

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**

На правах рукописи

Пронина

Наталия Александровна

**ИММУНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ
И ТЕЧЕНИЯ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА**

14.00.16 – патологическая физиология

14.00.36 – аллергология и иммунология

диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

Доктор медицинских наук,

Профессор Климов В.В.

Доктор медицинских наук,

Профессор Суходоло И.В.

Томск - 2004

Оглавление

Список сокращений	4
Введение	5
Глава 1. Обзор литературы	9
1.1. Этиология атопического дерматита.....	9
1.2. Патогенез атопического дерматита	11
1.3. Роль костимулирующих молекул в патогенезе атопических заболеваний	13
1.4.Строение кожи в норме и при атопическом дерматите.....	16
1.4.1. Строение кожи здоровых лиц	16
1.4.2. Особенности иммуноморфологии кожи при атопическом дерматите	20
1.5. Классификация атопического дерматита	24
1.6. Специфическая иммунотерапия больных атопическим дерматитом....	26
1.6.1. Принципы и механизмы специфической иммунотерапии.....	26
1.6.2. Определение содержания цитокинов ИЛ-2 и ИФН- γ , как метод оценки эффективности СИТ.....	29
Глава 2. Материалы и методы исследования	33
2.1. Характеристика объекта клинико-иммунологических исследований ..	33
2.2. Методы исследования	34
2.2.1. Гистологическое исследование кожи.....	34
2.2.2. Определение сывороточных показателей, параметров лимфоцитарной системы и реактивности нейтрофилов	376
2.2.3. Постановка реакции бласттрансформации лимфоцитов	39
2.2.4. Определение содержания ИЛ-2 и ИФН- γ	40
Глава 3. Гистологическая оценка состояния кожи у пациентов с атопическим дерматитом	42
Глава 4. Клинико-иммунологическая характеристика больных атопическим дерматитом	52

4.1. Клиническая характеристика обследованных больных	52
4.2. Изменение иммунного статуса при atopическом дерматите	54
Глава 5. Специфическая иммунотерапия atopического дерматита: иммунологическая эффективность и оценка экспрессии CD28.....	61
5.1. Влияние специфической иммунотерапии на степень тяжести у пациентов с atopическим дерматитом	61
5.2. Изменение иммунологических показателей I уровня у пациентов с atopическим дерматитом под влиянием специфической иммунотерапии..	65
5.3. Влияние специфической иммунотерапии на показатели реакции бласттрансформации у больных atopическим дерматитом	70
5.4. Динамика ИЛ-2 и ИФН- γ у пациентов с atopическим дерматитом при проведении специфической иммунотерапии.....	72
5.5. Количество CD28 ⁺ -лимфоцитов в крови у пациентов с atopическим дерматитом под влиянием специфической иммунотерапии.....	77
Приложение	81
Заключение	85
Выводы	90
Список литературы	91

Список сокращений

АГ – антиген

АД – atopический дерматит

АПК – антигенпредставляющая клетка

ИКК – иммунокомпетентная клетка

ИЛ – интерлейкины (1-18)

ИРК – иммунорегуляторный коэффициент

ИФН- γ - интерферон γ

КЛ – клетки Лангерганса

НСТ-тест – тест восстановления нитросинего тетразолия

ПЗА – причинно-значимый аллерген

РБТЛ – реакция бласттрансформации лимфоцитов

СИТ – специфическая иммунотерапия

ТХ1, ТХ2 – Т-хелперы типов 1 и 2

ФГА – фитогемагглютинин

ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы

CD – cluster definition – антигены кластеров дифференцировки клеток

F_{CE}RI – высокоспецифичный, F_{CE}RII – низкоспецифичный рецептор IgE на тучных клетках

HLA-I, II – главный комплекс гистосовместимости I (первого класса), II (второго класса)

ICAM-1, 2, 3 – inter cellular adhesion molecules – молекула межклеточной адгезии 1, 2, 3 типов

Ig – иммуноглобулины (M, G, E, A, D)

НК – натуральные киллеры

PNU – единица белкового азота

TNF – tumor necrosis factor – фактор некроза опухолей

Введение

Актуальность. Актуальность проблемы атопического дерматита (АД) связана с тем, что в последние десятилетия XX столетия ученые всех стран мира отмечают постоянное увеличение числа людей, страдающих АД, и заметное утяжеление клинических проявлений дерматита в различных возрастных группах [127, 205]. Согласно данным официальной статистики, в России АД диагностируется впервые у 240-250 человек на 100000 обследованных [129,130,131]. Уровень инвалидизации при АД составляет 8% [5].

Между тем до настоящего времени нет достаточно полных данных о патогенезе формирования иммунопатологии кожи и механизмах, лежащих в основе зуда при атопическом дерматите.

Кроме того отсутствуют унифицированные методы, дающие стойкий терапевтический эффект при АД.

АД – проблема для больного человека и членов его семьи, так как почти у 50% больных АД появляется в возрасте 1 года, у 30% – между 1 и 5 годами жизни. Почти у 80 % больных позже развивается аллергический ринит или бронхиальная астма [205].

Кожа является высокоорганизованным периферическим органом иммунной системы и обладает необходимым составом иммунокомпетентных клеток (ИКК), кооперирующихся между собой как с помощью комплементарных структур на их поверхности, так и при участии иммунорегуляторных цитокинов [64,66,75,83].

С развитием новых концепций формирования иммунного ответа в иммунологии, большое значение придается роли костимулирующих молекул. Костимулирующие молекулы участвуют в межклеточных взаимодействиях, которые играют ключевую роль на разных этапах становления и функционирования иммунной системы. Однако наибольшим своеобразием и специфичностью обладают межклеточные взаимодействия, реализуемые в процессе развития иммунного ответа [151,152]. При взаимодействии антигенпредстав-

ляющей клетки (АПК) и Т-хелперов ключевую роль играет взаимное связывание молекул CD28 Т-лимфоцита и вариантов молекул В7 (CD80 или CD86) АПК, а также – реакция молекул CD40 В-клетки и CD40L (CD 154) Т-хелпера, которая приобретает особенно важную роль при Т-В-кооперации [139,151,152]. В рамках этой проблемы проведение работы по исследованию содержания CD28 представляет интерес в плане расшифровки патогенеза АД. Специфическая иммунотерапия (СИТ) является единственным этиопатогенетическим методом лечения atopических заболеваний, в том числе и АД [35,40,142].

Цель исследования: установить роль иммунологических и морфологических нарушений в патогенезе atopического дерматита до и после проведения специфической иммунотерапии.

С учетом поставленной цели были определены следующие **задачи:**

1. Исследовать функциональную активность иммунорегуляторных клеток и роль костимулирующей молекулы CD28 в патогенезе atopического дерматита.
2. Оценить клиническую и иммунологическую эффективность специфической иммунотерапии у пациентов с atopическим дерматитом.
3. Определить морфологические особенности эпидермиса кожи у пациентов с atopическим дерматитом.
4. Исследовать взаимозависимость между клиническими и иммунологическими параметрами при atopическом дерматите.

Положения, выносимые на защиту:

1. В патогенезе atopического дерматита большую роль играет дисбаланс иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов, который смещается в сторону повышения активности ТХ2-типа, что проявляется снижением уровней ИЛ-2, ИФН- γ , и повышением количества CD28⁺-лимфоцитов в крови. После проведения специфической иммунотерапии происходит частичное восстановление баланса ТХ1/ТХ2.

2. Патоморфологические изменения кожи при atopическом дерматите коррелируют со степенью тяжести патологического процесса и уровнем дисбаланса иммунорегуляторных клеток.

Научная новизна. Впервые проведено исследование состояния эпидермиса поврежденной и неповрежденной воспалительным процессом кожи у пациентов с atopическим дерматитом. Показано, что у пациентов с atopическим дерматитом наблюдается гиперкератоз даже в неповрежденных воспалительным процессом участках кожи. Получены новые данные о характере сдвига функциональной активности ТХ1- и ТХ2-типов. Исследовали роль костимулирующей молекулы CD28 при atopическом дерматите при проведении специфической иммунотерапии. После проведения СИТ имеет место частичное восстановление баланса ТХ1/ТХ2, что проявляется повышением уровня продукции ИЛ-2, количества CD28⁺-лимфоцитов, однако, сохраняется низкий уровень продукции ИФН-γ.

Практическая значимость. Комплексное изучение клинко-иммунологического и цитокинового статуса, гистологических особенностей строения эпидермиса кожи у больных АД позволяет оценить тяжесть и прогноз течения заболевания и дифференцированно, с учетом выявленных особенностей, подходить к вопросам лечения и осуществлять контроль за эффективностью иммунотерапии atopического дерматита.

Показана роль костимулирующей молекулы CD28⁺ в патогенезе atopического дерматита. Оценка динамики цитокинов (ИЛ-2, ИФН-γ) в культуральной жидкости различных модификаций РБТЛ и CD28⁺-лимфоцитов является чувствительным и достоверным критерием успешности проводимого лечения, что позволяет прогнозировать результаты СИТ.

Внедрение. Полученные результаты используются в работе иммуноаллергологического отделения, городского аллергологического кабинета г.Томска. Положения и выводы диссертации внедрены в процесс преподава-

ния клинической иммунологии и аллергологии студентам Сибирского государственного медицинского университета.

Апробация. Основные положения работы докладывались и обсуждались:

1. Конференция РААКИ, С.-Петербург 2002г.
2. Научно-практическая конференция «Актуальные вопросы аллергологии», Томск, март 2003г.
3. Научно-практическая конференция «Атопический дерматит: новое в лечении и диагностике», Томск, май 2003г.
4. 3-я конференция FOCIS, Париж, май 2003г.
5. Заседание проблемной комиссии кафедры иммунологии и аллергологии СибГМУ, Томск, июнь 2003г.
6. Заседание экспертной комиссии по патологической физиологии при СибГМУ, Томск, октябрь 2003г.

Список работ, опубликованных по теме диссертации. По теме диссертации опубликовано 5 работ: 1 – в центральной, 1 – в зарубежной, 3 – в местной печати.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 117 страницах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав, приложения, заключения, выводов и списка литературы, включающего 240 источников, из которых 154 отечественных и 86 иностранных. Диссертация иллюстрирована 2 рисунками, 3 фотографиями и 18 таблицами.

Глава 1. Обзор литературы

1.1. Этиология атопического дерматита

АД – генетически детерминированное хроническое аллергическое воспаление кожи с характерной клинической картиной, сопровождающееся зудом. Основопологающим фактором формирования АД является генетически обусловленная предрасположенность к IgE – ответу, причем передается по наследству не болезнь как таковая, а совокупность генетических факторов, способствующих формированию аллергической патологии [118,129,131]. В последние годы обнаружена связь атопических заболеваний с определенными антигенами гистосовместимости, в частности, установлена положительная ассоциация АД с антигенами HLA-A24, HLA-B5, HLA-B9, HLA-B12, HLA-B27 [131].

Для реализации IgE – зависимого иммунного ответа и появления клинических симптомов необходимо воздействие различных неблагоприятных внешних и внутренних факторов, называемых факторами риска, к которым относятся:

- климато-географические условия;
- экологическая ситуация (чаще страдают жители города, чем сельской местности);
- патология беременности;
- несоблюдение диеты в период беременности и лактации;
- дефекты вскармливания ребенка (ранний ввод прикормов, искусственное или смешанное вскармливание) [10,11,19,129,142].

Большое значение в формировании АД имеют функциональные нарушения ЖКТ в виде дисбактериоза, рефлюксов, дискинезии желчевыводящих путей; хронические болезни органов пищеварения, которые способствуют легкому проникновению антигенов (АГ) из пищевой кашицы через слизистую оболочку во внутреннюю среду организма и формированию сенсибилизации, прежде всего к пищевым продуктам [5,42,58,105,129]. Нарушенная

кишечная флора обладает негативным воздействием на организм: усиливает кишечное брожение, выработку токсинов, фенолов, аминов (гистамина, тирамина и др.). Высокий уровень эндогенного амина способствует аллергическим заболеваниям [145].

Большую роль в развитии и поддержании АД играет паразитарная инвазия. В частности, продукты жизнедеятельности гельминтов и их токсины вызывают активацию иммунокомпетентных клеток (ИКК), гиперпродукцию иммуноглобулинов, особенно IgE, а также образование иммунных комплексов и повреждение Т-клеточного звена иммунитета. У пациентов с АД заражение лямблиями превышает в 7,6 раз по сравнению с здоровыми донорами [105].

Одной из существенных причин рецидивирующего течения АД является также значительная колонизация патогенной флоры на поверхности кожи, обусловленная наличием активных адгезинов в составе клеточной стенки микроорганизмов, что поддерживает бактериальную сенсibilизацию и гиперпродукцию IgE. Наибольшее внимание в развитии АД, особенно тяжелых форм, уделяется *St.aureus*. Известно, что у 80 - 95% больных АД *St.aureus* является доминирующим микроорганизмом, определяемым на пораженных участках кожи. Последние исследования свидетельствуют о том, что *St.aureus* способен усиливать или поддерживать воспалительный процесс на коже больных АД, являясь продуцентом энтеротоксинов, обладающих свойствами суперантигенов, стимулирующих активацию макрофагов и Т-клеток, несущих кожный хоуминговый рецептор, лимфоидный антиген кожи [44,129,205,206]. Длительная экспозиция антигена, стимуляция ТХ2-клеток, продукция аллергенспецифических IgE-антител, дегрануляция тучных клеток, эозинофильная инфильтрация и воспаление, усиливаемые повреждением кератиноцитов вследствие расчесов – все вместе приводит к хроническому воспалению кожи при АД, которое играет важную роль в патогенезе кожной гиперреактивности.

1.2. Патогенез атопического дерматита

Несмотря на многообразие проявлений аллергических заболеваний, в основе их патогенеза лежат опосредованные IgE-антителами реакции высвобождения медиаторов аллергического воспаления из базофилов крови и тканей.

В патогенезе АД также ключевая роль принадлежит IgE-опосредованным реакциям, т.е. аллергическим реакциям I типа [10,11,37,63].

В случае поступления во внутреннюю среду организма аллергена последний фрагментируется в антигенпредставляющих клетках до упрощенных пептидов, которые затем представляются этими клетками T-клеткам – помощникам, имеющим профиль TH2-клеток. Этот профиль характеризуется продукцией клетками таких цитокинов, как ИЛ-4, ИЛ-13, ИЛ-5, но не ИЛ-2 или ИФН- γ . TH2 – клеточный профиль имеет отношение к гуморальному иммунному ответу и, в частности, к IgE-ответу. TH1 – клеточный профиль характеризуется продукцией клетками ИФН- γ и ИЛ-2, но не ИЛ-4, ИЛ-13, ИЛ-5. Между TH1 и TH2-клетками существуют реципрокные отношения, и ИФН- γ тормозит активность TH2-клеток, необходимых для осуществления IgE-ответа [66,75,141,210,212].

Образовавшиеся IgE-антитела (рис. 1) фиксируются на имеющих к ним очень высокое сродство специализированных рецепторах (высокоаффинные рецепторы для F_c-фрагмента IgE-F_{CE}RI), расположенных на тучных клетках слизистых оболочек и соединительной ткани.

Таким образом, вооруженные IgE-антителами, тучные клетки оказываются готовы к распознаванию аллергена, если он повторно сможет поступить во внутреннюю среду организма. При повторном поступлении аллерген связывается с IgE-антителами, происходит активация тучных клеток, в результате чего из них секретируются медиаторы (гистамин, серотонин, простагландин D₂, лейкотриены C₄, D₄, E₄ и др.), которые

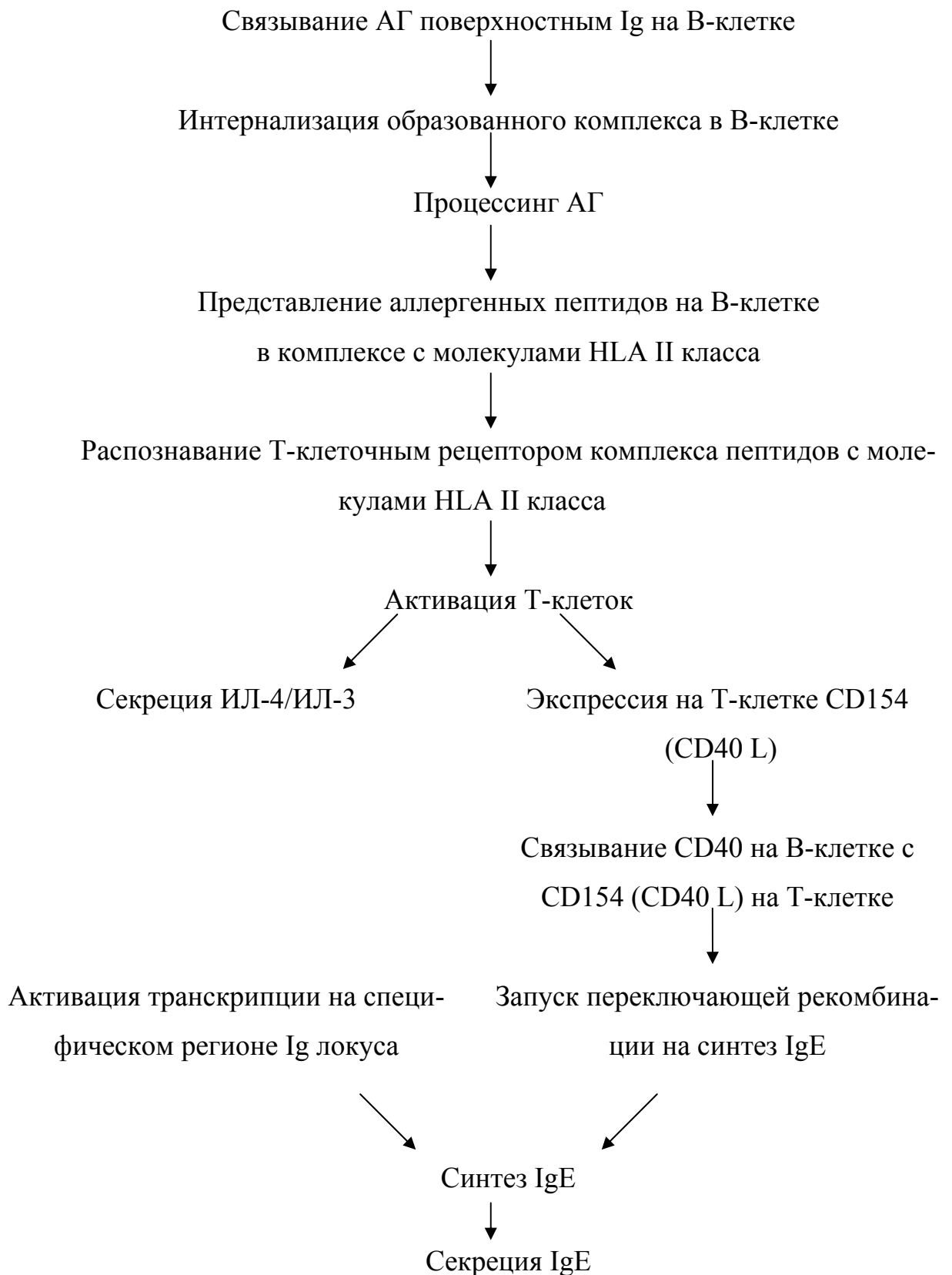


Рис 1. Схема индукции IgE-ответа (по И.С. Гушину, 2000г.).

вызывают повышение сосудистой проницаемости, отек ткани, сокращение гладкой мускулатуры, зуд, гиперсекрецию слизистых желез [38,40,101,129]. Эти изменения составляют основу быстрой (ранней) фазы аллергической реакции, развивающейся в течение первых минут после действия аллергена. Помимо указанных действий, высвобождаемые медиаторы привлекают в зону аллергической реакции другие клетки-участники: базофилы, эозинофилы, моноциты, лимфоциты. Пришедшие в эту зону дополнительные клетки-участники аллергической реакции активируются, в результате чего также секретируют проаллергические (провоспалительные) медиаторы. Действие этих клеток и их медиаторов формирует позднюю (или отсроченную) фазу аллергической реакции. Поздняя фаза обуславливает поддержание аллергического воспаления в ткани, хронизацию процесса, формирование и усиление аллерген-специфической гиперреактивности, выражающейся в повышении чувствительности уже не только к конкретному аллергену, но и к разнообразным неспецифическим раздражающим воздействиям (дым, резкие запахи и прочее) [38,40].

Однако, причиной выработки лейкотриенов, как и других метаболитов арахидоновой кислоты, могут быть вновь образующиеся IgG-антитела. Эти антитела запускают каскад реакций активации системы комплемента, ведущих в свою очередь к активации цикла распада арахидоновой кислоты и генерации лейкотриенов [79].

1.3. Роль костимулирующих молекул в патогенезе атопических заболеваний

Связывание антигенспецифического рецептора с комплексом пептид-молекула II класса HLA и включение в комплексообразование корецептора CD4 обеспечивает лишь одно из условий развития наивных Т-клеток – формирование первичного сигнала к пролиферации и дифференцировке этих клеток. Чтобы специфически подготовленная клетка начала, наконец, процесс дальнейшего развития, необходим второй сигнал от клеточной поверх-

ности к геному. Костимулятором в данном случае выступает молекула В7, экспрессирующаяся на мембране антиген – презентующей клетки. Рецептором для В7 на поверхности наивной Т-клетки является белок CD28 [23,137,138,139,229]. Молекула CD28 присутствует на поверхности всех покоящихся CD4⁺-клеток и 50% CD8⁺-клеток [152]. Также в минимальных количествах CD28-костимулирующую молекулу обнаружили на поверхности эозинофилов [190].

CD28 – трансмембранный гликопротеин-гомономер с молекулярной массой 44 кД, субъединицы которого соединены дисульфидной связью и образуют 1 внеклеточный домен, гомологичный V-домену иммуноглобулина, и спейсерный участок (структура, свойственная также молекуле CD8) [151,152,229].

При сочетании сигналов, поступающих в ТХ через антигенпредставляющий рецепторный комплекс Т-клеток с CD3 и костимулирующую молекулу CD28, формируется сигнал, приводящий к активации клеток, то есть к выходу ее из фазы покоя G₀ в фазу клеточного цикла G₁ [239]. Это подготавливает клетку к пролиферации, которая лежит в основе любых проявлений активности лимфоцитов. Но для развития пролиферации требуется участие ростовых факторов. В случае Т-клеток формирующиеся в процессе передачи сигнала транскрипционные факторы AP-1, NF-AT, NFκB вызывают экспрессию генов ростового фактора ИЛ-2 и его рецептора, что создает условия для деления активированных Т-клеток. Смысл костимулирующего эффекта, возникающего при связывании CD28, состоит во взаимодействии сигналов, поступающих от этой молекулы и от рецепторов, что приводит к усилению конечного эффекта (экспрессии ИЛ-2 и его рецептора) [23, 137, 138, 151, 152, 207, 209, 229]. Показано также, что под влиянием костимулирующего сигнала В7-CD28 происходит стабилизация мРНК ИЛ-2. В результате такой стабилизации РНК усиливается синтез ИЛ-2 в 20-30 раз [23].

Для развития гуморального ответа, который приводит к образованию антител, способных специфически связывать антиген, необходимо как действие цитокинов, секретируемых ТХ2, так и контактные взаимодействия В- и Т-клеток. При этом происходит рассмотренное выше взаимодействие костимулирующих молекул CD28-B7 (1,2) и CD40-CD40L, причем для активации В-лимфоцитов важен сигнал, поступающий через молекулу CD40 [138].

Связывание CD28 на Т-клетке с B7 (CD80) на В-клетке может быть составной частью механизма, который усиливает клеточное взаимодействие между Т- и В-клетками, опосредуемое связыванием CD40 и CD40L. Связывание CD40 приводит к экспрессии B7 (CD80) на В-клетке. Связывание же CD28 повышает экспрессию CD40L на Т-клетке и, что особенно важно, усиливает секрецию ИЛ-4 и дифференцировку ТХ2-клеток. ИЛ-4 в свою очередь усиливает экспрессию B7 (CD80) на В-клетке (рис. 2) [38,39].

Из выше изложенного материала следует, что костимулирующая молекула CD28 имеет большое значение в патогенезе АД. Взаимодействие CD28 с мембранными молекулами CD80 и CD86 на АПК приводит к регуляции иммунного ответа в организме. Также CD28 совместно с другими костимулирующими молекулами (CD40L-CD40) опосредованно участвуют в повышенной продукции цитокинов: ИЛ-2, ИФН- γ в одних условиях; ИЛ-4, ИЛ-5 в других [38].

