

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЛОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи

Лялюхина Елена Ивановна



**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ
ЛОКАЛЬНОЙ ИММУНОКОРРЕКЦИИ
В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ
УГРЕВОЙ БОЛЕЗНИ**

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Снимщикова Ирина Анатольевна

04201057993

01.07.2010

Орел – 2010

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1. Роль иммунологических механизмов в патогенезе угревой болезни	11
1.2. Современные методы лечения угревой болезни	25
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	36
2.1. Клиническая характеристика больных	36
2.2. Методы лабораторного обследования больных	45
2.3. Методы экспериментальных исследований	47
2.4. Способ локальной иммунокоррекции препаратом миелопид	49
2.5. Методы статистической обработки	50
ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕГО И АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТОВ МИЕЛОПИД И СУПЕРЛИМФ.	51
3.1 Влияние препаратов миелопид и суперлимф на продукцию антимикробных пептидов мононуклеарными фагоцитами крови здоровых доноров и больных с акне.	52
3.2 Влияние препаратов миелопид и суперлимф на продукцию метаболитов оксида азота мононуклеарными фагоцитами крови здоровых доноров и больных с акне.	58
3.3 Изучение антимикробного действия препаратов миелопид и суперлимф.	60
ГЛАВА 4. КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЛОКАЛЬНОЙ ИММУНОКОРРЕКЦИИ ПРЕПАРАТОМ МИЕЛОПИД В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ УГРЕВОЙ БОЛЕЗНЬЮ.	63

ГЛАВА 5. ДИНАМИКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БОЛЬНЫХ С АКНЕ НА ФОНЕ ЛОКАЛЬНОЙ ИММУНОКОРРЕКЦИИ ПРЕПАРАТОМ МИЕЛОПИД.	74
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	85
ВЫВОДЫ	96
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	97
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	98

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АМП	Антимикробные пептиды
АФК	Активные формы кислорода
ГЗТ	Гиперчувствительность замедленного типа
ГКС	Глюкокортикостероиды
ГМ-КСФ	Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
ДИКЖ	Дерматологический индекс качества жизни
ИКК	Иммунокомпетентные клетки
ИЛ	Интерлейкин
ИЛ-1Ra	рецепторный антагонист ИЛ-1
ИФА	Иммуноферментный анализ
ИФН	Интерферон
ЛИ	Локальная иммунотерапия
ЛФ	Лактоферрин
МНФ	Мононуклеарные фагоциты
МНК	Мононуклеары крови
ОГУЗ ОКБ	Областное учреждение здравоохранения «Орловская областная клиническая больница»
ПОА	Пероксидазная активность
ТИ	Топическая иммунотерапия
ТФР	Трансформирующий фактор роста
ФНО	Фактор некроза опухолей
CD	Кластер дифференцировки
Ig	Иммуноглобулин
NK	Натуральные киллеры
NO	Оксид азота
NOS	NO – синтаза
LL37/hCAP18	кателицидин LL37

Th	T-хелперы
Th1	T-хелперы 1
Th2	T-хелперы 2
TLR	Toll - подобный рецептор

ВВЕДЕНИЕ

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ.

Одной из актуальных проблем современной медицины остается профилактика и лечение воспалительных заболеваний кожи, распространенность которых не имеет тенденции к снижению. Угревая болезнь поражает до 85% людей, преимущественно молодого возраста, что приводит к их психосоциальной дезадаптации и нарушению качества жизни [2, 31, 70, 113, 114, 150, 189, 211].

Результаты лечения различных форм угревой болезни, несмотря на использование широкого арсенала лекарственных средств и способов воздействия на пораженную кожу, не удовлетворяют полностью дерматологов. Длительное лечение, значительные материальные затраты, частые осложнения, косметические изъяны – это все требует изыскания новых путей, совершенствования уже имеющихся способов терапии данной группы больных [56, 57, 73, 74, 75, 108, 111, 122].

Многочисленные исследования показывают сложный мультифакторный характер патогенеза угревой болезни, важную роль в котором играют иммунные нарушения. Изучению роли дисфункций иммунитета у больных с *acne vulgaris* посвящены работы отечественных и зарубежных авторов [52, 59, 132, 133, 141, 173, 216, 222]. Вместе с тем, несмотря на то, что в литературе накапливается все больше данных о роли врождённых иммунных механизмов в регуляции гомеостаза кожи и слизистых, их значение в патогенезе угревой болезни изучено недостаточно и является дискуссионным.

В последние годы показано, что одним из перспективных способов лечения акне и коррекции поствоспалительных изменений кожи является мезотерапия - интрадермальное введение малых доз лекарственных препаратов (антибиотиков, витаминов и др.) в зону патологического очага [62, 64, 65, 72, 148].

Учитывая регулирующее влияние иммуотропных препаратов эндогенных пептидов на течение и исход локальных воспалительных процессов, патогенетически обоснованным представляется их топическое использование при угревой болезни.

В связи с этим приобретает актуальность разработка комплексного подхода к лечению *acne vulgaris* с включением в программы терапии локальной иммунокоррекции.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Повышение эффективности лечения больных с акне путем применения локальной иммунокоррекции.

ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ.

1. Уточнить некоторые механизмы развития иммунной дисфункции у больных угревой болезнью.
2. Изучить *in vitro* антимикробную активность препарата миелопид.
3. Исследовать *in vitro* влияние препаратов миелопид и суперлимф на продукцию антимикробных пептидов (кателицидина LL-37, лактоферрина и миелопероксидазы) и оксида азота мононуклеарными фагоцитами здоровых доноров и больных акне.
4. Разработать способ локальной иммунокоррекции препаратом миелопид и оценить его клиническую эффективность в комплексной терапии пациентов с угревой болезнью в сравнении с традиционным лечением и мезотерапией препаратом гентамицин.
5. Исследовать влияние локальной иммунотерапии препаратом миелопид на динамику показателей иммунного статуса больных с *acne vulgaris*.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА.

Получены данные об изменении продукции антимикробных пептидов (кателицидина LL-37, лактоферрина, миелопероксидазы и гепсидина) и оксида азота при угревой болезни, которые расширяют представления о роли механизмов врождённого иммунитета в патогенезе акне.

Впервые установлена прямая антибактериальная активность препарата миелопид в отношении *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*.

Впервые показано иммуномодулирующее влияние препаратов миелопид и суперлимф на продукцию антимикробных пептидов (кателицидина LL-37, лактоферрина и миелопероксидазы) и оксида азота мононуклеарными фагоцитами крови больных акне.

Впервые разработан и внедрен в клиническую практику способ лечения угревой болезни с локальным использованием препарата миелопид путём мезотерапии; проведена оценка его эффективности в сравнении с традиционным лечением и мезотерапевтическим введением препарата гентамицин.

Выявлено положительное влияние локальной иммунокоррекции препаратом миелопид на динамику показателей врождённого и адаптивного иммунитета больных с угревой болезнью.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАБОТЫ.

В результате проведенных исследований патогенетически обосновано локальное применение препаратов иммунорегуляторных пептидов (миелопида, суперлимфа) в комплексном лечении угревой болезни.

Разработаны критерии балльной оценки тяжести течения различных форм *acne vulgaris* и определена их значимость при проведении локальной иммунотерапии.

Предложенный способ локальной иммунокоррекции путём мезотерапии позволяет улучшить результаты лечения угревой болезни и постакне: сократить сроки лечения и частоту рецидивов заболевания, ускорить санацию очагов акне, снизить риск развития поствоспалительных косметических дефектов и повысить качество жизни пациентов.

ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ.

Одним из факторов развития иммунной дисфункции у больных с угревой болезнью является нарушение продукции эндогенных

антимикробных пептидов (кателицидина LL-37, лактоферрина, миелопероксидазы и гепсидина) и оксида азота.

Препарат миелопид обладает прямой антибактериальной активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Препараты миелопид и суперлимф *in vitro* оказывают иммуномодулирующее влияние на продукцию антимикробных пептидов и оксида азота мононуклеарными фагоцитами периферической крови пациентов с угревой болезнью.

Использование в комплексном лечении папулопустулёзной формы угревой болезни локальной иммунокоррекции препаратом миелопид ускоряет санацию очагов акне и купирование перифолликулярного инфильтративного процесса, снижает частоту поствоспалительных косметических дефектов, сокращает сроки лечения, частоту рецидивов и способствует повышению качества жизни у 63,3% больных.

Локальное применение препарата миелопид путём мезотерапии при папулопустулёзной форме *acne vulgaris* приводит к восстановлению исходно нарушенных показателей врождённого и адаптивного иммунитета.

ВНЕДРЕНИЯ В КЛИНИЧЕСКУЮ ПРАКТИКУ.

Способ локальной иммунокоррекции препаратом миелопид путем мезотерапии внедрён в практику работы ОГУЗ «Орловская областная поликлиника №2», ОГУЗ «Областной кожно-венерологический диспансер». Полученные результаты используются в учебном процессе кафедры иммунологии и специализированных клинических дисциплин медицинского института ГОУ ВПО «Орловский государственный университет».

СВЯЗЬ С ПЛАНОМ НИР.

Работа проведена в соответствии с планом НИР ГОУ ВПО «Орловский государственный университет» (номер госрегистрации комплексной темы 14.00.03).

АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ.

Основные положения работы доложены и обсуждены на Всероссийской конференции «Актуальные проблемы дерматовенерологии и педиатрии» (Орел, 2005); Всероссийской конференции «Актуальные вопросы педиатрии и иммунологии» (Санкт-Петербург, 2005), «Современные технологии в иммунологии: иммунодиагностика и иммунотерапия» (Курск, 2006); межкафедральной конференции медицинского института ГОУ ВПО «Орловский государственный университет» (Орёл, 2009).

ПУБЛИКАЦИИ.

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ (6 – в изданиях, рекомендованных ВАК РФ).

ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ.

Диссертация изложена на 120 страницах машинописного текста, иллюстрирована 18 рисунками, 9 таблицами, состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований (3 главы), заключения, выводов, практических рекомендаций, библиографического указателя, включающего 93 отечественных и 129 зарубежных источника.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Роль иммунологических механизмов в патогенезе угревой болезни

Угревая болезнь поражает около 80% лиц от 12 до 25 лет и до 30-40% лиц старше 25 лет. Тенденция «взросления» *acne vulgaris*, его значительное влияние на психоэмоциональную сферу, социальный статус и, в целом, качество жизни больных обуславливают актуальность данной проблемы, необходимость уточнения патогенеза заболевания и разработки новых эффективных средств и методов лечения [2, 6, 47, 57, 94, 111, 157].

Как известно, *acne vulgaris* является полиморфным мультифакториальным заболеванием, связанным с первичным поражением пилосеборейного комплекса [1, 7, 113]. Однако, несмотря на то, что в патогенезе угревой болезни ведущая роль отводится четырем ведущим взаимосвязанным факторам (патологический фолликулярный гиперкератоз, избыточное образование секрета сальных желез, размножение *Propionibacterium acnes* и воспаление), ряд вопросов этиологии и патогенеза *acne vulgaris*, в том числе особенности формирования и хронизации локального воспалительного процесса до сих пор вызывают дискуссии и решены не до конца.

Значительный прогресс в изучении клеточных и молекулярных основ функционирования иммунной системы позволил существенно изменить представления о роли системных и локальных факторов иммунной защиты в патогенезе различных воспалительных заболеваний, в том числе при патологии кожи [119, 132, 133, 136, 141, 149, 216, 222]. При этом, несмотря на многочисленность исследований механизмов иммунного ответа при угревой болезни, закономерности дисрегуляции иммунной системы при данной патологии изучены недостаточно и являются достаточно противоречивыми. До настоящего времени нет единого мнения о состоянии системного иммунитета и факторов иммунной защиты кожи при воспалительных формах акне, не определена значимость иммунологических

критериев в оценке активности локального инфекционно-воспалительного процесса, в том числе при различных методах лечения.

Как известно, нарушению микробиоценоза кожи отводится важное место в генезе угревой болезни. Показано, что преимущественно три группы микроорганизмов являются причиной развития воспалительного процесса в сальных железах: *P. acnes*, *S. epidermidis* и другие кокки, а также липофильные дрожжи рода *Pityrosporum* [1, 3, 9, 113, 121]. Эти микроорганизмы, являясь частью нормальной микрофлоры кожи, всегда присутствуют в комедонах, продуцируя антигены, инициирующие развитие перифолликулярной воспалительной реакции. Однако, последние данные исследований пересматривают ведущую этиологическую роль *P. acnes*. Так, по мнению некоторых авторов, индуцирующим фактором воспаления при акне являются медиаторы иммунного ответа [46, 73, 75, 146, 212].

Иммунная защита организма против различных патогенов осуществляется в результате скоординированной работы врождённой и адаптивной систем иммунитета. При этом основными причинами широкого распространения инфекционно-воспалительных заболеваний являются с одной стороны ограниченные возможности иммунной системы человека к своевременному распознаванию и элиминации инфекционных агентов, приспособившихся в процессе эволюции избегать действия факторов иммунной защиты, а с другой – иммуносупрессивная активность микроорганизмов, опосредующих развитие иммунодефицита [34, 35, 39, 95, 131].

Антимикробную защиту организма обеспечивают гистологические барьеры, а также гуморальные и клеточные факторы иммунитета [39, 53, 54, 119, 149].

Одними из важнейших антигеннеспецифических факторов резистентности барьерных тканей являются особенности их строения, метаболизма и функционирования, которые затрудняют колонизацию покрова патогенными и условно-патогенными микробами. Колонизация, как

один из важнейших начальных этапов развития инфекции, заключается в фиксации микробов на соответствующих рецепторах клеток с последующим размножением возбудителя, заселением покрова и проникновением во внутреннюю среду организма [2, 89, 90, 149, 160, 169].

Присутствие нормальной микрофлоры и образующихся в коже гуморальных антигеннеспецифических факторов, обеспечивающих кислую среду, как правило, достаточно для предотвращения инфицирования мягких тканей. Однако, массивная антигенная нагрузка, более 100 тыс. микроорганизмов на 1 г ткани, может опережать возможности защитных сил организма по локализации патологического процесса и способствовать его генерализации [1, 2, 3, 90]. Показано, что комедоны образуются лишь при большом скоплении *P. acnes* (10^6 - 10^8), тем не менее их патогенные свойства не проявляются у здоровых людей, и для того, чтобы вызвать образование одного пустулезного элемента, необходимо ввести в кожу около 1 млрд. пропионобактерий. При этом в литературе появляется все больше данных о преобладающей роли *S. aureus*, *S. haemolyticus* и других возбудителей у больных с длительным и прогрессирующим течением акне [6, 63, 65, 113, 173].

Важное место в защите организма от патогенов отводится экспрессии сигнальных Toll-подобных и NOD рецепторов клетками врожденного иммунитета (макрофагами, нейтрофилами, естественными киллерами, кератиноцитами и др.), которые распознают высоко консервативные патоген-ассоциированные молекулярные образы (паттерны) микроорганизмов. Показана ведущая роль TLR-2 рецепторов в распознавании и связывании *P. acnes*, а также повышение их экспрессии в биоптатах пораженной кожи [73, 141, 142].

Связывание патогенов с Toll-рецепторами инициирует секрецию противомикробных пептидов, которые, являясь эндогенными естественными антибиотиками, с одной стороны обеспечивают «мгновенный иммунный ответ» на микроорганизмы, а с другой участвуют в процессах репаративной

регенерации тканей. У млекопитающих наиболее хорошо охарактеризованы два семейства противомикробных пептидов: дефенсины и кателицидины, которые относятся к катионным белкам, и продуцируются преимущественно «профессиональными» фагоцитами, кератиноцитами и всеми эпителиальными клетками [39, 90, 142, 146, 222].

Среди β -дефенсинов (HBD-1-4) при патологии кожи наиболее хорошо охарактеризованы HBD-1 и HBD-2. Дефенсин HBD-1 экспрессируется, в основном, в эпидермальных кератиноцитах и проявляет антимикробную активность против грамотрицательных бактерий *E. coli* и *P. aeruginosa*. Основная экспрессия HBD-1, происходящая в супрабазальных слоях эпидермиса, способствует устойчивости кожи к грамотрицательным бактериям. Экспрессия HBD-2 в кератиноцитах индуцируется как грамположительными, так и грамотрицательными возбудителями и обеспечивает «первый уровень защиты» кожи [39, 40, 42, 90, 159, 177, 179, 181].

Являясь естественными антибиотиками, дефенсины не только изменяют заряд на поверхности микробов, формируя поры в их мембранах и нарушая проницаемость, но и являются хемотаксическими факторами для незрелых дендритных клеток и Т-клеток памяти. Так, при инфекционно-воспалительных процессах в коже, активация дендритных клеток HBD-2, который продуцируется кератиноцитами после активации TLR патогенами, может вызывать миграцию этих клеток из кожи в ближайшие лимфатические органы и, в конечном итоге, привести к образованию клеточной иммунной реакции через активацию антиген-специфических Т-клеток [206, 221, 222]. В экспериментальных исследованиях (Nagy et al., 2006) показано, что *P. asnes* могут индуцировать синтез дефенсинов себоцитами. Нарушение выработки β -дефенсинов описано при ожогах, дерматитах, раневых процессах различной этиологии и течения и др. Предполагается, что дисрегуляция продукции дефенсинов может быть одним из компонентов иммунопатогенеза угревой болезни [177, 181, 201, 203, 206].

В синергизме с дефенсинами способны действовать и антимикробные пептиды из семейства кателицидинов. Как известно, белок LL37 (hCAP18) на сегодняшний день является единственным идентифицированным человеческим кателицидином, проявляющим иммунорегуляторное действие и антимикробную активность против грам-отрицательных и грам-положительных бактерий, а также грибов и вирусов [39, 40, 107, 143, 144, 153]. В недавних исследованиях было продемонстрировано участие LL37 в процессах ангиогенеза. Работами Dong-Youn Lee, K. Yamasaki (2009) показано, что себоциты, наряду с дефенсинами, могут синтезировать кателицин LL37. Низкий уровень экспрессии LL37 диагностирован при хронических язвах с нарушением процесса ранозаживления, при атопическом дерматите, повышенная экспрессия антимикробных пептидов выявлена при псориазе [116, 134, 144, 178, 179, 181, 185]. Наряду с этим, внимание исследователей в последние годы привлекает гепсидин, который выполняя роль антимикробного пептида, подобно белкам острой фазы, синтезируется в печени, а также участвует в регуляции транспорта железа в различных компартментах организма, включая клетки эпителия, макрофаги и др [24, 106, 115, 124, 174]. Однако, в доступной литературе мы не встретили данных о продукция LL37и гепсидина при угревой болезни.

В настоящее время изменились представления о роли кожи в модуляции иммунных ответов. Показано, что кожа, как иммунный орган, способна к изоляции, процессингу и презентации антигенов с развитием локального иммунного ответа. В коже содержатся лимфоциты, дендритные клетки, макрофаги, гранулоциты, кератиноциты, фибробласты и др., которые при развитии в ней различных инфекционно-воспалительных процессов, обеспечивают необходимые защитные функции (фагоцитоз и элиминацию антигенного материала, выработку цитокинов и иммуноглобулинов различных классов) [32, 72, 90, 92, 112, 172, 179]. Центральное место в реализации этих функций принадлежит лимфоидной ткани кожи, представленной популяцией рециркулирующих лимфоцитов, большая часть

из которых мигрирует в дерму из периферических лимфатических узлов. В здоровой коже большая часть лимфоцитов располагается вокруг посткапиллярных венул поверхностного сосудистого сплетения и придатков кожи. Количественные соотношения и локализация клеток основных иммунорегуляторных популяций в коже, по данным Vos J. D. Et al. (1987), подвержены значительным индивидуальным колебаниям. Однако, по приблизительным оценкам, Т - лимфоциты составляют около 90% всех лимфоцитов, присутствующих в коже, и располагаются преимущественно в верхних слоях дермы [90, 93]. В средних и глубоких слоях дермы в незначительном количестве встречаются В – лимфоциты. Среди Т – клеток кожи обнаружены CD1+, CD2+, CD3+, CD4+, CD8+ субпопуляции лимфоцитов. При этом CD4-клетки несколько превалируют численно над CD8-клетками. Около 90% эпидермальных Т-клеток экспрессируют Т-клеточный рецептор $\alpha\beta$ -типа, а около 10% - $\gamma\delta$ -типа. При этом большая часть $\gamma\delta$ Т-клеток кожи лишена маркёров CD4 и CD8. Кроме того, часть Т-лимфоцитов обладает фенотипом клеток памяти (CD45RO+ - клетки), способных возвращаться в те ткани, где были первоначально стимулированы. Вместе с тем, лимфоидные клетки кожи имеют специфический антиген (CLA – cutaneous lymphocyte antigen), определяющий их хоминг и позволяющий участвовать в формировании локальных воспалительных реакций кожи [90, 112, 149]. Работами ряда авторов показано, что в папулёзных элементах акне первичный клеточный инфильтрат представлен преимущественно CD4+-Т-лимфоцитами. Анализ образцов биопсий от больных акне свидетельствует о том, что на ранних стадиях заболевания воспалительная реакция может рассматриваться как гиперчувствительность замедленного типа с образованием сенсibilизированных Th1 [2, 3, 46, 113, 135, 149].

Известно, что широкий спектр воспалительных заболеваний (атопический дерматит, сепсис, псориаз и др.) сопровождаются дисбалансом Th1/Th2 клеток и продуцируемых ими цитокинов, определяющих характер локальных и системных реакций организма на антиген [12, 15, 34, 80, 84, 95,

97]. Однако, недавно проведённые исследования показали, что не все патологические процессы в коже могут быть объяснены Th1/Th2 парадигмой. Некоторые Т-клеточные субпопуляции в коже характеризуются секрецией ИЛ-17. Это, так называемы Th17 лимфоциты, для развития которых необходим ИЛ-23. Th17 играют ведущую роль в реакциях организма на собственные антигены в эпидермисе. В связи с чем патогенез инфекционно-воспалительных заболеваний кожи в последние годы предлагается рассматривать с позиций дисбаланса Th1/Th2/Th17 лимфоцитов [90, 146, 191, 199].

Морфологическое строение кожи создает микроокружение, достаточное для того, чтобы содержащиеся в ней иммунокомпетентные и аксессуарные клетки (дендритные и макрофаги) могли обеспечить полноценный иммунный ответ в развитии локального воспалительного процесса [1, 9, 62, 73, 125, 133, 152, 195, 222].

Кожа вовлекается в иммунные реакции в тех случаях, когда в нее проникают чужеродные инфекционные и воспалительные агенты. Воспалительный процесс, формирующийся в коже при акне, в первую очередь, под действием пропионобактерий (*P. acnes*, *P. granulosum*) сопряжен с действием многочисленных клеточных и гуморальных (биохимических, гормональных и др.) факторов [2, 3, 70, 73, 113, 142, 179]. Обтурация комедоном протока сально-волосяного фолликула создает благоприятные анаэробные условия для размножения факультативных анаэробов и прогрессирования повреждения фолликулярного эпителия в дерме [1, 3, 7, 142, 179].

В условиях действия микробных агентов, наблюдается активация фагоцитарных клеток, а также кератиноцитов опосредованная TLR2 рецепторами. После связывания этого рецептора клетки начинают экспрессировать TLR4 и CD14, что обеспечивает ими распознавание более широкого спектра патогенов, наряду *P. acnes*, в том числе бактериальных липополисахаридов. Активация мононуклеарных фагоцитов и кератиноцитов

сопровождается появлением на их мембране молекул МНС II класса, рецептора межклеточной адгезии ICAM-1 и др., что позволяет им выполнять функции антигенпредставляющих клеток. Активированные фагоциты и кератиноциты вырабатывают широкий спектр цитокинов [39, 90, 73, 142, 146]. Известно, что *P. asnes* может индуцировать моноциты к секреции провоспалительных цитокинов, включая ФНО- α , ИЛ-1 β и ИЛ-8 [73, 113, 140, 142, 146, 171]. Выработка ИЛ-1 кератиноцитами усиливается в кожных ранах, при действии ультрафиолета и др., дисбаланс продукции ТФР- β выявлен при нарушении процессов репаративной регенерации тканей [95, 144]. Недавно проведёнными исследованиями показано, что *P. asnes* у мышей, макрофаги, которых дефектны по экспрессии TLR 1 и TLR 6 – рецепторов, но не TLR 2, индуцируют синтез клетками ИЛ-12 и ИЛ-8. При этом моноклональные антитела к TLR 2 ингибируют высвобождение этих воспалительных цитокинов, которые, наряду с многообразием выполняемых функций, ответственны за привлечение в кожу циркулирующих Т-лимфоцитов, предшественников клеток Лангерганса и последующую миграцию этих клеток [90, 141, 149]. Активированные клетки Лангерганса покидают кожу и мигрируют в региональный лимфатический узел. В процессе миграции они созревают до активных антигенпредставляющих клеток, презентующих антигенный пептид Т-хелперам. По-видимому, при первичном поступлении антигенов через повреждённую кожу ее реакция ограничивается воспалением и формированием в лимфатическом узле Т-клеток памяти, которые поступают в общий пул рециркуляции. Лимфоциты, рециркулирующие через кожу, постоянно взаимодействуют с эпидермальными клетками, которые экспрессируют HLA-D/DR – антигены, взаимодействующие с CD25 – рецепторами Т-лимфоцитов, а также молекулы межклеточной адгезии (ICAM-1), секреция которых стимулируется рядом цитокинов. Наиболее важным лигандом ICAM является LFA-1 семейства β_2 – интегринов [90, 93, 97, 101, 203]. Поскольку адгезины играют важную роль в презентации антигена, локомоции лейкоцитов, реакциях киллинга,

опосредованного лимфоцитами/макрофагами, нейтрофилами, а также в апоптозе лимфоцитов и фагоцитов, то снижение или повышение их экспрессии играет важную роль в иммунном гомеостазе. Так у людей с дефицитом адгезии лейкоцитов отмечается повышенная склонность к гнойно-деструктивным поражениям мягких тканей, замедление процессов заживления ран, прогрессирование местной и системной инфекции, несмотря на антибактериальную терапию [5, 14, 39]. В то же время, при ряде острых инфекционно-воспалительных процессов кожи (абсцессы и др.) отмечается гиперадгезивность нейтрофильных гранулоцитов, сопровождающаяся повышенной продукцией лизосомальных гидролаз и повреждением эндотелия сосудов [12, 14, 26, 80].

Как известно, нейтрофилы играют ведущую роль в индукции воспаления [38, 39, 53, 54]. Они постоянно мигрируют из кровотока в ткани и выполняют свои защитные функции, продвигаясь вплоть до эпителиального слоя. Массивная нейтрофильная инфильтрация составляет важнейший элемент острой воспалительной реакции – одного из антигеннеспецифических механизмов защиты барьерных тканей и, в то же время, одного из проявлений их патологии. Установлено, что высокая степень активности острых гнойно-воспалительных процессов в коже, флегмон, лимфаденитов коррелирует с повышением количества нейтрофилов в раневых экссудатах и смывах из очага воспаления [83, 84, 87, 91, 101]. Нарушения функций нейтрофилов могут проявляться не только изменением их количества, но и рецепторных структур, метаболических процессов и др. [33, 39, 93, 95, 97, 100, 101, 210, 211]. Нейтрофилы, как фагоцитирующие клетки, способны обеспечить обширный спектр ответов на активирующие стимулы. Фагоцитируемое вещество, за счет связи с рецептором нейтрофила, приводит к гиперполяризации мембраны и выбросу метаболитов кислорода, что повреждает ткани при развитии воспаления. Одновременно происходит высвобождение продуктов метаболизма арахидоновой кислоты (простагландинов, лейкотриенов, тромбоксанов), протеолитических

ферментов (протеаз, миелопероксидазы, кислых гидролаз), цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-3, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α), лизоцима, лактоферрина и др. [15, 26, 53, 54, 60, 181, 185, 186, 200]. Продукты стимулированных нейтрофилов влияют на активность макрофагов, лимфоцитов, тромбоцитов; вызывают дегрануляцию тучных клеток; активируют системы комплемента, свертывания крови, фибринолиза, индуцируют приток новых нейтрофилов. Показано, что усиленная миграция нейтрофилов в очаг воспаления при акне и продукция ими литических энзимов, цитокинов и др. медиаторов способствует более выраженному повреждению эпителия фолликула, что сопровождается нарушением его проницаемости, проникновением содержимого фолликула в дерму и усилением локального воспалительного процесса.

Многочисленными работами по изучению функциональной активности нейтрофилов при инфекционных процессах в коже установлено преимущественное ослабление их функций. Так, у пациентов с локальными формами пиогенной инфекции показано снижение фагоцитарной и бактерицидной активности нейтрофилов. Ослабление функциональной активности отмечалось как признак «утомления» фагоцитов после их гиперстимуляции, а также в результате антифагоцитарной направленности действия микробных продуктов в очаге воспаления («тактика микробов против стратегии фагоцитов») [42, 53, 54, 60, 61, 66, 101]. В тоже время, В.П. Федотовым (2005) при угревой болезни отмечено увеличение числа активных фагоцитов с ростом фагоцитарного индекса.

Однако следует отметить, что исследования по изучению функций фагоцитов очага повреждения при ряде инфекционно-воспалительных заболеваний кожи, в том числе при акне, несмотря на их многочисленность, достаточно противоречивы и требуют дальнейшего уточнения.

Как известно, наряду с нейтрофилами, ведущую роль в развитии местной воспалительной реакции играют макрофаги, взаимодействие которых с нейтрофильными гранулоцитами определяет смену клеточной популяции и их функциональную преемственность в очаге воспаления. При

тканевой деструкции в результате активации макрофагов и действия продуцируемых ими медиаторов воспаления и ферментов, происходит очищение патологической поверхности от гнойно-некротических масс с последующей регенерацией, восстановлением ткани и образованием рубца [16, 39, 90, 91, 93, 97, 100, 202, 213]. Биопсии воспалительных элементов в динамике течения угревой болезни показывают, что макрофаги вовлекаются в локальный воспалительный процесс на более поздней стадии развития акне.

Снижение количества и активности макрофагов способствует бактериальной колонизации органов и тканей, стабилизирует воспалительный процесс [53, 54, 80, 92, 213]. Наглядным тому подтверждением являются данные о том, что уменьшение или полное отсутствие макрофагов в ране и нарушение их функциональной активности тормозит образование грануляционной ткани и процесс рубцевания. В то же время на фоне иммунокоррекции при инфекционно-воспалительных заболеваниях кожи по мере купирования воспаления наблюдается повышение количества макрофагов в цитограммах биопсийного материала [5, 12, 14, 80].

