

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«АСТРАХАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

Иманвердиева Наида Адалат кызы

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ  
ФАКТОРОВ РОСТА У ДЕТЕЙ С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ НА ФОНЕ  
ИНФИЦИРОВАНИЯ ВИРУСОМ ПРОСТОГО ГЕРПЕСА  
И ПАРАЗИТАРНОЙ ИНВАЗИИ

Специальность 3.1.21 – Педиатрия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук, профессор  
Башкина Ольга Александровна

АСТРАХАНЬ – 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА I. СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ПРОБЛЕМЫ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	13
1.1. Современный взгляд на проблемы этиопатогенеза atopического дерматита у детей	13
1.2. Герпесвирусы как пусковой фактор atopического дерматита	23
1.3. Роль паразитарной инвазии в развитии atopического дерматита	26
1.4. Диагностическое значение фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста	29
ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	39
2.1. Общая характеристика исследования	39
2.2. Общая характеристика обследуемых пациентов	39
2.3. Методы исследования	44
2.3.1. Методы клинического обследования	44
2.3.2. Методы лабораторных исследований	45
2.3.3. Методы, используемые для разработки набора для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов	46
2.3.4. Методы статистической обработки данных	53
ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	56
3.1. Определение уровня фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста в плазме крови у здоровых детей и детей больных atopическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса	56
3.2. Диагностическое значение фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста у детей с atopическим дерматитом и atopическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса в зависимости от степени тяжести и длительности заболевания	74

3.3. Разработка набора для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов, изучение его чувствительности, специфичности и клинико-прогностической ценности у детей больных атопическим дерматитом и атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса	89
3.3.1. Исследование количества ДНК методом Qubit	90
3.3.2. Анализ чистоты препарата ДНК	91
3.3.3. Разработка универсальных праймеров	92
3.3.4. Оптимизация режимов амплификации	93
3.3.5. Оценка клинико-прогностической ценности разработанного набора для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов у детей с атопическим дерматитом и атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса	94
3.4. Корреляционные взаимосвязи между уровнем фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста у больных атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса	100
3.5. Алгоритм прогнозирования развития атопического марша у детей с атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса	112
ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	127
ВЫВОДЫ	147
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	148
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	149
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	150
ПРИЛОЖЕНИЕ	164

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 25–33% населения Земли страдают аллергическими заболеваниями. В том числе в общей структуре аллергических болезней у детей аллергодерматозы составляют более 50% случаев.

Атопический дерматит (АтД) — это наследственный, иммунонейроаллергический, хронический, рецидивирующий, сопровождающийся сильным зудом дерматит, возникающий в результате нарушения эпителиального барьера и связанной с ним иммунной дисрегуляции кожи у генетически предрасположенных лиц. Атопический дерматит обычно развивается в раннем детском возрасте и имеет характерное возрастное распределение. Атопический дерматит является относительно распространенным явлением, затрагивающим 10-20% детей в развитых странах [120]. Например, согласно данным официальной статистики, заболеваемость только АтД в РФ за последние 10 лет увеличилась у взрослого населения на 2,9% и составила 95,2 на 100 тысяч населения, а у детей на 34,9%, что составляет 1918,6 на 100 тысяч детского населения.

У пациентов с АтД наблюдается повышение общего уровня IgE, которое коррелирует с тяжестью заболевания [72]. У больных АтД также могут иметь место повышенные уровни аллерген-специфического IgE, что указывает на сенсibilлизацию, но не всегда указывает на клиническую аллергию, которая представляет значительные трудности в плане ведения пациентов, особенно это касается пищевой аллергии [75]. Основными медицинскими сопутствующими заболеваниями, связанными с АтД, являются инфекции, включая суперинфекцию золотистым стафилококком и герпетическую инфекцию кожи: однако, самыми частыми неприятностями для пациентов и их семей ста-

новятся хронический зуд и нарушения сна, а также затраченное время и расходы, связанные с лечением заболевания [93; 99; 127].

Проблема АтД важна для медицины, в частности для дерматовенерологии, педиатрии и детской аллергологии, чему свидетельствует распространённость и неуклонный рост данного заболевания среди детей во всем мире. Необходимо отметить, что в Российской Федерации частота встречаемости АтД у детей составляет до 30%, а в структуре аллергических заболеваний на его долю отводится до 75-80%, в связи с чем заболевание входит в реестр распространённых заболеваний детского возраста [66; 67].

Дебют заболеваемости наблюдается в раннем детском возрасте и у 60-70% детей отмечается на первом году жизни. На протяжении многих лет болезнь сохраняет свои клинические признаки, приобретая хроническое течение.

Имеющиеся в литературе данные о патогенезе АтД не позволяют более точно оценить влияние на течение заболевания различных нарушений иммунологического статуса организма детей, который может выступать как причина присоединения вторичной инфекции кожи. Частота осложненных форм АтД у детей в среднем составляет до 30% [30].

#### Степень разработанности темы исследования

В последнее время активно ведётся поиск различных диагностических и прогностических маркёров при АтД. Так, например, интерес представляет изучение вазоэндотелиального (VEGF) и эпидермального (EGF) факторов роста, которые вовлечены в различные патогенетические звенья АтД [21; 27; 29; 35; 36; 48; 51; 70; 72; 76; 78; 108; 130].

В перечне факторов, усугубляющих течение АтД, значимую роль играют возбудители простого герпеса 1-го и 2-го типов (ВПГ1 и ВПГ2) и оценка роли герпесвирусной инфекции в развитии (или обострении),

утяжелении и осложнении течения АтД является актуальной.

Анализ данных литературы по изучению патогенного влияния паразитозов на клиническое течение АтД у детей и подростков показывает, что на фоне интоксикационного синдрома с дерматологической симптоматикой АтД приобретает хроническое течение и зачастую сопровождается выраженными изменениями со стороны кожных покровов и слизистых оболочек [44; 62]. Патогенез этих изменений не до конца разработан и требует дальнейшего углубленного изучения.

Поэтому представляет интерес исследование роли фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста при atopическом дерматите, в том числе на фоне герпесвирусной инфекции, разработка набора для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов, а также изучения их клинического и прогностического значений при atopическом дерматите.

### Цель исследования

Установить прогностическое значение исследования уровня вазоэндотелиального и эпидермального факторов роста в плазме крови детей с atopическим дерматитом на фоне инфицирования вирусом простого герпеса и паразитарной инвазии.

### Задачи исследования:

1. Определить уровни фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста в плазме крови детей больных atopическим дерматитом и atopическим дерматитом на фоне инфицирования вирусом простого герпеса.

2. Установить клинико-прогностическое значение содержания фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста в зависимости от степени тяжести у детей больных atopическим дерматитом и atopическим дерматитом на фоне инфицирования вирусом простого герпеса.

3. Разработать набор для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов, изучить его чувствительность, специфичность и клинико-прогностическую ценность у детей больных atopическим дерматитом и atopическим дерматитом на фоне инфицирования вирусом простого герпеса.

4. Провести корреляционный анализ между показателями: фактор роста эндотелия сосудов А, эпидермальный фактор роста, наличие паразитарной инвазии и клинико-лабораторными данными у детей больных atopическим дерматитом и atopическим дерматитом на фоне инфицирования вирусом простого герпеса.

5. Разработать алгоритм индивидуального прогноза развития ассоциированной atopической патологии (бронхиальная астма и аллергический ринит/аллергический риноконъюнктивит) у детей с atopическим дерматитом на фоне инфицирования вирусом простого герпеса.

#### Научная новизна

Установлены региональные нормы уровней фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста в плазме крови у здоровых детей Астраханского региона.

Изучены уровни фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста у детей atopическим дерматитом и atopическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса.

Полученные данные об изменениях уровней фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста у детей с atopическим дермати-

том, инфицированных вирусом простого герпеса, расширяют представления о патогенезе заболевания и открывают перспективу способов лечения у больных данного профиля.

Впервые разработан набор для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов, изучена его чувствительность, специфичность и клиничко-прогностическая ценность у детей больных atopическим дерматитом и atopическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса.

Разработан алгоритм индивидуального прогноза развития «atopического марша» - ассоциированной atopической патологии (бронхиальная астма и аллергический ринит/аллергический риноконъюнктивит) у детей с atopическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса на основе исследования уровня фактора роста эндотелия сосудов А и ПЦР тестирования на наличие паразитарной инвазии.

С помощью ROC-анализа было установлено пороговое значение фактора роста эндотелия сосудов А для прогноза развития «atopического марша» у детей с atopическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса.

#### Теоретическая и практическая значимость работы

Уровни фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста в плазме крови у здоровых детей могут быть использованы в качестве контрольных значений у детей с различной патологией.

Разработанный набор для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов методом генетического типирования позволяет проводить скрининговую диагностику паразитарных инвазий у больных atopическим дерматитом детей Астраханского региона.



Предложенный алгоритм, позволяет спрогнозировать развитие «атопического марша» у детей с atopическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса.

Установленное пороговое значение вазоэндотелиального фактора роста - «точка деления» (cutoff) возможно использовать для прогноза развития «атопического марша» у детей с atopическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса.

### Методология и методы исследования

Исследование проводилось на клинической базе кафедры факультетской педиатрии ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России - ГБУЗ Астраханской области «Детская городская поликлиника № 1», ГБУЗ АО ОДКБ им. Н.Н. Силищевой в период с 2020г. по 2022г.

Методология исследования представлена теоретическим и практическим компонентами. Теоретическая составляющая работы представляла собой изучение и обобщение результатов предшествующих исследований в области системы знаний об АД и его патогенетических механизмах.

Практическая составляющая работы представлена комплексным обследованием 210 больных, из которых 140 пациентов в возрасте от 1 года до 12 лет с установленным диагнозом atopический дерматит и atopический дерматит на фоне инфицирования вирусом простого герпеса были включены в настоящее исследование. Детальная характеристика исследуемых пациентов представлена ниже в главе II «Материалы и методы исследования».

### Положения, выносимые на защиту:

1. Повышение уровней эпидермального и вазоэндотелиального фактора роста у детей с atopическим дерматитом, более выраженное ( $p < 0,001$ ) при

инфицировании вирусом простого герпеса, зависит от степени тяжести атопического дерматита и оказывает влияние на клинические показатели кератинизации и экссудации ( $p < 0,001$ ).

2. Инфицирование вирусом простого герпеса детей с атопическим дерматитом увеличивает интенсивность клинических симптомов ( $p = 0,046$ ), а повышение уровня вазоэндотелиального фактора роста ассоциировано с наличием аллергического ринита ( $p = 0,033$ ) и риноконъюнктивита ( $p = 0,036$ ), а также риском развития «атопического марша»

3. В группе детей атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса, имеющих сильную интенсивность клинических симптомов, у 95% детей выявлены паразитарные инвазии, с умеренной интенсивностью – у 56% детей.

4. Наличие паразитарной инвазии увеличивает шансы «атопического марша» в 14,8 раза (95% ДИ: 2,873-76,474), увеличение уровня VEGF на 1 нг/мл – увеличивает шансы «атопического марша» в 1,195 раза (95% ДИ: 1,045-1,359).

#### Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов обусловлена репрезентативностью и достаточным количеством наблюдений, адекватностью методов исследования, применением современных, апробированных и разрешённых к применению в России, оборудования, валидных отечественных, международных опросников и шкал, статистического анализа. На основании комплексного анализа проведенного исследования данных сформулированы аргументированные положения, выводы и практические рекомендации. Результаты исследования опубликованы в реферируемых изданиях и не получили критических замечаний.

Результаты исследования доложены на следующих конференциях: 103 Научно-образовательная конференция студентов и молодых ученых. Астрахань, 2022 г.; V Российский гастроэнтерологический конгресс с международным участием «Гастроэнтерология России от рождения до старости», Санкт-Петербург, 2022 г.; Международный медицинский форум «Вузовская наука. Инновации», Москва, 2019 г.; XII Международный Форум Дерматовенерологов и Косметологов – IFDC, Красногорск, 2019 г.; V Международная научно-практическая конференция «Основные проблемы в современной медицине», Волгоград, 2018г.; V Международная научно-практическая конференция «Проблемы современной медицины: актуальные вопросы», Красноярск, 2018г.; XVII межрегиональная научно-практическая конференция «Лекарство и здоровье человека», Астрахань, 2018г.; Международная научно-практическая конференция «Новейшие достижения и успехи развития медицины и фармакологии» Краснодар, 2018г.; Международная научно-практическая конференция «Приоритетные задачи и стратегии развития медицины и фармакологии», Тольятти 2018г.

Положения диссертации внедрены в практическую работу педиатрического отделения №1 и отделения аллергологии и иммунологии ГБУЗ АО «ОДКБ имени Н.Н. Силищевой».

Материалы диссертационной работы внедрены в работу кафедр факультетской педиатрии; госпитальной педиатрии и неонатологии; клинической иммунологии с курсом последипломного образования ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, используются при проведении лекций, практических занятий и семинаров со слушателями факультета послевузовского образования ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России по программам профессиональной переподготовки и повышения квалификации врачей.

## Публикации

По теме диссертации выполнены 10 научных работ, из них 1 научная статья в Российских журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки РФ, 1 статья в журнале из списка Web of Science, 1 патент на изобретение. Подана заявка на выдачу патента на изобретение №2023123441 «Способ прогнозирования развития атопического марша у ребёнка с атопическим дерматитом». Приоритет от 11.09.2023.

## Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, описания результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Работа изложена на 170 страницах машинописного текста, содержит 34 таблицы, 6 рисунков. Библиографический указатель включает 130 литературных источников, из которых 68 отечественных и 62 зарубежных авторов.

## Личный вклад автора

Личный вклад автора состоял в непосредственном участии во всех этапах диссертационной работы: в планировании научного исследования, наборе клинического материала, самостоятельном анализе отечественной и зарубежной научной литературы по теме исследования, систематизации полученных данных, их статистической обработке с описанием и концептуальном осмыслении полученных результатов.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Современный взгляд на проблемы этиопатогенеза атопического дерматита у детей

За последние несколько десятилетий были достигнуты определенные успехи в понимании сложного патогенеза атопического дерматита и представления о нем претерпели значительные изменения. Данная патология представляет собой сложное расстройство, в развитии которого играют роль разные факторы: генетика, барьерная функция кожи, иммунитет, факторы окружающей среды. Патогенетические механизмы, связанные с указанными факторами, часто накладываются один на другой, их синергизм способствует возникновению и дальнейшему развитию АтД. Несмотря на то, что знания о различных механизмах патогенеза постоянно совершенствуются, все же многие аспекты данного сложного процесса до сих пор остаются малоизученными. Следует разъяснить, что АтД является хроническим заболеванием, которое невозможно излечить полностью, но можно эффективно контролировать современными методами лечения, не допуская дальнейшего прогрессирования заболевания [20; 25; 120]. Возможно, более глубокое понимание патогенеза приведет к дальнейшему совершенствованию методов лечения и профилактики АтД.

Атопический дерматит (АтД) связан как с нарушением эпителиального барьера кожи, так и с аллергическим воспалением в коже больного, генетический фон которого обуславливает предрасположенность к атопии. Атопический дерматит наряду с пищевой аллергией появляются в первые годы жизни, являясь начальными этапами «атопического марша». Большое количество факторов окружающей среды, которые пока мало изучены, по-видимому, имеют решающее значение для развития атопического дерматита у генетически восприимчивых детей [82; 117].

В этом разделе будут рассмотрены некоторые особенности патогенеза, лежащие в основе развития АТД, включая нарушения кожного барьера и иммунной регуляции. Основное внимание уделено ранним механизмам патогенеза АТД, которые могут определять стратегии лечения и мишени для новых видов терапии.

#### *Роль барьерной функции кожи в патогенезе атопического дерматита*

Давно известно, в коже пациентов с АТД снижена барьерная функция. Еще исследования 50-летней давности показали повышенную трансэпидермальную потерю воды у больных атопическим дерматитом [127]. С открытием роли филаггрина (FLG), важного протеина в структуре эпидермиса, стало очевидно, что в большинстве случаев развития АТД, проблема заключается именно в наследственности. Вторичные проявления, например воспаление кожи и травмы после царапин затем приведут к дальнейшей барьерной дисфункции (зуд по-прежнему остается областью, малоизученной при атопическом дерматите). Кроме того, было показано, что воспаление и клеточные реакции при АТД снижают экспрессию FLG и, вероятно, других ключевых белков, что в последствии приводит к усугублению барьерной дисфункции [47; 90; 93].

В эпидермисе присутствует белок Филаггрин - полифункциональный белок, который подвергается сложной протеолитической обработке в процессе нормальной десквамации. Эта обработка обуславливает многочисленные функции ФЛГ в работе кожного барьера кожи, регулирует высвобождение натурального увлажняющего фактора (NMF), который способствует к удерживанию воды и гидратации кожи [124]. В последнее десятилетие было показано, что несколько мутаций с потерей функции FLG приводят к дефициту белка, снижению уровня NMF и развитию тяжелого раннего атопического дерматита и ихтиоза с выраженным повышением общего уровня IgE [96; 121]. Помимо влияния на структуру и функцию кожи, недостаточность гаплотипов FLG также может внести вклад в патогенез АТД различными путя-

ми, включая: влияние на pH кожи, стимуляцию экспрессии провоспалительных цитокинов, и беспрепятственный рост золотистого стафилококка [101; 105; 106]. Мутация FLG является основным фактором риска развития арахисовой аллергии, а также астмы. Причем последняя встречается только среди пациентов с сопутствующим АтД, который поддерживает эпикутанную сенсибилизацию при системном атопическом заболевании [31; 90].

#### *Особенности иммунного ответа у детей с атопическим дерматитом*

У детей с АтД имеются нарушения как адаптивного, так и врожденного иммунитета. Нарушение иммунных реакций и повышенный риск развития атопических заболеваний у части больных с АтД обусловлены барьерной дисфункцией и воздействием аллергенов. Однако существуют первичные иммунологические факторы, которые также вовлечены в патогенез. В некоторых случаях основной причиной дерматита является генетический иммунодефицит (например, синдром Джобса) [40]. Атопический признак, который обуславливает иммунный ответ (Th2) на повсеместно распространенные аллергены, вероятно, является сложным признаком с генетической предрасположенностью. При АтД часто повышен общий IgE, у многих детей повышен специфический IgE к аллергенам окружающей среды, таким как частицы пыли, травы, шерсть кошек и собак, пыльца [95; 115].

#### *Синдромы гипер-IgE.*

Среди больных атопическим дерматитом является распространенным повышением IgE, иногда до очень высоких значений. Это повышение является результатом Th2-опосредованного воспаления кожи, и уровни IgE значительно снижаются при улучшении контроля над воспалением. При генетических дефектах, приводящих к повышению уровня IgE (обычно называемых синдромами гипер-IgE, или HIES) - в результате доминантных негативных мутаций в STAT3, а также гипоморфных аутосомно - рецессивных мутаций в DOCK8 или PGM3, у пациентов возникает АтД в качестве основного компонента клинических фенотипов [83; 87; 126]. Несмотря на общее при этих

синдромах проявление в виде АтД, генетические причины HIES влияют на совершенно разные патогенетические пути: одни влияют на сигналинг цитокиновых рецепторов, другие – на перестройку клеточного цитоскелета, третьи - на общий паттерн клеточного гликозилирования. Механизмы, лежащие в основе аллергических фенотипов при HIES, являются областью активных исследований; однако, иммунная дисрегуляция, приводящая к усилению Th2-опосредованного воспаления, по-прежнему считается для этих синдромов общей.

*Влияние Th2-опосредованного воспаления на барьерную функцию кожи.*

В то время как дефекты кожного барьера, по-видимому, приводят к проявлению иммунологических факторов заболевания в виде АтД, избыточное Th2-опосредованное воспаление само по себе может вызывать нарушения целостности кожного барьера. FLG может непосредственно модулироваться цитокинами Th2: IL-13 и IL-4 [3]. Кроме того показано, что IL-10, IL-4 и IL-13 снижают экспрессию антимикробных пептидов (АМП) в кератиноцитах, а у пациентов с АтД наблюдается относительный дефицит продукции АМП [4; 5; 84]. Это может способствовать стафилококковой колонизации, повышению риска вирусных и бактериальных суперинфекций и ухудшению течения заболевания [113; 122].

*Нарушение многообразия CD4 + Т-клеток и Т-рег.*

CD4+ Т-клетки задействованы в развитии АтД. Многообразие Т-клеточных рецепторов (TCR) было оценено в  $2,5 \times 10^7$ , пул разнообразных человеческих CD4+ Т-клеток должен распознавать чужеродные агенты и оповещать систему адаптивных иммунных ответов [6]. Когда это разнообразие ограничено, как было замечено в педиатрической практике пациентов с ВИЧ с последующей иммунной перестройкой, наблюдается учащение случаев атопического дерматита [7]. Более тяжелый дефицит разнообразия может быть вызван гипоморфными генетическими мутациями в таких генах, как IL2RG, JAK3 или RAG, в которых пациенты имеют фенотип «с течью» –



представленный несколькими видами Т-клеток [8]. При подобных условиях может произойти значимое увеличение одной или нескольких клональных популяций, что приводит к формированию фенотипа синдрома Omenn с эритродермией, тяжелой экземой, высокими IgE и эозинофилией, проявляющихся часто с рождения [9]. Атипичный полный синдром DiGeorge также представляет собой подобный процесс и разделяет многие клинические особенности с синдромом Omenn, включая тяжелый атопический дерматит [10]. Снижение разнообразия TCR может также наблюдаться при прогрессирующих комбинированных иммунодефицитах, таких как дефицит DOCK8 и синдром Вискотта-Олдрича, которые связаны с умеренной или тяжелой формой АтД [11; 12].

То, что нарушение разнообразия TCR может приводить к развитию атопического дерматита, остается недоказанным. Имеются данные о том, что потеря регуляторных Т-клеток ( $CD25^{bright}CD127^{neg}FoxP3^{+}CD4^{+}$ ) может быть частью иммунопатогенеза АтД [110]. В пользу данной гипотезы свидетельствует патогенез X-сцепленного синдрома иммунной дисрегуляции, полиэндокринопатии и энтеропатии (IPEX), при котором из-за дефицита FoxP3 пациенты селективно теряют Т-регуляторные клетки (Трег) [26]. Для таких пациентов характерны: тяжелый атопический дерматит, высокие уровни IgE и эозинофилия, диарея и аутоиммунные реакции. Было показано, что у этих пациентов имеют место специфические функциональные дефекты Трег, которые, скорее всего, вносят вклад в фенотипические проявления, включающие развитие АтД и аллергических заболеваний [13]. Наконец, экзематозный дерматит и высокие уровни IgE являются характерными признаками острой реакции "трансплантат против хозяина" (РТПХ) [14]. Патогенез РТПХ сложен и обусловлен неадекватной и деструктивной аллергореактивностью донорских Т-клеток, при этом наблюдается снижение разнообразия TCR и олигоклональность с характерной потерей Трег [16; 17]. Примечательно, что до-

норская инфузия Трег показана для предотвращения развития экземы и других клинических проявлений РТПХ [18].

*Барьерная дисфункция и иммунный ответ – «атопический марш».*

“Атопический марш” означает тенденцию, когда атопическая экзема предшествует дальнейшему последовательному развитию пищевой аллергии, астмы и аллергического ринита [95].

Роль барьерной дисфункции в патогенезе АтД и развитии дальнейших атопических расстройств является ключевой. Механизмы, задействованные в нарушении кожного барьера, управляют и местным воспалением, и вследствие возникающего синергизма, возникает выраженная воспалительная реакция Th2 [74].

Генетически обусловленные или приобретенные, возникшие однажды, воспаление кожи и дефект кожного барьера при АтД, в дальнейшем позволяют проникать аллергенам, которые вызывают иммунный ответ и могут приводить к развитию IgE-опосредованной аллергии. Тот факт, что во многих случаях АтД является первым проявлением атопии и, вероятно, играет ключевую роль в развитии и прогрессировании атопического марша, делает его важным объектом лечения. Влияя на развитие АтД, мы потенциально можем модифицировать процесс развития дальнейших проявлений атопии [37; 39].

#### *Экзогенные факторы окружающей среды*

Распространенность АтД увеличивается быстрее, чем могут сформироваться какие-либо изменения в генофонде. Наследственные факторы не могут объяснить такой рост, для этого должны быть экзогенные причины. Существует большой интерес к возможным триггерным факторам, в частности к тем, которые потенциально можно скорректировать. В некоторых случаях были предложены конкретные факторы риска, к которым относятся частицы домашней пыли, воздействие аллергенов, инфекции, грудное вскармливание, антибиотики и ирританты. Для некоторых из этих факторов (например, для

грудного вскармливания) получены противоречивые результаты исследований, существуют трудности, связанные с сочетанием факторов. Эти данные подтверждают наши знания об АтД как осложнённом процессе, и поэтому установление этиологии заболевания вряд ли будет простым или однонаправленным [42; 45].

Исследования воздействий окружающей среды, как известно, сложно изучать из-за сочетания многочисленных факторов и проблем с дизайном анализа. Тем не менее, есть некоторые факторы окружающей среды, в отношении которых сформулированы вероятные механизмы действия и приведены свидетельства их роли в патогенезе АтД. Появляется все больше свидетельств воздействия ряда факторов, вызывающих запуск механизмов формирования АтД в раннем детстве. Как только данные об этих воздействиях будут окончательно подтверждены, будет сложно остановить растущую потребность в определении ключевых триггерных точек, которые поддаются коррекции. Одни из наиболее аргументированных доказательств формируются в результате интервенционных исследований, например, в исследовании по применению средств, смягчающих жесткость воды, у младенцев с атопическим риском [2; 34; 38].

#### *Гигиеническая гипотеза*

Вопрос о том, почему распространенность АтД возрастает при растущих мерах дезинфекции в обществе, впервые был поднят в 1989 году с формулированием "гигиенической гипотезы" [123]. Озвучивалась роль эпидемиологических факторов, таких как большая семья и посещение детского сада, способных уменьшать риск развития АтД за счет воздействия инфекций. "Гигиеническая гипотеза" в какой-то мере может объяснить быстрый рост распространенности АтД, а также большую встречаемость в богатых, небольших и более образованных семьях [126]. Отсутствие стимуляции иммунной системы микробами в раннем возрасте из-за того, что дети "слишком

чисты” или неспособности сбалансированной кишечной флоры к созреванию вполне могут быть релевантными факторами в патогенезе АтД [87].

Иммунологическая модель предполагает, что отсутствие воздействия определенных инфекционных агентов может привести к “перекошенности” иммунной системы в сторону Th2. Безусловно, есть некоторые доказательства того, что паразитарные или гельминтозные инфекции играют определенную роль в этом процессе [83; 88; 110]. Есть данные, подтверждающие данную теорию, например, недавнее исследование показало, что родители, которые чистят пустышки сосанием, а не вытирают (и потому подвергают их воздействию патогенов человека), могут уменьшать риск развития аллергии у своих чад [97].

Гигиеническая гипотеза может дать объяснения некоторым особенностям АтД, но это представляет сложность. Вероятно, тип инфекции и сроки воздействия имеют решающее значение в развитии патогенеза АтД. Возможно, некоторые инфекции могут обеспечить защиту от развития атопического заболевания, но другие инфекции могут, наоборот, повышать риск, например, корь [87; 26].

*Экзогенные факторы: ирританты (раздражающие вещества)*

Было доказано, что воздействие раздражителей увеличивает риск развития АтД. Мыло в качестве очищающего средства действует как раздражитель, который вызывает сухость кожи и повышает трансэпидермальную потерю воды. Щелочная природа мыла также повышает рН кожи. Исследования в 1990-х годах показали, что увеличение потребления мыла было связано с увеличением частоты АтД в некоторых домашних хозяйствах [109]. Недавно было показано, что исключение таких раздражителей или избегание с рождения может уменьшить частоту развития АтД [19; 23].

Изучалось также влияние жесткости и рН воды на кожу и на риск развития АтД. Исследования показали, что в Великобритании дети, родившиеся в зоне с жесткой водой, имеют повышенный риск развития АтД по сравне-

нию с детьми, родившимися в зоне с мягкой водой [111; 112]. Однако недавнее исследование в Испании не подтвердило эти выводы и ставит под сомнение обоснованность предыдущих результатов [89]. Эффект может быть обусловлен случайными факторами, включая pH воды и использование мыла. Как обсуждалось, использование мыла повышает pH кожи, а жесткая вода требует большего использования мыла для пенообразования на коже. Таким образом, много факторов риска могут быть взаимосвязаны. Повышение pH кожи может увеличить риск развития АтД, поскольку это снижает экспрессию FLG. Однако, когда диагноз АтД уже установлен, покупка смягчителя воды не изменит тяжести заболевания [124; 56]. Это подтверждает данные о том, что трудно добиться обратного развития болезни. Вероятно, раннее воздействие факторов риска приводят к запуску АтД, и потому коррекция этих факторов должна проводиться как можно раньше с момента рождения, чтобы предотвратить появление АтД и последующее развитие атопического марша.

Недавнее интересное исследование, отслеживавшее когорту с самого рождения, подтвердило роль избегания мыла. Показано, что применение смягчителей воды с момента рождения снижает риск развития АтД и предупреждает экзему у детей с семейным анамнезом атопии. Это действительно важный шаг к возможности изменять и предотвращать АтД у детей с высоким риском [121]. Следующая работа очень значима, она позволит лучше понять взаимосвязь между болезнью и такими факторами, как поведение, образ жизни, а также домашняя и внешняя среда [96; 112].

#### *Экзогенные факторы: кожные инфекции*

Некоторые инфекционные агенты играют важную роль в инициировании развития АтД и усугублении течения заболевания. У пациентов с АтД обнаруживается измененный микробиом кожи. У таких пациентов понижена способность к борьбе с некоторыми кожными инфекциями. Эти инфекции затем могут стимулировать развитие воспаления и усугубить течение заболевания. Дети, страдающие АтД, особенно подвержены кожным инфекциям,

вызванным золотистым стафилококком. Это, вероятно, связано с несколькими факторами, такими как надрывы кожи от царапин, нарушения барьерной функции кожи. Колонизация *S. Aureus* измененной и интактной кожи при АтД является важным триггерным фактором, влияющим на тяжесть и частоту проявления кожных симптомов [106]. Бактерии, которые могут быть причиной инфекционных осложнений при АтД, обнаруживаются и на здоровой коже. Среда здоровой кожи защищает от инфекционных инвазий, поддерживая липидный слой кожи, потому как бактерии липофобны. Стафилококки и стрептококки легче внедряются в сухую, атопичную кожу. Антимикробные пептиды на поверхности здоровой кожи обычно борются с этими бактериями. Бактерии (стафилококки и стрептококки) и дрожжи (*Malassezia*) на коже стимулируют иммунную систему, поддерживая хроническое воспаление. Существуют синергические процессы, приводящие к развитию АтД. Например, *S. aureus* продуцирует энтеротоксин, который, как было показано, индуцирует продукцию энтеротоксин-специфического IgE, что приводит к пролиферации и рекрутированию большего количества Т-клеток и обострению дерматита [55; 69].

Особая форма экземы лица и шеи, известная как себорейная экзема, связана с колонизацией кожи дрожжами, называемыми *Malassezia*. У пациентов с данной патологией тесты на IgE, специфичные к *Malassezia*, могут быть положительными, а целенаправленное лечение дрожжевой инфекции может улучшить течение АтД. Сенсibilизация *Malassezia* считается феноменом, специфичным для атопической экземы, отражающим тенденцию к Th2 иммунному ответу [105].

Другие инфекции, вероятно, являются вторичными и отражают активность заболевания, но не участвуют в первичном патогенезе. Кожные вирусные инфекции, такие как вирус ВПЧ и контагиозный моллюск, довольно многочисленны и могут быть резистентными в случаях АтД. *Candida* (молочница) также более вероятно процветает в плохо контролируемых, влажных

областях экземы. Герпетическая экзема может быть серьезной проблемой при АтД, как было показано, связана с тяжестью течения АтД и в последнее время чаще встречается у пациентов с мутациями FLG, что демонстрирует роль множества факторов в развитии инфекции в патогенезе заболевания [90]. Дерматофитные инфекции (опоясывающий лишай) однако не превалируют при АтД.

Современные данные показывают, что дети с АтД имеют нарушения кожного барьера, врожденного и приобретенного иммунитета, микробной флоры. Нарушения могут быть генетическими или приобретенными, являются взаимосвязанными и синергетическими. Другие факторы также способствуют развитию заболевания, например, зуд или стресс. Формирующаяся в настоящее время модель представляет АтД как сложное заболевание с генетической предрасположенностью и вторичными сложными факторами окружающей среды, которые сосуществуют в тесной связи с воспалением. Триггерные факторы, вероятно, возникают вскоре после рождения наряду с изменениями в кожном барьере, приводя к ранним изменениям в колонизации кожи и нарушениям иммунной защиты, восприимчивости аллергенов, раздражителей и микробов, которые запускают воспалительный иммунный ответ, что в свою очередь еще больше влияет на экспрессию генов. Сложность эпигенетики (того, как экзогенные факторы управляют экспрессией генов) может объяснить процессы наследуемости и связь с воздействием окружающей среды [52; 53; 64].

## 1.2. Герпесвирусы как пусковой фактор атопического дерматита

Болезни кожи и подкожной клетчатки – обширный класс патологических состояний, обусловленных воздействием на организм негативных факторов внешней и внутренней среды. В перечне указанных факторов значимую роль играют возбудители инфекционных болезней,

вызывающих как локальные изменения кожных покровов, так и системные процессы, одним из проявлений которых являются морфофункциональные нарушения кожи и подкожной клетчатки. В современной научной литературе ведущая роль в развитии системных поражений отводится вирусам герпеса, из них наиболее хорошо изучены возбудители простого герпеса 1-го и 2-го типов (ВПГ1 и ВПГ2; ВПГ1,2) и ветряной оспы [71; 79]. Кроме того, описаны различные морфофункциональные нарушения кожных покровов при инфекциях, вызванных вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ), цитомегаловирусом (ЦМВ), вирусом герпеса человека 6-го типа (ВГЧ6) [59; 60; 102]. На настоящий момент именно герпесвирусы рассматриваются в качестве вероятных этиологических агентов таких иммуноопосредованных патологических состояний, как атопические дерматиты и псориаз [77; 79].

Установлено, что у лиц с атопическим дерматитом одновременно имеет место тяжелая активная ВПГ1-инфекция [77]. Сопоставление частоты выявления маркеров ЦМВ-инфекции у пациентов с атопическим дерматитом и без него показало достоверное преобладание генетического материала вируса в крови лиц с патологией [99]. Реактивация хронической инфекции, вызванной ВЭБ, ЦМВ и ВГЧ6, на фоне приема некоторых лекарственных препаратов приводит к развитию синдрома лекарственной гиперчувствительности, одним из проявлений которого также является дерматит [79; 94; 107; 32].

Вирусные инфекции, которые возникают у пациентов с АтД, включают в себя герпетическую экзему, экзему Коксаки, вакцинальную экзему и контагиозный моллюск. Герпетическая экзема (ГЭ) возникает у больных АтД в результате диссеминации вируса простого герпеса (ВПГ-1 или ВПГ-2), как правило, при первом же его воздействии, и характеризуется появлением эрозий и везикул, иногда осложненных вторичной стафилококковой или стрептококковой инфекцией. Для ГЭ характерны такие симптомы, как лихорадка, лимфаденопатия и недомогание. ГЭ может протекать тяжело с кератоконъ-



юнктивитом и полиорганным поражением, приводящим к летальному исходу, и требует быстрой диагностики и начала приема противовирусных препаратов. К факторам риска развития ГЭ относятся раннее начало и тяжелое течение АтД, значительное повышение общего IgE, повышение уровня аллерген-специфического IgE, периферическая эозинофилия [86]. Недавно были описаны случаи диссеминированной инфекции, ассоциированной с вирусом Коксаки А6, проявляющиеся высыпаниями в местах поражения АтД и получившие название "экзема Коксаки", но данных об этом инфекционном осложнении пока мало [81]. Для пациентов с АтД, даже при спокойном течении заболевания, вакцинация против оспы или контакт с лицами, привитыми против оспы, может привести к потенциально смертельному осложнению - вакцинационной экземе, в результате диссеминации вируса и плохого иммунного контроля над его распространением [123].

Проблема герпеса очень актуальна. Несмотря на то, что абсолютной статистики в мире по заболеваемости отдельными формами нет, можно сослаться на данные экспертного сообщества, которые говорят о том, что примерно 90% населения земного шара инфицированы различными типами вируса простого герпеса. Отмечается высокая восприимчивость организма человека к герпесвирусным инфекциям, что представлено ежегодным ростом числа больных герпесвирусными инфекциями за рубежом и в Российской Федерации [71]. По данным серологического обследования до 85-89% всего населения планеты инфицировано одним или несколькими серотипами вируса простого герпеса (ВПГ) [41; 43; 57].

Можно предположить, что вклад вирусов простого герпеса (как ВПГ1, так и ВПГ2) в патологию кожи и подкожной клетчатки осуществляется в двух направлениях: в виде везикулярных высыпаний, появляющихся в разгар клинических проявлений инфекционного процесса, и в виде иной патологии, обусловленной системным действием возбудителей на организм человека. А также, что развитие обострения атопического дерматита может быть следст-

вием недавно перенесенного активного инфекционного процесса, вызванного ВПГ1, или его сочетания сВПГ2 и/или другими представителями семейства *Herpes viridae* [1; 125].

### 1.3. Роль паразитарной инвазии в развитии атопического дерматита

По современным представлениям АД – мультифакториальное заболевание, формирование которого тесно связано с генетическими дефектами иммунного ответа и отрицательными влияниями неблагоприятных факторов внешней среды [79].

Большое значение в патогенезе АД имеют органическая и функциональная патологии различных органов и систем желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) – ферментопатии, хеликобактерная инфекция, нарушения микробиоциноза кишечника. Возникающие при этом нарушения вызывают повреждения пищеварительного барьера слизистой оболочки ЖКТ, что сопровождается снижением активности факторов неспецифической защиты, уменьшением продукции секреторного IgA, способствует повышенному накоплению гистамина, кининов, провоспалительных цитокинов, приводит к увеличению проницаемости слизистой оболочки для аллергенов и их усиленному всасыванию, что является одним из значимых пусковых механизмов сенсibilизации и реализации аллергического воспаления в коже [98; 104].