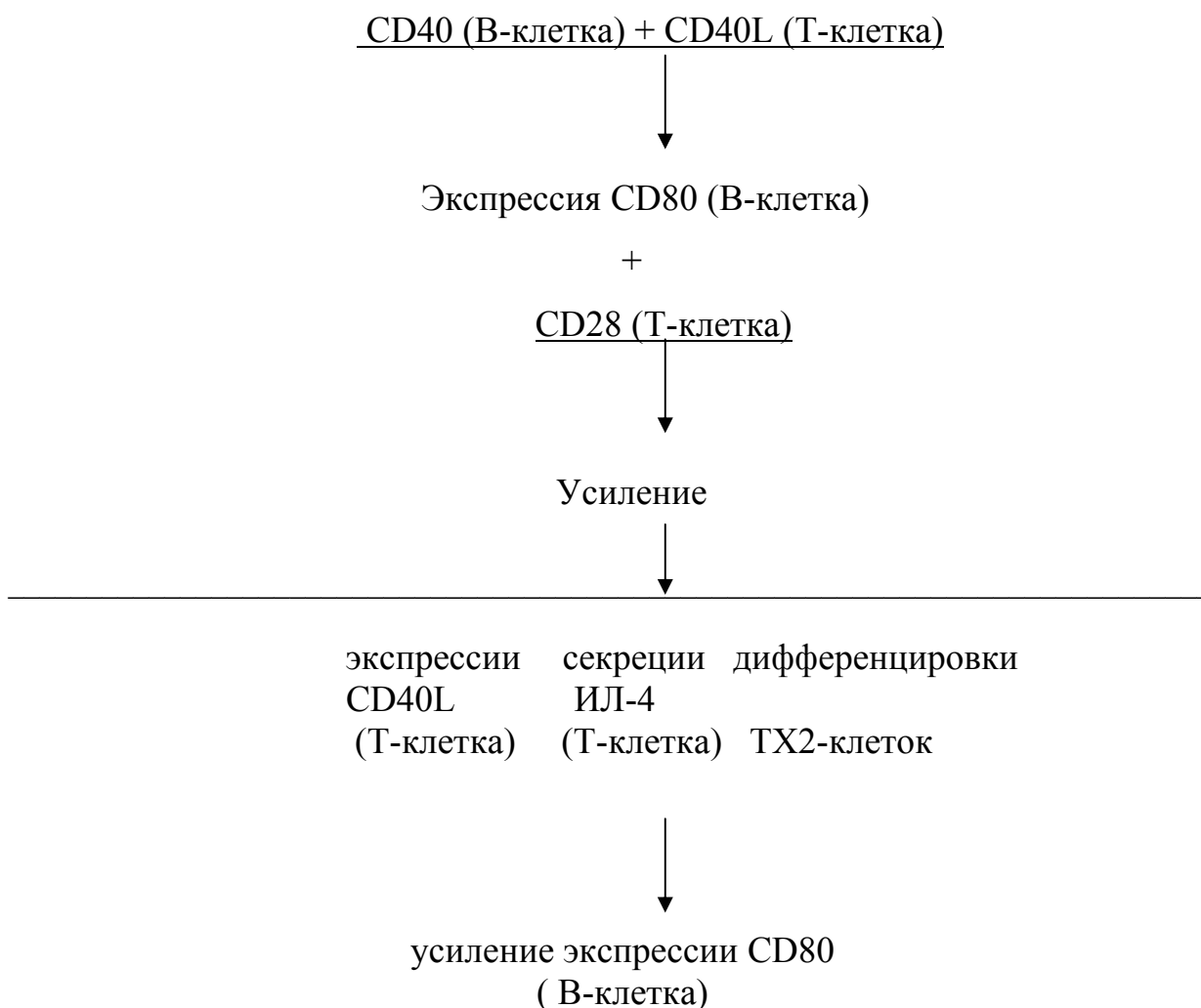


Рис. 2. Роль вспомогательных взаимодействий между T- и B- лимфоцитами (по И.С. Гущину, 1999г.).

1.4.Строение кожи в норме и при атопическом дерматите

1.4.1. Строение кожи здоровых лиц

Кожа – уникальный иммунный орган, заселенный клетками, способными инициировать системный ответ на АГ, поступающие через нее. Функционирование кожи как иммунного органа подтверждается присутствием резидентных и рециркулирующих клеток костномозгового происхождения и ее взаимосвязью с другими иммунными органами [43,115,140].

Кожа представляет собой трехкомпонентную тканевую систему, образованную эпидермисом, дермой и подкожной жировой клетчаткой, которые находятся в морфофункциональном единстве.

Эпидермис, или многослойный плоский ороговевающий эпителий является пограничной тканью. Особенности строения эпидермиса обеспечивают его эластичность, упругость и прочность, а высокие регенеративные свойства способствуют быстрому восстановлению при повреждениях. Эпидермис состоит из пяти слоев клеток, отличающихся количеством рядов и формой клеток, а также их цитологической характеристикой: рогового, блестящего, зернистого, шиповидного, базального (или зародышевого). Блестящий слой электронно-микроскопически в настоящее время как отдельный слой не выделяется.

Роговой слой построен из множества черепицеобразных чешуек, окрашивающихся оксифильно. У взрослых на большей части тела толщина рогового слоя равна 13-15 мкм. Структурной единицей рогового слоя является роговая чешуйка. Роговые чешуйки соединяются друг с другом с помощью взаимопроникающих выростов плазмолеммы и ороговевших десмосом.

Зернистый слой состоит из 1-2 рядов клеток. Ширина межклеточных промежутков 20-30 нм. Ядра полиморфны, одни округлой или овальной формы, другие сильно вытянуты с очень неровными контурами ядерной мембраны. Характерной особенностью зернистых клеток, обусловивших их название, является наличие в цитоплазме кератогиалиновых масс, ассоциированных с пучками тонофибрилл, часто окруженных скоплением нуклеопротеидных гранул и рибосом. Второй особенностью клеток этого слоя является присутствие в цитоплазме особых структурных образований – кератиносом, или гранул Орланда. Кератиносомы принимают активное участие в ороговении плазмолеммы [66,78,148].

Шиповидный слой состоит из шиповатых эпидермоцитов. Они окружены плазмолеммой толщиной 7-8 нм с очень неровными контурами за счет

многочисленных глубоких и мелких выростов (шипов), проникающих в соответствующие углубления соседних клеток и образующих соединения типа застежки «молния». Ядра шиповатых клеток, округлой или слегка овальной формы, окружены хорошо очерченной ядерной мембраной с немногочисленными порами. Характерной особенностью ядер шиповатых клеток эпидермиса человека является высокое содержание в них нейтральных липидов, фосфатидилхолина и отсутствие гликофосфолипидов [78, 115, 148]. Отличительной особенностью клеток шиповидного слоя является наличие в цитоплазме хорошо развитого фибриллярного аппарата, представленного тонофибриллами и немногочисленными тонофиламентами.

Базальный слой состоит из базальных эпидермоцитов, располагающихся в один ряд. Клетки округлой формы. Ядра обычно содержат одно или два ядрышка. Для цитоплазмы базальных клеток характерно более высокое содержание рибосом и митохондрий. В функциональном отношении клетки базального слоя характеризуются двумя основными особенностями. В них протекают активные процессы синтеза волокнистого белка, полисахаридов и липидов. Они обладают максимальной митотической активностью, соответственно содержат наибольшее количество ДНК- и РНК-содержащих структур [114, 115, 148].

Область соединения эпидермиса и дермы является границей соприкосновения двух разнородных по эмбриогенезу тканей и зоной с выраженными барьерными функциями, через которую осуществляются обменные процессы между эпидермисом, не имеющим кровоснабжения, и подлежащей дермой. Микроскопически область дермоэпидермального контакта имеет вид волнистой или зубчатой линии, образованной эпидермальными гребешками и отростками базальных клеток. Среди механических факторов, обеспечивающих прочное скрепление эпидермиса с дермой, можно выделить придатки кожи, эпидермальные выросты (гребешки) с соответствующими им сосочками дермы, обуславливающими шиповидный характер взаимосвязи [53, 78, 148].

Область соединения эпидермиса и дермы имеет сложное строение и обозначена как пограничная зона. Она включает плазмолемму базальных клеток и прилегающих к ней части цитоплазмы, собственно базальную мембрану, разделяющий светлый бесструктурный промежуток, а также субэпидермальное сплетение аргирофильных (ретикулярных) волокон, являющихся частью дермы.

Дерма занимает основной объем кожи, отграничена от эпидермиса базальной мембраной и без резкой границы переходит в подкожную жировую клетчатку. Она построена преимущественно из коллагеновых, а также из эластичных и ретикулярных волокон и основного аморфного вещества. В ней содержатся нервы, кровеносные и лимфатические сосуды, потовые и сальные железы, волосяные фолликулы и различные типы клеток, располагающиеся, как правило, в ее верхних отделах. Среди клеток основную массу составляют фибробласты, а также тучные клетки, гистиоциты (макрофаги), меланоциты и лейкоциты. Общепринято подразделение дермы на сосочковый и сетчатый слои, которые не имеют между собой четкой границы.

Сосочковый слой располагается непосредственно под эпидермисом, состоит из рыхлой волокнистой неоформленной соединительной ткани, выполняющей трофическую функцию. Свое название этот слой получил от многочисленных сосочков, вдающихся в эпителий.

Сетчатый слой образован плотной неоформленной соединительной тканью с мощными пучками коллагеновых волокон и сетью эластических волокон. Пучки коллагеновых волокон проходят в основном в двух направлениях: одни из них лежат параллельно поверхности кожи, другие – косо. Вместе они образуют сеть, строение которой определяется функциональной нагрузкой на кожу. Эластические волокна в основном повторяют ход коллагеновых пучков. Ретикулярные волокна встречаются в небольшом количестве. Они располагаются обычно вокруг кровеносных сосудов и потовых желез. В

большинстве участков кожи человека в ее сетчатом слое располагаются кожные железы – потовые и сальные, а также корни волос.

Основное вещество представляет собой гель или золь, присутствует во всех слоях дермы, но преобладает в сосочковом. Оно является многокомпонентной системой, содержащей вещества, поступающие из крови (вода, неорганические ионы, сахара, белки крови), и продукты метаболизма эпидермальных и дермальных клеток (растворимые белки, протеогликаны и гликопротеины). Благодаря высокой вязкости это вещество участвует в скреплении, «цементировании», волокнистых компонентов дермы [148].

Подкожная клетчатка смягчает действие на кожу различных механических факторов. Кроме того, подкожный слой обеспечивает некоторую подвижность кожи по отношению к нижележащим частям, что в значительной мере предохраняет ее от разрывов и других механических повреждений. Наконец, подкожная клетчатка представляет собой наиболее обширное жировое депо организма, а также обеспечивает его терморегуляцию.

1.4.2. Особенности иммуноморфологии кожи при атопическом дерматите

Кожа больных АД претерпевает ряд значительных изменений и перестает выполнять присущие ей в норме функции. Нарушается барьерная функция кожи, функции потовых и сальных желез и прочее [143, 144].

Диапазон клинических проявлений атопического дерматита может варьировать от ограниченных отечных эритем до выраженных пузырьных и даже некротических изменений, генерализованных эритематозных, папуло-везикулезных и везикулезных сыпей, сопровождающихся зудом различной степени.

При АД наблюдаются несколько видов поражений кожи. Острые поражения характеризуются сильным зудом и папулами на гиперемизированной коже. Они сопровождаются эксфолиациями, эрозиями и серозным экссудатом. При подостром дерматите наблюдается покраснение кожи, эксфолиации

и шелушащиеся папулы. Хронический дерматит характеризуется утолщением кожи, лихенификацией и фиброзными папулами. При всех стадиях АД кожа больного сухая [143, 144, 205, 206]. Однако, основными морфологическими элементами на коже больного АД как обязательный признак выступает эритема и лихенификация. Обычно лихенифицированная кожа представляется утолщенной, грубой на ощупь, кожный рисунок резко выражен. Очаги лихенификации имеют застойную окраску, поверхность их сухая, умеренно шелушится. Вследствие зуда участки лихенификации обычно покрыты большим количеством расчесов, геморрагическими корочками. Очаги поражения располагаются симметрично, имеют нечеткие границы и неправильные очертания. Лихенификация развивается первично, вследствие длительного раздражения кожи при расчесах, либо вторично при слиянии папульных элементов [63, 114].

Гистологическая картина редко бывает специфичной, что затрудняет диагностику, однако преобладание того или иного компонента воспаления может служить отправным пунктом для дифференциальной диагностики atopического дерматита с другими заболеваниями кожи.

Морфологическое описание возможных изменений кожи при АД [114, 144, 145]. Кожа больных АД претерпевает некоторые гистологические изменения. При atopическом дерматите воспалительный процесс развивается в эпидермисе и дерме.

Спонгиоз (вид серозного воспаления) – это межклеточный отек в шиповидном слое. Спонгиоз является вторичным, развивающийся при выраженном процессе экссудации в дерме.

Акантоз – усиленное размножение клеток шиповидного слоя в виде тяжей, погруженных более или менее глубоко в дерму.

Гиперкератоз – утолщение рогового слоя без структурных изменений клеток.

Паракератоз – наличие в роговом слое эпидермиса клеток с палочковидными окрашенными ядрами.

Гистологическая картина зависит от остроты и распространенности поражения кожи.

При ограниченном дерматите обнаруживается различной степени акантоз, папилломатоз. Инфильтрация наблюдается лишь в верхней части дермы и состоит из лимфоцитов с примесью эозинофилов и фибробластов, отмечается фиброз. Участки спонгиоза и внутриклеточного отека встречаются редко.

При диффузном АД в свежих очагах поражения наблюдается акантоз, отек дермы и небольшие периваскулярные инфильтраты из лимфоидных клеток с наличием нейтрофильных гранулоцитов. В более старых очагах отмечается гиперкератоз и паракератоз, иногда спонгиоз, но везикуляций как правило нет. В дерме имеет место расширение капилляров с набуханием эндотелия, вокруг них скопления лимфоидных клеток, гистиоцитов и фибробластов [114, 144, 145].

При атопическом дерматите гистологические изменения регистрируются во всех составляющих кожи.

Клетки Лангерганса (КЛ) – субпопуляция дендритных клеток костно-мозгового происхождения, находящихся в базальном слое эпидермиса и составляющих, по мнению разных авторов, от 2-4% до 3-8% [43, 115]. Клетка имеет 2-5 отростков, проникающих до зернистого слоя и базальной мембраны. Для КЛ весьма характерно наличие особых гранул в форме теннисной ракетки. Из всех эпидермальных клеток они относятся к макрофагально – моноцитарно – гистоцитарной линии и играют центральную роль в инициации иммунного ответа. Это циркулирующие клетки с непродолжительным пребыванием в эпидермисе (примерно 3 недели). Клетки покидают кожу через лимфатические сосуды и мигрируют в лимфатические узлы, где превращаются в дендритные клетки. В эпидермисе человека это единственные

клетки, экспрессирующие молекулы HLA-II класса. Основной функцией КЛ является восприятие антигенных сигналов и представление их ТХ2-лимфоцитам, одновременно продуцируя ИЛ-1, который является необходимым для запуска иммунного ответа. ТХ2-лимфоциты продуцируют ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ-13, которые обеспечивают размножение эозинофилов, тучных клеток, базофилов, В-лимфоцитов, продуцирующих в больших количествах IgE и IgG₄. [13, 15, 43, 115, 128, 227]. Таким образом, КЛ кожи считаются основными клетками, ответственными за IgE-опосредованное накопление аллергенов в коже и их презентацию Т-клеткам.

Лимфоциты. В коже имеются как В-, так и Т-лимфоциты. Установлено, что лимфоциты осуществляют свои функции в коже не как “фиксированные” клетки, а путем постоянной рециркуляции. В интактном эпидермисе обнаруживают лишь незначительное количество лимфоцитов, которое составляет 0,16% всех клеток эпидермиса. Иммуноморфологическими методами установлено, что Т-лимфоциты составляют 90% всех лимфоцитов кожи и располагаются преимущественно в эпидермисе и верхних слоях дермы, незначительная часть В-лимфоцитов встречается в средних и глубоких слоях дермы [114]. Соотношение CD4/CD8 равно 2:1 [66]. В норме только 1-3% лимфоцитов кожи синтезируют ИЛ-4, тогда как 20-40% образуют ИЛ-2 и ИФН- γ . При АД резко нарастает количество ТХ2-типа клеток, а соответственно и выработка ИЛ-4. Под влиянием ИЛ-4 тормозится образование ИЛ-2 и баланс ТХ1/ТХ2 смещается в сторону ТХ2 типа [15]. Тропизм лимфоцитов к коже, миграция в нее Т-клеток памяти и их избирательное накопление в местах присутствия антигена обеспечивается при АД особым Т-клеточным антигеном CLA (cutaneous lymphocyte-associated antigen), определяющий их хоуминг и позволяющий участвовать в формировании локальных кожных реакций [66, 82].

Тучные клетки. Располагаются, в основном, в верхних отделах дермы. Отличительной особенностью этих клеток является наличие многочисленных

крупных гранул, окруженных мембраной. Клетки обычно крупные, округлые или овальные, с небольшим плотным ядром и имеют длинные тонкие выросты цитоплазмы [148].

При АД отмечается увеличение количества тучных клеток в дерме, а также повышенная дегрануляция этих клеток. Индуктором дегрануляции тучных клеток в коже больных АД может служить субстанция Р, нейропептид, выделяемый кожными нервами, что объясняет тесную связь между психическим стрессом и кожным воспалением при АД. Кроме участия в механизмах воспаления и зуда, продукты тучных клеток участвуют в регуляции сдвига Т-клеточного ответа при АД в пользу TH2-клеток. Тучные клетки являются продуцентами ИЛ-4 и TNF- α , которые подавляют наработку ИЛ-2 и ИФН- γ [82].

Таким образом, кожа является высокоорганизованным периферическим органом иммунной системы и обладает необходимым составом ИКК, кооперирующихся между собой как с помощью комплементарных структур на их поверхности, так и при участии регуляторных цитокинов. Это дает возможность коже осуществлять целый ряд важных для организма физиологических функций.

1.5. Классификация атопического дерматита

В настоящее время существует несколько классификаций атопического дерматита. А. Wirter et al. [161] выделили три клинических стадии в зависимости от возраста, времени начала заболевания и течения АД. Если в вышеуказанной классификации представлена в общих чертах эволюция атопического дерматита с возрастом, то в классификации Б.Т. Глухенького и С.А. Грандо [25], из общей эволюционной картины заболевания, выделены его отдельные варианты развития, имеющие клинически очерченные признаки, позволяющие дифференцировать формы АД. Эта классификация охватывает варианты, встречающиеся у детей и взрослых.

Существует еще и классификация АД по Н.П. Тороповой и О.А. Сивянской [126]. Она более подробная и включает в себя варианты атопического дерматита, сочетающиеся с поражением других систем организма.

Также в 1980г. J.Hanitin и G.Rajka предложили диагностические критерии АД: разделив их на 2 группы – обязательные и дополнительные [29, 63, 121].

При характеристике проявлений АД и его тяжести большинство классификаций АД используют текстовое описание симптомов, что существенно затрудняет передачу информации от врача к врачу, объективную оценку эффективности тех или, иных методов лечения и динамический контроль АД.

В настоящее время разработана классификация SCORAD – объективный и стандартный метод оценки поражения кожи при АД [41, 49, 122, 123].

SCORAD включает комплексную оценку трех информационных блоков: распространенность кожных поражений (А), их выраженность, или интенсивность (В) и субъективные симптомы (С):

А. Распространенность оценивается по правилу “девятки”, где за единицу принята площадь ладонной поверхности кисти.

В. Интенсивность клинических проявлений АД оценивается по шести симптомам: эритема, отек/папула, корки/мокнутые, эскориации, лихенификация, сухость кожи. Степень выраженности каждого симптома оценивается по 4-бальной шкале.

С. К субъективным симптомам относят зуд и нарушение сна. Степень выраженности этих симптомов оценивается по 10-бальной шкале.

Расчет индекса SCORAD производится по формуле:

$$A/5 + 7B/2 + C$$

где А – сумма баллов распространенности поражения кожи;

В – сумма баллов интенсивности проявлений симптомов АД;

С – сумма баллов субъективных симптомов.

1.6. Специфическая иммунотерапия больных атопическим дерматитом

1.6.1. Принципы и механизмы специфической иммунотерапии

Специфическая гипосенсибилизирующая терапия (специфическая иммунотерапия – СИТ) составляет прерогативу практической аллергологии. СИТ является единственным примером противоаллергического лечения, воздействующего на все патогенетически значимые звенья аллергического процесса и обладающего длительным профилактическим эффектом после завершения лечебных курсов.

Впервые этот метод был разработан в 1902-1911гг. для лечения поллинозов врачами госпиталя в Лондоне L.Noon и J.Freeman. А уже в 1911г. СИТ была использована в клинической практике для лечения больных аллергией [35].

СИТ является методом патогенетической терапии и его действие направлено на патогенетические звенья аллергического процесса.

СИТ, как известно, состоит во введении в организм больного возрастающих доз аллергена, к которому установлена повышенная чувствительность. Целью данного метода является уменьшение чувствительности к ПЗА, проявляющиеся в уменьшении или в полном отсутствии клинических симптомов при естественной экспозиции аллергена. [31, 35, 95, 101, 129, 130, 142]. Известно множество вариантов выполнения СИТ: классический метод предсезонной гипосенсибилизации; круглогодичная, непрерывная СИТ; ускоренный метод; метод сезонной гипосенсибилизации, молниеносный метод [35, 120, 142].

Целесообразно выделять методы СИТ по способу введения аллергена: оральные, назальные, ингаляционные, подкожные, внутрикожные, аппликационные (кожа и слизистые), введение электрофорезом и комбинированные. По применению СИТ может быть общей и местной (регионарной). Общей СИТ является тогда, когда она воздействует через общую систему иммуните-

та на все ткани и органы, включая шоковые. При местной СИТ аллерген непосредственно контактирует с шоковым органом, оказывая при этом меньшее воздействие на общую систему иммунитета и на организм в целом [101, 142].

Независимо от способа введения и вида аллергена, СИТ начинают с минимальной дозы, определяемой аллергометрическим титрованием. Распространено внутрикожное титрование, при котором определяют минимальное количество аллергена, способного при введении внутрикожно в определенном разведении еще давать аллергическую реакцию, а при последующем разведении – нет. С дозы аллергена, которая первая не вызывает аллергической реакции, обычно начинают специфическое лечение. [101, 142].

Показаниями для проведения СИТ являются:

- невозможность элиминации этиологически-значимого аллергена;
- наличие подтверждения IgE-зависимой гиперчувствительности больного к специфическому аллергену (аллергологический анамнез, кожные пробы, определение общего и специфического IgE).

Существуют противопоказания для проведения СИТ: декомпенсированные сердечно–сосудистые заболевания, заболевания печени, почек, крови; беременность и период лактации; психические заболевания; острые интеркуррентные инфекции (ангина, грипп и т.д.); злокачественные и доброкачественные новообразования; аутоиммунные заболевания. Перед проведением СИТ осуществляют объективные исследования состояния больного, анализируются дневники и анкеты, проводится контроль окружающих аллергенов [10, 120, 142]. Терапевтический эффект СИТ обусловлен в первую очередь изменениями в иммунном ответе. В общем, основная задача СИТ состоит в переводе организма из категории высокореагирующего на данный аллерген в категорию низкореагирующего, т.е. в коррекции иммунного ответа на конкретный аллерген. Механизмы специфической иммунотерапии до конца не

ясны, и, исходя из существующих сведений, можно предположить следующие патогенетические механизмы СИТ [40].

Впервые попытка изучить механизмы СИТ была предпринята в 1935 году. В течение длительного периода времени доминирующей теорией иммунологических механизмов СИТ оставалась теория «блокирующих» антител. Эта теория предполагает, что основным механизмом СИТ состоит в перестройке иммунного ответа на действие аллергена, заключающейся в образовании так называемых «блокирующих» антител, принадлежащих к IgG и лишенных способности сенсibilизировать ткани, но обладающих аллергенсвязывающей активностью, за счет чего они уменьшают вероятность взаимодействия аллергена с IgE-антителами [34, 40, 81, 120, 142].

В последние годы накоплены сведения, указывающие на то, что СИТ, сопровождающаяся выраженным клиническим улучшением состояния пациентов, характеризуется угнетением вовлечения в аллергическую реакцию тех клеточных единиц, которые опосредуют эффекторную стадию аллергии. Так, в тканях после СИТ уменьшается содержание тучных клеток, угнетается накопление клеток воспаления (эозинофилов, нейтрофилов), тормозится высвобождаемость медиаторов из клеток-мишеней аллергических реакций I типа (тучных клеток, базофилов)[40, 142].

Действие СИТ охватывает также и лимфоидные клетки. Согласно данным современных исследований, терапевтический эффект СИТ обусловлен изменениями в иммунной системе, которые связаны с преимущественным блокированием TH2-ответа, а следовательно уменьшением выработки ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ-13, ответственных за развитие АД. В то же время происходит активация TH1-ответа, в результате которой происходит увеличение выработки ИЛ-2 и ИФН- γ . Итогом подобных изменений в иммунной системе является смещение соотношения TH2/TH1 в сторону TH1-типа [40, 142].

1.6.2. Определение содержания цитокинов ИЛ-2 и ИФН- γ , как метод оценки эффективности СИТ

ИЛ-2 и ИФН- γ - являются ключевыми цитокинами для ТХ1-типа.

Цитокины – биологически активные вещества пептидной природы, вырабатываемые клетками иммунной системы и являющиеся одновременно и продуктами жизнедеятельности этой системы, и ее основными регуляторами. В настоящее время по своим функциональным свойствам цитокины подразделяются на следующие группы:

1. Цитокины – медиаторы естественного иммунитета. К ним относятся интерфероны I типа (ИФН- α , ИФН- β), фактор некроза опухолей (TNF), интерлейкин 1 (ИЛ-1) и интерлейкин 6 (ИЛ-6).
2. Цитокины, регулирующие рост, дифференцировку и активацию лимфоцитов: интерлейкин 2 (ИЛ-2), интерлейкин 4 (ИЛ-4), трансформирующий фактор роста β (TGF- β).
3. Цитокины, активирующие эффекторную фазу клеточно-опосредованного иммунного ответа: интерферон- γ (ИФН- γ), лимфотоксин, интерлейкин-5 (ИЛ-5).
4. Цитокины – стимуляторы гемопоэза: колониестимулирующие факторы, интерлейкин 3 (ИЛ-3) и интерлейкин 7 (ИЛ-7) [91].

Рассмотрим подробно строение и функции ИЛ-2 и ИФН- γ .

Впервые в 1975г. был описан ИЛ-2. ИЛ-2 синтезируется в виде предшественника, состоящего из 153 аминокислотных остатков. Зрелая секретруемая молекула ИЛ-2 состоит из 133 аминокислотных остатков, с молекулярной массой 15000 Д. ИЛ-2 имеет глобулярное строение. Ген ИЛ-2 человека находится в составе хромосомы 4q [23, 83, 111, 139].

