеварительной функции при отсутствии адекватной компенсации вносят существенный вклад в течение АД.

Среди пациентов основной группы, связывающих обострения АД в основном с нарушениями гипоаллергенной диеты, после лечения стабильная ремиссия в течение 1 года наблюдения отмечалась у 20 (74,1%) пациентов из 28 человек. В то же время, у 25 (50%) пациентов в группе сравнения, обострения кожного процесса у которых в основном были связаны с нарушениями диеты, стабильного улучшения со стороны кожного процесса отмечено не было – длительность клинической ремиссии после окончания лечения не превышала 4-8 недель. Данный факт убедительно показывает, что патология органов пищеварения - важный патогенетический фактор в возникновении и развитии АД, так как сенсibilизация к пищевым антигенам, нарушение биоценоза кишечной микрофлоры, барьерной функции кишечника, повышение абсорбции пищевых аллергенов у пациентов с АД способствуют развитию пищевой аллергии и усугублению проявлений аллергических реакций на коже. Применение современных лекарственных средств - традиционных компонентов медикаментозного лечения АД,

снижающих желудочную секрецию, резистентность естественной кишечной микрофлоры и общую иммунорезистентность организма (блокаторов  $H_2$ -гистаминовых рецепторов, иммунодепрессантов), проблема коррекции патологии органов пищеварения представляется ещё более значимой.

Полученные данные показали, что среди обследованных пациентов с АД, полиморфизмы генов *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1*, кодирующих ферменты второй фазы биотрансформации представлены достоверно чаще. Наличие генетически детерминированных нарушений процессов детоксикации ксенобиотиков связанных со снижением функции ферментов подтверждается наличием различных полиморфных вариантов генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, причем по результатам генотипирования все обследованные пациенты были разделены на 4 подгруппы с учетом имеющихся полиморфизмов в генах *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1*: 1 - «сочетание трех полиморфных вариантов» - пациенты с максимально сниженной экспрессией генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* и, следовательно, максимально нарушенными процессами детоксикации вследствие наличия у них двух полиморфизмов *GSTT0/0*, *GSTM0/0*, и *GSTP Val/Val* или *GSTP Ile/Val*; 2 - пациенты с «одним полиморфным вариантом» *GSTT0/0* или *GSTM0/0* или *GSTP Val/Val*, каждый из которых снижает экспрессию гена, но в меньшей степени, чем их сочетание; 3 - «полиморфная замена в гетерозиготном состоянии» - пациенты с полиморфизмом *GSTP Ile/Val*, при *GSTT1/1* и *GSTM1/1* - при таком состоянии полиморфных вариантов функция *GSTM1* и *GSTT1* не изменяется, а экспрессия *GSTP* снижается незначительно и частично сохраняется за счет второго аллеля без замены; 4 - пациенты, не имеющие полиморфных вариантов генов *GSTT1/1*, *GSTM1/1*, *GSTP Ile/Ile*, что позволяет предположить сохранение хорошего уровня детоксикации ксенобиотиков у данных пациентов. Показано, что полиморфизмы генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* встречаются достоверно чаще у пациентов с частыми обострениями, с ранним дебютом заболевания, с отягощенным семейным и аллергологическим анамнезом.

Таким образом, персонализированные профилактические меры, предписанные пациентам в основной группе, следовали из соображения, что у пациентов с АД с выявленными врожденными дефектами механизмов биотрансформации ксенобиотиков должен быть максимально ограничен контакт с конкретными экзогенными ксенобиотиками в зависимости от выявленного конкретного полиморфизма генов *GST*.

Иммунологическое исследование показало, что у пациентов с сочетанием трех полиморфных вариантов генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* были выявлены наиболее значительные отклонения от нормальных значений уровней аутоантител к мембранному антигену клеток стенки тонкого кишечника и к мембранному антигену митохондрий гепатоцитов; у пациентов с выявленным одним полиморфизмом в генах *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* в гомозиготном состоянии обнаружались аналогичные изменения уровней АТ, но выраженные в меньшей степени; у пациентов с без нулевых полиморфизмов *GSTT1/1* и *GSTM1/1*, только с заменой в *GSTP1* Ile/Val в гетерозиготном состоянии уровни АТ ко всем исследованным антигенам органов пищеварения оставались в пределах нормальных показателей. У пациентов, у которых не были выявлены полиморфизмы генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, были зафиксированы незначительные изменения уровней аутоантител к мембранному антигену клеток стенки тонкого кишечника и к мембранному антигену клеток стенки желудка, что указывает на то, что нарушения в органах пищеварения связаны не только с нарушением системы детоксикации.

У пациентов подросткового возраста (22 человека в основной группе и 16 в группе сравнения) выявлено достоверное снижение уровней аутоантител к мембранному антигену клеток стенки тонкого кишечника и к мембранному антигену митохондрий гепатоцитов.

Согласно современным представлениям о роли естественных аутоантител класса IgG, выявленные в процессе исследования преимущественно пониженные уровни АТ свидетельствуют скорее о

метаболическом, чем воспалительном характере субклинических нарушений в органах пищеварения и, наиболее вероятно, являются проявлением хронической аутоинтоксикации вследствие ухудшения очистки органов пищеварения от продуктов естественного катаболизма; нарушение кишечного микробиоценоза, избыточный рост патогенной микрофлоры, накопление токсических продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, прием иммуносупрессивных препаратов также способствуют усугублению явлений интоксикации. Однако, в проведенном исследовании оценка исходных уровней аутоантител к мембранным антигенам клеток органов пищеварения проводилось однократно, в то время как заключение о характере субклинических изменений может быть более достоверным на основании 2-х-3-х последовательных исследований, сделанных с интервалом в 15-20 дней.

После проведенной терапии в целом в основной группе и в группе сравнения все значения сывороточных уровней исследованных аутоантител к мембранным антигенам органов пищеварения изменялись в пределах диапазона нормальных значений, достоверных отличий не отмечено. У подростков с АД нарушенные уровни нормализовывались, однако, в группе сравнения динамика была менее выраженной - изначально измененные уровни аутоантител к мембранному антигену клеток стенки тонкого кишечника достоверно не изменялись.

Таким образом, показано, что изменения сывороточных уровней АТ к мембранным антигенам органов пищеварения, отражающие метаболический характер нарушений, ухудшение освобождения органов пищеварения от продуктов естественного катаболизма являются отражением важного патогенетического звена АД, связанного с пищевой аллергией и обострениями кожного процесса при нарушениях гипоаллергенной диеты, и могут быть полезны для определения субклинической патологии органов пищеварения при формировании лечебного комплекса для пациентов с АД. Значительно измененные уровни АТ в подгруппе пациентов с АД подросткового возраста

указывают на необходимость особого внимания к проведению ранней диагностики и коррекции ранней, бессимптомной гастроинтестинальной патологии, даже в отсутствие активных жалоб со стороны органов пищеварения, в этой возрастной группе, где роль пищевой аллергии в провокации обострений кожного процесса более значима, чем в других возрастных группах.

Включенное в лечебный комплекс энтеросорбирующее средство с детоксикационным и пребиотическим действием - способствовало компенсации выявленной в процессе исследования субклинической патологии органов пищеварения у пациентов с АД, о чем свидетельствовала нормализация измененных сывороточных уровней АТ к мембранным антигенам органов пищеварения. Следовательно, показано включение энтеросорбента с детоксикационным и пребиотическим действием в комплексное лечение пациентов с АД с начальными, субклиническими нарушениями пищеварительной функции.

Также, на основе результатов проведенного клинико-лабораторного исследования сформулированы индивидуализированные прогностические критерии течения АД. Поскольку полиморфные варианты генов *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1* достоверно чаще встречаются у пациентов с АД с частыми обострениями кожного процесса, с отягощенным аллергологическим и семейным анамнезом, ранним дебютом заболевания, целесообразно проводить молекулярно-генетическое тестирование генов *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1* в первую очередь детям, рожденным в семьях с указанием на наличие наследственной патологии аллергического характера (АД, экзема, аллергический ринит, аллергический конъюнктивит, бронхиальная астма, пищевая, лекарственная аллергия и т.п.). Обнаружение при проведении генотипирования полиморфизмов в генах *GSTM1*, *GSTP1* и *GSTT1* свидетельствует о наличии врожденных дефектов системы детоксикации ксенобиотиков и указывает на необходимость принятия активных,

персонализированных профилактических мер с целью предотвращения развития АД, а у людей с дебютировавшим заболеванием – с целью пролонгировать клиническую ремиссию после проведения курса лечения и предотвратить наступление обострения кожного процесса.

Персонализированные профилактические мероприятия включают в себя ограничение контакта с конкретными экзогенными ксенобиотиками в зависимости от полиморфизма гена. При выявлении у пациентов с АД полиморфизма *GSTM0/0*, который с большой вероятностью снижает в организме детоксикацию бензопирена и стирен-7,8-оксида, следует рекомендовать выбирать место жительства в так называемых спальных, не промышленных районах городов; установить в квартире систему принудительного приточного вентилирования с фильтрацией воздуха; максимально сократить время пребывания на городских улицах и вблизи крупных автомобильных трасс; при экстремальном загрязнении воздуха промышленным смогом или при аномальной жаре - носить на открытом воздухе респираторы или прикрывать рот и нос влажной тканевой маской; пользоваться только гипоаллергенной косметикой; не употреблять в пищу жареные и копченые блюда, а также продукты с нарушенной герметичностью упаковки; в повседневном меню отдавать предпочтение так называемым органическим продуктам, выращенным без применения химических удобрений. При выявлении у пациентов с АД полиморфизма *GSTT0/0*, приводящего к дефекту биотрансформации метилбромида, метилхлорида и этиленоксида, следует избегать контакта с моющими средствами, инсектицидами, лакокрасочными изделиями, растворителями, а также исключить употребление растворимого кофе, каши, супов быстрого приготовления и др. сублимированных продуктов. При обнаружении у пациентов с АД полиморфизма *GSTPVal/Val*, повышающего чувствительность к продукту метаболизма парацетамола N-ацетил-р-бензохинону, а также к никотину и другим компонентам табачного дыма, следует настоятельно

рекомендовать отказ от приема лекарственных средств, содержащих парацетамол, а также исключение табакокурения, в том числе, пассивного.