Несомненна роль таких факторов, как наличие протозойно-паразитарных инвазий и очагов хронической инфекции у детей (56%) [103].

Паразитарные заболевания и в XXI веке остаются одним из самых частых видов патологии и представляют собой медико-социальную проблему. К настоящему времени из 1415 известных возбудителей заболеваний человека 353 вызывают протозойные заболевания и гельминтозы. Экспертная оценка ВОЗ свидетельствует, что более 4,5 млрд человек в мире поражено возбудителями этой группы болезней [49].

По оценкам специалистов, ежегодно число заболевающих паразитарными болезнями в России превышает 20 млн человек и имеет тенденцию к увеличению [46]. По мнению некоторых исследователей, увеличение распространенности в последние годы паразитозов, появление скрытой паразитарной инвазии обусловлено использованием большого количества поллютантов в промышленности и попаданием их в организм человека. К тому же, продукты питания (зерно, замороженное мясо, моллюски, рыба), производимые в странах с тропическим климатом и в других зонах, являющихся сформировавшимися ареалами обитания различных паразитов, можно встретить теперь в любой стране мира. Скрытая паразитарная инвазия не проявляет себя и может оставаться вне поля зрения врача долгое время [91].

Особенностью большинства паразитарных болезней является хроническое течение, не сопровождающееся развитием острых симптомов. Коллегия Министерства здравоохранения России 21 декабря 2001 г. констатировала, что врачи недостаточно знают клинику и диагностику паразитарных болезней [54]. Официально регистрируемое число больных паразитарными болезнями в России не соответствует реальной ситуации. Особенно эта проблема актуальна в детском возрасте, поскольку заболеваемость детей до 14 лет в 4 раза выше, чем в популяции [24; 61; 92].

Чрезвычайно важным фактором в усугублении АТД является паразитарная инвазия, обусловленная различными гельминтами и простейшими, а также способствующая возникновению хронической интоксикации и дисбактериоза кишечника у детей. Особый интерес представляет влияние *Lambia intestinalis* на течение АТД, так как лямблиоз имеет крайне высокую распространенность в детском возрасте [63]. Считается общепризнанной способностью лямблий вызывать сенсibilизацию организма. Аллергизация происходит как в результате сенсibilизации протозойными антигенами, так и вследствие нарушения барьерной функции кишечника [15; 65].

Анализ данных литературы по изучению патогенного влияния паразитозов на клиническое течение АтД у детей и подростков показывает, что на фоне интоксикационного синдрома с дерматологической симптоматикой АтД приобретает хроническое течение.

На сегодняшний день существует много нерешенных проблем в диагностике паразитарных инвазий у детей. Учитывая сложность диагностики паразитарной инвазии у детей, актуальна проблема поиска новых, чувствительных, экономически эффективных и доступных методов диагностики. Полимеразная цепная реакция [114; 118] произвела революцию в паразитологии и нашла широкую область применения. ДНК технологии имеют большое значение во многих областях паразитологии, включая идентификацию и систематизацию паразитов, анализ генетической структуры, генной организации, изучения лекарственной устойчивости [128; 129]. Метод ПЦР позволяет прямо обнаружить инфекционный агент или генетическую мутацию в любой биологической среде организма (слюна, мокрота, кровь, моча, кал). В основе метода лежит уникальное свойство ДНК – способность к саморепродукции, которая воспроизводится искусственно *in vitro* [33].

Таким образом, паразитарная инвазия у детей зачастую сопровождается выраженными изменениями со стороны кожных покровов и слизистых оболочек. Патогенез этих изменений не до конца разработан и требует дальнейшего углубленного изучения, но в то же время наличие их указывает клиницисту на необходимость проведения тщательного лабораторного исследования с целью установления паразитарной инвазии у ребенка и проведения комплексного лечения [44].

#### 1.4. Диагностическое значение фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста

В настоящее время остро стоит проблема диагностики и лечения заболеваний, связанных с нарушениями процесса ангиогенеза, а также регенераторных процессов. Наряду с известными этиопатогенетическими факторами особый интерес представляет изучение клинико-диагностических критериев особенностей течения указанных заболеваний. Основными диагностическими лабораторными показателями, как правило, являются показатели клинического и биохимического анализа крови, однако, исследовательское внимание медицинского сообщества обращено на изучение различных молекулярных пептидных факторов, принимающих участие в развитии ангиогенных и эндотелиальных нарушений [99; 48; 50].

С целью разработки новых диагностических и терапевтических подходов в контексте указанной проблемы необходимо обратить внимание на клеточные и молекулярные механизмы ангиогенеза в норме и патологии. Установлено, что физиологический ангиогенез обусловлен равновесной активностью его стимуляторов (вазоэндотелиальный фактор, ангиогенин, трансформирующий фактор, интерлейкин-8 и др.) и ингибиторов (эндостатин, тромбоспондин, ангиостатин, VEGF-R1, вазостатин и др.) [93]. В качестве основного триггера ангиогенеза рассматривается хроническая гипоксия, которая и активизирует ангиогенные импульсы посредством ряда цитокинов и факторов роста, основное действие которых направлено на эндотелиальные клетки, в результате чего они мигрируют за пределы базальной мембраны и принимают непосредственное участие в образовании сосудистых трубок [95].

Установлено, что основная роль в процессе образования и развития новых кровеносных микрососудов принадлежит ангиобластам, функциональная активность которых проявляется под влиянием фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), выступающего в качестве хемоаттрактанта. Доказано, что

VEGF продуцируется различными клетками (макрофагами, фибробластами, лимфоцитами; остеобластами, кератиноцитами и др.). Основной функцией эндотелиального фактора является индукция клеточного деления эпителиоцитов сосудов, микро- и макроvasкулярных клеток кровеносных и лимфатических сосудов [21; 81; 119].

VEGF существует в нескольких изоформах – VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D и фактор роста плаценты, для которых доказан спектр биологической активности. Так VEGF-A на ранних стадиях развития организма выполняет функцию стимулятора пролиферации и миграции эндотелиоцитов, являясь ключевым регулятором ангиогенеза, ингибируя апоптоз эндотелиальных клеток и участвуя в регуляции проницаемости сосудистой стенки, оказывая таким образом ангиопротективное действие. Ангиогенная роль VEGF-B доказана только в сосудистой сети миокарда, однако данный вариант эндотелиального фактора синтезируется в большом количестве и в нервной ткани, предотвращая апоптоз нейронов и оказывая тем самым нейропротективное действие (указанный лиганд изучается в части возможности его применения в лечении болезни Альцгеймера). Установлено, что функция VEGF-C и VEGF-D заключается в регуляции эмбрионального лимфогенеза в легочной ткани. Функциональная активность изоформы VEGF зависит от типа тирозин-протеинкиназ (RTK) рецепторов ((VEGFR) -1, -2 и -3.). Имеются сведения, что каждый лиганд, взаимодействуя с различным VEGF-R, способен вызывать противоположные физиологические эффекты.

Наряду с физиологической ролью в процессах образования сосудов, эндотелиальный фактор занимает одно из ведущих мест в развитии различных заболеваний, патогенез которых связан с патологическим ангиогенезом. Наиболее ярким примером является развитие ретинопатии, атопического дерматита, ревматоидного артрита, злокачественных новообразований, псориаза, эндометриоза и др., сопровождающиеся усиленным ангиогенезом, снижение интенсивности ангиогенеза наблюдается при язвенной болезни же-

лудка и двенадцатиперстной кишки и остеопорозе [70; 76]. Установлено, что такие патологические состояния, как воспаление, ишемия, атеросклероз приводят к реиндукции экспрессии VEGF. VEGF-C и VEGF-D синтезируются клетками сердца, мышц, яичника, тонкой кишки; высокая их экспрессия приводит к развитию злокачественных опухолей кроветворной системы и является маркером метастазирования опухолей [76; 130].

VEGF играет решающую роль в прогрессировании онкологического процесса. Эндотелиальный фактор, секретируемый опухолевыми клетками и окружающей стромой, стимулирует пролиферацию эндотелиальных клеток, что приводит к образованию новых кровеносных сосудов, которые как правило структурно изменены. VEGF чрезмерно экспрессируется в большинстве опухолей человека и коррелирует с инвазивностью, плотностью сосудов, метастазированием, рецидивом и неблагоприятным прогнозом [100].

Установлено, что эндотелиальный фактор может оказывать прямое влияние на иммунные клетки, а именно на дендритные клетки, Т-клетки, регуляторные Т-клетки и миелоидные супрессорные клетки. VEGF может изменять процесс дифференцировки миелоидных предшественников в эндотелиальные клетки. Эндотелиальный фактор может влиять на экспрессию эндотелиальных клеток, уменьшая экспрессию молекулы адгезии сосудистых клеток-1 (VCAM-1), которые играют важную роль в апоптозе противоопухолевых Т-клеток. Кроме того, высокие уровни VEGF в микроокружении опухоли могут дополнительно стимулировать пролиферацию миелоидных супрессорных клеток и регуляторных Т-клеток, которые экспрессируют VEGFR [130].

В настоящее время идут активные исследования влияния VEGF на развитие сердечно-сосудистых заболеваний. Установлено, что в сыворотке и плазме крови пациентов с острым инфарктом миокарда отмечается высокий уровень VEGF-A, который коррелирует с концентрацией IL-18, являющегося цитокином, индуцирующим экспрессию VEGF. Поскольку высокие концен-

трации данного фактора у этих пациентов приводят к неоваскуляризации ишемизированного очага, повышение уровня VEGF-A имеет отрицательное прогностическое значение [100].

Установлено, что уровень VEGF изменяется и при атеросклерозе, выполняя двойную функцию. С одной стороны, он оказывает благотворное действие, защищая эндотелиальные клетки за счет усиления экспрессии антиапоптотических белков и синтеза NO, а с другой – действует как митоген для повторной эндотелиализации и восстановления поврежденного эндотелия. Однако, существуют данные, что VEGF-A способствует адгезии моноцитов, усиливает проницаемость эндотелия, экспрессию белка адгезии и хемоаттрактантного белка моноцитов-1 (MCP-1), в результате чего начинается развитие атеросклеротического повреждения сосудистого эндотелия [70]

Исследованиями доказано, что концентрация VEGF, синтезированного альвеолярными эпителиальными клетками, эпителиальными клетками бронхов, гладкомышечными клетками, фибробластами и альвеолярными макрофагами, увеличивается в условиях гипоксии под влиянием гипоксии-индуцируемого фактора (HIF-1 $\alpha$ ), вызывая воспалительные изменения в респираторном эпителии, что приводит к развитию различных заболеваний легких, таких как легочная гипертензия, хроническая обструктивная болезнь легких, астма, фиброз и рак легких.

Доказано, что VEGF-A оказывает воздействие также на другие типы клеток, включая нейроны. VEGF-A способствует выживанию нейронов в условиях экспериментальной модели инсульта и эксайтотоксичности, оказывая нейропротекторное действие. VEGF ускоряет развитие нейронов, дендритный и аксонный рост. Кроме того, VEGF регулирует функции множественных ионных каналов мембраны нейрона и изменяет нервную возбудимость. Доказано, что повышенный уровень VEGF-A индуцирует нейрогенез в субвентрикулярной зоне, боковых желудочках и субгранулярной зоне зубчатой извилины [72; 85]. Отмечено, что сверхэкспрессия эндотелиального фактора



способствует усилению не только нейрогенеза, но и миграции новообразованных нейронов в периинфарктную кору головного мозга, что может быть важно для быстрого восстановления нейронов в очаге инсульта. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что VEGF может играть важную роль в нейронной пластичности в нормальном мозге, а также в реконструкции нервно-сосудистых единиц и нервно-сосудистом восстановлении в черепно-поврежденном мозге [75; 88; 127].

Исследованиями установлена высокая реактивность нейронов сетчатки и глиальных клеток в условиях ишемии, связанная с увеличением выработки VEGF, что сопровождается усилением воспаления, характеризующегося лейкостазом, накоплением макрофагов, активацией молекулы межклеточной адгезии-1 (ICAM-1) и повышением простагландина, что в последующем приводит к разрушению гемато-сетчаточного барьера. Отмечено, что пациенты с макулярным отеком, являющимся наиболее распространенной причиной потери зрения у пациентов с диабетической ретинопатией, имеют повышенные уровни VEGF, ICAM-1, IL-6 и MCP-1 по сравнению с пациентами, не страдающими диабетом [106; 123].

Установлено, что снижение уровня VEGF связано с развитием гипертонии и повреждением почек. Кроме того, значительное снижение VEGF наблюдается при патологиях почек, связанных с хроническим снижением кровотока, включая реноваскулярную болезнь, хроническую болезнь почек различной этиологии и прогрессирующую гломерулопатию. Доказано, что на экспериментальной модели ХБП подкожная инъекция VEGF способствовала сохранению структуры и плотности эпителия микрососудов, что впоследствии стабилизировало функцию почек и ослабляло прогрессирование заболевания [70; 74; 96; 108].

Установлено, что повышенные уровни фактора роста эндотелия сосудов характерны для прогрессирования заболеваний опорно-двигательного аппарата. Внутрисуставное введение эндотелиального фактора показало, что

VEGF вызывает изменения в суставе, характерные для остеоартрита: снижение уровня протеогликанов, кальцификация и деградация суставного хряща, склероз костей, образование остеофитов и синовиальной гиперплазии. Инъекция VEGF в височно-нижнечелюстной сустав у мышей сопровождается прогрессирующей дегенерацией хряща и субхондральными поражениями костей. Установлено, что повышенный уровень VEGF сопряжен с повышенной экспрессией матриксных металлопротеиназ (MMP-9 и MMP-13). Доказано, что VEGF экспрессируется синовиальными макрофагами и фибробластоподобными синовиальными клетками, что в результате приводит к повышению уровня провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$  и IL-6. Патологическая роль VEGF в развитии заболеваний опорно-двигательного аппарата подчеркивает актуальность разработки терапевтических подходов, основанных на блокировании сигнальных путей VEGF и ангиогенеза [86].

Доказано участие эндотелиального фактора роста сосудов в развитии опухолевого процесса. Установлено, что опухолевые клетки экспрессируют рецепторы VEGF. Передача сигналов VEGF в опухолевых клетках опосредована тирозинкиназными рецепторами VEGF. Аутокринная передача сигналов VEGF имеет важное значение для инициации опухолевого процесса и основана на регуляции пула раковых стволовых клеток и их самообновления. Исследования показали, что в основе опухолевой прогрессии лежит способность VEGF усиливать иммуносупрессию, ингибируя развитие цитотоксических Т-лимфоцитов и дендритных клеток и увеличивая пролиферацию иммуносупрессивных регуляторных клеток (Treg) и миелоидных супрессорных клеток (MDSC). Экспрессия мРНК VEGF-A и VEGFR<sub>2</sub> повышается в большинстве опухолей человека, коррелируя с рецидивом опухоли, метастазированием и неблагоприятным прогнозом [97].

Значимость VEGF в развитии различных патологических процессов проявляется также и в патогенезе дерматологической патологии. Наиболее ярким примером заболевания на фоне усиленной секреция VEGF является

атопический дерматит (АтД), основными гистологическими признаками которого являются межклеточный отек эпидермиса и выраженная периваскулярная инфильтрация кожи лимфоцитами, моноцитами/макрофагами, дендритными клетками. Хроническая форма дерматита характеризуется эпидермальным гиперкератозом, акантозом и папилломатозом, что сопровождается усилением ангиогенеза. Установлено, что значимую роль в индукции экспрессии VEGF-A и VEGF-B в тучных клетках человека играют ангиогенные факторы – простагландин E<sub>2</sub>, аденозин и др. Установлено, что течение крапивницы связано с неоваскуляризацией и повышенным уровнем сосудистых маркеров. Исследования показали, что при данной патологии уровни VEGF-A и VEGF-C в плазме крови значительно повышены и коррелируют с тяжестью заболевания [74; 116].

Установлено, что обострение псориаза сопровождается увеличением концентрации таких ангиогенных медиаторов, как VEGF, HIF-1 $\alpha$ , TNF, bFGF, Ang и Tie-2, интерлейкин IL-8 и IL-17, большинство из которых секретируются тучными клетками, макрофагами и нейтрофилами. Ангиогенез псориазных поражений характеризуется значительной вазодилатацией и повышенной проницаемостью сосудов, обусловленной наличием одно- или многослойной базальной мембраны и фенестрированным эндотелием. Уровень экспрессии VEGF-A у пациентов с псориазом коррелирует с тяжестью заболевания [84].

Наряду с вышеописанными ангиогенными дерматозами заслуживает внимание красный плоский лишай. Установлено, что течение данного заболевания сопровождается нарушением микроциркуляции и развитием гипоксии, на фоне которой усиливается секреция провоспалительных цитокинов (TNF $\alpha$ , IL-1), в результате чего наблюдается индукция VEGF. Патологические изменения кожных покровов при развитии плоского лишая обусловлены гиперсекрецией VEGF в верхней части шиповатого и зернистого

слоев и коррелирует с плотностью микрососудов в сосочковом слое дермы [95].

В последние годы активно проводятся исследования, касающиеся физиологической активности эпидермального фактора роста (EGF) и его роли в развитии различных патологических процессов. Эпидермальный фактор в значительном количестве идентифицируется в крови, моче, цереброспинальной жидкости, слюне и др. EGF играет роль митогена, оказывая влияние на клетки различного происхождения и стимулируя пролиферативные процессы фибробластов, почечного эпителия, глии, тиреоцитов и т.д. Эпидермальный фактор является индуктором регенераторных процессов за счет усиления выработки цитокинов и внутриклеточных активных форм кислорода [87].

Доказано, что EGF проявляет протеинкиназную активность, играя решающую роль в патогенезе многих видов рака. В настоящее время доказано, что EGF вызывает малигнизацию клеток за счет индукции протоонкогенов *c-fos* и *c-myc*. Отмечено, что в 40% случаев злокачественных опухолей органов пищеварительной и мочеполовой системы, молочных желез, легких наблюдается усиление секреции эпидермального фактора [126].

Недавние результаты показали, что EGF значительно снижается в спинномозговой жидкости и спинном мозге у пациентов с рассеянным склерозом. При этом введение лабораторным крысам EGF с химически индуцированным аллергическим энцефаломиелитом предотвращает демиелинизацию и воспалительные реакции в ЦНС [112].

В экспериментах было установлено, что EGF значительно снижает экспрессию мРНК лютеинизирующего гормона через рецептор эпидермального фактора роста (ErbB). EGF повышает экспрессию мРНК гормона роста,  $\alpha$  и  $\beta$ -соматолактин через ErbB [80]. Исследованиями доказано, что эпидермальный фактор роста участвует в патогенезе шизофрении. В эксперименте грызунам подкожно вводили EGF с последующим изучением нейробиологических реакций. EGF, характеризуясь высокой проницаемостью через гемато-

энцефалический барьер, приводил к стойким дофаминергическим нарушениям, характерным для шизофрении. Животные, получавшие неонатально EGF, демонстрировали стойкие гипердофаминергические аномалии в nigro-pallido-стриатальной системе. Кроме того, низкий уровень EGF в плазме является диагностическим признаком снижения когнитивных функций при болезни Альцгеймера и Паркинсона [88; 124].

В настоящее время особый интерес вызывает изучение роли эпидермального фактора роста в коже. EGF широко экспрессируется в нормальных тканях кожи, таких как эпидермис, сальные и эккриновые железы, дендритные клетки. Активация EGF приводит к усилению пролиферации кератиноцитов путем индукции нисходящего сигнала, фосфоинозитид3-киназного и митоген-активированных протеинкиназных путей [101]. Ингибирование EGF увеличивает экспрессию ингибитора циклинзависимой киназы p27KIP1, что приводит к остановке клеточного цикла кератиноцитов в фазе G1 и в конечном итоге приводит к нарушению формирования эпидермального барьера. Блокада передачи сигналов EGF оказывает влияние на секрецию цитокинов, индуцируя  $\beta$ -хемокины; монокин, индуцированный гамма-интерфероном, фракталкин и снижая уровень IL-8. Ингибирование EGF также увеличивает экспрессию интерферона- $\alpha$  и - $\beta$  посредством воздействия на регуляторный фактор IFN5. Усиление сигнала EGFR играет важную роль в антиапоптотических процессах кератиноцитарных и дендритных клеток. Ингибирование EGFR приводит к негативным последствиям для кожи в виде преждевременной дифференцировки, вызывающей острую воспалительную реакцию и апоптоз, атрофию кожи, телеангиэктазию и усиление фоточувствительности [73; 130].

Подробно изучена роль эпидермального фактора роста в генезе опухолевых заболеваний. Являясь митогеном в отношении клеток различного происхождения, повышенный уровень EGF способствует развитию различных видов рака. На сегодняшний день изучены три сигнальные системы, активи-

рующие рецепторы EGF, в результате чего наблюдается стимуляция роста опухоли. Первый путь связан с активностью фосфатидилинозитол-3-киназы, активизирующей белок Akt, что приводит к супрессии апоптоза; второй – обусловлен активацией белков клеточного цикла; третий – фосфорилированием фосфолипазы, стимулирующей перегруппировку молекул актина [73].

Таким образом, адекватность ангиогенеза играет ключевую физиологическую роль в поддержании гомеостаза тканей организма, особенно в коже, где репарационные и биологические процессы тесно связаны с процессами образования и развития новых микрососудов. Нарушение регуляции ангиогенеза лежит в патогенезе многих заболеваний, в том числе и дерматозов. Последовательность стадий ангиогенеза обусловлена многими проангиогенными факторами роста, и одними из основных являются вазоэндотелиальный фактор роста VEGF, осуществляющий свои эффекты через рецепторы (VEGFR-1, VEGFR-2, нейрофилин-1 и нейрофилин-2) и эпителиальный фактор роста EGF – через тирозинкиназы HER-2 и HER-1 [83]. Рецепторы HER-1 и HER-2 играют важную роль в регуляции пролиферации и выживаемости клеток, которые после связывания с соответствующим лигандом и димеризации активируются и индуцируют трансдукцию митогенного сигнала к ядру клетки. В результате их ингибирования нарушается нормальное функционирование клетки и злокачественная трансформация.

Несмотря на то, что к настоящему времени накопилось большое количество молекулярно-генетических, иммунологических исследований, посвященных роли семейства VEGF и EGF в развитии различных патологических процессов, многие аспекты влияния этих факторов и взаимодействия между собой требуют дальнейшего изучения, что позволит оказывать прецизионное воздействие на любой сложный патологический процесс.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование различных причин формирования атопического дерматита и прогностической значимости факторов роста у детей с данным заболеванием является, на наш взгляд, актуальным и перспективным направлением для усовершенствования диагностики, лечения и профилактики заболевания.

### 2.1. Общая характеристика исследования

Исследование проводилось в соответствии с разрешениями главного врача и администрации ГБУЗ Астраханской области «Детская городская поликлиника № 1», ГБУЗ АО ОДКБ им. Н.Н. Силищевой, на клинической базе кафедры педиатрии ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России в период с 2020г. по 2022г.

Пациенты отбирались из числа стационарных и амбулаторных больных педиатрического профиля многопрофильного стационара ГБУЗ АО «ОДКБ им. Н.Н. Силищевой» отделения аллергологии и педиатрии.

### 2.2. Общая характеристика обследуемых пациентов

Практическая составляющая работы представлена комплексным обследованием 210 детей, из которых 70 пациентов в возрасте от 1 года до 12 лет с установленным диагнозом атопический дерматит (I группа), 70 детей - атопический дерматит на фоне герпесвирусной инфекции (АтД+ГВИ) (II группа). Соматически здоровые дети - 70 чел. составили контрольную III группу.

Дети с атопическим дерматитом в группах исследования были распределены на подгруппы в зависимости от степени тяжести АтД: в группе больных с АтД средней степени тяжести – 62 пациента, тяжёлой степени тяжести

– 8 пациентов; в группе больных с АтД+ГВИ средней степени тяжести - 49 пациентов, тяжёлой степени тяжести - 21 пациент.

Диагноз атопический дерматит был установлен согласно критериям:

1. Индекс *SCORAD* (*scoring atopic dermatitis*)– шкала атопического дерматита, учитывающая распространенность кожных высыпаний, их морфологию, степень выраженности проявлений и тяжесть субъективных ощущений пациента. Учитывались такие проявления, как эритема, отек/папулезные элементы, корки/мокнутые, эксфолиации, лихенификация/шелушение, сухость кожи, где интенсивность каждого оценивалась как: 0 — отсутствие, 1 — лёгкая, 2 — средняя, 3 — тяжёлая.

Полученные баллы по каждой из признаков использовались в формуле:

$SCORAD = A/5 + 7B/2 + C$ , где

- ✓ А – сумма баллов распространенности поражения кожи,
- ✓ В – сумма баллов интенсивности проявлений симптомов АтД,
- ✓ С – сумма баллов субъективных симптомов (зуд, нарушение сна).

Критерии включения в исследование были:

1. Наличие атопического дерматита средней и тяжелой степени тяжести;
2. Наличие атопического дерматита с острой или хронической активно протекающей герпесвирусной инфекцией;
3. Возраст пациентов с 1 года до 12 лет;
4. Подписание добровольного информированного согласия родителями на участие в данном исследовании.

Критериями исключения из исследования являлись:

1. Первичный иммунодефицит;
2. Дети с впервые выявленным атопическим дерматитом;
3. Терапия системными и (или) топическими кортикостероидами в течение 14 дней до даты включения в исследование;



4. Наличие хронических заболеваний в стадии декомпенсации или неполной ремиссии;
5. Острое заболевание инфекционной, неинфекционной природы;
6. Органическая патология кишечника (новообразования кишечника);
7. Психическое заболевание, наличие любых заболеваний, затрудняющих оценку и обследование пациента (выраженные интеллектуально-мнестические нарушения);
8. Перенесенные в последний месяц инфекционно-воспалительные заболевания;
9. Невозможность следовать процедурам исследования, отзыв информированного согласия;

Изучение перинатальных факторов детей с атопическим дерматитом показало, что беременность у матерей протекала на фоне гестозов (102 детей – 72,7%), угрозы прерывания беременности (110 – 78,5%), ОРЗ (48 – 34%), применения антибактериальных препаратов (22 – 16%). У матерей, в период беременности и после, наблюдался вагинальный кандидоз, в лечении которого применялась местная противогрибковая терапия.

Пациенты были детьми из благополучных семей, где атопическим дерматитом болели как девочки, так и мальчики, но доля девочек статистически незначимо больше (84 девочек – 60% и 56 мальчиков – 40%, соответственно) ( $\chi^2=2,35$ ;  $df=1$ ;  $p=0,053$ ), что объясняется онтогенетическими особенностями организма. Гендерных различий между исследуемыми группами выявлено не было. В группе больных с АтД (группа 1) девочки составили 57% (40 чел.), мальчики – 43% (30 чел.) ( $\chi^2=0,95$ ;  $df=1$ ;  $p=0,329$ ). В группе АтД+ГВИ (группа 2) девочки составили 63% (44 чел.), мальчики – 37% (26 чел.) ( $\chi^2=3,11$ ;  $df=1$ ;  $p=0,078$ ).

Доля детей, не получавших грудное молоко на первом году жизни, а получающих молочные смеси, либо смеси в сочетании с грудным молоком,

т.е. находящиеся на искусственном или смешанном питании статистически незначимо больше, нежели детей, получавших грудное молоко матери (84 чел. – 60%, а на естественном – 56 детей 40%) ( $\chi^2=3,75$ ;  $df=1$ ;  $p=0,053$ ).

Доля сельского населения среди обследованных пациентов была статистически значимо больше (88 чел. - 62,5%), чем городского (52 чел. - 37,5%) ( $\chi^2=6,22$ ;  $df=1$ ;  $p=0,013$ ). Такая тенденция дает основание утверждать, что заболеваемость сельского населения связана с особенностями жизни, бытовых условий, низкой медицинской информированностью населения и недостаточностью профилактических мероприятий у больных хроническими дерматозами, с проблемой разработки специальных программ профилактики в вопросе комплексного оздоровления.

Распространенный АтД отмечался у 46% детей (64 чел.), ограниченный - 54% (76 чел.). По степени тяжести АтД: средняя степень тяжести - 79,3%, тяжелое течение – у 20,7% детей.

Аллергологический анамнез выявил наследственную отягощенность по аллергическим заболеваниям как по материнской, так и по отцовской линии (и их родственников), которая отмечалась у 126 опрошенных родителей (90%). В анамнезе у обследованных детей довольно часто выявлялась лекарственная аллергия 57% (80 чел.) в виде пятен, папул, уртикарий, эритем кожи на препараты антибактериальной группы: пенициллины (32 чел. - 23%), цефалоспорины (20 чел. - 14%); витамины (20 чел.-14%); антигистаминные препараты (8 чел.- 6%). Выявлена пищевая аллергия у 115 чел. - 82% детей на белок коровьего молока, куриного яйца, злаки, рыбы. У некоторых детей имелась гиперчувствительность не к одному, а к нескольким пищевым аллергенам.

Частой жалобой детей с АтД были: зуд кожи и сыпь на коже различной степени выраженности (у 100% больных). Высыпания характеризовались сухостью кожи (78% детей), гиперемией кожи, чаще на щеках – у 68% детей, шелушением - 78%, мокнутием и корками - 46%, трещинами и расчесами на

коже – у 51% детей, незначительными отеками на лице - 74% и кистях рук - 26% соответственно. Частой локализацией изменений на коже были: лицо (60%), верхние и нижние конечности (12,5% и 10%), реже отмечались изменения кожи туловища и всего тела (соответственно 8% и 9,5%).

Другие сопутствующие аллергические заболевания были выявлены у 98 чел. - 70% детей: бронхиальная астма - 4% детей, аллергический ринит - 16%, аллергический риноконъюнктивит - 9% детей. У 37% детей в анамнезе наблюдались различной степени выраженности дисфункции и заболевания желудочно-кишечного тракта: у 13% детей - дискинезия желчевыводящих путей, у 13% - гастрит, гастродуоденит, у 7% - реактивный панкреатит, 3,5% - реактивная гепатомегалия, у 3,5% - гепатоспленомегалия.

Таким образом, можно выделить влияние расстройств со стороны желудочно-кишечного тракта на нарушение процессов пищеварения веществ, что в свою очередь обуславливает активацию пищевой сенсibilизации и может способствовать утяжелению и прогрессированию болезни. Правильный анализ и оценка анамнестических данных, клинических проявлений, а также лабораторных и диагностических данных, позволяют распознать аллергическую природу заболевания, создать грамотный терапевтический подход и снизить вероятность обострения аллергодерматоза.

У 80% обследованных детей выявлена абсолютная эозинофилия, причем, чем младше был ребенок, тем чаще она определялась. Проведенный анализ содержания общего IgE в сыворотке крови детей с АтД показал, что он значительно повышен с АтД ( $410,7 \pm 111,2$  МЕ/мл), в то время как у здоровых детей -  $34,7 \pm 27,6$  МЕ/мл ( $p < 0,001$ ).

Дальнейшие исследования в этом направлении оптимизируют критерии прогнозирования риска возникновения атопического дерматита и поиск оптимальных лечебно-реабилитационных технологий, позволят проводить своевременную коррекцию нарушений и динамическое наблюдение за больными.

### 2.3. Методы исследования

Основная часть обследования пациентов проводилась на базе ГБУЗ АО ОДКБ им. Н.Н. Силищевой и научно-исследовательском центре ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России.

#### 2.3.1. Методы клинического обследования

Обследование пациентов включало в себя следующие составляющие.

Анкетирование (согласно разработанной анкете):

– социальные, экономические, медицинские факторы, профессиональный, семейный и материально-бытовой анамнез, жалобы, подробный анамнез заболевания; сбор анамнеза жизни: развитие в детстве (рост, вес при рождении, заболевания в детстве), сбор информации о наследственности (склонность к дерматологическим заболеваниям матери, отца, братьев, сестёр, по ожирению, сахарному диабету, патологии кишечника, повышению веса матери, отца, братьев, сестер), сбор анамнеза о перенесенных заболеваниях, травмах, приеме антибактериальных препаратов, инфекционных заболеваний (в том числе инфекций передающихся половым путём) матерью во время беременности и периода лактации, изучение отягощенного акушерского анамнеза, группы риска у ребенка в постнатальном периоде, внутриутробные (врожденные) инфекции (ВУИ), перинатальные поражения центрально-нервной системы (ЦНС), постнатальные патологии ЦНС (минимальная мозговая дисфункция (ММД), вегетососудистая дистония (ВСД)), недоношенность, искусственное вскармливание, аномалии конституции, анемии, часто болеющие дети (ЧБД).

– наличие другой сопутствующей терапии;

- выяснение особенностей образа жизни: питание, пищевые предпочтения, сон, физическая активность, вредные привычки и привычные интоксикации;
- физикальное обследование пациента по органам и системам;
- традиционное лабораторное обследование (клинический анализ крови, биохимический анализ крови);
- инструментальное обследование (электрокардиография, ультразвуковое исследование);

При оценке жалоб и сборе анамнезов заболевания и жизни внимание акцентировалось, прежде всего, на специфических особенностях возникновения заболевания, наличии провоцирующих факторов. Тщательно анализировались преморбидный фон больных, аллергоанамнез, патологии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), характер питания, пищевые предпочтения, патологии ЛОР-органов, перенесенные заболевания, особенности образа жизни до возникновения заболевания, уровень материальной обеспеченности семьи, социальный статус пациентов, наследственная отягощенность по заболеваниям кожной системы, наличие интоксикационного синдрома (головная боль, слабость, снижение аппетита, нарушение сна, адинамия). Анализировались основные проявления синдромакомплекса в рамках диагностических критериев, а также коморбидные проявления со стороны других органов и систем.

### 2.3.2. Методы лабораторных исследований

Лабораторное исследование было выполнено в Научно-исследовательском центре, являющимся структурным подразделением ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России. Лабораторные исследования выполнялись по общепринятым методикам. Большинство биохимических показателей крови исследовались на приборе «Спектрум» («Abbot», США) и аппарате «Technicon» по стандартным методикам.

Определение специфических антител классов IgM и/или IgG к антигенам вируса ВПГ 1-2 типа проводилось методом иммуноферментного анализа (ИФА) наборами реагентов фирмы «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия.

Определение ДНК исследуемых герпесвирусов в образцах крови проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с помощью тест-систем производства ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, г. Москва.

Определение фактора роста эндотелия сосудов А (VEGFA) в плазме крови больных проводилось методом ИФА высокочувствительными наборами реагентов HEA143Hu фирмы Cloud-Clone Corp. и для определения эпидермального фактора (EGF) - высокочувствительными наборами реагентов HEA560Hu фирмы Cloud-Clone Corp., Китай.

Исследование кала на наличие паразитозов методом ПЦР с помощью разработанного набора для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов

### 2.3.3. Методы, используемые для разработки набора для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов

Разработка набора проводилась на опытно-производственном участке Астраханского ГМУ, а также в ООО «Городская диагностическая лаборатория» г. Астрахани и ООО НПФ «Инновационные диагностические системы» г. Краснодар, согласно достигнутой договорённости (рис.1, рис.2).

Данный фрагмент работы выполнялся при поддержке Фонда содействия инновациям в рамках предоставленного государственного гранта в целях финансового обеспечения выполнения научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ коллективом авторов: Иманвердиева Наида Адалаткызы (RU), Рубальский Евгений Олегович (RU), Башкина Ольга Александровна (RU), Самоотруева Марина Александровна (RU),

Дата регистрации изобретения к патенту 30.03.2023, дата подачи заявки 27.05.2022. Публикация изобретения **RU2793208C1**.



Общество с ограниченной ответственностью  
«Городская диагностическая лаборатория»  
3-я Тихвинская ул., д. 27  
г. Астрахань, 414004  
Тел.: (8512) 76-90-66  
E-mail: e.e.rubalskaya@gmail.com  
ОКПО 30006448, ОГРН 1123015000020,  
ИНН/КПП 3015095378/301501001

22 ноября 2019 года № 03-2019  
На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

#### ВЫПИСКА ИЗ ПРОТОКОЛА ПЕРЕГОВОРОВ

ООО «Городская диагностическая лаборатория» с Иманвердиевой Наиды Адалат кызы – разработчиком проекта: «Разработка набора для скрининговой диагностики триггерных факторов паразитарной природы при аллергодерматозах»

ООО «Городская диагностическая лаборатория» в лице директора Рубальской Елены Евгеньевны и разработчик проекта «Разработка набора для скрининговой диагностики триггерных факторов паразитарной природы при аллергодерматозах» (далее – проект) Иманвердиева Наида Адалат кызы провели переговоры по перспективам реализации и внедрения проекта.

На основании анализа проекта и его обсуждения ООО «Городская диагностическая лаборатория» в лице директора Е.Е. Рубальской считает проект перспективным для коммерциализации и предоставит необходимое оборудование для проведения работ в опытно-производственных условиях, а также будет участвовать в рекламе и продвижении разработанной по проекту продукции на рынок после реализации Н.А. Иманвердиевой следующих этапов проекта:

1. Оценка эффективности компонентов ПЦР-набора для одновременного тотального выделения из кала протозойной и гельминтной ДНК.
2. Подбор константных регионов генов-мишеней, дизайн праймеров, оптимизация реагентов, расходных материалов и режимов амплификации в наборе.

Директор ООО «Городская диагностическая лаборатория»



*E.E. Rubalskaya*

Е.Е. Рубальская

Рис. 1. Выписка из протокола переговоров

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор  
ООО «НПФ «Инновационные  
диагностические системы»



М.Г. Чикобава

«25» ноября 2019 г.

### ВЫПИСКА ИЗ ПРОТОКОЛА ПЕРЕГОВОРОВ

разработчика проекта Иманвердиевой Наиды Адалат кызы с ООО «НПФ «Инновационные диагностические системы» в лице генерального директора Чикобава Мераб Георгиевича.

**Повестка дня:** доклад Н.А. Иманвердиевой – представление проекта: «Разработка набора для скрининговой диагностики триггерных факторов паразитарной природы при аллергодерматозах» (далее – проект).