Клетками – продуцентами ИЛ-2 являются активированные Т-лимфоциты. Большинство клеток-продуцентов ИЛ-2 у человека принадлежат к популяции CD4⁺, но CD8⁺ Т-клетки также способны его продуцировать [23,

111, 154]. 75% активированных $CD4^+$ Т-клеток являются продуцентами ИЛ-2, а среди $CD8^+$ – 15%. В присутствии митогенов обе субпопуляции ТХ экспрессируют рецепторы к ИЛ-2 и пролиферируют при добавлении экзогенного ИЛ-2. ИЛ-2 взаимодействует со специфическими мембранными рецепторами экспрессирующимися на Т0 и В-лимфоцитах, НК-клетках и моноцитах/макрофагах. Рецептор к ИЛ-2 (ИЛ-2R) не только экспрессируется на клеточной поверхности, но и секретируется во внешнюю среду, образуя растворимую форму, способную ингибировать ответ на ИЛ-2, конкурируя за него с мембранным ИЛ-2 R [23, 60].

В настоящее время считается, что рецепторный комплекс ИЛ-2 состоит из трех субъединиц, представляющих собой полипептиды разного размера и обозначаемых как α - , β - , γ - цепи. α -цепь (CD25) с молекулярной массой 55кД связывает лиганд, а β -цепь (CD125) с молекулярной массой 70-75кД и γ -цепь (CD132) с молекулярной массой 65кД обеспечивают проведение сигнала [23, 111, 139].

ИЛ-2 является основным ростовым фактором для Т-лимфоцитов [23, 83, 111, 139, 182, 200]. Однако, клетками-мишенями для ИЛ-2 могут быть и В-лимфоциты, НК-клетки, моноциты. В Т-лимфоцитах ИЛ-2 стимулирует продукцию самого ИЛ-2 и усиливает цитотоксические свойства, т.е. происходит развитие иммунного ответа в сторону ТХ1-типа, что необходимо для предотвращения гиперреактивности иммунной системы при АД. Активация же ТХ1-типа ведет к повышенной наработке ИЛ-2 и ИФН- γ , которые подавляют синтез ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, что приводит к уменьшению гиперпродукции IgE [36, 76, 111]. В НК-клетках ИЛ-2 стимулирует противоопухолевую активность, в моноцитах – продукцию провоспалительных цитокинов, фагоцитоз и бактерицидность.

ИФН- γ – это полипептид из 143 остатков аминокислот, мономер. Продуцируется ИФН- γ Т-лимфоцитами, НК-клетками. Индуктором его синтеза являются АГ и митогены. Рецептор для ИФН- γ , мембранная молекула CD

119, состоит из α - и β - цепей. ИФН- γ – это важнейший цитокин активации макрофагов, стимулирует фагоцитоз, активирует НК-клетки к осуществлению ими цитолиза клеток мишеней. Также ИФН- γ осуществляет широкие иммунорегуляторные функции – повышает и понижает антителообразование, стимулирует реакции клеточного иммунитета, отторжение трансплантантов. ИФН- γ способен тормозить эффект ИЛ-4 на В-лимфоциты, что в свою очередь приводит к торможению секреции IgE и экспрессии F_{CE}RII (рецептор к IgE низкого сродства) [51, 139, 141].

ИЛ-2 и ИФН- γ являются характерными цитокинами ТХ1-клеток. При atopическом дерматите наблюдается дефект ТХ1-клеток на количественном и функциональном уровнях, а также преобладание активности ТХ2-клеток [33, 34, 39].

Как известно, действие СИТ охватывает также и лимфоидные клетки. Данные исследований последних лет подтверждают сведения о том, что СИТ сопровождается угнетением вызванного специфическим аллергеном пролиферативного ответа лимфоидных клеток периферической крови [35]. Торможение аллерген – специфической пролиферации Т-лимфоцитов выявляется на 15-90 день после проведения ускоренного курса СИТ. В эти же сроки уменьшается число клеток, экспрессирующих мРНК ИФН- γ , спонтанно и при стимуляции аллергеном *in vitro*, у больных до СИТ оказывается меньше, чем у контрольных лиц. После СИТ спонтанная экспрессия мРНК ИФН- γ возрастает только к 90 дню. В итоге к 90 дню наработка ИФН- γ оказывается сходной с таковой у практически здоровых лиц [158]. Все это свидетельствует о перестройке клеточного и цитокинового ответа на аллергенную нагрузку в ходе СИТ. Эти результаты принципиально совпадают с ранее полученными сведениями о переключении в ходе СИТ ТХ2-ответа на ТХ1-ответ. Не менее чем у 50% лиц с успешной СИТ возникало существенное увеличение экспрессии мРНК ИЛ-2, т.е. маркера, характерного для ТХ1-клеток, участвующей

щих в запуске и поддержании продукции IgG-антител, которые относятся к блокирующим антителам [35].

Таким образом, определение уровня ИЛ-2 и ИФН- γ в сыворотке крови и культуральной жидкости можно использовать в качестве критерия оценки эффективности СИТ и активности аллергического процесса у пациентов с атопическим дерматитом.

Глава 2. Материалы и методы исследования

2.1. Характеристика объекта клинико-иммунологических исследований

Под наблюдением находились 81 человек (мужчины и женщины) в возрасте от 15 до 50 лет с атопическим дерматитом и 30 здоровых добровольцев в возрасте от 20 до 22 лет. Все пациенты находились на стационарном лечении и под диспансерным наблюдением в ООО «Центре иммунопатологии» г.Томска (2000-2002 гг.). Диагноз устанавливался согласно общепринятым критериям патологии (жалобы, анамнез данного заболевания, аллергологические пробы, отягощенный наследственный анамнез).

Контрольную группу составили 30 студентов медико-биологического факультета СибГМУ. Они не имели отягощенного семейного, аллергологического и иммунологического анамнеза. При проведении аллергологического тестирования у лиц, вошедших в контрольную группу, не выявлено сенсибилизации к бытовым, эпидермальным, пыльцевым и пищевым аллергенам. Показатели иммунитета соответствовали возрастной и региональной норме. Иммунологическое обследование пациентов с АД проводили в период обострения, ремиссии до проведения специфической иммунотерапии ПЗА согласно спектру сенсибилизации, и на этапах проведения СИТ (на 30 сутки после введения максимальной дозы причинно-значимого аллергена). Данные распределения пациентов с АД по полу и длительности заболевания представлены в табл. 1.

Таблица 1

Распределение пациентов с атопическим дерматитом по длительности заболевания и полу

Пол	Продолжительность заболевания				Всего
	1 – 3 года	3 – 5 лет	5 – 10 лет	Свыше 10 лет	
Мужчины	5	1	1	16	23
Женщины	15	4	3	36	58

Как видно из табл. 1 АД был у 71,6% женщин и только у 28,4% мужчин.

2.2. Методы исследования

В качестве основных биологических материалов для исследования служили венозная кровь, культуральная жидкость, полученная при культивировании лимфоцитов периферической крови в реакции бласттрансформации (РБТЛ) на третий день инкубации, биоптаты кожи.

Иммунологические исследования включали расширенный набор тестов I уровня, а также некоторые методы II уровня. Проводили оценку сывороточных показателей (IgM, IgG, IgA, IgE, ЦИК), содержания Т-лимфоцитов (CD3) и В-лимфоцитов (CD22). Определяли уровни некоторых субпопуляций Т-лимфоцитов (CD4, CD8), а также костимулирующей молекулы CD28. Проводили НСТ-тест с нейтрофилами в спонтанном и стимулированном вариантах.

Были исследованы показатели РБТЛ в двух модификациях (спонтанной, стимулированной ФГА) с определением содержания ИЛ-2 и ИФН- γ в культуральной жидкости.

Оценивали изменения в биоптатах кожи.

Достоверность различий полученных данных оценивали при помощи критериев Манна-Уитни и X-критерия Вандер-Вардена для связанных групп. Корреляцию признаков оценивали с помощью коэффициента корреляции рангов по Спирмену [68, 117].

2.2.1. Гистологическое исследование кожи

Получение материала: Нами было исследовано 20 биоптатов от 20 пациентов с АД, из них 16 женщин и 4 мужчины, и 10 биоптатов от 10 здоровых добровольцев (5 женщин и 5 мужчин). Возраст пациентов и здоровых добровольцев колебался от 20 до 22 лет. Материал для исследования получа-

ли путем введения в верхнюю часть предплечья пациентам с АД и здоровым добровольцам подкожно 0,5мл 0,5% новокаина (до появления «лимонной корочки»), а затем через 10 минут проводили иссечение участка кожи 5x5 мм² при помощи глазных ножниц.

Получение гистологических срезов.

Гистологическую обработку исследуемого материала проводили по стандартной методике, которая включала в себя фиксацию биоптатов в 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 ч; промывание в проточной воде в течение 24 ч; дегидратацию биоптатов в этаноле восходящей концентрации по 24 ч; последовательное пропитывание материала в двух порциях хлороформа по 12 ч в каждой; пропитывание материала в насыщенном растворе парафина в хлороформе в течение 7 суток при 37⁰С; пропитывание материала первой порцией парафина при 37⁰С; заливку материала второй порцией парафина при 56⁰С; вырезание парафиновых блоков и их наклеивание на деревянные заготовки. Затем приготавливали срезы толщиной 5-7мкм при помощи санного микротомы МС-2. Для дальнейшего гистологического исследования полученные срезы депарафинизировали и «доводили до воды», а затем окрашивали.

Определение толщины слоев эпидермиса. Депарафинированные срезы окрашивали гематоксилином Эрлиха и 0,1% водным раствором эозина по стандартной методике [77, 109]. На окрашенных срезах проводили измерение толщины слоев эпидермиса при помощи объект-микрометра в 5 полях зрения каждого среза (увеличение х630) [1].

Исследование морфологии тучных клеток и эозинофилов в эпидермисе проводили с помощью сочетанной окраски гистологических препаратов основным коричневым и прочным зеленым по методу В.Ю. Голофеевского, С.Г. Щербака [26]. Депарафинированные срезы окрашивали 0,5-1% раствором основного коричневого на спиртово-солянокислом растворе (4:1) при 37⁰С в течение 40-60 минут и обезвоживали в 70% этаноле. Далее окрашива-

ли 0,1% спиртовым раствором прочного зеленого (рН 8,1-8,2) при 22-26⁰С в течение 15-25 минут. Промывали дистиллированной водой и проводили дегидратацию 96% этиловым спиртом в течение 2-3 минут. Просветляли ксилолом в течение 10-15 минут и заключали в бальзам.

Тучные клетки представляли собой крупные клетки с коричневой зернистостью (гранулами) в цитоплазме. Эозинофилы окрашивались в зеленый цвет и имели характерную морфологию со специфической фиолетовой зернистостью в цитоплазме. Подсчитывали эозинофилы и тучные клетки в 10 полях зрения (увеличение х630). Проводили перерасчет на площадь среза в мм². В популяции тучных клеток определяли количество недегранулированных клеток, частично дегранулированных и клеток с единичными гранулами.

Подсчет митозов в базальном слое эпидермиса. Депарафинированные срезы окрашивали по А.Браше в модификации G.Kurnik [150]. Срезы окрашивали в смеси метилового зеленого и пиронина при 18-24⁰С в течение 6 минут. Смесь готовили предварительно: 12,5мл 2% пиронина GS, 7,5мл 2% метилового зеленого и 30мл дистиллированной воды. Затем подсушивали фильтровальной бумагой, с дальнейшей дифференцировкой срезов в двух порциях бутанола по 5 минут. После чего гистологические срезы помещали по очереди в три порции ксилола по 5 минут, затем заключали в бальзам. Учет результатов проводили при помощи светового микроскопа (увеличение х630). Подсчет митозов осуществляли в базальном слое эпидермиса на 1000 клеток.

Исследование количества В-лимфоцитов и плазматических клеток в эпидермисе проводилось в гистологических срезах, окрашенных по А.Браше [150]. Подсчет проводили в 10 полях зрения (увеличение х630), с последующим перерасчетом на площадь среза в мм².

В-лимфоциты имели розовую цитоплазму и сине-зеленое ядро.

2.2.2. Определение сывороточных показателей, параметров лимфоцитарной системы и реактивности нейтрофилов

Определение иммуноглобулинов методом радиальной иммунодиффузии в геле по G.Mancini [49]. Содержание иммуноглобулинов классов М, G, А определяли методом радиальной иммунодиффузии в агаре “Difko” (Германия) с использованием моноспецифических антисывороток к F_c-фрагментам IgM, G, А.

Использовали реактивы НИИВС им. Мечникова (г. Москва) и НИИЭМ (г. Горький).

Определение содержания циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) [69,80]. Содержание общей фракции ЦИК определяли методом иммунопреципитации в 3,75% растворе полиэтиленгликоля 6000 (“Serva”) в баратном буфере рН 8,4.

Определение содержания общего IgE [92]. Содержание общего IgE определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием набора НИИВС (г. Ставрополь). Используемый твердофазный метод иммуноанализа основан на принципе “сэндвича”. Анализ проводили в две стадии. На первой калибровочные пробы с известной концентрацией IgE и исследуемые образцы инкубировали в лунках стрипированного планшета с иммобилизованными моноклональными антителами (МКАТ) к IgE. Затем планшет отмывали. На второй стадии связавшийся в лунках IgE обрабатывали конъюгатом МКАТ к IgE с пероксидазой (конъюгат МКАТ и иммобилизованные в лунках планшета МКАТ специфичны к разным участкам молекулы IgE). Затем отмывали избыток конъюгата. Образовавшиеся иммунные комплексы “иммобилизованные МКАТ – IgE-конъюгат” выявляли ферментативной реакцией пероксидазы с перекисью водорода в присутствии хромогена (ортофенилендиамина). Интенсивность окраски хромогена пропорциональна концентрации IgE в анализируемом образце.

После остановки пероксидазной реакции стоп-реагентом (2н. серной кислотой) результаты учитывали фотометрически.

НСТ-тест [57, 69, 80]. В основе НСТ-теста – бессубстратное восстановление нитросинего тетразолия (НСТ) активными формами кислорода (свободные радикалы и H_2O_2). Взаимодействуя с активированными метаболитами нейтрофилов, НСТ восстанавливается в диформаза, который в виде грубодисперсных темно-синих гранул откладывается внутри или на поверхности клеток. НСТ-тест проводили в двух вариантах: спонтанном и стимулированном.

В качестве стимулятора НСТ-теста использовали раствор пирогенала (25МПД/мл).

Определение CD3,4,8,22,28 лимфоцитов с помощью моноклональных антител в лимфоцитотоксическом тесте [49]. Метод основан на способности мышиных моноклональных антител и комплемента оказывать цитотоксическое воздействие на соответствующие субпопуляции лимфоцитов, что выявляется с помощью красителя. Получение суспензии лимфоцитов: периферическую венозную кровь в количестве 5-6 мл смешивали с 1 мл гепарина (25 ЕД/мл). В центрифужную пробирку наливали 2-3 мл смеси фиколл-верографин: 12 частей фиколла + 5 частей 33,9% верографина ($\rho=1,077 \text{ г/см}^3$). На раствор фиколл-верографин наслаивали 4 мл цельной крови пастеровской пипеткой в соотношении 1:2, 1:4. Центрифугировали 30-40 мин при 1500-1800 об/мин. Слой лимфоцитов в виде полосы белого цвета над сепарирующим раствором удаляли пастеровской пипеткой и трижды отмывали средой 199 или раствором Хенкса по 10 мин при 1000 об/мин. К осадку добавляли 1 мл среды и ресуспендировали. Устанавливали плотность суспензии, равную 2×10^6 кл/мл. Определение субпопуляции лимфоцитов: полученную лимфовзвесь в количестве 40 мкл смешивали с 10 мкл моноклональных антител (“Диагнотекс”, “Сорбент”, г.Москва) в разведении 1:200 и инкубировали 40 мин при комнатной температуре, центри-

фугировали при 2000 об/мин в течение 5 мин. Затем добавляли 50 мкл компонента (источник компонента – сыворотка не менее 4 кроликов) и инкубировали 1,5 часа при комнатной температуре. После окончания инкубации добавляли 20 мкл 2% эозина, делали препарат “раздавленная капля” и подсчитывали 100 клеток, при этом определяли процент окрашенных клеток (мёртвых).

2.2.3. Постановка реакции бласттрансформации лимфоцитов [17, 99, 113]

Принцип метода: под влиянием неспецифических и специфических стимулов лимфоциты превращаются в бласты - большие пиронинофильные клетки, способные к пролиферации и дальнейшей дифференцировке, что приводит к увеличению в лимфоидной ткани количества реагирующих клеток. Это явление называют бласттрансформацией, которая постоянно наблюдается в лимфоидных тканях в результате антигенной стимуляции. ФГА вызывает трансформацию Т-лимфоцитов в бласты в культуре клеток.

В стерильную пробирку наливали 0,5 мл раствора гепарина, содержащего 50 ЕД/мл. Кровь брали из вены в количестве 2 мл. Подготовка питательной среды. Стерильно во флакон со средой 199 вводили растворы пенициллина и стрептомицина из расчета 100 Ед/мл каждого антибиотика. Флакон встряхивали и помещали в холодильник. Разведение ФГА. ФГА использовали фирмы “Difko” (Германия) в концентрации 0,1 мг/мл. Постановка реакции. В стерильные флаконы наливали по 2 мл среды 199 с антибиотиком. Готовили 2-3 флакона спонтанной РБТЛ, 2-3 флакона с ФГА. Во все флаконы вносили по 0,2 мл крови. Флаконы помещали на 3 суток в термостат при 37⁰С. Каждый день флаконы встряхивали. Затем содержимое флакона переливали в центрифужную пробирку и центрифугировали 5 мин. при 3 000 об/мин. Супернатант замораживали для дальнейшего определения цитокинов, осадок ресуспензировали воздухом и готовили по 2 мазка на каждый флакон. Мазки фиксировали, окрашивали азури-эозином по методу Романовского. Учет реакции бласттрансформации лимфоцитов. Мазки микроскопи-

ровали под иммерсионным объективом 90. Подсчет процента бласттрансформации лимфоцитов производили следующим образом: на общее количество лимфоцитов (100 клеток) подсчитывали количество средних лимфоцитов и бластов. Результат РБТЛ выражали в процентах бласттрансформации. Реакция была использована в следующих модификациях: РБТЛ спонтанная; РБТЛ, стимулированная ФГА.

2.2.4. Определение содержания ИЛ-2 и ИФН- γ [49, 92]

Принцип метода: Использовали наборы ProConII-2, ProConINF- γ (г. С.-Петербург) для измерения содержания ИФН- γ и ИЛ-2 человека в сыворотке и супернатантах. Метод основан на твердофазном иммуноферментном анализе с применением пероксидазы хрена в качестве индикаторного фермента. Один тип антител иммобилизовали на внутренних поверхностях ячеек планшетов для микротитрования. Другой тип моноклональных антител к независимому эпитопу молекулы ИЛ-2 (ИФН- γ) находился в наборе в виде конъюгата с биотином. Индикаторным компонентом являлся конъюгат пероксидазы хрена со стрептавидином, имеющим очень высокое сродство к биотину.

Порядок работы. Дважды промывали лунки буфером В для промывки по 300 мкл в каждую лунку. В ячейки планшета вносили по 100 мкл стандартов ИФН- γ , ИЛ-2. В оставшиеся ячейки микропланшета вносили по 50 мкл буфера В и исследуемые образцы в объеме 50 мкл. Инкубировали 1,5 часа при температуре +18-+20⁰С. Удаляли жидкость из ячеек и трижды промывали их буфером В (300 мкл на 1 ячейку). Вносили в каждую лунку по 10 мкл раствора вторых антител. Инкубировали 1,5 часа при температуре +18-+20⁰С. Трижды промывали ячейки буфером В. Вносили по 100 мкл раствора конъюгата стрептавидина с пероксидазой хрена в каждую ячейку микропланшета. Инкубировали 1 час при температуре +18-+20⁰С. За 10-15 мин до окончания инкубации приготовили раствор субстрата с красителем. Трижды промывали ячейки буфером В. Дважды промывали ячейки планшета струей дистиллиро-

ванной воды. Вносили во все лунки по 100 мкл раствора субстрата с красителем. Инкубировали стрипы 5-10 минут при комнатной температуре в защищенном от прямых солнечных лучей месте на шейкере. Наблюдали развитие голубой окраски. Остановили реакцию добавлением 50 мкл раствора серной кислоты в каждую лунку. Производили учет результатов с использованием ручного фотометра для микропланшетов при длине волны 450 нм, устанавливая нулевое поглощение по лунке со стандартом 0. Строили калибровочную кривую “оптическая плотность/концентрация”, пользуясь данными по концентрациям, указанным для растворов стандартов. Определяли графически концентрацию ИЛ-2 (ИФН- γ) в образцах.

Глава 3. Гистологическая оценка состояния кожи у пациентов с атопическим дерматитом

Все пациенты с атопическим дерматитом находились в состоянии ремиссии и были разделены нами на 2 группы:

1. В первую группу вошли 11 пациентов с атопическим дерматитом (из них 9 женщин и 2 мужчин), у которых воспалительный процесс локализовался и визуализировался далеко от места взятия биоптата (лицо, шея, живот, спина), или вообще никак не проявлялся на коже на момент исследования.
2. Вторую группу составили пациенты, у которых иссечение кожи проводилось из участка, близко расположенного к очагу хронического воспалительного процесса. Эту группу составили 9 человек (из них 6 женщин и 3 мужчин). У всех этих пациентов отмечались очаги лихенификации в локтевых сгибах и подколенных ямках. Лихенифицированная кожа была утолщенной, грубой на ощупь, кожный рисунок был резко выражен. Поверхность очагов лихенификации была сухая.

На срезах, окрашенных гематоксилином-эозином, мы проводили измерение толщины слоев эпидермиса при помощи объект-микрометра [1] в 5 полях зрения каждого среза (увеличение $\times 630$).

Исследование морфологии тучных клеток и эозинофилов в эпидермисе осуществляли с помощью сочетанной окраски гистологических препаратов основным коричневым и прочным зеленым по методу В.Ю. Голофеевского, С.Г. Щербака [26]. Подсчитывали эозинофилы и тучные клетки в 10 полях зрения (увеличение $\times 630$). Проводили перерасчет на площадь среза в мм^2 . В популяции тучных клеток определяли количество недегранулированных клеток, частично дегранулированных и клеток с единичными гранулами (дегранулированных).

На срезах, окрашенных по А.Браше [150], производили подсчет В-лимфоцитов и плазматических клеток в 10 полях зрения (увеличение $\times 630$), с

последующим перерасчетом на площадь среза в мм^2 . Подсчет количества митозов в клетках базального слоя эпидермиса проводили на 1000 клеток слоя.

Результаты измерения толщины слоев эпидермиса представлены в табл. 2. Нами выявлены достоверное ($p < 0,05$) увеличение толщины рогового слоя у всех пациентов с АД ($0,0179 \pm 0,0052 \text{мм}$) по сравнению с группой здоровых добровольцев ($0,0089 \pm 0,0035 \text{мм}$), а также достоверное ($p < 0,05$) уменьшение высоты клеток базального слоя у пациентов ($0,0148 \pm 0,0015 \text{мм}$) по сравнению с контрольной группой ($0,0187 \pm 0,0019 \text{мм}$). Каких-либо различий в толщине зернистого и шиповидного слоев у всей группы пациентов с АД ($n=20$) нами не отмечались и полученные значения не отличались от таковых в контрольной группе (табл. 2).

Утолщение рогового слоя без структурных изменений клеток названо гиперкератозом [114,143,144]. Изменения в роговом слое вероятно приводят к увеличению трансэпидермальной потери влаги, что ведет к сухости кожи, которая наблюдалась у 90% пациентов с атопическим дерматитом.

Надо отметить, что ряд авторов, изучая морфологию кожи у больных АД, обнаружили не только признаки гиперкератоза, но и акантоз с паракератозом [62, 65, 67, 114, 143, 144]. Акантоз – усиленно размножение клеток шиповидного слоя в виде тяжей, погруженных более или менее глубоко в дерму, паракератоз - наличие в роговом слое эпидермиса клеток с палочковидными ядрами на фоне отсутствия зернистого и элеидинового слоев. Нами акантоз был выявлен у 4 пациентов из 20 с атопическим дерматитом, а паракератоз вообще не наблюдался (табл. 2).

Результаты оценки толщины слоев эпидермиса кожи у пациентов с атопическим дерматитом в зависимости от локализации воспалительного процесса на коже представлены в таблице 3. Как видно из данной таблицы, отмечалось достоверное ($p < 0,05$) увеличение толщины рогового слоя по сравнению с группой контроля ($0,0089 \pm 0,0035 \text{мм}$) как у больных I группы

Толщина слоев эпидермиса у пациентов с атопическим дерматитом ($\bar{X} \pm m$)

Группы обследованных	Роговой (мм)	Зернистый (мм)	Шиповидный (мм)	Базальный (мм)
Контрольная группа, n=10	0,0089 ± 0,0035	0,0028 ± 0,0009	0,0249 ± 0,0044	0,0187 ± 0,0019
Пациенты с АД, n=20	0,0179 ± 0,0052 p ₁ < 0,05	0,0029 ± 0,0010	0,0242 ± 0,0069	0,0148 ± 0,0015 p ₁ < 0,05

Примечание. Здесь и в табл. 3,4,7,8,10-18: n – число вариантов в группах, p₁ – достоверность различий показателей у больных с АД по сравнению с показателями в группе контроля

**Толщина слоев эпидермиса кожи у пациентов
с атопическим дерматитом в зависимости локализации воспалительного процесса на коже ($\bar{X} \pm m$)**

Группы обследованных	Роговой (мм)	Зернистый (мм)	Шиповидный (мм)	Базальный (мм)
Контрольная группа, n=10	0,0089 ± 0,0035	0,0028 ± 0,0009	0,0249 ± 0,0044	0,0187 ± 0,0019
I группа пациентов с АД, n = 11	0,0175 ± 0,0042 $p_1 < 0,05$	0,0032 ± 0,0009	0,0243 ± 0,0056	0,0165 ± 0,0024
II группа пациентов с АД, n = 9	0,0185 ± 0,0034 $p_1 < 0,05$	0,0025 ± 0,0009	0,0231 ± 0,0046	0,0136 ± 0,0028 $p_1 < 0,05$

($0,0175 \pm 0,0042$ мм), так и II группы ($0,0185 \pm 0,0034$ мм). Вместе с тем, достоверных различий изучаемых показателей между пациентами первой и второй групп не наблюдалось, а регистрировалась только тенденция к увеличению рогового слоя у пациентов II группы по сравнению с I группой.

