

# ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ И НЕАЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ФОРМЫ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА

Шестакова Н.А., Борисов В.И., Пронкина Н.В.,  
Труфакина Е.В., Шишкова И.В., Демина Д.В.,  
Леонова М.И., Непомнящих В.М., Кожевников В.С.

ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск

**Резюме.** Несмотря на схожую клиническую картину, аллергическая и неаллергическая формы атопического дерматита имеют различный иммунопатогенез. Общими изменениями при обеих формах является снижение числа  $CD8^+CD25^+$  клеток, уменьшение числа теломерных повторов ДНК в субпопуляции  $CD4^+$ T-лимфоцитов, снижение индекса ингибиции миграции в реакции ГЗТ, уменьшение количества  $CD16^+$  клеток, подавление фагоцитоза гранулоцитами и моноцитами, повышение продукции перекиси водорода нейтрофилами, а также повышение числа  $CD19^+$ B-лимфоцитов и увеличение продукции иммуноглобулинов IgA и IgG. Аллергическая форма АД характеризуется более тяжелым течением и участием в патогенезе реакций гиперчувствительности как немедленного типа, выражающихся в гиперпродукции IgE и снижении количества клеток, продуцирующих  $IFN\gamma$ , так и замедленного типа в виде снижения индексов миграции, ингибиции миграции и повышения ПЭФ. Важную роль в развитии этой формы играют  $CD8^+$  лимфоциты. Она отражается в уменьшении числа теломерных повторов ДНК в этой субпопуляции клеток, повышении числа  $CD8^+CD45RA^+$  наивных клеток, увеличении экспрессии молекулы костимуляции CD28 на  $CD8^+$  лимфоцитах и уменьшении количества  $CD8^+CD45RO^+$  клеток. При этой форме АД выявлено увеличение числа  $CD4^+CD25^{bright}$  клеток и более глубокие нарушения факторов врожденного иммунитета, обусловленные снижением продукции перекиси водорода моноцитами. Таким образом, более выраженные нарушения в иммунной системе при аллергической форме заболевания, по-видимому, обуславливают ее более тяжелое течение.

*Ключевые слова:* атопический дерматит, иммуноглобулин E, T-клетки.

*Shestakova N.A., Borisov V.I., Pronkina N.V., Trufakina E.V., Shishkova I.V., Demina D.V., Leonova M.I., Nepomnyashikh V.M., Kozhevnikov V.S.*

## IMMUNOLOGICAL FEATURES OF ALLERGIC AND NON-ALLERGIC FORMS OF ATOPIC DERMATITIS

**Abstract.** In spite of similar clinical patterns, there are numerous differences in immunopathogenesis of intrinsic and extrinsic forms of atopic dermatitis. Patients with both forms have decreased levels of  $CD8^+CD25^+$  lymphocytes, decreased telomere DNA length of  $CD4^+$ T-cells, decreased migration inhibition index in delayed-type hypersensitivity, decreased levels of  $CD16^+$ NK-cells, decreased Fc-dependent monocyte and granulocyte phagocytosis, increased hydrogen peroxide production by neutrophils, increased levels of  $CD19^+$ B-cells, as well as high IgA and IgG immunoglobulin levels. Extrinsic form of atopic dermatitis are characterized by more severe clinical course, and by involvement of both immediate hypersensitivity (hyperproduction of IgE and decreased T-cells with intracellular  $IFN\gamma$  production), like as delayed-type hypersensitivity (decreased migration index along with decreased migration inhibition index).  $CD8^+$  play a large role in extrinsic form of atopic dermatitis that may be traced as decreased telomere length of  $CD8^+$ T-cells, decreased levels of  $CD8^+CD45RO^+$  cells, increased levels of  $CD8^+CD45RA^+$  naive cells and increased levels of  $CD28^+$  costimulatory molecules on  $CD8^+$ cells.

### Адрес для переписки:

Шестакова Наталья Алексеевна,  
630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.  
Тел.: (383) 222-70-28.  
Тел./факс: (383) 228-21-20.  
E-mail: barsk@rambler.ru

Increased levels of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>bright</sup> cells and strongly alterations of innate immunity determined of decreased H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production by monocytes are shown in extrinsic form. Hence, the severity index of atopic dermatitis is more expressed in extrinsic form of bronchial asthma and it is, probably, determined by more exaggerated immunological alterations. (*Med. Immunol.*, vol. 11, N 6, pp 531-540)

## Введение

Атопический дерматит – хроническое рецидивирующее аллергическое заболевание кожи, характеризующееся кожным зудом и обусловленное гиперчувствительностью как к аллергенам, так и к неспецифическим раздражителям.

АД страдают 10-20% детей и 1-3% взрослых. АД – полиэтиологичное заболевание, клинически реализующееся при наличии генетической предрасположенности, нарушении барьерной функции кожи, вегетативно-сосудистых, нейроэндокринных нарушений, локальных и системных изменений иммунной реактивности и провоцирующих факторов окружающей среды [22].

АД является иммунологически гетерогенным заболеванием. Различают 2 формы АД: аллергическую (extrinsic), обусловленную сенсibilизацией к пищевым и/или аэроаллергенам и повышением уровня IgE у больных (наблюдается у 70-80% пациентов), и неаллергическую (intrinsic), характеризующуюся нормальным уровнем IgE (наблюдается у 20-30% пациентов) [25]. Общими характеристиками обеих форм АД являются эозинофилия крови, устойчивость к апоптозу эозинофилов, высокий уровень экспрессии CLA<sup>+</sup>T-клетками маркеров активации CD25 (IL-2R), CD40L и HLA-DR, повышение продукции IL-5 и IL-13 [18, 22], выявление специфического IgE к токсинам *Staphylococcus aureus* [26]. Кроме того, некоторые пациенты с неаллергической формой АД имеют положительные кожные тесты с аэроаллергенами, предположительно специфически распознающимися T-клетками, несмотря на отсутствие специфического IgE [20].