В последние годы установлено, что важным показателем функционирования врождённого иммунитета является продукция оксида азота, оказывающего мультимодальное действие на различные клетки-мишени и регуляторные молекулы [19, 20, 51].

Оксид азота (NO) продуцируется в ответ на стимуляцию эндотелия провоспалительными цитокинами, фактором, активирующим тромбоциты и брадикинином. Показано, что индуцибельная NO-синтаза (iNOS) ассоциирована в основном с макрофагами и участвует в работе иммунной системы, накапливаясь в этих клетках после активации их ИФН- γ , ИЛ-1 β , ФНО- α , липополисахаридами и другими агентами. Уровень синтеза оксида азота в макрофагах коррелирует с усилением продукции кислородных радикалов, повышением экспрессии МНС II класса на мембране и усилением

микробицидности [39, 51, 55, 61, 186]. При этом ИЛ-10 и ТФР β , целый ряд цитокинов, таких как ИЛ-4, ИЛ-8, ИЛ-13, факторы роста фибробластов обладают супрессирующим эффектом в отношении индуцибельной NOS, что является одной из причин снижения продукции NO фагоцитами при хронических инфекционно-воспалительных процессах в коже. Несмотря на то, что накоплен большой экспериментальный материал, касающийся роли оксида азота при многих физиологических процессов, а также воспалении и регенерации тканей [19, 20, 51, 39, 61, 147, 167], при угревой болезни особенности его продукции практически не изучены.

Как уже отмечалось, в настоящее время ведущая роль в инициации и регуляции воспалительного процесса в дерме при *acne vulgaris* отводится цитокинам, которые продуцируются и секретируются практически всеми типами клеток: лимфоцитами, моноцитами/макрофагами, нейтрофилами, фибробластами, клетками эндотелия, тучными и др. [30, 33, 37, 38, 85, 95]. Эти же и другие клетки несут на мембранах рецепторы для цитокинов, чем определяется их чувствительность к ним. Исследованиями, проведенными *in vitro*, показана цитокинпродуцирующая активность себоцитов. Антигенная стимуляция является пусковым фактором к активации многих продуцентов цитокинов, участвующих в регуляции воспаления и иммунного ответа. Цитокины, как короткоживущие продукты короткодистантного действия, в норме практически не поступают в кровоток и могут обнаруживаться в сыворотке только в очень низких концентрациях (50-100 пкг/мл). Определение уровня цитокинов в некоторых биологических жидкостях у здоровых лиц не выявило повышения локальной продукции ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α по сравнению с сывороткой [33, 38, 49, 77, 85, 93, 95].

Клеточные взаимодействия при воспалении координируют так называемые «воспалительные цитокины», которые регулируют миграцию клеток в очаг воспаления, их активацию и превращение в клетки-эффекторы. Острая воспалительная реакция инициируется вследствие активации тканевых макрофагов и секреции воспалительных цитокинов, в частности

ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α , среди которых ИЛ-1 является главным медиатором развития местной воспалительной реакции [12, 76, 95, 140, 159, 171]. Описан определенный фенотип системы ИЛ-1 в нормальной коже. Иммуноокрашивание срезов кожи показало наличие ИЛ-1 α и β , антагониста рецептора ИЛ-1 и рецептор ИЛ-1 типа II в базальных кератиноцитах здоровой кожи. Повышенная продукция ИЛ-1 описана при бактериальных инфекциях, кожи и слизистых. Гиперпродукция «воспалительных» цитокинов ИЛ-1 и ФНО- α наблюдается при хронических инфекционно-воспалительных процессах в коже, которые «застревают» в фазе воспаления. Многие провоспалительные эффекты ИЛ-1 осуществляет в синергизме с ФНО- α и ИЛ-6, в том числе обеспечение антигеннеспецифической противоинфекционной защите. Вместе с тем способность ФНО- α стимулировать рост фибробластов и индуцировать ангиогенез делает возможным его участие в процессах репарации тканей. Кроме того, на пролиферацию фибробластов влияют и трансформирующие факторы роста (ТФР) α и β , которые способствуют образованию грануляционной ткани и регенерации эпителия. Под влиянием цитокинов регулируется не только рост фибробластов, но и клеток эндотелия, эпидермальных клеток, регенерация нервных окончаний [5, 14, 16, 25, 38, 80, 95].

В последние десятилетия активно изучается роль ИЛ-8 в патогенезе локальных и системных инфекционно-воспалительных процессов, в том числе при угревой болезни. Являясь селективным хемоаттрактантом для нейтрофилов, ИЛ-8 опосредует нейтрофильную инфильтрацию тканей, сопутствующую бактериальным инфекциям, травмам, ишемии и др. [12, 25, 38, 44, 76].

Течение и интенсивность воспалительного ответа контролируют «противовоспалительные» цитокины. В частности, ТФР- β , ИЛ-4, ИЛ-10 участвуют в его ограничении путем подавления секреции воспалительных цитокинов, регулируя таким образом степень повреждения тканей. Показано, что продукция ИЛ-10 в коже повышается при аппликации

контактных аллергенов, в то время как толерогены или раздражающие вещества неэффективны [12, 33, 34, 38, 59, 84, 85, 135].

Дисбаланс в выработке цитокинов может нарушить существующие в локальной системе взаимосвязи, что в конечном итоге ведет к патологии регенерации (длительно незаживающие раны, грубое рубцевание, развитие тяжелых экссудативных реакций и т.д.). Показано, что неблагоприятный исход инфекционно-воспалительных процессов коррелирует с повышенным уровнем провоспалительных цитокинов в сыворотке, главным образом ИЛ-8, ФНО- α , ИЛ-1 β [38, 76, 80, 95, 113].

В работах ряда авторов показано, что патологические процессы кожи сочетаются с нарушениями в системном иммунитете, которые часто носят вторичный характер, т.е. служат проявлениями дефектов продукции, активности или рецепции регуляторных цитокинов [12, 34, 45, 46, 59, 95]. Однако состояние системного и локального иммунитета при угревой болезни до настоящего времени вызывает дискуссии: по данным одних авторов у больных *acne vulgaris* выявляются нарушения в Т-системе иммунитета (снижение числа CD3, CD4 и CD8 лимфоцитов), функциональной активности нейтрофилов и продукции иммуноглобулинов, по результатам других исследований наиболее выраженные изменения касаются системного цитокинового статуса или Т-клеточного звена иммунитета.

В связи с этим, дальнейшие исследования в направлении изучения факторов локального и системного иммунитета при угревой болезни позволят открыть новые маркеры иммунной дисфункции и разработать подходы к иммунотерапии, адекватной выявленным нарушениям.

1.2. Современные методы лечения угревой болезни.

В последние годы значительно расширились представления об этиопатогенезе акне. В отечественной и зарубежной литературе появилось много публикаций о клинических и патогенетических аспектах заболевания, преимуществах и принципах различных методов лечения – как традиционных, уже успевших себя зарекомендовать, так и новых, недавно применяемых в медицинской практике [3, 6, 9, 27, 47, 56, 73, 74, 94, 108, 111, 122, 130, 157, 160]. При этом тактика лечения акне определяется клинической формой заболевания, степенью тяжести, преобладанием воспалительных или невоспалительных элементов и их распространенностью, с учетом сопутствующей патологии, возраста, пола и др. патогенетически значимых факторов, обуславливающих комплексный подход к терапии заболевания.

Ведущие аспекты патогенеза акне определяют современные направления лечения заболевания: уменьшение обсеменённости кожи *P. acnes* и другими микроорганизмами, использование препаратов, оказывающих себостатическое действие и нормализующих процессы кератинизации, применение антиандрогенных и противовоспалительных средств, а также дополнительных методов и способов лечения, направленных на предупреждение и коррекцию поствоспалительных косметических дефектов и психосоциальный статус пациента [3, 6, 27, 31, 46, 56, 63, 94, 120].

Применяемые сегодня противоугревые средства представлены как системными, так и местными препаратами, действующими преимущественно на какой-либо один фактор патогенеза акне [1, 2, 3, 27, 46, 120, 122, 212].

Кроме того, важными задачами лечения является дермато-косметологическая санация кожи при угревой болезни, которая предполагает использование целого комплекса мероприятий по предотвращению образования комедонов (уход за «проблемной» кожей) и их удалению (акне-туалет, комедоэкстракция и др.) [10, 18, 31, 82].

Как известно, антибиотики подавляют рост и метаболизм колонизирующих фолликулы и сальные железы пропионибактерий акне, снижая их протеолитическую и липолитическую активность, обеспечивая неспецифический противовоспалительный эффект [1, 2, 3, 6, 9, 52, 114, 120]. Так, экспериментально показано, что антибактериальные препараты подавляют рост *P. acnes* на 90%, а количество свободных жирных кислот на 50%. Эритромицин, тетрациклин, клиндамицин и моноциклин оказывают ингибирующее действие на хемотаксис и макрофагальную активность нейтрофилов [2, 6, 190, 207, 208]. *In vitro* и *in vivo* показано модулирующее действие тетрациклина на выработку ИЛ-1, участвующего в процессах инициации воспаления. Макролиды являются препаратами выбора при лечении акне. *In vitro* *P. acnes* высокочувствительны к цефалоспорином, однако их способность пенетрировать в фолликулы изучена недостаточно. Однако, несмотря на эффективность системной антибактериальной терапии, для достижения стойкой ремиссии при акне необходимо применение длительных (до 3-6 мес.) и нередко повторных курсов антибиотикотерапии, что сопряжено с возможностью развития желудочно-кишечных расстройств, дисбактериоза, аллергических реакций и др. негативных эффектов. Кроме того, в настоящее время значительно увеличилось число препаратов, к которым формируется резистентность *P. acnes*, что, в свою очередь, является причиной низкой эффективности терапии [6, 52, 63, 188, 192, 214, 215].

По данным ряда авторов эффективность антибактериальных препаратов при наружном применении ниже, чем при системном, и связана преимущественно с их противовоспалительными свойствами, а не противомикробным действием [1, 2, 3, 6, 73]. Как правило, подавление активности *P. acnes* проявляется не ранее, чем через три месяца от начала лечения. Препаратами выбора при местном применении являются эритромицин (3-5%) в сочетании с ацетатом цинка (зинерит), с третиноином (клинесфар), с 5% бензоилпероксидом (бензамицин). При этом показано, что препараты бензоила пероксида обладают наряду с антимикробной и

противовоспалительной активностью, камедонолитическим действием. В настоящее время на отечественном фармацевтическом рынке зарегистрирован новый препарат бензоила пероксида – базирон АС гель, преимуществом которого является входящий в его состав 5% акриловый полимер, способствующий хорошей переносимости геля и снижению риска развития раздражения кожи. Показано, что к препаратам группы бензоила пероксида практически не развивается резистентность, что позволяет его использовать длительными курсами. Однако, формирование контактной аллергии и повышенной чувствительности к УФ-излучению, может ограничивать его использование [6, 10, 50, 52, 63, 94, 123, 129, 151, 205, 207, 216].

Выраженное комедонолитическое и антибактериальное действие оказывает азелаиновая кислота (скинорен). Противовоспалительные свойства азелаиновой кислоты связаны с ингибирующим действием на нейтрофилы. Подавляя биосинтез клеточных белков, азелаиновая кислота дает умеренный цитостатический эффект, проявляющийся нормализацией процессов кератинизации как на поверхности кожи, так и в волосяном фолликуле. Показано, что использование геля скинорен как в виде монотерапии, так и в составе лечебного комплекса у больных акне способствовало достижению хорошего клинического эффекта более чем у 85% пациентов. Однако, клинические наблюдения свидетельствуют о том, что для разрешения высыпаний и реабилитации кожных покровов, целесообразно использовать препарат в течение 8-16 недель [6, 10, 13, 52, 151].

Работами I. Patchett [2006] изучена возможность применения и эффективность 2% раствора фузидиновой кислоты для лечения акне. Несмотря на то, что в клинической практике выявлено эффективное противовоспалительное действие крема Фуцидин, препарат не оказывал антимикробного действия [1, 3, 63, 94, 129].

Нормализация процессов кератинизации в устье фолликула является одним из наиболее важных направлений в лечении акне. Показано, что

устранение ретенционного гиперкератоза восстанавливает нормальный отток кожного сала и создает неблагоприятные условия для размножения *P. acnes*, в связи с чем препараты, нормализующие процессы кератинизации, оказывают не только комедонолитическое действие, но и прямое бактериостатическое, предотвращают появление комедонов и воспалительных акне-элементов [1, 2, 3, 6, 10, 52, 63, 94, 151, 158].

Установлено, что из данной группы препаратов наиболее эффективными являются ретиноиды и альфа-гидроксильные кислоты (гликолевая кислота) [2, 7, 10, 193, 215, 223].

Альфа-гидроксильные кислоты способны контролировать процесс кератинизации эпидермиса, ослабляя сцепление между корнеоцитами посредством воздействия на активность ферментов, участвующих в формировании ионных связей. Известно, что гликолевая кислота напрямую угнетает активность ферментов, отвечающих за сульфатирование и фосфорилирование мукополисахаридов, гликопротеинов, стерина и фосфолипидов, что приводит к уменьшению количества сульфатных групп на поверхности клеток. Работами Rawlings A. V. с соавт. (1996) показано, что противовоспалительное действие данных препаратов обусловлено их ингибирующим влиянием на продукцию супероксидного анион радикала и регуляцией функциональной активности Т- и В- лимфоцитов. Высокие концентрации не нейтрализованных альфа-гидроксильных кислот используются для проведения поверхностного дерматологического химического пилинга, что сопровождается усилением десквамации, повышению митотической активности базальных кератиноцитов, ускорением обновления эпидермиса, повышением синтеза коллагена I типа и гликозамингликанов фибробластами. При этом, несмотря на то, что указанные препараты эффективны при коррекции поствоспалительных изменений кожи, недостатками данной терапии являются незначительный эффект при воспалительных проявлениях акне, возможность обострения процесса и гиперпигментация, а также то, что их нельзя сочетать с

системной и местной терапией ретиноидами из-за высокой вероятности сильного повреждения кожи и повышения чувствительности к УФ-облучению [1, 2, 3, 6, 10, 52, 63, 193, 215, 223].

Как уже отмечалось, к группе эффективных патогенетических средств терапии акне относят ретиноиды. Согласно алгоритму акне-терапии, топические ретиноиды используют в качестве монотерапии при угревой болезни I степени или при комплексном лечении акне любой степени тяжести [3, 52, 47, 50, 52, 73, 74, 75, 94, 222].

Отечественными исследователями разработан и внедрен ряд наружных ретиноидов местного действия, среди которых наиболее широко используются ретиноевая мазь (0,05-0,1%) [1, 2, 6, 10, 52, 73]. Высокую оценку эффективности и безопасности получили препараты последних (третьего и четвертого) поколений: тазаротен, адапален (дифферин) [10, 73, 74, 75, 193, 206, 208].

Несмотря на то, что действие ретиноидов с биохимической точки зрения при поражениях кожи достаточно хорошо охарактеризовано, с открытием ядерных рецепторов к ретиноевой кислоте (1987 г.) началась эра изучения молекулярных механизмов действия ретиноидов. Ядерные рецепторы к ретиноевой кислоте (RAR_S) по механизму действия сходны с рецепторами к стероидам, витамину D и тироксину. Выделяют три подтипа RAR_S (α -, β - и γ - RAR) и неизвестные (x) RXR_S (α -, β - и γ). После взаимодействия комплекс рецептор-ретиноид связывается с определенной нуклеотидной последовательностью ДНК, результатом чего является повышение синтеза белка-регулятора транскрипции гена, отвечающего за пролиферацию и дифференцировку кератиноцитов или сальных желез. На основании клинико-экспериментальных исследований установлено, что нормализация процессов кератинизации и усиление десквамации кератиноцитов в сально-волосных фолликулах происходит за счет связывания ретиноидов с γ - RAR , а негативные эффекты обусловлены α - RAR взаимодействием. В себоцитах преобладают α - RXR_S . В отечественной и

зарубежной литературе достаточно широко освещены механизмы противовоспалительного действия топического ретиноида – дифферина, включающие ингибирование миграции нейтрофилов в очаге воспаления и блокирование AP1 зоны (РНК, promoter zone) в клетках, что приводит к снижению выброса воспалительных цитокинов [73, 74, 75, 163, 170, 173, 193]. Инактивация фермента циклооксигеназы ведет к уменьшению образования ЛТВ4 – главного посредника во взаимодействии нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов и эозинофилов в воспалительной реакции. В 2002 году был впервые представлен новый противовоспалительный механизм действия адапалена при акне через взаимодействие с TLR2-рецепторами [73, 94, 122, 193, 197]. В экспериментах на культуре моноцитов человека показано, что внесение адапалена *in vitro* ингибирует экспрессию TLR2 (без влияния на TLR4) и последующий выброс воспалительных цитокинов. При этом было установлено дозозависимое влияние препарата на подавление воспалительной реакции. В литературе последних лет имеются данные об эффективности использования дифферина при лечении больных акне легкой и средней степени тяжести, приводящей к улучшению состояния кожи и качества жизни после 3-х месячного курса терапии. При наличии воспалительных элементов авторы рекомендуют сочетанное применение дифферина с местными или системными антибиотиками. Однако, несмотря на подтвержденное в экспериментах на животных отсутствие тератогенного эффекта, дифферин не рекомендуют использовать во время беременности и лактации [75, 94].

Препаратом, оказывающим выраженное действие на все ключевые звенья патогенеза акне и используемым при тяжелых формах акне, считается системный ретиноид - производное изотретиноина (роаккутан). Противовоспалительное действие роаккутана обусловлено регулирующим влиянием на процессы хемотаксиса и фагоцитоза. В тоже время применение изотретиноина ограничено опасностью его тератогенного воздействия, а также такими побочными эффектами как хейлит, сухость кожных покровов,

артралгии и миалгии, повышение СОЭ и липидные нарушения, а также депрессивные состояния и др. [6, 52, 63, 94, 194].

Гормональная антиугревая терапия с применением антиандрогенных препаратов используется в основном у женщин с гиперандрогенными формами акне. Так, пероральные контрацептивы снижают уровень андрогенов за счет стимуляции синтеза глобулина, связывающего свободный тестостерон, и подавления секреции гонадотропина. Работами ряда авторов показана эффективность применения в комплексном лечении угревой болезни у женщин широкого спектра антиандрогенных препаратов: спиронолактона, ципротерона ацетата (андрокур), финастерида и др., которые облегчают течение акне, себореи и гирсутизма. Вместе с тем, на фоне антиандрогенной терапии возможно нарушение менструальной функции и развитие гиперкалиемии, повышение риска возникновения опухолей молочной железы. Предполагаемые системные побочные эффекты препаратов данной группы ограничивают или исключают их использование у мужчин [1, 2, 7, 21, 58, 70, 81, 94, 108, 157, 197, 207].

Предлагались и другие препараты, снижающие андрогенную стимуляцию сальных желез и фолликулярных кератиноцитов. Так, кетоконазол в дозе более 200 мг/сут. и циметидин (H_2 -антагонист) действует антиандрогенно, угнетая активность ферментов гидроксилирования стероидных предшественников андрогенов. Однако, несмотря на признанные эффекты этих препаратов, широкого применения в терапии акне они не нашли [1, 2, 3, 10, 94].

Ряд авторов приводят данные о клинической эффективности использования при акне нестероидных противовоспалительных препаратов [2, 10, 63]. Кроме того, при тяжелых формах акне, таких как *acne fulminans*, показана целесообразность применения системных глюкокортикостероидов, подавляющих чрезмерный иммунный ответ на *P. acnes*, а также купирующих клинические проявления патологического процесса при развитии узловатой эритемы или васкулита [10, 22, 52].

Одним из вариантов местного противовоспалительного лечения угревой сыпи является гель «Куриозин», содержащий гиалуроновую кислоту и цинк. Действие «Куриозина» реализуется путем блокирования бактериальной липазы и воздействия на 5- α -редуктазу, в связи с чем препарат можно использовать в виде профилактического средства после исчезновения клинических проявлений акне. Кроме того, цинк, входящий в состав «Куриозина», ускоряет деление клеток кожи, оказывает противомикробное и противовоспалительное действие, нормализует процесс ороговения и салообразования [7, 23, 46, 47, 82].

С целью повышения эффективности терапии угревой болезни и профилактики рубцовых изменений А.С. Дворниковым и Л.С. Кругловой (2008) предложено использование препарата лонгидаза, который получен путем конъюгации гидролитического фермента гиалуронидаза с иммуномодулятором Полиоксидоний [89]. В ходе курса лечения лонгидазой в виде внутримышечных инъекций и лекарственного фонофореза удается подавить продуктивную фазу воспаления, вызвать обратное развитие спаечных, рубцовых и фиброзных процессов, а также повысить биодоступность других лекарственных средств, используемых в комплексной терапии [5, 89].

В литературе приводятся данные об эффективности применения в комплексной терапии угревой болезни эфирных масел. Целесообразность назначения данных препаратов определялась не только их антисептическим и бактерицидным действием, обусловленным фитонцидами, но и возможностью оптимизировать выработку интерферона и заживление, улучшить обменные процессы в коже. [2, 31, 46, 47].

К методам неспецифического лечения можно отнести мазей и гелей с алоэ-вера, хитозаном и др. При этом не было установлено существенного влияния данных препаратов на течение акне [3, 6, 10, 62, 63].

Учитывая высокую частоту дисбиотических и функциональных нарушений кишечника при угревой болезни, показана эффективность

системного и местного использования в комплексном лечении акне препаратов эубиотиков (бифидумбактерин, лактобактерин, ацилакт и др.), способных восстанавливать микробиоценоз кожи и кишечника, повышать резистентность к инфекционным агентам [2, 3].

Имеются данные о целесообразности местного использования при акне препаратов бактериофагов, приводящих к улучшению биоценоза кожи [1, 31].

Котова Н.В. приводит данные об эффективности использования при угревой болезни лейкинферона, применение которого приводит к сокращению сроков лечения и рецидивов заболевания [45].

На основании экспериментальных исследований зарубежными авторами предложены новые подходы к лечению инфекционно-воспалительных процессов кожи, предполагающие использовать синтезированные кателицидин-подобные антимикробные пептиды [103, 126, 127, 132, 150, 172, 183, 201].

В настоящее время в дерматологической практике накоплен определенный опыт применения при угревой болезни УФО-терапии, которая оказывает противовоспалительное, эксфолиативное действие и регулирует иммунные процессы в коже. Однако, несмотря на то, что данный вид терапии приводит к улучшению состояния у значительного числа пациентов, положительный эффект УФО-терапии носит временный характер, а у части больных может ухудшать течение заболевания [1, 2, 3, 10, 52].

С целью лечения поствоспалительных косметических недостатков (дисхромий, рубцов) наиболее часто используют химические пилинги, поверхностную микрокристаллическую дермабразию, шлифовку кожи эрбиевым и CO_2 - лазером. Вместе с тем, несмотря на эффективность данных методик, их применение возможно только при условии полного купирования воспалительного процесса на коже [6, 43, 63, 82].

Показана эффективность применения в комплексе лечебных мероприятий при угревой болезни методов аппаратной косметологии, в том

числе фотопневмотерапии, которая обладает противовоспалительным и себостатическим действием, снижает застойную гиперемию после акне, приводит к улучшению микробиоценоза кожи [6, 7, 10, 18, 94]. Однако необходимость использования дорогостоящей аппаратуры, специального обучения персонала ограничивают применение этих методов в клинической практике.

Как уже отмечалось, современная дермато-косметология характеризуется появлением целого ряда перспективных направлений в лечении угревой болезни и коррекции постакне. Одним из таких методов является мезотерапия, представляющая собой технику интрадермального введения микродоз лекарственных препаратов в зону патологического очага или в непосредственной близости от него [62, 64, 65, 72, 78, 148]. По мнению ряда авторов, эффективность мезотерапии определяется не только непосредственным воздействием на соединительнотканые компоненты дермы, но и особенностями фармакокинетики препаратов (биораспределение, метаболизм, экскреция, период полувыведения), которые существенно отличаются при других путях введения. Предполагается, что при локальном введении в кожу на глубину 0,5-2 мм препараты попадают в так называемый «резервуар дермы» (интерстициальное пространство), где благодаря ее высокой влагоемкости, депонируются. Как считают авторы, при таком пути введения лекарств, они поступают в орган-мишень быстрее, чем при внутримышечном или внутривенном введении, а их концентрация в патологическом очаге становится максимальной, что позволяет использовать лекарственные средства в низких дозах и через более продолжительные интервалы времени («мало, редко, в нужное место»), чем при других способах введения, а также снизить вероятность ятрогенных эффектов. Показано также, что биотрансформация и выведение препаратов при мезотерапевтическом пути введения протекает медленнее, чем при внутривенном или внутримышечном.

В настоящее время предложены и используются различные варианты мезотерапии: мануальная (классическая техникой «наппаж», папул; сухая, влажная и др.) и аппаратная [62, 64, 72].

Механизмы действия мезотерапевтического лечения обусловлены, в первую очередь, тем, что множественные микроинъекции стимулируют активацию клеток Лангерганса, тучных и др. клеток кожи, что приводит к выбросу цитокинов, энзимов, лизису коллагеновых волокон и усилению репаративных процессов. Кроме того, мезотерапия может оказывать общерегулирующее воздействие на организм через рефлексогенные зоны и биологически активные точки [62, 64, 65, 72, 78, 148].

Показана эффективность применения при угревой болезни мезотерапии антибактериальными препаратами, иммунофаном, антистафилококковым иммуноглобулином, рибомунилом. Использование мезотерапевтического подхода к лечению угревой болезни позволяет улучшить состояние кожи и ее микробиоценоз, по сравнению с традиционным лечением [62, 64, 65, 72, 148].

Таким образом, большие возможности в лечении *acne vulgaris* открывает использование в программах комплексного лечения мезотерапии препаратами, обладающими иммунорегуляторной и антибактериальной активностью.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Клиническая характеристика больных.

Под нашим наблюдением находились 176 пациентов с различными формами акне (134 женщины и 42 мужчины) в возрасте от 18 до 36 лет, обращавшихся в ОГУЗ «Орловская областная поликлиника № 2» в период с 2004 по 2009 гг. Среди обследуемых у 43 (24,4%) больных была комедональная форма угревой болезни, у 16 (9,1%) – нодулокистозная, у 117 (66,5%) регистрировалась папулопустулёзная форма акне.

В проводимое исследование были включено 112 пациентов с папулопустулёзной формой угревой болезни, которые по способу лечения были распределены на 3 группы: I – контрольную группу составили 52 больных, получавших традиционное лечение; во II группу (основную) вошли 30 пациентов, которым в на фоне традиционного лечения проводилась локальная иммунокоррекция препаратом миелопид путём мезотерапии; в III группу (группу сравнения) были включены 30 больных, которые получали мезолечение препаратом гентамицин.

Больные всех групп были сопоставимы по полу, возрасту и характеру патологического процесса в коже, распределение в них было случайным.

Критериями исключения пациентов из проводимого исследования служили: возраст до 18 лет, сопутствующие соматические заболевания в стадии обострения или декомпенсации, беременность и лактация, острые инфекционные и воспалительные заболевания, склонность к патологическому рубцеванию, индивидуальная непереносимость или аллергическая реакция больного на препараты, используемые для мезотерапии, отказ больного от проводимого исследования.

Программа диссертационного исследования утверждена на заседании Этического комитета медицинского института ГОУ ВПО «Орловский государственный университет (протокол №3 от 13 апреля 2005 г.) в соответствии с требованиями Основ законодательства РФ «Об охране

здоровья граждан». Отчёт по проделанной работе заслушан на заседании Этического комитета (протокол №4 от 21 мая 2009 года).

Традиционное лечение проводилось всем пациентам с акне в зависимости от степени тяжести заболевания и включало использование топических и (или) системных антибактериальных средств, препаратов с противовоспалительным действием и средств, нормализующих процессы кератинизации [36]. Системные антибактериальные лекарственные средства (как правило, доксицилин) назначались при множественных (более 20) диссеминированных папулопустулёзных акне-элементах в течение 10-14 дней. Для наружной терапии использовали 15% гель скинорен (SCHERING S.p.A) с комбинированным кератолитическим, антибактериальным и противовоспалительным действием 2 раза в день, в течение 1-3 мес.. В качестве топического антибактериального средства дополнительно использовали лосьон «Зинерит» (эритромицин/цинка ацетат; Yamanouchi, Нидерланды) 2 раза в сутки 3-5 недель.

Больным основной группы и группы сравнения на фоне традиционного лечения выполнялась мезотерапия техникой «папул» [62, 63, 72], которую осуществляли с интервалом в 3 дня (2 раза в неделю). Полный курс лечения составлял 10 процедур. Мезотерапия проводилась в соответствии с требованиями на применение медицинской технологии «Мезотерапия в дерматокосметологии».

Эффективность лечения оценивали в баллах по разработанной нами на основе с классификаций С.Н. Соок et al. (1979) в модификации В.S. Allen, J.G. Smith (1982) и (1997) балльной шкале (табл. 1, 7). Тяжесть состояния и клиническая картина заболевания в каждом конкретном случае характеризовалась суммой баллов по отдельным клинико-лабораторным показателям.

На каждого пациента заполнялась разработанная нами унифицированная карта клинико-иммунологического обследования, которая позволяла учитывать данные анамнеза, объективных и дополнительных

методов исследования в динамике лечения и отдаленном периоде наблюдения (10-12 месяцев).

Для анализа качества жизни пациентов с акне нами был использован русифицированный вариант анкеты Finlay [4] для расчета дерматологического индекса качества жизни (ДИКЖ), включающей 10 основных показателей, оцениваемых по 4-балльной системе (3, 2, 1, 0 баллов). Цифровой индекс, получаемый в результате ответов на все вопросы анкеты (табл. 2), отражал степень негативного влияния симптомов болезни на качество жизни больного (максимальный индекс равен 30 баллам).

Шкала балльной оценки тяжести течения угревой болезни.