Также, показано, что выявление при проведении генетических тестов полиморфизмов в генах *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1* с большой степенью вероятности указывает на возможность наличия субклинической патологии органов пищеварения, а именно - нарушений гепато-интестинальной регуляции метаболического характера, что, наиболее вероятно, является следствием неполноценной элиминации из органов пищеварения продуктов естественного катаболизма и требует своевременной коррекции. С этой целью пациентам с АД подросткового и молодого возраста в составе комплексного лечения может быть назначено энтеросорбирующее средство с детоксикационным и пребиотическим.

**Направлениями дальнейших исследований** могут служить следующие факты, выявленные в ходе настоящего исследования.

Во-первых, выявленные у пациентов с АД полиморфизмы генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* достоверно указывают на связь нарушений процессов детоксикации с нестабильностью клинических ремиссий, исходя из чего можно предположить, что данный факт влияет на утяжеление течения АД, но очевидно, не является единственной причиной прогрессирования кожного процесса у пациентов с АД. Таким образом, перспективными направлениями представляются дальнейшие исследования, связанные с определением роли полиморфизма генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* и других полиморфных вариантов, мутаций различных генов в утяжелении течения кожного процесса у пациентов с АД и поиском эффективных методов профилактики обострений и перехода кожного процесса в более тяжелое течение.

Во-вторых, несмотря на то, что в целом выраженность изменений уровней АТ к антигенам органов пищеварения коррелировала с наличием полиморфных вариантов генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, у пациентов, не имеющих полиморфных вариантов генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, были

зафиксированы нарушения уровней аутоантител к мембранным антигенам клеток стенки желудка и к мембранным антигенам клеток стенки тонкого кишечника. Очевидно, что нарушения в органах пищеварения связаны не только с нарушением системы детоксикации и гепатоинтестинальной циркуляции. Этот факт может служить направлением дальнейших исследований в области изучения роли различных видов патологии органов пищеварения в патогенезе АД, в том числе с применением высокочувствительного метода определения уровней аутоантител к антигенам органов пищеварения – при условии проведения нескольких последовательных тестов для исключения транзиторного характера нарушений уровней аутоантител.

В-третьих, помимо полиморфизма генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* определены и другие гены, полиморфные варианты и мутации которых ассоциированы с АД. Так, полностью соответствует современным представлениям о молекулярно-генетических механизмах АД тот факт, что среди обследованных пациентов с отягощенным семейным анамнезом пациенты с отсутствием полиморфных вариантов генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* или с полиморфным вариантом гена в гетерозиготном состоянии незначительно снижающую экспрессию *GSTP* составляли 52,9% (9 человек из 17). Следовательно, очевидно, что наследственная предрасположенность к АД наряду с врожденными дефектами системы детоксикации ксенобиотиков формируется и другими генетическими факторами и исследования в данном направлении необходимо продолжать, расширяя набор исследуемых генов.

Результаты молекулярно-генетических исследований характеризуются значительной межпопуляционной вариабельностью, что и определяет дальнейшее направление научного поиска в сторону выявления комбинации прогностических факторов развития АД. Анализ генетических и эпигенетических факторов, влияющих на патогенез АД, а также критических взаимодействий между генами и окружающей средой может позволить

разработать более персонализированные профилактические и терапевтические подходы к данному хроническому дерматозу. Например, это касается изучения полиморфизмов генов, кодирующих ферменты, метаболизирующие ксенобиотики и изменяющие структуру «антиокислительных реагирующих элементов» (ARE), защищающих организм от воздействия агрессивных факторов окружающей среды. Известно также, что восстановление функции эпидермального барьера, увеличение количества нормального или восстановление дефектного филлагтрина в эпидермисе эффективно снижают риск развития АД. Медикаментозные средства, модифицирующие иммунные пути IL4 и IL13, уже находятся на стадии клинических испытаний.

В целом, коррекция функции кожного барьера и воздействие на иммунные нарушения у генетически предрасположенных к ним индивидуумов являются перспективными, эффективными, терапевтическими и профилактическими стратегиями, направленными на АД.

Полученные в ходе проведенного исследования результаты и имеющиеся научные предпосылки диктуют необходимость оценить значимость каждого патогенетического фактора АД в развитии заболевания у конкретного пациента и зависимость характера течения кожного процесса от степени выраженности того или иного фактора иммунопатогенеза. Данные обстоятельства позволят сформулировать критерии подхода к эффективному лечению и профилактике обострений АД у каждого отдельного пациента с учетом имеющихся изменений в геноме, характера и степени выраженности иммунных нарушений.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Было проведено клиническое, молекулярно-генетическое и иммунологическое исследование 102 пациентов с АД легкого и среднетяжелого течения в возрасте от 15 до 44 лет с отсутствием жалоб и анамнестических указаний на патологию органов пищеварения. Выполнен анализ результатов молекулярно-генетического тестирования генов системы биотрансформации ксенобиотиков *GSTM1*, *GSTP1* и *GSTT1* и определения сывороточных уровней аутоантител к мембранным антигенам органов пищеварения, а также анализ результатов лечения пациентов в зависимости от включения в лечебный комплекс энтеросорбирующего средства с детоксикационным и пребиотическим действием.

Поставлены и решены задачи изучения особенностей течения кожного процесса и эффективности терапии у пациентов с АД в зависимости от различных генотипов *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1* и сывороточных уровней аутоантител к различным антигенам органов пищеварения.

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

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

Впервые показана зависимость стабильности ремиссии от наличия у пациентов с АД определенных генотипов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, соблюдения персонализированных профилактических мер, направленных на ограничение контакта с конкретными экзогенными ксенобиотиками и включения в

лечебные мероприятия энтеросорбирующего средства с детоксикационным и пребиотическим действием.

Показано, что молекулярно-генетическое тестирование генов *GSTM1*, *GSTP1* и *GSTT1* целесообразно проводить детям, имеющим отягощенный семейный анамнез по аллергическим заболеваниям. Обнаружение полиморфных вариантов генов *GSTM1*, *GSTP1* и *GSTT1* свидетельствует о наличии врожденных дефектов системы детоксикации ксенобиотиков и указывает на необходимость активных индивидуальных, профилактических мер, предусматривающих ограничение контакта с конкретными экзогенными ксенобиотиками в зависимости от полиморфизма генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*. Ассоциация полиморфизмов генов *GSTM1*, *GSTP1* и *GSTT1* с наличием субклинических нарушений органов пищеварения, гепато-интестинальной регуляции метаболического характера, подтверждается выявлением наиболее значительных изменений уровней АТ к мембранному антигену клеток стенки тонкого кишечника и к мембранному антигену митохондрий гепатоцитов у пациентов с сочетанием трех полиморфных вариантов генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, т.е. снижающие экспрессию во всех трех генах.

Полученные результаты имеют практическую значимость, поскольку указывают на необходимость персонализации профилактических мер по ограничению контакта с различными экзогенными ксенобиотиками в зависимости от наличия того или иного полиморфного варианта генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, а также обосновывают целесообразность молекулярно-генетического исследования пациентам с АД или детей, рожденных в семьях с отягощенным аллергологическим анамнезом.

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

Данные мероприятия способствуют наступлению более длительной и стойкой ремиссии.

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

## ВЫВОДЫ

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

2. У пациентов с атопическим дерматитом подросткового и молодого возраста в зависимости от генотипов *GSTT1*, *GSTM1* и *GSTP1* выявлены изменения плазменных уровней аутоантител к мембранным антигенам органов пищеварения, свидетельствующие о вероятном наличии субклинических нарушений метаболического характера: у пациентов с сочетанием трех полиморфных вариантов генов *GST* к мембранным антигенам митохондрий гепатоцитов и клеток стенки тонкого кишечника:  $-31,67\pm5,66$  ( $p<0,01$ ) и  $-23,67\pm3,43$  ( $p<0,01$ ); у пациентов с одним полиморфным вариантом в гомозиготном состоянии соответственно:  $-25,88\pm5,64$  ( $p<0,05$ ) и  $-21,88\pm1,30$  ( $p<0,05$ ); у пациентов без полиморфизма генов *GST* к мембранным антигенам клеток стенки желудка и тонкого кишечника:  $-21,5\pm1,45$  ( $p<0,05$ ) и  $-22,81\pm2,34$  ( $p<0,05$ ).

3. Показано, что эффективность терапии с включением энтеросорбирующего средства с детоксикационным и пребиотическим действием существенно не отличается в зависимости от генотипов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, однако среди пациентов, имеющих сочетание генотипов *GSTT0/0+GSTM0/0* и *GSTPile/Val* или *GSTPVal/Val* клинический эффект

лечения к концу 2-й недели достигнут только у 50,0% - по сравнению с 94,4% пациентов без полиморфных вариантов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* ( $p=0,002$ ).

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

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам подросткового и молодого возраста с атопическим дерматитом легкого и среднетяжелого течения, а также детям, имеющимотягощенный семейный анамнез по атопическому дерматиту рекомендуется проводить молекулярно-генетическое исследование генов *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*. Обнаружение нулевых и неактивных генотипов у пациентов указывают на необходимость принятия персонализированных и более активных, чем общепринятые, профилактических мер по ограничению контакта с конкретными экзогенными ксенобиотиками для продления клинической ремиссии и профилактики развития АД. При выявлении у пациентов нулевого генотипа *GSTM0/0* следует ограничить контакт с загрязненным воздухом мегаполиса, не употреблять в пищу жареные и копченые блюда, в повседневном меню отдавать предпочтение так называемым органическим продуктам, выращенным без применения химических удобрений. При выявлении у пациентов генотипа *GSTT0/0* следует избегать контакта с моющими средствами, инсектицидами, лакокрасочными изделиями, а также исключить употребление в пищу сублимированных продуктов. При обнаружении у пациентов полиморфизма *GSTPVal/Val* следует рекомендовать отказ от приема лекарственных средств, содержащих парацетамол, а также исключить табакокурение, в том числе, пассивное.