Толщина зернистого слоя эпидермиса у пациентов в первой группе ($0,0032 \pm 0,0009$ мм) достоверных различий не имела как по сравнению со второй группой ($0,0025 \pm 0,0009$ мм), так и по сравнению с контролем ($0,0028 \pm 0,0009$ мм) (табл.3).

Значения, полученные при измерении толщины шиповидного слоя эпидермиса у больных АД в I и II группе, достоверных различий по сравнению с группой контроля не имели, а характеризовались лишь тенденцией к уменьшению (контрольная группа – $0,0249 \pm 0,0044$ мм; I группа – $0,0243 \pm 0,0056$ мм); II группа – $0,0231 \pm 0,0046$ мм).

Высота клеток базального слоя эпидермиса у пациентов с АД I группы ($0,0165 \pm 0,0024$ мм) достоверных различий по сравнению с группой здоровых добровольцев ($0,0183 \pm 0,0035$ мм) не имела. При сравнении этого показателя у лиц II группы ($0,0136 \pm 0,0028$ мм) отмечалось достоверное ($p < 0,05$) уменьшение высоты клеток базального слоя по сравнению с группой контроля (табл.3).

Полученные данные говорят о том, что даже при отсутствии видимых изменений кожа больных АД характеризуется патогистологическими изменениями, а именно гиперкератозом и некоторой тенденцией к паракератозу, особенно четко проявляющейся у больных АД II группы.

На рис.3, 4, 5 представлены гистологические изменения эпидермиса у пациентов с АД.

Данные подсчета митозов на 1000 клеток базального слоя представлены в таблице 4. Как видно из таблицы, регистрировались достоверные ($p < 0,05$) различия между контрольной группой ($0,30 \pm 0,05$) и пациентами с

АД ($3,15 \pm 0,63$), что является одним из морфологических проявлений акантоза.

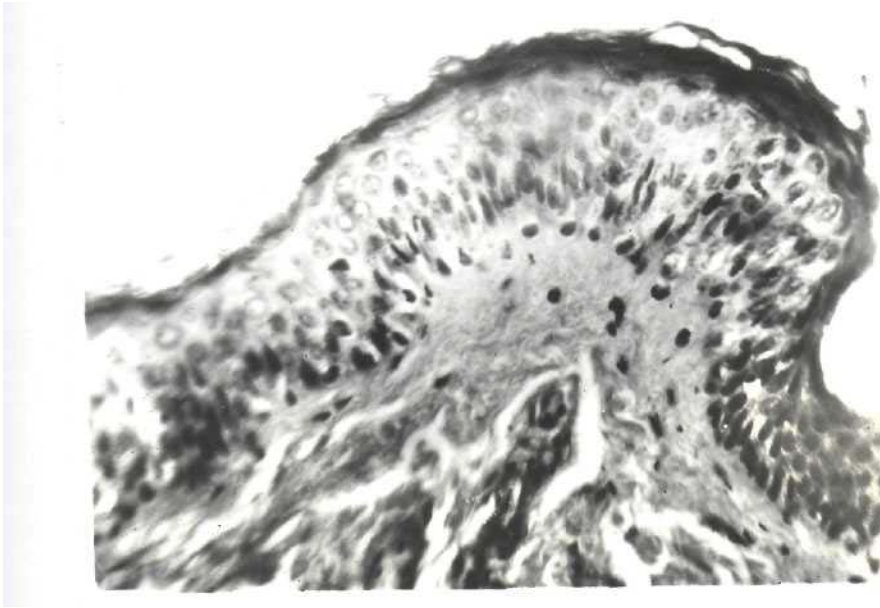


Рис.3. Участок кожи тыльной стороны предплечья здорового добровольца. Окраска гематоксилин-эозин. $\times 120$

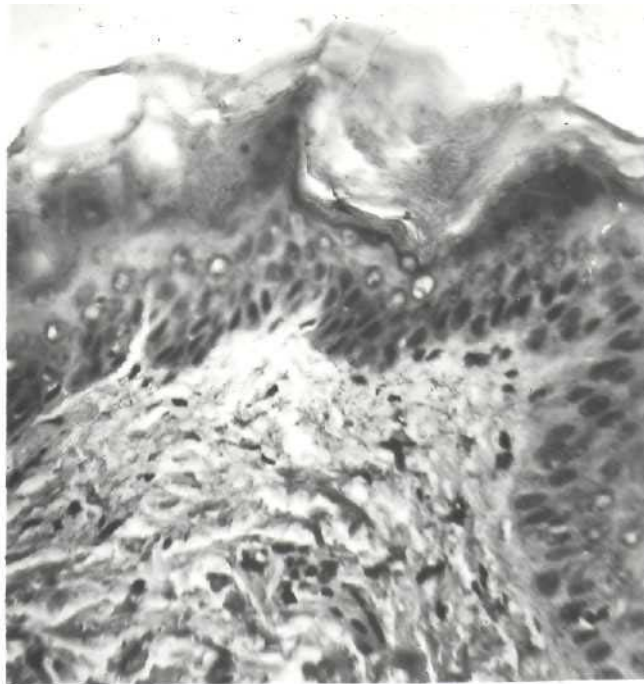


Рис.4. Участок кожи тыльной стороны предплечья больного атопическим дерматитом. Гиперкератоз. Окраска гематоксилин-эозин. $\times 120$

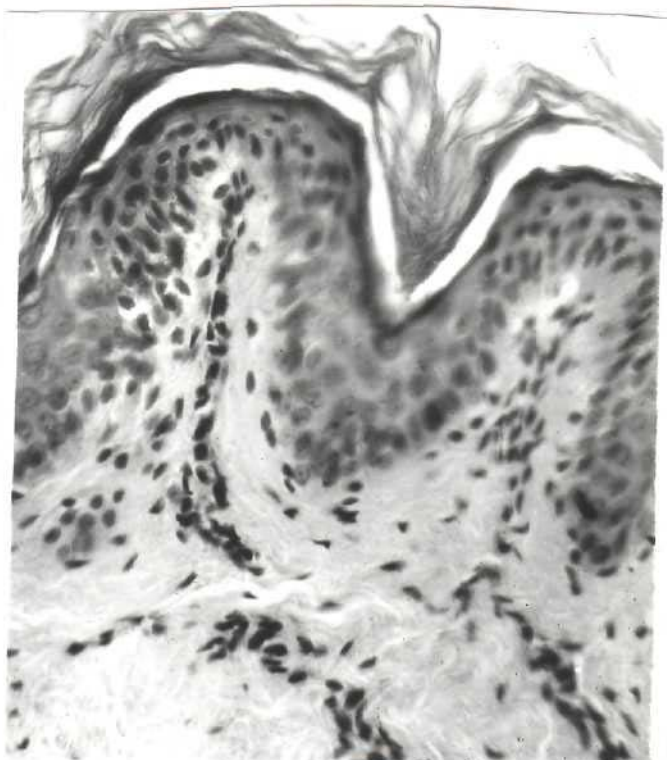


Рис.5. Участок кожи тыльной стороны предплечья больного атопическим дерматитом. Акантоз и гиперкератоз. Окраска гематоксилин-эозин. x120

Таблица 4

Количество митозов эпидермоцитов в базальном слое эпидермиса у пациентов с атопическим дерматитом ($\bar{X} \pm m$)

Группы обследованных	Количество митозов/1000 клеток базального слоя
Контрольная группа, n=10	0,30±0,05
Пациенты с АД, n=20	3,15±0,63 p ₁ <0,05

То, что кожа является защитной оболочкой человеческого организма известно давно. Однако, только в 80-е годы XX века было доказано, что она служит не только местом реализации иммунологических процессов, но и ак-

тивно участвует в них, выполняя одновременно роль центрального и периферического органа иммуногенеза [64, 148]. Сведений о механизмах иммунного ответа на уровне целого организма в настоящее время накоплено более чем достаточно. Значительно меньше данных о морфологических проявлениях этой реакции организма в коже. Причем большинство из них относятся к гуморальным реакциям, в частности, фиксации иммунных комплексов в коже при различных кожных заболеваниях. Что касается роли эпидермиса в иммунных реакциях кожи, то она пока мало изучена.

В клинике дерматологии Уральского НИИ дерматовенерологии и иммунопатологии в течение ряда лет проводился клинико-лабораторный мониторинг группы больных атопическим дерматитом [67]. Ученые этого НИИ обнаружили, что в эпидермисе кожи больных АД в очагах лихенификации отмечается утолщение рогового слоя эпидермиса – гиперкератоз, нарушение процессов ороговения – паракератоз, утолщение эпидермиса с удлинением межсосочковых отростков – акантоз. При этом все указанные изменения являются следствием нарушения нормального соотношения между процессами пролиферации, дифференцировки и ороговения в клетках эпидермиса. Как правило, исследователи отмечали усиление пролиферации базальных и шиповидных клеток эпидермиса при АД. Выраженность того или иного компонента, по их мнению, в каждом случае АД зависит от стадии развития патологического процесса [67].

Полученные нами данные по исследованию толщины слоев эпидермиса у пациентов с АД и подсчета количества митозов в базальном слое эпидермиса не противоречат этим данным.

У здорового человека количество митозов в базальном слое эпидермиса составляет около 5% и незначительно увеличивается к полуночи [78], минимальная же митотическая активность отмечается между 5 и 10 часами утра [53]. Митотический индекс в общем невелик и зависит от участка кожи, времени года, суток, внешних раздражителей [53, 78]. По данным литературы

[78], митотический индекс в базальном слое эпидермиса человека при расчете на 1000 клеток колеблется на различных участках тела от 0,1 до 0,6. Наши результаты полностью совпадали с данными литературы и митотический индекс в клетках базального слоя кожи у обследованных нами добровольцев составил $0,30 \pm 0,05$ на 1000 клеток базального слоя эпидермиса (табл.4). Как известно, в здоровой коже митозам подвергаются только эпителиоциты базального слоя эпидермиса, если же митозы присутствуют в клетках шиповидного слоя, то в строении эпидермиса происходят значительные изменения, получившие название акантоза. При этом можно говорить о наличии пролиферационного акантоза, так как указанные изменения являются следствием усиления пролиферации клеток росткового слоя эпидермиса. Суть акантоза состоит не только в увеличении количества рядов клеток шиповидного, но обычно и зернистого, а иногда и вышележащих слоев эпидермиса [53, 67, 143, 144]. Таким образом, митотическая активность в эпидермисе имеет связь с процессами кератинизации.

Нарушение процесса ороговения приводит к развитию разнообразных патологических состояний кожи в виде акантоза, гиперкератоза. Если морфологические и клинические характеристики этих состояний изучены подробно, то причины их возникновения остаются неизвестными.

В ряде исследований [53, 70, 78] показано, что в основе акантоза и дискератозов лежит разрушение тонофибрилярно-десмосомальных комплексов, что связано с генетическими процессами ороговения.

Процесс десквамации кератиноцитов по-видимому имеет регуляторный механизм. При нормальных условиях десквамация регулируется по принципу обратной связи скоростью пролиферации эпидермальных клеток и подвержена гормональному влиянию. Десквамация усиливается под влиянием гормонов щитовидной железы и, наоборот, тормозится адреналином [70, 78]. По данным литературы [53], в диализатах кожи здоровых людей содержится

0,0026-0,0082мкг адреналина, причем адреналин обнаруживают в большем количестве у женщин, чем у мужчин.

Как известно, при АД происходит нарушение равновесия между симпатическим и парасимпатическим отделами вегетативной нервной системы, в сторону преобладания тонуса последнего. Поэтому происходит уменьшение влияния медиатора симпатической нервной системы (адреналина) на процессы пролиферации и ороговения в эпидермисе пациентов с АД. Вероятно, поэтому мы и наблюдали увеличение толщины рогового слоя у пациентов с АД по сравнению с контрольной группой (табл.2).

Однако, различные физические и химические повреждающие агенты, воздействующие на кожу человека в процессе жизнедеятельности, вызывают ответную защитную реакцию, в частности, в виде утолщения и уплотнения рогового слоя, в результате чего нарушаются процессы десквамации, которые способствуют очищению кожи человека от микробного обсеменения [78, 149]. Это объясняет наличие *St.aureus* на поверхностных участках кожи у 80-95% больных АД [44, 45].

Процессы кератинизации эпидермальных клеток находятся под влиянием целого ряда витаминов и ферментов, но влияние ферментов остается почти не изученным. Из витаминов наибольшее влияние на процессы ороговения оказывают витамины А и С, особенно, витамин А. Недостаток витамина А в организме приводит к развитию гиперкератоза [53].

Витамин А поступает в организм главным образом с пищей животного происхождения (печень рыб, свиная печень, желток яиц, молоко). Растительные продукты содержат предшественник витамина А-каротин. Особенно богата каротином морковь.

Как известно, одним из методов лечения атопического дерматита является соблюдение гипоаллергенной диеты [130, 131], которая требует исключение всех продуктов, богатых витамином А. Можно предположить, что все

пациенты с АД, но и с другими аллергическими заболеваниями, испытывают недостаток витамина А, что может служить одной из причин гиперкератоза.

Таким образом, процессы пролиферации и десквамации сложны и зависят от целого ряда факторов, например: генетических нарушений процессов ороговения; контакта с аллергенами и профессиональными вредностями; питания; состояния вегетативной нервной системы.

В настоящей работе мы проводили оценку клеточной инфильтрации эпидермиса путем подсчета В-лимфоцитов и плазматических клеток в биоптатах, окрашенных по А. Браше, и тучных клеток и эозинофилов при помощи сочетанной окраски гистологических препаратов основным коричневым и прочным зеленым по методу В.Ю. Голофеевского, С.Г. Щербак. Однако, клеточный инфильтрат в эпидермисе пациентов с атопическим дерматитом не наблюдался. Вероятно, клетки не проникают через базальную мембрану эпидермиса. В литературе существует много данных о том, что клеточный инфильтрат при АД не ограничивается только дермой [67, 82, 115, 143, 144, 205, 206]. Однако, тучные клетки и эозинофилы обнаруживаются только в верхних отделах дермы и, очевидно, не проникают через базальную мембрану, поэтому и не удивительно, что мы их не обнаружили в эпидермисе.

Известно, что изменения в коже пациентов с АД наблюдаются как в эпидермисе, так и в дерме. Неизвестно, где появляются первичные повреждения кожи – в дерме или эпидермисе, но показано, что воспалительный процесс протекает вблизи сосудов кожи, вызывая образование эритемы и папул [143, 205].

Очаги воспаления в коже являются следствием иммунной дисфункции на уровне целого организма. Поэтому целесообразно рассматривать не только гистологические изменения в коже, но и иммунологические механизмы развития АД на уровне системного иммунитета.

Глава 4. Клинико-иммунологическая характеристика больных атопическим дерматитом

4.1. Клиническая характеристика обследованных больных

Нами проведено обследование 81 больного (мужчины и женщины) с атопическим дерматитом в возрасте от 15 до 50 лет. Все пациенты находились на стационарном лечении и под диспансерным наблюдением в ООО «Центре иммунопатологии» г. Томска (2000-2002 гг.).

Из общего числа 32 пациента с атопическим дерматитом находились в состоянии обострения, а 49 пациентов в состоянии ремиссии. Диагноз верифицировался на основании общепринятых критериев патологии: жалоб, общеклинического, иммунологического и специального исследования.

У 60% обследованных выявлен отягощенный семейный аллергологический анамнез. Сопутствующая аллергопатология (круглогодичный аллергический ринит, сезонный аллергический риноконъюнктивит, атопическая бронхиальная астма, отек Квинке) была обнаружена у 42%. При опросе у 17% больных отмечалась повышенная чувствительность к шерсти домашних животных, у 5% наблюдались аллергические реакции при контакте с запыленными помещениями и предметами. 20% пациентов отмечали аллергическую реакцию на лекарственные препараты (чаще антибиотики пенициллинового ряда и витамины), а 59% – аллергические реакции на пищевые продукты.

Посредством скарификационного аллертестирования (табл.5) у 22% была выявлена сенсibilизация к аллергену домашней пыли, у 17% – к библиотечной пыли, у 8,7% – к перу подушки, у 18,5% – различным эпидермальным аллергенам. Сенсibilизация к пыльце деревьев обнаруживалась у 17,3% пациентов, к пыльце злаковых трав – у 21%, к пыльце сорных трав – у 18,5%. Всем остальным, у которых наблюдались отрицательные результаты скарификационного тестирования, были

Таблица 5

Результаты кожного тестирования у больных атопическим дерматитом

	Количество больных (81 человек)							
	Количество больных с положительными скарификационными аллергопробами				Количество больных с положительными внутрикожными аллергопробами			
Выраженность реакции Вид аллергена	++++ (волдырь более 10мм)	+++ (волдырь 6-10мм)	++ (волдырь 4-5мм)	+ (волдырь 2-3мм)	++++ (волдырь более 20мм)	+++ (волдырь 15-20мм)	++ (волдырь 8-14мм)	+ (волдырь 4-7мм)
Домашняя пыль	3	2	11	2	24	23	11	-
Библиотечная пыль	1	1	6	6	11	15	22	1
Перо подушек	1	1	1	4	2	13	9	1
Эпидермальные аллергены	1	2	5	7	8	7	16	2
Пыльца деревьев	5	4	4	1	7	6	9	2
Пыльца злаковых трав	1	4	5	7	11	3	9	7
Пыльца сорных трав	6	2	4	3	5	1	9	3
Пищевые аллергены	-	-	4	2	-	-	-	-

проведены внутрикожные тесты по общепринятым методикам постановки и учета.

По результатам внутрикожных тестов (табл.5) у наибольшего количества больных (71,6%) имела место повышенная чувствительность к аллергену домашней пыли, у 60,5% – к аллергену домашней пыли и библиотечной пыли, у 30,8% – к перу подушки, у – 40,7% – к эпидермальным аллергенам, у 29,6% – к пыльце деревьев, у 37% – к пыльце злаков, у 22% – к пыльце сорных трав. Таким образом, 55,5% обследованных имели поливалентную сенсибилизацию бытовыми, пыльцевыми и эпидермальными аллергенами; 20% имели повышенную чувствительность к бытовым и эпидермальным аллергенам; 15% – только к бытовым аллергенам, а 9,5% – только к пыльцевым аллергенам.

Кроме специфического аллергологического обследования у всех больных было проведено рентгенографическое исследование легких, ЭКГ, общие анализы крови и мочи, биохимический анализ крови, анализ кала на яйца глистов и дисбактериоз. По клинической необходимости часть больных была проконсультирована узкими специалистами: дерматологом, ЛОР–врачом, гинекологом, невропатологом. Данные клинического исследования и заключений консультантов соответствовали диагнозу atopический дерматит.

Из 43 пациентов с atopическим дерматитом, находящихся в состоянии ремиссии, 35 проходили курс специфической иммунотерапии ПЗА.

4.2 Изменение иммунного статуса при atopическом дерматите

Иммунный ответ зависит от многих факторов: уровня исходной иммунореактивности преморбидного фона, ятрогенных влияний и так далее. Существенное влияние на состояние иммунореактивности оказывает atopический дерматит. Причем, глубина изменений, регистрируемых в иммунограмме, непосредственным образом зависит от клинических вариантов АД. Нами

был проведен анализ изменений иммунологических показателей у 32 пациентов в период обострения АД и у 49 в период ремиссии.

Показатели периферической крови у больных АД представлены в табл.6. Количество лейкоцитов в периферической крови лиц контрольной группы в среднем составило $(6,19 \pm 0,47 \text{ Г/л})$, что соответствует региональной норме [27]. Содержание лейкоцитов у больных АД достоверно неотлично от контроля и составило $(6,42 \pm 1,47 \text{ Г/л})$ при обострении и $(6,46 \pm 1,64 \text{ Г/л})$ при ремиссии заболевания. У здоровых лиц содержание форменных элементов крови также соответствовало региональной норме. Все клеточные элементы у пациентов с АД в период обострения (палочкоядерные нейтрофилы – $2,73 \pm 0,99\%$, сегментоядерные нейтрофилы – $45,59 \pm 12,46\%$, лимфоциты – $39,91 \pm 11,69\%$, моноциты – $6,06 \pm 2,34\%$) и в период ремиссии (палочкоядерные нейтрофилы – $2,73 \pm 1,08\%$, сегментоядерные нейтрофилы – $47,30 \pm 9,95\%$, лимфоциты – $40,20 \pm 10,76\%$, моноциты – $5,41 \pm 1,34\%$) достоверно не отличимы от контроля. Однако, у всех больных отмечалось увеличение содержания эозинофилов крови – $(6,06 \pm 2,88\%)$ при обострении и $(4,53 \pm 1,25\%)$ в период ремиссии, хотя достоверных различий по сравнению с контрольной группой не наблюдалось. Повышение количества эозинофилов является диагностическим признаком атопического воспаления [2, 85].

Клеточные и гуморальные показатели иммунной системы в норме и при атопическом дерматите представлены в табл. 7 и 8.

Как видно из табл.7, наблюдалось достоверное ($p < 0,05$) уменьшение содержания CD3^+ -субпопуляции лимфоцитов в обеих группах по сравнению с контрольной, что составило соответственно $(45,81 \pm 6,48\%)$ у пациентов с АД в период обострения и $(47,02 \pm 7,23\%)$ – в период ремиссии. Выявлено достоверное ($p < 0,05$) снижение CD8^+ -лимфоцитов в обеих группах по сравнению с контролем: $(14,66 \pm 4,63\%)$ у пациентов в период обострения и $(16,73 \pm 2,47\%)$ – в период ремиссии. При исследовании содержания CD22^+ -

**Лейкоцитарная формула больных атопическим дерматитом
в зависимости от активности заболевания ($\bar{X} \pm m$)**

Группы об- следован- ных	Исследуемые показатели					
	ОКЛ (Г/л)	Эозинофилы (%)	П/я нф (%)	С/я нФ (%)	Лимфоциты (%)	Моноциты (%)
Контрольная группа, n=10	6,19 ± 0,47	2,50 ± 0,52	3,60 ± 0,13	51,10 ± 2,58	33,50 ± 5,64	6,10 ± 1,83
Пациенты с атопическим дерматитом в период обострения (I группа), n=32	6,42 ± 1,47	6,06 ± 2,88	2,73 ± 0,99	45,59 ± 12,46	39,91 ± 11,69	6,06 ± 2,34
Пациенты с атопическим дерматитом в период ремиссии (II группа), n=49	6,46 ± 1,64	4,53 ± 1,25	2,73 ± 1,08	47,30 ± 9,95	40,20 ± 10,76	5,41 ± 1,34

Примечание. Здесь и в табл. 12: ОКЛ – общее количество лейкоцитов, П/я нф – палочкоядерные нейтрофилы, С/я нф – сегментоядерные нейтрофилы, n – число в группах, достоверных различий нет

Таблица 7

Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у больных с атопическим дерматитом в зависимости от активности заболевания ($\bar{X} \pm m$)

Группы обследованных	Субпопуляции лимфоцитов								ИРК
	CD3 ⁺		CD4 ⁺		CD8 ⁺		CD22 ⁺		
	(%)	(Г/л)	(%)	(Г/л)	(%)	(Г/л)	(%)	(Г/л)	
Контрольная группа, n=10	65,89± 4,09	1,36± 0,10	40,20± 7,47	0,83± 0,07	25,80± 3,41	0,53± 0,07	12,60± 2,73	0,26± 0,05	1,12±0,21
Больные с атопическим дерматитом в период обострения (I гр.), n=32	45,81± 6,48 p ₁ <0,05	1,17± 0,04	27,31± 4,56 p ₁ <0,05	0,70± 0,03	14,66± 4,63 p ₁ <0,05	0,42± 0,04	25,69± 5,63 p ₁ <0,05	0,66± 0,13 p ₁ <0,05	1,99±0,64
Больные с атопическим дерматитом в период ремиссии (II гр.), n=49	47,02± 7,23 p ₁ <0,05	1,21± 0,03	26,80± 4,32 p ₁ <0,05	0,69± 0,04	16,73± 2,47 p ₁ <0,05	0,51± 0,04	23,94± 3,26 p ₁ <0,05	0,62± 0,15 p ₁ <0,05	1,47±0,47

Примечание. Здесь и в табл. 13: ИРК – иммуно-регуляторный коэффициент

**Показатели гуморального звена иммунной системы у пациентов с атопическим дерматитом
в зависимости от активности заболевания ($\bar{X} \pm m$)**

Группы обследованных	Исследуемые показатели						
	IgM (г/л)	IgG (г/л)	IgA (г/л)	IgE (МЕ/мл)	ЦИК опт. ед.	НСТ спонт. (%)	НСТ стимул. (%)
Контрольная группа, n=10	1,79±0,27	13,34±3,02	2,49±0,59	71,00±19,23	0,054±0,019	7,30±0,69	10,60±1,59
Пациенты с атопическим дерматитом в период обострения (I гр.), n=32	1,82±0,52	11,70±2,70	1,87±0,36	250,94±63,83 p ₁ <0,05	0,108±0,024 p ₁ <0,05	9,88±0,64 p ₁ <0,05	16,97±2,32 p ₁ <0,05
Пациенты с атопическим дерматитом в период ремиссии (II гр.), n=49	1,75±0,58	11,59±2,59	1,85±0,43	188,57±64,23 p ₁ <0,05	0,093±0,018 p ₁ <0,05	10,39±0,78 p ₁ <0,05	15,96±1,09 p ₁ <0,05

субпопуляции лимфоцитов регистрировались достоверные ($p < 0,05$) изменения по сравнению с контрольной группой ($12,60 \pm 2,73\%$) и составило соответственно ($25,69 \pm 5,63\%$) – в период обострения заболевания и ($23,94 \pm 3,26\%$) – в период ремиссии. Возможно, с этим связана гиперпродукция IgE, которая отмечается при atopических заболеваниях [45].

Полученные нами данные полностью соответствуют данным других исследователей, проводивших оценку популяционного состава лимфоцитов у больных atopическим дерматитом [10].