Критерий	0 баллов	1 баллов	2 балла	3 балла	4 балла
Характер высыпаний	Единичные папулы; Пустул, узлов, кист – нет (невоспалительные формы)	Множественные папулы на 1/4 лица единичные пустулы, узлов, кист – нет, (воспалительные формы)	Множественные папулы на 1/2 лица единичные пустулы, узлов, кист – нет (воспалительные формы)	Папулы, множественные пустулы, Элементы больших размеров, узловые формы (воспалительные формы)	Поражена вся поверхность лица Множественные пустулы, узлы, кистозные элементы
Распространенность	Ограниченная (чаще лицо)	1/4 лица	1/2 лица и <2 топографических участков	3/4 и/или 2 и более топографических участка.	Вся поверхность лица Множественные топографические участки, нетипичная локализация.
Общее недомогание	Нет			Незначительно выражено	Умеренно выражено.
Субфрибрилитет	Нет				37.0-37.2
Патология репродуктивной системы	Нет			В анамнезе	Есть
Патология ЖКТ	Нет				Есть
Отклонения в гормональном профиле.	Нет			В анамнезе	Есть
Осложнения	Нет				Есть
Наличие поствоспалительных элементов:					
атрофические пятнистые воспалительные рубцы	нет	Единичные (от 1 до 5)	6-10	11-25	>26
Сколотые рубцы	нет	1-5	6-10	11-25	>26
Фолликулярные атрофические пятнистые	нет	1-5	6-10	11-25	> 26

Для определения нормы качества жизни было проведено анкетирование 50 здоровых лиц, сопоставимых по возрасту с пациентами исследуемых групп.

**ДЕРМАТОЛОГИЧЕСКИЙ ИНДЕКС "КАЧЕСТВА ЖИЗНИ" - ДИКЖ
(DIQL)**

1	Насколько сильно Вас беспокоят зуд, боль, жжение, болезненность кожи в последнюю неделю?	Очень сильно	
		Сильно	
		Немного	
		Не беспокоят	
2	Насколько неуверенно Вы чувствовали себя из-за состояния своей кожи за последнюю неделю?	Очень сильно	
		Сильно	
		Немного	
		Комфортно	
3	Насколько сильно состояние Вашей кожи мешало Вам при совершении покупок, работе по дому и хозяйству?	Очень сильно	
		Сильно	
		Немного	
		Не мешало	
		Затрудняюсь ответить	
4	Насколько сильно состояние Вашей кожи влияло на выбор носимой Вами одежды за последнюю неделю?	Очень сильно	
		Сильно	
		Немного	
		Не влияло	
		Затрудняюсь ответить	
5	Насколько сильно состояние Вашей кожи помешало Вашим контактам с окружающими, активному отдыху в компании вместе с друзьями за последнюю неделю?	Очень сильно	
		Сильно	
		Немного	
		Совсем не помешало	
		Затрудняюсь ответить	
6	Насколько сильно состояние вашей кожи помешало Вам в занятиях физкультурой или спортом?	Очень сильно	
		Сильно	
		Немного	
		Совсем не помешало	
		Затрудняюсь ответить	
7	Помешало ли Вам состояние Вашей кожи в работе или учебе за последнюю неделю? Если «нет», то насколько сильно состояние кожи мешало Вам в работе или учебе?	Да	
		Нет	
		Затрудняюсь ответить	
		Сильно	

		Немного	
		Не мешало	
8	Насколько часто состояние Вашей кожи мешало общению с друзьями, близкими, родственниками, партнером?	Очень часто	
		Часто	
		Редко	
		Совсем не мешало	
		Затрудняюсь ответить	
9	Насколько сильно состояние Вашей кожи затрудняло Вам интимные отношения, выбор полового партнера?	Очень сильно	
		Сильно	
		Немного	
		Совсем не затрудняло	
		Затрудняюсь ответить	
10	Насколько сильно лечение Вашего кожного заболевания изменило порядок Вашей жизни (например, Вы потеряли много времени, денег, уделяли меньше внимания работе, семье)?	Очень сильно	
		Сильно	
		Немного	
		Не изменило	
		Затрудняюсь ответить	

Инструкция для использования ДИКЖ и подсчета баллов

Очень сильно (очень часто)	3 балла
Сильно (часто)	2 балла
Несильно (немного)	1 балл
Совсем нет (не мешало, не затрудняло)	0 баллов
Затрудняюсь ответить	0 баллов
Нет ответа на вопрос	0 баллов
Вопрос 7: "мешает в работе или учебе"	3 балла

Тест Спилбергера-Ханина

	Нет, это не так	Пожалуй, это так	Верно	Совершенно верно
1. Я спокоен	1	2	3	4
2. Мне ничто не угрожает	1	2	3	4
3. Я нахожусь в напряжении	1	2	3	4
4. Я испытываю сожаление	1	2	3	4
5. Я чувствую себя свободно	1	2	3	4
6. Я расстроен	1	2	3	4
7. Меня волнуют возможные неудачи	1	2	3	4
8. Я чувствую себя отдохнувшим	1	2	3	4
9. Я встревожен	1	2	3	4
10. Я испытываю чувство внутреннего удовлетворения	1	2	3	4
11. Я уверен в себе	1	2	3	4
12. Я нервничаю	1	2	3	4
13. Я не нахожу себе места	1	2	3	4
14. Я взвинчен	1	2	3	4
15. Я не чувствую скованности, напряжения	1	2	3	4
16. Я доволен	1	2	3	4
17. Я озабочен	1	2	3	4
18. Я слишком возбужден	1	2	3	4
19. Мне радостно	1	2	3	4
20. Мне приятно	1	2	3	4

	Почти никогда	Иногда	Часто	Почти всегда
21. Я испытываю удовольствие	1	2	3	4
22. Я обычно быстро устаю	1	2	3	4
23. Я легко могу заплакать	1	2	3	4
24. Я хотел бы быть таким же счастливым, как и другие	1	2	3	4
25. Нередко я проигрываю из-за того, что недостаточно быстро принимаю решения	1	2	3	4
26. Обычно я чувствую себя бодрым	1	2	3	4
27. Я спокоен, хладнокровен и собран	1	2	3	4
28. Ожидаемые трудности обычно очень тревожат меня	1	2	3	4
29. Я слишком переживаю из-за пустяков	1	2	3	4
30. Я вполне счастлив	1	2	3	4
31. Я принимаю все слишком близко к сердцу	1	2	3	4
32. Мне не хватает уверенности в себе	1	2	3	4

33. Обычно я чувствую себя в безопасности	1	2	3	4
34. Я стараюсь избегать критических ситуаций и трудностей	1	2	3	4
35. У меня бывает хандра	1	2	3	4
36. Я доволен	1	2	3	4
37. Всякие пустяки отвлекают и волнуют меня		2	3	4
38. Я так сильно переживаю свои разочарования, что потом долго не могу о них забыть	1	2	3	4
39. Я уравновешенный человек	1	2	3	4
40. Меня охватывает сильное беспокойство, когда я думаю о своих делах и заботах	1	2	3	4

Оценка уровней реактивной и личностной тревожности пациентов в процессе лечения проводилась посредством тестирования по Спилбергеру-Ханину с помощью специальной анкеты, включающей 40 вопросов, ответы на которые больной самостоятельно вносил в «бланк ответов» (табл. 3-4).

Таблица 4.

Бланк ответов к тесту Спилбергера-Ханина

Инструкция: Отметьте номер Вашего ответа напротив номера соответствующего вопроса.

Номер вопроса	Номер ответа				Номер вопроса	Номер ответа			
	1	2	3	4		1	2	3	4
1.	1	2	3	4	21.	1	2	3	4
2.	1	2	3	4	22.	1	2	3	4
3.	1	2	3	4	23.	1	2	3	4
4.	1	2	3	4	24.	1	2	3	4
5.	1	2	3	4	25.	1	2	3	4
6.	1	2	3	4	26.	1	2	3	4
7.	1	2	3	4	27.	1	2	3	4
8.	1	2	3	4	28.	1	2	3	4
9.	1	2	3	4	29.	1	2	3	4
10.	1	2	3	4	30.	1	2	3	4
11.	1	2	3	4	31.	1	2	3	4
12.	1	2	3	4	32.	1	2	3	4
13.	1	2	3	4	33.	1	2	3	4
14.	1	2	3	4	34.	1	2	3	4
15.	1	2	3	4	35.	1	2	3	4
16.	1	2	3	4	36.	1	2	3	4
17.	1	2	3	4	37.	1	2	3	4
18.	1	2	3	4	38.	1	2	3	4
19.	1	2	3	4	39.	1	2	3	4
20.	1	2	3	4	40.	1	2	3	4

2.2. Методы лабораторного обследования больных.

Иммунологические исследования проводили на кафедре иммунологии и специализированных клинических дисциплин медицинского института ГОУ ВПО «Орловский государственный университет».

Мононуклеары периферической крови (МНК) выделяли с использованием метода дифференциального центрифугирования в градиенте плотности фиколл-верографин [86, 88].

С целью оценки показателей системного иммунитета больных осуществлялся забор периферической крови до лечения и после лечения, при этом изучали фенотип лимфоцитов, уровень иммуноглобулинов А, М, G, антимикробных пептидов и цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-1Ra, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ФНО- α , ТФР- β_1 в сыворотке крови, цитокинсинтезирующую активность МНФ.

Для определения в смывах с поверхности кожи концентрации антимикробных пептидов и оксида азота использовали фрагменты фильтровальной бумаги размером 2 см², предварительно смоченные физиологическим раствором, которые прикладывали на кожу с экспозицией на 15-20 секунд. После аппликации пропитанную фильтровальную бумагу помещали в эпендорф с 0,2 мл 0,9% раствора натрия хлорида на 1 час с последующим ее удалением.

Исследование супернатантов клеток и смывов с поверхности кожи (КС) на наличие антимикробных пептидов (кателицидина LL-37 и лактоферрина) проводилось методом твёрдофазного ИФА с помощью набора реагентов Hbt (Нидерланды), ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). Продукцию миелопероксидазы определяли по методике Азнабаевой Л.Ф. с соавт. (Патент №2180114, 2002г.) с расчетом показателя пероксидазной активности исследуемой биологической жидкости (ПОА).

Концентрацию метаболитов оксида азота в биологических жидкостях определяли спектрофотометрически при длине волны 540 нм с помощью

реактива Грисса. Результат рассчитывали по кривой с использованием стандартных растворов нитрита натрия [19, 20].

Для определения способности клеток к продукции цитокинов МНК в концентрации 2 млн./мл инкубировали в течение 1,5 часов в сывороточной среде RPMI-1640 с препаратами миелопид (600, 750 мкг/мл) или суперлимф (5, 10 мкг/мл) в стандартных условиях. В качестве индуктора синтеза цитокинов использовали ФГА (фитогемагглютинин, «Difco», США) в концентрации 10 мкг/мл. По окончании инкубации клетки в планшетах трижды отмывали от препарата средой 199, ресуспендировали в полной среде RPMI-1640 в объеме 100 мкл и культивировали при 37°C в течение 18 часов. Для исследования брали супернатанты МНК, полученные путем десятиминутного центрифугирования культуральной смеси при 1500 об./мин.

Оценку уровня гепсидина в сыворотке крови проводили методом ИФА с использованием тест-систем IBL (Германия).

Фенотип клеток определяли непрямым иммунопероксидазным методом с использованием моноклональных антител (ТОО «Сорбент», г. Москва) к структурам CD4, CD8, CD19, CD71, CD25, HLA-DR. Исследования проводили в строгом соответствии прилагаемым инструкциям и рекомендациям. Концентрацию иммуноглобулинов А, М, G оценивали методом радиальной иммунодиффузии с помощью стандартных планшетов «Реафарм» (Москва).

Для определения иммунологических показателей, принимаемых за физиологическую норму, были обследованы 20 здоровых лиц (средний возраст $25,1 \pm 0,5$ лет) для выявления у них фоновых показателей иммунного статуса и их сравнения с данными иммунограмм у больных с папулопустулёзной формой акне.

Бактериологические исследования выполнены на кафедре микробиологии и инфекционных болезней медицинского института ОГУ и в бактериологической лаборатории ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в

Орловской области» в соответствии с методическими рекомендациями МЗ СССР (1985 г.).

2.3. Методы экспериментальных исследований.

Экспериментальные исследования выполнены на кафедре иммунологии и специализированных клинических дисциплин Медицинского института Орловского государственного университета.

Мононуклеары периферической крови (МНК) выделяли с использованием метода дифференциального центрифугирования в градиенте плотности фиколл-верографин [86]. Разделение суммарной фракции мононуклеаров на моноциты и лимфоциты осуществляли посредством избирательной адгезии моноцитов к пластику [84, 88].

Все манипуляции с клетками и клеточными суспензиями проводили в стерильных условиях ламинарного бокса, используя стерильные лабораторные принадлежности и расходные материалы. В работе использовали среду RPMI-1640 («Финбио», Россия), содержащую 25 mM буфера HEPES и 200 mM L-глутамина, среду 199, Хенкса (Россия). Полная среда RPMI-1640 дополнительно содержала 0,05 mM бета-меркаптоэтанола (Fluka AG, Швейцария) и 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) (НИИГ и ПК, г. Минск, Беларусь). Сыворотку перед использованием инактивировали, прогревая при +56°C на водяной бане в течение 30 мин. В культуральные среды добавляли гентамицин (Феррейн, Россия) в конечной концентрации 40 мкг/мл. Культивирование клеток осуществляли при 37°C в атмосфере 5% CO₂.

Для определения способности клеток к продукции антимикробных пептидов взвесь мононуклеарных фагоцитов (МНФ) в концентрации 2 млн./мл инкубировали в течение 1,5 часов в сывороточной среде RPMI-1640 при 37°C с препаратом миелопид (НПЦ Медицинская иммунология, Россия) или суперлимф (суперлимф - комплекс гетерологичных цитокинов и антимикробных пептидов; «Иммунохелп», Россия) в атмосфере 5% CO₂. По окончании инкубации клетки в планшетах трижды отмывали средой 199,

ресуспендировали в полной среде RPMI-1640 в объеме 100 мкл и культивировали в стандартных условиях в течение 18 часов. Для исследования брали супернатанты клеток, полученные путем 10-минутного центрифугирования культуральной смеси при 1500 об./мин.

Для оценки продукции миелопероксидазы клетки (интактные или преинкубированные в течение 90 минут с препаратами суперлимф или миелопид) в концентрации 2 млн./мл помещали в лунки 96-луночного планшета в 0,2 мл среды Хенкса с добавлением 10% ЭТС. Инкубацию осуществляли в стандартных условиях в течение 30 минут. По окончании культивирования, планшеты центрифугировали в течение 5 минут при 2 000 об/мин, затем надосадочные фракции клеток переносили в аналогичный 96-луночный планшет для последующего определения в них активности миелопероксидазы, путем окисления субстратной смеси для пероксидазы, состоящей из раствора ортофенилендиамина в цитратно-фосфатном буфере в присутствии перекиси водорода. Реакцию оценивали по интенсивности окрашивания содержимого лунок и измеряли оптическую плотность на длине волны 410 нм, используя аппарат "StatFax" с расчетом показателя пероксидазной активности исследуемой биологической жидкости по методике Азнабаевой Л.Ф. с соавт. (2002 г.).

Для изучения продукции лактоферрина моноциты крови инкубировали в течение 90 мин. в сывороточной среде RPMI-1640 с препаратами миелопид (600, 750 мкг/мл) или суперлимф (5, 10 мкг/мл) в лунках 96-луночных планшетов при 37°C в атмосфере 5% CO₂. По окончании инкубации клетки в планшетах трижды отмывали от препарата средой 199, ресуспендировали в полной среде RPMI-1640 в объеме 100 мкл и культивировали в стандартных условиях в течение 60 минут. Для исследования брали супернатанты мононуклеарных фагоцитов крови, полученные путем десятиминутного центрифугирования культуральной смеси при 1500 об./ мин. Концентрацию лактоферрина в супернатантах клеток определяли спектрофотометрически на длине волны 450 нм, используя реагенты «Вектор-Бест» (Россия).

С целью определения способности клеток к продукции метаболитов оксида азота (нитратов и нитритов) мононуклеарные фагоциты крови в концентрации 2 млн./мл инкубировали в течение 1,5 часов в сывороточной среде RPMI-1640 с препаратом миелопид (600, 750 мкг/мл) или суперлимф (5, 10 мкг/мл) в лунках 96-луночных планшетов при 37°C в атмосфере 5% CO₂. По окончании инкубации клетки в планшетах трижды отмывали от препарата средой 199, ресуспендировали в полной среде RPMI-1640 в объеме 100 мкл и культивировали в стандартных условиях в течение 22 часов. Концентрацию метаболитов оксида азота определяли в супернатантах клеток спектрофотометрически при длине волны 540 нм с помощью реактива Грисса. Результат рассчитывали по кривой с использованием стандартных растворов нитрита натрия [19, 20].

Антимикробную активность препаратов определяли методом диффузии в агар по степени задержки роста микроорганизмов в зоне нанесения раствора препарата миелопид, суперлимф и физиологического раствора. В качестве тест - культур использовали штаммы микроорганизмов из коллекции ГИСК им. Л.А.Тарасевича, а также клинические изоляты бактерий (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*).

Учет результатов производили после 24 часов инкубации при 37°C по следующей схеме: 4 балла – полная задержка роста тест-культуры; 3 балла – рост единичных колоний; 2 балла – наличие в месте нанесения препарата 5-10 колоний; 1 балл – массивный рост (до 20 колоний); 0 баллов – сливной рост микроорганизмов [80].

2.4. Способ локальной иммунокоррекции препаратом Миелопид.

Локальная иммунокоррекция препаратом миелопид (композит свиных миелопептидов; НПЦ Медицинская иммунология, Россия) применена нами в комплексном лечении 30 пациентов с папулопустулёзной формой угревой болезни различной степени выраженности.

Локальная иммунокоррекция препаратом миелопид осуществлялась путем мезотерапии техникой «папул» [63, 72], которую осуществляли с интервалом в 3 дня (2 раза в неделю). Полный курс лечения составлял 10 процедур. Курс мезотерапии начинали через две недели от начала традиционного лечения.

Мезотерапевтические инъекции выполнялись в проекции проблемной зоны, под угревые высыпания на глубину 1,5-2,0 мм. Шприц и игла располагались под углом 30-45° к поверхности кожи (срез иглы направлением вверх) [62, 63, 72].

В качестве мезотерапевтического коктейля для процедуры локальной иммунокоррекции использовали 4 мл физиологического раствора, содержащего препарат миелопид (0,75 мг/мл). В состав композита для проведения процедуры мезотерапии у больных третьей группы был включен раствор гентамицина сульфата (ОАО «Мосхимфармпрепараты» им. Н.А. Семашко», Россия) в дозе 20 мг/мл. Добавление в раствор препаратов производилось непосредственно перед проведением процедуры.

Технология мезотерапии включала трех кратную обработку кожи 0,05% раствором хлоргексидина (до нанесения анестезирующего крема «Эмла» (АстраЗенека АБ, Швеция), после его удаления, по окончании мезотерапии), локальную анестезию 5% кремом «Эмла» (на 20-30 минут) и мезотерапию техникой «папул».

2.5 Методы статистической обработки.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программного комплекса Microsoft Excel XP на компьютере «Pentium IV». Исследование корреляционной взаимосвязи между показателями выполнялись по Пирсону [28,29].

ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕГО И АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТОВ МИЕЛОПИД И СУПЕРЛИМФ.

По современным представлениям инфекционно-воспалительные заболевания кожи сопровождаются дисфункцией врождённых и приобретенных компонентов иммунитета, которая ограничивает возможности иммунной системы в своевременном распознавании и уничтожении микробных возбудителей [2, 52, 59, 73, 75, 113].

Исследованию роли нарушений иммунитета у больных с *acne vulgaris* посвящены исследования ряда авторов [7, 59, 132, 133, 141, 173, 216, 222]. Вместе с тем закономерности дисрегуляции компонентов врождённого иммунитета в процессе формирования *acne vulgaris* остаются практически не изученными.

Среди молекулярных компонентов врожденного иммунитета важное место отводится оксиду азота [19, 39, 51, 55, 61, 166] и антимикробным пептидам (АМП), [39, 40, 107, 116, 134, 146, 152, 153, 186] оказывающим прямое противомикробное и иммунорегуляторное действие. Предположив, что нарушение их синтеза может быть одной из причин иммунной дисфункции при угревой болезни, были изучены особенности системной и локальной продукции NO и антимикробных пептидов, а также возможности ее регуляции *in vitro* препаратами иммунорегуляторных пептидов миелопид (композит гетерологичных миелопептидов) и суперлимф (комплекс цитокинов и антимикробных пептидов).

Усиленный интерес к изучению иммунорегуляторных пептидов объясняется их ведущей ролью в процессах становления и регуляции иммунитета, в патогенезе ряда заболеваний иммунной природы, все более широким применением их в клинике в качестве иммунокорректирующих препаратов [25, 38]. Кроме того, показана эффективность использования препарата суперлимф в качестве средства с иммунорегуляторной, антимикробной и противовирусной активностью при лечении инфекционно-

воспалительных процессов различной локализации [5, 12, 40, 49, 80].

В доступной литературе отсутствуют данные о влиянии препаратов миелопид и суперлимф на механизмы, определяющие развитие и течение угревой болезни, что обосновывает актуальность дальнейшего изучения их плейотропного действия на различные клетки-мишени.

3.1 Влияние препаратов миелопид и суперлимф на продукцию антимикробных пептидов мононуклеарными фагоцитами крови здоровых доноров и больных с акне.

Как известно, мононуклеарные фагоциты секретируют широкий спектр биологически активных веществ, осуществляющих в организме самые разнообразные, а иногда и разнонаправленные эффекты действия [16, 39, 90, 93, 97, 100, 202]. Среди продуктов активированных фагоцитов особое место занимают антимикробные пептиды, обеспечивающие «мгновенный иммунитет», и являющиеся, с одной стороны, естественными эндогенными антибиотиками, а с другой – сигнальными молекулами, вовлечёнными в процессы активации клеток иммунной системы и репарации тканей [39, 40, 107, 116].

Как известно, белок LL37 (hCAP18) на сегодняшний день является единственным идентифицированным человеческим кателицидином, проявляющим иммунорегуляторное действие и антимикробную активность против грам-отрицательных и грам-положительных бактерий, а также грибов и вирусов [39, 41, 42, 99, 102, 104, 105, 110]. Определение концентрации кателицидина LL37 в кожных смывах (рис. 1.) выявило ее повышение у больных с акне по сравнению со здоровыми лицами ($0,1 \pm 0,03$ мкг/мл), что может обеспечивать определенный уровень защиты от инфекционных агентов. Вместе с тем, была установлена широкая вариабельность значений LL37 в сыворотке крови больных: от «следовых» до 5-10 кратного повышения.

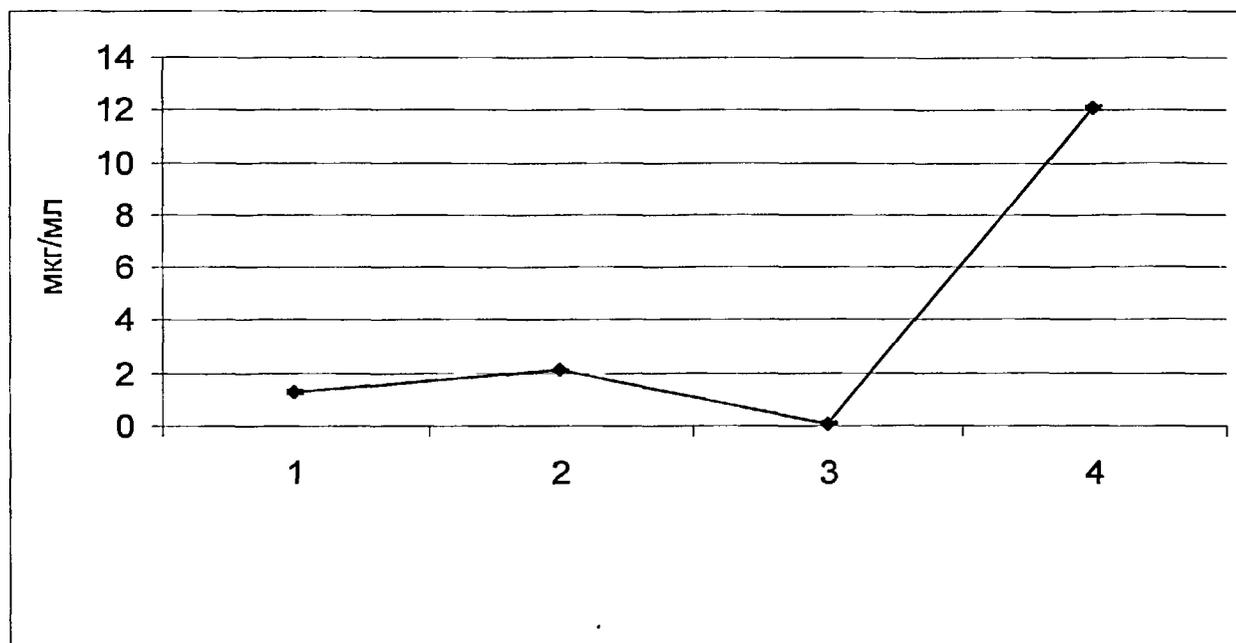


Рис. 1. Уровень LL37 в крови и кожных смывах (КС) здоровых лиц и больных угревой болезнью.

Примечание: здесь и на рис. 2.: 1 – показатели в сыворотке крови здоровых лиц; 2 – показатели в сыворотке крови больных; 3 - показатели КС здоровых лиц; 4 - показатели КС больных; $p < 0,01$ между показателями здоровых и больных.

При проведении клинико-иммунологических параллелей между изменением продукции кателицидина и тяжестью течения *acne vulgaris* было показано, что у 17% пациентов с хроническим рецидивирующим течением заболевания длительностью более 5 лет, белок LL37 в смывах регистрировался только в следовых количествах, что может иметь важное значение в формировании воспалительных форм акне и развитии инфекционных осложнений при данной патологии.

В последние годы в патогенезе инфекционно-воспалительных заболеваний различной локализации активно обсуждается роль гепсидина, который выполняя роль антимикробного пептида, подобно белкам острой фазы, синтезируется в печени, а также участвует в регуляции транспорта железа в различных компартментах организма, включая клетки эпителия,

макрофаги и др. [24, 106, 115, 124, 174]. В связи с этим представляло интерес оценить уровень гепсидина у больных с акне.

Установлено, что в кожных смывах у пациентов с *acne vulgaris* гепсидин не определялся, а повышение его концентрации в сыворотке крови (до $156,3 \pm 34,2$ нг/мл, по сравнению с показателями здоровых лиц - $87,4 \pm 16,8$ нг/мл) регистрировалось в 17,9% случаев, преимущественно у больных с сопутствующей патологией желудочно-кишечного тракта и нарушением менструальной функции.

Исследование в биологических жидкостях уровня железосвязывающего катионного пептида – лактоферрина (ЛФ), обладающего антибактериальной, противовирусной и антиоксидантной активностью, а также участвующего в регуляции роста и дифференцировки клеток фагоцитарного ряда [53, 54, 210, 211], выявило преимущественное повышение его концентрации у большинства больных в смывах кожи (до $25,5 \pm 6,2$ нг/мл), по сравнению с сывороткой крови. В смывах с кожи здоровых доноров концентрация ЛФ составляет в среднем 10,56 нг/мл (колеблется от 0 до 45 нг/мл). Уровень ЛФ в сыворотке крови здоровых лиц и больных составил $448 \pm 51,4$ нг/мл и $536 \pm 62,2$ нг/мл, соответственно.

Учитывая возможный синергический эффект действия лактоферрина и миелопероксидазы в фагосомной вакуоли в процессе фагоцитоза, либо внеклеточно в очаге воспаления [41, 42, 54, 147], представляло интерес оценить продукцию миелопероксидазы на местном и системном уровне. Анализ результатов показал (рис. 2.), что у пациентов с *acne vulgaris* уровень миелопероксидазы как в кожных смывах, так и в сыворотке крови, был значительно выше у больных, чем у здоровых лиц.

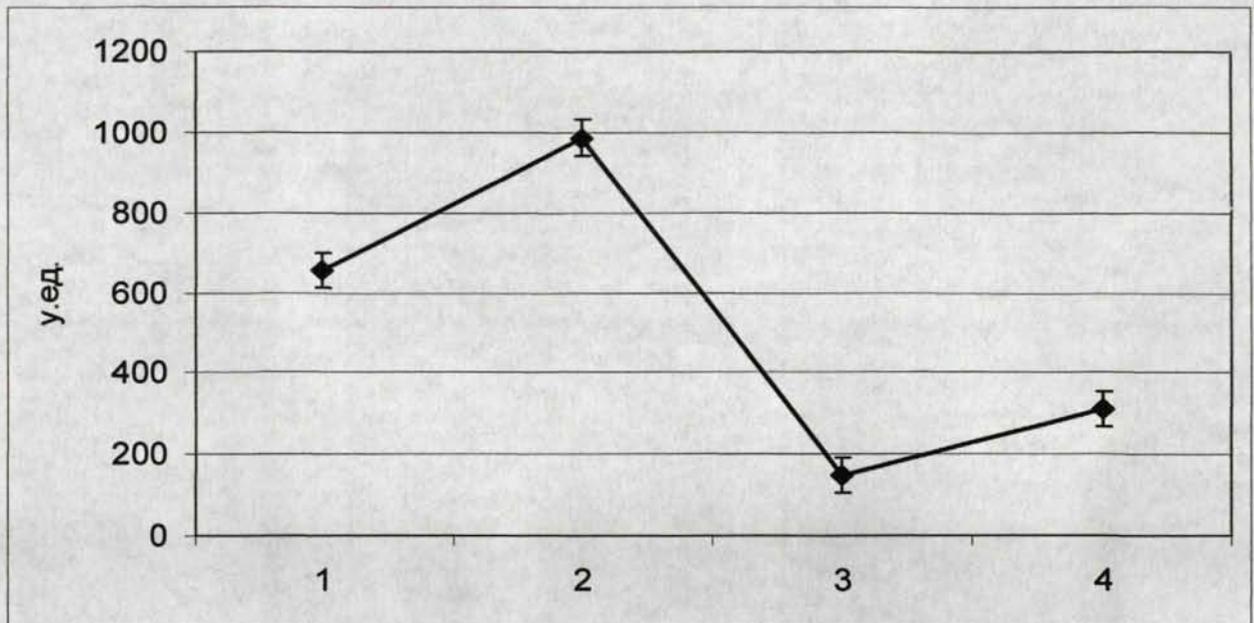


Рис. 2. Показатели ПОА крови и кожных смывах доноров и больных угревой болезнью.