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

и пребиотическим действием способствует пролонгации клинической ремиссии.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АГ – антигены

АД – атопический дерматит

АР – аллергический ринит

АТ – антитела

БА – бронхиальная астма

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ВЭБ – вирус Эпштейна-Барр

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИФА - иммуноферментный анализ

ПА – пищевая аллергия

ПЦР – полимеразная цепная реакция

УПФ – условно-патогенная флора

УФ – ультрафиолетовый свет

Ala - аланин

ARE - антиокислительные реагирующие элементы

FLG – ген филлаггрин

GaM-02 – мембранный антиген клеток стенки желудка

GST – глутатион – S – трансферазы

HMMP – мембранный антиген митохондрий гепатоцитов

IgE – иммуноглобулин IgE

IgG – иммуноглобулин IgG

Ile – изолейцин

ItM-07 – мембранный антиген клеток стенки тонкого кишечника

SCORAD index - оценочная шкала Scoring Atopic Dermatitis

Val - валин

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдиенко И.Н. Эффективность дальней длинноволновой ультрафиолетовой терапии у больных атопическим дерматитом. / И.Н. Авдиенко, А.А. Кубанов // Вестн. дерматол. и венерол. - 2009. - № 3.- С. 61- 63.
2. Алискандиева З.А. Распространенность и особенности клинического течения атопического дерматита у детей и подростков в различных климатогеографических зонах республики Дагестан: Автореф. дис...канд. мед. наук. / З.А. Алискандиева. – Махачкала, 2012. – 26 с.
3. Ардатская М.Д. Дисбиоз (дисбактериоз) кишечника: современное состояние проблемы, комплексная диагностика и лечебная коррекция. / М.Д. Ардатская, С.В. Бельмер, В.П. Добрица и др. // Эксперимент. и клин. гастроэнтерол. -2015. – Т.117, № 5. - С. 13-50.
4. Ашмарин И.П. История и практические перспективы нового понимания роли аутоиммунитета. / И.П. Ашмарин // Тезисы докладов 1-й Московской международной конференции «Естественный аутоиммунитет в норме и патологии». — Москва. - 2005. 17 с.
5. Ашмарин И.П. Аутоантитела — регуляторы биохимических и физиологических процессов в здоровом организме. Место в филогенезе и среди других эндогенных регуляторов. / И.П. Ашмарин // Журнал эволюции биохимии и физиологии. 1997. - Т. 33. - №2. - С. 228-233.
6. Бахаев Д.В. Анализ полиморфизма генов интерлейкина -13 и системы детоксикации ксенобиотиков у детей с аллергопатологией. / Д.В. Бахаев, А.М. Стенкова, Ю.В. Иванова и др. // Тихоокеанский мед. журн. - 2012. – № 1. - С. 63-65.
7. Беляева Л.М. Дифференциально-диагностические признаки изолированных и сочетанных форм атопических болезней у детей. / Л.М. Беляева, Н.И. Панулина, Н.В. Микульчик и др. // Репродуктивное здоровье в Беларуси. - 2010. - №5. - С. 7.

8. Билалова У.Г. Ингибиторы кальциневрина при atopическом дерматите. / У.Г. Билалова, Н.Г. Кочергин, Е.В. Лыткина и др. // Рос. журн. кож. и вен. болезней. – 2011. - №5. - С. 58-61.
9. Булина О.В. Клинико-иммунологическая характеристика atopического дерматита у подростков: Автореф. дис... канд. мед. наук. / О.В. Булина. - СПб, 2004. – 22 с.
10. Вавилин В.А. Полиморфизм ферментов биотрансформации ксенобиотиков и предрасположенность к atopическим заболеваниям у детей. / В.А. Вавилин, С.И. Макарова, О.Г. Сафронова и др. // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике / Под ред. А.Б. Масленникова. - Вып.4.- Новосибирск: Альфа Виста, 2003. – С.98-106.
11. Волкова Е.Н. Atopический дерматит. / Е.Н. Волкова // Лечащий врач. 2006. - № 9. - С. 14.
12. Галлямова Ю.А. Atopический дерматит и дисбактериоз. / Ю.А. Галлямова // Лечащий врач. - 2010. - № 10. - С.14-16.
13. Герасимов Г.А. Персонализированная медицина – это фантастика? / Г.А. Герасимова // Клин. и эксперимен. Тиреодол. - 2012. - Т.8, № 3. - С. 4-8.
14. Гусева Н.В. Бензапирен: Что это? Откуда? И стоит ли его бояться? / Н.В. Гусева // Look Bio журнал. [Электронный ресурс] - 2015. Режим доступа: <http://lookbio.ru/bio-gid/vrednye-ingredienty1/vrednye-ingredientyprochie/benzapiren>
15. Гималова Г.Ф. Репликация данных полногеномных анализов ассоциации atopического дерматита в Республике Башкортостан. / Г.Ф. Гималова, А.С. Карунас, Ю.Ю. Федорова и др. // Мед. генетика. – 2016. – Т.15, №4. – С.25-28.
16. Гималова Г.Ф. Полиморфные варианты генов толл-подобных рецепторов TLR1 и TLR10 в развитии atopического дерматита в Республике Башкортостан. / Г.Ф. Гималова, А.С. Карунас, Ю.Ю. Федорова и др. //

Мат-лы Всерос. школы-конференции молодых ученых: Актуальные проблемы генетики человека, животных, растений и микроорганизмов. – Уфа, 2012. – С.43-46.

17. Гималова Г.Ф. Молекулярно-генетические аспекты атопического дерматита. / Г.Ф. Гималова, А.С. Карунас, Э.К. Хуснутдинова // Мед. генетика. - 2012. - № 12. - С. 18-26.
18. Гималова, Г.Ф. Ассоциация полиморфных вариантов генов цитокинов с развитием атопического дерматита в Республике Башкортостан. / Г.Ф. Гималова, А.С. Карунас, Ю.Ю. Федолрова и др. // Мат-лы V Всерос. конф. с междунар. Участием: Пренатальная диагностика и генетический паспорт основа профилактической медицины в век нанотехнологий. – СПб., 2012. – С.30.
19. Григорян Н.С. Современные патогенетические подходы к терапии атопического дерматита. / Н.С. Григорян, Н.Г. Кочергин, И.В. Кошелева // Практ. мед. - 2011. – Т.49, №2. - С. 31-35.
20. Дикова О.В. Клинико-патогенетическое обоснование средств метаболической коррекции в комплексном лечении псориаза, атопического дерматита, экземы: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. / О.В. Дикова. – Саранск, 2011. – 42 с.
21. Дубровина Л. Н. Атопический дерматит у подростков: факторы риска, триггерные факторы и спектр сенсibilизации. / Л.Н.Дубровина, Л.Ф.Казначеева, Н.В.Геращенко, В.В.Массерова // Вестн. Новосибирского Гос. Ун-та; серия: Биология, клиническая медицина. - 2009. - Т.7, вып. 2. - С.108-114.
22. Елисютина О.Г. Особенности иммунного ответа и роль некоторых цитокинов при атопическом дерматите. / О.Г. Елисютина, Е.С. Феденко, М.Н. Болдырева, Г.О. Гудима // [Рос. аллергол. журн.](#) - 2015. - [№ 1](#). - С. 3-14.

23. Зайчик А.М. Естественные аутоантитела, иммунологические теории и превентивная медицина. / А.М. Зайчик, А.Б. Полетаев, Л.П. Чурилов // Вестн. Санкт-Петербургского ун-та: Серия 11. Медицина. - 2013. - № 2. - С. 3-16.
24. Зарянкина А.И. Аллергия. Псевдоаллергия. Дисбактериоз. / А.И. Зарянкина // [Мед. новости](#). - 2013. – Т.224, № 5. - С. 34-38.
25. Измеров Н.Ф. Полиморфизм генов системы биотрансформации ксенобиотиков у больных профессиональными аллергическими дерматозами. / Н.Ф. Измеров, Л.П. Кузьмина, М.М. Коляскина и др // Вестн. РАМН. – 2012. - №7. – С.39-43.
26. Карунас А.С. Генетика аллергических заболеваний. / А.С. Карунас, Э.К. Хуснутдинова. - Уфа: Гилем, 2013. – 304 с.
27. Карунас А.С. Исследование генетической предрасположенности к аллергическим заболеваниям в Республике Башкортостан. / А.С. Карунас, Ю.Ю. Федорова, А.Х. Хузина и др. // Мат-лы II Всерос. научно-практ. конф. с междунар. Участием: Медико-биологические аспекты мультифакториальной патологии. – Курск, 2011.– С.59-60.
28. Карунас А.С. Полногеномный анализ ассоциации бронхиальной астмы в Волго-Уральском регионе России. / А.С. Карунас, Б.Б. Юнусбаев, Ю.Ю. Федорова и др. // Молекуляр. биология. – 2011. – Т.45. – №6. – С. 992–1003.
29. [Карунас А.С.](#) Анализ ассоциации мутаций в гене FLG с развитием аллергических заболеваний. / А.С.Карунас , Г.Ф. Гималова, Ю.Ю. Федорова и др. // [Мед. генетика](#). - 2012. - №1. - С. 40-46.
30. Карунас А.С. Молекулярно-генетическое исследование аллергических заболеваний: Дис ... д-ра биол. наук. / А.С. Карунас. - Уфа, 2012. - 464 с.
31. Катунина О.Р. Функции toll-подобных рецепторов как компонента врожденного иммунитета и их участие в патогенезе дерматозов различной

- этиологии. / О.Р. Катунина // [Вестн. дерматол. и венерол.](#) - 2011. - [№ 2](#). - С. 18-25.
32. Калинина Е.В. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов. / Е.В. Калинина, Н.Н. Чернов, М.Д. Новичкова // Успехи биологической химии. – 2014. – Т. 54. – С. 299-348.
33. Ковалев И.Е. Биохимические основы иммунитета к низкомолекулярным химическим соединениям. / И.Е. Ковалев, О.Ю. Полевая // М: Наука. - 1985. – С.13-24.
34. Котлуков В.К. Атопический дерматит в детском возрасте. / В.К. Котлуков, Т.В. Казюкова, А.С. Айрапетян, Н.В. Антипова // [Мед. совет.](#) - 2015. - [№ 1](#). - С. 60-65.
35. Кочергин Н.Г. Атопический дерматит, чувствительные участки кожи и выбор наружной терапии. / Н.Г. Кочергин // Вестн. дерматол. и венерол. – 2009. - №4. – С.80–85.
36. Кочергин Н.Г. К проблеме дерматозов видимых участков кожи. / Н.Г. Кочергин // Эстет. Мед. – 2005. - №5. – С.169–173.
37. Кочергин Н.Г. Атопический дерматит, качество жизни и приверженность к лечению. / Н.Г. Кочергин, Н.С. Григорян, Е.А. Лыткина // РЖКВБ. – 2010. – №6. – С.13–16.
38. Кошелева И.В. Озонотерапия в лечении иммунозависимых дерматозов. / И.В. Кошелева, А.В. Симонова // Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. – 2013. - № 2. – С. 14-20.
39. Кубанова А.А. Анализ состояния заболеваемости болезнями кожи и подкожной клетчатки в Российской Федерации за период 2003-2016 гг. / А.А. Кубанова, А.А. Кубанов, Л.Е. Мелехина, Е.В. Богданова // Вестн. дерматол. и венерол. - 2017. - №6. - С. 23-32.
40. Кубанова А.А. Атопический дерматит (клинические рекомендации). / А.А. Кубанова, Д.В. Заславский, А.А. Кубанов и др. - М., 2010. - 39 с.