При аллергической формой АД T-клетки памяти, экспрессирующие антиген CLA, продуцируют высокий уровень цитокинов Th2-профиля: IL-4, IL-5 и IL-13. При этой форме АД увеличено количество активированных CD23<sup>+</sup>B-лимфоцитов. Неаллергическая форма АД ассоциирована со значительно более низкими уровнями IL-4 и IL-13 цитокинов [7, 8, 31].

Недостаточно полная характеристика иммунологических механизмов развития как аллергической, так и неаллергической формы АД требует дальнейших исследований в этом направлении. Понимание иммунологических механизмов развития разных форм заболевания в дальнейшем может явиться важным в разработке дифференцированных подходов к лечению.

Мы изучали иммунорегуляторные механизмы, участвующие в патогенезе аллергической формы по сравнению с неаллергической формой АД.

## Материалы и методы

В исследование было включено 42 пациента, страдающих АД (15 мужчин и 27 женщин) в возрасте от 17 до 49 лет (средний возраст 22,5±1,13 года), находящихся на лечении в аллергологическом отделении ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН г. Новосибирска. В зависимости от уровня IgE пациенты были разделены на 2 группы. У больных первой группы уровень IgE находился в пределах нормативных значений, у второй – был повышен. Таким образом, с аллергической формой заболевания обследован 31 пациент (74%), с неаллергической формой – 11 (26%) пациентов. В исследование были включены больные с площадью поражения кожи более 10% с умеренными и выраженными клиническими проявлениями заболевания.

Клиническое состояние оценивалось по стандартной шкале SCORAD, качество жизни – по шкале DLQI.

Фенотипирование клеток иммунной системы и определение внутриклеточных цитокинов в субпопуляциях T-лимфоцитов проводили с помощью проточного цитометра FACSCalibur (Becton Dickinson, USA) в программе CellQuest (Becton Dickinson, USA) с использованием моноклональных антител, меченых флюорохромами («Сорбент» и «МедБиоСпектр», Москва, Россия; BD Biosciences Pharmingen, USA), согласно инструкции [3].

Для исследования фагоцитоза использовали латекс, нагруженный гамма-глобулином («Биопрепарат», Санкт-Петербург), меченный FITC, оценка реакции производилась с помощью проточного цитометра FACSCalibur (Becton Dickinson, USA).

Исследование продукции перекиси водорода фагоцитами проводили с помощью ИФА-ридера Multiscan MS (Labsystems, Финляндия).

Активность ГЗТ – эффекторов проводили с помощью трех показателей: индекса миграции (ИМ), индекса ингибиции миграции (ИИМ) и показателя эффекторных функций (ПЭФ). ИМ характеризует миграцию гранулоцитов и моноцитов в ответ на низкую дозу ФГА, ИИМ характеризует продукцию лимфоцитами факторов ингибиции миграции в ответ на оптимальную дозу ФГА, ПЭФ – интегральный показатель

активности ГЗТ-эффекторов, представляющий собой частное от деления ИМ на ИИМ. Количество клеток подсчитывали в камере Горяева [3, 4].

Уровень иммуноглобулинов А, М, G в сыворотке крови определялся на многоканальном спектрофотометре с использованием набора реагентов (ЗАО «НПО СИНТЭКО», Россия) согласно инструкции. Уровень IgE определялся методом ИФА, используя набор реагентов согласно инструкции (ООО «Хема-Медика», Россия).

Для определения длины теломерных повторов ДНК на клетку использовали метод Flow-FISH [1].

## Результаты

Пациенты обеих групп были сопоставимы по полу, возрасту и длительности заболевания (табл. 1).

У больных с аллергической формой АД течение заболевания было более тяжелым, чем в опозитной группе. Качество жизни пациентов обеих групп достоверно не отличалось (табл. 1).

Иммунофенотипирование клеток с использованием метода проточной цитометрии выявило снижение числа CD16<sup>+</sup> лимфоцитов, увеличение экспрессии HLA-DR-молекул на моноцитах и активацию гуморального звена иммунной системы, характеризующуюся увеличением количества CD19<sup>+</sup> лимфоцитов и повышением уровней IgA и IgG при обеих формах АД (табл. 2 и 3). Однако при сравнении групп между собой отмечались различия. Так, пациенты аллергической формой отличались от больных неаллергической формой заболевания более высоким числом CD4<sup>+</sup> лимфоцитов в периферической крови и, соответственно, увеличением иммунорегуляторного индекса

ТАБЛИЦА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

Показатели	Аллергическая форма АД, n = 31 (74%)	Неаллергическая форма АД, n = 11 (26%)
Возраст (годы)	23±1,4	20±1,1
Длительность заболевания (годы)	22±1,5	20±1,6
Пол: мужчины женщины	13 18	4 7
SCORAD (баллы)	64±3,5*	43±4,6
DLQI (баллы)	12±1,3	8±1,7

Примечание. \* –  $p < 0,05$  ( $p$  – достоверность различий определялась тестом Манна–Уитни).