**На основании анализа проекта и его обсуждения,** ООО «НПФ «Инновационные диагностические системы», в лице генерального директора М.Г. Чикобава выражает заинтересованность проектом и планирует начать инвестирование маркетинговых мероприятий по проекту (рекламы и продвижения выпускаемой по проекту продукции на рынок) после выполнения Н.А. Иманвердиевой следующих этапов реализации проекта:

1. Оценка эффективности компонентов ПЦР-набора для одновременного тотального выделения из кала протозойной и гельминтной ДНК.
2. Подбор константных регионов генов-мишеней, дизайн праймеров, оптимизация реагентов, расходных материалов и режимов амплификации в наборе.



Для разработки, оценки его чувствительности и специфичности были исследованы образцы стула у лиц, страдающих гельминтозами и протозоозами в количестве 210 штук.

*Методы подготовки положительных контрольных образцов.*

В качестве положительных контролей были подготовлены образцы стула у лиц, страдающих гельминтозами и протозоозами, содержащие целевые простейшие и гельминты согласно приведенному ниже перечню:

Простейшие:

1. Блостоциста человека (*Blastocystis hominis*);
2. Диентамеба (*Dientamoeba fragilis*);
3. Дизентерийная амеба (*Entamoeba histolytica*);
4. Лямблия (*Giardia intestinalis*).

Трематоды:

5. Анизакида (*Anisakis simplex*);
6. Шистосома мансона (*Schistosoma mansoni*);
7. Шистосомагема тобиум (*Schistosoma haematobium*);
8. Шистосома японикум (*Schistosoma japonicum*);
9. Описторхис (*Opisthorchis viverrini*);
10. Описторхис (*Opisthorchis felineus*);
11. Печеночный сосальщик (*Fasciola hepatica*).

Нематоды:

12. Аскарида (*Ascaris lumbricoides*);
13. Острица (*Enterobius vermicularis*);
14. Трихинелла (*Trichinella spiralis*);
15. Кривоголовка собак (*Ancylostoma caninum*);
16. Кривоголовка человека (*Ancylostoma ceylanicum*);
17. Кривоголовка человека дуоденальная (*Ancylostoma duodenale*);
18. Кривоголовка, некатор (*Necato ramericanus*);
19. Токсокара собак (*Toxocara canis*);

20. Токсокара кошек (*Toxocara cati*);
21. Власоглав (*Trichuris trichiura*);
22. Угрица кишечная (*Strongyloides stercoralis*).

Цестоды:

23. Бычий цепень (*Taenia saginata*);
24. Карликовый цепень (*Hymenolepis nana*);
25. Огуречный цепень (*Dipylidium caninum*);
26. Свиной цепень (*Taenia solium*);
27. Широкий лентец (*Diphyllobothrium latum*).

Подготовка образцов и их рутинную диагностику проводили согласно МУК 4.2.3145-13. «4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Лабораторная диагностика гельминтозов и протозоозов. Методические указания» (утв. Роспотребнадзором 26.11.2013).

#### *Методы выделения ДНК*

- 1). Стандартное выделение протозойной и гельминтной ДНК.

В качестве стандартной известной методики выделения ДНК согласно МУК 4.2.3145-13 использовали набор Diatom DNA Prep 100/200 по протоколу производителя.

- 2). Выделение тотальной протозойной и гельминтной ДНК.

Для выделения тотальной ДНК из образцов кала был исследован и оптимизирован метод Бума (Boom R. et al., 1990), заключающийся в лизисе образцов хаотропными агентами с сорбцией нуклеиновых кислот на поверхности, содержащей оксид кремния с последующей отмывкой и элюированием препарата ДНК. В качестве сорбента были исследованы два варианта: силика (Диаэм, Россия) и магнитных частиц CleanMag DNA (Евроген, Россия). Выделение ДНК проводили по следующему протоколу:

- 1) Использовали пробирки типа Эппендорф 1,5 мл содержащие образцы в транспортной среде.

2) Добавляли в пробирки с образцами 500 мкл лизирующего раствора и 20 мкл сорбента. Перемешивали на вортексе.

3) Инкубировать при комнатной температуре в течение 10 минут.

4) Образцы с силикой центрифугировали 5 с на максимальных оборотах (13500-14000 об. /мин). Образцы с магнитными частицами оставляли на 1 минуту на магнитном штативе.

5) Удаляли надосадочную жидкость и добавляли к осадку 250 мкл промывочного раствора. Перемешивали 5 с на вортексе.

9) Образцы с силикой центрифугировали 5 с на максимальных оборотах (13500-14000 об. /мин). Образцы с магнитными частицами оставляли на 1 минуту на магнитном штативе.

10) Удаляли надосадочную жидкость и добавляли к осадку 250 мкл 70% этилового спирта.

11) Образцы с силикой центрифугировали 5 с на максимальных оборотах (13500-14000 об. /мин). Образцы с магнитными частицами оставляли на 1 минуту на магнитном штативе.

12) Удаляли надосадочную жидкость.

13) Сушили осадок 10 мин на твердотельном термостате при 56°C.

14) Добавляли к осадку 50-200 мкл элюирующего раствора. Перемешивали 5 с на вортексе. Инкубировать 2 минуты при 56°C.

15) Образцы с силикой центрифугировали 5 с на максимальных оборотах (13500-14000 об. /мин). Образцы с магнитными частицами оставляли на 1 минуту на магнитном штативе. Использовали надосадочную жидкость для проведения ПЦР или переносили в отдельную автоклавированную микропробирку для дальнейшего хранения (-20°C).

#### *Исследование качества препаратов ДНК*

1) Флуориметрическое исследование концентрации ДНК.

Исследование эффективности экстракции ДНК проводили посредством измерения концентрации на флуориметре Qubit4.0 (ThermoFisherScientific,

США) с использованием набора реагентов Qubitds DNAHS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США) согласно протоколу производителя.

## 2). Анализ чистоты, выделенной ДНК

Для выявления посторонних органических примесей исследовали спектрофотометрически соотношение поглощения растворов на длинах волн 260 и 280 нм. Чистыми считали образцы, имеющими соотношение 260:280 порядка 1,8.

### *Метод количественной ПЦР*

Для разработки универсальных праймеров, обеспечивающих идентификацию паразита до вида, были проанализированы нуклеотидные последовательности ДНК, кодирующих 18S рибосомальную РНК всех гельминтов и простейших согласно перечню из пункта 2.3.3., доступные в базе данных NCBI Genbank. При помощи алгоритма MAFFT в программном обеспечении UGENE (Unipro, Россия) с последующей визуализацией в программном обеспечении Geneious Prime (Biomatters Ltd., Новая Зеландия) проводилось множественное выравнивание последовательностей нуклеотидов.

Оптимизацию температуры отжига праймеров проводили с целью получения наиболее эффективного выхода продукта реакции с сохранением его специфичности.

В качестве готовой реакционной смеси ПЦР использовали qPCRmix-HS SYBR (ЗАО Евроген, Россия) согласно рекомендациям производителя. Реакционная смесь содержала 3 мМ ионов магния.

ПЦР в реальном времени проводили с использованием детектирующего амплификатора CFX96 (Bio-Rad, США).

### *Адаптерные последовательности и секвенирование ДНК*

В качестве адаптерных последовательностей для первоначального пулирования образцов на этапе постановки ПЦР были использованы ранее опубликованные (Yu-ChiehLiaoetal. 2020) молекулярные баркоды:

<https://figshare.com/projects/nanoMLST/69026>. Баркоды использовали в составе разработанных праймеров.

Секвенирование проводили с использованием наборов реагентов Rapid Sequencing Kit и Rapid Barcoding Kit (Oxford Nanopore, Великобритания) согласно протоколу производителя. Биоинформатический анализ результатов нанопорового секвенирования проводили при помощи следующего программного обеспечения. Распознавание оснований проводили при помощи программного обеспечения Guppy с последующим удалением адаптерных последовательностей из полученных прочтений при помощи программного обеспечения Porechop. Далее проводили фильтрацию качества прочтений при помощи программного обеспечения Nano Filt (параметры фильтрации: -q 10 -l 500 – headcrop 50). Далее проводили выравнивание полученных отфильтрованных прочтений на референсную последовательность плазмиды в программном обеспечении UGENE (Unipro, Россия) при помощи алгоритма BWA-MEM. Полученную консенсусную последовательность выравнивали с референсной последовательностью и визуализировали в программном обеспечении Geneious Prime (Biomatters Ltd., Новая Зеландия).

#### 2.3.4. Методы статистической обработки данных

Статистическая обработка результатов выполнена с использованием пакета прикладных статистических программ Microsoft Excel, STATISTICA 12.0, Stat Soft, Inc и SPSS-16. В каждой группе для числовых данных рассчитаны медиана (Me), значения 1 и 3 квартилей ( $Q_1$ ;  $Q_3$ ), 5 и 95 перцентилей для каждой категориальной переменной в группе указано абсолютное число и процентная доля. Для проверки статистических гипотез при сравнении количественных показателей в двух независимых группах использовали критерий Манна-Уитни (U). При сравнении категориальных переменных в группах применен критерий хи-квадрат Пирсона ( $\chi^2$ ). Для сравнения более двух групп

количественных данных использовали критерий Краскела-Уоллиса (Kruskal-Wallis test), при наличии статистически значимых различий для попарных сравнений использовали критерий Манна-Уитни (U).

Расчёт критического уровня статистической значимости при сравнении более двух независимых групп проводился по формуле  $p=1-0,95^{1/n}$ , где n – количество проводимых сравнений.

Для проверки нормальности распределения данных использовался критерий Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса (при  $n>50$  в группе) и критерий Шапиро-Уилка (при  $n<50$  в группе). Для проверки гипотез о гомогенности генеральных дисперсий использовался тест Левене.

Изучение взаимосвязей между признаками проводили путем расчета коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r). Корреляционные связи считали статистически значимыми при  $p<0,05$ . Сила корреляционной связи оценивалась качественно: при r от 0,0 до 0,3 – как отсутствие её или показатели слабой тесноты связи; при r от 0,4 до 0,7 – как умеренная; при r более 0,70 – как сильная.

Для определения возможности прогнозирования некоторой целевой переменной на основе нескольких независимых переменных (факторов) применялся метод множественного регрессионного анализа.

$$p = 1/(1 + e^{-z}),$$

где  $z=b_1*X_1+b_2*X_2+...+b_n*X_n+a$ ,

e – константа, основание натурального логарифма, равная 2,72,

$X_{1,2...n}$  – значения независимых переменных,

$b_{1,2...n}$  – коэффициенты,

a – некоторая константа.

Рис. 3 – Формула логистической регрессии.

Если рассчитанное значение  $p < 0,5$  вероятность развития события оценивается как низкая; если значение  $p > 0,5$  – предполагается высокая вероятность развития события.

Кроме того, оценивалась диагностическая чувствительность, диагностическая специфичность, точность разработанного прогностического алгоритма, прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов.

Значимость разработанного алгоритма оценивалась при помощи Omnibus Test и Hosmer and Lemeshow Test. Значимость коэффициентов алгоритма была оценена при помощи критерия Вальда. Для каждой переменной в алгоритме были рассчитаны:  $\beta$ -коэффициент регрессии, стандартная ошибка  $\beta$ -коэффициента, значение статистического критерия Вальда, число степеней свободы. Также рассчитывалась прогностическая критериальная валидность теста ( $r$ -коэффициент валидности).

Для оценки качества созданной модели был применен ROC - анализ с оценкой площади под ROC-кривой (AUC-area under ROC curve).

## ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1. Определение уровня фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста в плазме крови у детей с atopическим дерматитом и детей больных atopическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса

В настоящее время остро стоит проблема диагностики и лечения заболеваний, связанных с нарушениями процесса ангиогенеза, а также регенераторных процессов.

АтД следует рассматривать как общее конечное проявление многих различных генетических дефектов, приводящих к нарушению функции эпидермального барьера и иммунной дисрегуляции.

За последние несколько десятилетий представления о патогенезе АтД значительно изменились. Данная патология представляет собой сложное расстройство, в развитии которого играют роль нарушение эпителиального барьера кожи и аллергическое воспаление в коже больного, генетический фон которого обуславливает предрасположенность к atopии.

Генетически обусловленные или приобретенные, возникшие однажды, воспаление кожи и дефект кожного барьера при АтД, в дальнейшем позволяют проникать аллергенам, которые вызывают иммунный ответ и могут приводить к развитию IgE-опосредованной аллергии. Тот факт, что во многих случаях АтД является первым проявлением atopии и, вероятно, играет ключевую роль в развитии и прогрессировании atopического марша, делает его важным объектом лечения. Влияя на развитие АтД, мы потенциально можем модифицировать процесс развития дальнейших проявлений atopии.

В последние годы активно проводятся исследования, касающиеся физиологической активности фактора роста эндотелия сосудов А (VEGF-A) и эпидермального фактора роста (EGF)



Однако, в доступной нам литературе отсутствуют данные, свидетельствующие о характере влияния VEGF-A и EGF на прогрессирование атопического дерматита у детей, инфицированных вирусом простого герпеса. Таким образом, было целесообразно провести исследование плазмы крови детей больных атопическим дерматитом и атопическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции (вирус простого герпеса) (ГВИ) с целью определения уровня VEGF-A и EGF, установления их диагностического значения в зависимости от степени тяжести и длительности заболевания, для выявления их прогностического значения.

Таблица 1 – Уровень эпидермального фактора роста у детей с атопическим дерматитом и атопическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции

Показатель/ Группа	Медиана	Нижний и верхний квар- тиль	5 и 95 перцентиль
Контрольная группа	1,10	[0,84; 1,26]	[0,64; 1,66]
Дети с АтД	1,47 $p_1 < 0,001$	[0,88; 1,7]	[0,73; 2,12]
Дети с АтД+ГВИ	2,26 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	[1,89; 3,00]	[0,62; 5,12]

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости  $p=0,017$ ;

- $p_1$  – уровень стат. значимости различий с группой контроля;
- $p_2$  – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД.

В группе контроля медиана и интерквартильные размахи уровня эпидермального фактора роста составили 1,10 [0,84; 1,26] нг/мл. В группе больных атопическим дерматитом уровень EGF составил 1,47 [0,88; 1,7] нг/мл, что было статистически значимо выше ( $p_1 < 0,001$ ) по сравнению с группой

контроля. В группе больных атопическим дерматитом на фоне ГВИ уровень EGF составил 2,26 [1,89; 3,00] нг/мл, что было статистически значимо выше данного показателя в группе контроля ( $p_1 < 0,001$ ) и статистически значимо выше, чем в группе больных атопическим дерматитом ( $p_2 < 0,001$ ).

Повышение уровня EGF, выявленное у детей с АтД, указывает на возможность его стимулирующего воздействия на клеточный рост и дифференцировку клеток, в том числе клеток эпидермиса, что может приводить к дисфункции эпидермального кожного барьера. В то же время, значимое повышение уровня EGF у детей с АтД+ГВИ, представляет интерес, так как указывает на стимулирование вирусом простого герпеса выработки EGF, что может быть причиной чрезмерной кератинизации эпидермиса при АтД у инфицированных герпесвирусом пациентов, быть причиной лихенификации и утолщения рогового слоя.

Таблица 2 – Уровень вазоэндотелиального фактора роста у детей с атопическим дерматитом и атопическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции

Показатель/Группа	Медиана	Нижний и верхний квартиль	5 и 95 процентиль
Контрольная группа	9,59	[9,05; 10,78]	[2,10; 11,75]
Дети с АтД	15,27 $p_1 < 0,001$	[12,60; 18,66]	[10,10; 20,35]
Дети с АтД+ГВИ	20,20 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	[14,89; 30,00]	[11,62; 91,12]

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости  $p=0,017$ ;

- $p_1$  – уровень стат. значимости различий с группой контроля;
- $p_2$  – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД.

Повышение уровня VEGF, выявленное у детей с АтД, указывает на усиление процессов ангиогенеза и сосудистой проницаемости.

В то же время, значимое повышение уровня VEGF у детей с АтД+ГВИ, представляет интерес, так как указывает на стимуляцию вирусом простого герпеса выработки VEGF. Избыточная экспрессия VEGF при АтД у инфицированных герпесвирусом пациентов за счет активации ангиогенеза и повышения сосудистой проницаемости может способствовать большей выраженности экссудативных клинических симптомов, затяжному течению заболевания и стойкости кожных проявлений.

В нашей работе проведена оценка выраженности клинических проявлений по шкале SCORAD.

Таблица 3 – Значение индекса SCORAD у детей с атопическим дерматитом и атопическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции

Показатель/Группа	Медиана	Нижний и верхний квартиль	5 и 95 перцентиль
Контрольная группа	-	-	-
Дети с АтД	34,00	[27,00; 39,2]	[25,50; 54,00]
Дети с АтД+ГВИ	49,00 $p_1 < 0,001$	[43,00; 52,10]	[28,00; 63,00]

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости  $p=0,017$ ; -  $p_1$  – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД.

В группе больных атопическим дерматитом медиана и интерквартильные размахи индекса SCORAD, отражающего выраженность симптомов, составили 34,00 [27,00; 39,2] балла. В группе больных АтД на фоне ГВИ значе-

ние индекса SCORAD составило 49,00 [43,00; 52,10] баллов, что было статистически значимо выше, чем в группе больных АтД ( $p_2 < 0,001$ ).

Таким образом, выраженность клинических проявлений АтД по шкале SCORAD была выше в группе больных АтД+ГВИ, что указывает на потенцирующее влияние инфицирования вирусом простого герпеса на клиническое течение заболевания, выраженность симптомов, вовлекающие разные патогенетические механизмы.

Таблица 4 – Количество пациентов с наличием клинических симптомов в исследуемых группах

Клинические симптомы	Контрольная группа n=70	АтД n=70, чел.	АтД+ГВИ n=70, чел.
Эритема	-	35 чел./ 50%	60 чел./87% $\chi^2 = 3,96$ ; df=1; $p_1 = 0,047$
Отек/ папулезные элементы	-	32 чел./ 46%	60 чел./87% $\chi^2 = 5,22$ ; df=1; $p_1 = 0,022$
Корки/мокнутые	-	22 чел./ 31%	42 чел./60% $\chi^2 = 4,33$ df=1; $p_1 = 0,037$
Экскориации	-	25 чел./ 36%	46 чел./76% $\chi^2 = 4,16$ ; df=1; $p_1 = 0,041$
Лихенификации /шелушение	-	58 чел./ 83%	52 чел./74% $\chi^2 = 0,18$ ; df=1; $p_1 = 0,669$
Сухость кожи	-	58 чел./ 83%	52 чел./74% $\chi^2 = 0,18$ ; df=1; $p_1 = 0,669$

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости  $p = 0,05$ ; -  $p_1$  – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД.

При анализе частоты встречаемости отдельных симптомов атопического дерматита в исследуемых группах получены следующие данные.

В группе больных с АтД количество пациентов с *эритемой* составило 35 человек, а в группе больных с АтД+ГВИ – 60 человек, что было статистически значимо больше ( $\chi^2=3,96$ ;  $df=1$ ;  $p_1=0,047$ ).

Также в группе больных с АтД+ГВИ статистически значимо увеличилось ( $\chi^2=5,22$ ;  $df=1$ ;  $p_1=0,022$ ) количество пациентов с *отеками и папулезными элементами*, составляя 60 чел., против 32 чел. в группе больных с АтД.

В группе больных с АтД количество пациентов с такими клиническими симптомами, как *корки и мокнутие* составило 22 чел., а в группе больных с АтД+ГВИ – 42 чел., что было статистически значимо больше ( $\chi^2=4,33$ ;  $df=1$ ;  $p_1=0,037$ ).

В группе больных с АтД количество пациентов с *эксфолиациями* составило 25 чел., а в группе больных с АтД+ГВИ – 46 чел., что было статистически значимо больше ( $\chi^2=4,16$ ;  $df=1$ ;  $p_1=0,041$ ).

Количество пациентов с *лихенификацией и шелушением* в группах с АтД и АтД+ГВИ было сопоставимо ( $\chi^2=0,18$ ;  $df=1$ ;  $p_1=0,669$ ) и составляло 58 чел. и 52 чел. соответственно.

Таблица 5 – Интенсивность клинических признаков атопического дерматита в исследуемых группах

Интенсивность клинических признаков:	Контрольная группа n=70	АтД n=70, чел.	АтД+ГВИ n=70, чел.
0 – отсутствие	70	0	0
1 – слабая	0	23 чел./ 33%	10 чел./14% $\chi^2=4,17$ ; $df=1$ ; $p_1=0,041$
2 – умеренная	0	41 чел./ 59%	39 чел./56% $\chi^2=0,03$ ; $df=1$ ; $p_1=0,856$
3 – сильная	0	8 чел./ 11%	21 чел./30% $\chi^2$ с погр. Йетса= 4,0; $df=1$ ; $p_1=0,046$

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости  $p=0,05$ ; -  $p_1$  – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД.

В группе больных с АтД количество пациентов с *сухостью* кожи составило 58 человек, а в группе больных с АтД+ГВИ – 52 человека, что было статистически сопоставимо по сравнению с группой больных с АтД ( $\chi^2=0,18$ ;  $df=1$ ;  $p_1=0,669$ ) (таб.4).

Из вышеописанных данных следует, что присоединение герпесвирусной инфекции к atopическому дерматиту ухудшает клиническую симптоматику данного заболевания, что проявляется в статистически значимом увеличении количества эритематозных элементов, отёков и папул, корок, эксфолиаций и мокнутий, что указывает на то, что ГВИ – это усугубляющий фактор, поддерживающий воспалительный процесс при данной нозологии (таб. 5).

Усугубляющее влияние герпесвирусной инфекции на выраженность клинической симптоматики atopического дерматита отражает статистически значимое увеличение количества пациентов с сильной интенсивностью клинических признаков в группе детей с АтД+ГВИ – 21 чел. против 8 чел. в группе детей с АтД ( $\chi^2$ с попр. Йетса=4,0;  $df=1$ ;  $p_1=0,046$ ), и, соответственно, статистически значимое уменьшение количества детей со слабой интенсивностью клинических признаков – 10 чел. в группе детей АтД+ГВИ против 23 чел. в группе детей с АтД ( $\chi^2=4,17$ ;  $df=1$ ;  $p_1=0,041$ ).

Далее было проанализировано количество пациентов с сопутствующей патологией в исследуемых группах (таб. 6).

В группе больных с АтД количество пациентов с *бронхиальной астмой* составило 2 чел., а в группе больных с АтД+ГВИ – 4 чел., что было статистически сопоставимо ( $\chi^2=0,64$ ;  $df=1$ ;  $p_1=0,424$ ).

В группе больных с АтД количество пациентов с *аллергическим ринитом и аллергическим риноконъюнктивитом* составило 6 чел. и 2 чел., а в группе больных с АтД+ГВИ – 17 чел. и 11 чел. соответственно, что было статистически значимо больше ( $\chi^2=4,54$ ;  $df=1$ ;  $p_1=0,033$  для аллергического ринита;  $\chi^2=4,42$ ;  $df=1$ ;  $p_1=0,036$  для аллергического риноконъюнктивита).

Таблица 6 – Количество пациентов с сопутствующими заболеваниями в исследуемых группах

Сопутствующие заболевания:	Контрольная группа n=70	АтД n=70	АтД+ГВИ n=70
Бронхиальная астма	-	2 чел./3%	4 чел./6% $\chi^2=0,64$ ; df=1; $p_1=0,424$
Аллергический ринит	-	6 чел./9%	17 чел./24% $\chi^2=4,54$ ; df=1; $p_1=0,033$
Аллергический рино- конъюнктивит	-	2 чел./3%	11 чел./16% $\chi^2=4,42$ ; df=1; $p_1=0,036$
Дискинезия желчевыво- дящих путей	-	10 чел./14%	8 чел./11% $\chi^2=0,2$ ; df=1; $p_1=0,657$
Гастрит, гастродуоденит	-	10 чел./14%	8 чел./11% $\chi^2=0,2$ ; df=1; $p_1=0,657$
Реактивный панкреатит	-	3 чел./4%	7 чел./10% $\chi^2=0,8$ ; df=1; $p_1=0,371$
Реактивная гепатомегалия	-	1 чел./1%	4 чел./6% $\chi^2=0,75$ ; df=1; $p_1=0,388$
Гепатоспленомегалия	-	1 чел./1%	4 чел./6% $\chi^2=0,75$ ; df=1; $p_1=0,388$

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости  $p=0,05$ ; -  $p_1$  – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД.

В группе больных с АтД количество пациентов с такими сопутствующими заболеваниями как *дискинезия желчевыводящих путей*, *гастрит* и *гастродуоденит* составило по 10 чел., а в группе больных с АтД+ГВИ – по 8

чел., при этом статистически значимых различий выявлено не было ( $\chi^2 = 0,2$ ;  $df=1$ ;  $p_1=0,657$ ).

В группе больных с АтД количество пациентов с *реактивным панкреатитом* составило 3 чел., а в группе больных с АтД+ГВИ – 7 чел., что было статистически сопоставимо по сравнению с группой больных с АтД ( $\chi^2 = 0,8$ ;  $df=1$ ;  $p_1=0,371$ ).

В группе больных с АтД количество пациентов с *реактивной гепатомегалией и гепатоспленомегалией* составило по 1 чел., а в группе больных с АтД+ГВИ – по 4 чел. соответственно, что не имело статистически значимых различий ( $\chi^2 = 0,75$ ;  $df=1$ ;  $p_1=0,388$ ).

Присоединение ГВИ к АтД не только увеличивает яркость клинических симптомов, но и способствует проявлению других atopических заболеваний, например таких как аллергические риниты и риноконъюнктивиты, что указывает на потенцирующее влияние инфицирования вирусом герпеса на интенсивность проявлений атопии и поддержание atopического воспаления в организме.

Выявленное снижение уровня эритроцитов у пациентов с АтД и АтД+ГВИ указывает на некоторое угнетающее действие atopических процессов на эритроцитопоез, что в свою очередь может ослаблять процессы заживления и регенерации поврежденных слоёв кожи, так как эритроциты обеспечивают дыхание тканей, тем самым запуская регуляцию и стимуляцию деления, роста и выживания клеток (таб.7).

Кроме того, снижение уровня гемоглобина крови, выявленное как у детей с АтД, так и у детей с АтД+ГВИ, может влиять на выраженность клинической картины кожных проявлений, течение заболевания и регенерацию повреждённых тканей, так как велика роль данного фактора в транспорте кислорода и окислительно-восстановительных реакциях (табл. 7).



Таблица 7 – Показатели общего анализа крови у пациентов исследуемых групп

Показатель/Группа	Контрольная группа n=70	АтД n=70	АтД+ГВИ n=70
Количество эритроцитов, *10 <sup>12</sup> /л	4,66 [4,36; 4,99]	4,30 [4,20; 4,40] p <sub>1</sub> <0,001	4,17 [3,9; 4,3] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,051
Уровень гемоглобина, г/л	133,00 [130,00; 138,00]	130,00 [127,00; 137,00] p <sub>1</sub> =0,045	126,00 [120,00; 130,00] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001
Количество лейкоцитов *10 <sup>9</sup> /л	6,42 [5,80; 7,30]	6,90 [6,10; 8,50] p <sub>1</sub> =0,161	8,95 [7,10; 11,64] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости p=0,017

- p<sub>1</sub> – уровень стат. значимости различий с группой контроля
- p<sub>2</sub> – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД.

Также увеличение уровня лейкоцитов крови, выявленное у части детей (более 5%) с АтД, указывает на положительный ответ иммунной системы при поражениях кожи и позволяет оценить степень активности воспалительного процесса при атопическом дерматите.

В то же время, значимое повышение уровня лейкоцитов у детей с АтД+ГВИ, представляет интерес, так как указывает на контаминацию кожи вирусом герпеса и стимуляцию им выработки лейкоцитов, что поддерживает воспаление и коррелирует с тяжестью течения атопического дерматита, а также может обострять течение АтД, утяжеляя и затрудняя лечение.

Таблица 8 – Показатели биохимического анализа крови у пациентов исследуемых групп

Показатель/Группа	Контрольная группа n=70	АтД n=70	АтД+ГВИ n=70
Общий белок, г/л	67,00 [66,4; 68,4]	72,75 [68,20; 75,80] p <sub>1</sub> =0,011	60,5 [58,1; 63,6] p <sub>1</sub> =0,016 p <sub>2</sub> <0,001
Альбумины, г/л	45,80 [35,70; 68,00]	41,70 [40,4; 42,7] p <sub>1</sub> =0,035	35,0 [33,5; 36,2] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001
Глобулины, г/л	29,4 [24,80; 32,7]	33,70 [31,40; 34,65] p <sub>1</sub> =0,012	27,2 [24,9; 28,8] p <sub>1</sub> =0,041 p <sub>2</sub> =0,003
Общий билирубин, мкмоль/л	14,1 [11,3; 14,5]	12,5 [11,1; 13,3] p <sub>1</sub> =0,031	10,00 [9,90; 10,90] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001
АЛТ, Ед/л	24,4 [16,8; 30,2]	19,9 [17,5; 30,0] p <sub>1</sub> =0,845	23,5 [18,2; 33,8] p <sub>1</sub> =0,341 p <sub>2</sub> =0,111
АСТ, Ед/л	36,90 [19,3; 41,2]	20,80 [19,40; 32,90] p <sub>1</sub> =0,038	23,6 [20,1; 34,3] p <sub>1</sub> =0,051 p <sub>2</sub> =0,191
Глюкоза крови, ммоль/л	4,05 [3,70; 4,30]	4,40 [3,80; 4,50] p <sub>1</sub> =0,121	4,13 [3,78; 5,01] p <sub>1</sub> =0,079 p <sub>2</sub> =0,913

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости p=0,017

- p<sub>1</sub> – уровень стат. значимости различий с группой контроля
- p<sub>2</sub> – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД.

В работе была проведена оценка базовых биохимических показателей, отражающие уровень трофики, работу гепатобилиарной системы и иммунной системы (табл. 8).

Значимое понижение уровня общего белка у детей с АтД+ГВИ, представляет интерес, так как указывает на влияние вируса простого герпеса на уменьшение выработки и, как следствие, функциональной активности белка

в обеспечении правильного кислотно-щелочного равновесия. Это в свою очередь влечет за собой изменения нормальной рН (среды) кожи, снижение сопротивляемости кожи по отношению к экзогенным факторам и может приводить к дисфункции эпидермального кожного барьера, присоединению вторичной флоры, усилению кожных проявлений, что обостряет, утяжеляет течение и затрудняет лечение АтД.

Снижение величины эффективной концентрации альбумина у детей с АтД вызвано «загруженностью» его молекулы биологически активными веществами и другими метаболитами в условиях эндогенной интоксикации организма у больных детей с АтД.

В то же время, значимое снижение уровня альбумина в группе детей с АтД+ГВИ также указывают на высокую эндогенную интоксикацию организма больных детей АтД, инфицированных вирусом простого герпеса, и отражают нарушение процессов детоксикации в организме детей больных АтД+ГВИ, а также косвенно указывает на снижение белково-синтетической функции печени.

Увеличение уровня глобулина, выявленное у детей с АтД, может свидетельствовать о наличии острого воспалительного процесса, дегидратации кожи, позволяет оценить степень активности воспалительного процесса и клинических кожных проявлений при atopическом дерматите.

В то же время, снижение уровня глобулина у детей с АтД+ГВИ, указывает на угнетающее воздействие герпесвирусной инфекции на продукцию глобулинов и иммунный ответ в целом, и особенно гуморальное его звено. Кроме того, важной функцией глобулинов является участие в переносе железа, при недостаточности которого наблюдается бледность, потрескивания и сухость кожных покровов и слизистых, прежде всего в тех участках, где кровоток наиболее близок к поверхности или слизистой оболочке: губы, конъюнктивы, ладони, ногтевые ложа. Что приводит к нарушению процессов ре-

генерации и обновления кожи, повреждённой вторичной инфекцией – вирусом герпеса.

Несмотря на то, что уровень общего билирубина был снижен у детей с АтД и АтД+ГВИ по сравнению с группой контроля, его значения оставались в рамках референсных значений, что говорит о нормальном функционировании печени и отсутствии нарушений в гепатобилиарной системе детей.

Однако, современные представления определяют билирубин как мощный эндогенный антиоксидант с противовоспалительными свойствами, способный влиять на течение различных заболеваний, снижать повреждение тканей [22, 28, 68]. Поэтому снижение уровня общего билирубина у пациентов как с АтД, так и с АтД+ГВИ по сравнению с группой контроля может отражать угнетение системы антиоксидантной защиты пациентов с данной нозологией.

Не были получены данные о воздействии атопического дерматита на состояние печени с синдромом цитолиза и значимого влияния на данный процесс вируса простого герпеса, о чем свидетельствуют референсные значения уровня АЛТ и АСТ в группе детей с АтД и АтД+ГВИ.

Также не было выявлено значимых изменений уровня гликемии у детей с АтД и АтД+ГВИ, что свидетельствует об отсутствии влияния атопических проявлений и герпесвирусной инфекции на углеводный обмен.

В группе контроля медиана и интерквартильные размахи уровня иммуноглобулина Е составили 34,75 [11,66; 46,38] МЕ/мл (таб. 9). В группе больных АтД уровень иммуноглобулина Е составил 317,10 [198,3; 363,26] МЕ/мл, что было статистически значимо выше ( $p_1 < 0,001$ ) по сравнению с группой контроля. В группе больных атопическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции уровень иммуноглобулина Е составил 545,6 [295,7; 823,0] МЕ/мл, что было статистически значимо выше данного показателя в группе контроля ( $p_1 < 0,001$ ) и статистически значимо выше, чем в группе больных атопическим дерматитом ( $p_2 < 0,001$ ).

Таблица 9 – Уровень Ig E в крови пациентов исследуемых групп

Показатель/Группа	Медиана	Нижний и верхний квартиль	5 и 95 процен- тиль
Контрольная группа	34,75	[11,66; 46,38]	[7,41; 103,6]
Дети с АтД	317,1 $p_1 < 0,001$	[198,3; 363,26]	[20,33; 643,73]
Дети с АтД+ГВИ	545,6 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	[295,7; 823,0]	[110,2; 843,7]

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости  $p=0,017$

- $p_1$  – уровень стат. значимости различий с группой контроля;
- $p_2$  – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД.

Повышение уровня Ig E, выявленное у детей с АтД, указывает на острую фазу заболевания, дефекты иммунной системы, инициирующие и поддерживающие развитие воспалительной реакции в коже и может способствовать началу атопических проявлений иной локализации (т.к. АтД часто этому предшествует).

В то же время, значимое повышение уровня IgE у детей с АтД+ГВИ, представляет интерес, так как указывает на IgE-опосредованную высокую сенсибилизирующую способность вируса герпеса.

Таким образом, повышение уровня EGF, выявленное у детей с АтД, указывает на возможность его стимулирующего воздействия на клеточный рост и дифференцировку клеток, в том числе клеток эпидермиса, что может приводить к дисфункции эпидермального кожного барьера. Повышение уровня VEGF, выявленное у детей с АтД, указывает на усиление процессов ангиогенеза и сосудистой проницаемости. В то же время, значимое повышение уровня EGF и VEGF у детей с АтД+ГВИ указывает на стимулирование вирусом простого герпеса выработки данных факторов роста, что может

быть причиной чрезмерной кератинизации эпидермиса, лихенификации и утолщения рогового слоя при АтД у инфицированных герпесвирусом пациентов при EGF, а избыточная экспрессия VEGF при АтД у инфицированных герпесвирусом пациентов за счет активации ангиогенеза и повышению сосудистой проницаемости может способствовать большей выраженности экссудативных клинических симптомов, затяжному течению заболевания и стойкости кожных проявлений.

Выраженность клинических проявлений АтД по шкале SCORAD выше в группе больных АтД+ГВИ, что указывает на потенцирующее влияние инфицирования вирусом герпеса на клиническое течение заболевания, выраженность симптомов, вовлекающие разные патогенетические механизмы.

Присоединение герпесвирусной инфекции к АтД ухудшает клиническую симптоматику данного заболевания, что проявляется в статистически значимом увеличении количества эритематозных элементов, отёков и папул, корок, эксфолиаций и мокнутий, что указывает на то, что ГВИ – это усугубляющий фактор, поддерживающий воспалительный процесс при данной нозологии, который так же отражается в статистически значимом увеличении количества пациентов с тяжелой интенсивностью клинических признаков в группе детей с АтД+ГВИ.

При анализе количества пациентов с сопутствующей патологией в исследуемых группах было выявлено, что: присоединение ГВИ к АтД не только увеличивает яркость клинических симптомов, но и способствует проявлению других atopических заболеваний, например, таких как аллергические риниты и риноконъюнктивиты, что указывает на потенцирующее влияние инфицирования вирусом герпеса на интенсивность проявлений atopии и поддержание atopического воспаления в организме.

Снижение уровня эритроцитов у пациентов с АтД и АтД+ГВИ, указывает на некоторое угнетающее действие atopических процессов на эритроцитопоез, что в свою очередь может ослаблять процессы заживления и регене-

рации поврежденных слоёв кожи, так как эритроциты обеспечивают дыхание тканей, тем самым запуская регуляцию и стимуляцию деления, роста и выживания клеток.

Снижение уровня гемоглобина крови, выявленное как у детей с АтД, так и у детей с АтД+ГВИ, может влиять на выраженность клинической картины кожных проявлений, течение заболевания и регенерацию повреждённых тканей, так как велика роль данного фактора в транспорте кислорода и окислительно-восстановительных реакциях.

Увеличение уровня лейкоцитов крови, выявленное у части детей (более 5%) с АтД, указывает на положительный ответ иммунной системы при поражениях кожи и позволяет оценить степень активности воспалительного процесса при атопическом дерматите.

В то же время, значимое повышение уровня лейкоцитов у детей с АтД+ГВИ, представляет интерес, так как указывает на контаминацию кожи вирусом герпеса и стимуляцию им выработки лейкоцитов, что поддерживает воспаление и коррелирует с тяжестью течения атопического дерматита, а также может обострять течение АтД, утяжеляя и затрудняя лечение.

При оценке базовых биохимических показателей, было выявлено значимое понижение уровня общего белка у детей с АтД+ГВИ, что представляет интерес, так как указывает на влияние вируса герпеса на уменьшение выработки и, как следствие, функциональной активности белка в обеспечении правильного кислотно-щелочного равновесия. Это в свою очередь влечет за собой изменения нормальной рН (среды) кожи, снижение сопротивляемости кожи по отношению к экзогенным факторам и может приводить к дисфункции эпидермального кожного барьера, присоединению вторичной флоры, усилению кожных проявлений, что обостряет, утяжеляет течение и затрудняет лечение АтД.