Содержание IgM, IgG, IgA (табл.8) у всех больных было сопоставимо с контролем. Важным диагностическим критерием АД служит содержание IgE в сыворотке крови как общего, так и аллергенспецифического [10, 45, 110]. Содержание общего IgE в контрольной группе составило ($71,00 \pm 19,23$ МЕ/мл). В среднем у больных I группы концентрация IgE составляла ($250,94 \pm 63,83$ МЕ/мл), у больных II группы – ($188,57 \pm 64,23$ МЕ/мл), что достоверно ($p < 0,05$) превышало контрольные значения. Содержание общей фракции ЦИК в контроле ($0,054 \pm 0,014$ опт.ед.) было достоверно ($p < 0,05$) ниже аналогичного показателя, как у больных в период обострения atopического дерматита ($0,108 \pm 0,024$ опт.ед), так и у пациентов в период ремиссии ($0,093 \pm 0,018$ опт.ед). Спонтанный НСТ-тест у всех обследованных находился в пределах нормы, однако отмечалось достоверное ($p < 0,05$) увеличение этого показателя у пациентов с АД ($9,88 \pm 0,64\%$) и ($10,39 \pm 0,78\%$) у I и II групп, соответственно, по сравнению с контрольной группой ($7,30 \pm 0,69\%$). Цифровые значения стимулированного варианта НСТ-теста достоверно ($p < 0,05$) превышали уровень этого показателя ($16,97 \pm 2,32\%$) и ($15,96 \pm 1,09\%$) у I и II групп, соответственно, по отношению к контрольной группе ($10,60 \pm 1,59\%$).

Таким образом, клинико-лабораторные методы исследования при АД позволяют выявить повышенное содержание эозинофилов крови, ЦИК, уменьшение $CD3^+$ -, $CD4^+$ - и $CD8^+$ -субпопуляции лимфоцитов, увеличение

CD22⁺-лимфоцитов и общего IgE в сыворотке крови. Другие же показатели изменялись индивидуально и зависели от степени тяжести и периода развития заболевания.

Глава 5. Специфическая иммунотерапия атопического дерматита: иммунологическая эффективность и оценка экспрессии CD28

За последние десятилетия в фармакотерапии аллергических заболеваний достигнуты серьезные успехи. Лекарственные препараты позволяют достаточно надежно контролировать клиническое состояние аллергических больных в течение длительного времени, а самим больным сохранять достаточно полноценную физическую и социальную активность и высокий уровень качества жизни. Однако фармакотерапия не позволяет излечить пациентов с аллергическими заболеваниями, предупредить его переход в более тяжелые клинические формы при прекращении лекарственного лечения. Таким действием обладает аллерген-специфическая иммунотерапия.

5.1. Влияние специфической иммунотерапии на степень тяжести у пациентов с атопическим дерматитом

35 пациентов с атопическим дерматитом проходили курс специфической иммунотерапии. СИТ проводилась причинно-значимыми аллергенами согласно спектру сенсibilизации. При поливалентной сенсibilизации больные получали СИТ смесью аллергенов (от одного до четырех), принадлежавших одной группе. Начальная доза аллергена определялась методом аллергометрического титрования [142]. Первую инъекцию проводили с начальной концентрацией аллергена, показавшей минимальную реакцию при аллергометрическом титровании. Поэтому схемы лечения отличались у отдельных больных лишь начальной дозой ПЗА. Инъекции ПЗА проводились ежедневно, подкожно, в область предплечья больного, с чередованием рук.

На каждую концентрацию аллергена, кроме 1000 и более PNU, делалось 3 инъекции с интервалом в 1 час: 0,2мл; 0,4мл; 0,8мл аллергена, с регистрацией местной реакции через 15-30 минут после инъекции. С концентрацией

ции аллергена в 1000 PNU инъекции проводились по схеме: 0,1мл; 0,2мл; 0,3мл аллергена и т.д. по 1 инъекции в день до максимально переносимой дозы. Эта доза определялась либо по наличию выраженной местной реакции (папула более 15 мм), либо по общим проявлениям реакций шокового органа: зуд кожи, заложенность носа и так далее. Максимально переносимая доза ПЗА повторялась трижды. Затем пациенты получали поддерживающую дозу аллергена с частотой инъекции 2 раза в неделю, 1 раз в неделю, 1 раз в 2 недели, 1 раз в 3 недели, 1 раз в 4 недели. Поддерживающая доза, как правило, была на 2 шага меньше, чем максимально переносимая доза ПЗА. Лечение аллергенами начиналось в стационаре, поддерживающую дозу ПЗА больные получали амбулаторно (в поликлинике), находясь под диспансерным наблюдением врача иммунолога-аллерголога.

Таблица 9

**Схема специфической иммунотерапии аллергеном:
домашняя пыль 261 серия**

Дата	Время	Титр ПЗА	Доза мл	Реакция на введение аллергена	Доза в PNU
1.02	9 ⁰⁰	10 ⁻⁷	0,2	Отсутствует	0,0002
	10 ⁰⁰	10 ⁻⁷	0,4	-//-	0,0004
	11 ⁰⁰	10 ⁻⁷	0,8	-//-	0,0008
2.02	9 ⁰⁰	10 ⁻⁶	0,2	-//-	0,002
	10 ⁰⁰	10 ⁻⁶	0,4	-//-	0,004
	11 ⁰⁰	10 ⁻⁶	0,8	-//-	0,008
3.02	9 ⁰⁰	10 ⁻⁵	0,2	-//-	0,02
	10 ⁰⁰	10 ⁻⁵	0,4	-//-	0,04
	11 ⁰⁰	10 ⁻⁵	0,8	-//-	0,08
4.02	9 ⁰⁰	10 ⁻⁴	0,2	-//-	0,2
	10 ⁰⁰	10 ⁻⁴	0,4	-//-	0,4
	11 ⁰⁰	10 ⁻⁴	0,8	-//-	0,8

5.02	9^{00}	10^{-3}	0,2	-//-	2
	10^{00}	10^{-3}	0,4	-//-	4
	11^{00}	10^{-3}	0,8	-//-	8
6.02	9^{00}	10^{-2}	0,2	Гиперемия	20
	10^{00}	10^{-2}	0,4	Отсутствует	40
	11^{00}	10^{-2}	0,8	Гиперемия, папула 3 мм	80
8.02	9^{00}	10^{-1}	0,1	Папула 3 мм	100
9.02	9^{00}	10^{-1}	0,2	Отсутствует	200
10.02	9^{00}	10^{-1}	0,3	-//-	300
11.02	9^{00}	10^{-1}	0,4	-//-	400
12.02	9^{00}	10^{-1}	0,5	Папула 15 мм	500
13.02	9^{00}	10^{-1}	0,5	Папула 12 мм	500
15.02	9^{00}	10^{-1}	0,5	Папула 5 мм	500
16.02	9^{00}	10^{-1}	0,3	Отсутствует	300
19.02	9^{00}	10^{-1}	0,3	-//-	300
23.02	9^{00}	10^{-1}	0,3	-//-	300
2.03	9^{00}	10^{-1}	0,3	-//-	300
16.03	9^{00}	10^{-1}	0,3	-//-	300
4.04	9^{00}	10^{-1}	0,3	-//-	300
4.05	9^{00}	10^{-1}	0,3	-//-	300
4.06	9^{00}	10^{-1}	0,3	-//-	300
				Суммарная доза	5555,54 PNU

Общая доза и поддерживающая доза ПЗА у пациентов с atopическим дерматитом представлены в таблице 10.

До проведения курса СИТ и после всем пациентам с atopическим дерматитом проводили оценку степени тяжести при помощи индекса SCORAD [41, 50].

Дозы причинно-значимого аллергена, полученные больными в ходе специфической иммунотерапии ($\bar{X} \pm m$)

Группы	Общая доза, (PNU)	Поддерживающая доза, (PNU)
Поливалентная сенсibilизация n=22	5882,86±1032,42	2552,00±304,16
Моновалентная сенсibilизация n=8	5881,50±1116,58	2390,00±287,64

Примечание: PNU – единица белкового азота, статистически достоверных различий не обнаружено

В таблице 11 представлены средние значения индекса SCORAD у пациентов с АД до специфической иммунотерапии и после. В ходе проведения СИТ регистрировалось достоверное ($p < 0,05$) снижение индекса SCORAD. Однако, по мнению ряда авторов [41, 50, 123], индекс SCORAD более информативен при характеристике проявлений атопического дерматита и его тяжести у конкретного пациента, а не в группе.

Таблица 11

Изменение индекса SCORAD у пациентов с атопическим дерматитом до и после проведения специфической иммунотерапии ($\bar{X} \pm m$)

Группы	Индекс SCORAD
До проведения СИТ	36,32±10,19
После проведения СИТ	16,16±5,19 $p < 0,05$

Примечание: СИТ – специфическая иммунотерапия, p – достоверность различий показателей между группами

5.2. Изменение иммунологических показателей I уровня у пациентов с атопическим дерматитом под влиянием специфической иммунотерапии

Нами был проведен анализ иммунных сдвигов при АД с учетом влияния проведенной специфической иммунотерапии. В табл. 12 представлены данные лейкоцитарной формулы крови больных АД на поддерживающей дозе ПЗА. Показатели иммунограммы на этапах введения больным высоких доз ПЗА не исследовались, так как по мнению некоторых авторов за период набора максимальной дозы аллергена, который в среднем длился 10-15 дней, существенных изменений не происходит, либо существующие методы не позволяют их зарегистрировать [35].

Как видно из табл. 12 достоверных отличий большинства исследуемых показателей у I группы больных от здоровых доноров не наблюдалось. Однако, следует отметить, что до СИТ у пациентов с АД имело место достоверное ($p < 0,05$) увеличение количества эозинофилов ($5,63 \pm 0,83\%$) по сравнению с группой контроля ($2,50 \pm 0,52\%$). Многие авторы [63, 75, 76] считают повышение количества эозинофилов в крови одним из диагностических критериев атопических заболеваний. Сравнивая лейкоцитарную формулу крови больных I группы с показателями больных II группы, стоит отметить тенденцию к увеличению количества лейкоцитов и достоверное ($p < 0,05$) снижение эозинофилов крови до показателей контрольной группы.

Атопический дерматит сопровождается нарушением иммунной системы организма. По существующим представлениям важнейшим звеном иммунной дисфункции при атопическом дерматите следует считать Т-клеточный иммунитет. Дефект клеточного иммунитета проявляется на всех уровнях: количественном (уменьшение числа Т-клеток) и функциональном (нарушение продукции цитокинов) [24, 66]. СИТ рассматривается как способ коррекции лежащих в основе заболевания иммунологических нарушений.

**Лейкоцитарная формула пациентов с атопическим дерматитом
до и после проведения специфической иммунотерапии ($\bar{X} \pm m$)**

Группы обследованных	Исследуемые показатели					
	ОКЛ (Г/л)	Эозинофилы (%)	П/я нФ (%)	С/я нф (%)	Лимфоциты (%)	Моноциты (%)
Контрольная группа, n=10	6,19±0,47	2,50±0,52	3,60±0,13	51,10±2,58	33,50±5,64	6,10±1,83
Пациенты с атопическим дерматитом до СИТ (I гр.), n=30	6,29±1,75	5,63±0,83 p ₁ <0,05	2,84±0,21	49,89±8,99	36,20±8,76	6,21±2,57
Пациенты с атопическим дерматитом после СИТ (II гр.), n=30	6,80±1,32	2,53±0,36 p ₂ <0,05	2,85±0,16	50,84±8,20	35,32±7,25	5,89±1,56

Примечание. Здесь в табл. 13,15-18: СИТ – специфическая иммунотерапия, p₂ – достоверность различий по сравнению с показателями в I группе пациентов

Успешное лечение обычно приводит к нормализации состояния клеточного иммунитета [40, 95, 129, 142].

В табл. 13 представлены параметры лимфоцитарной системы больных АД до и после СИТ. У пациентов с АД было выявлено достоверное ($p < 0,05$) уменьшение количества $CD3^+$ -лимфоцитов, как до СИТ ($46,04 \pm 5,51\%$), так и после СИТ ($48,28 \pm 4,35\%$) по сравнению с контрольной группой ($65,89 \pm 4,09\%$). Однако, отмечалось достоверное ($p < 0,05$) уменьшение и субпопуляций Т-лимфоцитов ($CD4^+$ и $CD8^+$) у больных по сравнению с группой здоровых доноров. После проведения СИТ регистрировалось достоверное ($p < 0,05$) увеличение количество $CD8^+$ -лимфоцитов ($20,01 \pm 1,08\%$) по сравнению с результатами до лечения ($16,02 \pm 1,22\%$). Однако, данный показатель оставался достоверно ($p < 0,05$) ниже значения в контрольной группе ($25,80 \pm 3,21\%$). Подобные изменения иммунологических показателей обуславливают положительный эффект СИТ [142].

Как видно из табл. 14 у пациентов с АД до и после СИТ регистрировалось достоверное ($p < 0,05$) увеличение концентрации IgE ($187,79 \pm 35,12$ МЕ/мл) – до лечения; и ($191,16 \pm 38,78$ МЕ/мл) – после СИТ по сравнению с группой здоровых доноров ($71,00 \pm 19,83$ МЕ/мл). Многие авторы регистрируют подобное изменение после I курса СИТ [40, 142].

Полученные нами результаты иммунологических исследований у больных atopическим дерматитом не противоречат данным литературы. Многие авторы отмечают уменьшение количества $CD3^+$ -, $CD4^+$ -, $CD8^+$ - лимфоцитов у пациентов с АД, а также увеличение $CD22^+$ -лимфоцитов, IgE, ЦИК, ИРК [10, 28, 66, 110]. При atopическом дерматите отмечается дефект клеточного иммунитета, а точнее дисбаланс $CD4^+$ - и $CD8^+$ -лимфоцитов, в сторону увеличения $CD4^+$ -лимфоцитов. Это соответствует патогенезу I типа аллергических заболеваний [37, 72, 73, 102, 129]. Как следствие этого дисбаланса происходит увеличение ИРК у больных atopическим дерматитом (табл.13).

**Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови больных атопическим дерматитом
до и после специфической иммунотерапии ($\bar{X} \pm m$)**

Группы обследованных	Субпопуляции лимфоцитов								ИРК
	CD3 ⁺		CD4 ⁺		CD8 ⁺		CD22 ⁺		
	(%)	(Г/л)	(%)	(Г/л)	(%)	(Г/л)	(%)	(Г/л)	
Контрольная группа, n=10	65,89±7,90	1,36±0,10	40,20±7,47	0,83±0,07	25,80±3,41	0,53±0,07	12,60±2,73	0,26±0,05	1,12±0,21
Пациенты с атопическим дерматитом до СИТ (I гр.), n=30	46,04±5,51 p ₁ <0,05	1,09±0,07 p ₁ <0,05	26,36±3,65 p ₁ <0,05	0,59±0,02 p ₁ <0,05	16,02±1,42 p ₁ <0,05	0,36±0,03 p ₁ <0,05	20,48±2,58 p ₁ <0,05	0,46±0,05 p ₁ <0,05	1,64±0,32
Пациенты с атопическим дерматитом после СИТ (II гр.), n=30	48,28±4,35 p ₁ <0,05	1,21±0,06	28,47±2,26 p ₁ <0,05	0,72±0,04 p ₂ <0,05	20,01±2,08 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	0,48±0,05 p ₂ <0,05	17,34±1,26 p ₁ <0,05	0,41±0,03 p ₁ <0,05	1,49±0,28

**Показатели гуморального звена иммунной системы
при атопическом дерматите до и после специфической иммунотерапии ($\bar{X} \pm m$)**

Группы обследованных	Исследуемые показатели						
	IgM (г/л)	IgG (г/л)	IgA (г/л)	IgE (МЕ/мл)	ЦИК опт. ед.	НСТ спонт. (%)	НСТ стимул. (%)
Контрольная группа, n=10	1,79 ± 0,27	13,34 ± 3,02	2,49 ± 0,59	71,00 ± 19,83	0,054 ± 0,014	7,30 ± 0,69	10,60 ± 1,59
Больные с атопическим дерматитом до СИТ (I гр.), n=30	1,47 ± 0,44	11,52 ± 2,62	1,83 ± 0,28	187,79 ± 35,12 p ₁ <0,05	0,088 ± 0,013 p ₁ <0,05	8,42 ± 1,58	14,48 ± 3,87
Больные с атопическим дерматитом после СИТ (II гр.), n=30	1,45 ± 0,32	12,30 ± 1,66	1,85 ± 0,31	191,16 ± 38,78 p ₁ <0,05	0,084 ± 0,019	7,62 ± 1,31	13,21 ± 2,58

При атопическом дерматите, как при всех атопических заболеваниях, имеет место активация гуморального иммунитета, которая проявляется увеличением количества CD22⁺-лимфоцитов (табл.13) и повышением наработки IgE (табл.14).

Таким образом, выявленные изменения свидетельствуют о несовершенстве гуморального иммунитета и нарушении соотношения субпопуляций Т-лимфоцитов, которые могут способствовать частому микробному инфицированию и рецидивирующему течению бактериальных инфекций.

5.3. Влияние специфической иммунотерапии на показатели реакции бласттрансформации у больных атопическим дерматитом

На современном этапе развития клинической иммунологии наибольшую диагностическую и прогностическую значимость приобретают методы, оценивающие функциональный статус иммунокомпетентных клеток. Такие тесты, как РБТЛ (спонтанная и индуцированная митогенами), иммуноферментные методы несут богатую диагностическую информацию.

Для более правильной оценки состояния иммунной системы необходимо сочетание оценки числа и функциональной активности клеток. Одним из наиболее популярных методов определения функционального состояния клеточного иммунитета является оценка пролиферативного ответа лимфоцитов на митогены – ФГА, конканавалин А (КонА), специфические и микробные антигены.

Бласттрансформацией называют превращение малых лимфоцитов под влиянием неспецифических и специфических стимулов в бласты – большие клетки диаметром примерно 25 мкм, способные к пролиферации и дальнейшей дифференцировке, что приводит к увеличению в лимфоидной ткани количества реагирующих клеток. Бласттрансформация лимфоцитов постоянно наблюдается в лимфоидных тканях в результате антигенной стимуляции. Её

можно рассматривать как афферентное звено иммунного ответа, связанное с распознаванием лимфоцитами чужеродного антигена [23].

Результаты исследования РБТЛ в различных модификациях в контрольной группе и у пациентов с atopическим дерматитом представлены в табл. 15. В процессе проведения СИТ мы изучали РБТЛ на 30-е сутки после введения максимальной дозы причинно-значимого аллергена. У пациентов с atopическим дерматитом показатель спонтанной РБТЛ до проведения СИТ ($7,79 \pm 1,92\%$) и после СИТ ($7,85 \pm 1,87\%$) достоверно не отличался от контрольного значения. Как известно, спонтанный бластогенез отражает исходный уровень активации клеток, имеющийся у больного на данный момент, и, по полученным результатам, не зависит от проведения СИТ.

Наблюдалось достоверное ($p < 0,05$) снижение процента РБТЛ под действием ФГА у пациентов с atopическим дерматитом до проведения лечения ($64,26 \pm 3,08\%$) по сравнению с контрольной группой ($79,20 \pm 5,84\%$). Это свидетельствует о функциональной недостаточности Т-лимфоцитов, что согласуется с данными литературы [10, 61].

После проведения СИТ у пациентов с atopическим дерматитом имело место увеличение процента бласттрансформированных клеток, стимулированных ФГА ($77,37 \pm 5,07\%$), что приближалось к аналогичному значению в контрольной группе. Подобные изменения позволяют говорить о том, что в результате проведенной специфической иммунотерапии происходит восстановление функциональной активности Т-лимфоцитов, что находит отражение в научных работах других авторов [10, 61].

Таким образом, данные литературы, а также результаты собственных наблюдений позволяют говорить, что АД является заболеванием, при котором ответная реакция макроорганизма на контакт с аллергеном выражается комплексом сложных иммунных процессов в организме больного [10, 14, 61, 129, 142].

Показатели реакции бласттрансформации лимфоцитов у больных атопическим дерматитом ($\bar{X} \pm m$)

Группы обследованных	Количество бласттрансформированных лимфоцитов (%)	
	Спонтанный уровень	Индукцированный ФГА уровень
Контрольная группа, n=10	6,20±0,98	79,20±5,84
Больные с атопическим дерматитом до СИТ (I гр.), n=30	7,79±1,92	64,26±3,08 p ₁ <0,05
Больные с атопическим дерматитом после СИТ (II гр.), n=30	7,85±1,87	77,37±5,07 p ₂ <0,05

Примечание. Здесь и в табл. 16,17: ФГА – фитогемагглютинин

5.4. Динамика ИЛ-2 и ИФН-γ у пациентов с атопическим дерматитом при проведении специфической иммунотерапии

Известно, что межклеточные взаимодействия в иммунной системе осуществляются с участием цитокинов. Они играют значительную роль в развитии иммунного ответа, как в норме, так и при различных патологических состояниях, в том числе аллергической природы.

В настоящее время доказано, что в основе патогенеза АД лежит иммунопатологический механизм. К числу наиболее значимых иммунологических нарушений при АД относят дисбаланс TH1 и TH2 субклассов Т-клеток, повышенную дегрануляцию тучных клеток [15, 40, 55, 82, 146]. Эти иммунологические нарушения лежат в основе повышенной продукции IgE, аллергиче-

ских реакций I типа и нарушений клеточной иммунологической реактивности кожи [82]. В организме больных атопией резко повышено содержание ТХ2-клеток, тогда как у здоровых людей преобладают ТХ1-клеток [34, 36]. Две субпопуляции ТХ различают по выделяемым ими лимфокинам. Одними из секреторных маркеров ТХ1 являются продуцируемые ими ИЛ-2 и ИФН- γ , а основным продуктом ТХ2-ИЛ4 [210,212]. Высокая активность ТХ2 у больных атопией приводит к подавлению функциональной активности ТХ1. Подавление функции ТХ1 и снижение продуцируемых ими ИЛ-2 и ИФН- γ ведет к недостаточности клеточного иммунитета [82, 111, 154].

В настоящее время все большее значение приобретает разработка методов предупреждения и лечения атопических заболеваний. Наиболее испытанным и эффективным методом лечения является СИТ. Основная задача СИТ состоит в восстановлении естественной толерантности организма к аллергенам внешней среды [35, 142, 146]. Механизмы СИТ до конца не ясны. Одним из патогенетических механизмов является возможность переключения в ходе лечения ТХ2-ответ на ТХ1-ответ [35, 142, 146, 183]. Для проверки этого предположения мы оценивали изменение функциональной активности Т-хелперов 1 типа, определяя продуцируемые им ИЛ-2 и ИФН- γ до и после СИТ.

Содержания ИЛ-2 и ИФН- γ в культуральной жидкости при инкубации лимфоцитов в присутствии ФГА представлены в таблицах 16, 17. До проведения СИТ определение ИЛ-2 и ИФН- γ проводили на 3-й день инкубации в культуральной жидкости при постановке РБТЛ (спонтанной и индуцированной ФГА).

После лечения исследования осуществляли на 30-е сутки после введения максимальной дозы причинно-значимого аллергена.

Анализируя содержание ИЛ-2 в культуральной жидкости различных вариантов РБТЛ у пациентов с АД до проведения СИТ (табл.16), наблюдалось достоверное ($p < 0,05$) снижение содержания ИЛ-2 во всех модификациях

РБТЛ. В спонтанном варианте содержание ИЛ-2 в культуральной жидкости у пациентов с АД ($2,15 \pm 0,23$ МЕ/мл) оказалось в 3 раза ниже по сравнению с контролем ($6,45 \pm 1,08$ МЕ/мл).

Результаты исследования ИЛ-2 в культуральной жидкости после проведения СИТ представлены в табл. 16. Как видно из таблицы отмечалось достоверное ($p < 0,05$) увеличение содержания ИЛ-2, как в спонтанном варианте РБТЛ ($3,13 \pm 0,29$ МЕ/мл), так и в индуцированном ФГА ($5,07 \pm 0,62$ МЕ/мл) у пациентов с АД по сравнению с соответствующим значением до лечения. Однако, после лечения результаты оставались достоверно ($p < 0,05$) ниже таковых в контрольной группе, как в спонтанном, так и в индуцированном ФГА вариантах РБТЛ у пациентов с АД.

Аналогичные изменения регистрировались при изучении концентрации ИФН- γ (табл. 17). У пациентов с АД до СИТ имело место достоверное ($p < 0,05$) снижение содержания ИФН- γ , как в спонтанном ($314,02 \pm 45,04$ пг/мл), так и в индуцированном ФГА ($540,00 \pm 64,23$ пг/мл) вариантах по сравнению с показателями в контрольной группе: ($614,44 \pm 53,18$ пг/мл) – спонтанный уровень, ($685,56 \pm 72,61$ пг/мл) – индуцированный ФГА уровень.

После проведения СИТ у пациентов наблюдалась тенденция к увеличению содержания ИФН- γ в спонтанной ($356,21 \pm 52,08$ пг/мл) и индуцированной ФГА РБТЛ ($550,01 \pm 58,85$ пг/мл) по сравнению с результатами до лечения. Однако, эти результаты оставались достоверно ($p < 0,05$) ниже аналогичных показателей контрольной группы. Полученные нами данные согласуются с некоторыми авторами полностью [81, 83, 146], а с другими частично [10].

Содержание ИЛ-2 в культуральной жидкости у больных с атопическим дерматитом до специфической иммунотерапии и после ($\bar{X} \pm m$)

Группы обследованных	Содержание ИЛ-2 (МЕ/мл)	
	Спонтанный уровень	Индукцированный ФГА уровень
Контрольная группа, n=10	6,45±1,08	7,20±1,04
Больные с атопическим дерматитом до СИТ (I гр.), n=30	2,15±0,23 p ₁ <0,05	3,44±0,46 p ₁ <0,05
Больные с атопическим дерматитом после СИТ (II гр.), n=30	3,13±0,29 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	5,07±0,62 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05

Однако, результаты можно объяснить, рассматривая патогенез АД и механизмы СИТ. Пониженное содержание ИЛ-2 и ИФН- γ у пациентов с АД объясняется наличием иммунологического дисбаланса ТХ1/ТХ2 и смещения равновесия в сторону ТХ2-ответа, тогда как в организме здоровых людей превалирует ТХ1-ответ [34, 36, 83]. Как известно, ИЛ-2 и ИФН- γ являются одними из секреторных маркеров ТХ1-типа. А так как наблюдается снижение активности ТХ1-типа, то и наработка маркеров (ИЛ-2 и ИФН- γ) при АД уменьшается [83, 146, 212].