41. Кубанова А.А. Приоритетный национальный проект в сфере здравоохранения как основа повышения качества дерматовенерологической помощи населению (вопросы диспансеризации). / А.А. Кубанова, Е.П. Какорина, А.А. Мартынов // Вестн. дерматол. и венерол. - 2008. - № 1. - С. 61- 63.
42. Кубанова А.А. Организация оказания медицинской помощи по профилю «дерматовенерология» в Российской Федерации. Динамика заболеваемости инфекциями, передаваемыми половым путем, болезнями кожи и подкожной клетчатки, 2013—2015 гг. / А.А.Кубанова, А.А. Кубанов, Л.Е. Мелехина, Е.В. Богданова // Вестн. дерматол. и венерол. - 2016. - №3. - С. 12-28.
43. Кубанова А.А. Динамика интенсивности зуда и экспрессии белков факторов роста в коже больных атопическим дерматитом под действием ультрафиолетовой фототерапии. / А.А. Кубанова, А.А. Кубанов, В.В. Чикин и др. // Вестн. дерматол. и венерол. - 2015. - № 5. - С. 59- 65.
44. Кубанова А.А. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных атопическим дерматитом / А.А. Кубанова, А.А. Кубанов, Д.В. Прошутинская и др. [Электронный ресурс] - 2015. Режим доступа: [http://www.cnicvi.ru/docs/clinic\\_recs/bolezni-kozhi-i-pridatkovkozhi/atopiceskiy\\_dermatit](http://www.cnicvi.ru/docs/clinic_recs/bolezni-kozhi-i-pridatkovkozhi/atopiceskiy_dermatit)
45. Кулинский В.И. Обезвреживание ксенобиотиков. / В.И. Кулинский // Соросовский образовательный журнал. - 1999. - №1. - С.8-12.
46. Куташов В.А. Атопический дерматит (эндогенная экзема). / В.А. Куташов, А.А. Демешко // Кожные болезни. Диагностика. Лечение. - Воронеж, 2015. - С. 155-182.
47. Летцель Х. Управление симбиозом (лечение больных дисбиозом). Пер. с нем. / Х. Летцель, Х. Хергет. - М., 2009. - 42 с.

48. Ляпунова А.А. Полиморфизм генов глутатион-S-трансфераз M1 и T1 у детей с атопическим дерматитом: Автореф. дис...канд. мед. наук. / А.А. Ляпунова. – Новосибирск, 2004. – 20 с.
49. Ляхович В.В. Роль ферментов биотрансформации ксенобиотиков в предрасположенности к бронхиальной астме и формировании особенностей ее клинического фенотипа. / Ляхович В.В. Вавилин В.А., Макарова С.И. и др // Вестник РАМН. 2000. - №12. - С.36-41.
50. Максимова Ю.В. Мутации в гене филаггрина и атопический дерматит. / Ю.В. Максимова, Е.В. Свечникова, В.Н. Максимов, С.Г. Лыкова // [Клин. дерматол. и венерол.](#) - 2014. - Т.12, [№ 3](#). - С. 58-62.
51. Матушевская Е.В. Атопический дерматит в практике врача-дерматовенеролога: рациональный выбор терапии. / Е.В. Матушевская, Е.В. Свирчевская // РМЖ. - 2013. - №8. - С. 410.
52. Мачарадзе Д.Ш. Пищевая аллергия: клиника, диагностика, лечение. Учебно-методическое пособие / Д.Ш. Мачарадзе. - М., 2014. - 145 с.
53. Молокова А. В. Особенности течения атопического дерматита и сочетанных форм аллергии у детей в зависимости от генотипов глутатион S-трансфераз T1, M1 И P1. / А.В. Молокова и др. – Новосибирск, Новосибирский гос. ун-тет, 2003. - С.22-32.
54. Наследов А. SPSS 19: профессиональный статистический анализ данных. / А. Наследов. – СПб.: Питер, 2011. – 400 с.
55. Невзорова В.А. Полиморфизм генов глутатионтрансферазы GSTP1 и микросомальной эпоксидгидролазы EPHX1 у курильщиков и при ранних стадиях хронической обструктивной болезни легких. / В.А. Невзорова, С.Е. Вахрушева, Т.В. Тилик, М.П. Исаева // Пульмонология. – 2013. - №1. – С.32-37.
56. Новосёлов А.В. Роль Helicobacter pylori в патогенезе аллергодерматозов. / А.В. Новоселов, В.С. Новоселов, Е.Ю. Буйденко // [Доктор.Ру](#). - 2012. – Т.72, [№ 4](#). - С. 37-42.

57. Новоселов А.В. Патология желудочно-кишечного тракта у дерматологических пациентов. / А.В. Новоселов, В.С. Новоселов, С.В. Лебедева // [РМЖ](#). - 2016. - Т. 24, [№ 10](#). - С. 636-641.
58. Овсянникова Д.Ю. Дисбактериоз кишечника у детей: этиология, клиническое значение, диагностические критерии, современные методы коррекции. / Д.Ю. Овсянникова. - Педиатрия. - 2011. - № 2. - С. 10-19.
59. Охотникова Е.Н. Гастроинтестинальные нарушения у детей с атопическим дерматитом / Е.Н. Охотникова, Л.В. Бондаренко, Т.П. Иванова и др. // [Совр. педиатрия](#). - 2014. – Т.64, [№ 8](#). - С. 104.
60. Пальцев М.А. Аутоиммунитет и аутоиммунный синдром: границы нормы и патологии. / М.А. Пальцев, А.Б. Полетаев, С.В. Сучков // Вестн. РАМН. - 2010. - № 8. - С. 3-6.
61. Панченко А.Ф. Комплексная оценка сывороточного содержания естественных аутоантител у лиц с алкогольной зависимостью. / А.Ф. Панченко, Н.Н. Теребилина, В.Ю. Баронец, Т.А. Наумова, М.В. Петровская и др. // Клиническая наркология. – 2009. - №7. – С. 49-53.
62. Полетаева А.А. Пищевая непереносимость: клиническое значение, лабораторная диагностика. / А.А. Полетаева, И.А. Кошкина, С. Rizzo и др // М-лы II-й Всерос. науч.-практ. конф.: Превентивная медицина-2014. Инновационные методы диагностики, лечения и реабилитации социально значимых заболеваний. – М. - 2014. - 52-56 с.
63. Полетаев А.Б. Клиническая и лабораторная иммунология. / А.Б. Полетаев // избранные лекции. – 2007. - 17 с.
64. Полетаев А.Б. Новые подходы к раннему выявлению патологических изменений в организме человека. / Полетаев А.Б // Методические рекомендации для врачей. – М. - 2011. – 16 с.
65. [Полетаев А.Б. Аутоантитела к инсулиновым рецепторам как биомаркеры-предвестники сахарного диабета 2-го типа. / А.Б. Полетаев //](#)

66. Ревякина В.А. Опыт применения энтеросорбентов в комплексном лечении атопического дерматита у детей. / В.А. Ревякина // [Лечащий врач](#) - 2011. - [№ 4](#). - С. 50.
67. Сальникова Л.Е. Гены детоксикации ксенобиотиков и их роль в развитии пневмонии. / Л.Е. Сальникова, Т.В. Смелая, В.В. Мороз, А.М. Голубев, Н.Х. Понасенков, Р.В. Хоменко, И.В. Харламова, Н.Ш. Лаптева, Г.И. Кузнецова, Г.Г. Порошенко, А.В. Рубанович / Общая реаниматология. – 2008. - IV;6. - С. 9-15.
68. Самойликов П.В. IgE и Ig G - реактивность у детей с атопическим дерматитом. / П.В. Самойликов, В.Б. Гервазиева, С.А. Кожевников // Российский вестник перинатологии и педиатрии. - 2012. - Т. 576. - № 1. - С. 97-103.
69. Симонова А.В. Хронические инфекции: инновационные идеи в области патогенеза, лечения, вакцинации. / А.В. Симонова, Л.Г. Кузьменко, И.С. Лебедева и др. // [Лечащий врач](#). - 2012. - № 10. - С.41- 44.
70. Симонова А.В. Инновационные методы диагностики и лечения вторичных иммунодефицитных состояний. / А.В. Симонова, И.С. Лебедева // [Лечащий врач](#). - 2012. - № 4. - С.16-19.
71. Тихон Н.М. Аллергические заболевания у детей: современные аспекты. / Н.М. Тихон, О.А. Василевская, В.В. Казанович // М-лы XIX Конгр. педиатров России с междунар. участием «Актуальные проблемы педиатрии». – М., 2016. - С. 294.
72. Торопова Н.П. Атопический дерматит детей и подростков – эволюция взглядов на патогенез и подходы терапии. / Н.П. Торопова, К.Н. Сорокина, Т.С. Лепешкова // [РЖКВБ](#). - 2014. - Т. 17, [№ 6](#). - С. 50-59.

73. Филимонова Т.М. Атопический дерматит: современный взгляд на проблему. / Т.М. Филимонова, О.Г. Елисютина, О.В. Штырбул и др. // [Эффективная фармакотерапия](#). - 2012. - № 7. - С. 36-40.
74. Хаитов Р.М. Аллергология и иммунология: национальное руководство. / Р.М.Хаитов, Н.И.Ильина, ред. - М.: ГЭОТАР - Медиа, 2014. - 656 с.
75. Харитонов Л.А. Применения пробиотика в педиатрической практике: результаты клинического исследования. / Л.А. Харитонов, Т.В. Кучера // [Доктор.Ру](#). - 2016. – Т.123, № 6. - С. 38-41.
76. Хрунин А.В. Полиморфизм генов глутатион-S-трансфераз в популяциях русского населения европейской части России. / А.В.Хрунин, Д.В. Хохрин, С.А. Лимборская // Генетика. - 2008. - №. 44. - С. 1429-1434.
77. Чурносков М.И. Молекулярные и генетические механизмы биотрансформации ксенобиотиков. / М.И. Чурносков, И.С. Полякова, С.П. Пахомов, В.С. Орлова // Научные ведомости Белгородского государственного университета. – 2011. – УДК 575.17. - С 1-6.
78. Чурилов Л.П. Аутоиммунная регуляция клеточных функций, антигеном человека и аутоиммуномика: смена парадигмы. / Л.П. Чурилов // Медицина XXI век. — 2008. — № 4 (13). — С. 10-20.
79. Чуева М.А. Эндоскопическая и морфологическая картина нарушений верхних отделов желудочно-кишечного тракта при атопическом дерматите у детей. / М.А.Чуева, Н.В. Малюжинская, Е.М. Никифорова // [Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук](#). - 2014. - № 12-2. - С. 157-160.
80. Шендеров Б.А. Микробиота и микробиом кишечника – важные факторы патогенеза социально значимых заболеваний. / Б.А. Шендеров // М-лы II-й Всерос. науч.-практ. конф.: Превентивная медицина-2014. Инновационные методы диагностики, лечения и реабилитации социально значимых заболеваний. - М., 2014. - С. 73-80.