ТАБЛИЦА 2. ХАРАКТЕРИСТИКА СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК ДОНОРОВ И БОЛЬНЫХ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ И НЕАЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ФОРМОЙ АД

1 Показатели	2 Доноры, n = 120	Формы АД		
		3 аллергическая, n = 31	4 неаллергическая, n = 11	Р <sub>3-4</sub>
Лимфоцитоз	1792±97,53	1818±113,27	1470±218,49	> 0,05
CD3 <sup>+</sup> , %	66±0,84	66±1,34	62±3,15	> 0,05
CD4 <sup>+</sup> , %	39±0,82	41±1,32	36±3,09	< 0,05
CD8 <sup>+</sup> , %	25±0,74	26±1,12	27±1,47	> 0,05
ИРИ	1,6±0,08	1,73±0,74	1,31±0,15	< 0,05
CD19 <sup>+</sup> , %	11±0,66	15±1,61**	14±1,25**	> 0,05
CD16 <sup>+</sup> , %	19±0,77	10±1,19***	12±1,63*	> 0,05
HLA-DR – экспрессия Мн, %	89±1,16	92±1,18**	92±0,58*	> 0,05
HLA-DR – уровень экспрессии Мн, усл. ед.	0,48±0,16	0,49±3,22	0,48±0,01	> 0,05

Примечание. \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$  – между донорами и больными АД ( $p$  – достоверность различий определялась тестом Манна–Уитни)

ТАБЛИЦА 3. ХАРАКТЕРИСТИКА ГУМОРАЛЬНОГО ЗВЕНА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ДОНОРОВ И БОЛЬНЫХ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ И НЕАЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ФОРМОЙ АД

1 Показатели	2 Доноры (n = 120)	Формы АД		
		3 аллергическая (n = 31)	4 неаллергическая (n = 11)	p <sub>3-4</sub>
IgM, г/л	1,65±0,08	1,63±0,16	1,7±0,50	> 0,05
IgA, г/л	1,25±0,05	1,78±0,12***	1,6±0,21*	> 0,05
IgG, г/л	9,7±0,23	11,04±0,80***	11,9±0,80*	> 0,05
IgE, МЕ/мл	38±28,98	998,5±57,77***	57±11,64	< 0,001
ЦИК, усл.ед.	16±0,84	18±1,07	18±1,64	> 0,05

**Примечание.** \* – p < 0,05; \*\*\* – p < 0,001 – между донорами и больными АД (p – достоверность различий определялась тестом Манна–Уитни).

ТАБЛИЦА 4. РАЗЛИЧИЯ В ЭКСПРЕССИИ КОСТИМУЛЯТОРНОЙ МОЛЕКУЛЫ CD28 НА CD4<sup>+</sup> И CD8<sup>+</sup> Т-КЛЕТКАХ МЕЖДУ ДОНОРАМИ И БОЛЬНЫМИ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ И НЕАЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ФОРМОЙ АД

1 Показатели	2 Доноры (n = 51)	Формы АД		
		3 аллергическая (n = 28)	4 неаллергическая (n = 6)	p <sub>3-4</sub>
CD4 <sup>+</sup> CD28 <sup>-</sup>	3,84±0,58	2,33±0,46**	3,22±1,16	> 0,05
CD4 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup>	53,18±1,56	53,65±1,84	58,00±3,46	> 0,05
CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>-</sup>	14,43±1,34	10,26±1,73*	12,99±2,57	> 0,05
CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup>	24,23±1,41	29,40±1,42**	28,65±2,61	> 0,05

**Примечание.** \* – p < 0,05; \*\* – p < 0,01 – между донорами и больными АД (p – достоверность различий определялась тестом Манна–Уитни).

ТАБЛИЦА 5. РАЗЛИЧИЯ В ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ НА CD4<sup>+</sup> И CD8<sup>+</sup> Т-КЛЕТКАХ ДОНОРОВ И БОЛЬНЫХ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ И НЕАЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ФОРМОЙ АД

1 Показатели	2 Доноры (n = 51)	Формы АД		
		3 аллергическая (n = 28)	4 неаллергическая (n = 6)	p <sub>3-4</sub>
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>-</sup>	36,30±1,42	35,80±1,76	44,59±3,53	> 0,05
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup>	21,54±1,27	19,00±1,75	16,37±1,40	> 0,05
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>bright</sup>	1,56±0,27	3,52±0,52**	2,21±0,75	> 0,05
CD8 <sup>+</sup> CD25 <sup>-</sup>	37,84±1,71	40,85±1,74	35,98±2,57	> 0,05
CD8 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup>	3,49±0,86	2,26±0,31**	1,39±0,52*	> 0,05
CD4 <sup>+</sup> DR <sup>-</sup>	50,83±1,68	56,67±2,26	57,97±3,36	> 0,05
CD4 <sup>+</sup> DR <sup>+</sup>	5,93±0,90	5,83±1,38	3,76±1,06	> 0,05
CD8 <sup>+</sup> DR <sup>-</sup>	33,41±1,47	29,89±1,90	34,29±2,46	> 0,05
CD8 <sup>+</sup> DR <sup>+</sup>	5,96±0,85	3,59±0,53*	3,39±0,67	> 0,05

**Примечание.** \* – p < 0,05; \*\* – p < 0,01 – между донорами и больными АД (p – достоверность различий определялась тестом Манна–Уитни).

при отсутствии достоверных различий с донорской группой (табл. 2).

При обеих формах заболевания было выявлено снижение индекса ингибиции миграции в реакции ГЗТ, а при аллергической форме снижался также индекс миграции гранулоцитов и моноцитов в ответ на ФГА и, соответственно, повышался ПЭФ (табл. 7).

Исходя из того, что в патогенезе АД ведущую роль играют Т-лимфоциты, нами было проведено исследование функционального состояния субпопуляций CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> клеток при обеих формах заболевания.