Содержание ИФН- γ в культуральной жидкости у больных атопическим дерматитом до проведения специфической иммунотерапии и после ($\bar{X} \pm m$)

Группы обследованных	Содержание ИФН- γ (пг/мл)	
	Спонтанный уровень	Индукцированный ФГА уровень
Контрольная группа, n=10	614,44 \pm 53,18	685,56 \pm 72,61
Больные с атопическим дерматитом до СИТ (I гр.), n=30	314,02 \pm 45,04 $p_1 < 0,05$	540,00 \pm 64,23 $p_1 < 0,05$
Больные с атопическим дерматитом после СИТ (II гр.), n=30	356,21 \pm 52,08 $p_1 < 0,05$	550,01 \pm 58,85 $p_1 < 0,05$

Описанная выше динамика увеличения наработки ИЛ-2 и ИФН- γ в культуральной жидкости РБТЛ можно объяснить одним из известных механизмов СИТ. Этот механизм предполагает, что в результате проведения СИТ происходит смещение равновесия от ТХ2-клеток в сторону ТХ1-клеток, а соответственно изменяется и наработка цитокинов этих клеток, то есть происходит увеличение количества ИЛ-2 и ИФН- γ [38,40,81,141,142,146]. Данные исследований последних лет подтверждают сведения о том, что СИТ сопровождается угнетением вызванного специфическим аллергеном пролиферативного ответа лимфоидных клеток периферической крови [38]. Торможение аллерген-специфической пролиферации Т-лимфоцитов выявляется на 15-90 день после проведения ускоренного курса СИТ. В эти же сроки уменьшается

число клеток, экспрессирующих мРНК ИФН- γ , и при стимуляции аллергеном *in vitro*, у больных до СИТ их оказывается меньше, чем у контрольной группы. После СИТ спонтанная экспрессия мРНК ИФН- γ возрастает только к 90-му дню. В итоге к 90-му дню характер представления цитокиновых маркеров оказывается сходным или приближается к таковым у практически здоровых лиц [158]. Все это свидетельствует о перестройке характера клеточного и цитокинового ответа на аллергенную нагрузку в ходе СИТ. Эти результаты принципиально совпадают с ранее полученными сведениями о переключении в ходе СИТ ТХ2-ответа на ТХ1-ответ. Не менее чем у 50% лиц с успешной СИТ возникало существенное увеличение экспрессии мРНК ИЛ-2, т.е. маркера, характерного для ТХ1-клеток, участвующих в запуске и поддержании продукции IgG-антител, которые относятся к блокирующим антителам [38].

Динамику изменения наработки ИЛ-2 у пациентов с атопическим дерматитом можно объяснить и влиянием костимулирующей молекулы CD28. Как известно, смысл костимулирующего эффекта, возникающего при связывании CD28, состоит во взаимодействии сигналов, поступающих от этой молекулы и от рецепторов, что приводит к усилению экспрессии ИЛ-2 и его рецептора [137, 138, 152, 207, 209, 229].

Таким образом, определение уровня ИЛ-2 в культуральной жидкости можно использовать в качестве критерия оценки эффективности СИТ и активности аллергического процесса у пациентов с атопическим дерматитом.

5.5. Количество CD28⁺-лимфоцитов в крови у пациентов с атопическим дерматитом под влиянием специфической иммунотерапии

Межклеточные взаимодействия играют ключевую роль на разных этапах становления и функционирования иммунной системы – они определяют развитие иммуноцитов, направление их миграции, осуществление многих эффекторных функций. Однако наибольшим своеобразием и специфично-

стью обладают межклеточные взаимодействия, реализуемые в процессе развития иммунного ответа.

Ключевая роль в запуске активации Т-хелпера и стимуляции антиген-презентирующих клеток принадлежит взаимодействию пар костимулирующих молекул: CD28-CD80/86 (В 7.1, В 7.2) и CD40L(152)-CD40 (первые молекулы находятся на Т-клетке, а вторые на АПК). При связывании CD28 с молекулами В7 генерируемый сигнал поступает через CD28 в Т-клетку, при взаимодействии CD40 и CD40L – через CD40 в антигенпредставляющую клетку (в том числе В-клетку) [137, 207, 209].

В последние годы появилось много работ, в которых изучается роль костимулирующих молекул, в частности CD28 [37, 39, 137, 138, 151, 152, 162, 171, 188, 207, 209, 221]. Однако, не проводились исследования роли костимулирующих молекул при аллергических заболеваниях. В настоящей работе определялись CD28⁺-лимфоциты у пациентов с атопическим дерматитом до и после специфической иммунотерапии.

Как видно из табл. 18, отмечалось достоверное ($p < 0,05$) увеличение количества CD28⁺-лимфоцитов у пациентов с атопическим дерматитом до СИТ ($0,16 \pm 0,01$ Г/л) по сравнению с группой добровольцев ($0,13 \pm 0,01$ Г/л). Полученные результаты можно объяснить следующим образом.

Как известно, CD28 является маркером, который свидетельствует об активации иммунной системы. При АД, как и при других аллергических заболеваниях, отмечается постоянный контакт с аллергеном, который является причиной заболевания, а следовательно иммунная система находится в активном состоянии. Поэтому мы и регистрировали увеличение количества CD28⁺- лимфоцитов у пациентов с АД по сравнению с группой добровольцев. После проведения СИТ у пациентов с АД наблюдалось достоверное ($p < 0,05$) увеличение количества CD28⁺-лимфоцитов в крови ($0,20 \pm 0,02$ Г/л), как по сравнению с показателями контрольной группы ($0,13 \pm 0,01$ Г/л), так и до лечения ($0,16 \pm 0,01$ Г/л).

Однако после лечения у пациентов отмечается улучшение клинической картины (отсутствие жалоб, симптомов заболевания), что позволяет говорить об эффективности метода лечения. Терапевтический эффект СИТ обусловлен изменениями в иммунной системе, которые связаны с преимущественным блокированием ТХ2-ответа, а следовательно уменьшением выработки ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ-13, ответственных за развитие atopического дерматита. В то же время происходит активация ТХ1-ответа, в результате которого происходит увеличение выработки ИЛ-2 и ИФН- γ . В результате подобных изменений в иммунной системе происходит смещение соотношения ТХ2/ТХ1 в сторону ТХ1-типа [34, 36, 146, 212].

С учетом иммунологических изменений и улучшением клинической картины (отсутствие симптомов заболевания) у пациентов с atopическим дерматитом после СИТ, можно предположить, что костимулирующий сигнал, опосредованный CD28 молекулой более важен для активации ТХ1-лимфоцитов, в то время как для активации В-лимфоцитов важен сигнал, поступающий через молекулу CTLA-4/(CD152) [138, 139].

Вместе с тем, роль костимулирующих молекул при atopической патологии остается недостаточно ясной, в частности не уточнены взаимодействия CD28 с соответствующими лигандами, поэтому необходимы дальнейшие исследования функции костимулирующих молекул при atopическом дерматите.

Количество CD28⁺-лимфоцитов у пациентов с атопическим дерматитом до и после специфической иммунотерапии ($\bar{X} \pm m$)

Группы обследованных	Количество CD28 ⁺ -лимфоцитов	
	(%)	(Г/л)
Контрольная группа, n=10	6,70±1,04	0,13±0,01
Больные с атопическим дерматитом до СИТ (I гр.), n=30	7,12±1,28	0,16±0,01 p ₁ <0,05
Больные с атопическим дерматитом после СИТ (II гр.), n=30	8,02±2,02	0,20±0,02 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05

Приложение

В данной главе мы привели выписки из историй болезни пациентов с атопическим дерматитом.

Выписка из истории болезни 138/104. Больная А., 1978г.р. Диагноз: Атопический дерматит, локализованная форма, поливалентная сенсibilизация, период ремиссии. При поступлении жалоб не предъявляла. Госпитализирована в плановом порядке для проведения СИТ. Из анамнеза: первые высыпания появились на лице и шее в 8 лет. Высыпания сопровождались сильным зудом. С этого периода до 2001г. эпизоды появления высыпаний на коже стали учащаться, появился сильный зуд кожи по всему телу. Отмечает непереносимость некоторых пищевых продуктов: цитрусовые, шоколад (зуд кожи, высыпания на лице). При контакте с кошкой появляются зуд кожи по всему телу, чихание. При проведении аллергологического тестирования, путем внутрикожных проб, выявлена сенсibilизация к домашней пыли ++, библиотечной пыли ++, шерсть кошки +++. По данным ультразвукового исследования дано заключение: без патологии. До СИТ: Индекс SCORAD – 22,4. Иммунологическое исследование: CD3⁺ – т50% (1,10 Г/л), CD4⁺ – 28% (0,61 Г/л), CD8⁺ – 18% (0,39 Г/л), CD22⁺ – 25% (0,59 Г/л), IgM – 0,6 г/л, IgG – 10,2 г/л, IgA – 2,0 г/л, IgE – 143 МЕ/мл, ЦИК – 0,095 опт.ед., НСТ-тест спонтанный – 8%, НСТ-тест стимулированный – 14%; РБТЛ спонтанная – 6%, РБТЛ стимулированная ФГА – 69%; содержание ИЛ-2 в культуральной жидкости спонтанной РБТЛ – 1,8 МЕ/мл, содержание ИЛ-2 в культуральной жидкости стимулированной ФГА РБТЛ – 3,6 МЕ/мл; содержание ИФН-γ в культуральной жидкости спонтанной РБТЛ – 230 пг/мл, содержание ИФН-γ в культуральной жидкости стимулированной ФГА РБТЛ – 400 пг/мл; количество CD28⁺-лимфоцитов – 4% (0,08 Г/л). Гистологическая характеристика эпидермиса кожи: толщина рогового слоя – 0,0133 мм, зернистого слоя – 0,0019 мм, шиповидного слоя – 0,0247 мм, базального слоя – 0,0161 мм; количество митозов в эпидермоцитах базального слоя – 0/1000 клеток базаль-

ного слоя. После СИТ: Проявления дерматита беспокоили 1 раз в 6 месяцев. Индекс SCORAD – 8,0. Иммунологическое исследование: CD3⁺ – 54% (1,29 Г/л), CD4⁺ – 26% (0,61 Г/л), CD8⁺ – 21% (0,50 Г/л), CD22⁺ – 25% (0,59 Г/л), IgM – 0,8 г/л, IgG – 12,1 г/л, IgA – 2,0 г/л, IgE – 140 МЕ/мл, ЦИК – 0,095 опт.ед., НСТ-тест спонтанный – 11%, НСТ-тест стимулированный – 15%; РБТЛ спонтанная – 7%, РБТЛ стимулированная ФГА – 60%; содержание ИЛ-2 в культуральной жидкости спонтанной РБТЛ – 2,4 МЕ/мл, содержание ИЛ-2 в культуральной жидкости стимулированной ФГА РБТЛ – 3,6 МЕ/мл; содержание ИФН-γ в культуральной жидкости спонтанной РБТЛ – 340 пг/мл, содержание ИФН-γ в культуральной жидкости стимулированной ФГА РБТЛ – 570 пг/мл; количество CD28⁺-лимфоцитов – 7% (0,16 Г/л).

Выписка из истории болезни 58/36. Больная З., 1984 г.р. Диагноз: Атопический дерматит, распространенная форма, поливалентная сенсibilизация, период ремиссии. Сопутствующий диагноз: Хронический холецистит, период ремиссии. Хронический гастродуоденит, период ремиссии. При поступлении жалоб не предъявляла. Госпитализирована в плановом порядке для проведения СИТ. Из анамнеза: первые высыпания появились на коже в локтевых сгибах и на щеках в 1,5-2 года. Причиной их появлений служило употребление в пищу сырой моркови, красных и зеленых яблок, цитрусовых, шоколада. В 1992 году пролечен дисбактериоз кишечника, после чего состояние кожи улучшилось: высыпания исчезли, но сохранялась сухость кожи. С 1998 года течение заболевания приобрело рецидивирующий характер, с обострением в осенне-зимний период. Отмечает аллергическую реакцию в виде зуда и покраснения кожи на всей поверхности тела при употреблении в пищу цитрусовых, шоколада, сырой моркови, красных и желтых яблок. Аллергологическое тестирование, путем внутрикожных проб, выявило сенсibilизацию к домашней пыли +++++, библиотечной пыли +++++, микст деревьев (береза, ольха) ++, микст злаковых трав (мятлик, овсяница) +++, микст сорных трав (лебеда, полынь) ++. По данным ультразвукового исследования дано заключение: признаки хронического холецистита. До СИТ: Индекс

SCORAD – 30,8. Иммунологическое исследование: CD3⁺ – 39% (0,85 Г/л), CD4⁺ – 24% (0,55 Г/л), CD8⁺ – 13% (0,28 Г/л), CD22⁺ – 10% (0,22 Г/л), IgM – 1,4 г/л, IgG – 9,5 г/л, IgA – 1,4 г/л, IgE – 396 МЕ/мл, ЦИК – 0,076 опт.ед., НСТ-тест спонтанный – 10%, НСТ-тест стимулированный – 12%; РБТЛ спонтанная – 10%, РБТЛ стимулированная ФГА – 83%; содержание ИЛ-2 в культуральной жидкости спонтанной РБТЛ – 2,1 МЕ/мл, содержание ИЛ-2 в культуральной жидкости стимулированной ФГА РБТЛ – 2,5 МЕ/мл; содержание ИФН-γ в культуральной жидкости спонтанной РБТЛ – 200 пг/мл, содержание ИФН-γ в культуральной жидкости стимулированной ФГА РБТЛ – 410 пг/мл; количество CD28⁺-лимфоцитов – 10% (0,22 Г/л). Гистологическая характеристика эпидермиса кожи: толщина рогового слоя – 0,0199 мм, зернистого слоя – 0,0019 мм, шиповидного слоя – 0,0180 мм, базального слоя – 0,0131 мм; количество митозов в эпидермоцитах базального слоя – 3/1000 клеток базального слоя. После СИТ: Высыпания появляются только при нарушении диеты, однако, сохраняется сухость кожи. Индекс SCORAD – 9,1. Иммунологическое исследование: CD3⁺ – 41% (1,06 Г/л), CD4⁺ – 23% (0,59 Г/л), CD8⁺ – 17% (0,44 Г/л), CD22⁺ – 16% (0,42 Г/л), IgM – 1,9 г/л, IgG – 11,2 г/л, IgA – 1,6 г/л, IgE – 150 МЕ/мл, ЦИК – 0,076 опт.ед., НСТ-тест спонтанный – 4%, НСТ-тест стимулированный – 8%; РБТЛ спонтанная – 7%, РБТЛ стимулированная ФГА – 80%; содержание ИЛ-2 в культуральной жидкости спонтанной РБТЛ – 3,8 МЕ/мл, содержание ИЛ-2 в культуральной жидкости стимулированной ФГА РБТЛ – 5,2 МЕ/мл; содержание ИФН-γ в культуральной жидкости спонтанной РБТЛ – 230 пг/мл, содержание ИФН-γ в культуральной жидкости стимулированной ФГА РБТЛ – 480 пг/мл; количество CD28⁺-лимфоцитов – 15% (0,39 Г/л).

Таким образом, у данных пациентов выявлены гистологические изменения в эпидермисе в виде гиперкератоза и некоторой тенденцией к акантозу. Имели место иммунологические нарушения, проявляющиеся на количественном (уменьшение количества CD3⁺ -, CD8⁺-лимфоцитов) и функциональном (уменьшение продукции цитокинов ИЛ-2 и ИФН-γ), что соответствует

патогенезу первого типа аллергических реакций. После СИТ отмечалась нормализация иммунологических показателей и клинических проявлений заболевания, что свидетельствует об эффективности СИТ при atopическом дерматите.

Заключение

Атопический дерматит – хроническое воспалительное заболевание кожи, в механизме которого ведущее значение придается иммунным нарушениям.

Актуальность проблемы атопического дерматита связана с тем, что в последние десятилетия XX столетия отмечается постоянное увеличение числа людей страдающих АД, и заметное утяжеление клинических проявлений дерматита в различных возрастных группах [127]. Причем до настоящего времени нет достаточно полных данных о патогенезе формирования иммунопатологии кожи и механизмах, лежащих в основе зуда.

То, что кожа является защитной оболочкой человеческого организма известно давно. Однако только в 80-е гг. XX века было доказано, что она служит не только местом реализации иммунологических процессов, но и активно участвует в них, выполняя одновременно роль центрального и периферического органа иммуногенеза [148].

Сведений о механизмах иммунного ответа на уровне целого организма, в настоящее время накоплено много, однако с развитием новых концепций в иммунологии, большое значение придается роли костимулирующих молекул. Тем не менее, значительно меньше данных об иммунологических функциях кожи. Что же касается роли эпидермиса в иммунных реакциях кожи, то он пока только в самом начале своего решения. Поэтому мы и решили выявить роль эпидермиса и костимулирующей молекулы CD28 в развитии АД.

В течение 2000-2002 гг. было обследовано 81 пациент с АД (мужчины и женщины) в возрасте от 15 до 50 лет и 30 добровольцев в возрасте от 20 до 22 лет (обоих полов). Все пациенты находились на стационарном лечении и под диспансерным наблюдением в ООО «Центре иммунопатологии» г. Томска. Диагноз устанавливался согласно общепринятым критериям патологии. Из общего числа пациентов 32 пациента находились в состоянии обострения, а 49 пациентов в состоянии ремиссии. 35 пациентов с АД в состоянии ремис-

сии проходили курс специфической иммунотерапии причинно-значимым аллергеном.

Всем пациентам с АД до проведения курса СИТ и после лечения проводили оценку степени тяжести при помощи индекса SCORAD. Проанализировав полученные нами данные, мы пришли к выводу, что индекс SCORAD более информативен при характеристике АД и его тяжести у конкретного пациента, а не в группе. Также этот индекс позволяет оценить эффект от проводимого лечения. Аналогичные суждения можно наблюдать в научных работах других исследователей [41, 50].

Обобщая наши результаты, мы пришли к выводу о том, что даже при отсутствии видимых изменений, кожа больных АД характеризуется определенными патогистологическими изменениями: во-первых, гиперкератозом; во-вторых, акантозом и некоторой тенденцией к паракератозу, особенно четко проявляющейся у больных АД II группы. Стоит отметить, что подобные клинические исследования гистологического состояния кожи поврежденной и неповрежденной воспалительным процессом у пациентов с АД проведено в нашей работе впервые.

Оценивая клеточный инфильтрат эпидермиса больных АД путем подсчета количества В-лимфоцитов, плазматических клеток, тучных клеток и эозинофилов, мы не обнаружили этих клеток в эпидермисе.

Очаги воспаления в коже являются следствием иммунной дисфункции на уровне целого организма. Поэтому целесообразно рассматривать не только гистологические изменения в коже, но и иммунологические механизмы развития АД на уровне системного иммунитета.

Как известно, атопический дерматит сопровождается нарушением иммунной системы организма. По существующим представлениям важнейшим звеном иммунной дисфункции при АД следует считать Т-клеточное звено. Дефект клеточного иммунитета проявляется на всех уровнях: количественном (уменьшение числа Т-клеток) и функциональном (нарушение продукции цитокинов) [24, 66]. СИТ рассматривается как способ коррекции лежащих в

основе заболевания иммунологических нарушений. Успешное лечение обычно приводит к нормализации состояния клеточного иммунитета [40, 95, 129].

Полученные нами результаты иммунологических изменений у больных атопическим дерматитом: уменьшение количества $CD3^+$ -, $CD8^+$, $CD4^+$ -лимфоцитов, увеличение $CD22^+$ -лимфоцитов, IgE, ЦИК, не противоречат данным литературы [40, 142], и соответствуют патогенезу I типа аллергических болезней [37, 72, 73, 102, 129]. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о несовершенстве гуморального иммунитета, нарушением соотношения субпопуляций Т-лимфоцитов, которые могут способствовать частому микробному инфицированию и рецидивирующему течению бактериальных инфекций. Известно, что у 80-95% больных АД *St.aureus* является доминирующим микроорганизмом, определяемым на пораженных участках кожи [129, 205, 206].

К числу наиболее значимых иммунологических нарушений при АД относят дисбаланс TH1 и TH2 субклассов Т-клеток [15, 40, 55, 82, 146]. В организме больных атопическими заболеваниями, в том числе и АД, резко повышено содержание TH2-клеток, тогда как у здоровых людей преобладают TH1-клетки [34, 36]. Две субпопуляции TH разделяются по выделяемым ими лимфокинам. Одними из секреторных маркеров TH1 являются продуцируемые ими ИЛ-2 и ИФН- γ , а основным продуктом TH2 – ИЛ4 [210, 212]. Высокая активность TH2-клеток у больных атопией приводит к подавлению функциональной активности TH1-клеток. Подавление функции TH1 и снижение продуцируемых ими ИЛ-2 и ИФН- γ ведет к недостаточности клеточного иммунитета [82, 111, 154].

В настоящее время все большее значение приобретает разработка методов предупреждения и лечения атопических заболеваний. Наиболее испытанным и эффективным методом лечения является СИТ. Основная задача СИТ состоит в восстановлении естественной толерантности организма к аллергенам внешней среды [35, 142, 146]. Одним из патогенетических меха-

низмов является возможность переключения в ходе лечения ТХ2-ответ на ТХ1-ответ [35, 142, 146, 183]. Для проверки этого предположения мы оценивали изменения функциональной активности Т-хелперов 1 типа, определяя продуцируемые им ИЛ-2 и ИФН- γ , до и после СИТ.

Анализируя, содержание ИЛ-2 и ИФН- γ в культуральной жидкости различных модификаций РБТЛ у пациентов с АД до проведения СИТ, мы наблюдали снижение содержания этих цитокинов по сравнению с группой здоровых добровольцев. После проведения лечения имело место повышение наработки ИЛ-2 и ИФН- γ Т-лимфоцитами у пациентов с АД, что говорит об эффективности лечения и перестройке характера клеточного и цитокинового ответа на аллергенную нагрузку в ходе СИТ. Динамику изменения наработки ИЛ-2 у пациентов с atopическим дерматитом можно объяснить и влиянием костимулирующей молекулы CD28. Как известно, смысл костимулирующего эффекта, возникающего при связывании CD28, состоит во взаимодействии сигналов, поступающих от этой молекулы и от рецепторов, что приводит к усилению экспрессии ИЛ-2 и его рецептора [137, 138, 152, 207, 209, 229]. Таким образом, определение уровня ИЛ-2 в культуральной жидкости можно использовать в качестве критерия оценки эффективности СИТ и активности аллергического процесса у пациентов с atopическим дерматитом.

Ключевая роль в запуске активации Т-хелпера и стимуляции антиген-презентирующих клеток принадлежит костимулирующим молекулам [137, 207, 209]. В последние годы появилось много работ, в которых изучается роль костимулирующих молекул, в частности CD28 [37, 39, 137, 138, 151, 152, 162, 171, 188, 207, 209, 221]. Однако не проводилось исследования о роли костимулирующих молекул при аллергических заболеваниях. В настоящей работе определялись CD28⁺-лимфоциты у пациентов с atopическим дерматитом до и после специфической иммунотерапии.

Исходно у пациентов с АД отмечался высокий уровень CD28⁺-лимфоцитов по сравнению с группой здоровых доноров. CD28⁺ – это маркер

активации Т-лимфоцитов, а так как при АД идет постоянный иммунный ответ на аллерген, то мы и регистрировали повышенный уровень CD28⁺-лимфоцитов у пациентов с АД. После проведения СИТ наблюдалось нарастание содержания CD28⁺-лимфоцитов у больных атопическим дерматитом. С учетом иммунологических изменений и улучшением клинической картины (отсутствие симптомов заболевания) у пациентов с АД после СИТ, можно предположить, что костимулирующий сигнал, опосредованный CD28 молекулой более важен для активации Т-лимфоцитов, как предполагали некоторые авторы [138, 139].

Проведенный корреляционный анализ позволил оценить степень влияния различных факторов (клинических особенностей течения заболевания, гистологического строения кожи пациентов с АД и состояния иммунной системы этих людей) на конечный результат лечения и течение заболевания.

При проведении корреляционного анализа отмечены положительная связь между степенью тяжести атопического дерматита, оцениваемого по индексу SCORAD и количеством CD28⁺-лимфоцитов до СИТ ($r=0,84$, $p<0,05$), а после СИТ отрицательная связь ($r = -0,92$, $p<0,05$). Полученные данные свидетельствуют о том, что тяжесть течения атопического дерматита, сопряжена с усилением роли ТХ1-порядка. Это предположение подтверждается положительной корреляционной связью ($r = 0,71$, $p<0,05$) между степенью тяжести АД и утолщением рогового слоя (гиперкератоз), а также между количеством CD28⁺-лимфоцитов и выраженностью гиперкератоза ($r = 0,76$, $p<0,05$).

Выводы

1. При atopическом дерматите в процессе терапии отмечается увеличение количества лимфоцитов, несущих костимулирующую молекулу CD28.
2. После проведения специфической иммунотерапии снижается индекс SCORAD, наблюдается частичное восстановление баланса TH1/TH2, что проявляется повышением уровня ИЛ-2, количества CD28⁺-лимфоцитов, при этом, однако, сохраняется низкий уровень продукции ИФН- γ .
3. Гиперкератоз определяет морфологическую картину изменений в неповрежденных воспалительным процессом участках эпидермиса кожи при atopическом дерматите.
4. Степень тяжести atopического дерматита, выраженность гистологических изменений кожи и частичное восстановление баланса TH1/TH2 коррелируют с количеством CD28⁺-лимфоцитов, что свидетельствует о регулирующей роли костимулирующей молекулы CD28 в патогенезе atopического дерматита.