81. Шершакова Н.Н. Атопический дерматит: экспериментальные модели для изучения патогенеза и новых методов лечения. / Н.Н. Шершакова, А.А. Бабахин, О.Г. Елисютина, М.Р. Хаитов // Рос. аллергол. журн. – 2011. - №6. - С 3-11.
82. Abhishek S. Epidermal Differentiation Complex: A Review on Its Epigenetic Regulation and Potential Drug Targets. / S. Abhishek, S. Palamadai Krishnan // Cell J. – 2016. – V.18, n.1. – P.1–6.
83. Aktaş B. [Eosinophilic gastroenteritis associated with allergic asthma and atopic eczema.](#) / B.Aktaş, S. Coban, A. Altınbaş, O. Başar // Chin. Med. J. (Engl). – 2014. – V.127, n.1. – P.192.
84. Akdis C. Diagnosis and treatment of atopic dermatitis in children and adults. / C. Akdis., M. Akdis, T. Bieber et al. // J. Allergy. Clin. Immunol. 2006; 118: 152 - 69.
85. Al-Shobaili H.A. [Molecular Genetic of Atopic dermatitis: An Update.](#) / H.A. Al-Shobaili, A.A. Ahmed, N. Alnomair et al // Int .J. Health. Sci .(Qassim). – 2016. – V.10, n.1. – P.96-120.
86. Alsterholm M. [Variation in Staphylococcus aureus Colonization in Relation to Disease Severity in Adults with Atopic Dermatitis during av Five-month Follow-up.](#) / M. Alsterholm, L. Strömbeck, A. Ljung et al // Acta Derm.-Venereol. – 2017. – n. 4.
87. Anbunathan H. [The Molecular Revolution in Cutaneous Biology: The Era of Genome-Wide Association Studies and Statistical, Big Data, and Computational Topics.](#) / H. Anbunathan, A.M. Bowcock // J. Invest. Dermatol. – 2017. – V. 137, n.5. P.e113-e118.
88. Andersen Y.M. [Autoimmune diseases in adults with atopic dermatitis.](#) / Y.M. Andersen, A. Egeberg, G.H. Gislason et al // J. Am. Acad. Dermatol. – 2017. – V. 76, n.2. – P.274-280.

89. [Barnes K.C.](#) An update on the genetics of atopic dermatitis: scratching the surface in 2009. / K.C. Barnes // [J. Allergy Clin. Immunol.](#) - 2010. - V.125, n.1. - P.16-29.
90. Berker M. [Allergies - A T cells perspective in the era beyond the T<sub>H</sub>1/T<sub>H</sub>2 paradigm.](#) / M. Berker, L.J. Frank, A.L. Geßner et al // Clin. Immunol. – 2017. – V.174. – P.73-83.
91. Bessa G.R. [Staphylococcus aureus resistance to topical antimicrobials in atopic dermatitis.](#) / G.R.Bessa, V.P. Quinto, D.C. Nachado et al // An. Braz. Dermatol. – 2016. – V.91, n.5. – P.604-610.
92. Bin L. [Genetic and epigenetic studies of atopic dermatitis.](#) / L. Bin, D.Y. Leung // Allergy Asthma Clin. Immunol. – 2016. – V.19, n.12. – P.2.
93. [Bisgaard H.](#) Gene-environment interaction in the onset of eczema in infancy: filaggrin loss-of-function mutations enhanced by neonatal cat exposure. / H. Bisgaard, A. Simpson, C.N. Palmer et al // PLoS Med. - 2008. -V.24, n.5. – P.e13.
94. Bizzaro N. Autoantibodies as predictor of disease: the clinical and experimental evidence. / N. Bizzaro //Autoimmune rev. – 2007. - № 6. – P. 325-333.
95. Blunder S. [Alterations in Epidermal Eicosanoid Metabolism Contribute to Inflammation and Impaired Late Differentiation in FLG-Mutated Atopic Dermatitis.](#) / S. Blunder, R. Rühl, V. Moosbrugger-Martinz et al // J. Invest. Dermatol. – 2017. – V.137, n.3. – P.706-715.
96. Bonness S. Molecular basis of atopic dermatitis. / S. Bonness, T. Bieber // Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. - 2007. –V.7. – P. 382-386.
97. [Bradley M.](#) Susceptibility loci for atopic dermatitis on chromosomes 3, 13, 15, 17 and 18 in a Swedish population. / M. Bradley, C. Soderhall, H. Luthman et al // [Hum. Molec. Genet.](#) - 2002. - V.11. - P.1539-1540.
98. [Brandt E.](#) Th2 Cytokines and Atopic Dermatitis. / E.Brandt, U.Sivaprasad // J. Clin. Cell. Immunol. - 2011. - V.2, n.3. - P. 1-25.

99. [Brown S.J.](#) Intragenic Copy Number Variation within Filaggrin Contributes to the Risk of Atopic Dermatitis with a Dose-Dependent Effect. / S.J. Brown, K. Kroboth, A. Sandilands et al // [J. Invest. Dermatol.](#) - 2012. - V.132. - P. 98-104.
100. Brown S.J. [Molecular mechanisms in atopic eczema: insights gained from genetic studies.](#) / S.J. Brown // *J. Pathol.* – 2017. V.241, n.2. – P.140-145.
101. Cabanillas B. [Atopic dermatitis phenotypes and the need for personalized medicine.](#) / B. Cabanillas, A.C. Brahler, N. Novak // *Curr. Opin. Allergy. Clin. Immunol.* – 2017. – N.6.
102. Cabanillas B. [Atopic dermatitis and filaggrin.](#) / B. Cabanillas, N. Novak // *Curr. Opin. Immunol.* – 2016. – V.42. – P.1-8.
103. Caubet J-Ch. Evaluation of food allergy in patients with atopic dermatitis. / J.-Ch. Cauber, M. Boguniewicz, Ph. Eigenmann // *J. Allergy. Clin. Immunol.* – 2013. – V.1. – P. 22–28.
104. Cao K. Synthesis and structure elucidation of estrogen quinones conjugated with cysteine, N-acetylcysteine, and glutathione. / K. Cao, D.E. Stack, R. Ramanathan, M.L. Gross, E.G. Rogan, E.L. Cavalieri // *Chem. Res. Toxicol.* - 1998. - Vol. 11. - P. 908-916.
105. [Chavanas S.](#) Mutations in SPINK5, encoding a serine protease inhibitor, cause Netherton syndrome. / S. Chavanas, C. Bodemer, A. Rochat et al // [Nat. Genet.](#) - 2000. – V.25, n.2. - P. 141-144.
106. Cho H.R. [Glutathione S-transferase M1 \(GSTM1\) polymorphism is associated with atopic dermatitis susceptibility in a Korean population.](#) / H.R. Cho H.R., Y.K. Uhm, H.J. Kim et al // *Int. J. Immunogenet.* – 2011. – V.38, n.2. – P.145-150.
107. Choi E.J. [Topical application of Moringa oleifera leaf extract ameliorates experimentally induced atopic dermatitis by the regulation of Th1/Th2/Th17 balance.](#) / E.J. Choi, T. Debnath, Y. Tang et al // *Biomed. Pharmacother.* – 2016. – V.84. – P.870-877.

108. Chung J. [Association between Dietary Patterns and Atopic Dermatitis in Relation to GSTM1 and GSTT1 Polymorphisms in Young Children.](#) / J. Chung, S.O. Kwon, H. Ahn et al // *Nutrients*. – 2015. – V.7, n.11. – P.9440-9452.
109. Cohen I. The immunological homunculus speaks in microarray. / I.Cohen // 1st International conference “Natural autoimmunity in physiology and pathology”. Abstracts. Moscow, 2005. – P.13.
110. [Cookson W.O.](#) Genetic linkage of childhood atopic dermatitis to psoriasis susceptibility loci. / W.O. Cookson, B. Ubhi, R. Lawrence et al // [Nature Genet.](#) -2001. - V.27. - P. 372-373.
111. Corren J. [Inflammatory Disorders Associated with Allergy: Overview of Immunopathogenesis and Implications for Treatment.](#) / J. Corren // *Immunol. Allergy. Clin .North. Am.* – 2017. – V.37, n.2. – P.233-246.
112. [Duez C.](#) Dendritic cells and toll-like receptors in allergy and asthma. / C. Duez, P. Gosset, A.B. Tonnel // [Eur. J. Dermatol.](#) - 2006. -V.16, n.1. - P. 12-16.
113. Egawa G. Multifactorial skin barrier deficiency and atopic dermatitis: Essential topics to prevent the atopic march. / G. Egawa, K. Kabashima // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2016. – V.138. – P.350– 358.
114. Elias M.S. [Proteomic analysis of filaggrin deficiency identifies molecular signatures characteristic of atopic eczema.](#) / M.S. Elias, H.A. Long, C.F. Newman et al // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2017. V.17, pii: S0091-6749. – P.30471-30472.
115. [Elias P.M.](#) “Outside-to-inside” (and now back to “outside”) pathogenic mechanisms in atopic dermatitis. / P.M. Elias, M. Steinhoff // [J. Invest. Dermatol.](#) -2008. - V.128, n.5. - P. 1067-1070.
116. [Esparza-Gordillo J.](#) A common variant on chromosome 11q13 is associated with atopic dermatitis. / J. Esparza-Gordillo, S. Weidinger, R. Folster-Holst et al // [Nature Genetics.](#) - 2009. - V.41, n.5. - P.596-601.
117. Eyerich K. Immunology of atopic eczema: overcoming the Th1/Th2 paradigm. / K. Eyerich, N. Novak // *Allergy*. – 2013. - V. 68. – P. 974-982.