При оценке цитокинового профиля Т-лимфоцитов было выявлено снижение количества CD8<sup>+</sup> клеток, продуцирующих IFN $\gamma$ , при аллергической форме АД по сравнению с донорами (36,98 $\pm$ 4,68 и 52,70 $\pm$ 2,90,  $p < 0,05$ ). При неаллергической форме заболевания продукция Th1- и Th2-цитокинов не отличалась от донорских значений.

При исследовании экспрессии костимуляторной молекулы различными субпопуляциями лимфоцитов было выявлено увеличение числа CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> и снижение CD4<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>, CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> клеток при аллергической форме заболевания по сравнению с донорами (табл. 4).

При обеих формах АД наблюдалось снижение числа активированных CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> лимфоцитов по сравнению с группой доноров. Только при аллергической форме выявлено увеличение числа регуляторных CD4<sup>+</sup>CD25<sup>bright</sup> клеток и снижение числа активированных CD8<sup>+</sup> клеток, экспресси-

рующих молекулу DR (табл. 5). При этой форме заболевания количество CD8<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup> клеток (эффektorных/памяти) было снижено по сравнению с донорами (7,77 $\pm$ 0,55 ( $n = 41$ ) и 5,82 $\pm$ 0,58 ( $n = 14$ ),  $p < 0,01$ ), а CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup> наивных клеток увеличено при сравнении между группами (17,5 $\pm$ 0,77 ( $n = 13$ ) и 14,12 $\pm$ 2,39 ( $n = 4$ ),  $p < 0,05$ ), но не отличающееся от доноров.

Для определения пролиферативной активности клеток в субпопуляциях CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> лимфоцитов было проведено исследование числа теломерных повторов ДНК на клетку. Уменьшение числа теломерных повторов ДНК в субпопуляции CD4<sup>+</sup> клеток отмечалось при обеих формах АД, тогда как при аллергической форме уменьшение наблюдалось также и в субпопуляции CD8<sup>+</sup> лимфоцитов (табл. 6).

Нами была проведена оценка функционального состояния клеток моноцитарно-макрофагальной системы, играющих важную роль как во врожденном, так и в приобретенном иммунном ответе. Данные, представленные в таблице 7, демонстрируют снижение фагоцитирующей активности гранулоцитов и моноцитов и повышение продукции перекиси водорода нейтрофилами в обеих группах больных АД по сравнению с донорами.

Продукция перекиси водорода моноцитами, наоборот, была снижена, но достоверные различия по сравнению с донорскими значениями наблюдались только при аллергической форме заболевания при отсутствии различий между группами (табл. 7).

**ТАБЛИЦА 7. ХАРАКТЕРИСТИКА АКТИВНОСТИ КЛЕТОЧНЫХ ЭФФЕКТОРНЫХ ФУНКЦИЙ ДОНОРОВ И БОЛЬНЫХ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ И НЕАЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ФОРМОЙ АД**

Показатели	Доноры (n = 120)	Формы АД		
		аллергическая (n = 31)	неаллергическая (n = 11)	$p_{3-4}$
Фагоцитоз (гранулоциты)	82 $\pm$ 1,10	63 $\pm$ 2,97***	64 $\pm$ 2,90***	> 0,05
Фагоцитоз (моноциты)	68 $\pm$ 0,95	49 $\pm$ 2,91***	58 $\pm$ 2,49***	> 0,05
ПАМ	2,5 $\pm$ 0,13	1,96 $\pm$ 0,08***	2 $\pm$ 0,19	> 0,05
ПАН	2,5 $\pm$ 0,22	5,74 $\pm$ 0,51***	5,6 $\pm$ 0,76***	> 0,05
ИМ	1 $\pm$ 0,06	0,9 $\pm$ 0,04**	1 $\pm$ 0,08	> 0,05
ИИМ	0,4 $\pm$ 0,03	0,14 $\pm$ 0,03***	0,25 $\pm$ 0,04*	< 0,05
ПЭФ	2,8 $\pm$ 0,23	6,78 $\pm$ 0,95***	3,83 $\pm$ 0,83	< 0,05

**Примечание.** \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$  – между донорами и больными АД ( $p$  – достоверность различий определялась тестом Манна–Уитни). ПАМ (ПАН) – показатель активности моноцитов (нейтрофилов) определяли по продукции перекиси водорода клетками. Активность ГЗТ-эффektorов исследовали с помощью показателей: ИМ – индекса миграции (характеризует миграцию гранулоцитов и моноцитов в ответ на ФГА); ИИМ – индекса ингибиции миграции (характеризует потенциальную активность лимфоцитов – продуцентов факторов ингибиции миграции); ПЭФ – интегрального показателя активности ГЗТ-эффektorов, представляющего собой частное от деления ИМ на ИИМ.

## Обсуждение

Практически все пациенты, включенные в исследование, страдали атопическим дерматитом с раннего детского возраста, что является типичным для данной патологии [22]. В исследование были включены все пациенты, поступившие в отделение аллергологии ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН в период с апреля 2006 по февраль 2008 года, т.е. выборка была случайной. Процентное соотношение больных аллергической и неаллергической формой АД в нашем исследовании составило 74 и 26% соответственно и не отличалось от такового в популяции [25].