Снижение величины эффективной концентрации альбумина у детей с АтД вызвано «загруженностью» его молекулы биологически активными ве-

ществами и другими метаболитами в условиях эндогенной интоксикации организма у больных детей с атопическим дерматитом.

В то же время, значимое снижение уровня альбумина в группе детей с АтД+ГВИ также указывают на высокую эндогенную интоксикацию организма больных детей атопическим дерматитом, инфицированных вирусом герпеса, и отражают нарушение процессов детоксикации в организме детей больных АтД+ГВИ, а также косвенно указывает на снижение белково-синтетической функции печени.

Полифункциональная роль альбумина в организме проявляется регулированием не только белкового, но и других гомеостазов. Этот белок участвует в поддержании внутрисосудистого коллоидно-осмотического давления, обладает конъюгирующими и инактивирующими свойствами, выполняет гомеостатическую, детоксицирующую, ферментоподобную, антиоксидантную, хемокинетическую функции. Нарушение реализации функций альбумина ведет к накоплению токсичных компонентов. Регуляция этих процессов осуществляется не только за счет количественного содержания альбуминов, но и их конформации, модификации, то есть функциональных характеристик.

Увеличение уровня глобулина, выявленное у детей с АтД, может свидетельствовать о наличии острого воспалительного процесса, дегидратации кожи, позволяет оценить степень активности воспалительного процесса и клинических кожных проявлений при атопическом дерматите.

В то же время, снижение уровня глобулина у детей с АтД+ГВИ указывает на угнетающее воздействие герпесвирусной инфекции на продукцию глобулинов и иммунный ответ в целом, и особенно гуморальное его звено. Кроме того, важной функцией глобулинов является участие в переносе железа, при недостаточности которого наблюдается бледность, потрескивания и сухость кожных покровов и слизистых, прежде всего в тех участках, где кровоток наиболее близок к поверхности или слизистой оболочке: губы, конъюнктивы, ладони, ногтевые ложа. Что приводит к нарушению процессов ре-



генерации и обновления кожи, повреждённой вторичной инфекцией – вирусом герпеса.

Несмотря на то, что уровень общего билирубина был снижен у детей с АтД и АтД+ГВИ по сравнению с группой контроля, его значения оставались в рамках референсных значений, что говорит о нормальном функционировании печени и отсутствии нарушений в гепатобилиарной системе детей.

Однако, современные представления определяют билирубин как мощный эндогенный антиоксидант с противовоспалительными свойствами, способный влиять на течение различных заболеваний, снижать повреждение тканей. Поэтому снижение уровня общего билирубина у пациентов как с АтД, так и с АтД+ГВИ, по сравнению с группой контроля, может отражать угнетение системы антиоксидантной защиты пациентов с данной нозологией.

Не было получено данных о воздействии атопического дерматита на состояние печени с синдромом цитолиза и значимого влияния на данный процесс вируса герпеса, о чем свидетельствуют референсные значения уровня АЛТ и АСТ в группе детей с АтД и АтД+ГВИ.

Не было выявлено значимых изменений уровня гликемии у детей с АтД и АтД+ГВИ, что свидетельствует об отсутствии влияния атопических проявлений и герпесвирусной инфекции на углеводный обмен.

Повышение уровня Ig E, выявленное у детей с АтД, указывает на острую фазу заболевания, дефекты иммунной системы, инициирующие и поддерживающие развитие воспалительной реакции в коже и может способствовать началу атопических проявлений иной локализации (т.к. АтД часто этому предшествует).

В то же время, значимое повышение уровня IgE у детей с АтД+ГВИ, представляет интерес, так как указывает на IgE-опосредованную высокую сенсибилизирующую способность вируса герпеса.

3.2. Диагностическое значение фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста у детей с atopическим дерматитом и atopическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса в зависимости от степени тяжести и длительности заболевания

Таблица 10 – Уровень эпидермального фактора роста у детей с atopическим дерматитом и atopическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции в зависимости от степени тяжести

Показатель/Группа	Медиана	Нижний и верхний квартиль	5 и 95 проценты
Контрольная группа	1,10	[0,84; 1,26]	[0,64; 1,66]
Дети с АтД средн. ст. тяжести	1,21 $p_1=0,041$	[0,88; 1,31]	[0,73; 1,76]
Дети с АтД тяжелой ст. тяжести	1,5 $p_1<0,001$ $p_3=0,004$	[1,12; 2,0]	[0,98; 2,12]
Дети с АтД+ГВИ средн. ст. тяжести	2,10 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	[1,73; 2,94]	[0,62; 3,12]
Дети с АтД+ГВИ тяжелой ст. тяжести	2,6 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$ $p_3=0,003$	[1,92; 4,89]	[2,23; 5,12]

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости  $p=0,006$ ;

- $p_1$  – уровень стат. значимости различий с группой контроля;
- $p_2$  – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД в соответствующей подгруппе;
- $p_3$  – уровень стат. значимости различий с средней степенью тяжести в соответствующей подгруппе.

Увеличение EGF у пациентов с АтД и АтД+ГВИ с увеличением степени тяжести АтД отражает усиление патологического воздействия данного фактора на процессы кератинизации и функциональное состояние эпидер-

мального барьера с увеличением тяжести АтД. В то же время более высокий уровень EGF в соответствующих по степени тяжести подгруппах больных АтД+ГВИ подтверждает стимулирующее влияние ГВИ на продукцию EGF.

Таблица 11 – Уровень вазоэндотелиального фактора роста у детей с атопическим дерматитом и атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса в зависимости от степени тяжести

Показатель/Группа	Медиана	Нижний и верхний квартиль	5 и 95 проценты
Контрольная группа	9,59	[9,05; 10,78]	[2,10; 11,75]
Дети с АтД средней ст. тяжести	13,1 $p_1 < 0,001$	[12,6; 16,2]	[10,1; 17,3]
Дети с АтД тяжелой ст. тяжести	18,4 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	[15,71; 19,31]	[14,5; 20,35]
Дети с АтД+ГВИ средней ст. тяжести	16,7 $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,004$	[14,1; 21,3]	[11,57; 22,8]
Дети с АтД+ГВИ тяжелой ст. тяжести	28,2 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	[19,2; 31,2]	[18,6; 91,2]

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости  $p=0,006$ ;

- $p_1$  – уровень стат. значимости различий с группой контроля;
- $p_2$  – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД в соответствующей подгруппе;
- $p_3$  – уровень стат. значимости различий с средней степенью тяжести в соответствующей подгруппе.

С увеличением степени тяжести процесса наблюдается повышение уровня VEGF, выявленное как у детей с АтД, так и в группе больных

АтД+ГВИ, что стимулирует процессы ангиогенеза, увеличивает сосудистую микропроницаемость, что усугубляется наличием герпесвирусной инфекции.

Таблица 12 – Количество баллов по шкале SCORAD у детей с atopическим дерматитом и atopическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса в зависимости от степени тяжести

Показатель/Группа	Медиана	Нижний и верхний квартиль	5 и 95 процентиль
Контрольная группа	-	-	-
Дети с АтД средней ст. тяжести	30,00	[27,80; 31,20]	[25,50; 32,3]
Дети с АтД тяжелой ст. тяжести	52,5 $p_3 < 0,001$	[52,3; 53,6]	[50,1; 54,00]
Дети с АтД+ГВИ средней ст. тяжести	46,4 $p_2 < 0,001$	[42,80; 48,55]	[28,00; 49,10]
Дети с АтД+ГВИ тяжелой ст. тяжести	55,30 $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	[50,90; 57,10]	[51,20; 63,00]

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости  $p=0,006$ ;

-  $p_2$  – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД в соответствующей подгруппе;

-  $p_3$  – уровень стат. значимости различий с средней степенью тяжести в соответствующей подгруппе.

Таблица 13 – Интенсивность клинических проявлений атопического дерматита в группах исследования

Интенсивность проявлений признака, чел./% в группе	1-легкий чел./% в группе	2-средний чел./% в группе	3-тяжелый чел./% в группе
Эритема АтД, n=35чел./50% АтД+ГВИ, n=60чел./86%	АтД – 13чел./19% АтД+ГВИ - 0 $\chi^2$ с п. Йетса= 18,47; $p_1 < 0,001$	АтД – 17чел./24% АтД+ГВИ – 58чел./83% $\chi^2 = 3,97$ ; $p_1 = 0,046$	АтД - 5чел./7% АтД+ГВИ - 2чел./3% $\chi^2$ с п. Йетса=1,98; $p_1 = 0,159$
Отек/папулезные элементы АтД, n=32чел./46% АтД+ГВИ, n=60чел./86%	АтД – 6чел./9% АтД+ГВИ – 1чел./1% $\chi^2$ с п. Йетса= 5,14; $p_1 = 0,023$	АтД – 14чел./20% АтД+ГВИ - 57чел./81% $\chi^2 = 4,49$ ; $p_1 = 0,034$	АтД – 12чел./17% АтД+ГВИ - 12чел./17% $\chi^2 = 1,87$ ; $p_1 = 0,171$
Корки/мокнутые АтД, n=22чел./31% АтД+ГВИ, n=42чел./60%	АтД – 5 чел./7% АтД+ГВИ – 1чел./1% $\chi^2$ с п. Йетса= 3,68; $p_1 = 0,055$	АтД – 14чел./20% АтД+ГВИ – 27чел./39% $\chi^2 = 4,59$ ; $p_1 = 0,032$	АтД – 3чел./4% АтД+ГВИ – 14чел./20% $\chi^2$ с п. Йетса=2,91; $p_1 = 0,088$
Экскориации АтД, n=25чел./36% АтД+ГВИ, n=46чел./66%	АтД – 7 чел./10% АтД+ГВИ – 2 чел./3% $\chi^2$ с п. Йетса= 4,39; $p_1 = 0,036$	АтД – 16чел./23% АтД+ГВИ – 29чел./41% $\chi^2 = 0,01$ ; $p_1 = 0,969$	АтД – 2чел./3% АтД+ГВИ – 15чел./21% $\chi^2$ с п. Йетса=2,53; $p_1 = 0,112$
Лихенификация/ шелушение АтД, n=58чел./83% АтД+ГВИ, n=52чел./74%	АтД – 14чел./20% АтД+ГВИ - 4 $\chi^2$ с п. Йетса= 2,99; $p_1 = 0,084$	АтД – 33чел./47% АтД+ГВИ - 44 $\chi^2 = 1,77$ ; $p_1 = 0,238$	АтД – 11чел./16% АтД+ГВИ - 4 $\chi^2$ с п. Йетса=1,51; $p_1 = 0,219$
Сухость кожи АтД, n=58чел./83% АтД+ГВИ, n=52чел./74%	АтД – 16чел./23% АтД+ГВИ – 13чел./19% $\chi^2 = 0,06$ ; $p_1 = 0,814$	АтД – 37чел./53% АтД+ГВИ – 31чел./44% $\chi^2 = 0,05$ ; $p_1 = 0,827$	АтД - 5чел./7% АтД+ГВИ – 8чел./11% $\chi^2$ с п. Йетса= 0,95; $p_1 = 0,033$

Примечание:  $p_1$  – значение различий между группами с АтД и АтД+ГВИ по количеству пациентов с симптомами соответствующей интенсивности.

С нарастанием степени тяжести у пациентов с АтД и пациентов с АтД+ГВИ мы наблюдаем чёткое значимое увеличение выраженности клинической симптоматики, что отражается увеличением количества баллов по SCORAD, более выраженное в группе пациентов с АтД+ГВИ.

У больных АтД количество пациентов с наличием легкой эритемы составило 13 чел., что было статистически значимо больше по сравнению с группой больных с АтД+ГВИ в соответствующей тяжести течения, где таких больных выявлено не было ( $\chi^2$  с поправкой Йетса = 18,47; df=1;  $p_1 < 0,001$ ). Количество пациентов со средней интенсивностью эритемы в группе с АтД составило 17 чел., что статистически значимо меньше ( $\chi^2 = 3,97$ ;  $p_1 = 0,046$ ), по сравнению с пациентами в группе с АтД+ГВИ, где эритема наблюдалась у 58 чел. Количество пациентов с эритемой тяжелой степени в группах с АтД и АтД+ГВИ было сопоставимо ( $\chi^2$  с поправкой Йетса = 1,98;  $p_1 = 0,159$ ).

В группе с АтД по сравнению с группой АтД+ГВИ количество пациентов с лёгкой интенсивностью проявления отёков и папулезных элементов было статистически значимо больше ( $\chi^2$  с поправкой Йетса = 5,14; df=1;  $p_1 = 0,023$ ), а количество пациентов со средней интенсивностью проявления данных симптомов – статистически значимо меньше ( $\chi^2 = 4,49$  df=1;  $p_1 = 0,034$ ), по сравнению с пациентами в группе с АтД+ГВИ, где наблюдается большая интенсивность данных клинических симптомов. Количество пациентов с тяжелой интенсивностью отеков и папулезных элементов в группах АтД и АтД+ГВИ было сопоставимо ( $\chi^2 = 1,87$ ; df=1;  $p_1 = 0,171$ ).

В группе с АтД по сравнению с группой АтД+ГВИ количество пациентов с лёгкой интенсивностью корок и мокнутий статистически незначимо больше ( $\chi^2$  с поправкой Йетса = 3,68; df=1;  $p_1 = 0,055$ ), а со средней интенсивностью данных симптомов – статистически значимо меньше ( $\chi^2$  с поправкой Йетса = 4,59; df=1;  $p_1 = 0,032$ ), по сравнению с пациентами в группе с АтД+ГВИ, где наблюдается большая интенсивность данных клинических симптомов. Количество

пациентов с тяжелой интенсивностью корок и мокнутий в группах АтД и АтД+ГВИ было сопоставимо ( $\chi^2$  с поправкой Йетса = 2,91; df=1;  $p_1=0,088$ ).

В группе больных с АтД количество пациентов с эксфолиациями легкой интенсивности было статистически значимо больше в сравнении с группой больных с АтД+ГВИ. Количество пациентов с эксфолиациями средней, а также тяжелой интенсивности в группах с АтД и АтД+ГВИ было сопоставимо ( $\chi^2 = 0,01$ ; df=1;  $p_1=0,969$  и  $\chi^2$  с поправкой Йетса=2,53; df=1;  $p_1=0,112$  соответственно).

В группе с АтД по сравнению с группой АтД+ГВИ количество пациентов с лёгкой интенсивностью лихенификации и шелушений статистически значимо больше ( $\chi^2$  с поправкой Йетса = 2,99; df=1;  $p_1=0,084$ ), со средней степенью интенсивности – статистически не значимо меньше ( $\chi^2 = 1,77$ ; df=1;  $p_1=0,238$ ), по сравнению с пациентами в группе с АтД+ГВИ. Количество пациентов с тяжёлой степенью лихенификации и шелушения в группе с АтД составило 11 чел., что было сопоставимо ( $\chi^2$  с поправкой Йетса=1,51; df=1;  $p_1=0,219$ ) с группой АтД+ГВИ, где тяжёлая степень лихенификации и шелушения наблюдалась у 4 чел.

В группе с АтД количество пациентов с сухостью кожи легкой интенсивности составило 16 чел., что статистически не отличалось от группы больных с АтД+ГВИ, где таких больных было 13 чел. ( $\chi^2 = 0,06$ ; df=1;  $p_1=0,814$ ). Сухость кожи средней интенсивности в группе с АтД наблюдалась у 37 чел., а в группе с АтД+ГВИ - у 31 чел., что так же не имело статистически значимых различий ( $\chi^2 = 0,05$ ; df=1;  $p_1=0,827$ ). Количество пациентов с сухостью кожи тяжёлой степени в группах с АтД и АтД+ГВИ было сопоставимы ( $\chi^2$  с поправкой Йетса=0,95; df=1;  $p_1=0,033$ ).

Таким образом, наблюдалось значимое увеличение выраженности клинической симптоматики средней и тяжелой интенсивности при наличии ГВИ, что отражалось в увеличении количества больных с большей выраженностью симптомов в группах с АтД+ГВИ. Так же чётко прослеживается, что у пациентов в

группе с АтД+ГВИ со средней степенью тяжести процесса клиника очень яркая, выраженность клинических симптомов выше, чем у пациентов с АтД без ГВИ, что указывает на потенцирующее влияние инфицирования вирусом простого герпеса на клиническое течение заболевания и выраженность симптомов, вовлекающие разные патогенетические механизмы.

В группе пациентов с АтД чаще встречалось поражение кожи лица, конечностей, туловища с наличием таких объективных признаков как эритема, отек, мокнутие, эксфолиации, лихенификация, сухость и субъективных признаков – зуд и нарушения сна. Медиана площади поражения на основании формулы для подсчета индекса SCORAD составила 31,5 [12,5; 40,5] балла.

В группе пациентов с АтД+ГВИ медиана площади поражения составила 40,5 [37; 47,5] балла, где превалировало поражение кожи тела, конечностей с наличием папулезных элементов, эритемы, отёка, корок, мокнутий, эксфолиаций, шелушения и зуда кожи, отсутствие сна.

В группе больных с АтД выраженность зуда составляла 6 [3; 7] баллов, а в группе больных АтД+ГВИ выраженность зуда была статистически значимо больше  $p=0,035$  и составила 7 баллов [4; 8]. Выраженность нарушений сна в группе больных с АтД составила 5 баллов [2; 6], в группе больных АтД+ГВИ выраженность нарушений сна была статистически значимо больше  $p=0,041$  и составила 6 баллов [3; 8].

Обращает на себя внимание снижение количества эритроцитов ниже референсных значений в группе больных АтД+ГВИ тяжелой степени тяжести и тенденция к уменьшению их количества с утяжелением АтД, что в свою очередь может ослаблять процессы заживления и регенерации поврежденных слоёв кожи, так как эритроциты обеспечивают дыхание тканей, тем самым запуская регуляцию и стимуляцию деления, роста и выживания клеток (таб.14).

У пациентов с АтД+ГВИ тяжелой степени тяжести наблюдалась лёгкая анемия, что косвенно указывает на угнетающее влияние герпесвирусной ин-



фекции на эритропоз, на продолжительность жизни эритроцитов и истощение запасов сывороточного железа.

Таблица 14 – Показатели общего анализа крови у пациентов исследуемых групп в зависимости от степени тяжести

Показатель/ группа	Контрольная группа	Дети с АтД средней ст. тяжести	Дети с АтД тяжелой ст. тяжести	Дети с АтД+ГВИ средней ст. тяжести	Дети с АтД+ГВИ тяжелой ст. тяжести
Ег, *10 <sup>12</sup> /л	4,66 [4,36; 4,99]	4,41 [4,27; 5,10] p <sub>1</sub> =0,041	4,20 [4,21; 4,46] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>3</sub> =0,038	4,3 [4,30; 4,74] p <sub>1</sub> =0,039 p <sub>2</sub> =0,011	3,5 [3,39; 3,65] p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> < 0,001 p <sub>3</sub> =0,009
Нб, г/л	133,00 [130,00; 138,00]	130,00 [121,00; 137,00] p <sub>1</sub> =0,060	127,00 [121,00; 129,00] p <sub>1</sub> =0,005 p <sub>3</sub> =0,037	128,00 [120,00;130,00] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,031	114,50 [112,00; 121,00] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,001
Le *10 <sup>9</sup> /л	6,42 [5,80; 7,30]	6,90 [5,80; 7,90] p <sub>1</sub> =0,061	8,40 [6,10; 8,80] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>3</sub> =0,002	7,93 [6,91; 11,64] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,003	8,99 [7,10; 10,60] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =0,045 p <sub>3</sub> =0,026

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости p=0,006

- p<sub>1</sub> – уровень стат. значимости различий с группой контроля;

- p<sub>2</sub> – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД в соответствующей подгруппе;

- p<sub>3</sub> – уровень стат. значимости различий с средней степенью тяжести в соответствующей подгруппе.

У пациентов обследуемых групп прослеживалась тенденция увеличения медианы количества лейкоцитов, во всех группах появлялись пациенты с повышением референсных значений количества лейкоцитов, на что указывали увеличения значения 95 перцентиля в группах больных с АтД средней и тяжелой степени и верхнего квартиля и 95 перцентиля в группах больных с АтД+ГВИ средней и тяжелой степени, что является закономерным отражением воспалительной активации у данных пациентов, более выраженной при инфицировании ГВИ.

При усилении степени тяжести АтД происходит понижение уровня общего белка у детей с АтД, значимо более выраженное в группе детей с АтД+ГВИ, что представляет интерес, так как указывает на влияние вируса простого герпеса на функциональную активность белка в обеспечении правильного кислотно-щелочного равновесия – изменения нормальной рН (среды) кожи, что снижает сопротивляемость кожи по отношению к экзогенным факторам, приводит к дисфункции эпидермального кожного барьера, присоединению вторичной флоры, усилению кожных проявлений, что обостряет, утяжеляет и затрудняет лечение АтД (таб. 15).

Снижение величины эффективной концентрации альбумина у детей с АтД с увеличением степени тяжести вызвано «загруженностью» его молекулы биологически активными веществами и другими метаболитами в условиях эндогенной интоксикации организма у больных детей с atopическим дерматитом.

Значительное снижение уровня альбумина в группе детей с АтД+ГВИ также указывают на высокую эндогенную интоксикацию организма больных детей atopическим дерматитом вирусом герпеса, и отражают нарушения процессов детоксикации в организме детей больных АтД+ГВИ (табл.15).

У пациентов с АтД без ГВИ характерна активация иммунной защиты, что отражается в увеличении уровня глобулина у пациентов с тяжёлой степенью тяжести АтД (табл.15) .

Таблица 15 – Показатели биохимического анализа крови у пациентов исследуемых групп в зависимости от степени тяжести

Показатель/группа	Контрольная группа	Дети с АтД средней ст. тяжести	Дети с АтД тяжелой ст. тяжести	Дети с АтД+ГВИ средней ст. тяжести	Дети с АтД+ГВИ тяжелой ст. тяжести
Общий белок, г/л	67,00 [66,4; 68,4]	75,10 [68,20; 77,00] $p_1 < 0,001$	68,00 [60,01; 69,75] $p_1 = 0,064; p_3 < 0,001$	65,50 [62,10; 69,60] $p_1 = 0,051; p_2 < 0,001$	58,80 [60,20; 61,50] $p_1 < 0,001; p_2 < 0,001; p_3 < 0,001$
Альбумины, г/л	45,80 [35,70; 68,00]	43,0 [40,40; 42,70] $p_1 = 0,035$	40,4 [40,1; 41,2] $p_1 = 0,023; p_3 = 0,011$	37,6 [35,5; 39,20] $p_1 < 0,001; p_2 = 0,005$	34,00 [33,9; 36,20] $p_1 < 0,001; p_2 < 0,001; p_3 = 0,018$
Глобулины, г/л	29,4 [24,80; 32,7]	28,70 [25,4; 28,8] $p_1 = 0,071$	34,1 [28,9; 30,3] $p_1 = 0,005; p_3 = 0,003$	30,70 [30,1; 31,65] $p_1 = 0,049; p_2 = 0,031$	26,20 [24,1; 26,20] $p_1 = 0,003; p_2 < 0,001; p_3 = 0,002$
Об. билирубин, мкмоль/л	14,1 [11,3; 14,5]	13,00 [11,4; 13,65] $p_1 = 0,081$	12,00 [11,00; 12,7] $p_1 = 0,005; p_3 = 0,027$	11,00 [9,90; 11,60] $p_1 < 0,001; p_2 = 0,003$	7,90 [8,00; 9,10] $p_1 < 0,001; p_2 < 0,001; p_3 < 0,001$
АЛТ, Ед/л	24,4 [16,8; 30,2]	18,1 [13,2; 26,5] $p_1 = 0,246$	20,00 [19,2; 28,00] $p_1 = 0,064; p_3 = 0,093$	20,1 [15,27; 23,22] $p_1 = 0,007; p_2 = 0,011$	25,2 [16,27; 24,49] $p_1 = 0,561; p_2 < 0,001; p_3 = 0,957$
АСТ, Ед/л	36,90 [19,3; 41,2]	18,80 [12,3; 28,00] $p_1 = 0,006$	22,90 [16,4; 33,56] $p_1 = 0,014; p_3 = 0,093$	20,45 [18,44; 23,66] $p_1 = 0,009; p_2 = 0,031$	24,50 [21,2; 26,2] $p_1 = 0,021; p_2 = 0,046; p_3 = 0,149$
Глюкоза крови, ммоль/л	4,05 [3,70; 4,30]	4,20 [3,80; 4,40] $p_1 = 0,581$	4,50 [4,10; 9,70] $p_1 = 0,32; p_3 = 0,813$	3,9 [3,50; 5,10] $p_1 = 0,102; p_2 = 0,801$	4,23 [3,78; 5,01] $p_1 = 0,676; p_2 = 0,775; p_3 = 0,860$

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости  $p = 0,006$

-  $p_1$  – уровень стат. значимости различий с группой контроля

-  $p_2$  – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД в соответствующей подгруппе

-  $p_3$  – уровень стат. значимости различий с средней степенью тяжести в соответствующей подгруппе.

В свою очередь при АтД+ГВИ наблюдается обратная реакция – с утяжелением снижается уровень глобулина, потому что очевидно угнетение иммунного ответа герпесвирусной инфекцией.

Как при средней степени, так и при тяжёлой степени тяжести АтД и АтД+ГВИ значения общего билирубина в рамках референсных значений свидетельствуют о нормальном функционировании печени и отсутствии нарушений в гепатобилиарной системе детей.

В то же время, наблюдаемое значимое снижение данного показателя с увеличением тяжести АтД, более выраженное в группе больных АтД+ГВИ может указывать на использование общего билирубина в качестве собственного антиоксиданта и уменьшение его уровня в связи с использованием его для контроля свободно-радикального окисления при АтД.

Современные представления определяют билирубин как мощный эндогенный антиоксидант с противовоспалительными свойствами, способный влиять на течение различных заболеваний, снижать повреждение тканей. Этому свидетельствует ряд научных исследований [22, 28, 68].

Как при средней степени, так и при тяжёлой степени тяжести при АтД и при АтД+ГВИ значения АЛТ и АСТ в рамках референсных значений свидетельствуют о нормальном функционировании печени и отсутствии нарушений в работе гепатобилиарной системе детей.

У пациентов обследуемых групп как при средней степени, так и при тяжёлой степенях тяжести АтД и АтД+ГВИ не было выявлено значимых изменений уровня глюкозы, что свидетельствует об отсутствии влияния атопических проявлений и герпесвирусной инфекции на углеводный обмен.

Как при АтД, так и при АтД+ГВИ у пациентов при усилении степени тяжести процесса наблюдалось повышение уровня Ig E, значимо более выраженное в группе детей с АтД+ГВИ.

Таблица 16 – Уровень Ig E в крови пациентов исследуемых групп в зависимости от степени тяжести

Показатель/Группа	Медиана	Нижний и верхний квартиль	5 и 95 проценты
Контрольная группа	34,75	[11,66; 46,38]	[7,41; 103,6]
Дети с АтД средней ст. тяжести	307,10 $p_1 < 0,001$	[117,14; 442,58]	[20,33; 480,00]
Дети с АтД тяжелой ст. тяжести	335,32 $p_1 < 0,001$ $p_3 = 0,007$	[163,34; 543,30]	[86,50; 643,73]
Дети с АтД+ГВИ средней ст. тяжести	483,94 $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,002$	[295,72; 523,02]	[110,20; 641,8]
Дети с АтД+ГВИ тяжелой ст. тяжести	545,57 $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,003$ $p_3 = 0,005$	[366,24; 821,02]	[224,20; 843,73]

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости  $p = 0,006$ ;

-  $p_1$  – уровень стат. значимости различий с группой контроля;

-  $p_2$  – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД в соответствующей подгруппе;

-  $p_3$  – уровень стат. значимости различий с средней степенью тяжести в соответствующей подгруппе.

Это представляет интерес, так как указывает на острую фазу заболевания, дефекты иммунной системы и на IgE-опосредованную высокую сенсибилизирующую способность вируса герпеса, а также корреляцию аллергического и инфекционного процессов с высоким уровнем общего иммуноглобулина Ig E.

Таким образом, увеличение EGF у пациентов с АтД и АтД+ГВИ с увеличением степени тяжести АтД отражает усиление патологического воздействия данного фактора на процессы кератинизации и функциональное состояние эпидермального барьера с увеличением тяжести АтД. В то же время более высокий

уровень EGF в соответствующих по степени тяжести подгруппах больных АтД+ГВИ подтверждает стимулирующее влияние ГВИ на продукцию EGF.

С увеличением степени тяжести процесса наблюдается повышение уровня VEGF, выявленное как у детей с АтД, так и в группе больных АтД+ГВИ, что стимулирует процессы ангиогенеза, увеличивает сосудистую микропроницаемость и усугубляется наличием герпесвирусной инфекции.

С нарастанием степени тяжести у пациентов с АтД и пациентов с АтД+ГВИ мы наблюдаем чёткое значимое увеличение выраженности клинической симптоматики, что отражается увеличением количества баллов по SCORAD, более выраженное в группе пациентов с АтД+ГВИ.

Кроме того, наблюдалось значимое увеличение выраженности клинической симптоматики средней и тяжелой интенсивности при наличии ГВИ, что отражалось в увеличении количества больных с большей выраженностью симптомов в группах с АтД+ГВИ. Так же чётко прослеживается, что у пациентов в группе с АтД+ГВИ со средней степенью тяжести процесса клиника очень яркая, выраженность клинических симптомов выше, чем у пациентов с АтД без ГВИ, что указывает на потенцирующее влияние инфицирования вирусом герпеса на клиническое течение заболевания и выраженность симптомов, вовлекающие разные патогенетические механизмы.

Обращает на себя внимание снижение количества эритроцитов ниже референсных значений в группе больных АтД+ГВИ тяжелой степени тяжести и тенденция к уменьшению их количества с утяжелением АтД, что в свою очередь может ослаблять процессы заживления и регенерации поврежденных слоёв кожи, так как эритроциты обеспечивают дыхание тканей, тем самым запуская регуляцию и стимуляцию деления, роста и выживания клеток.

У пациентов с АтД+ГВИ тяжелой степени тяжести наблюдалась лёгкая анемия (снижение уровня гемоглобина), что косвенно указывает на угнетающее влияние герпесвирусной инфекции на эритропоэз, на продолжительность жизни эритроцитов и истощение запасов сывороточного железа.

У пациентов обследуемых групп прослеживалась тенденция увеличения количества лейкоцитов, на что указывали увеличения значения 95 перцентиля в группах больных с АтД средней и тяжелой степени и верхнего квартиля и 95 перцентиля в группах больных с АтД+ГВИ средней и тяжелой степени, что является закономерным отражением воспалительной активации у данных пациентов, более выраженной при инфицировании ГВИ.

При усилении степени тяжести процесса происходит понижение уровня общего белка у детей с АтД, значимо более выраженное в группе детей с АтД+ГВИ, что представляет интерес, так как указывает на влияние вируса герпеса на функциональную активность белка и, в свою очередь, на обеспечение правильного кислотно-щелочного равновесия и изменение нормальной рН (среды) кожи, что снижает сопротивляемость кожи по отношению к экзогенным факторам, приводит к дисфункции эпидермального кожного барьера при соединении вторичной флоры, усилению кожных проявлений, обостряет, утяжеляет и затрудняет лечение АтД.

Снижение величины эффективной концентрации альбумина у детей с АтД с увеличением степени тяжести вызвано «загруженностью» его молекулы биологически активными веществами и другими метаболитами в условиях эндогенной интоксикации организма у больных детей с атопическим дерматитом.

Значительное снижение уровня альбумина в группе детей с АтД+ГВИ также указывают на высокую эндогенную интоксикацию организма больных детей атопическим дерматитом вирусом герпеса, и отражают нарушения процессов детоксикации в организме детей больных АтД+ГВИ.

У пациентов с АтД без ГВИ характерна активация иммунной защиты, что отражается в увеличении уровня глобулина у пациентов с тяжёлой степенью тяжести АтД, а при АтД+ГВИ наблюдается обратная реакция – с утяжелением снижается уровень глобулина, потому что очевидно угнетение иммунного ответа герпесвирусной инфекцией.

Как при средней степени, так и при тяжёлой степени тяжести АтД и АтД+ГВИ значения общего билирубина в рамках референсных значений свидетельствуют о нормальном функционировании печени и отсутствии нарушений в гепатобилиарной системе детей.

В то же время, наблюдаемое значимое снижение данного показателя с увеличением тяжести АтД, более выраженное в группе больных АтД+ГВИ может указывать на использование общего билирубина в качестве собственного антиоксиданта и уменьшение его уровня в связи с использованием его для контроля свободно-радикального окисления при АтД.

Современные представления определяют билирубин как мощный эндогенный антиоксидант с противовоспалительными свойствами, способный влиять на течение различных заболеваний, снижать повреждение тканей.

Как при средней степени, так и при тяжёлой степени тяжести АтД и АтД+ГВИ значения АЛТ и АСТ в рамках референсных значений свидетельствуют о нормальном функционировании печени и отсутствии нарушений в работе гепатобилиарной системы детей.

У пациентов обследуемых групп как при средней степени, так и при тяжёлой степени тяжести АтД и АтД+ГВИ не было выявлено значимых изменений уровня глюкозы, что свидетельствует об отсутствии влияния атопических проявлений и герпесвирусной инфекции на углеводный обмен.

Как в группах АтД, так и в группах АтД+ГВИ при усилении степени тяжести процесса наблюдается повышение уровня Ig E, значимо более выраженное в группе детей с АтД+ГВИ, что представляет интерес, так как указывает на острую фазу заболевания, дефекты иммунной системы, на IgE-опосредованную высокую сенсibilизирующую способность вируса герпеса и корреляцию аллергического и инфекционного процессов с высоким уровнем общего иммуноглобулина Ig E.



3.3. Разработка набора для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов, изучение его чувствительности, специфичности и клинико-прогностической ценности у детей больных атопическим дерматитом и атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса

Данный раздел посвящён разработке набора для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов методом генетического типирования региона, содержащего гены рибосомальной РНК, при помощи нанопорового секвенирования третьего поколения с предварительной селективной пробоподготовкой для обеспечения высокой эффективности, чувствительности и специфичности анализа.

При выполнении данного раздела работы были приведены:

1. Исследование и подбор компонентов набора для одновременного тотального выделения из кала протозойной и гельминтной ДНК.
2. Исследование эффективности экстракции ДНК при использовании разработанных компонентов и анализ чистоты образцов выделяемых нуклеиновых кислот.
3. Разработка праймеров, обеспечивающих идентификацию паразита до вида при типировании.
4. Оптимизация режимов амплификации типлируемых нуклеотидных последовательностей с подбором реагентов и расходных материалов в наборе для скрининговой диагностики.
5. Определение компонентов набора, обеспечивающих присоединение адаптерных последовательностей.

Заявленная производителем наборов Qubit dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США) высокая селективность в отношении дцДНК позволила провести измерение при использовании всех методов экстракции ДНК. Результаты измерения при помощи набора Qubit dsDNA HS Assay Kit представлены в таблице 17.

## 3.3.1. Исследование количества ДНК методом Qubit

Таблица 17 – Концентрация ДНК по протоколу Qubit

Образец простейшего/гельминта	Концентрация ДНК, нг/мкл		
	Набор Diatom DNA Prep 100/200	Метод Бума с использованием силики	Метод Бума с использованием магнитных частиц
<i>Blastocystis hominis</i>	1,56	6,92	6,97
<i>Dientamoeba fragilis</i>	1,75	6,94	6,95
<i>Entamoeba histolytica</i>	1,23	5,15	5,26
<i>Giardia intestinalis</i>	1,45	6,10	6,07
<i>Anisakis simplex</i>	1,81	6,84	6,92
<i>Schistosoma mansoni</i>	1,91	6,97	6,88
<i>Schistosoma haematobium</i>	1,84	6,75	6,81
<i>Schistosoma japonicum</i>	1,77	6,48	6,53
<i>Opisthorchis viverrini</i>	1,51	6,34	6,38
<i>Opisthorchis felineus</i>	1,32	5,95	6,02
<i>Fasciola hepatica</i>	1,69	6,31	6,48
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1,92	6,82	6,80
<i>Enterobius vermicularis</i>	1,84	6,61	6,57
<i>Trichinella spiralis</i>	1,14	5,27	5,35
<i>Ancylostoma caninum</i>	1,55	5,97	5,94
<i>Ancylostoma ceylanicum</i>	1,64	6,18	6,21
<i>Ancylostoma duodenale</i>	1,75	6,52	6,58
<i>Necator americanus</i>	1,68	6,17	6,19
<i>Toxocara canis</i>	1,71	6,29	6,25
<i>Toxocara cati</i>	1,36	6,05	6,00
<i>Trichuris trichiura</i>	1,39	6,11	6,13
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1,48	6,39	6,45
<i>Taenia saginata</i>	1,56	6,42	6,41
<i>Hymenolepis nana</i>	1,91	6,78	6,74
<i>Dipylidium caninum</i>	1,41	6,45	6,51
<i>Taenia solium</i>	1,85	6,83	6,74
<i>Diphyllobothrium latum</i>	1,29	5,57	5,62
Среднее арифметическое	1,60	6,34	6,36
Стандартное отклонение	0,23	0,48	0,46

Таким образом, выделение ДНК при помощи наборов, разработанных нами по методу Бума, показывали более эффективную экстракцию ( $p < 0,001$ ) ДНК по сравнению со стандартным набором Diatom DNA Prep 100/200.