118. Ezell S.A. Akt1, EMSY, BRCA2 and type I IFN signaling: a novel arm of the IFN response. / S.A. Ezell, P.N. Tschlis // *Transcription*. – 2012. – V.3, n.6. – P.305-309.
119. [Fageras Bottcher M.](#) A TLR4 polymorphism is associated with asthma and reduced lipopolysaccharide-induced interleukin-12(p70) responses in Swedish children / M.Fageras Bottcher, M.Hmani-Aifa, A.Lindstrom et al // [J. Allergy Clin. Immunol.](#) - 2004. - V.114. - P. 561-567.
120. Flohr C. New insights into the epidemiology of childhood atopic dermatitis. / C. Flohr, J. Mann // *Allergy*. - 2014. – V.69. – P.3–16.
121. Forbes L. Food allergies and atopic dermatitis: differentiating myth from reality. / L. Forbes, R. Salzman, J. Spergel // *Pediatr. Ann.* – 2009. – V.38. – P. 84–90.
122. Galadari I.H. [The role of Helicobacter pylori in urticaria and atopic dermatitis.](#) / I.H. Galadari, M.O. Sheriff // *Skinmed.* – 2006. – V.5, n.4. – P.172-176.
123. Gandhi N.A. [Commonality of the IL-4/IL-13 pathway in atopic diseases.](#) / N.A. Gandhi, G. Pirozzi, N.M.H. Graham // *Expert. Rev. Clin. Immunol.* – 2017. – V.13, n.5. – P.425-437.
124. [Gao P.-S.](#) Genetic variants in thymic stromal lymphopoietin are associated with atopic dermatitis and eczema herpeticum. / P.-S. Gao, N.M. Rafaels, D. Mu et al // [J. Allergy Clin. Immunol.](#) - 2010. - V.125, n.6. - P. 1403-1407.
125. Gilliland F. D. Effect of glutathione-S-transferase M1 and P1 genotypes on xenobiotic enhancement of allergic responses: randomised, placebo-controlled crossover study. / F.D. Gilliland, Y.-F. Li, A. Saxon, D. Diaz-Sanchez // *Lancet*. – 2004. – V.363. – P.119-125.
126. Gilliland F.D. Effects of Glutathione-S-Transferase M1, T1, and P1 on Childhood Lung Function Growth. / F.D. Gilliland, W.J. Gauderman, H. Vora et al // *Am. J. Respiratory Crit. Care Med.* – 2002. – V.166. – P.710-716.

127. Goriunova M.M. [Chronic gastroduodenitis in children with atopic dermatitis.](#)  
/ M.M. Goriunova, A.N. Petroxskii, I.Iu. Mel'nikova // Eksp. Klin. Gastroenterol. – 2010. – n.1. – P.37-40.
128. Gabar P. About autoantibodies. / P. Grabar // In: Ado A.D., ed Problems of Reactivity in Phathology. Moscow: Meditsina. 1968. – P.35-52.
129. Hayes J.D., Strange R. Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences. // Pharmacology. 2000. - Vol.61,№3. - P. 154-166.
130. Han R.T. [Formaldehyde-Induced Aggravation of Pruritus and Dermatitis Is Associated with the Elevated Expression of Th1 Cytokines in a Rat Model of Atopic Dermatitis.](#) / R.T. Han, S.K. Back, H. Lee et al // PLoS One. – 2016. – V.11, n.12. – P.e0168466.
131. Harel M. Predicting and Preventing Autoimmunity, mith or reality. // M. Harel, Y. Shoenfeld // Ann. N.Y. Acad. Sci. - 2006. – 1069: P. 322-346.
132. [Harada H.](#) TSLP promoter polymorphisms are associated with susceptibility to bronchial asthma. / H. Harada, T. Hirota, A.I. Jodo et al // [Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.](#) - 2011. - V.44, n.6. - P. 787-793.
133. [Hasan U.](#) Human TLR10 is a functional receptor, expressed by B cells and plasmacytoid dendritic cells, which activates gene transcription through MyD88. / U. Hasan, C. Chaffois, C. Gaillard et al // [J. Immunol.](#) - 2005. -V. 174. - P. 2942-2950.
134. Hezova R. Common polymorphisms in GSTM1, GSTT1, GSTP1, GSTA1 and susceptibility of colorectal cancer in the Central European population. / R. Hezova // Eur. J. Med. Res. – 2012. – V.17. – P.17-22.
135. Hidaka T. Fujimura TThe aryl hydrocarbon receptor AhR links atopic dermatitis and air pollution via induction of the neurotrophic factor artemin. / Hidaka T., Ogawa E., Kobayashi E.H., Suzuki T., Funayama R., Nagashima T., // [Nat Immunol.](#) 2017 Jan; 18(1):64-73.

136. Horimukai K. Application of moisturizer to neonates prevents development of atopic dermatitis. / K. Horimukai, K. Morita, M. Narita et al // J.Allergy Clin. Immunol. – 2014. – V.134. – P.824-830.
137. Hussain M. [Basophil-derived IL-4 promotes epicutaneous antigen sensitization concomitant with the development of food allergy.](#) / M. Hussain, L. Borcard, K.P. Walsh et al // J. Allergy Clin. Immunol. – 2017. - Apr 6. pii: S0091-6749(17)30566-3.
138. Hussein Y.M. [Gene Polymorphism of Interleukin-4, Interleukin-4 Receptor and STAT6 in Children with Atopic Dermatitis in Taif, Saudi Arabia.](#) / Y.M. Hussein, S.S. Alzahrani, A.A. Alharthi et al // Immunol. Invest. – 2016. – V.45, n.3. – P.223-234.
139. Jain C. [Yeast and Cytokine Gene Polymorphism in Atopic Dermatitis.](#) / C. Jain, S. Das, V.G. Ramachandran et al // J. Clin. Diagn. Res. – 2017. – V.11, n.3. – P.DC01-DC05.
140. Jensen-Jarolim E. [Outstanding animal studies in allergy II. From atopic barrier and microbiome to allergen-specific immunotherapy.](#) / E. Jensen-Jarolim, I. Pali-schöll, F. Roth-Walter // Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. – 2017. – V.17, n.3. – P.180-187.
141. Kaneko S. [Usefulness of Sweat Management for Patients with Adult Atopic Dermatitis, regardless of Sweat Allergy.](#) / S. Kaneko, H. Murota, S. Murata et al // [A Pilot Study.](#) Biomed. Res. Int. – 2017. - 8746745.
142. [Kato A.](#) Association of SPINK5 gene polymorphisms with atopic dermatitis in the Japanese population. / A. Kato, K. Fukai, N. Oiso et al // [Br. J. Dermatol.](#) -2003. - V.148. - P. 665-669.
143. Kennedy J.L. [Failure of itraconazole to prevent T-helper type 2 cell immune deviation: Implications for chronic rhinosinusitis.](#) / J.L. Kennedy, J.W. Steinke, L. Liu et al // Am. J. Rhinol. Allergy. – 2016. – V.30, n.6. - P.379-384.
144. [Kiyohara C.](#) Genetic susceptibility to atopic dermatitis. / C. Kiyohara, K. Tanaka, K. Miyake // [Allergol. Int.](#) - 2008. - V.57, n.1. - P. 39-56.

145. [Kormann M.S.](#) Toll-like receptor heterodimer variants protect from childhood asthma. / M.S. Kormann, M. Depner, D. Harrtl et al // [J. Allergy Clin. Immunol.](#) - 2008. - V. 122. - P. 86-92.
146. Korppi M. [IL-10 gene polymorphism is associated with preschool atopy and early-life recurrent wheezing after bronchiolitis in infancy.](#) / M. Korppi, K. Nuolivirta, E. Lauhkonen et al // *Pediatr. Pulmonol.* – 2017. – V.52, n.1. – P.14-20
147. Kwangmi K. Influences of Environmental Chemicals on Atopic Dermatitis. / K. Kwangmi // *Toxicol. Res.* – 2015. - V. 31, n. 2, - P.89-96.
148. Lazebnik L.B. [H. pylori in development of allergic diseases in patients with gastroduodenal diseases.](#) / L.B. Lazebnik, S.P. Chernutskaia, V.B. Gervazieva, G.V. Sukhareva // *Ter. Arkh.* – 2008. – V.80, n.12. – P.63-66.
149. [Lebre M.C.](#) Human keratinocytes express functional toll-like receptor 3, 4, 5, and 9. / M.C. Lebre, A.M. van der Aar, L.van Baarsen et al // [J. Invest. Dermatol.](#) - 2007. - V.127. - P. 331-341.
150. [Lee Y.-A.](#) A major susceptibility locus for atopic dermatitis maps to chromosome 3q21. / Y.-A.Lee, U. Wahn, R. Kehrt et al // [Nature Genetics.](#) - 2000. -V.26. - P.470-473.
151. Lee Z.M. [Correlation of symptomatic enterovirus infection and later risk of allergic diseases via a population-based cohort study.](#) / Z.M. Lee, Y.H. Huang, S.C. Ho, H.C. Kuo // *Medicine (Baltimore).* – 2017. – V.96, n.4. – P.e5827.
152. Li X. The C11orf30-LRRC32 region is associated with total serum IgE levels in asthmatic patients. / X. Li, E.J. Ampleford, T.D. Howard et al // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2012. – V.129, n.2. – P.575-578.
153. Liang J. [Interleukin 4 -590C/T \(rs2243250\) Polymorphism Is Associated With Increased Risk of Atopic Dermatitis: Meta-Analysis of Case-Control Studies.](#) / J. Liang, Y. Liu, R. Xue et al // *Dermatitis.* – 2017. – V.28, n.2. – P.144-151.