Ранее было показано уменьшение числа теломерных повторов ДНК на клетку в CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> субпопуляции Т-лимфоцитов [1, 38] и повышение уровня активности теломеразы при АД [37]. Однако проведенные нами исследования показали, что только в субпопуляции CD4<sup>+</sup> лимфоцитов отмечено достоверное уменьшение числа теломерных повторов ДНК на клетку при обеих формах заболевания. Оценивая функциональную активность субпопуляции CD8<sup>+</sup> клеток, было выявлено, что как при аллергической, так и при неаллергической форме АД отмечается снижение числа активированных CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> клеток. Полученные данные указывают, что общим для обеих форм заболевания является повышенная пролиферативная активность лимфоцитов в субпопуляции CD4<sup>+</sup>, являющаяся, скорее всего, отражением их хронической антигенной стимуляции.

Гиперактивация В-системы иммунитета, характерная для всех аллергических заболеваний и выражающаяся в увеличении числа В-лимфоцитов (CD19, CD72) в периферии, нарастании числа плазматических клеток и уровня секретируемых антител [8, 23], наблюдалась как при аллергической, так и при неаллергической форме АД. Показано, что основным цитокином, участвующим в активации В-клеток является IL-13, высокие уровни которого и увеличение чувствительности к которому В-клеток показаны у всех больных АД [10].

Известно, что центральную роль в развитии атопической экземы и эозинофильного кожного воспаления играют Т-клетки [22]. При обеих формах АД выявлено снижение индекса ингибции миграции в реакции ГЗТ, что указывает на высокую активность лимфоцитов в продукции факторов ингибции миграции. Одним из первых из описанных цитокинов, модулирующим взаимодействие макрофагов и Т-клеток в реакции ГЗТ, был MIF (макрофагальный фактор ингибции миграции) [28]. Известно, что под влиянием воспаления [15] и антигенной стимуляции [11] MIF экспрессируется как Т-лимфоцитами, так и другими типами клеток, среди них макро-

фаги, эндотелиальные, тучные клетки и пр. Экспрессия MIF коррелирует с активностью ГЗТ и клеточного иммунитета у человека [12, 28]. Полученные результаты согласуются с работами других авторов, показавшими повышение MIF при аллергических заболеваниях и его важную роль в активации и продукции цитокинов лейкоцитами, включая эозинофилы и лимфоциты, в уровне сывороточного IgE [29, 35].

Описаны другие белки, обладающие свойствами MIF, среди них sCD23, который экспрессируется В-клетками и моноцитами под влиянием IL-4 и IL-13 [13, 14]. Предположительно, более низкий ИММ и, следовательно, более высокая продукция факторов ингибции миграции при аллергической форме АД обусловлены именно этими механизмами.

Также при обеих формах АД было выявлено снижение числа CD16<sup>+</sup> NK-клеток, что уже было показано ранее [36], и снижение способности моноцитов и гранулоцитов к фагоцитозу и продукции перекиси водорода моноцитами. Несмотря на то что снижение последнего показателя при неаллергической форме АД было недостоверно по сравнению с донорами, различий между группами не выявлялось. В то же время продукция перекиси водорода нейтрофилами у всех пациентов более чем в 2 раза превышала донорские значения.

Также нами было выявлено, что у всех пациентов с АД число моноцитов в циркуляции, экспрессирующих молекулу HLA-DR, увеличено при сохраненном уровне экспрессии этих молекул на клетке. Выявленные изменения можно объяснить повышением уровня MIF, увеличивающего экспрессию генов, кодирующих HLA-DR, клетками моноцитарно-макрофагального ряда [12]. Эти результаты отличаются от результатов, полученных в работах Akdis С.А. с соавт., которые не обнаружили изменений HLA-DR-экспрессии на CD14<sup>+</sup> моноцитах при обеих формах АД [8]. Другими авторами была показана активация моноцитов у больных АД, проявляющаяся повышением экспрессии генов, связанных с презентацией антигена посредством молекул MHC I-класса, распознаванием бактериальных патогенов и апоптотических клеток по сравнению со здоровыми людьми [24]. Оценивая моноцитарно-макрофагальное звено у больных АД, Yamashiro М. с соавт. (2002) показали, что некоторые маркеры активации моноцитов/макрофагов и гранулоцитов различались в зависимости от формы заболевания. Так, сывороточный уровень sCD14 был выше при аллергической форме АД по сравнению с нормой и неаллергической формой АД. Другие же маркеры активации этих клеток, исследованные этими авторами, такие

как уровни IL-4, IL-10, IFN $\gamma$  и TNF, при разных формах не различались [39]. Таким образом, при обеих формах АД отмечается неполноценность системы врожденного иммунитета.

Более тяжелое течение заболевания у пациентов с аллергической формой АД, показанное как в нашем исследовании, так и в работах других авторов [21, 39], сопровождалось большей выраженностью изменений в иммунной системе.

Так, у этих больных отмечались более выраженные изменения реакции ГЗТ: наряду со снижением ИИМ было выявлено снижение индекса миграции гранулоцитов и моноцитов в ответ на ФГА и, соответственно, повышение ПЭФ. Однако одним из основных механизмов развития аллергической формы АД, вероятно, можно считать гиперчувствительность I типа. В пользу этого свидетельствуют повышение числа CD4<sup>+</sup> лимфоцитов и, соответственно, ИРИ, а также снижение Tc1 клеток на фоне значительно повышенного уровня IgE при этой форме АД по сравнению с оппозитной группой.