Примечание: $p < 0,01$ между показателями здоровых и больных.

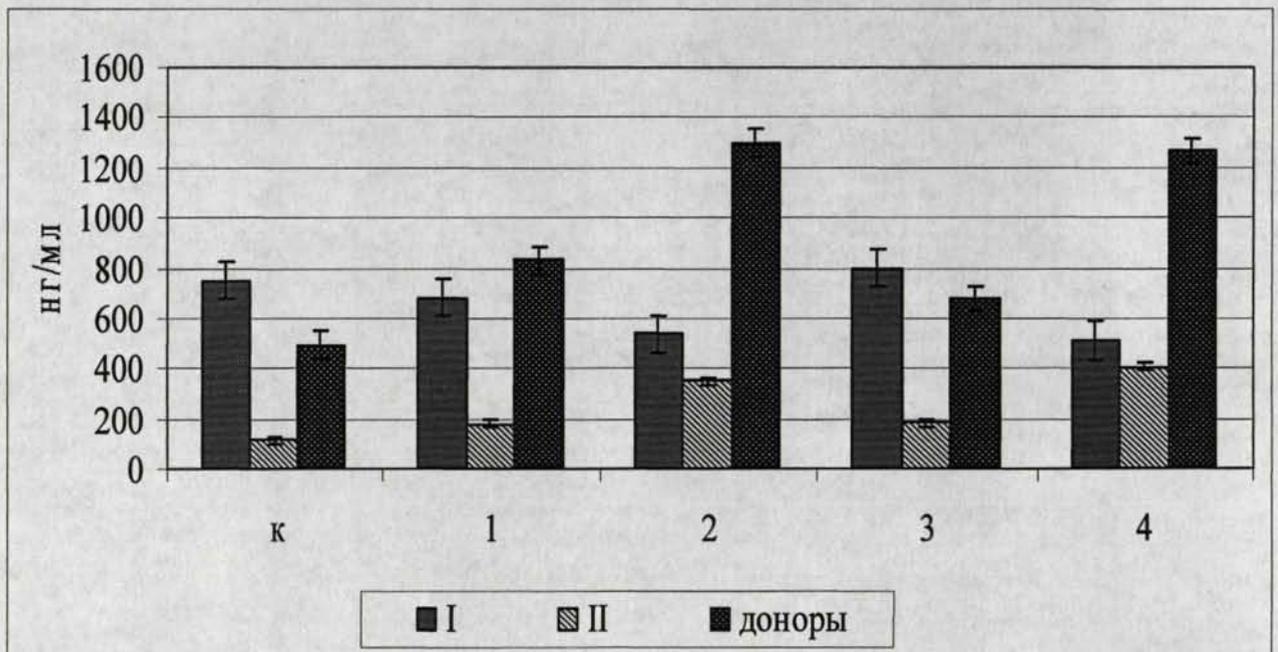


Рис. 3. Влияние препаратов суперлимф и миелопид на продукцию лактоферрина МНФ крови здоровых лиц и больных угревой болезнью.

Примечание: здесь и на рис 4-5, 7: К – контроль (внесены клетки, необработанные препаратом); 1 – суперлимф 5 мкг/мл; 2 – суперлимф 10 мкг/мл; 3 – миелопид 600 мкг/мл; 4 – миелопид 750 мкг/мл; для рис. 3-4: I –

больные с исходно высокими показателями; II – больные с исходно низкими показателями; $p < 0,01$ по сравнению с контролем.

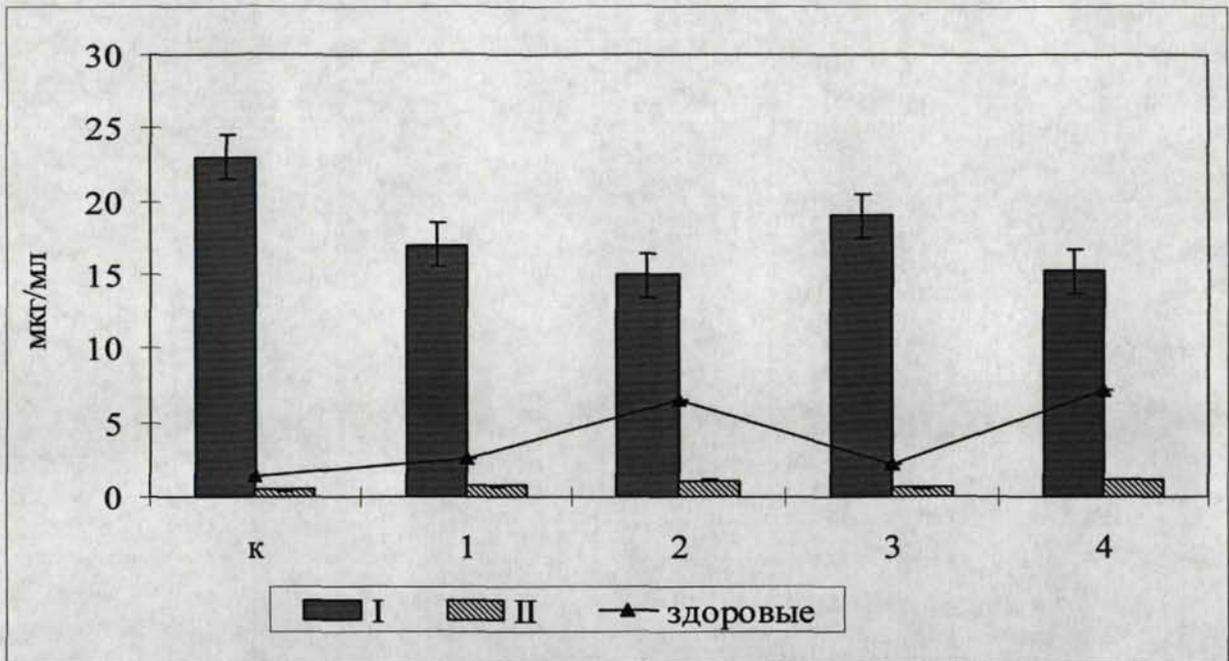


Рис. 4. Влияние препаратов суперлимф и миелопид на продукцию LL37 МНФ крови здоровых лиц и больных угревой болезнью.

Примечание: $p < 0,01$ по сравнению с контролем.

Исследование концентраций изучаемых антимикробных пептидов в супернатантах МНФ больных, по сравнению со здоровыми лицами, выявило снижение продукции кателицидина LL37, лактоферрина и миелопероксидазы у 52%, 47% и 35% пациентов, соответственно (рис. 3-5). При этом «нулевые» значения уровня LL37 выявлялись в 12,5% случаев, снижение концентрации LL37 и лактоферрина было отмечено у 13,4% пациентов, LL37, лактоферрина и миелопероксидазы регистрировались в 9,8% образцов.

Сравнительный анализ содержания катионных АМП в биологических жидкостях показал, что изменения их концентрация в сыворотке крови и кожных смывах имели однонаправленный характер с преобладанием уровня LL37 в образцах с кожи, что, по-видимому связано с тем, что продуцентами кателицидина могут быть не только фагоциты, но и кератиноциты, эпителиальные клетки и др., активация которых наблюдается при

воспалительных процессах кожи. Кроме того, выявляемый у большинства больных более низкий уровень АМП в супернатантах культур клеток, может свидетельствовать о снижении резервных возможностей фагоцитарных продуцентов антимикробных пептидов, в первую очередь LL37.

При сравнительном изучении уровня катионных антимикробных пептидов в супернатантах клеток после их инкубации с препаратами, было установлено иммуномодулирующее действие миелопида и суперлимфа на мононуклеарные фагоциты крови: повышение исходно сниженной продукции и снижение - исходно повышенной, что может иметь важное значение для купирования локального инфекционно-воспалительного процесса при акне.

Как видно из рис. 5, при внесении изучаемых препаратов в культуру клеток больных наблюдалось снижение исходно повышенных (более чем у 50% пациентов) показателей продукции миелопероксидазы.

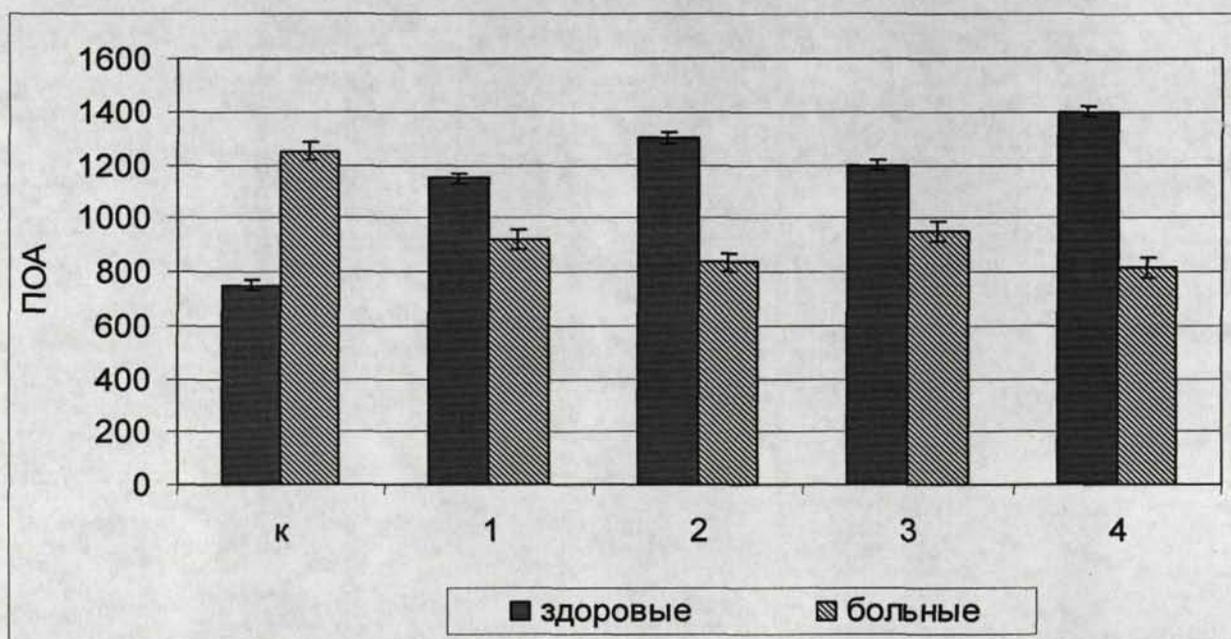


Рис. 5. Влияние препаратов суперлимф и миелопид на продукцию миелопероксидазы МНФ крови доноров и больных угревой болезнью.

Примечание: $p < 0,01$ по сравнению с контролем.

Внесение препаратов в культуру МНФ крови здоровых лиц (рис. 3-5) сопровождалось усилением продукции изучаемых катионных пептидов,

наиболее значимым для кателицидина LL37 (повышение продукции в 5-10 раз по сравнению с контролем). Полученные *in vitro* данные указывают на возможность направленного изменения синтеза эндогенных противомикробных пептидов под действием миелопида и суперлимфа. Эффект препаратов в обоих случаях был более выражен при использовании миелопида в дозе 750 мкг/мл, суперлимфа 10 мкг/мл.

3.2 Влияние препаратов миелопид и суперлимф на продукцию метаболитов оксида азота мононуклеарными фагоцитами крови здоровых доноров и больных с акне.

В последние годы установлено, что наряду с АМГ важным показателем функционирования врожденного иммунитета является продукция оксида азота, оказывающего мультимодальное действие на различные клетки-мишени и регуляторные молекулы [39, 51, 55, 61, 186]. Несмотря на то, что накоплен большой экспериментальный материал, касающийся роли оксида азота при многих физиологических процессах, а также воспалении и регенерации тканей [19, 20, 186], при угревой болезни особенности его продукции практически не изучены.

В связи с этим представляло интерес исследовать уровень метаболитов NO в сыворотке крови, смывах кожи, а также в культуре клеток здоровых доноров и больных акне.

С целью определения способности клеток к продукции метаболитов оксида азота (нитратов и нитритов) мононуклеарные фагоциты крови в концентрации 2 млн./мл инкубировали в течение 1,5 часов в сывороточной среде RPMI-1640 с препаратом миелопид (600, 750 мкг/мл) или суперлимф (5, 10 мкг/мл) в лунках 96-луночных планшетов при 37°C в атмосфере 5% CO₂. По окончании инкубации клетки в планшетах трижды отмывали от препарата средой 199, ресуспендировали в полной среде RPMI-1640 в объеме 100 мкл и культивировали в стандартных условиях в течение 22 часов. Концентрацию метаболитов оксида азота определяли в супернатантах клеток спектрофотометрически при длине волны 540 нм с помощью реактива

Грисса. Результат рассчитывали по кривой с использованием стандартных растворов нитрита натрия [19, 20].

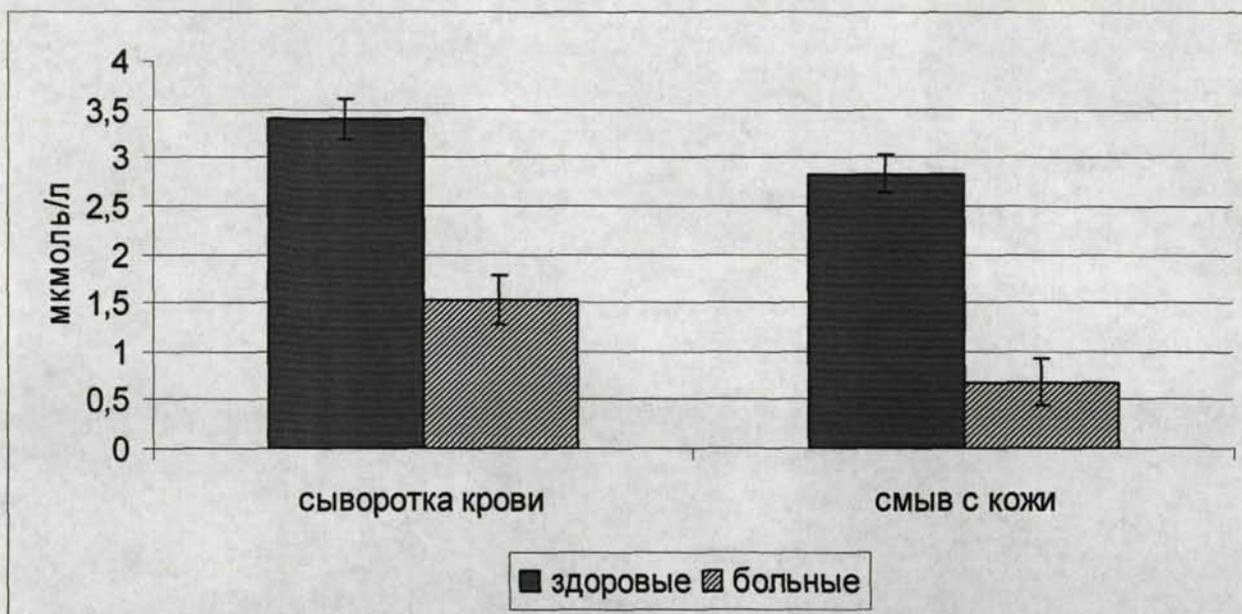


Рис. 6. Уровень NO в крови и кожных смывах здоровых лиц и больных угревой болезнью.

Примечание: $p < 0,01$ между показателями здоровых и больных.

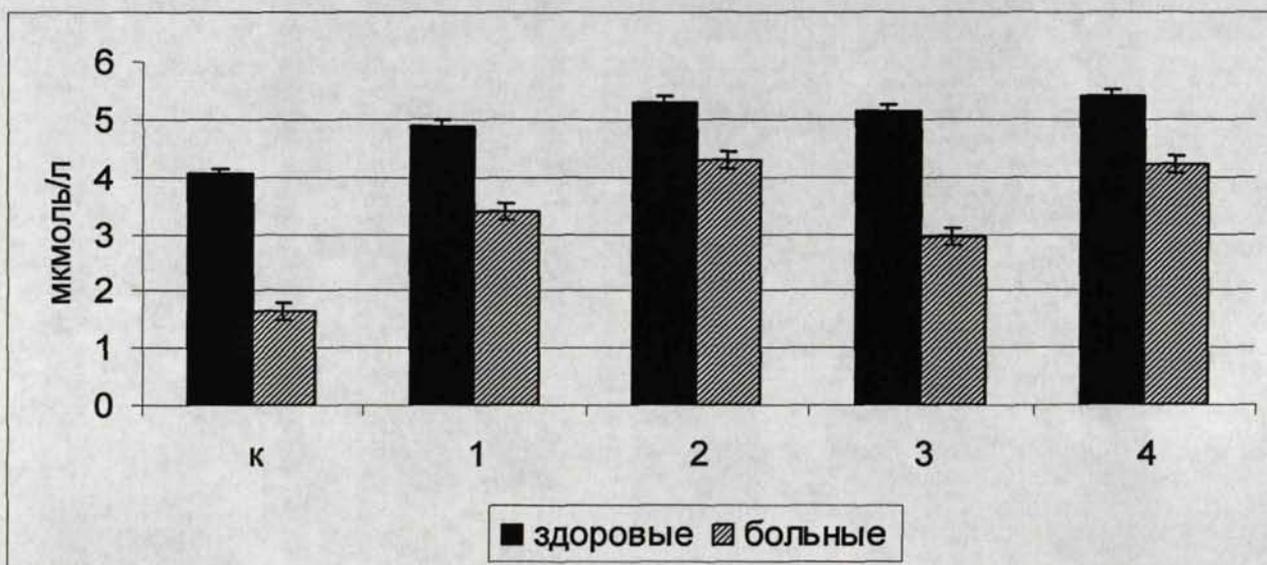


Рис. 7. Влияние препаратов суперлимф и миелопид на продукцию NO МНФ крови здоровых лиц и больных угревой болезнью.

Примечание: $p < 0,01$ по сравнению с контролем.

Анализ результатов показал, что уровень суммарной продукции нитритов и нитратов, как в КС, так и в сыворотке крови, был значительно ниже у больных, чем у здоровых лиц (рис. 6). Кроме того, отмечалось снижение, по сравнению со здоровыми донорами, показателей спонтанного синтеза метаболитов NO в культуральной жидкости МНФ крови больных (рис. 7), что, может быть обусловлено NO-зависимой аутокринной регуляцией макрофагов в агрессивной среде фокуса воспаления и повышенной «востребованностью» NO для полноценного завершения воспалительного процесса. При этом обработка клеток, как здоровых лиц, так и больных, исследуемыми препаратами приводила к дозозависимому повышению уровня продукции метаболитов NO в культуральной среде. Как видно из рис. 7, максимальный эффект проявлялся при использовании миелопида в дозе 750 мкг/мл и суперлимфа - 10 мкг/мл.

3.3 Изучение антимикробного действия препаратов миелопид и суперлимф.

Рост устойчивости микроорганизмов-возбудителей инфекционно-воспалительных заболеваний к применяемым в клинической практике антибиотикам – одна из важнейших проблем медицины [8, 138, 159, 178, 190, 215]. Изучение свойств препаратов природных антибиотических пептидов человека и животных и разработка на их основе новых подходов к лечению инфекций один из перспективных путей преодоления резистентности.

Как известно, препарат суперлимф, включающий комплекс гетерологичных свиных цитокинов и антимикробных пептидов, проявляет свойства антибиотика эндогенного происхождения в отношении музейных штаммов стафилококка и стрептококка, а также клинических изолятов данных бактерий [39, 40, 80]. В связи с этим представляло интерес изучить возможное противомикробное действие препарата свиных миелопептидов (миелопида).

Антимикробную активность препаратов определяли методом диффузии в агар по степени задержки роста микроорганизмов в зоне нанесения раствора препарата миелопид, суперлимф и физиологического раствора. В качестве тест - культур использовали штаммы микроорганизмов из коллекции ГИСК им. Л.А.Тарасевича, а также клинические изоляты бактерий (*S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *K. pneumoniae*).

Таблица 5.

Антибактериальная активность препарата суперлимф.

Доза препарата суперлимф	Степень задержки роста тест-культуры (в баллах)					
	<i>S.aureus</i>	<i>S.pyogenes</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E.coli</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>K.pneumoniae</i>
5 мкг/мл	3,54±0,28**	3,62±0,28**	0	0	0	0
10мкг/мл	3,62±0,28**	3,69±0,26**	0	0	0	0
Контроль	0	0	0	0	0	0

Примечание: здесь и в табл.6 - ** $p < 0,01$ по сравнению с контролем; контроль – внесен физиологический раствор; $n=35$.

Таблица 6.

Антибактериальная активность препарата миелопид.

Доза препарата миелопид	Степень задержки роста тест-культуры (в баллах)					
	<i>S.aureus</i>	<i>S.pyogenes</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E.coli</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>K. pneumoniae</i>
3000 мкг/мл	3,04±0,28**	3,11±0,26**	0,57±0,1	3,29±0,2**	2,8±0,2**	3,3±0,3**
1500мкг/мл	3,01±0,26**	3,02±0,28**	0	3,43±0,3**	2,75±0,1**	3,2±0,2**
750 мкг/мл	2,98±0,28**	3,01±0,26**	0	3,24±0,4**	2,7±0,2**	3,2±0,2**
Контроль	0	0	0	0	0	0

Проведённые эксперименты показали, что препарат миелопид активен в отношении всех исследуемых микроорганизмов, кроме *P. aeruginosa*. Как видно из представленных результатов (табл. 6), не было выявлено достоверных различий при использовании миелопида в дозах 750, 1500 и 3000 мкг/мл. При этом препарат суперлимф проявлял более выраженную антибактериальную активность в отношении штаммов стафилококка и

стрептококка (табл. 5-6). Данные литературы и наши наблюдения позволяют предположить, что прямое противомикробное действие миелопида опосредовано входящими в его состав гетерологичными антимикробными пептидами, что позволяет его рассматривать как эндогенный антибиотик животного происхождения и свидетельствует о перспективности клинического использования в качестве антибактериального средства.

Таким образом, проведённые исследования показали, что одним из факторов развития иммунной дисфункции у больных акне является нарушение продукции эндогенных антимикробных пептидов (кателицидина LL-37, лактоферрина, миелопероксидазы и гепсидина) и оксида азота, а полученные данные об иммуномодулирующем и антибактериальном действии изучаемых препаратов могут служить экспериментальным обоснованием их локального применения при угревой болезни.

ГЛАВА 4. КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЛОКАЛЬНОЙ ИММУНОКОРРЕКЦИИ ПРЕПАРАТОМ МИЕЛОПИД В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ УГРЕВОЙ БОЛЕЗНЬЮ.

На основании полученных результатов экспериментальных исследований, а также данных литературы об эффективности применения иммуномодуляторов в комплексном лечении угревой болезни [45, 48], нами изучена клиническая эффективность локальной иммунокоррекции у больных с папулопустулёзной формой *acne vulgaris*.

Локальная иммунокоррекция препаратом миелопид путём мезотерапии использована в комплексном лечении 30 пациенток (II - основная группа) среднего возраста $26,5 \pm 2,7$ лет (женщин – 26; мужчин - 4). В III группу (группу сравнения) были включены 30 больных (средний возраст $25,1 \pm 2,8$ лет; женщин – 24; мужчин - 6), которые получали мезолечение препаратом гентамицин. Контрольную (I группу) составили 52 больных (среднего возраста $25,5 \pm 1,9$ лет; женщин - 36; мужчин - 16), получавших традиционную терапию.

Из общего числа больных 29,5% страдали частыми ОРВИ (до 4-6 раз в год), 22,3% - хроническими заболеваниями мочевыделительной системы, у 42,9% пациентов имелись заболевания желудочно-кишечного тракта (гастрит, колит, дисбактериоз), у 14,3% - ЛОР - патология (гайморит, этмоидит, отит). Нарушения репродуктивной функции регистрировались у 38,4% женщин исследуемых групп: олигоменорея - у 10,7%, альгодисменорея – у 12,5%, вторичная аменорея – у 8,04%, первичное и вторичное бесплодие – у 4,5% и 2,7% пациенток, соответственно.

Клинические проявления акне характеризовались как папулопустулёзными, элементами, так и поствоспалительными косметическими дефектами (дисхромиями, псевдоатрофиями, рубцами). Поствоспалительные деструктивные изменения кожи были выявлены у 11,6% больных при продолжительности заболевания от 1 до 3 лет, и в 87,5% случаев - при

длительности течения акне более 5 лет. У большей части пациентов (78,6%) акне - элементы локализовались на лице, у 21,4% - на лице и туловище.

Качественный состав микрофлоры с поверхности кожи и акне – элементов отличался разнообразием выделенных штаммов: *S. epidermidis* выделен в 62,5 % случаев, *S. aureus* – в 46,4 %, *P. acnes* - в 57,1%, коринебактерии - в 9,8%, дрожжеподобные грибы - в 15,2%, ассоциации микроорганизмов идентифицированы в 87,5% случаев.

Тяжесть течения заболевания и эффективность лечения оценивали в 4-балльной системе по разработанным нами критериям до лечения, через две недели и после лечения. Совокупная оценка *acne vulgaris* в 5-17 баллов соответствовала лёгкому течению; в 18-35 – средней степени тяжести; в 36 и более баллов – тяжёлому течению. Течение заболевания средней степени тяжести отмечалось в 75,5% случаев, тяжёлое течение – в 24,5%.

Результаты лечения анализировали по следующим клиническим критериям: клиническое выздоровление — полный регресс элементов сыпи; значительное улучшение — разрешение высыпаний более чем на 75%; улучшение — регресс элементов менее чем на 50%; без эффекта — отсутствие положительной динамики кожного процесса к моменту окончания лечения.

Анализ результатов локального применения препарата миелопид путём мезотерапии в комплексном лечении *acne vulgaris* выявил его высокую клиническую эффективность по сравнению с традиционным лечением и мезотерапией препаратом гентамицин. Так, сравнительная балльная оценка клинических и лабораторных данных, проведенная до лечения, через две недели (после 4 процедур) и после лечения показала, что выраженность их в группе больных, получавших ЛИ, снизилась с $35,3 \pm 0,5$ до $4,2 \pm 0,5$ баллов, контрольной – с $34,4 \pm 0,5$ до $16,5 \pm 0,5$ баллов, в группе сравнения - с $34,8 \pm 0,3$ до $10,5 \pm 0,5$ баллов (рис. 8).

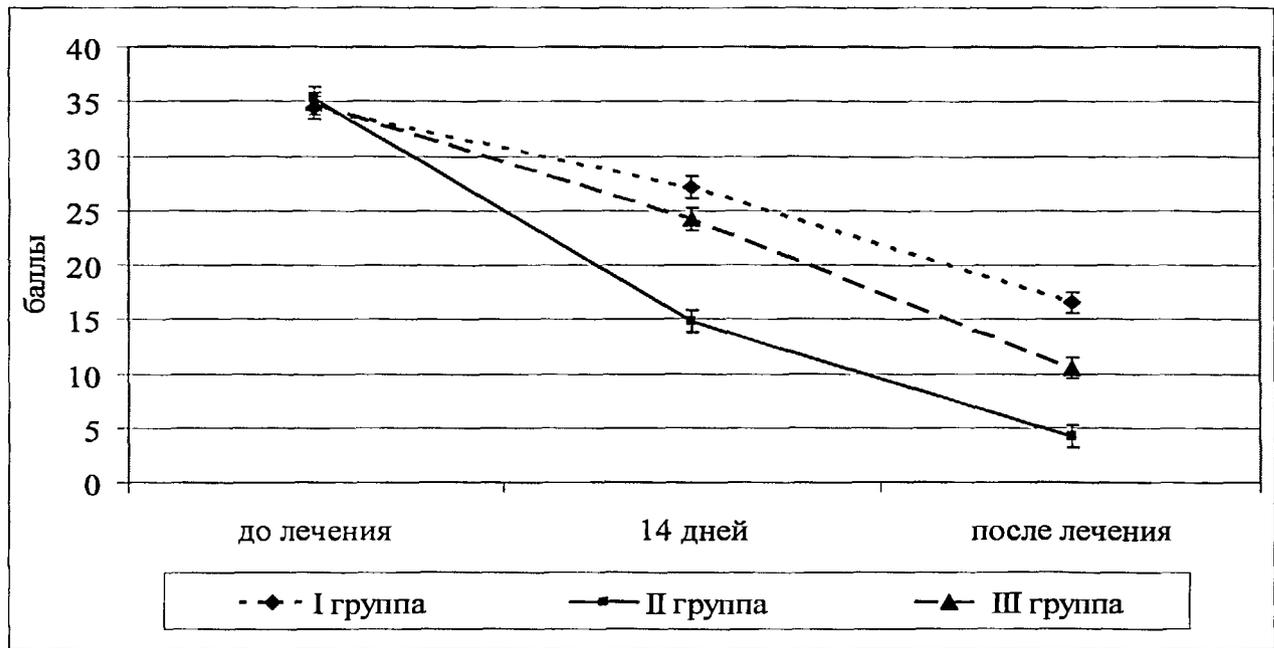


Рис. 8. Динамика оценки эффективности лечения пациенток основной, контрольной группы и группы сравнения.

Примечание: $p < 0,05$ между показателями больных исследуемых групп после лечения; $p < 0,01$ между показателями внутри групп до и после лечения.

Уже после 4 процедуры лечения отмечалась существенная разница в течение угревой болезни по динамике клинических симптомов. У больных, получавших мезотерапию с препаратом миелопид, выраженность процесса уменьшилась до $14,8 \pm 0,5$ баллов (рис. 8), в то время как у пациентов первой и третьей групп сумма баллов оставалась на достаточно высоком уровне ($27,1 \pm 0,7$ и $24,2 \pm 0,6$ балла, соответственно). Следует отметить, что включение в комплексное лечение локальной иммунокоррекции препаратом миелопид сопровождалось регрессом высыпаний, прекращением появления новых элементов и уменьшением воспалительного компонента к пятой процедуре у 77% больных. При этом у больных первой и третьей групп клинически значимое улучшение состояния кожи регистрировалось только через 3-4 недели лечения ($17,3 \pm 0,2$ и $14,2 \pm 0,1$ балла, соответственно).