154. Lindh J.D. Clinical effectiveness of moisturizers in atopic dermatitis and related disorders: a systematic review. / J.D. Lindh, M. Bradley // *Am. J. Clin. Dermatol.* – 2015. – V.16. – P.341-359.
155. [Liu Q.](#) A functional polymorphism in the SPINK5 gene is associated with asthma in a Chinese Han Population. / Q. Liu, Y. Xia, W. Zhang et al // *BMC Med. Genet.* - 2009. - V. 17. - P. 10-59.
156. Madhok V. [What's new in atopic eczema? An analysis of systematic reviews published in 2012 and 2013. Part 1. Epidemiology, mechanisms of disease and methodological issues.](#) / V. Madhok, M. Futamura, K.S. Thomas, S. Barbarot // *Clin. Exp. Dermatol.* – 2015. – V.40, n.3. – P.238-42.
157. Magen E. [Prevalence of dermatologic diseases among patients with selective immunoglobulin A deficiency.](#) / E. Magen, A. Masalha, D.A. Waitman et al // *Allergy Asthma Proc.* – 2017. – V.38, n.1. – P.70-77.
158. Malik K. [An Update on the Pathophysiology of Atopic Dermatitis.](#) / K. Malik, K.D. Heitmiller, T. Czarnowicki // *Dermatol. Clin.* – 2017. - V.35, n.3. – P.317-326.
159. [Matysiak-Budnik T.](#) Review article: rebamipide and the digestive epithelial barrier. / T. Matysiak-Budnik, M. Heyman, F. Mégraud // [Aliment. Pharmacol. Ther.](#) – 2003. – V.18, Suppl. 1. – P.55-62.
160. McFadden J.P. The Hapten-Atopy hypothesis II: the ‘cutaneous hapten paradox. / J.P. McFadden, R.J. Dearman, J.M. White et al // *Clin. Exp. Allergy.* – 2011. – V.41. – P.327-337.
161. Metchnikoff E. et al. *The Evolutionary Biology Papers of Elie Metchnikoff.* / Dordrecht, Kluwer A. // – 2000. – P. 207–216. originally published in 1892.
162. Metchnikoff E. *Immunity in Infective Diseases.* Reprinted by: New York. / R.C. Johnston // - 1968. originally published in 1901. – P.7-62.
163. [McGrath J.A.](#) Filaggrin and the great epidermal barrier grief. / J.A. McGrath // [Austral. J. Dermatol.](#) - 2008. - V.49, n.2. - P. 67-73.

164. [Moffatt M.F.](#) A large-scale, consortium based genomewide association study of asthma. / M.F. Moffatt, G. Gut, F. Demenais et al // [N. Engl. J. Med.](#) - 2010. - V.363, n.13. - P. 1211-1222.
165. Moreno A.S. [Targeting the T Helper 2 Inflammatory Axis in Atopic Dermatitis.](#) / A.S. Moreno, R. McPhee, L.K. Arruda, M.D. Howell // *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 2016. – V.171, n.2. – P.71-80.
166. Morita H. [Innate lymphoid cells in allergic and nonallergic inflammation.](#) / H. Morita, K. Moro, S. Koyasu // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2016. – V.138, n.5. – P.1253-1264.
167. Moriyama M. [Th1/Th2 Immune Balance and Other T Helper Subsets in IgG4-Related Disease.](#) / M. Moriyama, S. Nakamura // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* – 2017. – V.401. – P.75-83.
168. [Moiseeva O.](#) [Serological diagnostics of myocardium diseases based on multivariate analysis of cardiotrophic autoantibodies' profiles.](#) / O. Moiseeva, L. Mitrofanova, E. Karelkina, D. Zverev, D. Lebedev, S. Skurydin, A. Poletaev // [Open Journal of Immunology.](#) 2012. - Vol.2. - No.1. – P. 49-58.
169. Muir A.B. [Microbiome and its impact on gastrointestinal atopy.](#) / A.B. Muir, A.J. Benitez, K. Dods et al // *Allergy.* – 2016. – V.71, n.9. – P.1256-1263.
170. Muñoz F.C. [Glycomacropeptide Attenuates Inflammation, Pruritus, and Th2 Response Associated with Atopic Dermatitis Induced by 2,4-Dinitrochlorobenzene in Rat.](#) / F.C. Muñoz, M.M. Cervantes, D. Cervantes-García // *J. Immunol. Res.* – 2017. - 2017:6935402.
171. Murakami K. [Atopic dermatitis successfully treated by eradication of Helicobacter pylori.](#) / K. Murakami, T. Fujioka, A. Nishizono et al // *J. Gastroenterol.* – 1996. - V.31, Suppl. 9. – P.77-82
172. [Namkung J.H.](#) Association of polymorphisms in genes encoding IL-4, IL-13 and their receptors with atopic dermatitis in a Korean population. / J.H. Namkung, J.E. Lee, E. Kim et al // [Exp. Dermatol.](#) - 2011. – V.20, n.11. - P. 915-919.

173. Narożna B. [Polymorphisms in the interleukin 4, interleukin 4 receptor and interleukin 13 genes and allergic phenotype: A case control study.](#) / B. Narożna, A. Hoffmann, P. Sobkowiak et al // Adv. Med. Sci. – 2016. - V.61, n.1. – P.40-45.
174. Navarrete-Dechent C. [Humoral and Cellular Autoreactivity to Epidermal Proteins in Atopic Dermatitis.](#) / C. Navarrete-Dechent, G. Pérez-Mateluna, S. Silva-Valenzuela et al // Arch. Immunol .Ther. Exp. (Warsz). – 2016. – V.64, n.6. – P.435-442.
175. Nebert D.W. Analysis of the glutathione S-transferase (GST) gene family. / D.W. Nebett, V. Vasiliou // Hum. Genomics. - 2004. - V.1, n.6. - P.460-464.
176. [Novak N.](#) Putative association of a TLR9 promoter polymorphism with atopic eczema. / N. Novak, C.F. Yu, C. Bussmann et al // [Allergy](#). - 2007. - V.62. - P. 766-772.
177. [Odhiambo J.A.](#) Global variations in prevalence of eczema symptoms in children from ISAAC Phase Three. / J.A. Odhiambo, H.C. Williams, T.O. Clayton et al // [J. Allergy Clin. Immunol.](#) - 2009. - V.124. - P. 1251-1258.
178. On H.R. [Filaggrin Mutation in Korean Patients with Atopic Dermatitis.](#) / H.P. On, S.E. Lee, S.E. Kim et al // Yonsei Med. J. – 2017. – V.58, n.2. – P.395-400.
179. Ozawa S.Genetic polymorphisms in xenobiotic metabolizing enzymes as a determinant of susceptibility to environmental mutagens and carcinogens in humans. //Yakugaku Zasshi.-1997.- Nov;Vol.l 17(10-11). P. 895-909.
180. [Ong P.Y.](#) Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. / P.Y. Ong, T. Ohtake, C. Brandt et al // [N. Engl. J. Med.](#) - 2002. - V.34. - P. 1151-1160.
181. Otsuka A. Possible new therapeutic strategy to regulate atopic dermatitis through upregulating filaggrin expression. / A. Otsuka, H. Doi, G. Egawa et al // J. Allergy Clin. Immunol. – 2014. – V.133, n.10. – P.139-146.
182. Palmer C.N.A. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. / C.N.A.

- Palmer, A.D. Irvine, A. Terron-Kwiatkowski et al // Nat. Genet. – 2006. – V.38. – P. 441–446.
183. Paoloni-Giacobino A. Genetic and nutrition // Clin. Nutr. – 2003. – V.22. – P.429-443.
184. Park J.H. Eisenhu [Insight into the role of TSLP in inflammatory bowel diseases](#). / J.H. Park, D.Y. Jeong, L. Peyrin-Biroulet et al // Autoimmun Rev. – 2017. – V.16, n.1. – P.55-63.
185. Park K.D. [The Pathogenetic Effect of Natural and Bacterial Toxins on Atopic Dermatitis](#). / K.D. Park, S.C. Pak, K.K. Park // Toxins (Basel). – 2016. – V.9, n.1. - pii: E3.
186. Paternoster L. Meta-analysis of genome-wide association studies identifies three new risk loci for atopic. / L. Paternoster, M. Standl, C.M. Chen et al // Nat. Genet. – 2011. – V.44, n.2. – P.187-192.
187. Pavanello S., Clonfero E. Biomarkers of genotoxic risk and metabolic polymorphism. // Med. Lav.-2000. Sep.,Oct.,Vol.91(5). - P. 431-469.
188. [Pushparaj P.N.](#) The cytokine interleukin-33 mediates anaphylactic shock. / P.N. Pyshparaj, H.K. Tay, S.C.H'ng et al // [Proc. Natl. Acad. Sci. USA](#). - 2009. - V. 106. - P. 9773-9778.
189. Peden D.B. Development of atopy and asthma: candidate environmental influences and important periods of exposure. // Environ Health Perspect. - 2000. Jun; Vol.108 (Suppl 3). - P. 475-482.
190. [Qian F.-H.](#) Polymorphisms in the Toll-like Receptor 2 Subfamily and Risk of Asthma: A Case-control Analysis in a Chinese Population. / F.-H. Qian, Q. Zhang, L. -F. Zhou et al // [J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.](#) - 2010. - V. 20, n.4. - P. 340-346.
191. [Quentmeier H.](#) Cloning of human thymic stromal lymphopoietin (TSLP) and signaling mechanisms leading to proliferation. / H. Quentmeier, H.G. Drexler, D. Fleckenstein et al // [Leukemia](#). - 2001. - V. 15. - P. 1286-1292.

192. Reijmerink N.E. [KHost-microbial interactions in childhood atopy: toll-like receptor 4 \(TLR4\), CD14, and fecal Escherichia coli.](#) / N.E. Reijmerink, P.A. van den Brandt, M. Kerkhof et al // J. Allergy Clin. Immunol. – 2010. – V.125, n.1. – P.231-236.
193. [Roedl D.](#) Serine protease inhibitor lymphoepithelial Kazal type-related inhibitor tends to be decreased in atopic dermatitis. / D. Roedl, C. Traidl-Hoffman, J. Ring et al // JEADV. - 2009. - V. 23. - P. 1263-1266.
194. Saito Y. [Randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study of the effect of Lactobacillus paracasei K71 intake on salivary release of secretory immunoglobulin A.](#) / Y. Saito, M. Fujii, T. Watanabe et al // Biosci. Microbiota. Food. Health. – 2017. – V.36, n.2. – P.55-63.
195. Salimi M. [Cysteinyl leukotriene E<sub>4</sub> activates human group 2 innate lymphoid cells and enhances the effect of prostaglandin D<sub>2</sub> and epithelial cytokines.](#) / M. Salimi, L. Stöger, W. Liu et al // J. Allergy Clin. Immunol. – 2017. - Jan 20. - pii: S0091-6749(17)30051-9.
196. [Sandilands A.](#) Prevalent and rare mutations in the gene encoding filaggrin cause ichthyosis vulgaris and predispose individuals to atopic dermatitis. / A. Sandilands, G.M.O'Regan, H. Liao et al // [J. Invest. Dermatol.](#) - 2006. -V. 26, n.8. - P. 1770-1775.
197. [Schultz Larsen F.](#) Atopic dermatitis: a genetic-epidemiologic study in a population-based twin study. / F. Schultz Larsen // [J. Am. Acad. Dermatol.](#) - 1993. -V.28. - P.719-723.
198. Sehra S.I. [Increased Th2 activity and diminished skin barrier function cooperate in allergic skin inflammation.](#) / S. Sehra, P. Krishnamurthy, B. Koh et al // Eur. J. Immunol. – 2016. – V.46, n.11. – P.2609-2613.
199. Sipes I.G. Biotransformation of toxicants. In: Casarett and Doull's Toxicology (Klaassen, C. D., Amdur, M. O., and Doull, J., eds). / I.G. Sipes, A.J. Gandolfi, A. J. // 3rd Edition, Macmillan, New York – 1986. P. 64-98.