Снижение продукции IFN $\gamma$  мононуклеарными периферической крови при аллергической форме АД ранее было показано Simon D. с соавт. (2002), однако в этой работе не было проведено исследование субпопуляционного состава клеток, продуцирующих этот цитокин. Как известно, цитокины Th1- и Th2-профиля продуцируются не только CD4<sup>+</sup> Т-хелперами, но также CD8<sup>+</sup>Т-лимфоцитами и по аналогии с Th1/Th2 в зависимости от профиля продуцируемых цитокинов, выделяют CD8<sup>+</sup>Т-клетки I и II типа (Tc1/Tc2) [30]. Доминирование цитокинов Th2-типа, таких как IL-4, IL-5, IL-6 и IL-10, при аллергической форме АД обуславливают выраженное повышение уровня IgE у таких пациентов [7, 8, 10, 31].

Активное участие в патогенезе АД наряду с субпопуляцией CD4<sup>+</sup>Т-клеток субпопуляции CD8<sup>+</sup>Т-клеток показано во многих исследованиях [8, 16, 33]. Повышение числа CD8<sup>+</sup>клеток, экспрессирующих костимуляторную молекулу CD28 только при аллергической форме заболевания по сравнению с донорами, также является отражением реакций гиперчувствительности I типа, т.к. взаимодействие рецептора CD28 Т-клеток и молекулы В7-2 на В-лимфоцитах и клетках Лангерганса является вспомогательной стимуляцией при распознавании МНС антигена для активации Th2 [17]. Полученные результаты согласуются с исследованиями других авторов, выявивших корреляцию уровня экспрессии В7-2 с уровнями IgE у больных АД и повышение экспрессии В7-2 под влиянием IL-4 и IL-13 [19].

Число клеток, экспрессирующих молекулу активации HLA-DR субпопуляцией CD8<sup>+</sup> лим-

фоцитов, по сравнению с донорами было снижено только при аллергической форме АД при отсутствии достоверных различий между группами, уменьшение же числа активированных CD8<sup>+</sup>клеток, экспрессирующих молекулу CD25, наблюдалось у всех пациентов. Полученные результаты в определенной мере противоречат данным других исследователей. Так, Akdis С.А. с соавт. не выявили различий в экспрессии молекул CD25, HLA-DR на CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>Т-лимфоцитах больных АД при обеих формах заболевания [6]. Более поздние работы были направлены на исследование субпопуляций CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>Т-клеток, экспрессирующих кожный лимфоцитарный антиген CLA, являющийся специфичным для клеток, участвующих в патогенезе АД, и не идентифицированный при других аллергических, аутоиммунных или воспалительных заболеваниях. Показано, что Th2 реакции при АД обусловлены прежде всего Т-лимфоцитами, несущими антиген CLA. Эти клетки распознают HLA-DR антигены, секретируют IL-4, IL-5, IL-13 и инициируют синтез IgE. В этих работах выявлено усиление экспрессии молекул активации CD25, HLA-DR и CD40L именно в субпопуляции CLA<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>Т-клеток [7, 8, 31]. Противоречие, возможно, объясняется тем, что мы не исследовали субпопуляции CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>Т-клеток, экспрессирующие кожный хоуминговый рецептор CLA.

Повышение процентного содержания CD4<sup>+</sup>CD25<sup>bright</sup> клеток в сравнении с донорами наблюдалось только при аллергической форме заболевания при отсутствии различий между группами. Эти результаты согласуются с данными, описанными другими авторами [2, 27], которые, однако, не проводили сравнение численности этих клеток при разных формах АД. При этом было показано, что супрессорная активность этих клеток при АД снижена, свидетельствуя о том, что в составе данной популяции находятся преимущественно активированные, нежели регуляторные клетки (Treg) [2, 27].

Снижение числа CD8<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup> клеток, выявленное при аллергической форме в отличие от неаллергической формы АД и здоровых доноров, согласуется с данными Akdis М. с соавт., однако акцент авторами и в этом случае был сделан на исследование CLA<sup>+</sup> клеток. Было показано усиление Fas-зависимого активационного апоптоза CLA<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>Т-клеток при аллергической форме АД в отличие от неаллергической формы, доноров или других заболеваний неаллергической природы. Апоптоз CLA<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>Т-клеток более выражен в субпопуляции Т-клеток, продуцирующих цитокины именно T1-профиля, что, вероятно, имеет значение для переключения ответа в сторону продукции цитокинов T2-профиля.

Наоборот, CLA<sup>-</sup>, т.е. покоящиеся CD45RO<sup>+</sup>T-клетки, посредством вывобожения IFN $\gamma$  и индукции IgG4, оказывали иммуносупрессивные свойства по отношению к аллергенам [7, 9].

Результаты наших исследований демонстрируют увеличение числа CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup> клеток при аллергической форме АД, что может отражать активное участие субпопуляции CD8<sup>+</sup> лимфоцитов в патогенезе этой формы. Обнаруженное нами уменьшение числа теломерных повторов ДНК на клетку в субпопуляции CD8<sup>+</sup> лимфоцитов свидетельствует о более активной их пролиферации при аллергической форме АД в отличие от неаллергической.

Множественные изменения различных показателей активности CD8<sup>+</sup> клеток указывают на значимость этих клеток в патогенезе аллергической формы АД наравне с CD4<sup>+</sup> лимфоцитами.

Повышение уровня IgE и IgG может быть также следствием аутоиммунных реакций. Так, была показана гомология ряда растительных и микробных аллергенов с белками эпидермиса человека и выявлены реагирующие с ними аутоантитела класса IgE и IgG [5, 34].

Таким образом, при обеих формах АД наблюдаются изменения активности фагоцитоза, снижение количества CD16<sup>+</sup> клеток, повышение продукции факторов ингибиции миграции и активация гуморального звена иммунной системы. Аллергическая форма АД клинически характеризовалась более тяжелым течением заболевания, обусловленным более выраженными изменениями в иммунной системе. В патогенезе этой формы большую роль играют реакции гиперчувствительности как I, так и IV типа при более глубоких нарушениях факторов врожденного иммунитета.