К окончанию курса лечения клиническое выздоровление (полное разрешение акне – элементов) констатировано у 100% пациентов II группы и

только у 15,4 % и 36,7% I и III групп, соответственно. При этом значительное клиническое улучшение наблюдалось у большинства больных первой и третьей групп (51,9% и 56,7%, соответственно), а клиническое улучшение (регресс акне - элементов менее чем на 50%) - у 15 (28,9%) пациентов контрольной группы и у 2 (6,6%) больных группы сравнения. Отсутствие положительной динамики кожного процесса к моменту окончания лечения имело место лишь у 2 пациенток контрольной группы с гиперандрогенией. Ухудшения или обострения кожного процесса на фоне лечения у больных основной группы и группы сравнения выявлено не было. Однако у 9 (17,3%) пациентов на фоне традиционной терапии отмечалось обострение акне, которое потребовало коррекции лечения (назначение повторных курсов системных антибактериальных средств). Особо следует отметить улучшение состояния кожи после лечения у большинства пациентов второй и третьей групп (86,7% и 53,3%, соответственно), а также коррекцию поствоспалительных косметических дефектов (постакне). Так, проявления постакне (расширенные поры и капилляры, неравномерная пигментация кожи, ее дефекты с неровной текстурой и усиленным микрорельефом, рубцы) уменьшились, соответственно у 66,7% и 30% больных, получавших мезотерапию.

Кроме того, следует отметить, что у 30,8% пациентов первой группы и у 23,3% - третьей группы отмечено появление рецидивов заболевания в срок от 6 до 12 месяцев наблюдения.

При этом использование ЛИ путем мезотерапии позволило в 33,3% случаев избежать назначения антибиотиков, а также исключить число больных, получавших повторные курсы антибиотикотерапии, что согласуется с полученными данными об антибактериальной активности препарата миелопид.

Кроме того, после лечения в основной группе с поверхности кожи высевался только эпидермальный стафилококк (в 73,3% случаев), что, согласно данным литературы, соответствует нормальному микробиоценозу

кожи. В тоже время у больных контрольной группы, получавших традиционное лечение, а также после курса применения мезотерапии с гентамицином при посеве содержимого единичных акне – элементов ассоциации микроорганизмов определялись в 53,9% и 33,3% случаев, соответственно.

В последние годы одним из основных показателей эффективности использования различных способов лечения является оценка качества жизни больных, под которым понимают совокупность факторов, отражающих качество физического, психического, социального и ролевого или функционально-ассоциированного образа жизни индивидуума. Несмотря на методические трудности измерения качества жизни пациента, в настоящее время успешно используются различные инструменты для его оценки [4].



Рис. 9. ДИКЖ у больных с акне и здоровых лиц

Примечание: $p < 0,01$ между показателями больных исследуемых групп до и после лечения и по сравнению с больными контрольной группы после лечения.

Для изучения качества жизни больных с акне нами был использован опросник Дерматологического Индекса «Качества Жизни» [4,56], рассчитанный для применения у больных старше 16 лет, и который

заполнялся больными самостоятельно до лечения и в отдаленном периоде после лечения (через 10-12 месяцев).

Изучение качества жизни больных с акне показало, что до лечения у всех пациентов регистрировалось снижение интегрального показателя качества жизни, по сравнению со здоровыми лицами (рис. 9). При этом установлено, что применение традиционного лечения приводило к улучшению качества жизни у 36,5% пациенток, мезотерапии с препаратом гентамицин – у 46,7% больных и локальной иммунокоррекции – у 63,3% пациентов.

Суммарный балл качества жизни пациентов основной группы уменьшился с $27,8 \pm 1,8$ до $5,1 \pm 2,7$ баллов, а у больных контрольной группы и группы сравнения – с $26,9 \pm 2,1$ до $15,1 \pm 3,4$ и с $27,5 \pm 1,7$ до $11,3 \pm 2,1$ баллов, соответственно (рис. 9).

Следует отметить, что улучшение внешнего вида пациентов, соответственно улучшение качества жизни, влияло на оценку ими окружающей ситуации и сопровождалось изменением у них уровня тревоги.

При этом учитывали, что ситуативная тревожность (реактивная тревожность, тревожность как состояние) характеризуется субъективно переживаемыми эмоциями: напряжением, беспокойством, озабоченностью, нервозностью и возникает как эмоциональная реакция на стрессовую ситуацию. Личная тревожность (устойчивая индивидуальная характеристика) активизируется при восприятии определенных стимулов, расцениваемых человеком как опасные для самооценки, самоуважения.

Для определения уровней реактивной и личностной тревожности проводилось тестирование пациентов по Спилбергеру-Ханину [4], включающее 40 вопросов.

При анализе результатов самооценки имели в виду, что чем выше итоговый показатель, тем выше уровень тревожности (ситуативной или личностной). При интерпретации показателей были использованы

следующие ориентировочные оценки тревожности: до 30 баллов - низкая, 31-44 балла - умеренная; 45 и более - высокая.

Следует отметить, что до лечения у всех пациентов наблюдался средний и высокий уровень реактивной тревоги (от 45 до 65%). После проведенного курса локальной иммунокоррекции с высоким уровнем тревоги остался лишь 3,3% больных, а у 66,7% пациентов уровень тревожности стал низким. При этом в контрольной группе зарегистрировано увеличение (+26,9%) лиц со средним уровнем тревоги за счет уменьшения числа (-26,9%) пациентов с высокой тревожностью. У больных группы сравнения высокий уровень тревожности наблюдался у 16,6% больных, средний – у 56,7%, низкий – у 26,7% лиц.

Улучшение психо-эмоционального здоровья (повышение самооценки, числа межличностных контактов, уменьшение комплекса социальной неполноценности и др.) отмечено у большинства больных I, II и III групп (51,9%, 83,3% и 63,3%, соответственно).

В качестве иллюстрации эффективности локальной иммунокоррекции путем мезотерапии приводим следующие клинические примеры.

Клинический пример 1.

Больная Н., 24 года, амбулаторная карта № 34/17 находилась на лечении у врача дерматолога МУЗ «Областная поликлиника №2 г. Орла» с 01.03.2006 по 06.04.2006 гг.

Диагноз: Угревая болезнь, папулопустулёзная форма. Течение средней степени тяжести. Дисбактериоз кишечника.

При первичном обращении предъявляла жалобы на высыпания на коже лица и спины, чувство психологического дискомфорта.

Считает себя больной около 10 лет, когда в подростковом возрасте впервые появилась угревая сыпь на коже лица. Больная неоднократно получала курсы системных и местных антибактериальных средств (зиннерит, метрогил-гель), препараты ретиноидов, физиолечение с кратковременным

эффектом. Два года назад в течение 6 месяцев с целью коррекции гормонального статуса принимала «Жанин». Максимальный период относительной ремиссии составлял около 3 месяцев.

При осмотре на коже лица и спины определялись множественные папулы на (1/2 лица), единичные пустулы, узлов и кист не отмечалось. Кроме того, имели место атрофические пятнистые воспалительные и сколотые рубцы (более 5) на коже лица.

При лабораторном исследовании нарушений гормонального профиля сыворотки крови выявлено не было: ФСГ- 7,6 мМЕ/мл, ЛГ – 6,9 мМЕ/мл, пролактин – 242 мМЕ/мл, тестостерон – 2,5 мМЕ/мл, эстрадиол – 0,25 мМЕ/мл, кортизол – 352 мМЕ/мл.

Иммунологические исследования: CD4+ 32%, CD8+ 17%, CD19+ 12%, CD25+ 3%, HLA-DR+ 20%, CD71+ 8%; ИЛ-1 β – 65 пг/мл, ФНО- α – 35 пг/мл, ИЛ-10 – 15 пг/мл, LL37 – 2,2 мкг/мл, оксид азота – 1,5 мкмоль/л.

локальный иммунный статус: оксид азота - 0,6 мкмоль/л, LL37 – 12,1 мкг/мл.

При микробиологическом исследовании микрофлоры с поверхности кожи и акне – элементов высевалась смешанная флора с преобладанием *S. epidermidis* и *S. aureus*.

Совокупный балл объективных и лабораторных показателей соответствовал заболеванию средней степени тяжести и составил 32 балла. Дерматологический индекс качества жизни составил 26 баллов. Уровень реактивной и личностной тревожности был оценен как высокий и составлял 48 баллов.

Больной был назначен курс традиционной терапии (2 недели) с последующим переходом на мезотерапию с препаратом миелопид по предложенной схеме (на курс 10 процедур). Противопоказаний к назначению мезотерапии не было.

После 4 процедуры лечения отмечалось значительное улучшение состояния: наблюдался регресс высыпаний, прекращение появления новых элементов и уменьшением воспалительного компонента акне. К окончанию

курса имело место полное разрешение акне – элементов, а также значительное уменьшение проявлений постакне (расширенных пор и неравномерной пигментации кожи, сглаживание рельефа рубцов).

При контрольном исследовании иммунологических показателей: CD4+ 38%, CD8+ 21%, CD19+ 14%, CD25+ 5%, HLA-DR+ 26%, CD71+ 12%; ИЛ-1 β – 28 пг/мл, ФНО- α – 25 пг/мл, ИЛ-10 – 12 пг/мл, LL37 – 1,4 мкг/мл, оксид азота – 2,9 мкмоль/л; локальный иммунный статус: оксид азота - 2,6 мкмоль/л, LL37 – 0,8 мкг/мл.

Совокупный балл объективных и лабораторных показателей составил 6 баллов.

Через 10 месяцев у пациентки оценивалось качество жизни, интегральный показатель которого приближался к качеству жизни здоровых лиц и составил 6 баллов. Уровень реактивной и личностной тревожности был оценен как низкий и составлял 24 балла.

Клинический пример 2.

Больная К., 23 лет, амбулаторная карта № 42/9 находилась на лечении у врача дерматолога МУЗ «Областная поликлиника №2 г. Орла» с 05.04.2007 по 06.05.2007 гг.

Диагноз: Угревая болезнь, папулопустулёзная форма. Течение средней степени тяжести.

При первичном обращении предъявляла жалобы на высыпания на коже лица, чувство психологического дискомфорта, нарушение сна и снижение работоспособности.

Считает себя больной около 5 лет, когда после перенесенного стресса ежемесячно стала отмечать появление единичных угревых высыпаний на коже. Лечилась самостоятельно препаратами ретиноидов, антибактериальными средствами, принимала курсами «Ярину». Ухудшение состояние отмечает в последние 6 месяцев, к дерматологу ранее не обращалась. Из сопутствующих заболеваний – альгодисминорея.

При осмотре на коже лица определялись множественные папулы и единичные пустулы, узлов и кист не отмечалось.

При лабораторном исследовании нарушений гормонального профиля сыворотки крови выявлено не было: ФСГ- 6,9 мМЕ/мл, ЛГ – 6,5 мМЕ/мл, пролактин – 231 мМЕ/мл, тестостерон – 2,4 мМЕ/мл, эстрадиол – 0,25 мМЕ/мл, кортизол – 326 мМЕ/мл.

Иммунологические исследования: CD4+ 30%, CD8+ 15%, CD19+ 10%, CD25+ 4%, HLA-DR+ 22%, CD71+ 9%; ИЛ-1 β – 75 пг/мл, ФНО- α – 30 пг/мл, ИЛ-10 – 18 пг/мл, LL37 – 2,7 мкг/мл, оксид азота – 1,8 мкмоль/л; локальный иммунный статус: оксид азота - 0,2 мкмоль/л, LL37 – 10,5 мкг/мл.

При микробиологическом исследовании микрофлоры с поверхности кожи и акне – элементов высевалась смешанная флора с преобладанием *P. asnes*, а также *S. aureus*, чувствительного к гентамицину.

Совокупный балл объективных и лабораторных показателей соответствовал заболеванию средней степени тяжести и составил 30 баллов. Дерматологический индекс качества жизни составил 24 балла. Уровень реактивной и личностной тревожности был оценен как высокий и составлял 46 баллов.

Больной был назначен курс мезотерапии с препаратом гентамицин по предложенной схеме (на курс 10 процедур). Противопоказаний к назначению мезотерапии не было. Кроме того, больная до назначения мезотерапии получала традиционную местную антибактериальную терапию и физиолечение в течение 14 дней.

После 6 процедуры лечения отмечалось значительное улучшение состояния: регресс высыпаний и прекращение появления новых элементов. После 10 процедуры имело место полное разрешение акне – элементов. При этом сохранялись расширенные поры и неравномерная пигментации кожи. При контрольном исследовании иммунологических показателей: CD4+ 34%, CD8+ 20%, CD19+ 12%, CD25+ 5%, HLA-DR+ 24%, CD71+10%; ИЛ-1 β – 38 пг/мл, ФНО- α – 27 пг/мл, ИЛ-10 – 15 пг/мл, LL37 – 2,1 мкг/мл, оксид азота –

2,0 мкмоль/л; локальный иммунный статус: оксид азота - 0,9 мкмоль/л, LL37 – 4,8 мкг/мл.

При повторном микробиологическом исследовании микрофлоры с поверхности кожи высевался *S. epidermidis*.

Совокупный балл объективных и лабораторных показателей составил 12 баллов.

Через 10 месяцев у пациентки оценивалось качество жизни, интегральный показатель которого составил 14 баллов. Уровень реактивной и личностной тревожности был оценен как низкий и составлял 30 баллов.

Таким образом, включение локальной иммунокоррекции путем мезотерапии в программы комплексного лечения угревой болезни, ускоряет санацию очагов акне, снижает частоту поствоспалительных косметических дефектов, сокращает сроки лечения, частоту рецидивов и способствует повышению качества жизни пациентов.

ГЛАВА 5. ДИНАМИКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БОЛЬНЫХ С АКНЕ НА ФОНЕ ЛОКАЛЬНОЙ ИММУНОКОРРЕКЦИИ ПРЕПАРАТОМ МИЕЛОПИД.

Учитывая результаты проведённых экспериментов и данные литературы об иммуномодулирующем влиянии локальной иммунокоррекции [17, 37, 38, 80], нами исследованы показатели иммунного статуса больных акне vulgaris на фоне локальной иммунокоррекции препаратом миелопид путем мезотерапии.

Результаты исследований показали, что до начала лечения у большинства больных (94,6% обследованных пациентов) выявлялись нарушения в иммунной системе, наиболее выраженные в продукции антимикробных пептидов и метаболитов оксида азота, что, как уже отмечалось, вероятно, обусловлено участием этих медиаторов в патогенезе акне.

Как видно из рис.10, фоновые показатели уровня NO в сыворотке крови и кожных смывах, взятых до лечения, у большинства больных всех групп были значительно ниже, чем у здоровых лиц и достоверно не различались.

При этом после лечения у больных, получавших ЛИ, регистрировалось восстановление суммарной продукции нитратов и нитритов в сыворотке крови и кожных смывах до уровня показателей здоровых лиц ($3,47 \pm 0,01$ и $2,8 \pm 0,01$ мкмоль/л, соответственно), в контрольной группе и группе сравнения полной нормализации концентрации NO не отмечалось (рис. 10).

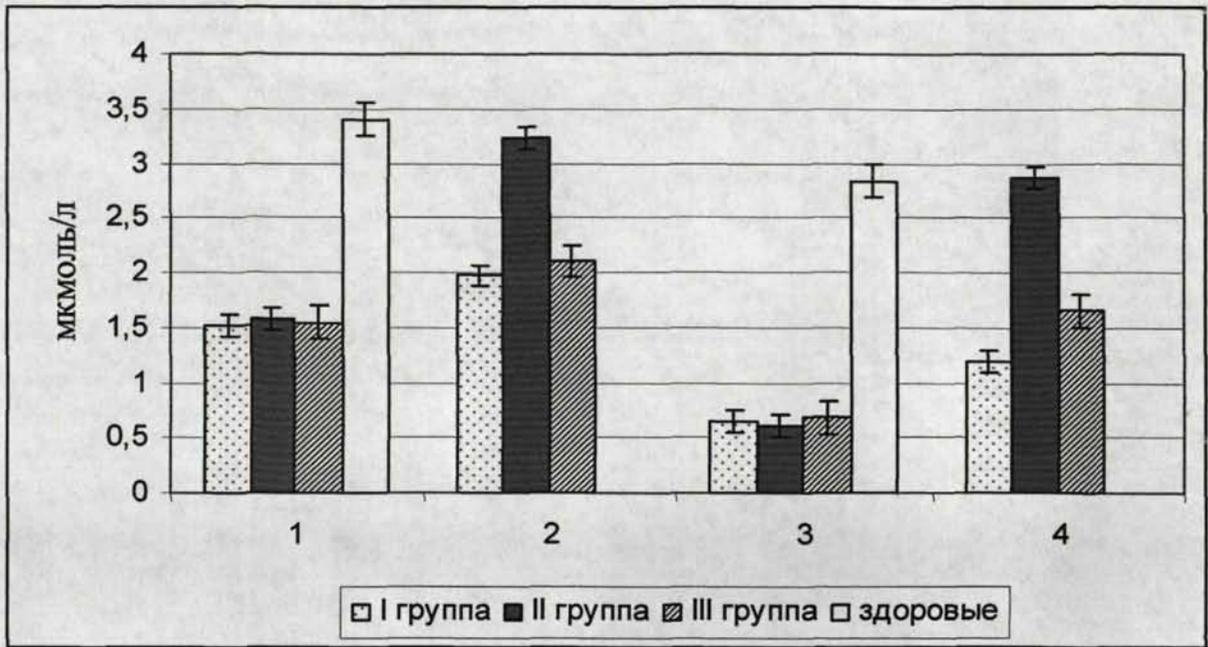


Рис. 10. Динамика уровня метаболитов NO в сыворотке крови и кожных смывах у больных с угревой болезнью.

Примечание: 1 – показатели в сыворотке крови до лечения; 2 – показатели в сыворотке крови после лечения; 3 - показатели в смывах с кожи до лечения; 4 –показатели в смывах с кожи после лечения; $p < 0,05$ – между показателями до и после лечения и по сравнению со здоровыми лицами.

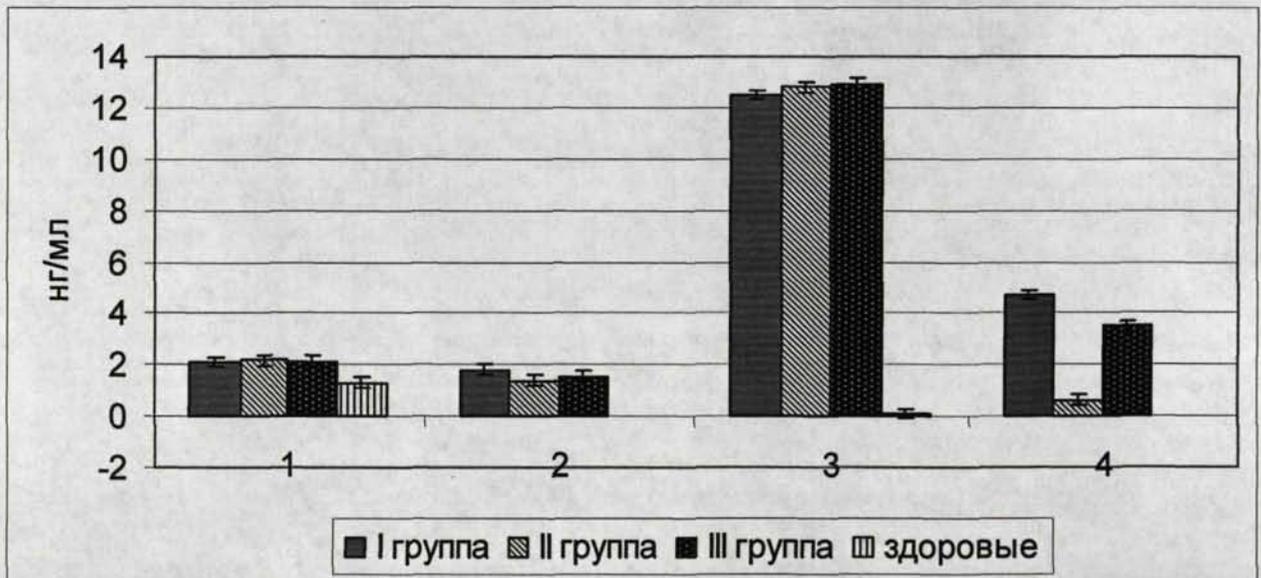


Рис. 11. Динамика уровня LL37 в сыворотке крови и кожных смывах у больных с угревой болезнью.

Примечание: $p < 0,05$ – между показателями до и после лечения и по сравнению со здоровыми лицами.

Как уже отмечалось, угревая болезнь сопровождается дисбалансом продукции антимикробных пептидов, что является одним из критериев иммунообусловленности акне.

Результаты проведённых исследований показали, что у большинства больных с *acne vulgaris*, в отличие от здоровых лиц, наблюдалось повышение уровня АМП в сыворотке крови и кожных смывах (рис. 1-2; 11-14), что сочеталось с нарушением их синтеза МНФ периферической крови (рис. 3-5).

Следует отметить, что изменения продукции АМП и NO были взаимосвязаны. Заслуживают внимания результаты об обратной корреляции между уровнями кателицидина LL37 и NO в сыворотке крови ($r=-0,89$; $p>95\%$) и кожных смывах ($r=-0,91$; $p>95\%$), что отражало тяжесть течения патологического процесса в коже.

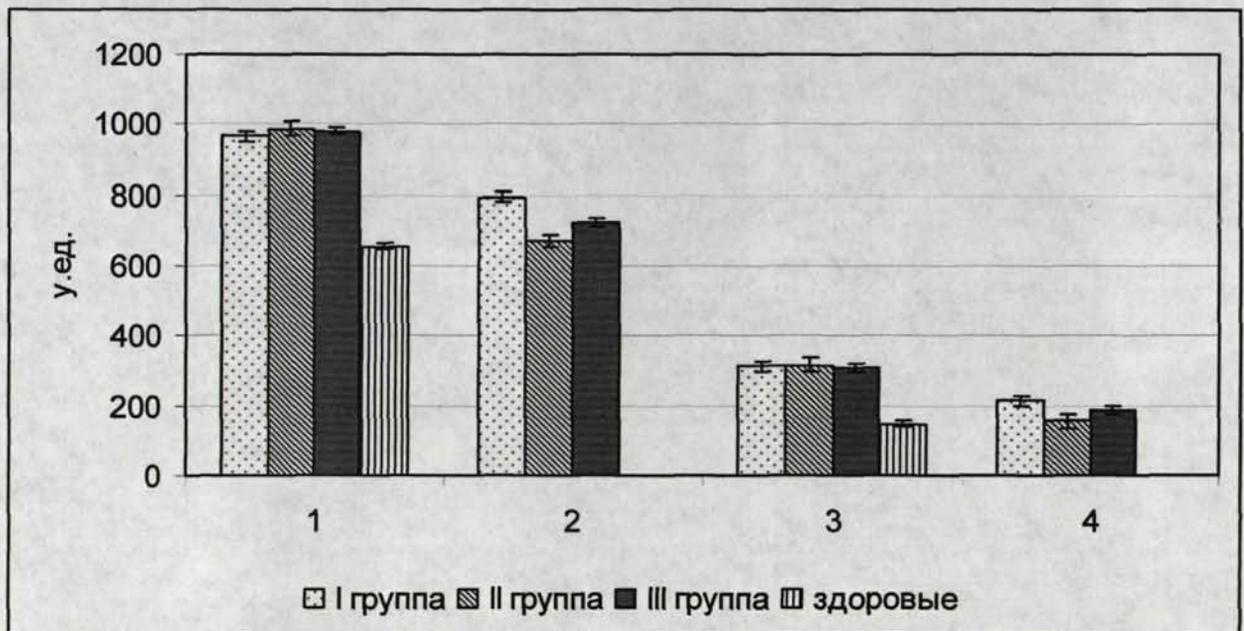


Рис. 12. Динамика уровня ПОА сыворотки крови и кожных смывах у больных с угревой болезнью.

Примечание: $p<0,05$ – между показателями до и после лечения и по сравнению со здоровыми лицами.

Статистически значимая обратная корреляционная зависимость отмечена и между уровнями миелопероксидазы, лактоферрина и оксидом азота ($r=-0,92$; $r=-0,95$; $p>95\%$).

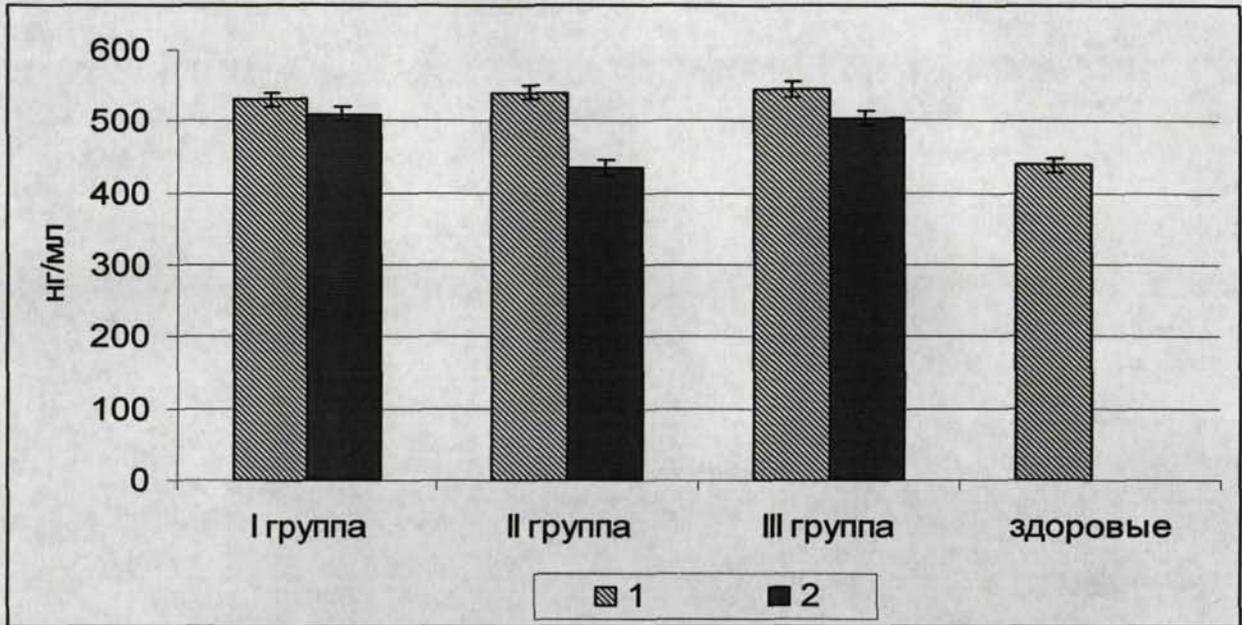


Рис. 13. Динамика уровня ЛФ сыворотки крови у больных с угревой болезнью.

Примечание: на рис. 13-14: $p<0,05$ – между показателями до и после лечения и по сравнению со здоровыми лицами.

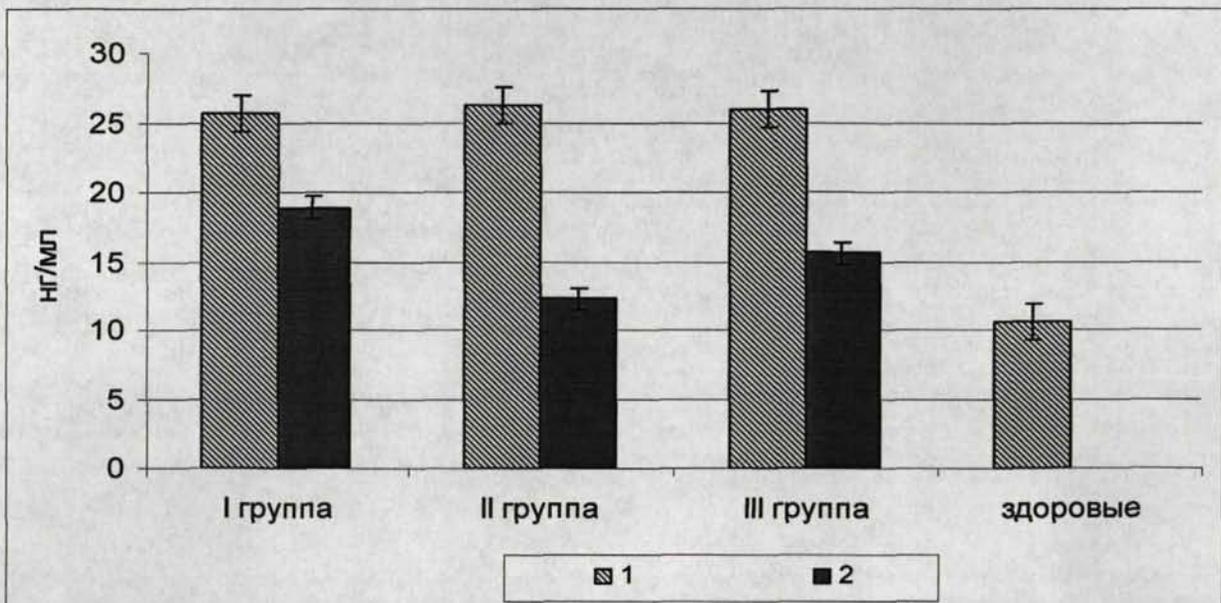


Рис. 14. Динамика уровня ЛФ кожных смывах у больных с угревой болезнью.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о важной роли антимикробных пептидов и оксида азота в формировании иммунной дисфункции при угревой болезни, что обосновывает возможность их определения в качестве маркёров тяжести течения заболевания и оценки эффективности терапии (табл. 7).

Таблица 7.

Лабораторные показатели оценки выраженности локального воспалительного процесса при акне.

Показатель	0 баллов	1 балл	2 балла	3 балла
LL-37	0,1-0,5 мкг/мл	0,6-2,0 мкг/мл	2,1-4,5 мкг/мл	>4,6 мкг/мл
Оксид азота	3,0-2,5 мкмоль/л	2,4-2,0 мкмоль/л	1,9-1,1 мкмоль/л	<1,0 мкмоль/л

В процессе проведения комплексного лечения с применением ЛИ и мезотерапии препаратом гентамицин, по сравнению с традиционной терапией, отмечалось улучшение показателей продукции АМП и NO, более выраженное у пациентов второй группы (рис. 10-14).