### 3.3.2. Анализ чистоты препарата ДНК

Таблица 18 – Показатели чистоты ДНК соотношения ОП 260:280

Образец простейшего/гельминта	Измерение соотношения ОП 260:280		
	Набор Diatom DNA Prep 100/200	Метод Бума с использованием силики	Метод Бума с использованием магнитных частиц
<i>Blastocystis hominis</i>	1,71	1,79	1,80
<i>Dientamoeba fragilis</i>	1,75	1,78	1,82
<i>Entamoeba histolytica</i>	1,78	1,79	1,81
<i>Giardia intestinalis</i>	1,74	1,81	1,83
<i>Anisakis simplex</i>	1,73	1,77	1,80
<i>Schistosoma mansoni</i>	1,72	1,79	1,83
<i>Schistosoma haematobium</i>	1,71	1,77	1,84
<i>Schistosoma japonicum</i>	1,72	1,79	1,82
<i>Opisthorchis viverrini</i>	1,73	1,78	1,81
<i>Opisthorchis felinus</i>	1,74	1,78	1,82
<i>Fasciola hepatica</i>	1,79	1,79	1,80
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1,71	1,77	1,83
<i>Enterobius vermicularis</i>	1,70	1,81	1,85
<i>Trichinella spiralis</i>	1,72	1,79	1,81
<i>Ancylostoma caninum</i>	1,71	1,79	1,82
<i>Ancylostoma ceylanicum</i>	1,75	1,80	1,84
<i>Ancylostoma duodenale</i>	1,74	1,80	1,85
<i>Necator americanus</i>	1,73	1,79	1,80
<i>Toxocara canis</i>	1,74	1,77	1,82
<i>Toxocara cati</i>	1,73	1,78	1,81
<i>Trichuris trichiura</i>	1,74	1,79	1,83
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1,71	1,78	1,80
<i>Taenia saginata</i>	1,79	1,81	1,84
<i>Hymenolepis nana</i>	1,78	1,79	1,82
<i>Dipylidium caninum</i>	1,75	1,81	1,83
<i>Taenia solium</i>	1,71	1,78	1,82
<i>Diphyllobothrium latum</i>	1,75	1,79	1,80
Среднее арифметическое	1,74	1,79	1,82
Стандартное отклонение	0,026	0,012	0,016

Анализ чистоты выделенной ДНК проводили в кварцевых кюветах с длиной пробега луча 10 мм. Результаты анализа представлены в таблице 18.

Таким образом разработанный набор на основе метода Бума показал самую высокую ( $p < 0,001$ ) степень очистки ДНК по сравнению с другими вариантами выделения ДНК.

### 3.3.3. Разработка универсальных праймеров

Для разработки олигонуклеотидных праймеров, с целью селективной универсальной амплификации, был проанализирован участок генома, кодирующий 18S рРНК. В качестве мишеней были проанализированы организмы согласно перечню по пункту 2.3.3. Дополнительно в качестве внутреннего контроля были проанализированы 18S последовательности следующих организмов:

- ✓ Человек (*Homo sapiens*)
- ✓ Корова (*Bos taurus*)
- ✓ Курица (*Gallus gallus*)
- ✓ Атлантический лосось (*Salmo salar*)
- ✓ Рак речной (*Astacus astacus*)
- ✓ Съедобная мидия (*Mytilus edulis*)
- ✓ Пшеница мягкая (*Triticum aestivum*)
- ✓ Шампиньон двуспоровый (*Agaricus bisporus*)

Результаты множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей, кодирующих 18S рРНК представлены в приложении 1.

На основании анализа проведенного множественного выравнивания были разработаны олигонуклеотидные праймеры, которые представлены в таблице 19.

Таблица 19 – Олигонуклеотидные праймеры для детекции ДНК простейших, гельминтов и контрольных организмов

Наименование олигонуклеотида	Назначение олигонуклеотида	Нуклеотидная последовательность, 5'-3'
18S_fw	Прямой праймер универсально амплификации	AACAAGTCTGGTGCCAGCAG
18S_rw_helm	Обратный праймер для детекции простейших, гельминтов	GTG TAC AAA GGG CAG GGA CG
18S_rw_cont	Обратный праймер для детекции контрольных организмов	GTG TAC AAA GGG CAG GGA CT

#### 3.3.4. Оптимизация режимов амплификации

Для постановки ПЦР использовали образцы ДНК, выделенные при помощи разработанного набора с использованием магнитных частиц.

Оптимизацию условий ПЦР проводили с подбором температуры отжига праймеров в расчетном диапазоне 61-65°C (61°C, 63°C и 65°C) и использованием реакционной смеси, представленной в таблице 20. Время денатурации, и отжига составляло по 15 секунд, время элонгации составляло 60 секунд количество циклов – 40.

Таблица 20 – Реакционной смеси для постановки ПЦР

Компонент реакционной смеси	Объем компонента реакционной смеси на 1 реакцию, мкл
H <sub>2</sub> O	14,5
Микс qPCRmix-HS SYBR	5
Праймер прямой, 0,25 мкМ	0,25
Праймер обратный, 0,25 мкМ	0,25
ДНК / контроль	5

В результате проведенного исследования по оптимизации режимов амплификации было показано, что наиболее ранний сигнал (наименьший критический цикл C<sub>q</sub>) при использовании длины волны поглощения 497 нм и длины волны флюоресценции 520 нм наблюдался при температуре отжига 61°C. Данная тенденция наблюдалась также при использовании праймеров в сочетании со всеми исследованными баркодированными адаптерными последовательностями.

3.3.5. Оценка клинико-прогностической ценности разработанного набора для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов у детей с atopическим дерматитом и atopическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса.

Чрезвычайно важным фактором в усугублении АтД является паразитарная инвазия, обусловленная различными гельминтами и простейшими, способствующая возникновению хронической интоксикации и дисбактериоза кишечника у детей. Считается общепризнанной способность паразитов вызывать сенсбилизацию организма. Аллергизация происходит как в результате сенсбилизации паразитарными антигенами, так и вследствие нарушения барьерной

функции кишечника. Влияние паразитарной инвазии на иммунный статус пациента, с супрессивным влиянием на некоторые иммунологические звенья, может приводить к хронической персистенции герпесвирусной инфекции с модификацией ее течения и клинических проявлений.

Анализ данных литературы по изучению патогенного влияния паразитозов на клиническое течение АтД у детей и подростков [55] показывает, что на фоне интоксикационного синдрома АтД приобретает хроническое течение.

Таким образом, паразитарная инвазия у детей зачастую сопровождается выраженными изменениями со стороны кожных покровов и слизистых оболочек. Патогенез этих изменений не до конца разработан и требует дальнейшего углубленного изучения, но в то же время наличие их указывает клиницисту на необходимость проведения тщательного лабораторного исследования с целью установления паразитарной инвазии у ребенка и проведения комплексного лечения [44].

С этой целью мы исследовали детей в исследуемых группах на наличие простейших и гельминтов при помощи разработанного нами набора.

У пациентов в исследуемых группах с АтД, АтД+ГВИ и группе соматически здоровых (контрольная группа) детей выявлены следующие простейшие и гельминты, представленные в табл. 21.

В группе больных АтД у 42,9% детей выявлены паразитарные заболевания, из которых 30% детей (21чел.) имели инвазию простейшими (*Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*) и 12,9% - глистные инвазии (9 чел.) (*Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, *Toxocara canis*), у остальных из числа обследованных (n=70 чел.) паразитарных инвазий не наблюдалось. В группе больных АтД+ГВИ 60% имели паразитарные инвазии, из которых 42,9% (30 чел.) детей имели инвазию простейшими (*Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*,) и 17,1% (12чел.) - инвазию гельминтами (*Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, *Toxocara canis*, *Hymenolepis nana*).

Таблица 21 – Результаты исследования ДНК простейших и гельминтов в кале у детей исследуемых групп

Паразиты/группа	Контрольная группа n=70, чел.	АтД n=70, чел.	АтД+ГВИ n=70, чел.
В общем чел. - % от общего числа пациентов в группе	2чел. – 2,9%	30чел. – 42,9% $\chi^2$ с п. Йетса = 18,73; df=1 $p_1 < 0,001$ $\chi^2 = 27,16$ ; df=1; $p_1 < 0,001$	42чел. – 60% $\chi^2$ с п. Йетса = 27,16; df=1 $p_1 < 0,001$ $\chi^2 = 1,01$ ; df=1 $p_2 = 0,315$
Простейшие: чел. - % от общего числа пациентов в группе	-	9 чел. – 12,9%	12 чел. – 17,1% $\chi^2$ с п.. Йетса = 0,14; df=1 $p_2 = 0,707$
Дизентерийная амеба ( <i>Entamoeba histolytica</i> )	-	6 (8,6%)	6 (8,6%)
Лямблия ( <i>Giardia intestinalis</i> )	-	3 (4,3%)	6 (8,6%)
Нематоды: чел. - % от общего числа пациентов в группе	-	21 чел. - 30%	30 чел. – 42,9% $\chi^2$ с п. Йетса = 1,17; df=1 $p_2 = 0,28$
Аскарида ( <i>Ascaris lumbricoides</i> )	-	4 (5,7%)	6 (8,6%)
Острица ( <i>Enterobius vermicularis</i> )	2 (2,9%)	15 (21,4%)	19 (27,1%)
Токсокара собак ( <i>Toxocara canis</i> )	-	2 (2,9%)	4 (5,7%)
Карликовый цепень ( <i>Hymenolepis nana</i> )	-	-	1 (1,4%)

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости  $p=0,006$

-  $p_1$  – уровень стат. значимости различий с группой контроля

-  $p_2$  – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД.



В группе больных с АтД и АтД+ГВИ количество детей с паразитарными инвазиями было статистически значимо больше, чем в группе контроля. При сравнении количества детей с паразитозами в исследуемых группах с АтД и АтД+ГВИ статистически значимых различий не выявлено - группы сопоставимы по количеству выявленных протозойных и гельминтных инвазий.

На Рис.5 представлена графическая структура выявленных паразитарных инвазий в группе больных АтД, согласно которой из общего числа инфицированных 30 человек (42,9% детей от общего количества исследованных) были выявлены: острицы (*Enterobius vermicularis*) у 15 чел. – 50% от количества детей с паразитарными инвазиями, амебиаз (*Entamoeba histolytica*) у 6 чел. – 20%, аскаридоз (*Ascaris lumbricoides*) у 4 чел. – 13%, лямблиоз (*Giardia intestinalis*) у 3 чел. – 10% и токсокароз (*Toxocara canis*) у 2 чел. – 7%.

На Рис.6 представлена графическая структура выявленных паразитарных инфекций в группе больных АтД+ГВИ, согласно которой из общего числа инфицированных 42 человек (60% детей от общего количества исследованных) были выявлены: острицы (*Enterobius vermicularis*) у 19 чел. – 45% от количества детей с паразитозами в группе, амебиаз (*Entamoeba histolytica*) у 6 чел. – 14%, аскаридоз (*Ascaris lumbricoides*) у 6 чел. – 14%, лямблиоз (*Giardia intestinalis*) у 6 чел. – 14%, токсокароз (*Toxocara canis*) у 4 чел. – 10% и гименолепидоз (*Hymenolepis nana*) у 1 чел. – 2%.

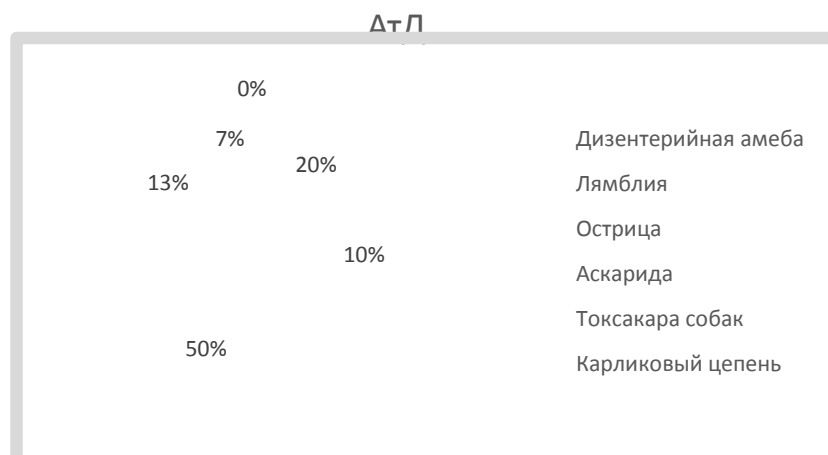


Рис. 5. Структура паразитозов в группе больных атопическим дерматитом

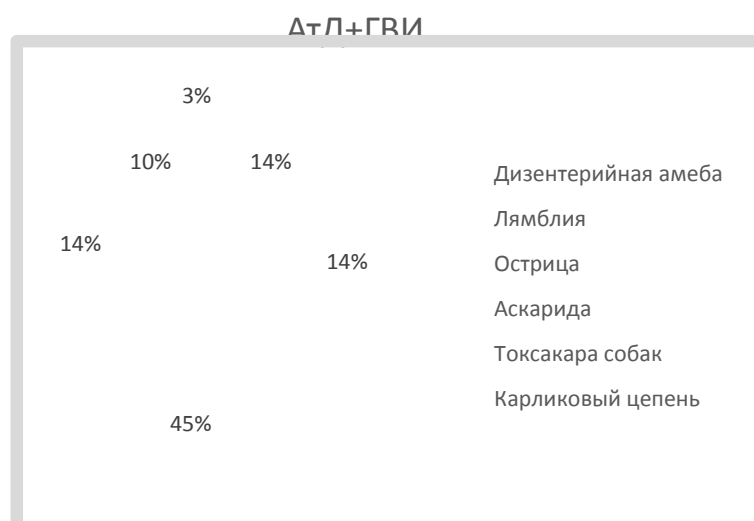


Рис. 6. Структура паразитозов в группе больных атопическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции

Таблица 21 – Наличие паразитарных инвазий у пациентов исследуемых групп в зависимости от интенсивности клинической симптоматики

Интенсивность клинических симптомов	АтД		АтД+ГВИ	
	Количество па- ци- ентов, n=70	Частота инвазий чел/%	Количество пациентов, n=70	Частота инвазий чел/%
Слабая	21	-	10 $\chi^2=3,21; df=1; p=0,073$	-
Умеренная	41	23 / 56%	39 $\chi^2=0,03; df=1; p=0,858$	22 / 56%
Сильная	8	7 / 88%	21 $\chi^2=4,0; df=1; p=0,046$	20 / 95%

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости  $p=0,006$   
-  $p$  – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД.

В группе больных АтД среди пациентов, имеющих сильную интенсивность клинических симптомов 88% пациентов, а именно 7 детей из 8 детей, имели паразитарные инвазии. Среди пациентов с умеренной интенсивностью клинических симптомов в группе больных АтД – 56% имели паразитарные инвазии. У пациентов со слабой выраженностью клинических симптомов паразитарных инвазий не выявлено (таб. 21).

В группе больных АтД+ГВИ среди пациентов, имеющих сильную интенсивность клинических симптомов 95% пациентов имели паразитарные инвазии ( $\chi^2=4,0$ ;  $df=1$ ;  $p=0,046$  по сравнению с группой с АтД). Среди пациентов с умеренной интенсивностью клинических симптомов – 56% имели паразитарные инвазии. У пациентов со слабой выраженностью клинических симптомов паразитарных инвазий не выявлено.

Как в группе больных АтД, так и в группе АтД+ГВИ значимых корреляционных связей между паразитарными инвазиями и наличием экскориаций, лихенификации/шелушения и сухости кожи не обнаружено (табл. 22).

Таблица 22 – Корреляционные взаимосвязи между основными клиническими симптомами атопического дерматита и наличием паразитозов у детей с атопическим дерматитом и атопическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции

Клинические симптомы/ группа	АтД	АтД+ГВИ
Эритема	$r=0,64$ ; $p<0,001$	$r= 0,72$ ; $p<0,001$
Отек/папулезные элементы	$r=0,55$ ; $p=0,001$	$r=0,62$ ; $p<0,001$
Корки/мокнутие	$r=0,34$ ; $p=0,012$	$r= 0,37$ ; $p=0,011$
Экскориации	$r=0,14$ ; $p=0,301$	$r=0,19$ ; $p=0,196$
Лихенификация/шелушение	$r=0,12$ ; $p=0,321$	$r=0,17$ ; $p=0,283$
Сухость кожи	$r=0,09$ ; $p=0,561$	$r=0,611$ ; $p=0,301$

Примечание:  $p$  – уровень статистической значимости коэффициентов корреляции.

Наличие положительных статистически значимых корреляционных взаимосвязей средней силы между клиническими показателями (эритема, отек/папулезные элементы, корки/мокнутие) и паразитарными инвазиями в исследуемых группах больных АтД и АтД+ГВИ указывают на стимулирующее влияние триггерных факторов паразитарной природы на клиническое течение заболевания и усиление выраженности данных клинических симптомов.

Таким образом, как в группе больных с АтД, так и в группе больных АтД+ГВИ было выявлено значимо больше, по сравнению с контролем, случаев паразитарной и глистной инвазии. Причем в подгруппах с большей выраженностью клинических симптомов, число паразитарных и глистных инвазий было больше. В то же время наличие положительных статистически значимых корреляционных взаимосвязей средней силы между клиническими показателями (эритема, отек/папулезные элементы, корки/мокнутие) и паразитарными инвазиями в исследуемых группах больных АтД и АтД+ГВИ указывают на стимулирующее влияние триггерных факторов паразитарной природы на клиническое течение заболевания и усиление выраженности данных клинических симптомов.

#### 3.4. Корреляционные взаимосвязи между уровнем фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста у больных атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса

Выявлены корреляционные взаимосвязи слабой силы между наличием эритемы и уровнем эпидермального фактора роста у детей с АтД ( $r=0,2$ ;  $p=0,615$ ) и АтД+ГВИ ( $r=0,31$ ;  $p=0,311$ ), однако значимый уровень коэффициентов корреляции между данными показателями достигнут не был (таб. 23).

Наличие положительных статистически значимых корреляционных взаимосвязей средней силы между такими клиническими показателями как лихенификация/шелушение ( $r=0,57$ ;  $p=0,024$ ), сухость кожи ( $r=0,51$ ;  $p=0,037$ ) и уровень

эпидермального фактора роста в группе больных с АтД указывают на влияние данного фактора роста на кератинизацию, что обусловлено его стимулирующим влиянием на пролиферацию кератиноцитов и усиление выраженности этих симптомов.

Таблица 23 – Корреляционные взаимосвязи между основными клиническими симптомами атопического дерматита и уровнем эпидермального фактора роста у детей с атопическим дерматитом и атопическим дерматитом на фоне герпес-вирусной инфекции

Клинические симптомы	АтД	АтД+ГВИ
Эритема	r= 0,2 p= 0,615	r= 0,31 p= 0,311
Отек/папулезные элементы	r= 0,15 p= 0,721	r= 0,24 p= 0,587
Корки/мокнутые	r= 0,28 p= 0,511	r= 0,3 p= 0,413
Экскориации	r= 0,34 p= 0,289	r= 0,42 p= 0,045
Лихенификация/шелушение	r= 0,57 p= 0,024	r= 0,71 p<0,001
Сухость кожи	r= 0,51 p= 0,037	r= 0,68 p<0,001

Примечание: p – уровень статистической значимости коэффициентов корреляции.

В группе детей с АтД+ГВИ более выраженные статистически значимые корреляционные взаимосвязей средней силы между показателями лихенификация/шелушение ( $r = 0,71$ ;  $p < 0,001$ ), сухость кожи ( $r = 0,68$ ;  $p < 0,001$ ) и уровень эпидермального фактора отражают потенцирующее влияние инфицирования вирусом герпеса на клиническое течение заболевания, выраженность данных

Выявленные корреляционные взаимосвязи между наличием отёка/папулёзных элементов и уровнем эпидермального фактора роста у детей с

АтД ( $r=0,15$ ;  $p=0,721$ ) и АтД+ГВИ ( $r=0,24$ ;  $p=0,587$ ) считаются очень слабыми, что подтверждается отсутствием значимого уровня коэффициентов корреляции между данными показателями. Это также наблюдалось и при изучении корреляционных взаимосвязей в группе больных с АтД между такими клиническими симптомами, как корки/мокнутие ( $r=0,28$ ;  $p=0,511$ ), эксфолиации ( $r=0,3$ ;  $p=0,413$ ) и уровнем эпидермального фактора роста, где выявленная взаимосвязь расценивалась нами как слабая положительная.

Таблица 24 – Корреляционные взаимосвязи между основными клиническими симптомами атопического дерматита и уровнем эндотелиального фактора роста А у детей с атопическим дерматитом и атопическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции

Клинические симптомы	АтД	АтД+ГВИ
Эритема	$r= 0,61$ $p<0,001$	$r= 0,87$ $p< 0,001$
Отек/папулезные элементы	$r= 0,59$ $p= 0,011$	$r= 0,83$ $p<0,001$
Корки/мокнутие	$r= 0,54$ $p= 0,021$	$r= 0,78$ $p<0,001$
Экскориации	$r= 0,42$ $p= 0,039$	$r= 0,51$ $p= 0,026$
Лихенификация/шелушение	$r= 0,39$ $p= 0,045$	$r= 0,46$ $p = 0,031$
Сухость кожи	$r= 0,23$ $p= 0,068$	$r= 0,38$ $p = 0,051$

Примечание:  $p$  – уровень статистической значимости коэффициентов корреляции.

При работе с детьми, имеющих АтД+ГВИ, отмечалось незначительное усиление величины коэффициента корреляции, что расценивалось в виде слабой связи между такими показателями, как корки/мокнутие ( $r=0,3$ ;  $p=0,413$ ), эксфолиации ( $r=0,42$ ;  $p=0,045$ ) и уровнем эпидермального фактора роста, что

является закономерным отражением воспалительной активации у данных пациентов, более выраженной при инфицировании ГВИ.

Обнаруженные корреляционные взаимосвязи между такими клиническими показателями как лихенификация/шелушение ( $r=0,39$ ;  $p=0,045$ ), сухость кожи ( $r=0,23$ ;  $p=0,068$ ) и уровнем вазоэндотелиального фактора роста в группе больных с АтД расценивались как слабые, что также прослеживалось и в группе детей с АтД+ГВИ между показателями лихенификация/шелушение ( $r = 0,46$ ;  $p = 0,031$ ), сухость кожи ( $r = 0,38$ ;  $p = 0,051$ ) и уровнем вазоэндотелиального фактора роста.

Выявлены статистически значимые взаимосвязи слабой силы между наличием экскориаций и уровнем вазоэндотелиального фактора роста в группе больных с АтД ( $r = 0,42$ ;  $p = 0,039$ ) и статистически значимые взаимосвязи средней силы в группе детей с АтД+ГВИ ( $r= 0,51$ ;  $p= 0,026$ ), отражающие увеличение интенсивности раздражения кожных рецепторов воспалительными агентами с нарастанием уровня вазоэндотелиального фактора роста и сосудистой проницаемости, более выраженное при ГВИ.

Присутствие положительных статистически значимых корреляционных взаимосвязей средней силы между такими клиническими показателями как отёк/папулёзные элементы ( $r=0,59$ ;  $p=0,011$ ), корки/мокнутие ( $r=0,54$ ;  $p<0,021$ ) и уровень вазоэндотелиального фактора роста в группе больных с АтД указывают на влияние данного фактора роста на экссудативные симптомы, что обусловлено способностью вазоэндотелиального фактора роста усиливать сосудистую проницаемость и ангиогенез. В группе детей с АтД+ГВИ наблюдаются более выраженные статистически значимые корреляционные взаимосвязи высокой силы между показателями отёк/папулёзные элементы ( $r=0,83$ ;  $p <0,001$ ), корки/мокнутие ( $r = 0,78$ ;  $p<0,001$ ) и уровень вазоэндотелиального фактора, что подтверждает стимулирующее влияние ГВИ на клиническое течение заболевания, выраженность данных экссудативных симптомов посредством стимулирующего действия на выработку эндотелиального фактора роста с вовлечением

различных патогенетических механизмов, в том числе воздействием воспалительных медиаторов.

Были выявлены взаимосвязи средней силы между интенсивностью клинических признаков атопического дерматита и уровнем эпидермального фактора роста ( $r=0,41$ ;  $p=0,042$ ) в группе больных с АтД и ( $r=0,59$ ;  $p=0,026$ ) в группе больных с АтД+ГВИ.

Так же обнаружены взаимосвязи между интенсивностью клинических признаков атопического дерматита и уровнем вазоэндотелиального фактора роста ( $r=0,52$ ;  $p=0,034$ ) в группе больных с АтД и ( $r=0,65$ ;  $p<0,001$ ) в группе больных с АтД+ГВИ.

Данные корреляционные взаимосвязи отражают влияние указанных факторов на выраженность клинических симптомов атопического дерматита, степень тяжести данного заболевания, утяжеление и осложнение течения кожных проявлений, более выраженные у больных с АтД+ГВИ, что указывает на потенцирующее влияние инфицирования вирусом простого герпеса на вовлеченные патогенетические механизмы.

Выявлены очень слабые, преимущественно статистически не значимые корреляционные взаимосвязи в исследуемых группах больных с АтД между уровнем эпидермального фактора роста и рядом сопутствующих заболеваний, таких как: бронхиальная астма ( $r=0,11$ ;  $p=0,812$ ), аллергический ринит ( $r=0,2$ ;  $p=0,023$ ), аллергический риноконъюнктивит ( $r=0,19$ ;  $p=0,705$ ), дискинезия желчевыводящих путей ( $r=0,05$ ;  $p=0,911$ ), гастрит/гастродуоденит ( $r=0,21$ ;  $p=0,611$ ), реактивный панкреатит ( $r=0,24$ ;  $p=0,556$ ), реактивная гепатомегалия ( $r=0,15$ ;  $p=0,712$ ), гепатоспленомегалия ( $r=0,09$ ;  $p=0,934$ ), паразитозы ( $r=0,27$ ;  $p=0,505$ ).

Аналогичны статистически незначимые взаимосвязи слабой силы были выявлены и у детей с АтД+ГВИ между уровнем эпидермального фактора роста и данными сопутствующими заболеваниями: бронхиальная астма ( $r=0,15$ ;  $p=0,771$ ), аллергический ринит ( $r=0,29$ ;  $p=0,615$ ), аллергический риноконъюнктивит ( $r=0,27$ ;  $p=0,682$ ), дискинезия желчевыводящих путей ( $r=0,11$ ;  $p=0,813$ ),



гастрит/гастродуоденит ( $r=0,19$ ;  $p=0,712$ ), реактивный панкреатит ( $r=0,15$ ;  $p=0,783$ ), реактивная гепатомегалия ( $r=0,21$ ;  $p=0,635$ ), гепатоспленомегалия ( $r=0,13$ ;  $p=0,801$ ), паразитозы ( $r=0,29$ ;  $p=0,512$ ).

Таблица 25 – Корреляционные взаимосвязи между наличием сопутствующих соматических заболеваний и уровнем эпидермального фактора роста у детей с атопическим дерматитом и атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса

Сопутствующие заболевания	АтД	АтД+ГВИ
Бронхиальная астма	$r=0,11$ $p=0,812$	$r=0,15$ $p=0,771$
Аллергический ринит	$r=0,2$ $p=0,023$	$r=0,29$ $p=0,615$
Аллергический риноконъюнктивит	$r=0,19$ $p=0,705$	$r=0,27$ $p=0,682$
Дискинезия желчевыводящих путей	$r=0,05$ $p=0,911$	$r=0,11$ $p=0,813$
Гастрит, гастродуоденит	$r=0,21$ $p=0,611$	$r=0,19$ $p=0,712$
Реактивный панкреатит	$r=0,24$ $p=0,556$	$r=0,15$ $p=0,783$
Реактивная гепатомегалия	$r=0,15$ $p=0,712$	$r=0,21$ $p=0,635$
Гепатоспленомегалия	$r=0,09$ $p=0,934$	$r=0,13$ $p=0,801$
Паразитозы	$r=0,27$ $p=0,505$	$r=0,29$ $p=0,512$

Примечание:  $p$  – уровень статистической значимости коэффициентов корреляции.

Статистически значимых корреляционных взаимосвязей между наличием сопутствующих соматических заболеваний и уровнем эпидермального фактора роста у детей с АтД и АтД+ГВИ выявлено не было, что связано с тем, что данный фактор не имеет явных общих патогенетических звеньев с развитием данных заболеваний.

Таблица 25 – Корреляционные взаимосвязи между наличием сопутствующих соматических заболеваний и уровнем вазоэндотелиального фактора роста у детей с атопическим дерматитом и атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса

Сопутствующие заболевания	АтД	АтД+ГВИ
Бронхиальная астма	r=0,35; p=0,115	r=0,54; p=0,003
Аллергический ринит	r=0,41; p=0,021	r=0,59; p=0,001
Аллергический риноконъюнктивит	r=0,38; p=0,045	r=0,56; p=0,002
ДЖП	r=0,11; p=0,812	r=0,13; p=0,773
Гастрит, гастродуоденит	r=0,15; p=0,756	r=0,18; p=0,731
Реактивный панкреатит	r=0,29; p=0,318	r=0,37; p=0,057
Реактивная гепатомегалия	r=0,23; p=0,405	r=0,35; p=0,115
Гепатоспленомегалия	r=0,15; p=0,756	r=0,19; p=0,758
Паразитоз	r=0,29; p=0,318	r=0,31; p=0,262

Примечание: p – уровень статистической значимости коэффициентов корреляции.

Присутствие положительных статистически значимых корреляционных взаимосвязей средней силы между такими сопутствующими заболеваниями как бронхиальная астма (r= 0,54; p= 0,003), аллергический ринит (r= 0,59; p = 0,001), аллергический риноконъюнктивит (r=0,56; p=0,002) и уровнем вазоэндо-

телиального фактора роста в группе больных с АтД+ГВИ указывают на влияние данного фактора роста на экссудативные симптомы (таб.25).

Это обусловлено его способностью усиливать сосудистую проницаемость, а также указывает на потенцирующее влияние инфицирования вирусом простого герпеса, как воспалительного агента, на различные патогенетические механизмы данных заболеваний: изменение характера микроциркуляции в кровеносных сосудах, усиление васкуляризации, что приводит к отечности стенки дыхательных путей, заложенности носа, к экссудации и бронхиальной гиперреактивности, которая в свою очередь регулируется разнообразными нервными путями, опосредованными мускариновыми и холинергическими рецепторами.

В группе детей с АтД наблюдаются менее выраженные статистически значимые корреляционные взаимосвязи средней силы между заболеваниями аллергический ринит ( $r = 0,41$ ;  $p = 0,021$ ), аллергический риноконъюнктивит ( $r = 0,38$ ;  $p=0,045$ ) и уровнем вазоэндотелиального фактора.

В группе больных с АтД были выявлены корреляционные взаимосвязи средней силы между уровнем эпидермального фактора роста и степенью тяжести заболевания ( $r=0,58$ ;  $p=0,001$ ), как и в группе детей с АтД+ГВИ ( $r=0,64$ ;  $p<0,001$ ).

Аналогичны статистически значимые взаимосвязи средней силы между уровнем вазоэндотелиального фактора роста и степенью тяжести заболевания как у детей с АтД ( $r=0,67$ ;  $p<0,001$ ), так и в группе детей с АтД+ГВИ ( $r=0,73$ ;  $p<0,001$ ).

Данные взаимосвязи отражают участие данных факторов роста в патогенетических звеньях атопического дерматита, усугубление тяжести атопического дерматита при герпесвирусной инфекции, ассоциированное с нарастанием как эпидермального, так и вазоэндотелиального факторов роста.

Присутствие положительных статистически значимых корреляционных взаимосвязей средней силы между уровнем IgE ( $r=0,53$ ;  $p=0,003$ ) и уровнем эндотелиального фактора роста в группе больных с АтД, а также группе детей с

АтД+ГВИ ( $r = 0,73$ ;  $p < 0,001$ ) указывают на связь данного фактора роста с дефектами иммунной системы и IgE-опосредованную высокую сенсibiliзирующую способность вируса простого герпеса.

Более выраженные статистически значимые корреляционные взаимосвязи средней силы наблюдаются между уровнем вазоэндотелиального фактора роста и IgE в исследуемых группах больных с АтД ( $r=0,65$ ;  $p < 0,001$ ) и с АтД+ГВИ ( $r=0,73$ ;  $p < 0,001$ ). Реализация взаимовлияния уровня IgE и вазоэндотелиального фактора роста возможна путём взаимосвязи IgE с активностью эозинофилов и высвобождением биологически активных субстанций, повышающих сосудистую проницаемость.

Таблица 26 – Корреляционные взаимосвязи между показателями общего анализа крови и уровнем эпидермального фактора роста у детей с атопическим дерматитом и атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса

Показатель/группа	АтД	АтД+ГВИ
К-во эритроцитов	$r = -0,11$ $p = 0,721$	$r = -0,15$ $p = 0,678$
Уровень гемоглобина	$r = -0,05$ $p = 0,812$	$r = -0,04$ $p = 0,844$
К-во лейкоцитов	$r = 0,35$ $p = 0,045$	$r = 0,39$ $p = 0,034$

Примечание:  $p$  – уровень статистической значимости коэффициентов корреляции.

Выявлены очень слабые незначимые корреляционные связи в исследуемых группах больных с АтД между показателями общего анализа крови: гемоглобина ( $r = -0,05$ ;  $p = 0,812$ ), эритроцитов ( $r = -0,11$ ;  $p = 0,721$ ) и уровнем эпидермального фактора роста; и слабой силы между уровнем лейкоцитов ( $r = 0,35$ ;  $p = 0,045$ ) и уровнем эпидермального фактора роста.

Аналогичны статистически незначимые взаимосвязи и у детей с АтД+ГВИ между уровнем эпидермального фактора роста и количеством эритроцитов ( $r = -0,15$ ;  $p = 0,678$ ), уровнем гемоглобина ( $r = -0,04$ ;  $p = 0,844$ ) и уровнем лейкоцитов ( $r = 0,39$ ;  $p = 0,034$ ).

Статистически значимых взаимосвязей между уровнем эпидермального фактора роста и количеством эритроцитов, а также уровня гемоглобина в обследуемых группах больных с АтД и АтД+ГВИ выявлено не было, в то же время были выявлены статистически значимые взаимосвязи с уровнем лейкоцитов, что возможно указывает на ассоциацию воспалительной активации и экспрессии эпидермального фактора роста и процессов кератинизации.

Таблица 27 – Корреляционные взаимосвязи между показателями общего анализа крови уровнем вазоэндотелиального фактора роста у детей с атопическим дерматитом и атопическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции.

Показатель/группа	АтД	АтД+ГВИ
К-во эритроцитов	$r = -0,34$ $p = 0,045$	$r = -0,41$ $p = 0,022$
Уровень гемоглобина	$r = -0,36$ $p = 0,041$	$r = -0,43$ $p = 0,019$
К-во лейкоцитов	$r = 0,12$ $p = 0,701$	$r = 0,16$ $p = 0,638$

Примечание:  $p$  – уровень статистической значимости коэффициентов корреляции.

Обнаружены статистически значимые взаимосвязи средней силы между уровнем гемоглобина ( $r = -0,43$ ;  $p = 0,019$ ), количеством эритроцитов ( $r = -0,41$ ;  $p = 0,022$ ) и уровнем вазоэндотелиального фактора роста в группе больных с АтД+ГВИ.

Выявлены взаимосвязи слабой силы между количеством эритроцитов ( $r=-0,34$ ;  $p=0,045$ ), уровнем гемоглобина ( $r=-0,36$ ;  $p=0,041$ ) и уровнем вазоэндотелиального фактора роста в группе больных с АтД.

Возможно, снижение количества эритроцитов оказывает стимулирующее влияние на продукцию вазоэндотелиального фактора роста и активацию ангиогенеза вследствие того, что эритропения сопровождается гипоксией клеток. Данный механизм реализуется посредством связывания циркулирующего белка VEGF с рецептором на клетках эндотелия, активации действия тирозинкиназы и запуска ангиогенеза.

Таблица 28 – Корреляционные взаимосвязи между биохимическими показателями крови и уровнем эпидермального фактора роста у детей с atopическим дерматитом и atopическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции

Показатель/группа	АтД	АтД+ГВИ
Общий белок	$r= -0,34$ ; $p=0,045$	$r= -0,38$ ; $p=0,039$
Альбумин	$r= -0,31$ ; $p=0,051$	$r= -0,36$ ; $p=0,042$
Глобулин	$r=0,32$ ; $p=0,049$	$r= -0,24$ ; $p=0,163$
Общий билирубин	$r= -0,29$ ; $p=0,071$	$r= -0,37$ ; $p=0,041$
АЛТ	$r=0,05$ ; $p=0,913$	$r=0,06$ ; $p=0,903$
АСТ	$r=0,01$ ; $p=0,969$	$r=0,04$ ; $p=0,928$
Глюкоза	$r=0,03$ ; $p=0,901$	$r=0,02$ ; $p=0,813$

Примечание:  $p$  – уровень статистической значимости коэффициентов корреляции.

Обнаруженные корреляционные связи между уровнем таких биохимических показателей как общий белок ( $r= -0,34$ ;  $p=0,045$ ), альбумин ( $r= -0,31$ ;  $p=0,051$ ), глобулин ( $r=0,32$ ;  $p=0,049$ ) и уровнем эпидермального фактора роста в группе больных с АтД расцениваются как слабые, что также прослеживается и в группе детей с АтД+ГВИ между показателями общий белок ( $r= -0,38$ ;

$p=0,039$ ), альбумин ( $r= -0,36$ ;  $p=0,042$ ), глобулин ( $r= -0,24$ ;  $p=0,163$ ) и уровнем эпидермального фактора роста.

Общим патогенетическим звеном, является, возможно, влияние токсинов, оксидативного стресса, угнетающих продукцию белков и косвенно стимулирующих продукцию эпидермального фактора роста.

Таблица 29 – Корреляционные взаимосвязи между биохимическими показателями крови и уровнем вазоэндотелиального фактора роста у детей с atopическим дерматитом и atopическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции

Показатель/группа	АтД	АтД+ГВИ
Общий белок	$r=-0,08$ $p= 0,861$	$r=-0,1$ $p= 0,915$
Альбумин	$r=-0,09$ $p= 0,962$	$r=-0,12$ $p= 0,813$
Глобулин	$r= 0,11$ $p= 0,859$	$r=-0,09$ $p= 0,962$
Общий билирубин	$r=-0,1$ $p= 0,915$	$r=-0,12$ $p= 0,813$
АЛТ	$r= 0,01$ $p= 0,969$	$r= 0,03$ $p= 0,901$
АСТ	$r= 0,02$ $p= 0,813$	$r= 0,05$ $p= 0,913$
Глюкоза	$r= 0,04$ $p= 0,829$	$r= 0,01$ $p= 0,969$

Примечание:  $p$  – уровень статистической значимости коэффициентов корреляции.

Выявлены очень слабые корреляционные взаимосвязи между уровнем вазоэндотелиального фактора роста и биохимическими показателями крови в исследуемых группах больных с АтД и с АтД+ГВИ, не имеющие статистической значимости.