## Список литературы

1. Борисов В.И. Укорочение длины теломерных районов ДНК при иммунодефицитных, аллергических и аутоиммунных состояниях // Автореф. дис. ...канд. мед. наук. — Новосибирск, 2007.
2. Донецкова А.Д., Шарова Н.И., Литвина М.М., Бурменская О.В., Трофимов Д.Ю., Ярцев М.Н., Алексеев Л.П., Ярилин А.А. Регуляторные Т-клетки при аллергии у детей // Медицинская иммунология. — 2008. — Т. 10, № 2-3. — С. 159-166.
3. Кожевников В.С. и др. Оценка иммуномодулирующего эффекта терапии с применением эритропоэтина у больных ревматоидным артритом // Медицинская иммунология. — 2004. — Т. 6, № 6. — С. 557-563.
4. Лозовой В.П., Кожевников В.С. Методические рекомендации МЗ СССР. — Новосибирск, 1990. — 11 с.
5. Сергеев Ю.В. Иммунные механизмы патогенеза и обоснование дифференцированных подходов к иммунокорректирующему лечению и профилактике атопического дерматита // Автореф. дисс. ...докт. мед. наук. — М., 1990.
6. Akdis C.A., Akdis M., Simon D., Dibbert B., Weber M., Gratzl S., Kreyden O., Disch R., Wuthrich B., Blaser K., Simon H. T-Cells and T-Cell-Derived Cytokines as Pathogenic Factors in the Nonallergic Form of Atopic Dermatitis // J. Invest. Dermatol. — 1999. — Vol. 113. — P. 628-634.
7. Akdis M., Akdis C.A., Weigl L., Disch R., Blaser K. Skin-homing, CLA<sup>-</sup> memory T-cells are activated in atopic dermatitis and regulate IgE by an IL-13-dominated cytokine pattern. IgG4 counter-regulation by CLA<sup>-</sup> memory T-cells // J. Immunol. — 1997. — Vol. 159. — P. 4611-4619.
8. Akdis M., Simon H.-U., Weigl L., Kreyden O., Blaser K., and Akdis C.A. Skin homing (cutaneous lymphocyte-associated antigen-positive) CD8 T-cells respond to superantigen and contribute to eosinophilia and IgE production in atopic dermatitis // J. Immunol. — 1999. — Vol. 163 — P. 466-475.
9. Akdis M., Trautmann A., Klunker S., Daigle I., Kucuksezzer U.C., Deglmann W., Disch R., Blaser K., Akdis C.A. T-helper (Th) 2 predominance in atopic diseases is due to preferential apoptosis of circulating memory/effector Th1-cells // FASEB J. — 2003. — Vol. 17. — P. 1026-1035.
10. Aman M.J., Tayebi N., Obiri N.I., Puri R.K., Modi W.S., Leonard W.J. cDNA cloning and characterization of the human interleukin 13 receptor alpha chain // J. Biol. Chem. — 1996. — Vol. 271. — P. 29265-29270.
11. Bacher M., Metz C.N., Calandra T., Mayer K., Chesney J., Lohoff M., Gemsa D., Donnelly T., and Bucala R. An essential regulatory role for macrophage migration inhibitory factor in T-cell activation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1996. — Vol. 93. — P. 7849-7854.
12. Bernhagen J. et al. Purification, bioactivity, and secondary structure analysis of mouse and human macrophage migration inhibitory factor (MIF) // Biochemistry. — 1994. — Vol. 33, N 47. — P. 14144-14155.
13. Bieber T., Delespesse G. gamma-interferon promotes the release of IgE-binding factors (soluble CD23) by human epidermal Langerhans cells // J. Invest. Dermatol. — 1991. — Vol. 97. — P. 600-603.
14. Flores-Romo L., Cairns J.A., Millsum M.J., Gordon J. Soluble fragments of the low-affinity IgE receptor (CD23) inhibit the spontaneous migration of U937 monocytic cells: neutralization of MIF activity by a CD23 antibody // Immunology. — 1989. — Vol. 67. — P. 547-549.