Принимая во внимание интегрирующую и регулирующую роль цитокинов в реализации реакций врождённого и адаптивного иммунного ответа на патогены [25, 33, 38, 76, 95], а также данные об иммуномодулирующем действии миелоида, представляло интерес оценить состояние цитокинового статуса больных акне на фоне предложенного лечения.

Проведённое исследование концентраций цитокинов в сыворотке крови показало, что у 46,4% больных *acne vulgaris*, в отличие от здоровых лиц, наблюдалось повышение уровня воспалительных (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α) и иммуносупрессорных (ИЛ-10 и ТФР- β 1) цитокинов (рис. 15, 16).

При анализе показателей ИЛ-1Ra до лечения в сыворотке крови больных его отклонений от значений физиологической нормы выявлено не было (522 \pm 26 пкг/мл и 518 \pm 28 пкг/мл, соответственно), а ИЛ-8 в сыворотке крови ни у здоровых лиц, ни у больных не определялся.

Кроме того, более чем в 50% случаев статистически значимых изменений концентраций цитокинов в сыворотке крови больных выявлено не было.

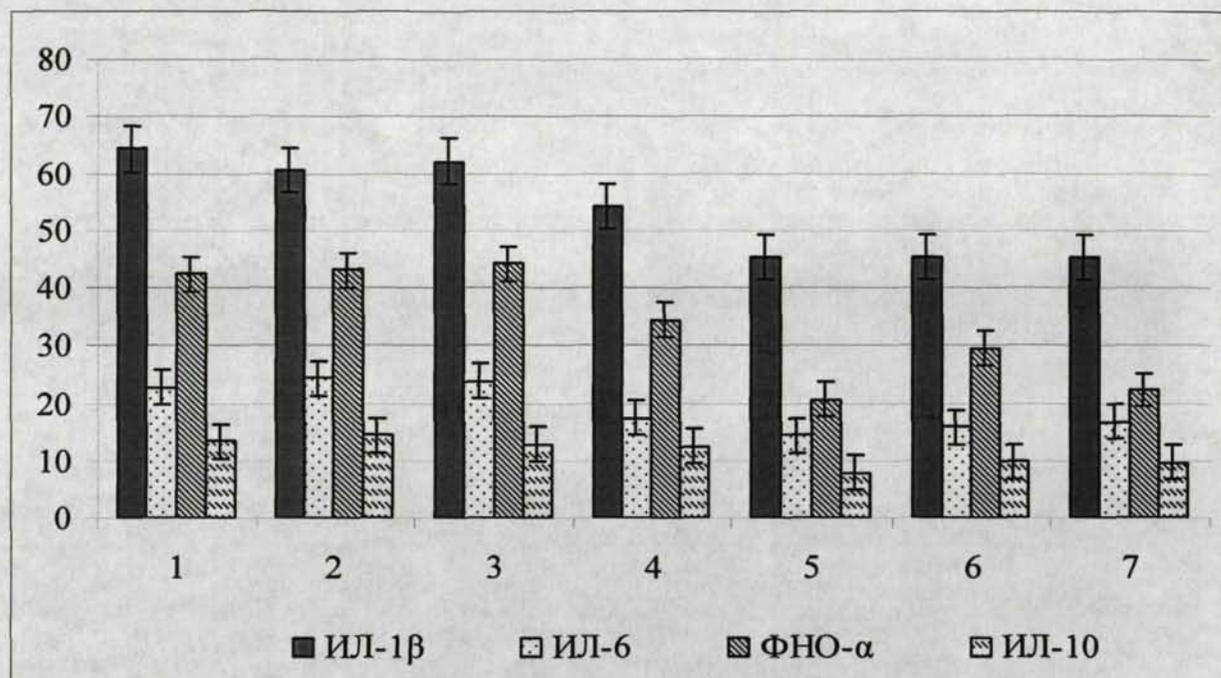


Рис. 15. Динамика уровня цитокинов в сыворотке крови у больных с угревой болезнью.

Примечание: на рис. 15, 16, 18: 1 – показатели больных I группы до лечения; 2 – II группы до лечения; 3 – III группы до лечения; 4 – показатели больных I группы после лечения; 5 – больных II группы после лечения; 6 – больных III группы после лечения; 7 – показатели здоровых лиц; $p < 0,05$ – между показателями до и после лечения и по сравнению со здоровыми лицами.

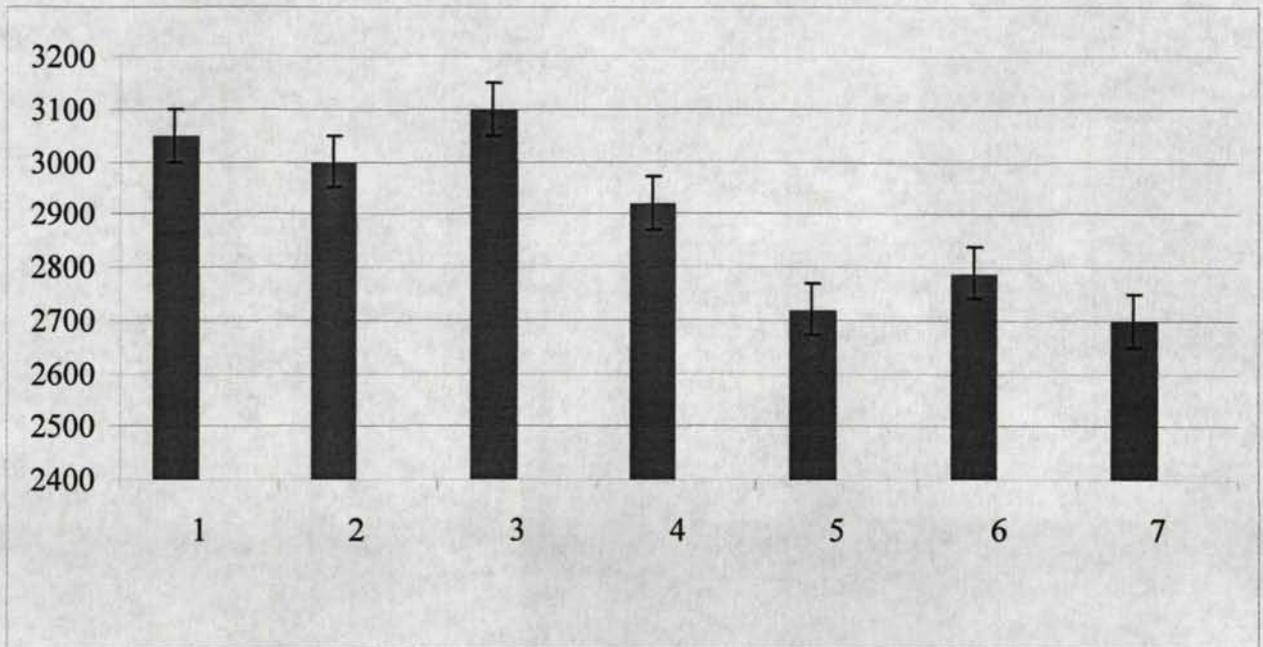


Рис. 16. Динамика уровня ТФР-β₁ в сыворотке крови у больных с угревой болезнью; $p < 0,01$.

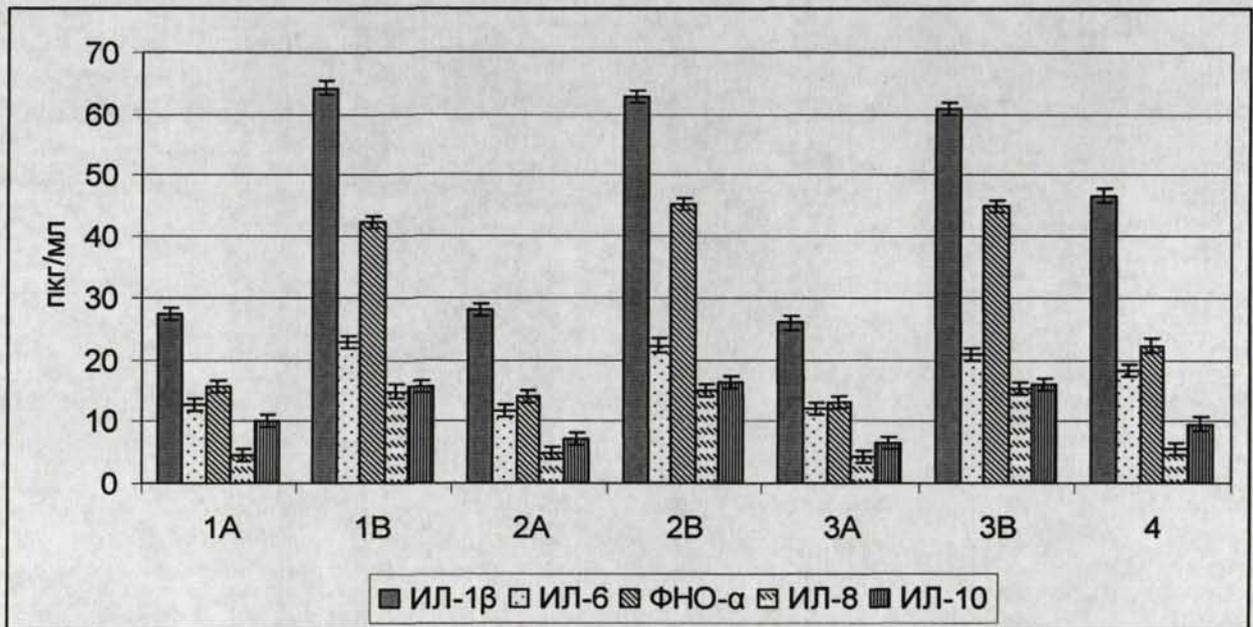


Рис. 17. Показатели спонтанной продукции цитокинов МНК крови здоровых лиц (4) и больных до лечения.

Примечание: 1 – показатели больных первой группы; 2 – второй; 3 – третьей группы; А – исходно сниженные показатели; В – исходно повышенные показатели; $p < 0,05$ по сравнению с показателями здоровых лиц.

При исследовании спонтанной выработки цитокинов мононуклеарами периферической крови больных были выделены две группы: с исходно пониженным и повышенным уровнем секреции цитокинов, что может быть обусловлено предстимуляцией клеток-продуцентов *in vivo* (рис. 17). ФГА оказывал стимулирующее действие на продукцию цитокинов (рис. 18) в обеих группах, более выраженное в отношении ИЛ-1 β , ФНО- α и ИЛ-10.

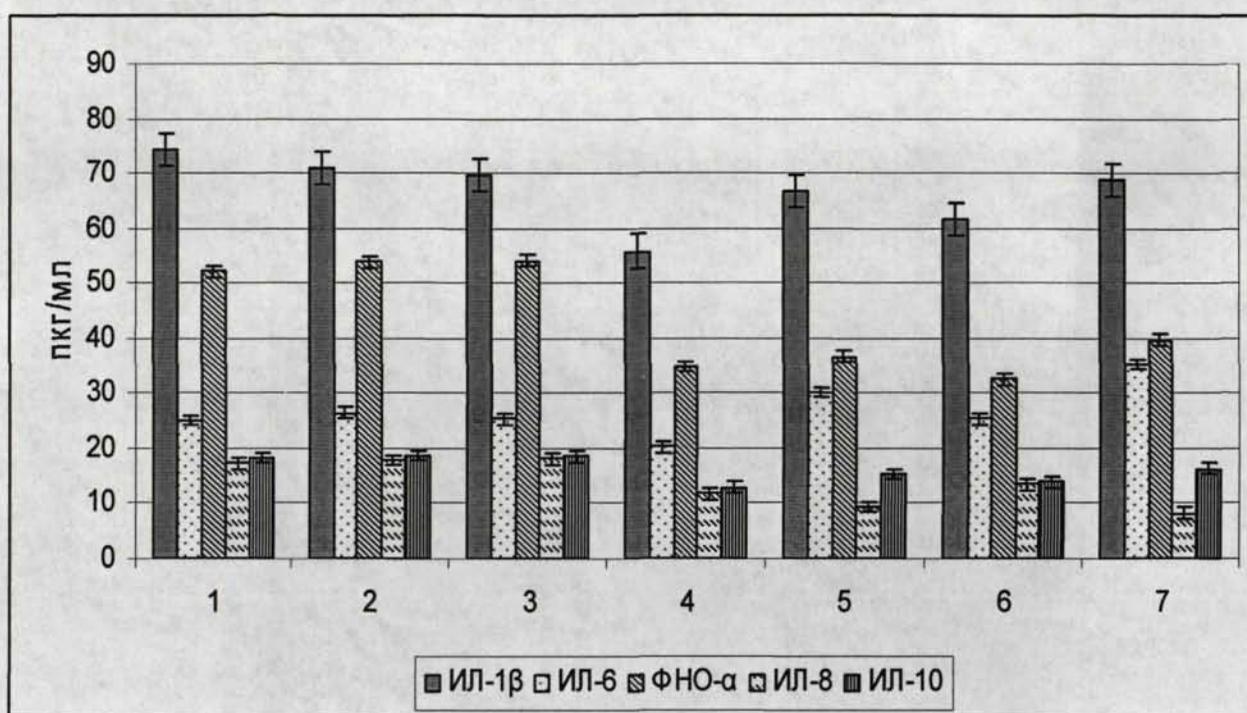


Рис. 18. Показатели ФГА-стимулированной продукции цитокинов МНК крови здоровых лиц (7) и больных с исходно повышенными показателями на фоне лечения.

Примечание: 1 - показатели больных I группы до лечения; 2 - показатели больных II группы до лечения; 3 - показатели больных III группы до лечения; 4 - после лечения в I группе; 5 - после лечения во II группе; 6 - после лечения в III группе; 7 - показатели здоровых лиц; $p < 0,05$ между показателями до и после стимуляции ФГА.

Однако достоверное увеличение выработки цитокинов *in vitro* в ответ на стимуляцию ФГА было более выраженным у здоровых лиц (максимальный

прирост ИЛ-1 β составил 45%, ФНО- α – 42%, ИЛ-10 – 30%), чем у больных (прирост 17%, 21% и 15%, соответственно).

Клиническая эффективность локальной иммунокоррекции сочеталась у большинства больных с восстановлением исходно нарушенных показателей цитокинового статуса, а также цитокинсинтезирующей функции МНК (рис. 15-18). После курса традиционной терапии и мезотерапии препаратом гентамицин концентрации исследуемых цитокинов достоверно снижались, однако, значений нормы достигали лишь у 25% и 33,3% пациентов, соответственно (рис. 15-18). При этом заслуживают внимание данные о выявленной тенденции к снижению ФГА-индуцированного синтеза цитокинов на фоне традиционного лечения (рис. 18).

Известно, что в патогенезе инфекционно-воспалительных заболеваний кожи важную роль отводится нарушениям Т-клеточного и В-клеточного адаптивного иммунного ответа. Однако исследования клеточного и гуморального звена иммунитета при угревой болезни, несмотря на их многочисленность, достаточно противоречивы, в связи с чем нами были изучены показатели системного иммунитета при *acne vulgaris*.

Результаты исследований показали (табл. 8), что до лечения у больных с папулопустулезной формой акне, по сравнению со здоровыми донорами, число CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов было снижено незначительно (до 32,7 \pm 1,5% и 18,9 \pm 0,5%, соответственно; 38,9 \pm 2,5% и 22,6 \pm 1,8% - у здоровых лиц). В количестве CD19⁺В-лимфоцитов достоверных изменений у большинства пациентов выявлено не было (12,6 \pm 1,6%).

Однако у 11% пациентов акне отмечалось снижение числа CD19⁺ клеток (до 6-9%), что сочеталось с исходно сниженной продукцией у этих пациентов IgG (до 6,8 \pm 0,5 г/л). Изменений уровней IgA и IgM в сыворотке крови больных с акне, по сравнению со здоровыми лицами, установлено не было (уровень IgA - 2,1 \pm 0,2 г/л и 2,35 \pm 0,3 г/л, соответственно; IgM - 1,8 \pm 0,2 г/л и 2,1 \pm 0,35 г/л, соответственно).

Динамика показателей системного иммунитета пациентов с угревой болезнью на фоне лечения.

Показатель, %	Группа	До лечения	После лечения
CD4+	I группа (n=20)	32,8±1,6	35,8±1,05*
	II группа (n=20)	33,1±1,4	39,9±1,3*
	III группа (n=20)	32,7±1,5	37,1±1,01*
	Здоровые (n=20)	38,9±2,5	
CD8+	I группа (n=20)	18,9±0,5	19,7±1,1 *
	II группа (n=20)	18,95±0,5	22,8±1,3*
	III группа (n=20)	19,2±0,5	20,4±1,1*
	Здоровые (n=20)	22,6±1,8	
CD19+	I группа (n=20)	12,8±1,0	12,85 ±1,3*
	II группа (n=20)	12,6±1,1	12,95±1,3*
	III группа (n=20)	12,76±1,1	12,92±1,3*
	Здоровые (n=20)	14,1±0,8	

Следует также отметить, что у большинства больных численность лимфоцитов, экспрессирующих индуцибельные маркеры (CD25, CD71, HLA-DR) была в среднем в 1,5-2 раза меньше, чем у здоровых лиц (табл. 9).

На фоне лечения полная нормализация числа CD4+, CD8+, CD19+ лимфоцитов наблюдалась у 93,3% больных основной группы и только у 55,8% и у 63,3 % пациентов контрольной группы и группы сравнения, соответственно. Это сочеталось с усилением экспрессии CD25, CD71 маркеров и повышением до нормы количества HLA-DR+ клеток у 96,7% пациентов II группы, у 57,7% и 66,7% I и III групп, соответственно. Достоверная положительная динамика после ЛИ путем мезотерапии отмечалась также в отношении числа CD19+ клеток и уровня IgG (повышение концентрации в сыворотке крови до 11,6±0,5 г/л).

Динамика показателей маркеров активации у пациентов с угревой болезнью на фоне лечения.

Показатель, %	Группа	До лечения	После лечения
CD25+	I группа (n=20)	3,6±0,2	4,1±0,1*
	II группа (n=20)	3,75±0,3	5,1±0,3*
	III группа (n=20)	3,7±0,3	4,2±0,1*
	Здоровые (n=15)	4,9±0,25	
HLA-DR+	I группа (n=20)	22,2±0,8	23,5±0,8
	II группа (n=20)	21,9±1,1	32,6±1,2*
	III группа (n=20)	22,05±1,1	27,6±1,2*
	Здоровые (n=15)	33,5±1,1	
CD71+	I группа (n=20)	19,1±1,1	26,6±0,5*
	II группа (n=20)	18,9±1,4	32,7±1,1**
	III группа (n=20)	19,2±1,1	28,6±0,5*
	Здоровые (n=15)	32,5±1,3	

Таким образом, полученные данные показали положительное влияние локальной иммунотерапии на восстановление иммунологической реактивности больных с акне, приводящее у большинства пациентов к нормализации показателей системного и местного иммунитета.

Анализ результатов проведённых исследований позволяет сделать заключение о перспективности использования в программах лечения аспе vulgaris локальной иммунокоррекции путем мезотерапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Среди многочисленных проблем современной дерматологии хронические дерматозы занимают особое место, что определяется как высокой частотой их встречаемости и полиморфностью клинической симптоматики, так и рядом нерешённых проблем в вопросах диагностики, лечения и реабилитации [6, 63, 150].

Акне поражает около 85% лиц от 12 до 25 лет и примерно 30-40% пациентов старше 25 лет, являясь основным в ряду заболеваний, вызывающих стойкий психический и физический дискомфорт [2, 111].

На сегодняшний день широко обсуждаемыми и в значительной степени дискуссионными остаются вопросы этиологии и патогенеза угревой болезни, необходим поиск новых стратегических подходов к лечению; недостаточно изученным является состояние здоровья и качества жизни больных акне на фоне различных способов терапии.

В последние годы показано, что тяжесть течения и исход хронических воспалительных заболеваний кожи сочетается, как правило, с наличием у больных иммунной дисфункции [2, 59, 73, 75, 113]. При этом, несмотря на исследования механизмов иммунного ответа при угревой болезни, закономерности дисрегуляции иммунной системы при данной патологии изучены недостаточно и являются достаточно противоречивыми. До настоящего времени нет единого мнения о состоянии системного иммунитета и факторов иммунной защиты кожи при воспалительных формах акне, не определена значимость иммунологических критериев в оценке активности локального инфекционно-воспалительного процесса, в том числе при различных методах терапии.

Как показывают исследования отечественных и зарубежных авторов, одним из перспективных способов лечения акне является мезотерапия - интрадермальное введение малых доз лекарственных препаратов в зону патологического очага, в том числе иммуномодуляторов [62, 64, 72, 148]. Локальный способ их введения в очаг поражения обеспечивает создание

высокой концентрации препаратов, запуск каскадной активации клеток-эффекторов, участвующих в воспалительных и репаративных процессах.

В связи с этим приобретает актуальность изучение особенностей патогенеза иммунной дисфункции при акне и разработка новых патогенетически обоснованных подходов к терапии данной патологии с учетом сопутствующих иммунных нарушений.

Учитывая изложенное, целью работы явилось повышение эффективности лечения больных с акне путем применения локальной иммунокоррекции.

В связи с этим в экспериментальной части работы ставились задачи по изучению некоторых патогенетических механизмов развития иммунной дисфункции при угревой болезни, а также исследованию влияния препаратов иммунорегуляторных пептидов (суперлимф и миелопид) на функциональную активность мононуклеарных фагоцитов крови пациентов с указанной патологией.

Учитывая, что антимикробным пептидам, оказывающим прямое противомикробное и иммунорегуляторное действие [39, 40, 107, 116, 134, 144, 153], отводится важное место среди молекулярных компонентов врождённого иммунитета, а нарушение их синтеза может быть одной из причин иммунной дисфункции при угревой болезни, нами были изучены особенности системной и локальной продукции ряда АМП, а также возможности ее регуляции *in vitro* препаратами миелопид и суперлимф.

Изучение концентрации кателицидина LL37, обладающего широким спектром антимикробной активности и иммунорегуляторным действием [39, 42, 104, 110], в кожных смывах выявило ее повышение у больных с акне по сравнению со здоровыми лицами (рис. 1). Вместе с тем, была установлена широкая вариабельность значений LL37 в сыворотке крови больных: от «следовых» до 5-10 кратного повышения (рис. 1, 11).

Заслуживают интерес данные, полученные при проведении клинко-иммунологических параллелей между изменением продукции кателицидина

и тяжестью течения аспе *vulgaris*, которые показали, что у 17% пациентов с хроническим рецидивирующим течением заболевания длительностью более 5 лет, белок LL37 в смывах регистрировался только в следовых количествах, что может иметь важное значение в формировании воспалительных форм акне и развитии инфекционных осложнений при данной патологии.

Изучение концентрации антимикробного пептида – гепсидина показало, что у пациентов с аспе *vulgaris* в кожных смывах гепсидин не определялся, а повышение его концентрации в сыворотке крови (до $156,3 \pm 34,2$ нг/мл, по сравнению с показателями здоровых лиц - $87,4 \pm 16,8$ нг/мл) регистрировалось в 17,9% случаев, преимущественно у больных с сопутствующей патологией желудочно-кишечного тракта и нарушением менструальной функции.

Исследование в биологических жидкостях уровня железосвязывающего катионного пептида – лактоферрина, обладающего антибактериальной, противовирусной и антиоксидантной активностью, а также участвующего в регуляции роста и дифференцировки клеток фагоцитарного ряда, выявило преимущественное повышение его концентрации у большинства больных в смывах кожи (до $25,5 \pm 6,2$ нг/мл), по сравнению с сывороткой крови и здоровыми лицами (рис. 13-14).

Кроме того, учитывая возможный синергический эффект действия лактоферрина и миелопероксидазы [42, 53, 54], была проведена на местном и системном уровне оценка продукции миелопероксидазы. При этом было установлено, что у пациентов с аспе *vulgaris* уровень миелопероксидазы как в кожных смывах, так и в сыворотке крови, был значительно выше, чем у здоровых лиц (рис. 2, 12).

При этом следует отметить, что изменения содержания катионных АМП в сыворотке крови и кожных смывах (рис. 1, 2) имели однонаправленный характер с преобладанием уровня LL37 в образцах с кожи, что, по-видимому связано с тем, что продуцентами кателицидина

могут быть не только фагоциты, но и кератиноциты, эпителиальные клетки и др., активация которых наблюдается при воспалительных процессах кожи.

Исследование концентраций изучаемых антимикробных пептидов в супернатантах МНФ больных, по сравнению со здоровыми лицами, выявило снижение продукции кателицидина LL37, лактоферрина и миелопероксидазы у 52%, 47% и 35% пациентов, соответственно, что может свидетельствовать о снижении резервных возможностей фагоцитарных продуцентов антимикробных пептидов, в первую очередь LL37.

При сравнительном изучении уровня катионных антимикробных пептидов в супернатантах клеток после их инкубации с препаратами, было установлено иммуномодулирующее действие миелопида и суперлимфа на мононуклеарные фагоциты крови: повышение исходно сниженной продукции и снижение - исходно повышенной (рис. 3, 4), что может иметь важное значение для купирования локального инфекционно-воспалительного процесса при акне. Внесение изучаемых препаратов в культуру клеток больных сопровождалось снижением исходно повышенных (более чем у 50% пациентов) показателей продукции миелопероксидазы (рис. 5).

Внесение изучаемых препаратов миелопид или суперлимф в культуру мононуклеарных фагоцитов крови здоровых пациентов сопровождалось усилением продукции изучаемых катионных пептидов, наиболее значимым для кателицидина LL37 (рис. 3-5). Эффект препаратов в обоих случаях был более выражен при использовании миелопида в дозе 750 мкг/мл, суперлимфа 10 мкг/мл.

Известно, что наряду с АМП важным показателем функционирования врожденного иммунитета является продукция оксида азота [19,20,39,186], оказывающего мультимодальное действие на различные клетки-мишени и регуляторные молекулы. Несмотря на то, что накоплен большой экспериментальный материал, касающийся роли оксида азота при многих физиологических процессах, а также воспалении и регенерации тканей [19,

39, 186], при угревой болезни особенности его продукции практически не изучены.

В связи с этим был исследован уровень метаболитов NO в сыворотке крови, смывах кожи, а также в культуре клеток здоровых доноров и больных акне.

Результаты проведенных исследований показали, что уровень суммарной продукции оксида азота в кожных смывах, в сыворотке крови и культуральной жидкости был значительно ниже у больных, чем у здоровых лиц (рис. 6), что может быть обусловлено NO-зависимой аутокринной регуляцией макрофагов в агрессивной среде фокуса воспаления и повышенной «востребованностью» NO для полноценного завершения воспалительного процесса. При этом обработка клеток *in vitro* как здоровых лиц, так и больных исследуемыми препаратами приводила к дозозависимому повышению уровня продукции метаболитов NO в культуральной среде. Как видно из рис. 7, наиболее выраженный эффект проявлялся при использовании миелопида в дозе 750 мкг/мл и суперлимфа - 10 мкг/мл.

Значительный интерес в этой связи представляют полученные нами данные о том, что изменения продукции АМП и NO были взаимосвязаны. Статистически значимая обратная корреляционная зависимость отмечена и между уровнями миелопероксидазы, лактоферрина и оксидом азота ($r=-0,92$; $r=-0,95$; $p>95\%$). Кроме того, была зарегистрирована обратная корреляция между уровнями кателицидина LL37 и NO в сыворотке крови ($r=-0,89$; $p>95\%$) и кожных смывах ($r=-0,91$; $p>95\%$), что отражало тяжесть течения патологического процесса в коже.

С учетом данных литературы и ранее полученных результатов о прямом антимикробном действии препарата суперлимф [38, 39, 80], включающего комплекс гетерологичных свиных цитокинов и антимикробных пептидов, в отношении музейных штаммов стафилококка и стрептококка, а также клинических изолятов данных бактерий, было

изучено возможное противомикробное действие препарата свиных миелопептидов (миелопида).

Проведенные эксперименты показали (табл. 5), что препарат миелопид был активен в отношении всех исследуемых микроорганизмов, кроме *P. aeruginosa*, а препарат суперлимф, по сравнению с миелопидом, проявлял более выраженную антибактериальную активность в отношении штаммов стафилококка и стрептококка (табл. 5-6). При этом не было выявлено достоверных различий при использовании миелопида в дозах 750, 1500 и 3000 мкг/мл.

Принимая во внимание интегрирующую и регулирующую роль цитокинов в реализации реакций врожденного и адаптивного иммунного ответа на патогены [25, 33, 38, 76, 95], представляло интерес оценить состояние цитокинового статуса больных папулопустулезной формой акне.

Проведенное исследование концентраций цитокинов в сыворотке крови показало, что у 46,4% больных *acne vulgaris*, в отличие от здоровых лиц, наблюдалось повышение уровня воспалительных (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α) и иммуносупрессорных (ИЛ-4, ИЛ-10 и ТФР- β 1) цитокинов (рис. 15, 16). При анализе показателей ИЛ-1Ra до лечения в сыворотке крови больных его отклонений от значений физиологической нормы выявлено не было, а ИЛ-8 в сыворотке крови ни у здоровых лиц, ни у больных не определялся. Более чем в 50% случаев статистически значимых изменений концентраций цитокинов в сыворотке крови выявлено не было.

При исследовании спонтанной выработки цитокинов мононуклеарами периферической крови больных были выделены две группы: с исходно пониженным и повышенным уровнем секреции цитокинов, что может быть обусловлено предстимуляцией клеток-продуцентов *in vivo*. Достоверное увеличение выработки цитокинов *in vitro* в ответ на стимуляцию ФГА было более выраженным у здоровых лиц, чем у больных (рис. 17, 18). Полученные данные свидетельствуют о том, что наибольшую информативность при

исследовании цитокинового статуса у больных акне имеет оценка цитокинсинтезирующей активности клеток-продуцентов.

Таким образом, проведённые исследования показали, что одними из факторов развития иммунной дисфункции у больных акне является нарушение продукции антимикробных пептидов (кателицидина LL-37, лактоферрина, миелопероксидазы) и оксида азота, а полученные данные об иммуномодулирующем и антибактериальном действии изучаемых препаратов могут служить экспериментальным обоснованием их локального применения при угревой болезни.