### 3.5. Алгоритм прогнозирования развития atopического марша у детей с atopическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса

Таблица 30 – Данные корреляционного анализа в группе детей с atopическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса

Показатель	Spearman	P-level
VEGF, нг/мл	0,87334	0,000011
Наличие паразитарной инвазии	0,795756	0,000017
EGF, нг/мл	0,65331	0,000133
Индекс SCORAD, баллы	0,495222	0,005342
Интенсивность клинических признаков: 1-слабая, 2 – умеренная, 3 - сильная	0,548273	0,003058
Степень тяжести atopического дерматита: средняя, тяжелая	0,466341	0,005725
Ig E, МЕ/мл	0,471125	0,007638
Гастрит, гастроуденит	0,345501	0,060720
Реактивный панкреатит	0,229231	0,198855
Реактивная гепатомегалия	0,113534	0,582143
Гепатоспленомегалия	0,091265	0,621824
К-во эритроцитов в ОАК, $10^{12}/л$	-0,216573	0,122026
Уровень гемоглобина в ОАК, г/л	-0,158724	0,357091
Количество лейкоцитов в ОАК, $10^9/л$	0,173175	0,364638
Уровень общего белка крови, г/л	0,286762	0,138452
Уровень альбуминов крови, г/л	0,238551	0,212336
Уровень глобулинов крови, г/л	0,289001	0,093352
Активность АЛТ крови, Ед/л	0,093751	0,610971
Активность АСТ крови, Ед/л	0,092663	0,661135
Уровень глюкозы крови, г/л	0,071384	0,830923

При помощи корреляционного анализа среди изучаемых показателей и факторов обозначены ассоциированные с развитием «atopического марша» у детей с АтД+ГВИ (табл. 30). Наибольшую силу имели коэффициенты, характе-



ризирующие связи между развитием атопического марша и уровнем VEGF, нг/мл ( $r=0,873$ ;  $p<0,001$ ), наличием паразитарной инвазии ( $r=0,795756$ ;  $p<0,001$ ).

В связи с данными корреляционного анализа, вышеуказанные факторы были включены в разработанный при помощи метода бинарной логистической регрессии алгоритм для прогнозирования вероятности развития атопического у детей с АтД на фоне ГВИ (формула 1).

Формула 1

$$p=1/1+e^{-z},$$

где  $z=2,696*X+0,175*Y-8,462$ , где

X – наличие (2) или отсутствие (1) паразитоза;

Y – уровень эндотелиального фактора роста нг/мл.

Проверка значимости коэффициентов проводилась при помощи статистики Вальда. Уровень статистической значимости коэффициентов модели составил 0,019, что меньше 0,05 и указывает на статистическую значимость результатов прогнозирования при помощи данной модели (Таблица 31).

Таблица 31 – Переменные в уравнении прогностического алгоритма

	В (Коэф- фи- циен- трегре- сии)	S.E. (стан- дартная ошиб- ка)	Wald (значение стат. кри- терия Вальда)	df	Sig. (зна- чи- мость)	Exp(B)
Step 0 Constant	-0,961	0,328	5,511	1	0,019	0,372

Также значимость разработанного алгоритма была оценена при помощи Omnibus Test (Таблица 32). Результаты указывают на статистическую значимость алгоритма ( $\chi^2=56,193$ ;  $df=2$ ;  $p<0,0001$ ).

Таблица 32 – Проверка значимости алгоритма (Omnibus Tests)

	Chi-square	df	Sig.
Step 1Step	56,193	2	p<0,0001
Block	56,193	2	p<0,0001
Model	56,193	2	p<0,0001

Далее приводится классификационная таблица, в которой наблюдаемые показатели принадлежности к группе (1 – нет АМ (атопический марш), 2 – есть АМ) противопоставляются предсказанным на основе рассчитанного алгоритма.

Таблица 33 – Классификационная таблица

	Наблюдаемый показатель		Прогнозируемый показатель		
			АМ		Процент верных прогнозов
			1 - нет	2 - есть	
Нет АМ	1	31	7	81,6	
Есть АМ	2	3	29	90,6	
Суммарный процентный показатель)				85,7	

Из Таблицы 33 можно сделать вывод о том, что из общего числа пациентов, включенных в работу (70 человек) «строго положительные» результаты получены у 29 пациентов (41%), ложно отрицательные (признаны тестом здоровыми, хотя являются больными) результаты – у 3 пациентов (4%). «Строго отрицательные» результаты получены у 31 пациентов (44%), ложно положительные (признаны больными, хотя являются здоровыми) результаты – у 7 больных (10%). В общем, правильно были распознаны 60 случаев, что составляет 86%.

Проверка значимости коэффициентов проводилась при помощи критерия Вальда (Таблица 34). Уровень статистической значимости коэффициентов менее 0,05, что позволяет использовать данные показатели в прогностическом алгоритме.

Таблица 34 – Проверка значимости коэффициентов алгоритма

		B	Wald	df	Sig.	Exp (B)	95% C.I. for Exp (B)	
							Lower	Upper
Step 1 <sup>a</sup>	VEGF	0,175	6,87	1	0,009	1,192	1,045	1,359
	Паразитоз	2,696	10,372	1	0,001	14,823	2,873	76,474
	Constant	-8,866	16,101	1	0,000	0,000		

Исходя из значений регрессионных коэффициентов, факторы VEGF и паразитоз имеют прямую связь с вероятностью развития атопического марша. Наличие паразитарной инвазии увеличивает шансы атопического марша в 14,8 раза (95% ДИ: 2,873-76,474), увеличение уровня VEGF на 1 нг/мл – увеличивает шансы атопического марша в 1,195 раза (95% ДИ: 1,045-1,359).

Диагностическая чувствительность разработанной нами прогностической модели составила 82%. Диагностическая специфичность теста составила 90%. Точность (диагностическая эффективность теста) составила 86%. Прогностическая ценность положительного результата составила 82%. Прогностическая ценность отрицательного результата составила 90%. Была рассчитана прогностическая критериальная прогностическая валидность теста. Коэффициент валидности  $r=0,6$ .

Также оценка качества разработанной модели проводилась при помощи ROC-анализа, с расчетом площади под ROC-кривой (AUC).

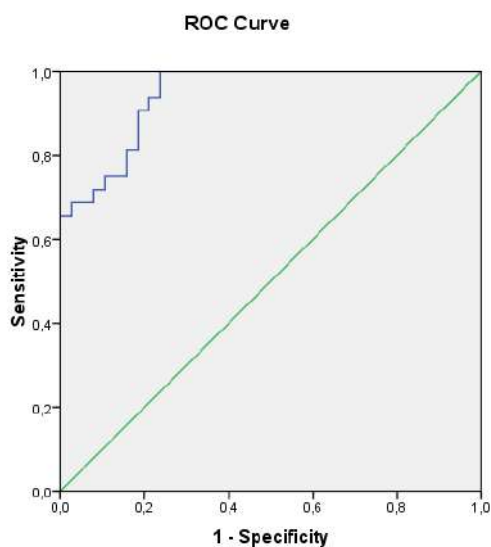


Рис. 6. Оценка качества разработанной модели - площадь под ROC-кривой (AUC).

Для разработанного алгоритма, AUC составила  $0,845 \pm 0,02$  (95 % ДИ  $0,678; 0,991$ ), что указывало на отличное качество разработанного алгоритма.

Предложенный алгоритм, позволяет спрогнозировать развитие «атопического марша» у детей с atopическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции.

С целью установления порогового значения VEGF для прогноза развития atopического марша у детей с atopическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции с помощью ROC-анализа была установлена «точка разделения» (cut off).

Пороговое значение VEGF для прогноза развития atopического марша у детей с atopическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции составило 19,15 нг/мл, при этом площадь под кривой ROC составила  $0,922 \pm 0,03$  [ $0,863 - 0,98$ ] ( $p < 0,001$ ). Чувствительность для данного порогового значения составила 84,4%, специфичность 73,7%.

Клинический пример №1

*Пациент С., 6 лет, жалобы на интенсивный зуд, высыпания на коже шеи, живота, верхних и нижних конечностей (подколенных ямок, локтевых сгибов). Отмечается усиление зуда в ночные часы, со слов мамы, чешется во сне.*

*Пациент замечал облегчение состояния, регресс высыпаний после лечения в дневном стационаре ГБУЗ АО ОДКБ им. Н.Н. Силищевой г. Астрахани. В зимний период зуд становился интенсивнее, площадь высыпаний увеличивалась, до конца не исчезали при применении наружной терапии.*

*Ребёнок болеет с рождения, когда впервые появились высыпания на коже щёк, ягодиц, наружной поверхности бёдер, голеней, локтевых сгибателей. Высыпания сопровождалась зудом. Обращались к врачу-дерматологу в поликлинику по месту жительства, где был выставлен диагноз "Атопический дерматит, младенческая стадия", назначено следующее лечение: "Зодак", "Энтеросгель", мазь "Акридерм", крем "Бепантен". Пациент отмечал незначительное улучшение состояния кожных покровов, уменьшение частоты зуда. Ребёнка постоянно беспокоили периоды обострений и ремиссий. С 2016 года 2 раза в год получает лечение в стационаре отделения аллергологии ГБУЗ АО ОДКБ им. Н.Н. Силищевой, после чего отмечает значительное улучшение.*

*Растёт и развивается соответственно возрасту. Жилищно-бытовые условия удовлетворительные. У отца имеется выявленная аллергия на цветение амброзии.*

*Осмотр: Кожный патологический процесс носит распространённый характер, располагается на коже передней поверхности шеи, подколенных ямок, локтевых сгибов, живота, представлен красными папулами от 0,2 до 0,5 см в диаметре, инфильтрированными бляшками от 2,0 до 4 см в диаметре неправильной формы с нечёткими границами, мокнутием, линейными эксфолиациями, геморрагическими корочками, участками лихенизации. Кожа туловища и*

конечностей сухая, тонкая, наблюдается муковидное шелушение участков кожи наружной поверхности бёдер и плеч.

Оценка по шкале SCORAD соответствует средней степени тяжести atopического дерматита. Субъективно: интенсивный зуд, чувство стянутости, дискомфорта, сухости кожи.

ОАК: эозинофилы  $0,8 * 10^9/л$ .

БАК: норма. IgE общий: 334МЕ/мл. Соскоб с кожи очагов высыпаний на scabies: abs.

Кал на я/г: не обнаружены.

ИФА крови на АТ к лямблиям, токсокарам, токсоплазме, аскаридам, описторхиям - АТ: не выявлено.

ДНК простейших и гельминтов в кале методом генетического типирования не обнаружена

ОАМ: норма.

Уровень VEGF=16,9 нг/мл. Уровень EGF=1,99 нг/мл

Специфические антитела классов IgM и/или IgG к антигенам вируса ВПГ 1-2 не обнаружены.

ДНК исследуемых герпесвирусов в крови не обнаружена.

Диагноз: Атопический дерматит, детская форма, стадия активных изменений, средней степени тяжести.

Прогноз риска развития «атопического марша» проведен с помощью разработанного алгоритма.

Подставляя в выведенную формулу бинарной логистической регрессии показатели пациента:

$$p=1/(1+(2,718^{-z})), \text{ где}$$

$$z=2,696*1+0,175*16,9-8,462$$

Получили расчетное значение вероятности развития atopического марша  $p=0,06$  и поскольку  $p<0,5$  риск вероятность развития atopического марша у данного пациента низкая (всего 6%).

### *Лечение*

*Гипоаллергенный быт (убрать ковры, приобрести по возможности увлажнитель воздуха, не допускать в доме очагов плесени, ежедневная влажная уборка в доме, не использовать освежители воздуха и дезодоранты, использовать при стирке гипоаллергенные порошки, не хранить дома перьевые подушки, не заводить домашних животных). Гипоаллергенная диета с исключением в рационе питания сои, мёда, цитрусовых, морепродуктов, молока, шоколада, красных, оранжевых фруктов и овощей, консервантов, пшеницы.*

*Внутрь: "Зиртек" ("Ксизал") 10 капель 1 раз в сутки – 10-14 дней; порошок "Полисорб" по 2 ч. л. 3 раза в сутки за 11 часов до еды – 6 дней; "Креон" 10000 МЕ по 1/3 капсулы 3 р/д во время еды – 7-10 дней; "Атракс" по 1/2 таблетки 2 раза в сутки — 2-3 нед; "Аципол" по 2 капсулы 3 раза в сутки – 1 месяц.*

*Наружно: раствор фукоцина 2 раза в сутки – 5-6 дней; мазь "Локоид" 2 раза в сутки – 7-10 дней; крем "Элидел" 1% 2 раза в сутки – до полного исчезновения высыпаний; крем "А-Derma Dermalibour" 2 раза в сутки – длительно, постоянно.*

*Крем-гель для душа "Atopic" (с головы до пяток).*

*Динамика кожного патологического процесса положительная: новых высыпаний нет, старые регрессировали не полностью, остались участки поствоспалительной гиперпигментации от 2.0 до 4.0 см в диаметре неправильной формы, участки лихенизации на коже подколенных ямок неправильной формы с нечёткими границами до 3,5 см в диаметре. Субъективных жалоб не предъявляет.*

*Через три недели лечения удалось добиться регресса острого периода высыпаний, исчезновения изнуряющего зуда. Пациент отметил появление возможности спокойно спать. Рекомендовано продолжение наружной поддерживающей терапии, "Д" учёт 1 раз в 2 месяца у дерматолога по месту жительства, санация очагов хронического воспаления, постоянное использование*

эмолентов (крем-стик "Atopic" успокаивающий) 2 раза в сутки – длительно, эмульсия "Trixera" 2 раза в сутки – длительно, крем "Элидел" 1% 1 раз в сутки – два месяца с постепенным снижением частоты использования.

### Клинический пример №2

*Жалобы:* на зуд, высыпания на коже щек, ягодиц, верхних и нижних конечностей (подколенных ямок, локтевых сгибов).

*Из анамнеза:* Ребёнку 7 лет, со слов мамы, болеет с раннего детства, когда впервые появились высыпания на коже вышеуказанных областей. Около 2 лет периодически возникают везикулярные высыпания на губах, периоральной области и за ушами.

*Обычно сыпь усиливается зимой. Высыпания уменьшались при соблюдении диеты и летом.*

*Текущее обострение длилось 2 недели, когда вновь усилились высыпания на лице и конечностях. Мама связывала это с тем, что ребёнок ел слишком много сладкого (конфеты из новогодних подарков).*

*Ребёнок родился в срок без патологии, наследственный анамнез не отягощён.*

*Привит по возрасту. Травм не было, операции не проводились.*

*Осмотр:* отмечается наличие кожных складок на нижних веках (линии Денье — Моргана), в углах рта - трещины, на поверхности жёлтые корочки, губы сухие.

*Кожа локтей и колен красная, покрыта сыпью – конусными папулами. Элементы, которые ребёнок сдирал, покрыты геморрагическими (кровяными) корочками. В целом кожа очень сухая.*

*На фоне экзематозно-сквамозных высыпаний и видимо здоровой коже наблюдаются герпетические высыпания – везикулы, по периферии, которые носят ограниченный характер, примерно 2-3мм в диаметре, куполообразной*



формы с воспалительным валиком по периферии, большинство элементов сгруппированы, в области носогубного треугольника околоносовые трещины, уголки рта гиперемированы, несколько инфильтрированы, имеются корочки, трещины. Эрозии на коже вокруг рта, единичные пузырьки с серозным содержимым.

При лёгком раздражении кожи возникал белый дермографизм: она становилась белой. В лучах лампы Вуда свечения, а значит признаков грибка, не было.

Оценка по шкале SCORAD соответствует средней степени тяжести атопического дерматита.

Субъективно: интенсивный зуд, чувство стянутости, дискомфорта, сухости кожи.

ОАК: СОЭ -25 мм/ч; лейкоциты –  $11 \times 10^9$ /л; эозинофилы – 7 %.

Результаты биохимического анализа крови и общего анализа мочи в пределах нормы.

Пациенту также рекомендовали сделать аллергологическую пищевую и респираторную панель, после чего проконсультироваться с аллергологом-иммунологом.

Уровень IgE 315 ЕД/мл

Кал на я/г: не обнаружены.

ИФА крови на АТ к лямблиям, токсокарам, токсоплазме, аскаридам, описторхиям: АТ не выявлены.

ДНК простейших и гельминтов в кале методом генетического типирования не обнаружена

Уровень VEGF=18,2 нг/мл. Уровень EGF=2,3 нг/мл

Обнаружены специфические антитела класса IgG к антигенам ВПГ 1 типа.

Обнаружена ДНК ВПГ 1 типа в крови..

Подставляя в выведенную формулу бинарной логистической регрессии показатели пациента:

$$p=1/(1+(2,718^{-z})), \text{ где}$$

$$z=2,696*1+0,175*18,2-8,462$$

Получили расчетное значение вероятности развития атопического марша  $p=0,07$  и поскольку  $p<0,5$  риск вероятности развития «атопического марша» у данного пациента низкая (всего 7%).

Диагноз: Атопический дерматит, эритематозно-сквамозная форма, средней степени тяжести, обострение. Простой герпес.

Лечение:

Было рекомендовано: длительное время не принимать ванну, соблюдать комфортный температурный режим, поддерживать рекомендуемые нормы влажности воздуха в помещении, гипоаллергенная диета, антигистаминная и десенсибилизирующая терапия, наружное использование растворов анилиновых красителей и глюкокортикостероидных средств.

Ребенок получал цетиризин 10мг внутрь №14, полиметилсилоксанаполигидрат (паста Энтеросгель) внутрь 15 г/сутки 14 дней, рекомбинантный интерферон альфа-2b 500 000 МЕ (ВИФЕРОН) по 1 суппозитории 2 раза в сутки 10 дней, наружно использовал крем метилпреднизолон ацепонат 0,1 г два раза в день на очаги кожи ягодич, верхних и нижних конечностей (подколенных ямок, локтевых сгибов) в течение двух недель, а также увлажняющее косметическое средство для тела (эмолент Sensaderm) на весь кожный покров. На везикулярные высыпания на губах, периоральной и заушных областях – местная терапия раствором фукоцина и крем Ацикловир 5% 2 раза в день.

Динамика:

Через две недели лечения состояние ребёнка заметно улучшилось. Он продолжает постоянно использовать профессиональную дерматокосметику (средства для купания и эмоленты). Процесс значительно регрессировал, новых высыпаний не наблюдалось, очагов активной гиперемии не выявлено. Субъек-

тивных ощущений не предъявляет. Лечение было продолжено кремом такролимус 0,1% два раза в день в течение двух месяцев.

Рекомендовано продолжить использование эмолента (Sensaderm).

### Клинический пример №3

На стационарном лечении в ГБУЗ АО ОДКБ им. Н.Н. Силищевой вместе с родителями 11-летний мальчик с сильным высыпанием на лице, туловище, руках и ногах.

Отмечается, что высыпания сопровождаются болезненностью, трещинами, жжением, зудом и сухостью. Долгое течение патологии привело к тому, что мальчику стало тяжелее общаться со сверстниками, он был постоянно напряжён и чувствовал себя некомфортно.

Обычно зуд усиливался к вечеру, что мешало ему уснуть.

Впервые симптомы появились в возрасте 6 лет, связывали с пребыванием в сельской местности у бабушки. С тех пор обострения высыпаний случались по 3–4 раза в год, обычно при похолодании. Кроме того, периодически отмечал снижение аппетита, отрыжку, метеоризм, повышенную утомляемость, эпизоды сухого покашливания, зуда носа и глаз. В среднем примерно дважды в год мальчик лечился в стационаре.

Кроме того, со слов матери, около года периодически стали появляться пузырьковые высыпания на губах и периоральной области, иногда сопровождающиеся увеличением лимфатических узлов.

Ребёнок рос и развивался согласно возрасту. Живёт в полной семье. Операции не проводились. Наследственность не отягощена.

Осмотр: патологический процесс воспалительный и симметричный, все высыпания разных типов. На теле отмечались: эритематозно-сквамозные очаги без чётких границ; мелкие папулы; эксфолиации (расчёсы), лихенификации (утолщение из-за длительного воспаления) на фоне общей сухости кожи.

*Дермографизм стойкий белый. В области нижних век имеются складки (складки Денни — Моргана). Наблюдаются явления сухость и трещины на губах, бледность лица.*

*Оценка по шкале SCORAD соответствует тяжёлому течению atopического дерматита.*

*Общий анализ крови показал эозинофилию и повышенный уровень IgE.*

*Показатели кала, общий анализ мочи и биохимический анализ крови в пределах нормы.*

*Уровень IgE 511 ЕД/мл*

*Кал на я/г: в первом анализе не обнаружены.*

*ИФА крови на АТ к лямблиям, токсокарам, токсоплазме, аскаридам, описторхиям - выявлены IgG к лямблиям.*

*При исследовании кала на ДНК простейших и гельминтов - в кале методом генетического типирования обнаружена ДНК лямблий.*

*При неоднократных, повторных исследованиях кала в теплом виде с интервалом в 3 дня в 5 по счету анализе выявлены цисты лямблий.*

*Уровень VEGF=30,5 нг/мл. Уровень EGF=3,1 нг/мл*

*Обнаружены специфические антитела класса IgG к антигенам ВПГ 1 типа.*

*Обнаружена ДНК ВПГ 1 типа в крови.*

*Подставляя в выведенную формулу бинарной логистической регрессии показатели пациента:*

$$p=1/(1+(2,718^{-z})), \text{ где}$$

$$z=2,696*2+0,175*30,9-8,462$$

*Получили расчетное значение вероятности развития atopического марша  $p=0,91$  и поскольку  $p>0,5$  риск вероятности развития atopического марша у данного пациента очень высокая (91%).*

*Диагноз: Обострение диффузного атопического дерматита эритематозно-сквамозной формы (подростковый период). Инфицирование вирусом простого герпеса.*

*Лямблиоз, бессимптомная форма (цисты лямблий), легкой степени, хроническое течение.*

*Лечение: Хлоропирамин – по 1 мл 2%-го раствора внутримышечно в течение недели и по таблетке (25 мг) раз в сутки на ночь на протяжении 10 дней; Глюконат кальция – по 500 мг 3 раза в сутки в течение 10 дней; Белогент – наносить по 2 раза в сутки на очаги на туловище и ногах; бальзам Lipikar – наносить по 2 раза в день на лицо и по всему телу; ограничение контакта с водой примерно на 7–10 дней – в остром периоде желательно сократить количество водных процедур до раза в неделю, отдавая предпочтение короткому 10-минутному душу, при улучшении состояния число купаний постепенно доводят до привычного режима.*

*После консультации инфекциониста для лечения лямблиоза были назначены противопротозойные препараты (макмирор и метронидазол последовательными курсам), желчегонные (хофитол), сорбенты (энтерос-гель), пре- и пробиотики.*

*При повторных анализах кала – цисты лямблий более не выявлялись.*

*При повторном исследовании кала на ДНК простейших и гельминтов в кале методом генетического типирования ДНК Лямблий не обнаружена.*

*Через 10 дней состояние пациента улучшилось: зуд прошёл, кожа стала менее сухой, высыпания потускнели и очистились от чешуек, расчёсы и папулы прошли.*

*Учитывая результат, было решено постепенно отказываться от топических глюкокортикостероидов (Белогента): сначала использовать раз в день, а потом через день. После этого перейти на проактивную терапию: Такролик (такролимус) 0,03 % – наносить по 2 раза в день до полного исчезновения сим-*

*птомов; затем ещё в течение трёх месяцев по 2 раза в неделю – на места, в которых чаще всего появлялись высыпания. Чтобы ускорить регенерацию, добавили витаминный препарат Аевит – по капсуле раз в день на протяжении месяца. В качестве базового ухода мальчику назначили ежедневно пользоваться бальзамом Lipikar и принимать души с Lipikar Syndet.*

*В связи с высоким риском развития атопического марша пациенту рекомендовано проведение спирографии, пикфлоуметрии с ведением дневника, наблюдение у пульмонолога и аллерголога.*

## ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Атопический дерматит (АтД) – наследственное, иммуно-нейро-аллергическое, хроническое рецидивирующее воспалительное заболевание кожи, обусловленное атопией, проявляющееся интенсивным зудом, симпатергической реакцией кожи (белым дермографизмом), преимущественно эритематозно-лихеноидными высыпаниями, в сочетании с другими признаками атопии (Иванов О.Л., Львов А.Н., Миченко А.В., 2010).

Проблема АтД чрезвычайно важна не только для педиатрии, но и для дерматовенерологии и детской аллергологии, что обусловлено высокой распространенностью и неуклонным ростом этого заболевания. По данным исследований, распространенность АтД в настоящее время составляет 10-20% детей во всем мире (J. Hanfin, 2005). При этом 10-15% приходится на долю детей в возрасте до 5 лет и 15-20% на лиц школьного возраста (Короткий Н.Г., Балаболкин И.И., 2010; Иванова Л.В., 2007; Akdis C.A. et al., 2006; Kemp A.S., 2007; Munasir Z. et al., 2011). В Российской Федерации в разных регионах частота встречаемости атопического дерматита у детей весьма вариабельна и в целом составляет от 10 до 28%, причем в структуре аллергических заболеваний его доля составляет 50-75% (В.А. Ревякина, 2006), в связи, с чем он объективно занимает одно из ведущих мест и входит в реестр распространённых заболеваний детского возраста (Кудрявцева А.В. 2012; Abramovits W. et al 2006; Engel-YegelB. et al 2007; HowellM.P. et al 2007; ArshadS.H. et al 2007; SaunesM. et al 2007; AsarchA. et al 2008; AllenK.J. et al 2009; LeungD.Y. et al 2009; WoodS.H. et al 2009).

Согласно данным официальной статистики, заболеваемость АтД в РФ за последние 10 лет увеличилась у взрослого населения на 2,9% и составила в 2006 году 92,6 на 100 тысяч населения, а в 2007 – 95,2 на 100 тысяч населения (Иванова Л.В., 2007). У детей в возрасте от 0 до 14 лет –на 34,9% и составила в 2007 году 1918,6 на 100 тысяч детского населения, а в 2009 году 1903,1 на 100 тысяч детского населения. (Кениксфест Ю.В., 2009). Заболеваемость АтД у

подростков в возрасте от 15 до 17 лет увеличилась на 15,2%. При этом относительный показатель заболеваемости в 2006 году составил 364,5 на 100 тысяч детского населения, а в 2007 году – 419,7 на 100 тысяч детского населения (Текучева Л.В. 2009; Pekkarinen P.T. et al 2007; Smirnova G.I. 2008; Gladko V.V. et al 2009).

Дебют заболевания в большинстве случаев приходится на ранний детский возраст и у 60-70% детей отмечается на первом году жизни. Приобретая в дальнейшем хроническое течение с частыми рецидивами, болезнь сохраняет свои клинические признаки на протяжении многих лет (Короткий Н.Г. и др., Akdis C.A. et al., 2010).

Отмечено, что при АтД имеет место нарушение иммунного статуса ребенка как на местном, так и системном уровне (З.А. Цораева, 2007), что может быть причиной присоединения вторичной инфекции кожи; частота осложненных форм атопического дерматита у детей в среднем составляет 25-34% (Т.Г. Маланчиева, 2007). Однако имеющиеся в литературе данные противоречивы и не позволяют количественно оценить влияние нарушения иммунологического статуса у детей на характер течения заболевания.

Несмотря на длительное и разностороннее изучение патогенеза АтД, в настоящее время остро стоит проблема диагностики и лечения заболеваний, связанных с нарушениями процесса ангиогенеза, а также регенераторных процессов.

АтД следует рассматривать как общее конечное проявление многих различных генетических дефектов, приводящих к нарушению функции эпидермального барьера и иммунной дисрегуляции.

Известные иммунодерматологи из Германии и США N. Novak, Th. Bieber, D.Y.M. Leung на основании анализа опубликованных в 2003 году данных пришли к заключению, что «единая патогенетическая концепция АтД не разработана» и что «проясняется патофизиологическая сложность заболевания». Этим подчеркивается необходимость представить как единое целое многочисленные



разрозненные иммунные и не иммунные звенья патогенеза АтД (Novak N. et al., 2003).

На сегодняшний день доказана первичная роль Т-лимфоцитов в развитии АтД. Основные звенья патогенеза АтД связывают с генетически детерминированной дисфункцией иммунной системы, прежде всего, клеточного иммунитета, что проявляется аномальной регуляцией цитокинового профиля Т-хелперов на фоне снижения общего числа Т-лимфоцитов (Нестеренко Г.Б. с соавт., Кунгуров Н.В.; Leung D., 2007).

При АтД регистрируется повышение функциональной активности не только Т-, но и В-лимфоцитов, что выражается, в частности, в гиперпродукции IgE. Патогенная роль повышения уровня общего IgE (Матушевская Е.В. Богуш П.Г. и др, 2003; Вулф К. с соавт, 2007; Miragliadel Giudice M., 2006) в развитии дерматоза не вызывает сомнения у большинства авторов. Однако, известно, что этот показатель неспецифичен для данного заболевания и обнаруживается у некоторых больных псориазом, Т-клеточной лимфомой, паразитозах.

За последние несколько десятилетий представления о патогенезе АтД значительно изменились. Данная патология представляет собой сложное расстройство, в развитии которого играют роль нарушение эпителиального барьера кожи и аллергическое воспаление в коже больного, генетический фон которого обуславливает предрасположенность к атопии.

Роль барьерной дисфункции в патогенезе АтД и развитии дальнейших атопических расстройств является ключевой. Механизмы, задействованные в нарушении кожного барьера, управляют и местным воспалением, и вследствие возникающего синергизма, возникает выраженная воспалительная реакция Th2.

Генетически обусловленные или приобретенные, возникшие однажды, воспаление кожи и дефект кожного барьера при АтД, в дальнейшем позволяют проникать аллергенам, которые вызывают иммунный ответ и могут приводить к развитию IgE-опосредованной аллергии. Тот факт, что во многих случаях АтД является первым проявлением атопии и, вероятно, играет ключевую роль в

развитии и прогрессировании atopического марша, делает его важным объектом лечения. Влияя на развитие АтД, мы потенциально можем модифицировать процесс развития дальнейших проявлений atopии.

Неуклонный рост заболеваемости, неоднозначная оценка патогенетических механизмов развития и, как следствие, недостаточно эффективные результаты лечения, особенно его тяжелых генерализованных форм обуславливают актуальность проблемы.

Хорошо известно, что в этиопатогенезе АтД определенную роль играют сопутствующие инфекции (бактериальные, грибковые, вирусные). В настоящее время наименее изучена ассоциация патогенеза АтД с вирусными инфекциями, в частности с герпесвирусной инфекцией, что значительно затрудняет своевременную диагностику, приводит к снижению социальной адаптации ребенка, требует все более увеличивающихся затрат на лечебные и реабилитационные мероприятия и, как следствие, достаточно часто приводит к инвалидизации. Значимую роль в перечне факторов, усугубляющих течение АтД играют возбудители инфекционных болезней, вызывающих как локальные изменения кожных покровов, так и системные процессы, одним из проявлений которых являются морфофункциональные нарушения кожи и подкожной клетчатки. Ведущая роль в развитии системных поражений отводится вирусам герпеса, из них наиболее хорошо изучены возбудители простого герпеса 1-го и 2-го типов (ВПГ1 и ВПГ2) [53].

Особое значение в патогенезе аллергодерматозов занимают и паразитарные инвазии. Они не только запускают иммунопатологический процесс в коже, но и поддерживают его хронического течения. Доказана роль паразитарных инвазий в развитии atopического дерматита.

Чрезвычайно важным фактором в усугублении АтД является паразитарная инвазия, обусловленная различными гельминтами и простейшими, а также способствующая возникновению хронической интоксикации и дисбактериоза кишечника у детей. Считается общепризнанной способность паразитов вызы-

вать сенсбилизацию организма. Аллергизация происходит как в результате сенсбилизации паразитарными антигенами, так и вследствие нарушения барьерной функции кишечника.

Анализ данных литературы по изучению патогенного влияния паразитозов на клиническое течение АтД у детей и подростков показывает, что на фоне интоксикационного синдрома с дерматологической симптоматикой АтД приобретает хроническое течение [56].

Таким образом, паразитарная инвазия у детей зачастую сопровождается выраженными изменениями со стороны кожных покровов и слизистых оболочек. Патогенез этих изменений не до конца разработан и требует дальнейшего углубленного изучения, но в то же время наличие их указывает клиницисту на необходимость проведения тщательного лабораторного исследования с целью установления паразитарной инвазии у ребенка и проведения комплексного лечения.

На сегодняшний день существует много нерешенных проблем в диагностике паразитозов у детей. До сих пор в диагностике простейших используется трехкратное копрологическое исследование. Однако даже при проведении трехкратного исследования методом копроовоскопии лямблии могут быть не выявлены в связи с периодичностью экскреции цист. Методы диагностики с помощью нативного мазка и мазка с раствором Люголя, широко используемые в нашей стране, характеризуются низкой чувствительностью.

Учитывая сложность диагностики паразитарных инвазий у детей, актуальна проблема поиска новых, чувствительных, экономически эффективных и доступных методов диагностики. Полимеразная цепная реакция произвела революцию в паразитологии и нашла широкую область применения.

Не смотря на наличие различных диагностических тест-систем на рынке нет наборов, позволяющих в скрининговом режиме безболезненно, неинвазивно, одномоментно определять необходимый перечень важных инфекционных протозойных и гельминтных ДНК-мишеней.

Поэтому нами предприняты попытка разработки набора для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов, а также изучения его клинического и прогностического значений при атопическом дерматите.

В последние годы активно проводятся исследования, по поиску достоверных лабораторных маркеров активности воспалительной реакции при аллергодерматозах у детей, которые имели бы клиническую значимость и давали достоверную оценку степени тяжести заболевания, с целью прогнозирования дальнейшего течения и обоснованного подхода к персонализированной терапии.

Поэтому изучение роли иммунохимических маркеров воспалительной реакции, на наш взгляд, является актуальным и перспективным направлением, так как в настоящее время воспаление, в котором участвуют приобретенные и врожденные механизмы иммунной системы, являются универсальной защитной реакцией организма, определяющей возникновение и дальнейшее течение заболевания.

Определение уровня вазоэндотелиального и эпидермального факторов роста в крови детей с атопическим дерматитом, в том числе на фоне герпесвирусной инфекции является новым методом наблюдения заболеваний, связанных с активацией клеточного иммунитета.

Таким образом, целесообразно было продолжить изучение состояния иммунной системы у больных АтД с определением вазоэндотелиального и эпидермального факторов роста в плазме крови, в том числе на фоне герпесвирусной инфекции, анализ роли вирусной инфекции (ВПГ 1 и 2 типа) в патогенезе данного заболевания, разработать набор для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов, выявить клинико-диагностическое и прогностическое значение данных показателей при атопическом дерматите для повышения эффективности оказания медицинской помощи пациентам данного профиля и снижения степени тяжести данного заболевания.

Целью исследования стало: установить клинико-диагностическое и прогностическое вазоэндотелиального и эпидермального факторов роста в плазме

крови детей с атопическим дерматитом на фоне инфицирования вирусом простого герпеса и паразитарной инвазии

Данная цель определила следующие задачи исследования:

1. Определить уровень фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста в плазме крови детей больных атопическим дерматитом и атопическим дерматитом на фоне инфицирования вирусом простого герпеса.

2. Установить диагностическое значение содержания фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста в зависимости от степени тяжести у детей больных атопическим дерматитом и атопическим дерматитом на фоне инфицирования вирусом простого герпеса.

3. Разработать набор для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов, изучить его чувствительность, специфичность и клинико-прогностическую ценность у детей больных атопическим дерматитом и атопическим дерматитом на фоне инфицирования вирусом простого герпеса.

4. Провести корреляционный анализ взаимосвязей между уровнем фактора роста эндотелия сосудов А, эпидермального фактора роста, наличием паразитарной инвазии и клинико-лабораторными данными у детей больных атопическим дерматитом и атопическим дерматитом на фоне инфицирования вирусом простого герпеса.

5. Разработать алгоритм индивидуального прогноза развития ассоциированной атопической патологии (бронхиальная астма и аллергический ринит/аллергический риноконъюнктивит) у детей с атопическим дерматитом на фоне инфицирования вирусом простого герпеса на основе комплексного клинико-лабораторного обследования пациентов.

Исследование проводилось на базе ГБУЗ АО «Детская городская поликлиника № 1», ГБУЗ АО ОДКБ им. Н.Н. Силищевой в период с 2020г. по 2022г. Пациенты отбирались из числа стационарных и амбулаторных больных педиат-

рического профиля многопрофильного стационара ГБУЗ АО ОДКБ им. Н.Н. Силищевой отделения аллергологии и педиатрии.

Практическая составляющая работы представлена комплексным обследованием 210 детей, из которых 70 пациентов в возрасте от 1 года до 12 лет с установленным диагнозом атопический дерматит (I группа), 70 детей - атопический дерматит на фоне герпесвирусной инфекции (II группа). Соматически здоровые дети - 70 чел., которые составили контрольную III группу.

Дети с атопическим дерматитом в группах исследования были распределены на стадии: в группе больных с АД: средней степени тяжести – 62 пациента, тяжелой степени тяжести – 8 пациентов; в группе больных с АД+ГВИ: средней степени тяжести - 49 детей, тяжелой степени тяжести - 21 детей.

Исследование проспективное. Включение пациентов проводилось методом простой случайной выборки, т.е. выборка была репрезентативной.

Диагноз атопический дерматит был установлен согласно критериям:

Индекс *SCORAD* (*scoring of atopic dermatitis*) – шкала атопического дерматита, учитывающая распространенность кожных высыпаний, их морфологию, степень выраженности проявлений и тяжесть субъективных ощущений пациента. Учитывались такие проявления, как: эритема, отек/папулезные элементы, корки/мокнутые, экскориации, лихенификация/шелушение, сухость кожи, где интенсивность каждого оценивалась как: 0 – отсутствие, 1 – легкая, 2 – средняя, 3 – тяжелая.

Полученные баллы по каждой из признаков использовались в формуле:

$SCORAD = A/5 + 7B/2 + C$ , где

- ✓ А – сумма баллов распространенности поражения кожи,
- ✓ В – сумма баллов интенсивности проявлений симптомов АД,
- ✓ С – сумма баллов субъективных симптомов (зуд, нарушение сна).