15. Galli S.J., Nakae S., and Tsai M. Mast cells in the development of adaptive immune responses // *Nat. Immunol.* – 2005. – Vol. 6. – P. 135-142.
16. Hennino A., Vocanson M., Toussaint Y., Rodet K., Benetière J., Schmit A., Aries M., Bérard F., Rozières A., Nicolas J. Skin-Infiltrating CD8<sup>+</sup> T Cells Initiate Atopic Dermatitis Lesions. // *J. Immunol.* – 2007. – Vol. 178. – P. 5571-5577.
17. Hofer M., Jirapongsananuruk O., Trumble A., Leung D. Upregulation of B 7.2, but not B7.1, on B-cells from patients with allergic asthma // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 1998. – Vol. 101. – P. 96-102.
18. Howell M.D., Novak N., Bieber T., Pastore S., Girolomoni G., Boguniewicz M., Streib J., Wong C., Gallo R.L., Leung D.Y.M. Interleukin-10 down-regulates anti-microbial peptide expression in atopic dermatitis // *J. Invest. Dermatol.* – 2005. – Vol. 125. – P. 738-745.
19. Jirapongsananuruk O., Hofer M., Trumble A., Norris D., Leung D. Enhanced expression of B7.2 (CD86) in patients with atopic dermatitis: a potential role in the modulation of IgE synthesis // *J. Immunol.* – 1998. – Vol. 160. – P. 4622-4627.
20. Kerschenlohr K., Decard S., Darsow U., Ollert M., Wollenberg A. Clinical and immunologic reactivity to aeroallergens in «intrinsic» atopic dermatitis patients // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2003. – Vol. 111. – P. 195-197.
21. Laske N., Niggemann B. Does the severity of atopic dermatitis correlate with serum IgE levels? // *Ped. Allergy Immunol.* – 2004. – Vol. 15, N 1. – P. 86-88.
22. Leung D.Y.M., Boguniewicz M., Howell M.D., Nomura I., Hamid Q.A. New insights into atopic dermatitis // *J. Clin. Invest.* – 2004. – Vol. 113, N 5. – P. 651-657.
23. Moreno Gimenez J.C. Atopic dermatitis // *Alergol Inmunol Clin.* – 2000. – Vol. 1. – P. 279-295.
24. Nagata N., Oshida T., Yoshida N.L., Yuyama N., Sugita Y., Tsujimoto G., Katsunuma T., Akasawa A., Saito H. Analysis of highly expressed genes in monocytes from atopic dermatitis patients // *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 2003. – Vol. 132, N 2. – P. 156-167.
25. Novak N., Bieber T., Leung D.Y.M. Immune mechanisms leading to atopic dermatitis // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2003. – Vol. 112. – P. 128-139.
26. Novak N., Kraft S., Bieber T. Unraveling the mission of FcεRI on antigenpresenting cells // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2003. – Vol. 111. – P. 38-44.
27. Ou L-S., Goleva E., Hall C., Leung D.Y. T regulatory cells in atopic dermatitis and subversion of their activity by superantigens // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2004. – 113. P. 756-63.
28. Rocklin R.E., Rosen F.S., David J.R. In vitro lymphocyte response in patients with immunologic disorders: correlation of prediction of macrophage inhibitory factor with delayed hypersensitivity // *New Engl. J. Med.* – 1970. – Vol. 282. – P. 1340-1343.
29. Rossi A.G., Haslett C., Hirani N., Greening A.P., Rahman I., Metz C.N., Bucala R., and Donnelly S.C. Human circulating eosinophils secrete macrophage migration inhibitory factor (MIF). Potential role in asthma // *J. Clin. Invest.* – 1998. – Vol. 101. – P. 2869-2874.
30. Salgame P., Abrams J.S., Clayberger C., Goldstein H., Convit J., Modlin R.L., Bloom B.R. Differing lymphokine profiles of functional subsets of human CD4 and CD8 T-cell clones // *Science.* – 1991. – Vol. 254. – P. 279-282.
31. Santamaria Babi L.F., Picker L.J., Perez Soler M.T., Drzimalla K., Flohr P., Blaser K., and Hauser C. Circulating allergen-reactive T cells from patients with atopic dermatitis and allergic contact dermatitis express the skin-selective homing receptor, the cutaneous lymphocyte-associated antigen // *J. Exp. Med.* – 1995. – Vol. 181. – P. 1935-1940.
32. Simon D., Borelli S., Braathen L.R., Simon H.-U. Peripheral blood mononuclear cells from IgE- and non-IgE-associated allergic atopic eczema/dermatitis syndrome (AEDS) demonstrate increased capacity of generating interleukin-13 but differ in their potential of synthesizing interferon-γ // *Allergy.* – 2002. – Vol. 57. – P. 431-435.
33. Teraki Y., Hotta T., Shiohara T. Increased circulating skin-homing cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA)<sup>+</sup> type 2 cytokine-producing cells, and decreased CLA<sup>+</sup> type 1 cytokine-producing cells in atopic dermatitis // *Br. J. Dermatol.* – 2000. – Vol. 143. – P. 373-378.
34. Trautmann A., Akdis M., Kleemann, Altznauer F., Simon H.U., Graeve T., Noll M., Brouck E.B., Blaser K., Akdis C.A. T cell-mediated Fas-induced keratinocyte apoptosis plays a key pathogenetic role in eczematous dermatitis // *J. Clin. Invest.* – 2000. – Vol. 106, N 1. – P. 25-35.
35. Wang B., Huang X., Wolters P.J., Sun J., Kitamoto S., Yang M., Riese R., Leng L., Chapman H.A., Finn P.W., David J.R., Bucala R., Shi G.-P. Deficiency of macrophage migration inhibitory factor impairs murine airway allergic responses // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 177. – P. 5779-5784.
36. Wehrmann W., Reinhold U., Kukul S., Franke N., Uerloch M., Kreysel H.W. Selective alterations in natural killer cell subsets in patients with atopic dermatitis // *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* – 1990. – Vol 92, N 3. – P. 318-22.
37. Weng N., Levine B.L., June C.H., Hodes R.J. Regulated expression of telomerase activity in human

T-lymphocyte development and activation // J. Exp. Med. – 1996. – P. 2471-2479.

38. Wu K., Higashi N., Hansen E.R., Lung M., Bang K., Thestrup-Pedersen K. Telomerase activity is increased and telomere length shortened in T-cells from blood of patient with atopic dermatitis and psoriasis // J. Immunol. – 2000. – Vol. 165. – P. 4742-4747.

39. Yamashiro M., Okubo Y., Kato Y., Tamaki T., Koga M. The study of immunological markers in patients with «intrinsic» type atopic dermatitis // Japan J. Allergol. – 2002. – Vol. 51, N 7. – P. 552-558.

*поступила в редакцию 17.04.2009*

*отправлена на доработку 27.04.2009*

*принята к печати 18.06.2009*