На основании полученных результатов экспериментальных исследований, а также данных литературы об эффективности применения иммуномодуляторов в комплексном лечении угревой болезни, нами была изучена клиническая эффективность локальной иммунокоррекции у больных с папулопустулёзной формой *acne vulgaris*, находившихся на лечении в ОГУЗ «Орловская областная поликлиника № 2» в период с 2004 по 2009 гг.

Локальная иммунокоррекция препаратом миелопид путём мезотерапии использована в комплексном лечении 30 пациенток (II - основная группа) среднего возраста $26,5 \pm 2,7$ лет (женщин – 26; мужчин - 4). В III группу (группу сравнения) были включены 30 больных (средний возраст $25,1 \pm 2,8$ лет; женщин – 24; мужчин - 6), которые получали мезолечение препаратом гентамицин. Контрольную (I группу) составили 52 больных (среднего возраста $25,5 \pm 1,9$ лет; женщин - 36; мужчин - 16), получавших традиционную терапию, включавшую использование топических и (или) системных антибактериальных средств, препаратов с противовоспалительным действием и средств, нормализующих процессы кератинизации.

Эффективность лечения оценивали в баллах по разработанной нами на основе с классификаций С.Н. Cook et al. (1979) в модификации В.С. Allen, J.G. Smith (1982) и (1997) балльной шкале (табл. 1, 7). Совокупная оценка *acne vulgaris* в 5-17 баллов соответствовала лёгкому течению; в 18-35 – средней степени тяжести; в 36 и более баллов – тяжёлому течению. Течение

заболевания средней степени тяжести отмечалось в 75,5% случаев, тяжёлое течение – в 24,5%.

Больным основной группы и группы сравнения на фоне традиционного лечения выполнялась мезотерапия техникой «папул», которую осуществляли с интервалом в 3 дня (2 раза в неделю). Полный курс лечения составлял 10 процедур.

В качестве мезотерапевтического коктейля для процедуры локальной иммунокоррекции использовали 4 мл физиологического раствора, содержащего препарат миелопид (0,75 мг/мл). В состав композита для проведения процедуры мезотерапии у больных третьей группы был включен раствор гентамицина сульфата в дозе 20 мг/мл.

Противопоказаниями к назначению мезотерапии были: возраст до 18 лет, сопутствующие соматические заболевания в стадии обострения или декомпенсации, беременность и лактация, острые инфекционные и воспалительные заболевания, склонность к патологическому рубцеванию, индивидуальная непереносимость или аллергическая реакция больного на препараты, используемые для мезотерапии, отказ больного от проводимого исследования.

Анализ результатов локального применения препарата миелопид путем мезотерапии в комплексном лечении *аспе vulgaris* выявил его высокую клиническую эффективность по сравнению с традиционным лечением и мезотерапией препаратом гентамицин. Так, сравнительная балльная оценка клинических и лабораторных данных, проведенная до лечения, через две недели (после 4 процедур) и после лечения показала, что выраженность их в группе больных, получавших локальную иммунокоррекцию, снизилась с $35,3 \pm 0,5$ до $4,2 \pm 0,5$ баллов, контрольной – с $34,4 \pm 0,5$ до $16,5 \pm 0,5$ баллов, в группе сравнения - с $34,8 \pm 0,3$ до $10,5 \pm 0,5$ баллов (рис. 8). Как следует из рис. 8, у больных первой и третьей групп клинически значимое улучшение состояния кожи регистрировалось только через 3-4 недели лечения

Следует отметить улучшение состояния кожи после лечения у большинства пациентов второй и третьей групп (86,7% и 53,3%, соответственно), а также коррекцию поствоспалительных косметических дефектов (постакне). Так, проявления постакне (расширенные поры и капилляры, неравномерная пигментация кожи, ее дефекты с неровной текстурой и усиленным микрорельефом, рубцы) уменьшились, соответственно у 66,7% и 30% больных, получавших мезотерапию.

Кроме того, у 30,8% пациентов первой группы и у 23,3% - третьей группы отмечено появление рецидивов заболевания в срок от 6 до 12 месяцев наблюдения. У больных основной группы рецидивов зарегистрировано не было.

При этом использование локальной иммунокоррекции путем мезотерапии позволило в 33,3% случаев избежать назначения антибиотиков, а также исключить число больных, получавших повторные курсы антибиотикотерапии.

Кроме того, после лечения в основной группе с поверхности кожи высевался в 73,3% случаев только эпидермальный стафилококк, что, согласно данным литературы, соответствует нормальному микробиоценозу кожи. У больных контрольной группы, получавших традиционное лечение, а также после курса применения мезотерапии с гентамицином при посеве содержимого единичных акне – элементов в 53,9% и 33,3% случаев, соответственно, определялись ассоциации микроорганизмов.

В последние годы современный алгоритм диагностики заболеваний предполагает как выполнение традиционных клинических, лабораторных и инструментальных исследований, так и оценку качества жизни пациента [4, 56].

Для анализа качества жизни пациентов с акне нами был использован русифицированный вариант анкеты Finlay для расчета дерматологического индекса качества жизни, включающей 10 основных показателей, оцениваемых по 4-балльной системе (табл. 2). Кроме того, проводилось

тестирование пациентов по Спилбергеру-Ханину для оценки уровней реактивной и личностной тревожности в процессе лечения (табл. 3-4).

Изучение качества жизни пациентов до лечения показало, что у всех больных на момент обращения в поликлинику регистрировалось снижение интегрального показателя качества жизни, по сравнению со здоровыми пациентами, обследование которых проводилось для определения нормы качества жизни (рис. 9).

Диспансерное наблюдение за больными в течение 10-12 месяцев показало (рис. 9), что применение традиционного лечения приводило к улучшению качества жизни лишь у 36,5% пациентов, мезотерапии с препаратом гентамицин – у 46,7% больных и локальной иммунокоррекции – у 63,3% больных.

Кроме того, следует отметить, что до лечения у всех пациентов наблюдался средний и высокий уровень реактивной тревоги (от 5 до 65%). После проведенного курса локальной иммунокоррекции с высоким уровнем тревоги остался лишь 3,3% больных, а у 66,7% пациентов уровень тревожности стал низким. При этом в контрольной группе зарегистрировано увеличение (+26,9%) лиц со средним уровнем тревоги за счет уменьшения числа (-26,9%) пациентов с высокой тревожностью. У больных группы сравнения высокий уровень тревожности наблюдался у 16,6% больных, средний – у 56,7%, низкий – у 26,7% лиц. Улучшение психо-эмоционального здоровья (повышение самооценки, числа межличностных контактов, уменьшение комплекса социальной неполноценности и др.) отмечено у большинства больных I, II и III групп (51,9%, 83,3% и 63,3%, соответственно).

Клиническая эффективность локальной иммунокоррекции у больных с угревой болезнью сочеталась с улучшением показателей системного и местного иммунитета.

На фоне локальной иммунокоррекции у больных отмечалось восстановление в сыворотке крови (рис. 15-16) уровней ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-10,

ФНО- α , ТФР- β_1 , и цитокинсинтезирующей активности мононуклеаров периферической крови (рис. 17-18). После курса традиционной терапии и мезотерапии препаратом гентамицин концентрации исследуемых цитокинов достоверно снижались, однако, значений нормы достигали лишь у 25% и 33,3% пациентов, соответственно. Кроме того, (рис. 10-14) в процессе проведения комплексного лечения с применением ЛИ и мезотерапии препаратом гентамицин, по сравнению с традиционной терапией, наблюдалось улучшение показателей продукции АМП и NO, более выраженное у пациентов второй группы.

Подтверждением иммуномодулирующего действия препарата миелопид является и восстановление у большинства больных основной группы (у 93,3%) на фоне лечения исходно сниженного числа CD4+, CD8+, CD19+ лимфоцитов (табл. 8). При этом нормализация данных показателей у пациентов контрольной группы и группы сравнения регистрировалась только в 55,8% и в 63,3% случаев, соответственно. Это сочеталось с усилением экспрессии CD25, CD71 маркеров и повышением до нормы количества HLA-DR+ клеток у 96,7% пациентов II группы, у 57,7% и 66,7% I и III групп, соответственно (табл. 9). Из данных, представленных в Главе 5, следует, что достоверная положительная динамика после локальной иммунокоррекции путем мезотерапии отмечалась также в отношении исходно сниженного у 11% больных числа В-лимфоцитов (CD19+ клеток) и уровня IgG.

Таким образом, анализ результатов проведённых исследований позволяет сделать заключение о высокой эффективности и перспективности использования локальной иммунокоррекции в программах комплексного лечения больных *acne vulgaris*.

ВЫВОДЫ.

1. Одним из факторов развития иммунной дисфункции у больных аспе *vulgaris* является нарушение продукции эндогенных антимикробных пептидов (кателицидина LL-37, лактоферрина, миелопероксидазы, гепсидина) и оксида азота.
2. Препарат миелопид обладает прямой антибактериальной активностью в отношении грамположительных (*S. aureus*, *S. pyogenes*) и грамотрицательных бактерий (*E. coli*, *P. vulgaris* и *K. pneumoniae*).
3. Препараты миелопид и суперлимф оказывают *in vitro* дозозависимое иммуномодулирующее влияние на продукцию эндогенных антимикробных пептидов (кателицидина LL-37, лактоферрина и миелопероксидазы) и оксида азота мононуклеарными фагоцитами периферической крови больных акне и здоровых лиц.
4. Локальная иммунокоррекция путём мезотерапии препаратом миелопид повышает эффективность лечения папулопустулёзной формы угревой болезни: ускоряет санацию очагов акне и купирование перифолликулярного инфильтративного процесса, снижает частоту поствоспалительных косметических дефектов, сокращает сроки лечения, частоту рецидивов, способствует повышению качества жизни у 63,3% больных.
5. Применение в комплексном лечении папулопустулёзной формы аспе *vulgaris* локальной иммунокоррекции путем мезотерапии приводит у большинства больных к восстановлению в периферической крови числа CD4+, CD8+, CD19+ CD25+, HLA-DR+, CD71+лимфоцитов, уровня IgG, концентрации воспалительных и противовоспалительных цитокинов, нормализации в сыворотке крови и кожных смывах содержания эндогенных антимикробных пептидов (кателицидина LL-37, лактоферрина, миелопероксидазы) и оксида азота, а также спонтанной и ФГА-индуцированной продукции цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α , ИЛ-10) МНК периферической крови.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.

1. В комплексном лечении папулопустулёзной формы угревой болезни рекомендуется использовать локальную иммунокоррекцию препаратом миелопид, которую следует проводить путём мезотерапии с интервалом в 3 дня (2 раза в неделю) в течение 5 недель. В составе мезотерапевтического коктейля для процедуры локальной иммунокоррекции рекомендуется использовать 4 мл физиологического раствора, содержащего препарат миелопид (0,75 мг/мл). Технология мезотерапии должна включать трехкратную обработку кожи 0,05% раствором хлоргексидина (до нанесения анестезирующего крема «Эмла», после его удаления, по окончании мезотерапии), локальную анестезию 5% кремом «Эмла» (на 20-30 минут) и мезотерапию техникой «папул» в проекции проблемной зоны, под угревые высыпания.

2. В лечении больных *acne vulgaris* целесообразно использовать разработанную шкалу балльной оценки выраженности угревой болезни и эффективности лечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адашкевич, В.П. Акне и розацея / В.П. Адашкевич // С.-Пб: Ольга, 2000. - С. 14–20.
2. Адашкевич, В.П. Акне вульгарные и розовые / В.П. Адашкевич // НГМА, 2003. – 160 С.
3. Адашкевич, В.П. Акне у женщин / В.П. Адашкевич – Минск, 2003. – 215 С.
4. Адашкевич, В.П. Диагностические индексы в дерматологии / В.П. Адашкевич // М.: Медицинская книга, 2004. – 165 С.
5. Анцупова, В.С. Эффективность локальной иммунокоррекции в комплексном лечении спаечных процессов органов малого таза: автореф. дис. ... канд.мед.наук / В.С. Анцупова. - Курск, 2006. – 22 С.
6. Аравийская, Е.Р. Дерматозы лица в практике дерматокосметолога / Е.Р. Аравийская // Kosmetik international – 2008. - №5. – С. 20-30.
7. Аравийская, Е.Р. Кожный зуд. Акне. Урогенитальная хламидийная инфекция / Е.Р. Аравийская, Т.В. Красносельских, Е.В. Соколовский. – СПб.: Сотис, 1998. – С. 68-110.
8. Арзуманян, В.Г. Оценка стафилококковой и нелипофильной дрожжевой микрофлоры кожи у больных с кожной патологией при контактном способе посева / В.Г. Арзуманян, Е.В. Зайцева, Т.И. Кабаева // Вестник дерматологии и венерологии. - 2004. - № 6. - С. 3–6.
9. Ахтямов, С.Н. Вульгарные акне: вопросы этиологии и патогенеза / С.Н. Ахтямов, Г.Г. Сафарова // Российский журнал кожных и венерических болезней. - 1998. - № 5. - С. 54–58.
10. Ахтямов, С.Н. / С.Н. Ахтямов, Ю.С. Бутов // Практическая дерматокосметология: учебное пособие. – М: Медицина, 2003. – С. 249–266.
11. Базарный, В.В. Иммуномодуляция рибомунилом репаративных процессов в коже / В.В. Базарный, И.Е. Валамина, О.Н. Селянина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины - 2007. – Т. 143, № 6. - С. 660–662.

12. Белова, О.В. Роль цитокинов в иммунологической функции кожи / О.В. Белова, В.Я. Арион, В.И. Сергиенко // Иммунопатология, аллергология, инфектология. - 2008. - № 1. - С. 41–55.
13. Батыршина, С.В. Эффективность геля скинорен в наружной терапии больных угревой болезнью и розацеа / С.В. Батыршина, А.М. Гордеева, М.А. Богданова // Вестник дерматологии и венерологии. - 2005. - № 4. - С. 44–46.
14. Варюшина, Е.А. Изучение механизмов местного иммуностимулирующего действия интерлейкина - 1 β . Повышение продукции провоспалительных цитокинов в очаге воспаления под влиянием интерлейкина - 1 β / Е.А. Варюшина, А.Ю. Котов, А.С. Симбирцев // Иммунология. - 2000. - №4. - С.45-48.
15. Вершигора, А.Е. Клеточные и молекулярные основы местного иммунитета / А.Е. Вершигора, В.В. Овод // Успехи современной биологии. - 1981. - №3. - С. 393-408.
16. Ганковская, Л.В. Иммуноцитокнины: регуляция функций макрофагов, локальная иммунокоррекция: автореф. дис. ... докт. мед. наук /Л.В. Ганковская. - М., 1993. - 40 С.
17. Ганковская, Л.В. Локальная цитокиноterapia: от механизма в клинику / Л.В. Ганковская, Л.В. Ковальчук// Russian Journal of Immunology. - 1999. - Vol. 4, №1. - С. 62.
18. Глубокова, И.Б. Дерматокосметологическая санация акне / И.Б. Глубокова // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. - 2004. - №3. - С. 42-44.
19. Голиков, П.П. Оксид азота в клинике неотложных заболеваний /П.П. Голиков. - М., 2004. - 315 С.
20. Голиков, П.П. Продукция оксида азота лейкоцитами и тромбоцитами периферической крови человека в норме и при сосудистой патологии / П.П. Голиков, В.Л. Лемнев, Н.Ю. Николаев // Гематология и трансфузиология. - 2003. - Т.48, № 2. - С. 28-32.

21. Гунина, Н.В. Роль половых стероидных гормонов в патогенезе акне / Н.В. Гунина, С.А. Масюкова, А.А. Пищулин // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. – 2005. – № 5. – С. 55–62.
22. Дашкова, Н.А. Клинико-лабораторные показатели рецидивов вульгарных угрей, коррекция этих состояний /Н.А. Дашкова, М.Ф. Логачев // Вестник дерматологии и венерологии. – 2006. - № 5. – С. 73-77.
23. Дашкова, Н.А. Акне: природа возникновения и развития, вопросы систематизации и современные ориентиры в выборе терапии /Н.А. Дашкова, М.Ф. Логачев //Вестник дерматологии и венерологии. – 2006. - № 4. – С. 8-13.
24. Демихов, В.Г. Роль гепсидина в патогенезе анемии хронических болезней /В.Г. Демихов, Е.Ф. Морщакова, А.Д. Павлов // Гематология и трансфузиология. – 2006. – Т. 51, № 5. – С. 31-34.
25. Демьянов, А.В. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике / А.В. Демьянов, А.Ю. Котов, А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление.- 2003. – Т.2, №3. – С. 20-36.
26. Долгина, Е.Н. Рецепторная (цитокин-опосредованная) и нереперторная (лазер-индуцированная) активация эффекторных функций фагоцитов: автореф. дис. ... канд. мед. Наук /Е.Н. Долгина. – М., 2001. – 21 С.
27. Долженицына, Н. А. Опыт лечения угревой болезни / Н.А. Долженицына, И. М. Кенсовская, Д. С. Панченко // Материалы научных трудов 1 Форума Национального альянса дерматологов и косметологов. – Ростов-на-Дону, 2007. - С. 78-80.
28. Ефимова, М.Р. Общая теория статистики: учеб. / М.Р. Ефимова, Е.В. Петрова, В.Н. Румянцева. – 2–е изд., испр. и доп. – М.: ИНФРА, 1999. – 416 С.
29. Зайцев, В.М. Прикладная медицинская статистика /Зайцев В.М., Лифляндский В.Г. – СПб: Издательство СПб Гос. мед. академ., 2000. – 299 с.
30. Зараева, З.Ф. Предстимуляция рекомбинантными иммуноцитокинами нейтрофилов больных стафилококковыми инфекциями / З.Ф. Зараева // International Journal Immunorehabilitation. – 2002. – Т.4, №1. – С. 64.

31. Иванов, Д. В. Лечебная тактика при *acne vulgaris* /Д.В. Иванов, С. В. Буданов // Клиническая дерматология и венерология. – 2007. – №2.- С. 52-62.
32. Катунина, О.П. Иммунная система кожи и ее роль в патогенезе псориаза / О.П. Катунина // Вестник дерматологии и венерологии. – 2005. – №1. – С. 19-22.
33. Кетлинский, С.А. Цитокины и их антагонисты: теория и практика /С.А. Кетлинский, А.М. Ищенко// Медицинская иммунология. – 1999. – Т.1, №3-4. – С. 16.
34. Клиническая иммунология /под ред. А.В. Караулова. - М., 1999. - 604 С.
35. Ковальчук, Л.В. Иммунокоррекция цитокинами /Л.В. Ковальчук, Л.В. Ганковская, В.А. Левченко // Вестник РГМУ. – 2002. - №3. – С. 6-12.
36. Клинические рекомендации. Дерматовенерология / Под ред. А.А. Кубановой . – М.: ДЭКС- Пресс. – 2007. - 300 С.
37. Ковальчук, Л.В. Опыт клинического применения комплекса природных цитокинов и противомикробных пептидов /Л.В. Ковальчук, Л.В. Ганковская, Е.Н. Долгина [и др.] //Аллергология и иммунопатология. Материалы 2 Всемирного Конгресса по иммунопатологии и аллергии. – Т.5, №3. - С. 43.
38. Ковальчук, Л.В. Система цитокинов: учебное пособие / Л.В. Ковальчук, Л.В. Ганковская, Э.И. Рубакова. - М., 2000. – 65 С.
39. Ковальчук, Л.В. Противомикробные пептиды иммунной системы: клинические аспекты / Л.В. Ковальчук, Л.В. Ганковская, А.Ф. Мороз //Аллергология и иммунопатология. - 2003. – Т.4, №2. - С. 20-26.
40. Ковальчук, Л.В. Противостафилококковое действие комплекса природных цитокинов Л.В. Ковальчук, Л.В. Ганковская, А.Ф. Мороз // Журнал микробиологии. - 2004. –№1. - С. 55-59.
41. Кокряков, В.Н. Биология антибиотиков животного происхождения /В.Н. Кокряков. – СПб.: Наука. - 1999. – С. 29-32.
42. Кокряков, В.Н. Очерки о врожденном иммунитете /В.Н. Кокряков. – СПб.: Наука. - 2006. – 261 С.

43. Колмакова, Е.Ф., Новые возможности коррекции атрофических дефектов кожи с применением препарата «Матридекс» / Е.Ф. Колмакова, Е.А. Санчес, О.С. Панова // Вестник эстетической медицины. – 2005. – № 3. – С. 98–99.
44. Коненков, В.И. Комплексная оценка уровня СопА-индуцированной продукции цитокинов в культуре мононуклеарных клеток периферической крови здоровых лиц / В.И. Коненков, В.В. Авдошина, И.Г. Ракова // Медицинская иммунология. – 2006. – Т.8. - № 4. – С. 517-522.
45. Котова, Н.В. Комплексное лечение юношеских акне с использованием лейкинферона: автореф. дис. ... канд.мед.наук / Н.В. Котова. - Москва, 1999. – 17 С.
46. Кубанова, А.А. Современные особенности патогенеза и терапии акне /А.А. Кубанова, В.А. Самсонов, О.В. Забненкова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2003. - № 1. – С. 9-15.
47. Кунгуров, Н.В., Патогенетическая терапия угревой болезни: результаты клинического исследования / Н.В. Кунгуров, М.М. Кохан, О.В. Шабардина // Клиническая дерматология и венерология. - 2005. - № 3. - С. 55–60.
48. Ликопид в комплексном лечении и профилактике иммунодефицитных состояний / Сборник научных статей. – М. – 2005. – 236 С.
49. Локтева, И.А. Коррекция иммунофаном и суперлимфом нарушений функции фагоцитов у больных хроническими воспалительными заболеваниями органов малого таза в условиях применения лапароскопии: автореф. дис. ... канд.мед.наук / И.А. Локтева. - Курск, 2003. – 22 с.
50. Майорова, А.В. Угревая болезнь в практике врача дерматокосметолога / А.В. Майорова, В.С. Шаповалов, С.Н. Ахтямов. – М: Кавель, 2005.
51. Малышева, Е.В. Внутриклеточный и внеклеточный NO дифференциально модулирует стресс-ответ и апоптоз в макрофагах, подвергнутых воздействию биологических или физических факторов / Е.В. Малышева, С.В. Круглов, В.А. Назаров [и др.] // Бюллетень

экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – Т. 143. - № 6. – С. 614-618.

52. Масюкова, С.А. Акне: проблема и решение / С.А. Масюкова, С.Н. Ахтямов // *Consilium medicum*. – 2002. – Т. 4. - № 5. – С. 217-223.

53. Маянский, А. Н. Клинические аспекты фагоцитоза /А.Н. Маянский, О.И. Пикуза. – Казань: «Магариф», 1993. – 192 с.

54. Маянский, А. Н. Лекции по клинической патологии: руководство для врачей / А. Н. Маянский. – Новосибирск, 1997. - 249 С.

55. Метельская, В.А. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови /В.А. Метельская, Н.Г. Гуманова// *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2005. - №6. – С. 15–18.

56. Монахов, С.А. Динамика показателей дерматологического индекса Качества Жизни (ДИКЖ) в процессе лечения акне препаратом «Дифферин» /С.А. Монахов, М.А. Самгин, Н.Г. Кочергин // Сборник трудов конференции «Современные вопросы дерматологии и венерологии», посвященной 10-летию каф. кож.-вен. болезней педиатр. ф-та РГМУ и отд. дерматоаллергологии РДКБ. – М., 2002. – С. 85–86.

57. Монахов, С.А. Современная терапия акне антиандрогенными препаратами у женщин: эффективность и переносимость / С.А. Монахов, О.Л. Иванов // *Гинекология*. – 2006. - №3. – С. 25–30.

58. Набока, Н.В. Антиандрогенный эффект перорального контрацептива ярина в комплексной терапии угревой болезни / Н.В. Набока, В.Н. Иванюк // *Клиническая дерматология и венерология*. - 2008. - № 6. - С. 68–70.

59. Наход, Е.В. Уровень ИЛ-10 и GM-CSF у мужчин с угревой болезнью в зависимости от степени тяжести заболевания / Е.В. Наход // *Российский иммунологический журнал*. - 2008. – Т. 2(11), № 2-3. - С. 181.

60. Нестерова, И.В. Современные представления о роли системы нейтрофильных гранулоцитов /И.В. Нестерова, Н.В. Колесникова// *Russian Journal of Immunology*. – 1999. – Vol. 4, №1. – С. 22-29.

61. Никанкина, Л.В. Особенности цитокин - зависимой регуляции кислородного метаболизма фагоцитов: автореф. дис...канд. мед. наук /Л.В. Никанкина. - Москва, 2001. – 22 с.
62. Озёрская, О.С. Мезотерапия в дерматокосметологии /О.С. Озерская. – СПб., 2003. – 296 С.
63. Озёрская, О.С. Кожные заболевания в практике дерматокосметолога / О.С. Озёрская // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. – 2004. - №3. – С. 2-8.
64. Озёрская, О.С. Мезотерапия acne vulgaris /О.С. Озерская, Е.Н. Левицкая // Вестник ОГУ. – 2006. - №12. – С. 186-190.
65. Озёрская, О.С. Влияние мезотерапии на микрофлору кожи и кишечника у пациентов с акне / О.С. Озерская // Kosmetik international – 2008. - №5. – С. 43-46.
66. Пауков, В.С. Иммунопатология и морфология хронического воспаления /В.С. Пауков, В.К. Гостицев, Н.Г. Ермакова // Арх. Патологии. – 1996. — С. 28-30.
67. Петров, Р.В. Иммунология. - М., 1982. – 287 С.
68. Петров, Р.В. Иммунофармакологические подходы к оценке иммуномодуляторов / Р.В. Петров, Р.М. Хайтов, А.Н. Чередеев// Иммуномодуляторы. – М., 1987. – С. 3-25.
69. Петрова, Л.В. Арбум в терапии угревой болезни /Л.В. Петрова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2004. - № 6. – С. 50-51.
70. Потекаев, Н.Н. Угревая болезнь и гиперандрогения: некоторые аспекты диагностики / Н.Н. Потекаев, Ю.Э. Доброхотова, М.В. Горячкина // Клиническая дерматология и венерология. – 2008. - № 6. – С. 24-27.
71. Роговская, С.И. Акне как проявление синдрома гиперандрогении: методы коррекции / С.И. Роговская, А.В. Телунц. – Provisorum, 2002. – 65 С.
72. Сажина, Е.В. Введение в мезотерапию / Е.В. Сажина, Н.Ф. Яровая. - М., 2007. – 44 С.

73. Самгин, М.А. Новое в патогенезе и местной терапии угревой сыпи / М.А. Самгин, С.А. Монахов // Вестник дерматологии и венерологии. – 2003. - № 2. – С. 31-38.
74. Самгин, М. А. Новые возможности в местной терапии акне / М.А. Самгин, С.А. Монахов // Вестник эстетической медицины. – 2002. – Т. 1, № 2. – С. 164–166.
75. Самгин, М.А. Современный взгляд на воспаление при акне / М.А. Самгин, С.А. Монахов // Вестник дерматологии и венерологии. – 2003. - № 6. – С. 48-49.
76. Симбирцев, А.С. Цитокины: классификация и биологические функции / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т.3, №2. – С. 16-21.
77. Синельникова, Е.Ю. Спонтанная продукция цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-1 α , ИЛ-4, ФНО- α нейтрофильными гранулоцитами здоровых доноров / Е.Ю. Синельникова // Аллергология и иммунология. - 2004. – Т. 5, №1. – С. 31.
78. Ситникова, Е.В. Мезотерапия: гипотезы и реальность / Е.В. Ситникова, Н.Н. Потехаев // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. – 2004. - №1. – С. 39-42.
79. Славянская, Т.А. Роль цитокинов в иммунопатологии / Т.А. Славянская, Р.И. Сепиашвили // Аллергология и иммунопатология. – 2005.- Т. 5, №3. - С. 42.
80. Снимщикова, И.А. Иммунопатологическая и клиническая характеристика эффективности локальной иммунокоррекции при некоторых гнойно – воспалительных заболеваниях: автореф. дис. ... д.м.н. (14.00.36) / И.А. Снимщикова. - Курск, 2001. – 42 С.
81. Суворова, К.Н. Пубертатные акне: прогноз и рациональное лечение / К.Н. Суворова, Т.А. Сысоева // Вестник дерматологии и венерологии. – 2004. - № 4. – С. 49-51.

82. Суворова, К.Н. Акне: актуальные методы терапии и косметической коррекции / К.Н. Суворова, С.Л. Гомболевская, М.В. Камакина. – М., 2005. – С. 14-18.
83. Суперлимф в комплексном лечении заболеваний урогенитального тракта / под ред. Л.В. Ковальчука. – М., 2003. – 44 С.
84. Тотолян, А.А. Клетки иммунной системы / А.А. Тотолян, И.С. Фрейдлин. – СПб.: Наука, 2000. – 231 С.
85. Тотолян, А.А. Место цитокинов в лабораторной диагностике иммунопатологических состояний / А.А. Тотолян // Лаборатория. – 1999. - №1. – С. 20-22.
86. Федосеева, В.Н. Руководство по иммунологическим и аллергологическим методам в гигиенических исследованиях / В.Н. Федосеева, Г.В. Порядин, Л.В. Ковальчук. – М.: Промедэк, 1993. – 320 с.
87. Фрейдлин, И.С. Клетки иммунной системы. III-IV / И.С. Фрейдлин, А.А. Тотолян. – С.Петербург: Наука, 2001. – 177 С..
88. Фримель, М. Иммунологические методы /М. Фримель – М.: Медицина, 1980. – 340 С.
89. Хаитов, Р. М. Иммунология /Р. М. Хаитов, Г.А. Игнатьева, И.Г. Сидорович. - М., 2000. – 285 С.
90. Хаитов, Р. М. Физиология иммунной системы /Р. М. Хаитов. - М.: VINITI, 2005. – 376 С.
91. Черешнев, В.А. Иммунология воспаления. Роль цитокинов /В.А. Черешнев, Е.Ю.Гусев. - Медицинская иммунология. – 2001. – Т.3, №3 – С. 361-368.
92. Черешнев, В.А. Иммунофизиология / В.А. Черешнев, Б.Г. Юшков, В.Г. Клитин. – Екатеринбург, 2002. – 285 С.
93. Ярилин, А.А. Основы иммунологии /А.А. Ярилин. – М.: «Медицина», 1999. – 607 С.
94. Aamir, Haider. Treatment of Acne Vulgaris / Haider Aamir. - JAMA. – 2004. - Vol. 292, N. 6. - P. 726-735.