Список литературы

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия /Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990. – 384с.
2. Адаскевич В.П. Эозинофильные болезни кожи /В.П. Адаскевич, О.С. Зыков//Иммунология, аллергология, инфектология. – 1999. – №1. – С.74-80.
3. Адо В.А. Аллергия: сто вопросов и ответов /В.А.Адо. – М.: Медицина, 1988. – 224с.
4. Антоньев А.А. Об общепатологических закономерностях патогенеза аллергических дерматозов /А.А. Антоньев, В.П. Прохоренков//Вестник дерматологии и венерологии. – 1995. – №2. – С.20-22.
5. Атопический дерматит и геликобактериоз у взрослых в условиях микстпатологии. Сообщение 1. Клинико-морфологические параллели поражения кожи и слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки /Н.И. Ахметов, Т.В. Соколова, И.Г. Пащенко, Т.Я. Тарарак// Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2002. – №2 – С.14-20.
6. Атопический дерматит: типы течения и катамнез /Н.В. Кунгуров, Ю.С. Смолкин, М.М. Кохан, Ю.В. Кениксфест// Педиатрия. – 2001. – №2. – С.9-12.
7. Атопический синдром /Ю.К.Скрипкин, С.М.Федоров, В.А. Адо и др.// Вестник дерматологии и венерологии. – 1995. – №2. – С.17-19.
8. Балаболкин И.И. Атопический дерматит у детей /И.И. Балаболкин, В.Н. Гребенюк. – М.: Медицина, 1999. – 240с.
9. Балаболкин И.И. Пищевая аллергия у детей /И.И. Балаболкин// Аллергология. – 1999. – №1. – С.43-46.
10. Балаболкин И.И. Особенности иммунного ответа у детей с аллергическими заболеваниями и их иммунокорректирующая терапия /И.И. Балаболкин// Педиатрия. – 1994. – №5. – С.62-66.

11. Балаболкин И.И. Проблема аллергии в педиатрии /И.И. Балаболкин// Российский педиатрический журнал. – 1998. – №2. – С.49-52.
12. Балакина Н.Н. Роль микробной флоры кишечника в возникновении аллергических дерматозов /Н.Н. Балакина, Л.М. Звягина, Б.А. Зенин// Вестник дерматологии и венерологии. – 1983. – №4. – С.56-60.
13. Балдуева И.А. Система дендритных клеток и ее роль в регуляции функциональной активности Т- и В- лимфоцитов человека /И.А. Балдуева, А.М. Моисеенко, К.П. Хансон// Вопросы онкологии. – 1999. – Т.45, №5. – С.473-483.
14. Беклемишев Н.Д. Т-хелпер 2 – ключевая клетка противометазойного иммунитета и реакций аллергии немедленного типа /Н.Д.Беклемишев// Иммунология. – 1995. – №5. – С.4-9.
15. Беклемишев Н.Д. Положительные обратные связи в механизмах иммунного ответа /Н.Д.Беклемишев// Иммунология. – 1998. – №5. – С.15-22.
16. Бережная Н.М. В-лимфоциты и патогенез atopических заболеваний /Н.М.Бережная// International journal on immunorehabilitation. – 1997. – №6. – С.101-108.
17. Бобкова Л.П. Гетерогенность дисфункции иммунитета и клинко-патогенетические особенности различных atopических заболеваний /Л.П. Бобкова, И.А. Петровская// Иммунология. – 1986. – №6. – С.35-40.
18. Болотников И.А. Участие ИЛ-2 в дифференцировке Т-клеток и развитии неспецифической цитотоксичности /И.А. Болотников, А.Г. Анисимов// Иммунология. – 1994. – №2. – С.17-23.
19. Бутов Ю.С. Atopический дерматит: вопросы этиологии, патогенеза, методы диагностики, профилактики и лечения /Ю.С. Бутов, О.А. Подолнич// Русский медицинский журнал. – 2002. – Т.10, №4. – С.176-180.
20. Виленчик Б.Т. Кожные и венерические болезни. Учебное пособие /Б.Т. Виленчик. – Мн.: Амалфел, 1999. – 224с.

21. Влияние комплексной терапии с препаратом Амиксин на продукцию цитокинов и уровень IgE у больных атопическим дерматитом /В.Б. Гервазиева, Г.М. Димиева, Т.П. Оспельникова, С.С. Григорян// International journal on immunorehabilitation. – 2000. – №1. – С.61-66.
22. Влияние костимуляции антителами к CD28 и интерлейкинами 2 и 4 на мононуклеарные клетки крови новорожденных детей, активированные антителами к CD3⁺ /В.Ю. Талаев, Т.Е. Заботина, Е.Б. Талаева и др.// Иммунология. – 1999. – №3. – С.29-31.
23. Галактионов В.Г. Иммунология /В.Г. Галактионов. – М.: Из-во МГУ, 1998. – 480с.
24. Гервазиева В.Б. Взаимосвязь IgE с циркулирующими иммунными комплексами при атопическом дерматите /В.Б. Гервазиева, О.В. Годун, О.В. Грабовская// Иммунология. – 1992. – №6. – С.28-30.
25. Глухенький Б.Т. Клинические формы атопического нейродермита /Б.Т. Глухенький, С.А. Грандо// Вестник дерматологии и венерологии. – 1990. – №4. – С.37-42.
26. Голофеевский В.Ю. Сочетанная окраска гистологических срезов основным коричневым и прочным зеленым /В.Ю. Голофеевский, С.Г. Щербак// Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. - 1987. –Т.92, №4. – С.101-102.
27. Гольдберг Е.Д. Справочник по гематологии /Е.Д. Гольдберг. – Томск: Изд-во ТМУ, 1989. – 369с.
28. Гольдштейн Л.М. Динамика уровня иммуноглобулинов у больных аллергическими дерматозами и в сочетании с хронической ЛОР-инфекцией /Л.М. Гольдштейн, В.С. Медвиль// Вестник дерматологии и венерологии. – 1983. – №7. – С.51-52.
29. Гомберг М.А. Атопический дерматит /М.А. Гомберг, А.М. Соловьев, В.А. Аковбен// Русский медицинский журнал. – 1998. – Т.6, №20. – С.1328-1335.

30. Горячкина Л.А. Современные антигистаминные препараты в лечении аллергических заболеваний /Л.А. Горячкина// Русский медицинский журнал. – 2001. – Т.9, №21. – С.945-950.
31. Горячкина Л.А. Специфическая иммунотерапия аллергических заболеваний /Л.А. Горячкина, Н.Г. Астафьева. – Саратов, 1998. – 305с.
32. Гребенюк В.Н. Прогресс в наружной кортикостероидной терапии атопического дерматита у детей /В.Н. Гребенюк, И.И. Балаболкин// Педиатрия. – 1998. – №5. – С.88-91.
33. Гущин И.С. Аллергическое воспаление и его иммунологический контроль /И.С. Гущин. – М.: Фармарус-Принт, 1998. – 250с.
34. Гущин И.С. Аллергическое воспаление и его фармакологический контроль /И.С. Гущин. – М.: Фармарус-Принт, 1998. – 252с.
35. Гущин И.С. Аллерген-специфическая иммунотерапия /И.С. Гущин// International journal on immunorehabilitation. –1997. – №7. – С.68-78.
36. Гущин И.С. Физиология иммуноглобулина Е (IgE) /И.С. Гущин// Российский физиологический журнал. – 2000. – Т.86, №3. – С.268-279.
37. Гущин И.С. Немедленная гиперчувствительность (аллергические реакции I типа) /И.С.Гущин// Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1993. – №1. – С.51-60.
38. Гущин И.С. Аллергия: аллергены, индукция и регуляция синтеза IgE /И.С.Гущин// Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1999. – №1. – С.24-32.
39. Гущин И.С. Физиология иммуноглобулина Е /И.С. Гущин// Аллергология и иммунология. – 2000. – Т.1, №1. – С.76-87.
40. Гущин И.С. Аллерген-специфическая иммунотерапия (гипосенсибилизация) /И.С. Гущин// Лечащий врач. – 2001. – №3. – С.4-14.
41. Данилычева И.В. Качество жизни у больных крапивницей и атопическим дерматитом /И.В. Данилычева, Н.И. Ильина// Consilium medicum. – 2001. – Т.3, №4. – С.184-187.

42. Денисов М.Ю. Реактивность и функциональное состояние верхних отделов пищеварительного тракта у детей с атопическим дерматитом /М.Ю. Денисов, М.Ф. Казначеева// Аллергология. – 1999. – №2. – С.7-9.
43. Зими́на И.В. Кожа как иммунный орган: клеточные элементы и цитокины /И.В. Зими́на, Ю.М. Лопухин, В.Я. Арион// Иммунология. – 1994. – №1. – С.8-15.
44. Значение колонизации кожи *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* для дифференциальной диагностики атопического дерматита /М.А. Мокроносова, А.Е. Максимова, А.П. Батуро и др.// Вестник дерматологии и венерологии. – 1997. – №5. – С.37-39.
45. Значение стафилококковой инфекции в манифестации и тяжелых обострениях детской экземы у детей раннего возраста /Н.А. Мазурина, В.К. Котлуков, Н.Ю. Егорова и др.// Педиатрия. – 1996. – №3. – С.60-63.
46. Иванов О.Л. Дерматиты /О.Л. Иванов, Т.А. Белоусова. – М.: Приложение к журналу. Здоровье, 2000. – 62с.
47. Игнатъева Г.А. Иммунная система и патология /Г.А. Игнатъева// патологическая физиология и экспериментальная терапия. 1997. – №4. – С.26-37.
48. Йегер Л. Клиническая иммунология и аллергология: В 3т /Л. Йегер. – М.: Медицина, 1990. – 3т.
49. Иммунологические методы /Под.ред. Г. Фримеля. – М.: Медицина, 1987. – 472с.
50. Индекс SCORAD-объективный и стандартизованный метод оценки поражения кожи при атопическом дерматите /Д.С. Коростовцев, И.В. Макарова, В.А. Ревякина, И.А. Горманов// Аллергология. – 2000. – №3. – С.39-43.
51. Кадагидзе З.Г. Цитокины и их использование в онкологии /З.Г. Кадагидзе// International journal on immunorehabilitation. – 1997. – №6. – С.47-56.

52. Казначеева Л.Ф. Оптимизация терапии больных атопическим дерматитом с учетом кислороднезависимой биоцидности нейтрофильных гранулоцитов /Л.Ф. Казначеева, Н.А. Рычкова, Н.А. Манансин, Е.Л. Жиленко// Аллергология. – 2000. – №2. – С.12-14.
53. Калантаевская К.А. Морфология и физиология кожи человека /К.А. Калантаевская. – Киев: Здоров'я, 1972. – 268с.
54. Кетлинский С.А. Роль Т-хелперов 1-го и 2-го типов в регуляции клеточного и гуморального иммунитета /С.А. Кетлинский// Аллергия, астма и клиническая иммунология. – 2000. – №8. – С.87-91.
55. Кетлинский С.А. Цитокины мононуклеарных фагоцитов в регуляции реакции воспаления и иммунитета /С.А. Кетлинский, Н.М. Калинина// Иммунология. – 1995. – №3. – С.30-44.
56. Клетки Лангерганса при контактной гиперчувствительности, вызванной платиноидами, и атопическом дерматите /В.И. Прохоренков, Д.Н. Мисенко, Н.А. Гасич и др.// Вестник дерматологии и венерологии. – 1995. – №2. – С.4-7.
57. Климов В.В. Тест восстановления нитросинеготетразолия, стимулированный пирогеналом /В.В. Климов, Т.В. Кошовкина// Лабораторное дело. – 1982. – №10. – С.624-625.
58. Клинико-патогенетические аспекты функциональных нарушений кишечника у детей с атопическим дерматитом /М.Ю. Денисов, Л.Ф. Казначеева, В.А. Шкурупий и др.// Аллергология. – 2000. – №1. – С.6-9.
59. Клинические и патоморфологические аспекты гастроинтестинальной гиперреактивности у детей с атопическим дерматитом /М.Ю. Денисов, В.А. Шкурупий, Л.Ф. Казначеева, А.П. Надеев// Аллергология. – 2001. – №2. – С.12-16.
60. Кондратенко И.В. Интерлейкин-2 и его роль в развитии иммунодефицитов и других иммунопатологических состояний /И.В. Кондратенко, А.А. Ярилин, Л.Н. Хахалин// Иммунология. – 1992. – №1. – С.6-10.

61. Кормейн Р.Х. Иммунология и болезни кожи /Р.Х. Кормейн, С.С. Асгор. – М.: Медицина, 1983. – 256с.
62. Короткий Н.Г. Применение стероида адвантана (метипреднизолона ацепоната) при лечении аллергодерматозов у детей /Н.Г. Короткий, А.В. Таганов// Вестник дерматологии и венерологии. – 2000. – №3. – С.61-63.
63. Кочергин Н.Г. Атопический дерматит /Н.Г. Кочергин// Российский журнал кожных и венерических болезней. – 1998. – №5. – С.59-64.
64. Кошевенко Ю. Механизмы клеточного иммунитета в коже /Ю.Кошевенко// Косметика и медицина. – 2001. – №3. – С.15-26.
65. Кубанова А.А. Кожные болезни (Иллюстрированный справочник) /А.А. Кубанова. – М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. – 184с.
66. Кунгуров Н.В. Иммунологические аспекты атопического дерматита /Н.В. Кунгуров// Вестник дерматологии и венерологии. – 1999. – №3. – С.14-17.
67. Кунгуров Н.В. Особенности пролиферативных процессов в эпидермисе больных с различными типами течения атопического дерматита /Н.В. Кунгуров, С.В. Сазонов, М.М. Кохан// Вестник дерматологии и венерологии. – 2000. – №4. – С.24-27.
68. Лакин Г.Ф. Биометрия /Г.Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1980. – 315с.
69. Лебедев К.А. Иммунограмма в клинической практике /К.А. Лебедев, И.Д. Понякина. – М.: Наука, 1990. – 187с.
70. Лиознер Л.Д. Клеточное обновление /Л.Д. Лиознер. – Л.: Медицина, 1966. – 270с.
71. Лусс Л.В. Аллергия и псевдоаллергия в клинике /Л.В. Лусс// Врач. – 1997. – №6. – С.7-9.
72. Лусс Л.В. Аллергодерматозы. Проблемы диагностики и терапии /Л.В.Лусс// Аллергия, астма и клиническая иммунология. – 1997. – №4. – С.24-29.

73. Лусс Л.В. Роль аллергии и псевдоаллергии в формировании аллергических заболеваний кожи /Л.В. Лусс// Аллергология. – 2000. – №3. – С.29-39.
74. Мазитова Л.П. Современные аспекты патогенеза и лечения аллергодерматозов у детей /Л.П. Мазитова// Русский медицинский журнал. – 2001. – Т.9, №11. – С.457-460.
75. Медуницын Н.В. Цитокины и аллергия, опосредованная IgE /Н.В. Медуницын// Иммунология. – 1993. – №5. – С.11-13.
76. Медуницын Н.В. Цитокины и аллергия /Н.В. Медуницын// Иммунология. – 1999. – №5. – С.5-9.
77. Меркулов Г.А. Курс патологогистологической техники /Г.А. Меркулов. – Изд-во «Медицина» Ленинградское отделение, 1969. – 424с.
78. Михайлов И.Н. Структура и функции эпидермиса /И.Н. Михайлов – М.: Медицина, 1979. – 240с.
79. Мокроносова М.А. Роль лейкотриенов в патогенезе аллергических заболеваний /М.А. Мокроносова, В.А. Адо, Ю.Н. Перламутров// Иммунология. – 1996. – №1. – С.17-20.
80. Мордвинов А.В. Клиническое изучение интерлейкина-2 /А.В. Мордвинов, В.И. Пурешь, А.С. Симаходский// Ревматология. – 1990. – №1. – С.50-55.
81. Мюллер В.Д. Т-клетки как мишени иммуномодуляции: новая стратегия в терапии аллергии /В.Д. Мюллер, Л. Йегер// Патологическая физиология и экспериментальной терапии. – 1999. – №1. – С.14-17.
82. Назаров П.Г. Атопический дерматит: Иммунологические аспекты /П.Г. Назаров, И.А. Горланов, И.Р. Милявская// Аллергология. – 1999. – №2. – С.28-33.
83. Намазова Л.С. Роль цитокинов в формировании аллергических реакций у детей /Л.С. Намазова, В.А. Ревякина, И.И. Балаболкин// Педиатрия. – 2000. – №1. – С.56-67.

84. Нарушение микрофлоры кишечника и иммунитета у детей с аллергическими дерматитами и их корреляция /Е.А. Лыкова, О.А. Мурашова, В.М. Бондаренко и др.// Российский педиатрический журнал. – 2000. – №4. – С.20-24.
85. Новиков Д.К. Клиническая аллергология /Д.К. Новиков. – Минск: Высшейшая школа, 1991. – 375с.
86. Новое в патогенезе и лечении атопического дерматита /И.Б.Трофимова, Л.А. Мишуриц, В.С. Гевондян и др.// Вестник дерматологии и венерологии. – 2001. – №2. – С.9-13.
87. Новые подходы к получению аллерговакцин /А.А. Бабахин, Р.В. Петров, Р.М. Хаитов, С.М. Андреев// Аллергия, астма и клиническая иммунология. – 1998. – №10. – С.1-4.
88. Оценка иммунного статуса человека при массовых исследованиях. Методические рекомендации для научных работников и врачей практического здравоохранения /Р.В. Петров, Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин и др.// Иммунология. – 1992. – №6. – С.51-62.
89. О профилактике и лечении аллергодерматозов /С.М. Федоров, Г.Д. Селицкий, Ю.Н. Перламутрова и др.// Вестник дерматологии и венерологии. – 1995. – №4. – С.11-13.
90. Пальцев М.А. Межклеточные взаимодействия /М.А. Пальцев, А.А. Иванов. – М.: Медицина, 1995. – 224с.
91. Пампура А.Н. Современные подходы к терапии атопического дерматита /А.Н. Пампура, А.А. Чебуркин, Ю.С. Смолкин// Лечащий врач. – 2000. – №4. – С.28-34.
92. Пастер Е.У. Иммунология: Практикум /Е.У.Пастер, В.В.Овод, В.К.Позур. – Киев: Из-во «Выща школа», 1989. – 304с.
93. Пащенко М.В. Основные свойства дендритных клеток /М.В.Пащенко, Б.В. Линегин// Иммунология. – 2001. – №4. – С.7-16.
94. Петрова С.Ю. Клиническое течение и иммунологическая система больных атопическим дерматитом при плацебо-терапии /С.Ю. Петрова,

- В.М. Бержец, Т.Ф. Быстрицкая// Российский медицинский журнал. – 2001. – №5. – С.19-21.
- 95.Петрова Т.И. Эффективность ускоренного метода СИТ детей с аллергическими заболеваниями /Т.И. Петрова, В.Б. Гервазиева, Г.А. Герасимова// Иммунология. – 1999. – №5. – С.39-41.
- 96.Пищевая непереносимость у детей: клинические формы, подходы к диагностике и лечению /К.С. Ладодо, Т.Э. Боровик, Е.А. Рославцева и др.// Педиатрия. – 1998. – №2. – С.77-82.
- 97.Полосьянц О.Б. Антигистаминные препараты от димедрола к телфасту /О.Б. Полосьянц, Е.Г. Силина, Л.С. Намазова// Лечащий врач. – 2001. – №3. – С.32-37.
- 98.Потапнев М.П. Цитокиновая сеть нейтрофилов при воспалении /М.П. Потапнев// Иммунология. – 1995. – №4. – С.34-40.
- 99.Потемкина А.М. Методы специфической диагностики у детей /А.М. Потемкина, Т.В. Клыкова. – Л.: Медицина, 1988. – 167с.
100. Продукция интерлейкина-2 у детей с атопическим дерматитом /И.И. Балаболкин, Л.С. Намазов, Л.В. Ковальчук, В.Г. Иванов//Педиатрия. – 1995. – №6. – С.44-46.
101. Пыцкий В.И. Аллергические заболевания /В.И. Пыцкий, Н.В. Адрианова, А.В. Артомасова. – М.: Издательство «Триада-Х», 1999. – 470с.
102. Пыцкий В.И. Атопия и группа атопических и псевдоатопических заболеваний /В.И. Пыцкий// Терапевтический архив. – 2000. – №10. – С.31-36.
103. Ревякина В.А. Современные аспекты терапии атопического дерматита у детей /В.А.Ревякина// Русский медицинский журнал. – 1999. – Т.7, №11. – С.516-519.
104. Ревякина В.А. Атопический дерматит: роль цитокинов в механизмах развития /В.А. Ревякина, Д.С. Коростовцев// Аллергология. – 2000. – №1. – С.40-48.

105. Роль лямблиоза в развитии аллергических дерматозов /У.К. Белуха, С.О. Осипова, Д.А. Кариева, Р.Н. Каримова// Вестник дерматологии и венерологии. – 1987. – №5. – С.60-62.
106. Роль цитокинов в патогенезе дерматозов /С.И. Федоров, В.А. Самсонов, Г.Д. Селицкий и др.// Вестник дерматологии и венерологии. – 1997. – №2. – С.16-18.
107. Роль цитокинов в регуляции взаимодействий между Т-хелперами 1 и 2 на клональном уровне /Т.В. Калиниченко, И.М. Дозморov, И.А. Сидоров, Е.В. Свирщевская// Иммунология. – 1996. – №3. – С.25-29.
108. Сазонова Н.Е.Гастроинтестинальные поражения при пищевой аллергии у детей /Н.Е. Сазонова// Российский педиатрический журнал. – 1996. – №6. – С.20-25.
109. Саркисов Д.С. Микроскопическая техника: Руководство /Д.С. Саркисов, Ю.Л. Петров. – М.: Медицина, – 1996. – 544с.
110. Сергеев Ю.В. Субпопуляции лимфоцитов у больных аллергическими дерматозами, оцененные с помощью моноклональных антител /Ю.В. Сергеев, В.С. Малышев// Лабораторное дело. – 1988. – №7. – С.50-53.
111. Симбирцев А.С. ИЛ-2 и рецепторный комплекс ИЛ-2 в регуляции иммунитета /А.С.Симбирцев// Иммунология. – 1998. – №6. – С.3-8.
112. Ситкевич А.Е. Профилактика и лечение аллергических заболеваний кожи: Справ. Пособие /А.Е. Ситкевич, А.Г. Казеко. – Минск: ИКК «Галаксиас», 1997. – 208с.
113. Скепьян Н.А. РБТЛ периферической крови в диагностике аллергии у больных хроническим бронхитом и бронхиальной астмы /Н.А. Скепьян, Е.В. Шершнева// Гигиена труда и профессиональные заболевания. – 1978. – №7. – С.34-37.
114. Скрипкин Ю.К. Кожные и венерические болезни. Учебник для врачей и студентов медицинских вузов /Ю.К. Скрипкин. – М.: «Триада-Х», 1999. – 668с.

115. Скрипкин Ю.К. Кожа – орган иммунной системы /Ю.К. Скрипкин, Е.М. Лезвинская// Вестник дерматологии и венерологии. – 1989. – №10. – С.14-18.
116. Скрипкин Ю.К. Хемотаксис нейтрофилов и его роль в патогенезе дерматозов /Ю.К. Скрипкин, Е.М. Лезвинская// Вестник дерматологии и венерологии. – 1986. – №6. – С.31-37.
117. Славин М.Б. Методы системного анализа в медицинских исследованиях /М.Б. Славин. – М.: Медицина, 1989. –304с.
118. Смирнова Г.И. Аллергодерматозы у детей /Г.И. Смирнова. – М. Бук, 1998. – 299с.
119. Смирнова Г.И. Дерматореспираторный синдром у детей /Г.И.Смирнова// Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2001. – №4. – С.64-68.
120. Смолкин Ю.С. Иммуноterapia при atopических заболеваниях у детей /Ю.С.Смолкин, В.П.Ветров, М.С.Страхова// Российский медицинский журнал. – 1998. – №6. – С.50-54.
121. Современные аспекты этиологии, патогенеза, клиники и фармакотерапии atopического дерматита /Н.Г. Короткий, А.А. Тихомиров, А.В.Таганов, М.В. Каражас// Лечащий врач. – 2000. – №10. – С.42-47.
122. Сравнительная оценка терапевтической эффективности элокома у больных atopическим дерматитом /Б.Н. Кривошеев, Ю.М. Криницына, Е.Г. Ефремова и др.// Вестник дерматологии и венерологии. – 2001. – №2. – С.48-51.
123. Старокожко Л.Е. Критерии эффективности лечения и реабилитации детей, больных нейродермитом /Л.Е. Старокожко// Вестник дерматологии и венерологии. – 1996. – №1. – С.25-26.
124. Субклассы иммуноглобулина G у детей с atopическим дерматитом /Н.Д. Дигилова, Т.Б. Сенцова, В.А. Ревякина и др.// Российский педиатрический журнал. – 2000. – №4. – С.24-27.