Критерии включения в исследование были:

5. Наличие атопического дерматита средней и тяжелой степени тяжести;

6. Наличие атопического дерматита с острой или хронической активно протекающей герпесвирусной инфекцией;
7. Возраст пациентов с 1 года до 12 лет;
8. Подписание добровольного информированного согласия родителями на участие в данном исследовании.

*Критериями исключения из исследования являлись:*

10. Первичный иммунодефицит;
11. Дети с впервые выявленным атопическим дерматитом;
12. Терапия системными и (или) топическими кортикостероидами в течение 14 дней до даты включения в исследование;
13. Наличие хронических заболеваний в стадии декомпенсации или неполной ремиссии;
14. Острое заболевание инфекционной, неинфекционной природы;
15. Органическая патология кишечника (новообразования кишечника);
16. Психическое заболевание, наличие любых заболеваний, затрудняющих оценку и обследование пациента (выраженные интеллектуально-мнестические нарушения);
17. Перенесенные в последний месяц инфекционно-воспалительные заболевания;
18. Невозможность следовать процедурам исследования, отзыв информированного согласия;

Большинство биохимических показателей крови исследовались на приборе «Спектрум» («Abbot», США) и аппарате «Technicon» по стандартным методикам.

Определение специфических антител классов IgM и/или IgG к антигенам вируса ВПГ 1-2 типа проводилось методом иммуноферментного анализа (ИФА) наборами реагентов фирмы «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия.

Определение ДНК исследуемых герпесвирусов в образцах крови проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с помощью тест-систем производства ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, г. Москва.

Определение фактора роста эндотелия сосудов А (VEGFA) плазмы крови больных проводилось методом ИФА высокочувствительными наборами реагентов HEA143Hu фирмы Cloud-Clone Corp. и для определения эпидермального фактора (EGF) - высокочувствительными наборами реагентов HEA560Hu фирмы Cloud-Clone Corp., Китай.

Статистическая обработка результатов выполнялась с использованием пакета прикладных статистических программ Microsoft Excel, STATISTICA 12.0, Stat Soft, Inc и SPSS-16. Для проверки статистических гипотез использовали критерий Манна-Уитни (U), хи-квадрат Пирсона ( $\chi^2$ ), критерий Краскела-Уоллиса (Kruskal-Wallistest). Изучение взаимосвязей между признаками проводили путем расчета коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r). Для определения возможности прогнозирования некоторой целевой переменной на основе нескольких независимых переменных (факторов) применялся метод множественного регрессионного анализа.

Для оценки качества созданной модели был применен ROC – анализ с оценкой площади под ROC-кривой (AUC -area under ROC curve).

Разработка набора проводилась на опытно-производственном участке Астраханского ГМУ, а также в ООО «Городская диагностическая лаборатория» г. Астрахани и ООО НПФ «Инновационные диагностические системы» г. Краснодар, согласно достигнутой договорённости.

Данный фрагмент работы выполнялся при поддержке Фонда содействия инновациям в рамках предоставленного государственного гранта в целях финансового обеспечения выполнения научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ коллективом авторов: Иманвердиева Наида Адалат кызы (RU), Рубальский Евгений Олегович (RU), Башкина Ольга Александровна (RU), Самотруева Марина Александровна (RU),



Дата регистрации изобретения к патенту 30.03.2023, дата подачи заявки 27.05.2022. Публикация изобретения **RU2793208C1**.

В результате проведенного клинико-анамнестического анализа больных атопическим дерматитом были выявлены ряд факторов, провоцирующих развитие АтД, утяжеляющих, обостряющих и приводящих к течению данного заболевания в хронической форме, тем самым влияя на социальную активность, психическое состояние, как ребёнка, так и родителей: полигенный наследственный характер заболевания (чаще по материнской линии), сенсibilизация к аллергенам пыли, наличие других атопических заболеваний (чаще аллергический ринит, который наблюдался круглогодично).

В последние годы активно проводятся исследования, касающиеся физиологической активности фактора роста эндотелия сосудов А (VEGF-A) и эпидермального фактора роста (EGF). В связи с вышесказанным, была предпринята попытка оценить уровни EGF (эпидермального фактора роста) и VEGF (вазоэндотелиальный фактора роста) у детей с АтД и АтД на фоне герпесвирусной инфекции.

Так, у детей с АтД выявлено повышение уровня EGF. В группе больных атопическим дерматитом уровень EGF составил 1,47 [0,88; 1,7] нг/мл, что было статистически значимо выше ( $p_1 < 0,001$ ) по сравнению с группой контроля. В группе больных атопическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции уровень EGF составил 2,26 [1,89; 3,00] нг/мл, что было статистически значимо выше данного показателя в группе контроля ( $p_1 < 0,001$ ) и статистически значимо выше, чем в группе больных атопическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции ( $p_2 < 0,001$ ).

Повышение уровня EGF у детей с АтД указывает на возможность его стимулирующего воздействия на клеточный рост и дифференцировку клеток, в том числе клеток эпидермиса, что может приводить к дисфункции эпидермального кожного барьера. В то же время, значимое повышение уровня EGF у детей с АтД+ГВИ, представляет интерес, так как указывает на стимулирование виру-

сом герпеса выработки EGF, что может быть причиной чрезмерной кератинизации эпидермиса при АтД у инфицированных герпесвирусом пациентов, быть причиной лихенификации и утолщения рогового слоя.

Увеличение EGF у пациентов с АтД и АтД+ГВИ с увеличением степени тяжести атопического дерматита отражает усиление патологического воздействия данного фактора на процессы кератинизации и функциональное состояние эпидермального барьера с увеличением тяжести АтД. В то же время более высокий уровень EGF в соответствующих по степени тяжести подгруппах больных АтД+ГВИ подтверждает стимулирующее влияние ГВИ на продукцию EGF.

Наличие положительных статистически значимых корреляционных взаимосвязей средней силы между клиническими показателями лихенификация/шелушение, сухость кожи и уровень эпидермального фактора роста в группе больных с АтД указывают на влияние данного фактора роста на кератинизацию, что обусловлено его стимулирующим влиянием на пролиферацию кератиноцитов и усиление выраженности этих симптомов, а в группе детей с АтД+ГВИ указывают на потенцирующее влияние инфицирования вирусом герпеса на клиническое течение заболевания, выраженность данных симптомов, вовлекающие разные патогенетические механизмы.

При работе с детьми, имеющих АтД+ГВИ, отмечалось незначительное усиление величины коэффициента корреляции, которое расценивалось в виде слабой связи между такими показателями, как корки/мокнутие, эксфолиации и уровнем эпидермального фактора роста, что является закономерным отражением воспалительной активации у данных пациентов, более выраженной при инфицировании ГВИ.

Статистически значимых корреляционных взаимосвязей между наличием сопутствующих соматических заболеваний и уровнем эпидермального фактора роста у детей с АтД и АтД+ГВИ выявлено не было, что связано с тем, что данный фактор не имеет явных общих патогенетических звеньев с развитием данных заболеваний.

Значимых коэффициентов корреляции между уровнем эпидермального фактора роста и количеством эритроцитов, а также уровнем гемоглобина в обследуемых группах больных с АтД и АтД+ГВИ выявлено не было, в то же время были выявлены статистически значимые взаимосвязи с уровнем лейкоцитов, что возможно указывает на ассоциацию воспалительной активации и экспрессии эпидермального фактора роста и процессов кератинизации.

Общим патогенетическим звеном и причиной обнаруженных слабых корреляционных взаимосвязей между уровнем общего белка, альбумина, глобулина и уровнем эпидермального фактора роста в группе больных с АтД и АтД+ГВИ, является, возможно, влияние токсинов, оксидативного стресса, угнетающих продукцию белков и косвенно стимулирующих продукцию эпидермального фактора роста.

Повышение уровня VEGF, выявленное у детей с АтД, указывает на усиление процессов ангиогенеза и сосудистой проницаемости. Так в группе больных atopическим дерматитом уровень VEGF составил 15,27 [12,60; 18,66] нг/мл, что было статистически значимо выше ( $p_1 < 0,001$ ) по сравнению с группой контроля.

В то же время, избыточная экспрессия VEGF у детей с АтД+ГВИ, представляет интерес, так как указывает на стимуляцию вирусом герпеса выработки VEGF, а за счет активации ангиогенеза и повышению сосудистой проницаемости может способствовать большей выраженности экссудативных клинических симптомов, затяжному течению заболевания и стойкости кожных проявлений. Так, в группе больных atopическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции уровень VEGF составил 22,20 [14,89; 30,00] нг/мл, что было статистически значимо выше данного показателя в группе контроля ( $p_1 < 0,001$ ) и статистически значимо выше, чем в группе больных atopическим дерматитом ( $p_2 < 0,001$ ).

С увеличением степени тяжести процесса наблюдается повышение уровня VEGF, выявленное как у детей с АтД, так и в группе больных АтД+ГВИ, что

стимулирует процессы ангиогенеза, увеличивает сосудистую микропроницаемость, что усугубляется наличием герпесвирусной инфекции.

Присоединение герпесвирусной инфекции к АтД ухудшает клиническую симптоматику данного заболевания, что проявляется в статистически значимом увеличении количества эритематозных элементов, отёков и папул, корок, эксфолиаций и мокнутий, что указывает на то, что ГВИ – это усугубляющий фактор, поддерживающий воспалительный процесс при данной нозологии, который так же отражается в статистически значимом увеличении количества пациентов с сильной интенсивностью клинических признаков в группе детей с АтД+ГВИ.

При анализе количества пациентов с сопутствующей патологией в исследуемых группах было выявлено, что присоединение ГВИ к АтД не только увеличивает яркость клинических симптомов, но и способствует проявлению других атопических заболеваний, например, таких как аллергические риниты и риноконъюнктивиты, бронхиальная астма, что указывает на потенцирующее влияние инфицирования вирусом герпеса на интенсивность проявлений атопии и поддержание атопического воспаления в организме.

Выявленное, в результате оценки корреляционных связей, снижение количества эритроцитов, возможно, оказывает стимулирующее влияние на продукцию вазоэндотелиального фактора роста, потому что снижение эритроцитов может быть пусковым фактором для выработки вазоэндотелиального фактора роста и активации ангиогенеза вследствие того, что эритропения сопровождается гипоксией клеток. Данный механизм реализуется посредством связывания циркулирующего белка VEGF с рецептором на клетках эндотелия, активации действия тирозинкиназы и запуска ангиогенеза. При этом, корреляционные взаимосвязи между уровнем вазоэндотелиального фактора роста и биохимическими показателями крови в исследуемых группах больных с АтД и с АтД+ГВИ, не имели статистической значимости и расценивались как очень слабые.

Чрезвычайно важным фактором в усугублении АтД является паразитарная инвазия, обусловленная различными гельминтами и простейшими, а также способствующая возникновению хронической интоксикации и дисбактериоза кишечника у детей. Паразитарная инвазия у детей зачастую сопровождается выраженными изменениями со стороны кожных покровов и слизистых оболочек, что требует проведения тщательного лабораторного исследования с целью выявления паразитарной инвазии у ребенка с АтД и проведения комплексного лечения. Широко применяемые методы диагностики паразитарной инвазии у детей, а именно микроскопическое исследование мазка фекалий, серологические методы - выявление антител класса IgM и G к антигенам простейших и гельминтов зачастую не могут дать точную информацию в режиме скрининга, а требуют неоднократных исследований, что согласуется с работой Одинцовой В.Е. на тему «Современные особенности диагностики и лечения глистно-паразитарных инвазий у детей», которая изучала паразитозы, особенности течения их у детей и роль современных методов диагностики. Наиболее точную информацию можно получить методом ПЦР, выявляя ДНК простейших и гельминтов в исследуемом материале. Особенно актуальным является и удобным является применение комплексных скрининговых тест систем, позволяющих выявлять ДНК сразу нескольких простейших и гельминтов. В связи с чем был разработан набор для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов, проведено изучение его чувствительности, специфичности и клинико-прогностической ценности у детей больных атопическим дерматитом и атопическим дерматитом на фоне ГВИ.

В ходе разработки набора для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов выполнены следующие работы:

1. Разработан лабораторный образец набора для одновременного тотального выделения из кала протозойной и гельминтной ДНК.

2. Исследован разработанный набор в отношении простейших, высоко ассоциированных с атопическим дерматитом.

3. Исследован разработанный набор в отношении гельминтов, высоко ассоциированных с атопическим дерматитом.

4. Определены оптимизированные информативные перечни простейших, для включения их в базу данных таргетных нуклеотидных последовательностей.

5. Определены оптимизированные информативные перечни гельминтов.

6. Разработаны экспериментальные образцы набора в формате раскапанных стрипованных микропробирок и реакционных смесей для самостоятельного раскапывания.

Область применения результатов работы – производство и использование наборов для молекулярно-генетической диагностики протозоозов и гельминтозов у детей больных атопическим дерматитом и атопическим дерматитом на фоне ГВИ.

Преимуществом полученных результатов работы по сравнению с основными аналогами является обеспечение проведения высокоспецифичной и чувствительной автоматизированной лабораторной ПЦР-диагностики большого спектра паразитозов, включающего 30 патогенетически наиболее значимых для развития атопической патологии наименований возбудителей протозоозов и гельминтозов, в том числе в любом их сочетании при микст-инфекциях протозойной, гельминтной и протозойно-гельминтной этиологии.

Влияние паразитарной инвазии на иммунный статус пациента, с супрессивным влиянием на некоторые иммунологические звенья, может приводить к хронической персистенции герпесвирусной инфекции с модификацией ее течения и клинических проявлений.

В данной работе мы провели у детей в исследуемых группах скрининг на наличие простейших и гельминтов при помощи разработанного нами набора.

У пациентов в исследуемых группах с АтД, АтД+ГВИ и группе соматически здоровых (контрольная группа) детей выявлены следующие простейшие и гельминты.

В группе больных АтД у 42,9% детей выявлены паразитарные заболевания, из которых 30% детей (21чел.) имели инвазию простейшими (*Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*) и 12,9% - глистные инвазии (9чел.) (*Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, *Toxocara canis*), у остальных из числа обследованных (n=70 чел.) паразитарных инвазий не наблюдалось. В группе больных АтД+ГВИ 60% имели паразитарные инвазии, из которых 42,9% (30чел.) детей имели инвазию простейшими (*Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*,) и 17,1% (12чел.) - инвазию гельминтами (*Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, *Toxocara canis*, *Hymenolepis nana*).

В группе больных с АтД и АтД+ГВИ количество детей с паразитарными инвазиями статистически значимо больше, чем в группе контроля. При сравнении количества детей с паразитозами в исследуемых группах с АтД и АтД+ГВИ статистически значимых различий не выявлено, группы сопоставимы по количеству выявленных протозойных и гельминтных инвазий.

При анализе зависимости интенсивности клинической симптоматики и наличия паразитарных инвазий у пациентов исследуемых групп обращало на себя внимание, что в группе больных АтД среди пациентов, имеющих сильную интенсивность клинических симптомов 88% пациентов, имели паразитарные инвазии. Среди пациентов с умеренной интенсивностью клинических симптомов в группе больных АтД – 56% имели паразитарные инвазии. У пациентов со слабой выраженностью клинических симптомов паразитарных инвазий не выявлено.

В группе больных АтД+ГВИ среди пациентов, имеющих сильную интенсивность клинических симптомов 95% пациентов имели паразитарные инвазии. Среди пациентов с умеренной интенсивностью клинических симптомов – 56%

имели паразитарные инвазии. У пациентов со слабой выраженностью клинических симптомов паразитарных инвазий не выявлено

Кроме того, наличие положительных статистически значимых корреляционных взаимосвязей средней силы между клиническими показателями (эритема, отек/папулезные элементы, корки/мокнутые) и паразитарными инвазиями в исследуемых группах больных АтД и АтД+ГВИ указывает на стимулирующее влияние триггерных факторов паразитарной природы на клиническое течение заболевания и усиление выраженности данных клинических симптомов.

Далее нами была предпринята попытка разработать алгоритм прогнозирования развития «атопического марша» у детей с atopическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса. Был проведен корреляционный анализ и оценены значения взаимосвязей развития «атопического марша» (комбинированный показатель, включающий развитие БА, АР и АРК у детей с АтД на фоне ГВИ) и ряда изучаемых в работе показателей и факторов.

При помощи корреляционного анализа среди изучаемых показателей и факторов обозначены ассоциированные с развитием «атопического марша» (сочетания АтД, бронхиальной астмы и аллергического ринита и/или риноконъюнктивита) у детей с АтД+ГВИ. Наибольшую силу имели коэффициенты, характеризующие связи между развитием atopического марша и уровнем VEGF, нг/мл ( $r=0,873$ ;  $p<0,001$ ), наличием паразитарной инвазии ( $r=0,796$ ;  $p<0,001$ ).

В связи с данными корреляционного анализа, вышеуказанные факторы были включены в разработанный при помощи метода бинарной логистической регрессии алгоритм для прогнозирования вероятности развития atopического у детей с АтД на фоне ГВИ.

(Формула 1)

$$p=1/1+e^{-z},$$

где  $z=1,616*X+0,281*Y-8,996$ ,

X – наличие (2) или отсутствие (1) паразитоза;



У – уровень эндотелиального фактора роста нг/мл.

Проверка значимости коэффициентов проводилась при помощи статистики Вальда. Уровень статистической значимости коэффициентов модели составил 0,019, что меньше 0,05 и указывает на статистическую значимость результатов прогнозирования при помощи данной модели.

Из общего числа пациентов, включенных в работу (70 человек) «строго положительные» результаты получены у 29 пациентов (41%), ложно отрицательные (признаны тестом здоровыми, хотя являются больными) результаты – у 3 пациентов (4%). «Строго отрицательные» результаты получены у 31 пациентов (44%), ложно положительные (признаны больными, хотя являются здоровыми) результаты – у 7 больных (10%). В общем, правильно были распознаны 60 случаев, что составляет 86%.

Исходя из значений регрессионных коэффициентов, факторы VEGF и паразитоз имеют прямую связь с вероятностью развития атопического марша. Наличие паразитарной инвазии увеличивает шансы атопического марша в 14,8 раза (95% ДИ: 2,873-76,474), увеличение уровня VEGF на 1 нг/мл – увеличивает шансы атопического марша в 1,195 раза (95% ДИ: 1,045-1,359).

Диагностическая чувствительность разработанной нами прогностической модели составила 82%. Диагностическая специфичность теста составила 90%. Точность (диагностическая эффективность теста) составила 86%. Прогностическая ценность положительного результата составила 82%. Прогностическая ценность отрицательного результата составила 90%. Была рассчитана прогностическая критериальная валидность теста. Коэффициент валидности  $r=0,6$ .

Также оценка качества разработанной модели проводилась при помощи ROC-анализа, с расчетом площади под ROC-кривой (AUC).

Для разработанного алгоритма, AUC составила  $0,845 \pm 0,02$  (95 % ДИ 0,678; 0,991), что указывало на отличное качество разработанного алгоритма.

Предложенный алгоритм, позволяет спрогнозировать развитие «атопического марша» у детей с атопическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции.

С целью установления порогового значения VEGF для прогноза развития «атопического марша» у детей с атопическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции с помощью ROC-анализа была установлена «точка разделения» (cut off).

Пороговое значение VEGF для прогноза развития атопического марша у детей с атопическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции составило 19,15 нг/мл, при этом площадь под кривой ROC составила  $0,922 \pm 0,03$  [0,863 – 0,98] ( $p < 0,001$ ). Чувствительность для данного порогового значения составила 84,4%, специфичность 73,7%.

Таким образом, проведенное исследование помогло пролить свет на ранее не освещённые в литературе данные влияния фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и эпидермального фактора роста (EGF), а также наличия паразитарной инвазии на прогрессирование атопического дерматита, у детей инфицированных вирусом простого герпеса, так же позволило установить их диагностическое значение в зависимости от степени тяжести и длительности заболевания, с целью выявления прогностических показателей, позволяющих оценить риск развития «атопического марша» у детей с АД на фоне ГВИ.

Полученные данные расширяют представления о патогенезе заболевания и могут быть использованы в педиатрической практике для повышения качества диагностики, терапии и профилактики атопического дерматита.

## ВЫВОДЫ

1. Установлено статистически значимое ( $p < 0,001$ ) повышение уровней фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста в плазме крови у детей с атопическим дерматитом по сравнению с контрольной группой. На фоне инфицирования вирусом простого герпеса выявлено увеличение уровня фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста в плазме крови по сравнению с пациентами с атопическим дерматитом ( $p < 0,001$ ).

2. Выявлено статистически значимое увеличение уровней фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста в плазме крови у пациентов с атопическим дерматитом ( $p < 0,001$ ) и атопическим дерматитом на фоне инфицирования вирусом простого герпеса ( $p < 0,001$ ) с увеличением степени тяжести атопического дерматита.

3. Разработанный набор для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов показал высокую чувствительность, специфичность и клинико-прогностическую ценность у детей больных атопическим дерматитом и атопическим дерматитом на фоне инфицирования вирусом простого герпеса. В группах детей с атопическим дерматитом и атопическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции выявлено значимо больше случаев паразитарной инвазии. по сравнению с контролем ( $p < 0,001$ ).

4. Выявлены значимые ( $p < 0,001$ ) корреляционные связи между эпидермальным фактором роста, вазоэндотелиальным фактором роста и степенью тяжести заболевания, выраженностью клинических симптомов и наличием сопутствующих заболеваний как в группе детей с атопическим дерматитом, так и с атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса.

5. Разработан алгоритм индивидуального прогноза развития ассоциированной атопической патологии («атопического марша») у детей с атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса с оценкой качества

модели и расчетом площади под ROC-кривой ( $AUC = 0,845 \pm 0,02$  (95 % ДИ 0,678; 0,991)).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендовать использовать уровни фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста плазмы крови у здоровых детей в качестве контрольных значений у детей с различной патологией.

2. Рекомендовать исследование уровней фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста у детей при атопическом дерматите и атопическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции для формирования группы риска тяжелого течения заболевания.

3. Рекомендовать использовать набор для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов методом генетического типирования для проведения скрининговой диагностики паразитарных инвазий у больных атопическим дерматитом детей Астраханского региона.

4. Рекомендовать использовать в педиатрической практике предложенный алгоритм для прогнозирования развития «атопического марша» у детей с атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса.

5. Рекомендовать пороговое значение вазоэндотелиального фактора роста 19,15 нг/мл - «точка разделения» (cut off) - для прогноза развития «атопического марша» у детей с атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АтД - атопический дерматит
- АЛТ – аланинаминотрансфераза
- АСТ – аспартатаминотрансфераза
- ВСД – вегето-сосудистая дистония
- ВУИ - внутриутробные (врожденные) инфекции
- ГВИ - герпесвирусная инфекция
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- дцДНК – двуцепочечная дезоксирибонуклеиновая кислота
- ЖКТ - желудочно-кишечный тракт
- ИФА – иммуноферментный анализ
- ММД - минимальная мозговая дисфункция
- ОРЗ – острые респираторные заболевания
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- РНК – рибонуклеиновая кислота
- рРНК –рибосомальная рибонуклеиновая кислота
- СРБ – С-реактивный белок
- ЦНС - центрально-нервная система
- ЧБД - часто болеющие дети
- γ-ИФН – гамма-интерферон
- IgE – иммуноглобулин E
- IgM – иммуноглобулин M
- IgG – иммуноглобулин G
- VEGFA – фактор роста эндотелия сосудов A
- EGF – эпидермальный фактор роста

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамова Т.В., Мерцалова И.Б. Новые возможности терапии генитального герпеса // TERRA MEDICA®. 2013. № 1. С26–32.
2. Адамаскевич В.П. Кожные и венерические болезни – Изд.: Медицинская литература, 2013. – 672с.
3. Айзикович О.А., Соколова Т. В. Хронически вирусные инфекции - триггерный фактор атопического дерматита // Тез. науч. работ VIII Всерос. съезда дерматовенерологов. Часть 1. Дерматология.- М., 2001.- С. 205.
4. Акулов Ю. С., Чебуркин А.А., Чистяков Ю. М., Юрьева Э. П. О висцеральных поражениях при атопическом дерматите у детей // Тез. докл. II съезда дерматол. и венерол. Респ. Беларусь. Минск, 1992. – С. 129–130.
5. Алиева П. М., Сергеев А.С., Серова Л. Д., Кулешова Е. В. Ассоциация HLA антигенов с атопическим дерматитом // Вест. дерм, и венер. – 1993. - № 1. -С. 38–44
6. Аллергические заболевания у детей: современные проблемы диагностики, терапии и реабилитации: (Мат. научн.-практ. конф.) // Под ред. проф. Л. Ф. Казначеевой. Новосибирск, 1998. – 222 с.
7. Аллергодерматозы у детей (Клиника, лечение, организация диспансерного наблюдения и профилактика): Метод, рекомендации // Свердлов. НИК-ВИ- Сост.: Н. И. Торопова и др.- Свердловск, 1990. 65 с.
8. Арбузова И. А., Мошкалова И. А., Соколовский Е. В. и др. «Крапивница. Вирусные дерматозы» // Библиотека врача-дерматовенеролога. Выпуск 5 // Под ред. Е. В. Соколовского. – СПб.: СОТИС. 2000. -160 с.
9. Арион В. Я. Arion V. Ja., Москвина С. Н., Зимина И. В. и др. Определение функционального состояния тимуса неинвазивным методом // Russ. Journ. of Immun. 2001. -Vol. 6, N1. – P. 77- 80.

10. Атопический дерматит: Руководство для врачей // под ред. Сергеева Ю. В. М.: Медицина для всех, 2002. – 183 с.
11. Атопический дерматиту детей: диагностика, лечение и профилактика: Науч. -практ. программа. Москва, 2000. – 76 с.
12. Акимов В.Г. Фотозависимые дерматозы. Монография – Изд.: МИА, М., 2010. – 176с.
13. Аллергология и иммунология. Национальное руководство / Под ред. Хаитова Р. М. , Ильиной Н. И. – Изд.: ГЭОТАР-Медиа – М., 2014. – 656с.
14. Альбанова В.И., Пампура А.Н. Атопический дерматит – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 128с.
15. Ахметова, Р.А. Диагностика, лечение и профилактика лямблиозной инвазии у детей с хроническими болезнями органов пищеварения: //Методические рекомендации. Р.А.Ахметова., Г.Т. Туперцева., Е.О.Москвичева., Р.Т.Ахметов., М.З. Валиуллина - Уфа, 2008. – 44 с.
16. Ахтямов С.Н., Бутов Ю.С. Практическая дерматокосметология. Учебное пособие – Изд.: Медицина, 2008. – 400с.
17. Барретт-Хилл Ф. Диагностика кожи в практике косметолога и дерматолога – М.: Косметика и медицина, 2015. – 252с.
18. Барк К., Бургорф В., Хеде Н. Болезни слизистой оболочки полости рта и губ. Руководство – Изд.: Медицинская литература, 2011. – 438с.
19. Бауманн Л. Косметическая дерматология. – М.: МЕДпресс-информ, 2012.
20. Викторова И.А., Гришечкина И.А. Экспертиза временной нетрудоспособности и медико-социальная экспертиза в амбулаторной практике. Учебное пособие – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 144с.
21. Воронина Л.П., Прокофьева Т.В., Полунина О.С., Полунина Е.А., Уклистая Т.А., Нуржанова И.В. Биохимические и генетические маркеры эндотелиальной дисфункции. Монография. – Астрахань, 2010. – 147 с.

22. Горбунова О. Е., Абдрашитова А.Т., Нагметова Г.А. Новый взгляд на билирубин как антиоксидант и маркер прогноза при ишемической болезни сердца УДК 616.12-008:616-036.1. Астрахань, 2018 – С. 17-24
23. Грэхем-Браун Р., Бурк Дж., Канлифф Т. Практическая дерматология. Руководство – М.: МЕДпресс-информ, 2013. – 360с.
24. Дарченкова Н.Н., Романенко Н.А., Чернышенко А.И. Современная ситуация по распространению аскаридоза в Российской Федерации. // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2006. – № 4. – с. 40–43.
25. Дерматовенерология. Национальное руководство / Под ред. Ю.К. Скрипкина, Ю.С. Бутова, Иванова О.Л. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014 – 1024с.
26. Дерматология в клинической практике / Под ред. Э. Финлея, М. Чаудхэри – Изд.: Практическая медицина – М.: 2013. – 208с.
27. Дерматология Фицпатрика в клинической практике: в 3т // Клаус Вольф, Лоуэлл А. Голдсмит, Стивен И. Кац и др.; пер. С англ.; общ. ред. акад. А.А. Кубановой. – М.: Издательство Панфилова: Бином. Лаборатория знаний, 2012. – Т.1. – 868с.
28. Дудник Л.Б. Антиоксидантное и антиапоптотическое действие билирубина при патологии печени и желчевыводящих путей; автореф. дис. доктора биологических наук. – Москва, 2004. – 44 с.
29. Европейское руководство по лечению дерматологических болезней / Под ред. А.Д. Кацамбаса, Т.М. Лотти ; Пер. с англ. – М.: МЕДпресс-информ, 2014. – 736с.
30. Иманвердиева Н.А., Башкина О.А., Ерина И.А. Сопутствующая патология у больных атопическим дерматитом в детском возрасте. Вестник новых медицинских технологий. 2021; 28(3): 5–9.
31. Караулов А.В., Быков С.А., Быков А.С. Иммунология, микробиология, иммунопатология кожи – Изд.: Бином – М., 2013 – 328с.
32. Козлова С.Н., Иванова Л.В. Клинико-иммунологические особенности течения атопического дерматита, ассоциированного с ЦМВ инфекцией и



микроэлементный состав крови детей раннего возраста. Пути повышения эффективности медицинской помощи детям. Вопросы современной педиатрии: Материалы X съезда педиатров России. М., 2005; с. 236.

33. Коржевский Д.Э., Кирик О.В., Сухорукова Е.Г. и др. Молекулярная морфология. Методы флуоресцентной и конфокальной лазерной микроскопии / Под ред. Д.Э. Коржевского – СПб.: СпецЛит, 2014 – 111с.

34. Кошевенко Ю.Н. Кожа человека. В 2-х томах. Том 2. Варианты патогенного воздействия на структуру и функции кожи, причины, патофизиологические основы и принципы лечения – Изд.: Медицина, 2008. – 754с.

35. Коэн Б.А. Педиатрическая дерматология / Пер. с англ.; Подобщ.ред. Н.М. Шаровой – Изд.: МЕДпресс-информ. – М., 2015. – 424с.

36. Кроучук Д.П., Манчини А.Дж. Детская дерматология. Справочник – Изд.: Практическая медицина – М.: 2014. – 608с.

37. Кубанова А.А., Акимов В.Г. Дифференциальная диагностика и лечение кожных болезней – Изд.: МИА, М., 2013. – 304с.

38. Кулага В.В., Лемешко В.А. Кожные и венерические болезни: практикующему врачу – Изд.: Книга плюс, 2013. – 510с.

39. Кусов В.В., Флакс Г.А. Справочник дерматолога – Изд.: Практическая медицина – М.: 2013 – 368с.

40. Манн М.В. и др. Справочник дерматолога. Руководство / Пер. с англ. под ред. В.П. Адаскевича– М.: Издательство Панфилова, 2013 – 352с.

41. Махова М.А. и др. Результаты многолетних исследований распространенности вирусов группы герпеса среди детского населения Нижнего Новгорода. Мед. альманах. 2011; 4.

42. Мяделец О.Д., Адаскевич В.П. Морфофункциональная дерматология. Руководство – М.: Медицинская литература, 2013. – 752с.

43. Молчанов О.Л., Кутуева Ф.Р., Николаева А.Н. Девирс в комплексной терапии рецидивирующего генитального герпеса // Consiliummedicum(дерматология). 2013. № 3–4. С. 40–45.

44. Москвичева Е.О., Ахметов Р.Т., Ахметова Р.А. К вопросу о патогенезе атопического дерматита у детей с протозойно-паразитарной инвазией //УДК 616.993.1-053. 2-092 Уфа, 2010 – С. 20-23
45. Наследственные болезни. Национальное руководство / Под ред. Н.П. Бочкова, Е.К. Гинтера, В.П. Пузырева – Изд.: ГЭОТАР-Медиа – М., 2013 – 936с.
46. Онищенко Г.Г. О мерах по усилению профилактики паразитарных болезней в России. // Медицинская паразитология. –2003. –№ 3 –с. 3-7.
47. Патологическая анатомия. Национальное руководство / Под.ред. М.А. Пальцева, Л.В. Кактурского, О.В. Зайратьянца – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014 – 1264с.
48. Полунина О.С., Филиппова М.О., Воронина Л.П., Дорфман Ю.Р., Мухамбетова Г.Н., Сергиенко Д.Ф. Значение исследования продуктов глубокого окисления белков в клинике внутренних болезней. Учебное пособие. – Астрахань, 2021. – 27 с.
49. Поляков В.Е., Лысенко А.Я. Гельминтозы у детей и подростков.— М.—Медицина—2003.—с.14–vegf.
50. Прокофьева Т.В., Воронина Л.П., Полунина О.С., Демидов А.А., Нуржанова И.В., Дьяконова К.М. Современные аспекты нарушений эндотелиальной функции в клинике внутренних болезней. Учебно – методическое пособие – Астрахань, 2008. – 36с.
51. Рёкен М., Гроверс Г., Бургдорф В. Наглядная аллергология / Пер. с англ. – Изд.: Бином, Лаборатория знаний – М., 2014. – 238с.
52. Рёкен М., Шаллер М., Заттлер Э. и др. Атлас по дерматологии/ Пер с нем. – М.: МЕ Дпресс-информ, 2014. – 408с.
53. Родионов А.Н. Кожные и венерические заболевания в 2 томах - Изд.: Наука и техника, 2013. – 1600с.
54. Сергиев В. П. Паразитарные болезни сегодня и завтра.//Качество жизни. Медицина – 2004.– с.10-15.

55. Скворцов В.В., Тумаренко А.В. Клиническая аллергология. Краткий курс – Изд.: СпецЛит, 2015. – 111с.
56. Соколова Т.В., Гладько В.В., Сафонова Л.А. Практические навыки в дерматовенерологии. Справочник для врачей /Под ред. Соколовой Т.В. – Изд.: МИА, М., 2012 – 136с.
57. Соломай Т.В., Семененко Т.А., Каражас Н.В., Рыбалкина Т.Н., Веселовский П.А., Пульнова Н.Л., Готвянская Т.П., Голосова С.А., Иванова И.В., Бошьян Р.Е., Кулаков Д.Ю. Особенности изменения показателей иммунного статуса лиц с активными и латентными формами герпес-вирусных инфекций. Перм. мед. ж. 2021;38(1):46–63. doi: 10.17816/ pmj38146 %63
58. Соломай Т.В., Семененко Т.А., Ведунова С.Л., Исаева Е.И., Ветрова Е.Н., Каражас Н.В. Роль активной герпес-вирусной инфекции в формировании атопического дерматита и псориаза. Сибирский научный медицинский журнал. 2022;42(3):94–102. doi: 10.18699/SSMJ20220312
59. Тамразова О.Б., Чеботарева Т.А., Стадникова А.С., Таганов А.В. Клинические проявления инфекции простого герпеса у детей, страдающих атопическим дерматитом. Рос. вестн. перинатологии и педиатрии. 2018; 63 (6): 15–22. DOI: 10.21508/1027-4065-2018-63-5-15-22
60. Таха Т.В., Игнатченко О.Ю. Местное применение рибавирина в лечении рецидивирующего генитального герпеса // РМЖ. 2012. № 22. С. 1138–1141.
61. Тимченко В.Н., Леванович В.В., Абдукаева Н.С., Васильев В.В., Михайлов И.Б. Паразитарные инвазии в практике детского врача. – СПб. – ЭЛ-БИ – 2005. – с. 60-68.
62. Торопова Н.П. Дерматозы и паразитарные болезни у детей и подростков: Аспекты патогенеза, клиники, диагностики и лечения и профилактики: /Практическое пособие для врачей педиатров, дерматовенерологов, аллергологов. 2-е изд., перераб. и доп. / Н.П. Торопова, Н.А. Сафронова, О.А. Синявская и др. – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2004. – 60 с.