95. Aggarwal, B. Cytokines from clone to clinic / B. Aggarwal, E. Pocsik // *Archive Biochemistri end Biophysic.* – 2000. – Vol.292. – P. 335-345.
96. Andersson, E. Isolation of human cationic antimicrobial protein-18 from seminal plasma and its association with prostasomes / E. Andersson, J. Malm, O. E. Sorensen // *Human reproduction.* – 2002. - Vol.17. – P. 2529–2534.
97. Bacon, K. Chemokines in disease models and Pathogenesis / K. Bacon, J. Oppenheim // *Cytokine and Growth Factor Reviews.* – 1998. – Vol.9. – P. 167-173.
98. Baker, H.M. Lactoferrin and iron: structural and dynamic aspects of binding and release / H.M. Baker, E.N. Baker // *Biometals.* – 2004. - Vol.17. – P. 209-216.
99. Barlow, P. G. The human cationic host defense peptide LL-37 mediates contrasting effects on apoptotic pathways in different primary cells of the innate immune system / P.G. Barlow, Y. Li, T.S. Wilkinson // *Journal Leukocital Biology.* – 2006. – Vol. 80. – P. 509-520
100. Bellamy, C.O.C. Cell death in health disease: the biology and regulation of apoptosis / C.O.C. Bellamy, R.D.G. Malcomso, D.J. Harrison // *Seminary Cancer Biology.* – 1995. – Vol.6, №1. – P. 3.
101. Borregaard, K. Neutrophils and keratinocytes in innate immunity-cooperative actions to provide antimicrobial defense at the right time and place / K. Borregaard Theilgaard-Monch, J. B. Cowland // *Journal Leukocital Biology* – 2005. - Vol. 77(4). - P. 439 - 443.
102. Bowdish, D. Impact of LL-37 on anti-infective immunity /D. Bowdish, J. Davidson, Y. E. Lau // *Journal Leukocital Biology.* – 2005. - Vol. 77(4). – P. 451 - 459.
103. Bowdish, D. Immunomodulatory Activities of Small Host Defense Peptides / D. Bowdish, J. Davidson, M. G. Scott // *Antimicrob. Agents Chemotherapy.* – 2005. - Vol. 49(5). - P. 1727 - 1732.

104. Braff, M.H. Keratinocytes store the antimicrobial peptide cathelicidin in lamellar bodies / M.H. Braff, A. Di Nardo // *Journal Investigation Dermatology* – 2005. – Vol. 124. – P. 394-400.
105. Braff, M. H. Keratinocyte Production of Cathelicidin Provides Direct Activity against Bacterial Skin Pathogens / M. H. Braff, M. Zaiou, J. Fierer // *Infections Immunity*. – 2005. - Vol. 73(10). – P. 6771 - 6781.
106. Bridle, K.R. Disrupted hepcidin regulation in HFE-associated haemochromatosis and the liver as a regulator of body iron homoeostasis / K.R. Bridle// *Lancet*. – 2003. - Vol. 361. – P. 669–673.
107. Buck, C.B. Human alpha-defensins block papillomavirus infection /C.B. Buck, P.M. Day, C.D. Thompson // *Proc. Natl. Acad. Sciency USA*. – 2006. – Vol. 103. – P. 1516-1521.
108. Carmina, E. A comparison of the relative efficacy of antiandrogens for the treatment of acne in hyperandrogenic women /E. Carmina, R.A. Lobo // *Clinical Endocrinology (Oxf)*. – 2002. - Vol. 57. – P. 231-234.
109. Carretero, M. A cutaneous gene therapy approach to treat infection through keratinocyte-targeted overexpression of antimicrobial peptides / M. Carretero, M. Del Rio, M. Garcia // *FASEB J*. – 2004. – Vol. 18. – P. 1931-1933.
110. Conner K. The antimicrobial peptide LL-37 is expressed by keratinocytes in condyloma acuminatum and verruca vulgaris / K. Conner, K. Nern, J. Rudisill // *J. American Academy Dermatology*. – 2002. – Vol. 47. – P. 347-50.
111. Cordain, L. Acne vulgaris: a disease of western civilization /L. Cordain, S. Lindeberg, M. Hurtado // *Archives Dermatology* – 2002. – Vol.138 (12). - P. 1584–1590.
112. Cumberbatch, M. Regulation of epidermal Langerhans cell migration by lactoferrin /M. Cumberbatch, Dearman R.J., Uribe-Luna S. // *Immunology*. – 2000. – Vol. 100. – P. 21-28.
113. Cunliffe, W.J. Comedonogenesis: some new aetiological, clinical and therapeutic strategies / W.J. Cunliffe, D.B. Holland, S.M. Clark s// *Britan Journal Dermatology* – 2000. – Vol. 142. – P. 1084–1091.

114. Cunliffe, W.J. A randomized double blind comparison of clindamycin phosphate benzoyl peroxide gel formulation and a matching clindamycin gel with respect to microbiologic activity and clinical efficacy in the topical treatment of acne vulgaris /W.J. Cunliffe, K.T. Holland, R.E. Bojar // *Clinical Therapy* – 2004. – Vol. 24. – P. 1117-1133.
115. Dallalio, G. Serum hepcidin in clinical specimens / G. Dallalio, T. Fleury, R.T. Means// *Britan Journal Haematology*. – 2003. - Vol. 122. – P. 996–1000.
116. Jongh, G.J. High expression levels of keratinocyte antimicrobial proteins in psoriasis compared with atopic dermatitis / G.J. Jongh, P.L. Zeeuwen, M. Kucharekova // *Journal Investigations Dermatology* – 2005. – Vol. 125. – P. 1163-73.
117. De, Yang. LL-37, the neutrophil granule- and epithelial cell-derived cathelicidin, utilizes formyl peptide receptor-like 1 (FPRL1) as a receptor to chemoattract human peripheral blood neutrophils, monocytes, and T cells / Yang De, Q. Chen, A.P. Schmidt // *Journal Experimental Medicine* – 2000. – Vol. 192. – P. 1069–1074.
118. Di Nardo, A. Mast cell antimicrobial activity is mediated by expression of cathelicidin antimicrobial peptide /A. Di Nardo, A. Vitiello, R. L. Gallo// *Journal Immunology* – 2003. – Vol. 170. – P. 2274-2278.
119. Dorschner, R.A. Cutaneous injury induces the release of cathelicidin antimicrobial peptides active against group A Streptococcus /R.A. Dorschner, V.K. Pestonjamas, S. Tamakuwala // *Journal Investigations Dermatology* – 2001. – Vol. 117. – P. 91-97.
120. Fordand, E.S. Invited Commentary: Acne in Adolescence--Protecting the Heart but Damaging the Prostate Later in Life? /E.S. Fordand, S. Liu // *American Journal Epidemiology*. – 2005. - Vol. 161(12). – P.1102 - 1106.
121. Eady, A.E. Is antibiotic resistance in cutaneous propionibacteria clinically relevant: implications of resistance for acne patients and prescribers /A.E. Eady,

J.H. Cove, A.M. Layton // *American Journal Clinical Dermatology* – 2003. – Vol. 4. – P. 813-831.

122. Eichenfield, L.F. Acne and Your Pediatric Patient: A Roundtable Discussion of Treatment Modalities and Other Factors /L.F. Eichenfield // *Cutis*. - 2005. - Vol. 76(5S). – P. 5-17.

123. Ellis, C.N. Therapeutic studies with a new combination benzoyl peroxide/clindamycin topical gel in acne vulgaris / C.N. Ellis, J. Leyden, H.I. Katz // *Cutis*. – 2001. - Vol. 67(suppl 2). – P. 13-20.

124. Fleming, R.E. Hpcidin: a putative iron regulatory hormone relative to hereditary hemochromatosis and the anemia of chronic disease / R.E. Fleming, W.S. Sly // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2001. - Vol.98. – P. 8160–8162.

125. Fulton, C. Expression of natural peptide antibiotics in human skin /C. Fulton, G.M. Anderson, M. Zasloff // *Lancet*. – 1997. – Vol. 350. - P. 1750-1751.

126. Ganz, T. Antimicrobial polypeptides in host defense of the respiratory tract / T. Ganz // *Journal Clinical Investigations* – 2002. – Vol. 109. – P. 693–697.

127. Ganz, Tomas. Antimicrobial polypeptides / Tomas Ganz // *Journal of Leukocyte Biology*. – 2004. - Vol.75. – P. 34-38.

128. Gollnick, H. Management of acne: a report from a Global Alliance to Improve Outcomes in Acne. / H. Gollnick, W. J. Cunliffe, D. J Berson // *Journal American Academi Dermatology* – 2003. - Vol. 49, Suppl: S. – P. 1-37.

129. Goulden, V. Prevalence of facial acne in adalts / V. Goulden, G.I. Stables, W.J. Cunliffe // *Journal American Academi Dermatology*. – 1999, October. – P. 577–580.

130. Gupta, M.A. Depression and suicide ideation in dermatology patients with acne, alopecia areata, atopic dermatitis and psori / M.A. Gupta // *Britan Journal Dermatology*. – 1998. – Vol. 139. – P. 846–850.

131. Hancock, R. E. The role of cationic antimicrobial peptides in innate host defences / R.E. Hancock, G. Diamond // *Trends Microbiology*. – 2000. – Vol. 8. – P. 402–410.

132. Harder, J. Review: Human antimicrobial proteins effectors of innate immunity /J. Harder, R. Glaser, J.-M. Schroder // *Innate Immunity*. – 2007. - Vol. 13(6). – P. 317 - 338.
133. Harder, J. A peptide antibiotic from human skin / J.A. Harder, J. Bartels, E. Christophers, J. M. Schroder // *Nature*. – 1997. – Vol. 387. – P. 861.
134. Heilborn, J.D. The cathelicidin anti-microbial peptide LL-37 is involved in reepithelialization of human skin wounds and is lacking in chronic ulcer epithelium / J.D. Heilborn, M.F. Nilsson, G. Kratz // *Journal Investigations Dermatology*. – 2003. – Vol. 120. - P. 379-89.
135. Howell, M.D. Interleukin-10 downregulates antimicrobial peptide expression in atopic dermatitis / M.D. Howell, N. Novak, T. Bieber // *Journal Investigations Dermatology*. – 2005. – Vol. 125. – P. 738-745.
136. Howell, M.D. Cathelicidin deficiency predisposes to eczema herpeticum / M.D. Howell, A. Wollenberg , R.L. Gallo // *Journal Allergy Clinical Immunology*. – 2006. – Vol. 117. – P. 836-41.
137. Hunter, H.N. The solution structure of human hepcidin, a peptide-hormone with antimicrobial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis / H.N. Hunter, D.B. Fulton, T. Ganz // *Journal Biology Chemistry*. - 2002. - Vol. 277. – P. 37597-37603.
138. Iimura, M. Cathelicidin mediates innate intestinal defense against colonization with epithelial adherent bacterial pathogens / M. Iimura, R.L. Gallo, K. Hase // *Journal Immunology* – 2005. – Vol. 174. - P. 4901-4907.
139. Ilyin, G. Comparative analysis of mouse hepcidin 1 and 2 genes: evidence for different patterns of expression and co-inducibility during iron overload /G. Ilyin, // *FEBS Lett*. – 2003. - Vol. 542. – P. 22–26.
140. Ingham, E. Proinflammatory levels of IL-1-bioactivity are present in the majority of open comedones in acne vulgaris / E. Ingham, E.A. Eady, C.C. Goodwin // *Dermatology Online Journal*. – 2002. – Vol. 98. – P. 895–901.
141. Jones, D. The potential immunomodulatory effects of topical retinoids / D. Jones // *Dermatology Online Journal*. – 2008. - Vol. 11, №1. – 16 P.

142. Jugeau, S. Induction of toll-like receptors by *Propionibacterium acnes* / S. Jugeau, I. Tenaud, A.C. Knol // *British Journal of Dermatology*. – 2005. – Vol. 153. – P. 1105-1113.
143. Kenshi, Yamasaki. Antimicrobial peptides in human skin disease / Yamasaki Kenshi, Richard L. Gallo // *European Journal of Dermatology*. – 2008. – Vol. 18. – P.11-21.
144. Kilkeny, M. The prevalence of common condition in Australian school students: acne vulgaris / M. Kilkeny, K. Mewrlin, A. Plunkett // *British Journal of Dermatology*. – 1998. – Vol. 139(5). – P. 840–845.
145. Kim, J. Activation of toll-like receptor 2 in acne triggers inflammatory cytokine responses / J. Kim, Ochoa M.T., Krutzik S.R. // *Journal of Immunology*. – 2002. – Vol.169. – P. 1535-1541.
146. Klebanoff, S.J. Myeloperoxidase: friend and foe / S.J. Klebanoff // *Journal of Leukocyte Biology*. – 2005. – Vol. 77(5). – P. 598 - 625.
147. Koji, Sayama. New mechanisms of skin innate immunity: ASK1-mediated keratinocyte differentiation regulates the expression of β -defensins, LL37, and TLR2 / Sayama Koji, Hitoshi Komatsuzawa, Kenshi Yamasaki // *European Journal of Immunology*. – Vol. 35. – P. 1886 – 1895.
148. Le, Coz. Mesoterapia en medicina general. / *J. Invest. Dermatology*. – 2001. Vol. 542. – P. 22–26.
149. Lee, P. H. Expression of an additional cathelicidin antimicrobial peptide protects against bacterial skin infection / P.H. Lee, T. Ohtake, M. Zaiou // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2005. – Vol. 102. – P. 3750-3755.
150. Lehmann, H.P. Acne therapy: a methodologic review / H.P. Lehmann, K.A. Robinson, J.S. Andrews // *Journal American Academy Dermatology*. – 2002. – Vol. 47. – P. 231-240.
151. Lehrer, R. I. Antimicrobial peptides in mammalian and insect host defence / R.I. Lehrer, T. Ganz // *Current opinion Immunology*. – 1999. – Vol. 11. – P. 23–27.

152. Lehrer, R. I. Cathelicidins: a family of endogenous antimicrobial peptides / R.I. Lehrer, T. Ganz // *Current opinion Hematology*. – 2002. – Vol. 9. – P. 18–22.
153. Leukoc, J. Inducible expression of an antimicrobial peptide of the innate immunity in polymorphonuclear leukocytes / J. Leukoc, Tomasinsig L., Scocchi M. // *Biology* – 2002. – Vol. 72. - P. 1003–1010.
154. Levy, Ofer. Antimicrobial proteins and peptides: anti-infective molecules of mammalian leukocytes / Ofer Levy // *Journal of Leukocyte Biology*. – 2004. - Vol. 76. – P. 909-925.
155. Leyden, J. J. Current issues in antimicrobial therapy for the treatment of acne / J. J. Leyden // *JEADV*. – 2001. – Suppl. 3, Vol. 15. – P. 51–55.
156. Leyden, J.J. Efficacy of a low-dose oral contraceptive containing 20 microg of ethinyl estradiol and 100 microg of levonorgestrel for the treatment of moderate acne: a randomized placebo-controlled trial / J.J. Leyden, A. Shalita, M. Hordinsky // *Journal American Academy Dermatology* – 2002. – Vol. 47. – P. 399-409.
157. Leyden, J.J. A review of the use of combination therapies for the treatment of acne vulgaris / J.J. Leyden // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2003. – Vol. 49(3). – P. 200-210.
158. Liu, A.Y. Human beta-defensin-2 production in keratinocytes is regulated by interleukin-1, bacteria, and the state of differentiation / A.Y. Liu, D. Destoumieux, L. Liu // *Journal Investigations Dermatology*. – 2002. – Vol. 118. – P. 275-81.
159. Lopez-Garcia, B. Anti-fungal activity of cathelicidins and their potential role in *Candida albicans* skin infection / B. Lopez-Garcia, P.H. Lee, K. Yamasaki // *Journal Investigations Dermatology*. – 2005. – Vol. 125. – P. 108-115.
160. Loren, Cordain. Acne Vulgaris A Disease of Western Civilization / Cordain Loren, Staffan Lindeberg, Magdalena Hurtado // *Archive Dermatology*. – 2002. - Vol. 138, N. 12. - P.1584-1590.
161. Lou, D.Q. Functional differences between hepcidin-1 and -2 in transgenic mice / D.Q. Lou // *Blood*. – 2004. - Vol. 103. – P. 2816–2821.

162. Lucky, A. Efficacy and tolerance of adapalene cream 0.1% compared with its cream vehicle for the treatment of acne vulgaris /A. Lucky, J.L. Jorizzo// *Cutis*. – 2001. - Vol. 68. – P. 34-40.
163. Lucky, A.W. Acne vulgaris in early adolescent boys. Correlations with pubertal maturation and age /A. W. Lucky // *Archives of Dermatology*. – 1991. - Vol.127(2). – P. 210-216.
164. Lucky, A.W. Predictors of severity of acne in young adolescent girls: results of a five-year longitudinal study/A. W. Lucky // *The Journal of Pediatrics*. – 1997. - Vol. 130(1). – P. 30-39.
165. Lucky, A.W. A Review of Infantile and Pediatric Acne /A.W. Lucky// *Dermatology*. – 1998. - Vol. 196(1). – P. 95-97.
166. Maciejewski, J.P. Nitric oxide suppression of human hematopoiesis in vitro / J.P. Maciejewski, C. Selleri, T. Sato // *Journal Clinical Investigations*. - 1995. - Vol. 96. – P. 1085 -1092.
167. Magin, P. A systematic review of the evidence for ‘myths and misconceptions’ in acne management: diet, face-washing and sunlight / P. Magin, D. Pond// *Family Practice*. – 2004. - Vol. 22. - P. 62–70.
168. Marissa, H. Keratinocyte Production of Cathelicidin Provides Direct Activity against Bacterial Skin Pathogens / H. Marissa, Mohamed Zaiou, Joshua Fierer // *Infection and Immunity*. – 2005. - Vol. 73, N. 10. - P. 6771-6781.
169. Millikan, L. E. Pivotal clinical trials of adapalene in the treatment of acne / L. E. Millikan // *JEADV*. – 2001. – Suppl. 3, Vol. 15. – P. 19–22.
170. Moshage, H. Cytokines and the hepatic acute phase response / H. Moshage // *Journal Pathology* – 1997. - Vol.181. – P. 257-266.
171. Murakami, M. Cathelicidin anti-microbial peptide expression in sweat, an innate defense system for the skin / M. Murakami, T. Ohtake, R. A. Dorschner // *Journal Investigations Dermatology*. – 2002. - Vol. 119. – P. 1090-1095.
172. Nardo, A. Mast Cell Cathelicidin Antimicrobial Peptide Prevents Invasive Group A Streptococcus Infection of the Skin / A. Nardo,

- K. Yamasaki, R. A. Dorschner, Y. Lai // *Journal Immunology*. – 2008. - Vol. 180(11). – P. 7565 - 7573.
173. Nagy, I. Propionibacterium acnes and lipopolysaccharide induce the expression of antimicrobial peptides and proinflammatory cytokines/chemokines in human sebocytes / I. Nagy, A. Pivarcsi, K. Kiss, C.C. Zouboulis // *Microbes Infect.* - 2006. - Vol. 8. – P. 2195–2205.
174. Nicolas, G. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice / G. Nicolas, M. Bennoun, I. Devaux // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. – 2001. - Vol.98. – P. 8780-8785.
175. Nicolas, G. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation / G. Nicolas // *Journal Clinical Investigations*.-2002. - Vol. 110. – P. 1037–1044.
176. Niyonsaba, F. Antimicrobial Peptides Human beta-Defensins Stimulate Epidermal Keratinocyte Migration, Proliferation and Production of Proinflammatory Cytokines and Chemokines / F. Niyonsaba, H. Ushio, N. Nakano // *Journal Investigations Dermatology*. - 2006. - Vol. 101. – P. 2461–2463.
177. Niyonsaba, F. A cathelicidin family of human antibacterial peptide LL-37 induces mast cell chemotaxis / F. Niyonsaba, K. Iwabuchi, M. Hirata, H. Matsuda // *Immunology*. – 2002. – Vol. 106. – P. 20–26.
178. Nizet, V. Innate antimicrobial peptide protects the skin from invasive bacterial infection / V. Nizet, T. Ohtake, X. Lauth // *Nature*. – 2001. – Vol. 414. – P. 454–457.
179. Nomura, I. Cytokine milieu of atopic dermatitis, as compared to psoriasis, skin prevents induction of innate immune response genes. / I. Nomura, E. Goleva, M. D. Howell // *Journal Immunology*. - 2003. - Vol.171. – P. 3262-3269.
180. Ong, P. Y. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis / P. Y. Ong , T. Ohtake, N. Brandt // *England Journal Medicines*. – 2002. - Vol. 347. – P. 1151–1160.
181. Orsi, N. The antimicrobial activity of lactoferrin: current status and perspectives / N. Orsi // *Biometals*. – 2004. Vol. 17. – P. 189-96.

182. Ozolins, M. Comparison of five antimicrobial regimens for treatment of mild to moderate inflammatory facial acne vulgaris in the community / M. Ozolins, E.A. Eady // *Lancet*. – 2004. – Vol. 364. – P. 2188-2195.
183. Park, C.H. Hecpidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver / C.H. Park, E.V. Valore, A.J. Waring // *Journal Biological Chemistry*. – 2001. - Vol.276. – P. 7806-7810.
184. Ramanathan, B. Cathelicidins: microbicidal activity, mechanisms of action, and roles in innate immunity / B. Ramanathan, E. G. Davis, C. R. Ross, F. Blecha. // *Microbes Infection*. – 2002. – Vol. 4. – P. 361-372.
185. Reichner, J.S. Molecular and metabolic evidence for the restricted expression of inducible nitric oxide synthase in healing wounds / J.S. Reichner, A.J. Meszaros, C.A. Louis [et al.] // *American Journal of Pathology*. – 1999. – 154. – P. 1097-1104.
186. Risso, A. Leukocyte antimicrobial peptides: multifunctional effector molecules of innate immunity /A. Risso// *Journal of Leukocyte Biology* - 2000. – Vol.68. – P. 785–92.
187. Rizova, E. New photographic techniques for clinical evaluation of acne / E. Rizova , A. Kligman // *JEADV*. – 2001. – Suppl. 1, Vol. 15. – P. 13–18.
188. Roetto, A. Mutant antimicrobial peptide hecpidin is associated with severe juvenile hemochromatosis /A. Roetto // *National Genetics*. – 2003. - Vol. 33. – P. 21–22.
189. Ross, J.I. Antibiotic resistant acne: lessons from Europe / J.I. Ross, A.M. Snelling, E. Carnegie // *Britan Journal Dermatology*. – 2003.- Vol. 148. – P. 467-478.
190. Tokumaru, S. Induction of Keratinocyte Migration via Transactivation of the Epidermal Growth Factor Receptor by the Antimicrobial Peptide LL-37 / S. Tokumaru, K. Sayama, Y. Shirakata // *Journal Immunology*. – 2005. - Vol. 175(7): P. 4662 - 4668.
191. Sambri, Vittorio. Comparative in vitro activity of five cathelicidin-derived synthetic peptides against *Leptospira*, *Borrelia* and *Treponema pallidum* / Vittorio

Sambri, Antonella Marangoniz, Lorenzo Giacani // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2002. - Vol.50. – P. 895-902.

192. Samgin, M.A. Acne, adapalen and quality of life / M.A. Samgin, S.A. Monakhov, N.G. Kochergin // *JEADV*. – 2002. – Suppl. 3, Vol. 16. – P. 116.

193. Saurat ,J.H. Are isotretinoin metabolism and receptor binding important for acne therapy // Data of symposium “New perspectives in the therapy with oral isotretinoin” by F. Hoffman - La Roche. – Paris, 2002.

194. Schaubert, J. Control of the innate epithelial antimicrobial response is cell-type specific and dependent on relevant microenvironmental stimuli / J. Schaubert , R.A. Dorschner, R.L. Gallo // *Immunology*. – 2006. – Vol. 118. – P. 509-519.

195. Scott, M. G. The human antimicrobial peptide LL-37 is a multifunctional modulator of innate immune responses / M. G. Scott , D. J. Davidson , R. Hancock // *Journal Immunology*. – 2002. – Vol. 169. – P. 3883–3891.

196. Scott, M. G. Cationic antimicrobial peptides and their multifunctional role in the immune system/ M. G. Scott, R. E. Hancock // *Critical Review Immunology* - 2000. – Vol.20. – P. 407–431.

197. Shalita, A. The integral role of topical and oral retinoids in the early treatment of acne / A. Shalita // *JEADV*. – 2001. – Suppl. 3, Vol. 15. – P. 43–49.

198. Shaykhiev, R. Interactions between epithelial cells and leukocytes in immunity and tissue homeostasis / R. Shaykhiev, R. Bals // *Journal of Leukocyte Biology*. – 2007. – Vol. 82. – P. 1-15.

199. Shike, H. Bass hepcidin is a novel antimicrobial peptide induced by bacterial challenge /H. Shike, X. Lauth, M.E. Westerman // *European Journal Biochemistry*. – 2002. – Vol.269. - P. 2232-2237.

200. Singh, P.K. A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development / P.K. Singh, M.R. Parsek, E.P. Greenberg// *Nature*. – 2002. - Vol.417. - P. 552–555.

201. Soehnlein, O. A. Neutrophil secretion products pave the way for inflammatory monocytes / O. A. Soehnlein, A. Zernecke, E. E. Eriksson // *Blood*. – 2008. - Vol. 112(4). – P. 1461 - 1471.

202. Sorensen, O. E. Wound healing and expression of antimicrobial peptides polypeptides in human keratinocytes, a consequence of common growth factors O. E. Sorensen, J. B. Cowland, K. Theilgaard-Monch // *Journal Immunology*. – 2003. – Vol. 170. – P.5583-5589.
203. Sørensen, O. E. Human cathelicidin, hCAP-18, is processed to the antimicrobial peptide LL-37 by extracellular cleavage with proteinase 3 / O. E. Sørensen, Per Follin, Anders H. Johnsen // *Blood*. – 2001. - Vol. 97. - N 12. - P. 3951-3959.
204. Spellman, M.C. A comparison of patterns of deposition of two formulations of benzoyl peroxide on the skin and in the follicular ostia as visualized by scanning electron microscopy/ M.C. Spellman, Ramirez J. //Poster presented at: American Academy of Dermatology 65th Annual Meeting, February 2-6, 2007, Washington. – 235 P.
205. Steintraesser, L. Protegrin-1 enhances bacterial killing in thermally injured skin / L. Steintraesser , R.D. Klein , A. Aminlari // *Critical Care Medicine*. – 2001. - Vol. 29. - P. 1431-1437.
206. Taylor, G.A. Benzoyl peroxide-based combination therapies for acne vulgaris: a comparative review. / G.A. Taylor, AR. Shalita // *American Journal of Dermatology* – 2004. - Vol. 5. – P. 261-265.
207. Thiboutot, D. Update and future of hormonal therapy in acne /D. Thiboutot, Chen W. // *Dermatology*. – 2003. - Vol. 206. P. 57-67.
208. Thiboutot, D. New treatment and therapeutic strategies for acne / D. Thiboutot // *Archives Family Medicine*. – 2000. Vol. 9. - P. 179–187.
209. Valenti, P. Lactoferrin: an important host defence against microbial and viral attack. / P. Valenti, G. Antonini // *Cell Mol. Life Science*. - 2005. - Vol.62. – P. 2576-2587.
210. Ward, P.P. Lactoferrin: role in iron homeostasis and host defense against microbial infection. / P.P. Ward, O.M. Conneely // *Biometals*. – 2004. - Vol. 17. – P. 203-208.

211. Webster, G. F. Acne vulgaris / G. F. Webster // Britan Journal Dermatology – 2002. – Vol. 325. – P. 475–479.
212. Weiss, G. Pathways for the regulation of macrophage iron metabolism by the anti-inflammatory cytokines IL-4 and IL-13 / G. Weiss, C. Bogdan, M.W. Hentze // Journal Immunology – 1997. - Vol.158. – P. 420 - 425.
213. White, G.M. Recent findings in the epidemiologic evidence, classification, and subtypes of acne vulgaris / G.M. White // Journal of the American Academy of Dermatology. – 1998. - Vol. 39. – P. 4-37.
214. Wolf, J.E. An update of recent clinical trials examining adapalen and acne / J.E. Wolf // JEADV. – 2001. – Suppl. 3, Vol. 15. – P. 23–29.
215. Wolf, J.E. Jr. Efficacy and tolerability of combined topical treatment of acne vulgaris with adapalene and clindamycin: a multicenter, randomized investigator blinded study. / J.E. Jr. Wolf, D. Kaplan, S.J. Kraus // Journal of the American Academy of Dermatology. - 2003. - Vol. 49. - P. 211-217.
216. Yamasaki, K. Kallikrein-mediated proteolysis regulates the antimicrobial effects of cathelicidins in skin / K. Yamasaki, J. Schaubert, A. Coda, H. Lin //FASEB Journal. – 2006. - Vol. 20(12). – P. 2068 - 2080.
217. Yang, D. The role of mammalian antimicrobial peptides and proteins in awakening of innate host defenses and adaptive immunity. / D. Yang, O. Chertov, J. Oppenheim // Journal Cellular molecular life Science. – 2001. - Vol. 58. – P. 978–989.
218. Zaiou, M. Cathelicidins, essential gene-encoded mammalian antibiotics. / M. Zaiou, R. L. Gallo // Journal Molecular Medicine. – 2002. - Vol. 80. – P. 549–561.
219. Zanetti, M. Cathelicidins, multifunctional peptides of the innate immunity. / M. Zanetti // Journal of Leukocyte Biology - 2004. - Vol. 75. – P. 39-48.
220. Zasloff, M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. / M. Zasloff // Nature. – 2002. - Vol. 415. – P. 389–395.
221. Zasloff, M. Antibiotic peptides as mediators of innate immunity /M. Zasloff // Current opinions Immunology – 1992. - №4. – P.3–7.

222. Zouboulis, C.C. Exploration of retinoid activity and the role of inflammation in acne: issues affecting future directions for acne therapy /C.C. Zouboulis // JEADV. – 2001. – Suppl. 3, Vol. 15. – P. 63–67.