125. Суханов А.Ф. Роль внутриэпидермальных макрофагов (клеток Лангерганса) в структурно-функциональной организации эпидермиса /А.Ф.Суханов, О.Д. Мяделец// Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1988. – №4. – С.79-85.
126. Торопова Н.П. Экзема и нейродермит у детей /Н.П.Торопова, О.А. Синявская. – Екатеринбург, 1993. – 446с.
127. Торопова Н.П. Паразитарная фауна кишечника у детей, страдающих атопическим дерматитом. Аспекты диагностики и патогенеза (сообщение I) /Н.П.Торопова, Н.А. Сафронова, Л.М. Гордиева// Российский журнал кожных и венерических болезней. – 1998. – №2. – С.27-32.
128. Тухватуллина З.Г. Клетки Лангерганса /З.ГТухватуллина// Вестник дерматологии и венерологии. – 1994. – №5. – С.23-24.
129. Феденко Е.С. Атопический дерматит: обоснование поэтапного подхода к терапии /Е.С. Феденко// Consilium medicum. – 2001. – Т.3, №4. – С.176-183.
130. Феденко Е.С. Принципы патогенетической терапии атопического дерматита /Е.С. Феденко// Лечащий врач. – 2001. – №4. – С.4-11.
131. Феденко Е.С. Факторы риска развития атопического дерматита /Е.С. Феденко// Лечащий врач. – 2002. – №4. – С.20-23.
132. Федоров С.М. Иммунные механизмы развития аллергических дерматитов /С.М. Федоров, А.Н. Гура// Вестник дерматологии и венерологии. – 1999. – №6. – С.11-16.
133. Федоров С.М. Атопический дерматит /С.М. Федоров, М.Н. Шеклакова, И.Л. Пинсон// Русский медицинский журнал. – 2001. – Т.9. №3-4. – С.153-156.
134. Фрейдлин И.С. Ключевая позиция макрофагов в цитокиновой регуляторной сети /И.С. Фрейдлин// Иммунология. – 1995. – №3. – С.44-48.

135. Фрейдхельм Диел. Цитокины у больных с атопией и без атопии – влияние факторов внешней среды /Диел Фрейдхельм// Медицинская иммунология. – 2001. – Т.3,№1. – С.15-19.
136. Функционально-морфологические особенности тканевых базофилов крови человека по данным электронной микроскопии /В.П. Моеич, А.С. Костромин, Т.В. Андреев, М.В. Бобрик// Врачебное дело. – 1989. – №4. – С.63-65.
137. Хаитов Р.М. Физиология иммунной системы /Р.М.Хаитов// Российский физиологический журнал. – 2000. – Т.86,№3. – С.252-267.
138. Хаитов Р.М. Физиология и иммунитет /Р.М. Хаитов// Аллергия, астма и клиническая иммунология. – 2000. – №2. – С.3-16.
139. Хаитов Р.М. Иммунология /Р.М. Хаитов, Г.А. Игнатъева, И.Г. Сидорович. – М.: Медицина, 2000. –432с.
140. Хлыстова З.С. Участие эпидермиса кожи в системе иммуногенеза у человека /З.С. Хлыстова, И.И. Каменина, В.Х. Хавинсон// Иммунология. – 1993. – №3. – С.25-28.
141. Хопкин Ю.М. Причины атопии /Ю.М. Хопкин// Аллергология. – 1999. – №3. – С.3-6.
142. Хутуева С.Х. Аллерген – специфическая иммунотерапия бронхиальной астмы /С.Х. Хутуева, В.Н. Федосеева. – М.: Издательство «Экон», 2000. – 252с.
143. Цветкова Г.М. Патоморфологическая диагностика заболеваний кожи /Г.М. Цветкова, В.Н. Мордовцев. – М.: Медицина, 1986. – 304с.
144. Цветкова Г.М. Справочник по гистологической диагностике кожных заболеваний /Г.М. Цветкова, К.А. Калантаевская, Л.И. Сыч. – Киев: Здоров'я, 1981. – 248с.
145. Цветкова Л.Н. Атопический дерматит и состояние кишечника у детей /Л.Н. Цветкова, Э.И. Амиева, М.А. Кукушкина// Лечащий врач. – 2000. – №4. – С.16-17.

146. Цитокиновый профиль как критерий оценки специфической иммунотерапии при atopических аллергических заболеваниях /Ю.С. Лобкова, Н.И. Калинина, О.С. Лобкова и др.// Иммунология. – 1999. – №2. – С.35-38.
147. Черешнев В.А. Иммунология воспаления: роль цитокинов /В.А. Черешнев, Е.Ю. Гусев// Медицинская иммунология. – 2001. – Т.3, №3. – С.361-368.
148. Чернух А.М. Кожа (строение, функция, общая патология и терапия) /А.М. Чернух, Е.П. Фролов. – М.: Медицина, 1982. – 336с.
149. Шилов В.Н. Окислительный стресс кератиноцитов – этиопатогенетический фактор псориаза /В.Н. Шилов, В.И. Сергиенко// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2000. – №4. – С.364– 369.
150. Юрина Н.А. Гистология: Учебник /Н.А.Юрина, А.И. Радостина. – М.: Медицина, 1995. – 256с.
151. Ярилин А.А. Межклеточная кооперация при иммунном ответе /А.А. Ярилин//Вестник российской академии медицинских наук. – 1999. – №4. – С.25-29.
152. Ярилин А.А. Межклеточная кооперация при иммунном ответе. Выбор клеткой формы ответа /А.А. Ярилин// Иммунология. – 1999. – №1. – С.17-24.
153. Ярилин А.А. Симбиотические взаимоотношения клеток иммунной системы /А.А. Ярилин// Иммунология. – 2001. – №4. – С.16-20.
154. Ярилин А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и при патологии /А.А. Ярилин// Иммунология. – 1997. – №5. – С.7-14.
155. A CD28 – Associated signaling pathway heading to Cytokine Gene Transcription and T cell proliferation without TCR engagement /R. Sietfken, S. Klein-Hebling, E. Serfling et al.// J. Immunology. – 1998. – Vol.161, N4. – P.1645-1651.

156. A member of the dendritic cell family that enters B cell follicles and stimulates primary antibody responses identified by mannose receptor fusion protein /C. Berney, S. Herren, C. Power et al.// *J. Exp. Med.* – Vol.190, N6. – P.851-860.
157. A reduction in allergen – induction Fc epsilon R2/CD23 expression on peripheral B cell correlates with Successful hyposensitization in grass pollinosis /G.F. Jung, J.C. Prinz, E.P. Rieber, J.A. Ring// *J. Allergy Clin. Immunol.* – 1995. – Vol. 95, N1. – P.77-87.
158. Activation of CD4⁺ T cells, increased TH2-type cytokine mRNA expression, and eosinophil recruitment in bronchoalveolar lavage after allergen inhalation challenge in patients with atopic asthma /D. Robinson, Q. Hamid, A. Bentley, S.M.J. Ying// *J. Allergy Clin Immunol.* – 1993. – Vol.92, N8. – P.313-324.
159. Adhesion of epidermal Langerhans cells to keratinocytes mediated by E – cadherin /A. Tang, M. Amagai, L.G. Grander et al.// *Nature.* – 1993. – Vol.361, N6407 – P.82-85.
160. Antigen – dependent clonal expansion of a trace population of antigen-specific CD4⁺ T cells in vivo is dependent on CD28 costimulation and inhibited by CTLA-4 /E.R. Kearney, T.L. Walunas, R.W. Karr et al.// *J. Immunol.* – 1995. – Vol.155, N3. – P.1032-1036.
161. Atopic dermatitis /A. Wirter, R. Ringenbach, G. Lawlor, T. Fischer// In.: *Manual of Allergy and Immunology: Diagnosis and Therapy.* – 1984. – P.183-191.
162. B7-CD28/CTLA-4 costimulatory pathways are required for the development of T helper cell 2 – mediated allergic airway responses to inhaled antigens /A. Keane-Myers, W.C. Gause, P.S. Linsley et al.// *J. Immunol.* – 1997. – Vol.158, N5. – P.2042-2049.
163. Bacchereau J. Dendritic cells and control of immunity /J. Bacchereau, R.M. Steinman// *Nature.* – 1998. – Vol.392, N6673. – P.245-252.

164. Baskar S. Grass immunotherapy induces inhibition of allergen-specific human peripheral blood mononuclear cell proliferation /S. Baskar, R.G. Hamilton, P.S. Norman// *Int.Arch Allergy Immunol.* – 1997. – Vol.112, N1.-P.184-190.
165. Bieber T. Fc_ER I on human Langerhans cell: a receptor in search of new functions /T. Bieber// *Immunol. Today.* – 1994. – Vol.2, N5. – P.52-53.
166. Bieber T. IgE-bearing Langerhans cells are not specific to atopic eczema but are found in inflammatory skin diseases /T. Bieber, O. Braun-Falco// *J.Amer.Acad.Derm.* – 1991. – Vol.24, N5. – P.658-659.
167. Bluestone J.A. The B7 and CD28 receptor families /J.A. Bluestone, L.M. Nadler, C.B. Thompson// *Immunol. Today.* – 1994. – Vol.15, N6. – P.321-331.
168. Bradley L.M. A direct roll for IFN- γ in regulation of Th1 cell development /L.M. Bradley, D.K. Dalton, M. Croft// *J.Immunol.* – 1996. – Vol.157, N4. – P.1350-1358.
169. Circulating allergen-reactive T cell from patients with atopic dermatitis and allergic contact dermatitis express the skinselective homing receptor, the cutaneous lymphocyte-associated antigen /L.F. Santamaria-Babi, L.J. Picker, M.T. Perez-Sole et al.// *J.Exp.Med.* – 1995. – Vol.181, N5. – P.1935-1940.
170. Clark E.A. How T and B cells talk to each other /E.A. Clark, J.A. Ledbetter// *Nature.* – 1994. – Vol.367, N64-65. – P.425-428.
171. CD40 ligand (CD40 stimulation regulates the production of ifn- γ from human peripheral blood mononuclear cells in on IL-12 and/or CD28-dependent manner /J.F Mc Dyer, T.J. Goletz, E. Thomas et al.// *J.Immunol.* – 1998. – Vol.160, N4. – P.1701-1707.
172. CD80 (B7-1) Binds Both CD28 and CTLA-4 with a low affinity and very fast kinetics /P.A. Van der Merwe, D.L. Bodian, S. Daenke et al.//*J.Exp.Med.* – 1997. – Vol.185, N2. – P.393-404.

173. Coexpression and functional cooperation of CTLA-4 and CD28 on activated T lymphocytes /P.S. Linsley, J.L. Greene, P. Tan et al.// *J.Exp.Med.* – 1992. – Vol.176, N2. – P1595-1604.
174. Control of CD4 effector fate: transforming growth factor beta 1 and interleukin 2 synergize to prevent apoptosis and promote effector expansion /X. Zhang, L. Giangreco, H.E. Broome et al.// *J.Exp.Med.* – 1995. – Vol.182, N3. – P.699-706.
175. Cooper K.D. Atopic dermatitis: recent trends in pathogenesis and therapy /K.D. Cooper// *J.invest Derm.* – 1994. – Vol.102, N1. – P.128-137.
176. Corominas M. CD23 expression on B-lymphocytes and its modulation by cytokines in allergic patients /M. Corominas, M. Mestre, J. Bas// *Clin.Exp.Allergy.* – 1993. – Vol.23, N7. – P.612-617.
177. De Groot A.C. The frequency of contact allergy in atopic patients with dermatitis /A.C. De Groot// *Contact Dermatitis.* – 1990. – Vol.22, N5. – P.273-277.
178. Del Prete G. Human Th 1 and Th 2 lymphocytes: their role in the pathophysiology of atopy /G. Del Prete// *Allergy.* – 1992. – Vol.47, N10. – P.450-458.
179. Dendritic cells enhance growth and differentiation of CD40-activated B-lymphocytes /G. Dubois, B. Vanbervliet, J. Fayette et al.// *J.Exp.Med.* – 1997. – Vol.185, N5. – P.941-951.
180. Differential cytokine profiles in peripheral blood lymphocyte supernatants and skin biopsies from patients with different forms of atopic dermatitis, psoriasis and normal individuals /M. K. Kagi, B. Wuthrich, E. Montano et al.// *Int Arch Allergy Immunol.* – 1994. – Vol.103, N4. – P.332-340.
181. Differentiation of follicular dendritic cell and full antibody responses require tumor necrosis factor receptor-1 signaling /M. LeHir, H. Bluethman, M.H. Kosco-Vilbois et al.// *J.Exp.Med.* – 1996. – Vol.183, N5. – P.2367-2375.

182. Dissociation of Cytokine Signals for proliferation and apoptosis /Y. Shi, R. Wang, A. Sharma et al.// *J.Immunol.* – 1997. – Vol.159, N11. – P.5318-5328.
183. Durham S.R. New concepts of the mechanism of allergen specific immunotherapy /S.R. Durham// *Proceedings of XVI ECACI'95.* – Madrid, 1995. – P.701-707.
184. Endothelial Cells Modify the Costimulatory Capacity of Transmigrating Leukocytes and Promote CD28-mediated CD4⁺ T cell Activation /M.D. Denton, C.S. Geeham, S.I. Alexander et al.// *J.Exp.Med.* – 1999. – Vol.190, N4. – P.555-566.
185. Eosinophils and eosinophil-associated cytokines in allergic inflammation /A.B. Kay, L. Barata, Q. Meng, S.R. Durham// *Int Arch Allergy Immunol.* – 1997. – Vol.113, N1-3. – P.196-209.
186. Eosinophils-Quo, Vadis? The role of eosinophils in the Chemokine network of allergy /J. Elsner, A. Kapp, J.C. Virchow, W. Luftmann// *Modern Aspects of Immunobiology.* – 2001. – Vol.1, N2 – P.18-24.
187. Evidence suggesting involvement of interleukin-4 (IL-4) production in spontaneous in vitro IgE synthesis in patients with atopic dermatitis /S. Vollenweider, J.H. Saurat, M.C. Hauser et al.// *J. Allergy Clin Immunol.* – 1991. – Vol.87, N6. – P.1088-1095.
188. Expression of CD28 and CD86 by Human Eosinophils and Role in the secretion of Type 1 cytokines (interleukin 2 and interferon γ): Inhibition by immunoglobulin A Complexes /G. Woerly, N. Roger, S. Loiseau et al.// *J.Exp.Med.* – 1999. – Vol.190, N4. – P.487-495.
189. Expression of the costimulatory receptor CD30 is regulated by both CD28 and cytokines /M.C. Gilfillan, P.J. Noel, E.P. Pocach et al.// *J.Immunol.* – 1998. – Vol.160, N5. – P.2180-2187.
190. Hanifin J.M. Atopy and atopic dermatitis /J.M. Hanifin, K.D. Cooper, H.L. Roth// *J.Amer. Acad. Derm.* – 1986. – Vol.15, N5. – P.703-706.

191. Herrod H.G. Interleukins in immunologic and allergic disease /H.G.Herrod// *Ann Allergy*. – 1989. – Vol.63, N4. – P.269-272.
192. House dust mite immunotherapy results in a decrease in 2 specific IFN-gamma and IL-4 expression by circulating T lymphocytes /R.M. O'Brien, R.Fk. A.Byron, G.A. Varigos, W.R. Thomas// *Clin.Exp.Allergy*. – 1997. – Vol.27, N1. – P.46-51.
193. Humoral immune responses in CD40 ligand-deficient mice /B.R. Renshaw, W.C. Fanslow III, R.S. Armitage et al.// *J.Exp.Med*. – Vol.180, N6. – P.1889-1900.
194. Hurez D. The role of cytokines in allergic inflammation /D.Hurez// *Allerg Immunol.(Paris)*. – 1990. – Vol.22, N1. – P.19-27.
195. Hyperstimulatory CD1a⁺, CD1b⁺, CD36⁺ Langerhans cells are responses for increased autologous T lymphocyte reactivity to lesional epidermal cells of patients with atopic dermatitis /R.S.Taylor, O.Baadsgaard, C.Hammerberg, K.D.Cooper// *J.Immunol*. – 1991. – Vol.147, N6. – P.3794-3802.
196. IFN- γ is critical for long-term allograft survival induced by blocking the CD28 and CD40 ligand T cell costimulation pathways /B.T.Konieerny, Z.Dai, E.T.Elwood et al.// *J.Immunol*. – 1998. – Vol.160, N5. – P.2059-2064.
197. IL-4 and IFN (alpha and gamma) exert opposite regulatory effects on the development of cytolytic potential by Th1 or Th2 human T cell clones /P.Parronchi, M.De Carti, R.Manettu et al.// *J.Immunol*. – 1992. – Vol.149, N5. – P.2977-2983.
198. IL-4 selectively inhibits IL-2-triggered Stat 5 activation, but not proliferation, in human T cells /A. Catro, T.K. Sengupta, D.E. Ruiz et al.// *J.Immunol*. – 1999. – Vol.162, N3. – P.1261-1269.
199. Immune dysregulation in atopic eczema /J.D. Bos, E.A. Wierenga, J.H.S. Smitt et al.// *Arch Derm*. – 1992. – Vol.128, N12. – P.1509-1512.

200. Inhibition of Interleukin 2 signaling and Signal transducer and activator of transcription (STAT) 5 activation during T cell receptor-mediated feedback inhibition of T cell expansion /I. Lee, W.P. Li, K.B. Hisert et al.// *J.Exp.Med.* – 1999. – Vol.190, N9. – P.1263-1274.
201. Interferon-gamma in the treatment of atopic dermatitis, influence of T cell activation /J. Musia, M. Milewski, A. Undas et al.// *Allergy.* – 1995. – Vol.50, N6. – P.520-523.
202. Ishizaka K. Mechanisms of reaginic hypersensitivity and immunotherapy /K. Ishizaka, T. Ishizaka// *Lung.* – 1978. – Vol.155, N1. – P.3-32.
203. Kay A.B. T lymphocytes and their products in atopic allergy and asthma /A.B. Kay// *Int Arch Allergy Appl Immunol.* – 1991. – Vol.94, N4. – P.189-193.
204. Krummel M.F. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation /M.F. Krummel, J.P. Allison// *J.Exp. Med.* – 1995. – Vol.182, N2. – P.459-465.
205. Leung D.Y.M. Atopic dermatitis: immunobiology and treatment with immune modulators /D.Y. M.Leung// *Аллергия, астма и клиническая иммунология.* – 1998. – №3. – С.1-6.
206. Leung D.Y. Atopic dermatitis: immunobiology and treatment with immune modulators /D.Y. Leung// *Clin.exp. Immunol.* – 1997. – Vol.107, N1. – P.25-30.
207. Lenshaw D.J. CD28/B7 system of T cell costimulation /D.J. Lenshaw, T.L. Walunas, J.A. Bluestone// *Ann.Rev.Immunol.* – 1996. – Vol.14, N2. – P.233-258.
208. Linsley P.S. Distinct roles for CD28 and cytotoxic T lymphocyte-associated molecule-4 receptors during T cell activation? /P.S. Linsley// *J.Exp.Med.* – 1995. – Vol.182, N1. – P.289-292.
209. Linsey P.S. The role of the CD28 receptor during T cell responses to antigen /P.S. Linsey, J.A. Ledbelter// *Ann.Rev.Immunol.* – 1993. – Vol.11, N2. – P.191-221.

210. Macrophages induce cellular immunity by activating Th1 cell responses and suppressing Th2 cell responses /M. Desmedt, P. Rottiers, H. Dooms et al.// *J.Immunol.* – 1998. – Vol.160, N11. – P.5300-5308.
211. Mc Hugh S.M. Peripheral blood mononuclear cells from house dust mite allergic patients produce IL-2 in responses to specific allergen challenge /S.M. McHugh, P.J. Lachmann, P.W. Ewan// *Clin.Exp.Allergy.* – 1993. – Vol.23, N2. – P.137-144.
212. Miner K.T. Generation persistence, and modulation of Th0 effector cells: role of autocrine IL-4 and IFN- γ /K.T. Miner, M. Croft// *J.Immunol.* – 1998. – Vol.160, N11. – P.5280-5287.
213. Mossmann T.R. Two types of murine helper T cell clone /T.R. Mossmann, H. Cherwinski, M.W. Bond// *J.Immunol.* – 1986. – Vol.136, N7. – P.2348-2356.
214. Mossmann T.R. The expanding universe of T cell subsets: Th1, Th2 and more /T.R. Mossmann, S. Sad// *Immunol.Today.* – 1996. – Vol.17, N1. – P.138-146.
215. Mutational analysis of CD28-mediated costimulation of Jun-N-Terminal kinase and IL-2 production /C.Barz, T.Nogel, K.E.Truit, B.Imboden// *J.Immunol.* – 1998. – Vol.161, N10. – P.5366-5372.
216. Naive CD28-deficient T-cells can initiate but not sustain an vitro antigen-specific immune response /P.I. Lucas, K. Nakayama, L. Field, D. Loh// *J.Immunol.* – 1995. – Vol.157, N2. – P.636-642.
217. Nariuchi H. Cultivation and activation of Th1 and Th2 clones /H.Nariuchi// *Hum Cell.* – 1994. – Vol.7, N1. – P.125-130.
218. New insights in the structure and biology of the high affinity receptor for IgE (Fc epsilon R1) on human epidermal Langerhans cells /T. Bieber, S. Kraft, M. Jurgens et al.// *J. Derm. Sci.* –1996. – Vol.13, N1. – P.71-75.
219. Peripheral blood leukocyte subsets in atopic dermatitis effect of gamma interferon (Abstr.) /B. Blok, R.S. Taylor, A. Gonzalez et al.// *J.invest Dem.* – 1991. – Vol.96, N5. – P.604-612.

220. Positive and negative regulation of human T cell activation mediated by the CTLA-4/CD28 ligand CD80 /G.Boulougouris, J.D.McLeod, Y.I.Patel et al.// *J.Immunol.* – 1998. – Vol.161, N8. – P.3919-3924.
221. Qualitative and quantitative effects of CD28/B7-mediated costimulation on naïve T cells in vitro /S.P. Manickasingham, S.M. Anderton, C. Burkhardt, D.C. Wraith// *J.Immunol.* – 1998. – Vol.161, N8. –P.3827-3835.
222. Reciprocal regulatory effects of IFN-gamma and IL-4 on the in vitro development of human Th1 and Th2 clones /E. Maggi, P. Parronchi, R. Manetti et al.// *J.Immunol.* – 1992. – Vol.148, N5. – P.2145-2147.
223. Responsiveness to interleukin 4 and interleukin 2 of peripheral blood mononuclear cells in atopic dermatitis /M. Furue, M. Ohtsuki, F. Ogata, Y. Ishibashi// *J. invest. Derm.* – 1991. – Vol.96, N4. – P.468 – 472.
224. Rogers P.R. High antigen density and IL-2 are required for generation of CD4 effectors secreting Th1 rather than Th0 cytokines /P.R. Rogers, G. Huston, S.L. Swain// *J.Immunol.* – 1998. – Vol.161, N8. – P.3844-3852.
225. Role of antigen-induced cytokine release in atopic puritus /U. Lippert, A. Hoer, M. Moller et al.// *Int Arch Allergy Immunol.* – 1998. – Vol.116, N5. – P.36-39.
226. Role of type 1 and type 2 T helper cells in allergic diseases /M.L. Kapsenberg, H.M. Jansen, J.D. Bos, E.A. Wierenga// *Curr.Opin.Immunol.* – 1992. – Vol.4, N6. – P.788-793.
227. Sallusto I. Mobilizing dendritic cells for tolerance, priming and chronic inflammation /I. Sallusto, A. Lanravecchia// *J.Exp.Med.* – 1999. – Vol.189, N4. – P.611-613.
228. Second-hand smoke is an adjuvant for Thelper-2 responses in a murine model of allergy /B.W.P. Seymour, K.E. Pinkerton, K.E. Fribertshouser et al.// *J.Immunol.* – 1997. – Vol.159, N12. – P.6169-6175.
229. Shapiro V.S. Cutting edge: nuclear factor of activated T cells and AP-1 are insufficient for IL-2 promoter activation requirement for CD28 up-

- regulation of RE/AP /V.S. Shapiro, M.N. Mollenauer, A. Weiss// J.Immunol. – 1998. – Vol.161, N12. – P.6455-6458.
230. Skin derived aeroallergen-specific T-cell clones of Th2 phenotype in patients with atopic dermatitis /F.C.Van Reijssen, C.A.Bruijnzeel-Koomen, F.S.Kalthoff et al.// J.Allergy clin. Immunol. – 1992. – Vol.90, N1. – P.184-193.
231. Stam W.B. Pharmacologic modulation of Th1- and Th2- associated lymphokine production /W.B. Stam, A.J. Van Oosterhout, F.P. Nijkamp// Life Sci. – 1993. – Vol.53, N6. – P.1921-1934.
232. Strachan D.P. Allergy and family size a riddle worth solving /D.P.Strachan//Clin. Exp.Allergy. – 1997. – Vol.27, N2. – P.235-236.
233. T cell response to grass pollen allergens: correlation with skin test reactivity and serum IgE levels /B. Blaher, J.Mc Cluskey, R. Puy et al.// Immunol.Cell. Biol. – 1995. – Vol.73, N2. – P.17-22.
234. The cutaneous lymphocyte antigen is a skin lymphocyte homing receptor for the vascular lectin endothelial cell-leukocyte adhesion molecule 1 /E.L. Berg, T. Yoshino, L.S. Rott et al.// J.Exp.Med. – 1991. – Vol.174, N5. – P.1461-1466.
235. The relationship between anti-IgE auto-antibodies and the IgE response to wasp venom during immunotherapy /D.M. Kemeny, H. Tomioka, A. Tsutsumi et al.// Clin. Exp.Allergy. – 1990. – Vol.20, N1. – P.67-69.
236. Uehara M. Blood eosinophilia in atopic dermatitis /M. Uehara, R. Izukura, T. Sawai// Clin.exp.Derm. – 1990. – Vol.15, N3. – P.264-266.
237. Van-der-Heijden F.L. Relationship between facilitated allergen presentation and the presence of allergen-specific IgE in serum of atopic patients /F.L. Van-der-Heijden, R.S. Van-Neerven, M.L. Kapsenberg// Clin.exp.Immunol. – 1995. – Vol.99, N2. – P.289-293.
238. Van der Pounkraan. IgE production in atopic patients is not related to IL-4 production /Van der Pounkraan, R.C. Aalberse, L.A. Aarden// Clin.Exp.Immunol. – 1994. – Vol.97, N2. – P.254-259.

239. Walunas T.L. CTLA-4 ligation blocks CD28-dependent T cell activation /T.L. Walunas, C.Y. Bakker, J.A. Bluestone// J.Exp.Med. – 1996. – Vol.183, N6. – P.2541-2550.
240. Wustrow T.P. Interactions and biological mechanisms of action of molecular signal peptides.II.Interleukin 2 (IL-2) /T.P. Wustrow// HNO. – 1991. – Vol.39, N9. – P.323-331.