63. Туперцева, Г.Т. Особенности хронических болезней органов пищеварения у детей с лямблиозной инвазией: автореф. дис. канд. мед. наук. –Уфа, 2007. - 23 с.
64. Уайт Г. Атлас по дерматологии / Пер. с англ. Н.Г. Кочергина ; Под ред. О.Л. Иванова, Н.Г. Кочергина – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 384с.
65. Хегер П.Г. Детская дерматология – Изд.: Бином, Лаборатория знаний, М., 2013. – 648с.
66. Хэбиф Т.П. Клиническая дерматология. Акнеподобные и паулоксвамозные дерматозы / Томас П. Хэбиф; пер. с англ.– М.: МЕДпресс-информ, 2014. – 224с.
67. Хэбиф Т.П. Клиническая дерматология. Аллергические дерматозы / Томас П. Хэбиф; пер. с англ.– М.: МЕДпресс-информ, 2014. – 232с.
68. Щербинина М.Б. Низкий уровень билирубина крови: возможное диагностическое и прогностическое значение. // УДК 615.153.9374)74. Украина, 2007 – С. 10-14
69. Arderm-Jones MR, Black AP, Bateman EA, Ogg GS. Bacterial superantigen facilitates epithelial presentation of allergen to T helper 2 cells. Proc Natl AcadSci U S A. 2007;104:5557–62. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
70. Apte R.S., Chen D.S., Ferrara N. VEGF in Signaling and Disease: Beyond Discovery and Development. Cell. 2019;176(6):1248-1264. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.01.021>.
71. Beck LA, Boguniewicz M, Hata T et al. Phenotype of atopic dermatitis subjects with a history of eczema herpeticum. J Allergy Clin Immunol 2009; 124 (2): 260–9. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.05.020
72. Barnes KC. An update on the genetics of atopic dermatitis: Scratching the surface in 2009. J Allergy Clin Immunol. 2010;125(16):29.e1–11. [ PMC free article] [PubMed] [ Google Scholar]
73. Barnes TM, Greive KA. Use of bleach baths for the treatment of infected atopic eczema. Australas J Dermatol. 2013;54:251–8. [PubMed] [GoogleScholar]

74. Bieber T. Atopic dermatitis. *N Engl J Med*. 2008;358:1483–94. [PubMed] [Google Scholar]
75. Brown SJ, McLean WH. Eczema genetics: Current state of knowledge and future goals. *J Invest Dermatol*. 2009;129:543–52. [PubMed] [Google Scholar]
76. Brown J., Pandey A.K., Singhi E.K., Arroyo J.P., Ikizler T.A., Gould E.R., Beckman J.A., Harrison D.G., Moslehi J. Mechanisms of VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) Inhibitor-Associated Hypertension and Vascular Disease. *Hypertension*. 2018;71(2): e1-e8. DOI: <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.10271>.
77. Cabanillas B et al. IgE reactivity against herpes simplex virus 1 in patients with atopic dermatitis complicated by eczema herpeticum. *Allergy* 2020; 75 (1): 226–9.
78. Cork MJ, Robinson DA, Vasilopoulos Y, Ferguson A, Moustafa M, MacGowan A, et al. New perspectives on epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis: Gene-environment interactions. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;118:3–21. [PubMed] [Google Scholar]
79. Damour A., Garcia M., Seneschal J., Lé- vêque N., Bodet C. Eczema herpeticum: clinical and pathophysiological aspects. *Clin. Rev. Allergy Immunol*. 2020;59(1):1–18. doi: 10.1007/s12016-019-08768-3
80. Du Toit G, Katz Y, Sasieni P, Mesher D, Maleki SJ, Fisher HR, et al. Early consumption of peanuts in infancy is associated with a low prevalence of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;122:984–91. [PubMed] [Google Scholar]
81. Du Toit G, Roberts G, Sayre PH, Bahnson HT, Radulovic S, Santos AF, et al. Randomized trial of peanut consumption in infants at risk for peanut allergy. *N Engl J Med*. 2015;372:803–13. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
82. Elias PM, Wakefield JS. Therapeutic implications of a barrier-based pathogenesis of atopic dermatitis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2011;41:282–95. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

83. Erb KJ. Can helminths or helminth-derived products be used in humans to prevent or treat allergic diseases? *Trends Immunol.* 2009;30:75–82. [ PubMed] [Google Scholar]
84. Flohr C, Weiland SK, Weinmayr G, Björkstén B, Bråbäck L, Brunekreef B, et al. The role of atopic sensitization in flexural eczema: Findings from the International Study of Asthma and Allergies in Childhood Phase Two. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121:141–7.e4. [ PubMed] [Google Scholar]
85. Flohr C, Johansson SG, Wahlgren CF, Williams H. How atopic is atopic dermatitis? *J Allergy Clin Immunol.* 2004;114:150–8. [PubMed] [Google Scholar]
86. Flohr C, Perkin M, Logan K, Marrs T, Radulovic S, Campbell LE, et al. Atopic dermatitis and disease severity are the main risk factors for food sensitization in exclusively breastfed infants. *J Invest Dermatol.* 2014;134:345–50. [ PMC free article] [PubMed] [ Google Scholar]
87. Flohr C, Yeo L. Atopic dermatitis and the hygiene hypothesis revisited. *Curr Probl Dermatol.* 2011;41:1–34. [ PubMed] [Google Scholar]
88. Flohr C, Tuyen LN, Quinnell RJ, Lewis S, Minh TT, Campbell J, et al. Reduced helminth burden increases allergen skin sensitization but not clinical allergy: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial in Vietnam. *Clin Exp Allergy.* 2014;40:131–42. [PubMed] [Google Scholar]
89. Font-Ribera L, Gracia-Lavedan E, Esplugues A, Ballester F, Jiménez Zabala A, Santa Marina L, et al. Water hardness and eczema at 1 and 4 y of age in the INMA birth cohort. *Environ Res.* 2015; 142:579–85. [PubMed] [Google Scholar]
90. Gao PS, Rafaels NM, Hand T, Murray T, Boguniewicz M, Hata T, et al. Filaggrin mutations that confer risk of atopic dermatitis confer greater risk for eczema herpeticum. *J Allergy Clin Immunol.* 2009; 124:507–13. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
91. Gasser R. B., Rossi L., Zhu X. Identification of *Nematodirus* species (Nematoda: Molineidae) from wild ruminants in Italy using ribosomal DNA markers. // *Int. J. Parasitol.* — 1999. — Vol.29 (11). — P. 1809–1817.

92. Gilman R.H., Brown K.H., Visvesvara G.S. et al. Epidemiology and serology of *Giardia lamblia* in a developing country: Bangladesh. // *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* — 1985. — Vol. 79. — P. 469–473.
93. Gutowska-Owsiak D, Schaupp AL, Salimi M, Selvakumar TA, McPherson T, Taylor S, et al. IL-17 downregulates filaggrin and affects keratinocyte expression of genes associated with cellular adhesion. *Exp Dermatol.* 2012;21:104–10. [PubMed] [Google Scholar]
94. Hafez S.F., Shehata I.H., Abdel Aziz G.A., Kamal M.M. Active cytomegalovirus infection in patients with atopic dermatitis. *Egypt. J. Immunol.* 2005;12(2):1–12.
95. Hahn EL, Bacharier LB. The atopic march: The pattern of allergic disease development in childhood. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2005; 25:231–46, v.[PubMed] [Google Scholar]
96. Harris JM, Williams HC, White C, Moffat S, Mills P, Newman Taylor AJ, et al. Early allergen exposure and atopic eczema. *Br J Dermatol.* 2007;156:698–704. [PubMed] [Google Scholar]
97. Hesselmar B, Sjöberg F, Saalman R, Aberg N, Adlerberth I, Wold AE. Pacifier cleaning practices and risk of allergy development. *Pediatrics.* 2013; 131: e1829–37. [PubMed] [Google Scholar]
98. Holgate S.T., Puddicombe S.M., Mullings R.E. et al. New insights into asthma pathogenesis // *Allergy Clin. Immunol. Int.* 2004/ Vol. 16, № 5. P. 196-201.
99. Howell MD, Fairchild HR, Kim BE, Bin L, Boguniewicz M, Redzic JS, et al. Th2 cytokines act on S100/A11 to downregulate keratinocyte differentiation. *J Invest Dermatol.* 2008;128:2248–58. [PubMed] [Google Scholar]
100. Howell MD, Kim BE, Gao P, Grant AV, Boguniewicz M, DeBenedetto A, et al. Cytokine modulation of atopic dermatitis filaggrin skin expression. *J Allergy Clin Immunol.* 2009; 124 (3 Suppl 2):R7–12. [PubMed] [Google Scholar]

101. Irvine AD, McLean WH. Breaking the (un) sound barrier: Filaggrin is a major gene for atopic dermatitis. *J Invest Dermatol.* 2006;126:1200–2. [ PubMed] [Google Scholar]
102. Kaplan F., Topal E. Acute generalized exanthematous pustulosis due to Epstein–Barr virus infection in a neonate. *Pediatr. Dermatol.* 2021;38(5):1354–1356. doi: 10.1111/pde.14684
103. Kay A.B. Modulation of inflammation in allergic disease // *Allergy Clin. Immunol. Int.* 2004. Vol. 16, № 5. P. 206-210.
104. Kondo H., Ichikawa Y., Imokawa G. Percutaneous sensitization with allergens through barrier disrupted skin elicits a Th2-dominant cytokine response // *Eur. J. Immunol.* 1998. Vol. 28. P. 769-779.
105. Lange L, Alter N, Keller T, Rietschel E. Sensitization to *Malassezia* in infants and children with atopic dermatitis: Prevalence and clinical characteristics. *Allergy.* 2008;63:486–7. [PubMed] [Google Scholar]
106. Leung D. Role of *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis. In: Bieber, editor. *Atopic Dermatitis.* Vol. 1. New York: Marcel Dekker; 2002. [Google Scholar]
107. Lu J.W., Lu Y. The role Epstein–Barr virus played in the outcome of skin diseases. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2021;101(20):1458–1462. [In Chinese]. doi: 10.3760/cma.j.cn112137-20201119-03144
108. Margolis JS, Abuabara K, Bilker W, Hoffstad O, Margolis DJ. Persistence of mild to moderate atopic dermatitis. *JAMA Dermatol.* 2014; 150:593–600. [PMC freearticle] [PubMed] [Google Scholar]
109. MJ Cork. The importance of skin barrier function. *Taylor&Francis J Dermatological Treatment.* 1997. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/103109/09546639709160948>.
110. Mpairwe H, Webb EL, Muhangi L, Ndibazza J, Akishule D, Nampijja M, et al. Anthelmintic treatment during pregnancy is associated with increased risk of infantile eczema: Randomised-controlled trial results. *Pediatr Allergy Immunol.* 2011;22:305–12. [ PMC free article] [PubMed] [ Google Scholar]



111. McNally NJ, Williams HC, Phillips DR, Smallman-Raynor M, Lewis S, Venn A, et al. Atopic eczema and domestic water hardness. *Lancet*. 1998; 352:527–31. [PubMed] [Google Scholar]
112. McNally NJ, Williams HC, Phillips DR. Atopic eczema and the home environment. *Br J Dermatol*. 2001; 145:730–6. [PubMed] [Google Scholar]
113. McPherson T, Sherman VJ, Aslam A, Crack L, Chan H, Lloyd-Lavery A, et al. Filaggrin null mutations associate with increased frequencies of allergen-specific CD4+T-helper 2 cells in patients with atopic eczema. *Br J Dermatol*. 2010; 163:544–9. [PubMed] [Google Scholar]
114. Mullis K., Faloona F., Scharf S. et al. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. // *Cold. Spring. Harb. Symp. Quant. Biol.* — 1986. — Vol. 51. — P.263–273.
115. Ogg G. Role of T cells in the pathogenesis of atopic dermatitis. *ClinExpAllergy*. 2009; 39:310–6. [PubMed] [Google Scholar]
116. Palmer CN, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Zhao Y, Liao H, Lee SP, et al. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nat Genet*. 2006; 38:441–6. [PubMed] [Google Scholar]
117. Rautava S, Kainonen E, Salminen S, Isolauri E. Maternal probiotic supplementation during pregnancy and breast-feeding reduces the risk of eczema in the infant. *J Allergy ClinImmunol*. 2012; 130:1355–60. [PubMed] [Google Scholar]
118. Saiki R.K., Scharf S., Faloona F., Mullis K.B. et al. Enzymatic amplification of betaglobin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. // *Science*. — 1985. — Vol. 230(4732). — P.1350–1354.
119. Salimi M, Ogg G. Innate lymphoid cells and the skin. *BMC Dermatol*. 2014; 14:18. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
120. Schmitt J, von Kobyletzki L, Svensson A, Apfelbacher C. Efficacy and tolerability of proactive treatment with topical corticosteroids and calcineurin inhibitors.

tors for atopic eczema: Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Br J Dermatol*. 2011; 164:415–28. [PubMed] [Google Scholar]

121. Simpson EL, Chalmers JR, Hanifin JM, Thomas KS, Cork MJ, McLean WH, et al. Emollient enhancement of the skin barrier from birth offers effective atopic dermatitis prevention. *J Allergy Clin Immunol*. 2014; 134:818–23. [PMC freear-ticle] [PubMed] [Google Scholar]

122. Smith FJ, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Sandilands A, Campbell LE, Zhao Y, et al. Loss-of-function mutations in the gene encoding filaggrin cause ichthyosis vulgaris. *Nat Genet*. 2006; 38:337–42. [PubMed] [Google Scholar]

123. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ*. 1989; 299:1259–60. [PMC freear-ticle] [PubMed] [Google Scholar]

124. Thomas KS, Dean T, O’Leary C, Sach TH, Koller K, Frost A, et al. A randomised controlled trial of ion-exchange water softeners for the treatment of eczema in children. *PLoS Med*. 2011;8:e1000395. [PMC freear-ticle] [PubMed] [Google Scholar]

125. Traidl S., Roesner L., Zeitvogel J., Werfel T. Eczema herpeticum in atopic dermatitis. *Allergy*. 2021;76(10):3017–3027. doi: 10.1111/all.14853

126. Williams HC. Atopic eczema – Why we should look to the environment. *BrMed J*. 1995; 311:1241–2. [PMC freear-ticle] [PubMed] [Google Scholar]

127. Werner Y, Lindberg M. Transepidermal water loss in dry and clinically normal skin in patients with atopic dermatitis. *ActaDermVenereol*. 1985; 65:102–5. [PubMed] [Google Scholar]

128. Zhang L., Gasser R.B., Zhu X., McManus D.P. Screening for different genotypes of *Echinococcus granulosus* with 3in China and Argentina by single 3strand conformation polymorphism (SSCP) analysis. // *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* — 1999. – Vol. 93 (3). – P. 329–334.

129. Zhu X., Chilton N.B., Jacobs D.E. et al. Characterisation of *Ascaris* from human and pig hosts by nuclear ribosomal DNA sequences. // *Int. J. Parasitol.* — 1999. – Vol. 29 (3). — P. 469–478.

130. Zhang C., Liu X., Wang P., Ma Z. Epidermal growth factor receptor (EGFR): A rising star in the era of precision medicine of lung cancer. *Oncotarget*. 2017;8(30):50209-50220. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16854>



Множественное выравнивание 18S последовательностей

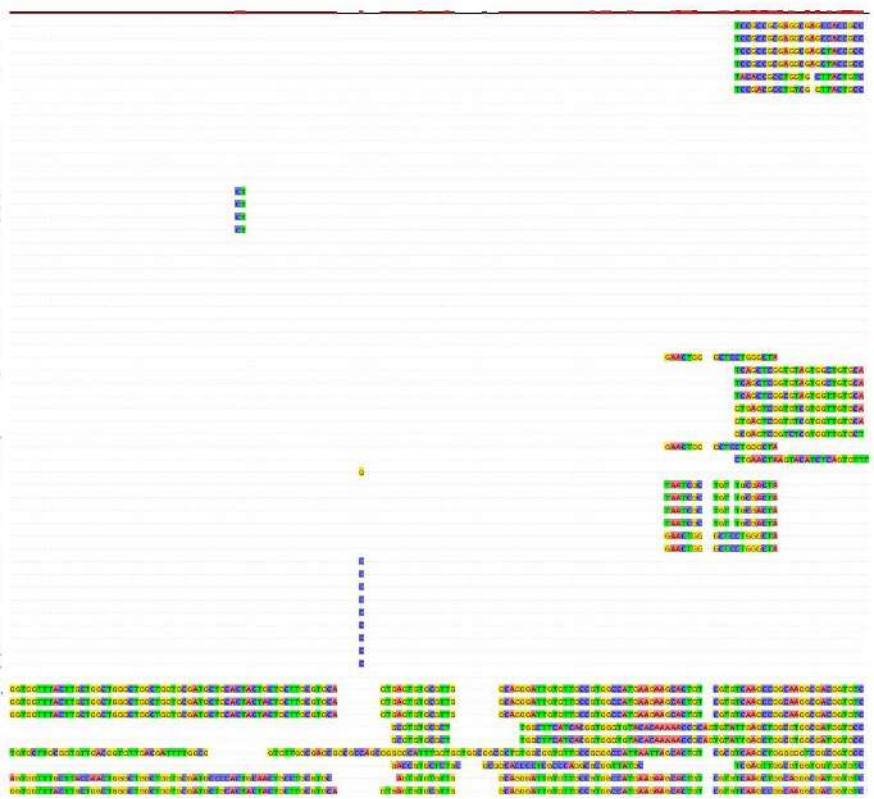
Consensus  
Identity

- 1. K03432.1 extraction (Human 18S rRNA gene)
- 2. NR\_036642.1 extraction (Bos taurus 18S ribosomal RNA)
- 3. MG967540.1:1842-3664 extraction (Gallus gallus 18S rRNA)
- 4. FJ10886.1 extraction (Salmo solar 18S ribosomal RNA)
- 5. U33181.1 extraction (Astacus astacus 18S ribosomal RNA)
- 6. L33448.1 extraction (Myltilus edulis 18S small subunit rRNA)
- 7. p0b|352|d (Triticum aestivum) extraction
- 8. AY787216.1 extraction (Agericium bisporus isolate AFT)
- 9. AY244619.1:1-1778 extraction (Blastocystis hominis isolate)
- 10. AY244620.1:1-1778 extraction (Blastocystis hominis isolate)
- 11. AY244621.1:1-1778 extraction (Blastocystis hominis isolate)
- 12. AY730405.1:1-1661 extraction (Dientamoeba fragilis isolate)
- 13. U37461.1:1-1676 extraction (Dientamoeba fragilis isolate)
- 14. AB282658.1 extraction (Entamoeba histolytica genes)
- 15. AB282659.1 extraction (Entamoeba histolytica genes)
- 16. AB282660.1 extraction (Entamoeba histolytica genes)
- 17. AB426549.1 extraction (Entamoeba histolytica genes)
- 18. XR\_005248668.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
- 19. XR\_005248672.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
- 20. XR\_005248675.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
- 21. XR\_005248678.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
- 22. XR\_005248679.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
- 23. XR\_005248684.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
- 24. XR\_005248687.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
- 25. XR\_005248690.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
- 26. XR\_005248693.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
- 27. MF072711.1 extraction (Anisakis simplex isolate 545)
- 28. U65657.1 extraction (Schistosoma mansoni 18S ribosomal RNA)
- 29. Z11976.1 extraction (S. haematobium gene encoding 18S rRNA)
- 30. AY157226.1 extraction (Schistosoma japonicum 18S rRNA)
- 31. X55357.1 extraction (O. viverrini gene for small subunit rRNA)
- 32. MF077357.1 extraction (Ophiorhynchus felineus strain)
- 33. AJ004969.1 extraction (Fasciola hepatica 18S rRNA gene)
- 34. U94366.1 extraction (Ascaris lumbricoides 18S small subunit rRNA)
- 35. JF34731.1 extraction (Enterobius vermicularis 18S rRNA)
- 36. U60231.1 extraction (Trichinella spiralis 18S ribosomal RNA)
- 37. AJ920347.2 extraction (Ancylostoma caninum 18S rRNA)
- 38. Ancylostoma\_ceylanicum\_18S extraction (Alignment)
- 39. EU344798.1 extraction (Ancylostoma duodenale 18S rRNA)
- 40. AJ920348.1 extraction (Necator americanus 18S rRNA)
- 41. U94382.1 extraction (Toxocara canis 18S small subunit rRNA)
- 42. EF180059.1 extraction (Toxocara cati 18S small subunit rRNA)
- 43. GQ352547.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH)
- 44. GQ352548.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH)
- 45. GQ352549.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH)
- 46. GQ352550.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH)
- 47. GQ352551.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH)
- 48. GQ352552.1 extraction (Trichuris trichiura isolate D4)
- 49. GQ352553.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH)
- 50. GQ352554.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TST)
- 51. GQ352555.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TST)
- 52. M84229.1 extraction (Strongyloides stercoralis 18S rRNA)
- 53. AB731615.1 extraction (Taenia saginata gene for 18S rRNA)
- 54. JQ603338.1 extraction (Taenia saginata isolate Dai)
- 55. MN452863.1 extraction (Taenia saginata isolate Dai)
- 56. AY193874.1 extraction (Hymenolepis nana 18S ribosomal RNA)
- 57. AY193875.1 extraction (Hymenolepis nana 18S ribosomal RNA)
- 58. AB731643.1 extraction (Dipylidium caninum gene for 18S rRNA)
- 59. DQ925099.1 extraction (Dipylidobothrium lacum 18S rRNA)
- 60. GQ260091.1 extraction (Dipylidobothrium lacum 18S rRNA)
- 61. MN452864.1 extraction (Taenia asiatica 18S ribosomal RNA)



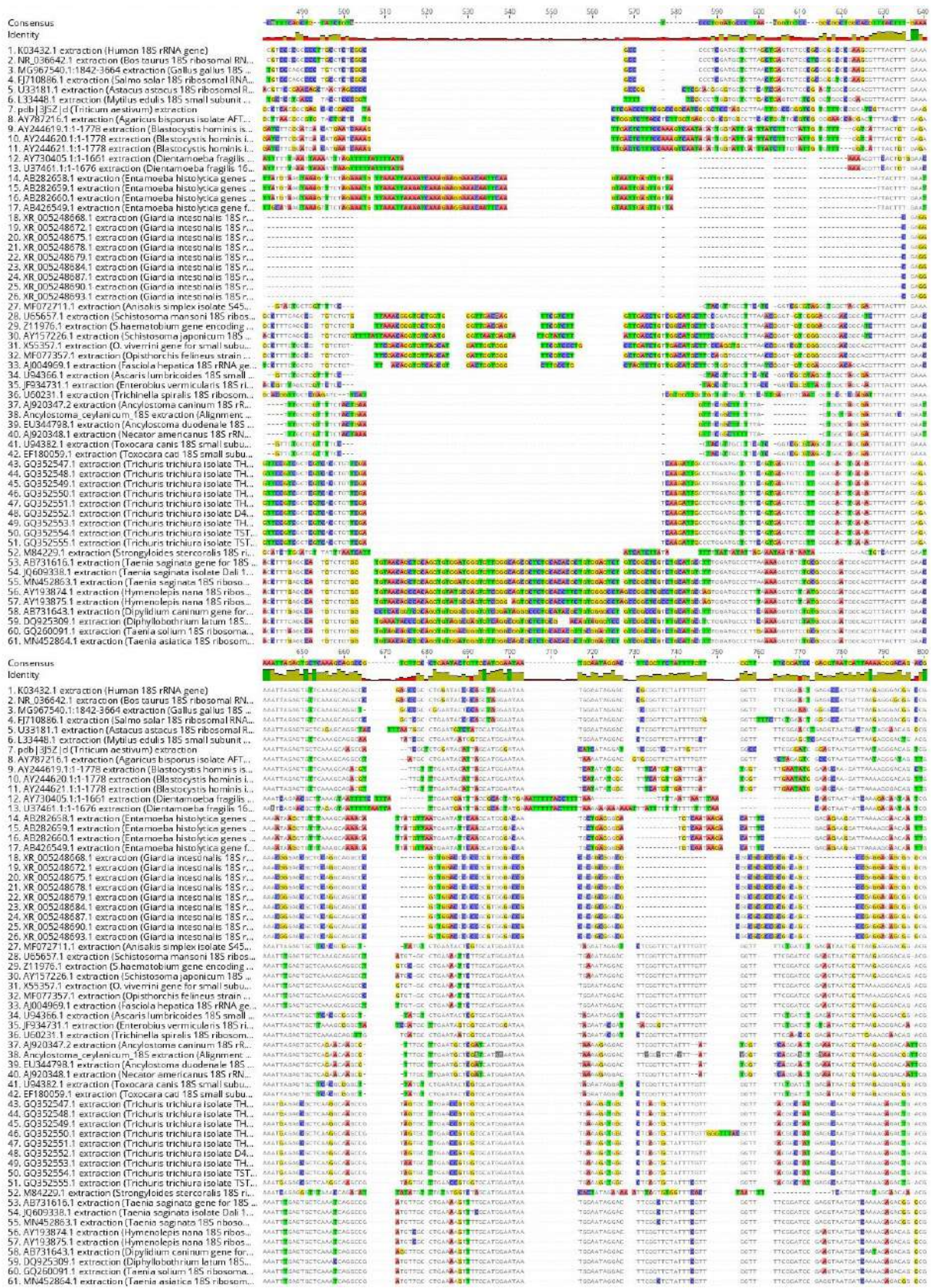
Consensus  
Identity

- 1. K03432.1 extraction (Human 18S rRNA gene)
- 2. NR\_036642.1 extraction (Bos taurus 18S ribosomal RNA)
- 3. MG967540.1:1842-3664 extraction (Gallus gallus 18S rRNA)
- 4. FJ10886.1 extraction (Salmo solar 18S ribosomal RNA)
- 5. U33181.1 extraction (Astacus astacus 18S ribosomal RNA)
- 6. L33448.1 extraction (Myltilus edulis 18S small subunit rRNA)
- 7. p0b|352|d (Triticum aestivum) extraction
- 8. AY787216.1 extraction (Agericium bisporus isolate AFT)
- 9. AY244619.1:1-1778 extraction (Blastocystis hominis isolate)
- 10. AY244620.1:1-1778 extraction (Blastocystis hominis isolate)
- 11. AY244621.1:1-1778 extraction (Blastocystis hominis isolate)
- 12. AY730405.1:1-1661 extraction (Dientamoeba fragilis isolate)
- 13. U37461.1:1-1676 extraction (Dientamoeba fragilis isolate)
- 14. AB282658.1 extraction (Entamoeba histolytica genes)
- 15. AB282659.1 extraction (Entamoeba histolytica genes)
- 16. AB282660.1 extraction (Entamoeba histolytica genes)
- 17. AB426549.1 extraction (Entamoeba histolytica genes)
- 18. XR\_005248668.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
- 19. XR\_005248672.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
- 20. XR\_005248675.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
- 21. XR\_005248678.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
- 22. XR\_005248679.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
- 23. XR\_005248684.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
- 24. XR\_005248687.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
- 25. XR\_005248690.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
- 26. XR\_005248693.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
- 27. MF072711.1 extraction (Anisakis simplex isolate 545)
- 28. U65657.1 extraction (Schistosoma mansoni 18S ribosomal RNA)
- 29. Z11976.1 extraction (S. haematobium gene encoding 18S rRNA)
- 30. AY157226.1 extraction (Schistosoma japonicum 18S rRNA)
- 31. X55357.1 extraction (O. viverrini gene for small subunit rRNA)
- 32. MF077357.1 extraction (Ophiorhynchus felineus strain)
- 33. AJ004969.1 extraction (Fasciola hepatica 18S rRNA gene)
- 34. U94366.1 extraction (Ascaris lumbricoides 18S small subunit rRNA)
- 35. JF34731.1 extraction (Enterobius vermicularis 18S rRNA)
- 36. U60231.1 extraction (Trichinella spiralis 18S ribosomal RNA)
- 37. AJ920347.2 extraction (Ancylostoma caninum 18S rRNA)
- 38. Ancylostoma\_ceylanicum\_18S extraction (Alignment)
- 39. EU344798.1 extraction (Ancylostoma duodenale 18S rRNA)
- 40. AJ920348.1 extraction (Necator americanus 18S rRNA)
- 41. U94382.1 extraction (Toxocara canis 18S small subunit rRNA)
- 42. EF180059.1 extraction (Toxocara cati 18S small subunit rRNA)
- 43. GQ352547.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH)
- 44. GQ352548.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH)
- 45. GQ352549.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH)
- 46. GQ352550.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH)
- 47. GQ352551.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH)
- 48. GQ352552.1 extraction (Trichuris trichiura isolate D4)
- 49. GQ352553.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH)
- 50. GQ352554.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TST)
- 51. GQ352555.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TST)
- 52. M84229.1 extraction (Strongyloides stercoralis 18S rRNA)
- 53. AB731615.1 extraction (Taenia saginata gene for 18S rRNA)
- 54. JQ603338.1 extraction (Taenia saginata isolate Dai)
- 55. MN452863.1 extraction (Taenia saginata isolate Dai)
- 56. AY193874.1 extraction (Hymenolepis nana 18S ribosomal RNA)
- 57. AY193875.1 extraction (Hymenolepis nana 18S ribosomal RNA)
- 58. AB731643.1 extraction (Dipylidium caninum gene for 18S rRNA)
- 59. DQ925099.1 extraction (Dipylidobothrium lacum 18S rRNA)
- 60. GQ260091.1 extraction (Dipylidobothrium lacum 18S rRNA)
- 61. MN452864.1 extraction (Taenia asiatica 18S ribosomal RNA)



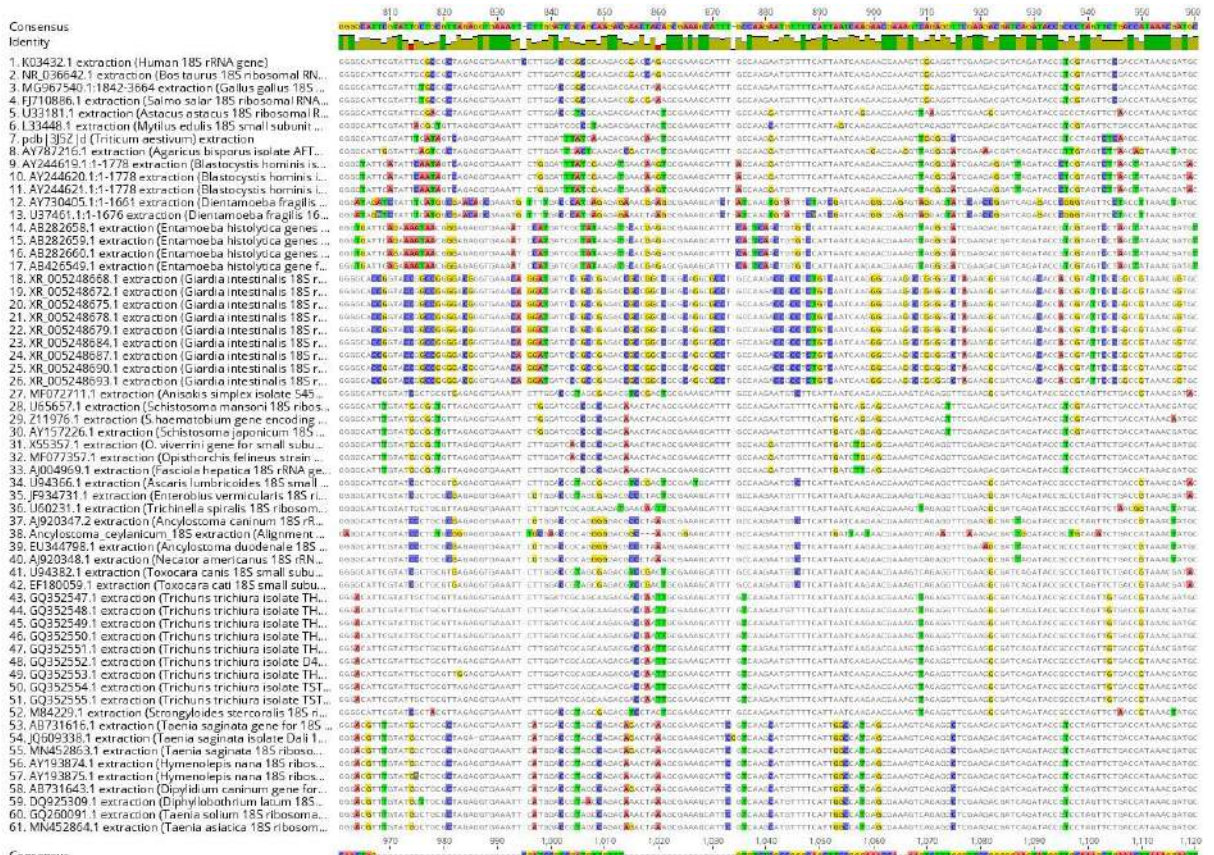
Множественное выравнивание 18S последовательностей (продолжение)





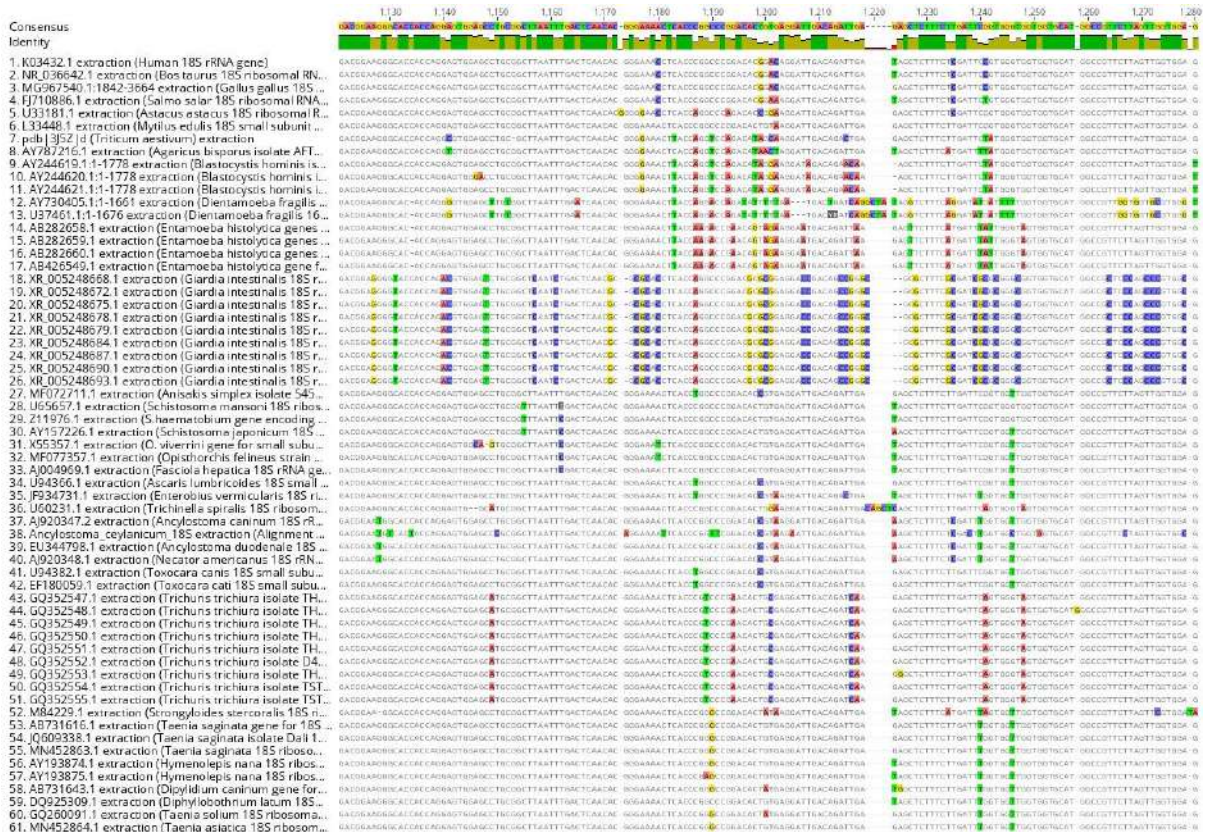
Множественное выравнивание 18S последовательностей (продолжение)





Множественное выравнивание 18S последовательностей (продолжение)





Множественное выравнивание 18S последовательностей (продолжение)





Множественное выравнивание 18S последовательностей (продолжение)



- Consensus Identity
1. K03432.1 extraction (Human 18S rRNA gene)
  2. NR\_036642.1 extraction (Bos taurus 18S ribosomal RNA)
  3. MG967540.1:1842-3664 extraction (Gallus gallus 18S rRNA)
  4. FJ10886.1 extraction (Salmo salar 18S ribosomal RNA)
  5. U33181.1 extraction (Asiacus asiaticus 18S ribosomal RNA)
  6. L33448.1 extraction (Mytilus edulis 18S small subunit rRNA)
  7. p01352.d (Triticum aestivum) extraction
  8. AY787216.1 extraction (Agaricus bisporus isolate AFT...)
  9. AY244619.1:1-1778 extraction (Blastocystis hominis isolate)
  10. AY244620.1:1-1778 extraction (Blastocystis hominis isolate)
  11. AY244621.1:1-1778 extraction (Blastocystis hominis isolate)
  12. AY730405.1:1-1661 extraction (Dientamoeba fragilis isolate)
  13. U37461.1:1-1676 extraction (Dientamoeba fragilis isolate)
  14. AB282658.1 extraction (Entamoeba histolytica genes)
  15. AB282659.1 extraction (Entamoeba histolytica genes)
  16. AB282660.1 extraction (Entamoeba histolytica genes)
  17. AB425445.1 extraction (Entamoeba histolytica genes)
  18. KR\_005248568.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
  19. KR\_005248572.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
  20. KR\_005248575.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
  21. KR\_005248578.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
  22. KR\_005248581.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
  23. KR\_005248584.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
  24. KR\_005248587.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
  25. KR\_005248590.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
  26. KR\_005248593.1 extraction (Giardia intestinalis 18S rRNA)
  27. MF072711.1 extraction (Anisakis simplex isolate 545)
  28. U65657.1 extraction (Schistosoma mansoni 18S rRNA)
  29. Z11976.1 extraction (S haematobium gene encoding...)
  30. AY157226.1 extraction (Schistosoma japonicum 18S rRNA)
  31. X53557.1 extraction (O. viverrini gene for small subunit)
  32. MF077357.1 extraction (Opisthorchis felinus strain...)
  33. AJ004960.1 extraction (Fasciola hepatica 18S rRNA gene)
  34. U94366.1 extraction (Ascaris lumbricoides 18S small subunit)
  35. JF934731.1 extraction (Enterobius vermicularis 18S rRNA)
  36. U60231.1 extraction (Trichinella spiralis 18S ribosomal RNA)
  37. AJ920347.2 extraction (Ancylostoma caninum 18S rRNA)
  38. Ancylostoma ceylanicum 18S extraction (Alignment)
  39. EU344798.1 extraction (Ancylostoma duodenale 18S rRNA)
  40. AJ920348.1 extraction (Necator americanus 18S rRNA)
  41. U94382.1 extraction (Toxocara canis 18S small subunit)
  42. EF180059.1 extraction (Toxocara canis 18S small subunit)
  43. GQ352547.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH...)
  44. GQ352548.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH...)
  45. GQ352549.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH...)
  46. GQ352550.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH...)
  47. GQ352551.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH...)
  48. GQ352552.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH...)
  49. GQ352553.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH...)
  50. GQ352554.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH...)
  51. GQ352555.1 extraction (Trichuris trichiura isolate TH...)
  52. M84229.1 extraction (Strongyloides stercoralis 18S rRNA)
  53. AB731616.1 extraction (Taenia saginata gene for 18S rRNA)
  54. JQ69338.1 extraction (Taenia saginata isolate Dali 18S rRNA)
  55. MN452863.1 extraction (Taenia saginata 18S ribosomal RNA)
  56. AY193874.1 extraction (Hymenolepis nana 18S ribosomal RNA)
  57. AY193875.1 extraction (Hymenolepis nana 18S ribosomal RNA)
  58. AB731643.1 extraction (Dipylidium caninum gene for 18S rRNA)
  59. DQ925109.1 extraction (Dipylidium caninum lotum 18S rRNA)
  60. GQ260091.1 extraction (Taenia solium 18S ribosomal RNA)
  61. MN452864.1 extraction (Taenia asiatica 18S ribosomal RNA)



Множественное выравнивание 18S последовательностей (продолжение)