200. Sicherer S. Advances in allergic skin disease, anaphylaxis, and hypersensitivity reactions to foods, drugs, and insects. / S. Sicherer, D. Leung // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2013. – V.131. – P.55–66.
201. Sidbury R. [Evolving Concepts in Atopic Dermatitis.](#) / R. Sidbury, K. Khorsand // *Curr. Allergy Asthma Rep.* – 2017. – V.17, n.7. – P.42.
202. Silverberg J.I. [The Role of Interleukins 4 and/or 13 in the Pathophysiology and Treatment of Atopic Dermatitis.](#) / J.I. Silverberg, R. Kantor // *Dermatol. Clin.* – 2017. – V.35, n.3. – P.327-334.
203. Silverberg J.I. [Public Health Burden and Epidemiology of Atopic Dermatitis.](#) / J.I. Silverberg // *Dermatol. Clin.* – 2017. – V.35, n.3. – P.283-289.
204. [Soderhall C.](#) Variants in a novel epidermal collagen gene (COL29A1) are associated with atopic dermatitis. / C. Soderhall, I. Marenholz, T. Kerscher et al // [PLoS Biol.](#) - 2007. - V.5, n.9. – P.e242.
205. [Sohn M.H.](#) Association of interleukin-10 gene promoter polymorphism in children with atopic dermatitis. / M.H. Sohn, J.S. Song, K.W. Kim et al // [J. Pediatr.](#) -2007. - V.150, n.1. - P. 106-108.
206. [Spengel J.M.](#) Atopic dermatitis and the atopic march. / J.M. Spengel, A.S. Paller // [J. Allergy Clin. Immunol.](#) - 2003. - V. 112. - S118 -S127.
207. Stemmler S. Trying to understand the genetics of atopic dermatitis. / S. Stemmler, S. Hoffjan // *Mol. Cell. Probes.* – 2016. – doi: 10.1016/j.mcp.2016.10.004.
208. Stout T.E. Recombinant filaggrin is internalized and processed to correct filaggrin deficiency? T.E. Stout, T. McFarland, J.C. Mitchell et al // *J. Invest. Dermatol.* – 2014. – V.134. – P.423-429.
209. Suárez-Fariñas M. Nonlesional atopic dermatitis skin is characterized by broad terminal differentiation defects and variable immune abnormalities. / M. Suárez-Fariñas, S.J. Tintle, A. Shemer et al // *J. Allergy Clin. Immunol.* - 2011. – V.127. – P. 954-964.

210. [Sun L.D.](#) Genome-wide association study identifies two new susceptibility loci for atopic dermatitis in the Chinese Han population. / L.D. Sun, F.L. Xiao, Y. Li et al // [Nature Genetics](#). - 2011. - V. 43, n.7. - P. 690-696.
211. Suzuki H, Y. A rare variant in CYP27A1 and its association with atopic dermatitis with high serum total IgE. / H.Y. Suzuki, M. Makino, J. Nagata et al // *Allergy*. – 2016 . doi:10.1111/all.12950.
212. Shoenfeld Y. Natural autoantibodies: their physiological role and regulatory significance. / Y. Shoenfeld, D. Isenberg // Boca Raton Ann. Arbor.- London, Tokyo. - 1993.- 356 p.
213. Shoenfeld Y. The Mosaic of Autoimmunity Prediction and treatment in autoimmun disease. / Y. Shoenfeld // *IMAJ*. - 2008. - Vol. 10. - P. 12-19.
214. Talalay P. Phytochemicals from cruciferous plants protect against cancer by modulating carcinogen metabolism. / P. Talalay, J.W. Fahey // *J.Nutr.* – 2001. – V.131. – P.3027-3033.
215. Thomsen S.F., Epidemiology and natural history of atopic diseases. / S.F. Thomsen // *Eur. Clin. Respir. J.* - 2015. – n.2. - doi:10.3402/ecrj.v2.24642
216. Thyssen J.P. [Incidence, prevalence, and risk of selected ocular disease in adults with atopic dermatitis.](#) / J.P. Thyssen, P.B. Toft, A.S. Halling-Overgaard et al // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2017. - Jun 7. pii: S0190-9622(17)30360-2.
217. Torre L.A. Global cancer incidence and mortality rates and trends – an update. / L.A. Torre // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2015. – V.25. – P.16-27, 74-75.
218. Townsend D.M. The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance. / D.M. Townsend, K.D. Tew // *Oncogene*. – 2003. – V.22. – P.7369-7375.
219. [Trompette A.](#) Allergenicity resulting from functional mimicry of a Toll-like receptor complex protein. / A. Trompette, S. Divanovic, A. Visintin et al // [Nature](#). -2009. - V. 457. - P. 585-588.

220. Trzeciak M. [Association of a Single Nucleotide Polymorphism in a Late Cornified Envelope-like Proline-rich 1 Gene \(LELP1\) with Atopic Dermatitis.](#) / M. Trzeciak, M. Wessering, T. Bandurski et al // Acta Derm.-Venereol. – 2016. – V.96, n.4. – P.459-63.
221. Tyurin Y.A. [Association of Toll-Like Cell Receptors TLR2 \(p.Arg753GLN\) and TLR4 \(p.Asp299GLY\) Polymorphisms with Indicators of General and Local Immunity in Patients with Atopic Dermatitis.](#) / Y.A. Tyurin, A.F. Shamsutdinov, N.N. Kalinin et al // J. Immunol. Res. – 2017. – May 16. - 2017:8493545.
222. Vavilin V.A. Interaction of GSTM1, GSTT1 and GSTP1 genotypes in determination of predisposition to atopic dermatitis. / V.A. Vavilin et al // Bull. Exper. Biol. Med. – 2003. – N.4. – P.18.
223. Valenta R. Identification of profiling as a novel pollen allergen: IgE autoreactivity in sensitized individuals. / R.Valenta, M.Duchene, C. Pettenburger et al. // Science. - 1991. – V 253: 5019. - P. 557—560.
224. Valenta R. Molecular characterization of an autoallergen, Hom s 1, identified by serum IgE from atopic dermatitis patients. / R. Valenta, S. Natter, S. Seiberler et al. // J Invest Dermatol. - 1998. – V.111: 6. - P. 1178—1183.
225. Vickery B.P. Mechanisms of immune tolerance relevant to food allergy. / B.P. Vickery, A.M. Scurlock, S.M. Jones, A.W. Burks // J. Allergy Clin. Immunol. - 2011. - V. 127, n.3. - P. 5765-5784.
226. [Walley A.](#) Gene polymorphism in Netherton and common atopic disease. / A. Walley, S. Chavanas, M.F. Moffatt et al // [Nature Genetics](#). - 2001. - V.29. - P.175-178.
227. Wallmeyer L. [TSLP is a direct trigger for T cell migration in filaggrin-deficient skin equivalents.](#) / L. Wallmeyer, K. Dietert, M. Sochorová et al // Sci. Rep. – 2017. –V.7, n.1. – P.774.

228. Wan J. [Influence of FLG mutations and TSLP polymorphisms on atopic dermatitis onset age.](#) / J. Wan, N. Mitra, O.J. Hoffstad, D.J. Margolis // [Ann. Allergy Asthma Immunol.](#) – 2017. – V.118, n.6. – P.737-738.
229. Wang I.J. [GSTM1, GSTP1, prenatal smoke exposure, and atopic dermatitis.](#) / I.J. Wang, Y.L. Guo, T.J. Lin et al // [Ann Allergy Asthma Immunol.](#) – 2010. - V.105, n.2. – P.124-129.
230. Watanabe K. IgE and IgG(4) autoantibodies against DFS70/LEDGF in atopic dermatitis. / K. Watanabe, Y. Muro, K. Sugiura, Y. Tomita // [Autoimmunity.](#) - 2011. – V.44, n.6. – P. 511-519.
231. Watson M.A. Human glutathione S tranferase P1 polymorphisms: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. / M.A. Watson, R.K. Strwart, G.B. Smith et al // [Carcinogenesis.](#) – 1998. – V.19. -.275-280.
232. Weidinger S. Atopic dermatitis. / S. Weidinger, N. Novak // [Lancet.](#) – 2016. – V.387. – P.1109-1122.
233. [Weidinger S.](#) Genome-wide scan on total serum IgE levels identifies FCER1A as novel susceptibility locus. / S. Weidinger, C. Gieger, E. Rosriguez et al // [PLoS Genet.](#) - 2008. - V.4, n.8. - e1000166.
234. Wollina U. [Microbiome in atopic dermatitis.](#) / U. Wollina // [Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.](#) - 2017. - V.10. – P.51-56.
235. [Zhang H.](#) Associations of FLG mutations between ichthyosis vulgaris and atopic dermatitis in Han Chinese. / H. Zhang, Y. Guo, W. Wang et al // [Allergy.](#) -2011. - V.66. - P. 1252-1259.
236. [Zhang J.](#) Recent advances in asthma genetics. / J. Zhang, P.D. Pare, A.J. Sandford // [Respir. Res.](#) - 2008. - V. 9:4. - P. 1-8.
237. Zendman A.J.W. Autoantibodies to citrullinated (poly) peptides: a key diagnostic and prognostic marker for rheumathoid arthritis. / A.J.W. Zendman, E.R. Vossenaar. // [Autoimmunity.](#) – 2004. - № 37. - P. 295-299.

238. Zaichik A.Sh. Autoimmune regulation of genetically determined cell functions in health and disease. / A.Sh. Zaichik, L.P. Churilov, V.J. Utekhin // Pathophysiology (Elsevier). - 2008. -V. 15. – № 3. - P. 191-207.