

СПОСОБ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ДЕРМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

DOI: 10.17691/stm2017.9.1.12

УДК 576.3:616.5–002.3:615.37–07

Поступила 27.09.2015 г.

**О.А. Лукова**, к.б.н., ассистент кафедры микробиологии и иммунологии¹;**Е.И. Пышкина**, научный сотрудник²;**И.А. Клеменова**, д.м.н., главный научный сотрудник³;**Н.В. Шебашова**, к.м.н., научный сотрудник³;**Т.В. Махрова**, к.м.н., доцент кафедры микробиологии и иммунологии¹;**М.И. Заславская**, д.б.н., профессор кафедры микробиологии и иммунологии¹¹Нижегородская государственная медицинская академия, 603005, Н. Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;²Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии (Нижегородский филиал), 603155, Н. Новгород, ул. Ковалихинская, 49 г;³Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр Минздрава России, Н. Новгород, 603155, ул. Верхне-Волжская набережная, 18/1

Цель исследования — определить значимость показателя естественной колонизации эпителиоцитов в оценке эффективности лечебно-профилактических мероприятий с использованием иммуномодуляторов у больных с микробной экземой и онихомикозом дрожжевого генеза.

Материалы и методы. Был определен уровень естественной бактериальной колонизации буккальных эпителиоцитов у больных с микробной экземой и онихомикозом дрожжевого генеза до и после комплексной терапии с использованием иммуномодуляторов.

Результаты. Исследования показали, что при выраженном патологическом процессе уровень естественной колонизации эпителиоцитов повышается. После комплексной терапии с использованием отечественных иммуномодулирующих препаратов Полиоксидоний (при микробной экземе) или Деринат (при онихомикозе) уровень естественной колонизации быстро снижается, приближаясь к значениям у здоровых людей. Изучение изменения естественной бактериальной колонизации на буккальных эпителиоцитах позволяет оценить эффективность комплексного лечения с использованием иммуномодуляторов.

Ключевые слова: буккальные эпителиоциты; микробная экзема; онихомикоз; естественная колонизация; Полиоксидоний; Деринат; растворимые молекулы адгезии.

Как цитировать: Lukova O.A., Pyshkina E.I., Klemenova I.A., Shebashova N.V., Makhrova T.V., Zaslavskaya M.I. Method for evaluating the effectiveness of combined treatment with immunomodulators in chronic dermatologic diseases. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2017; 9(1): 98–102, <https://doi.org/10.17691/stm2017.9.1.12>

English

Method for Evaluating the Effectiveness of Combined Treatment with Immunomodulators in Chronic Dermatologic Diseases

O.A. Lukova, PhD, Tutor, Department of Microbiology and Immunology¹;**E.I. Pyshkina**, Researcher²;**I.A. Klemenova**, MD, DSc, Chief Researcher³;**N.V. Shebashova**, MD, PhD, Researcher³;**T.V. Makhrova**, MD, PhD, Associate Professor, Department of Microbiology and Immunology¹;**M.I. Zaslavskaya**, DSc, Professor, Department of Microbiology and Immunology¹¹Nizhny Novgorod State Medical Academy, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation;

Для контактов: Лукова Ольга Алексеевна, e-mail: olga_domracheva@bk.ru

²State Scientific Center of Dermatovenerology and Cosmetology (Nizhny Novgorod branch), 49g Kovalikhinskaya St., Nizhny Novgorod, 603155, Russian Federation;

³Privolzhsky Federal Medical Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation, 18/1 Verkhne-Volzhskaya naberezhnaya St., Nizhny Novgorod, 603155, Russian Federation

The aim of the investigation was to determine the significance of the index of natural colonization of epithelial cells for evaluating the effectiveness of treatment and prevention using immunomodulators in patients with microbial eczema and yeast onychomycosis.

Materials and Methods. The level of natural bacterial colonization of buccal epithelial cells was determined in patients with microbial eczema and yeast onychomycosis before and after combined treatment with immunomodulators.

Results. The study showed that the level of natural colonization of epithelial cells increased in pathologic processes. The natural colonization level significantly decreased after combined therapy with Polyoxidonium (in microbial eczema) and Derinat (in onychomycosis), approximating the level in healthy people. Evaluation of changes in natural bacterial colonization on buccal epithelial cells makes it possible to estimate the efficiency of combined treatment with immunomodulators.

Key words: buccal epithelial cells; microbial eczema; onychomycosis; natural colonization; Polyoxidonium; Derinat; soluble adhesion molecules.

Значительное количество патологий человека протекает на фоне иммунной недостаточности, что определяет тяжесть клинических проявлений хронических заболеваний, а также развитие осложнений и ухудшение прогноза [1]. Чтобы добиться достаточного клинического эффекта при заболеваниях, торпидных к проводимой стандартной терапии, в схему комплексного лечения часто вводятся иммуномодулирующие препараты [2–4]. Дерматологические заболевания развиваются на фоне изменений реактивности организма, сопровождаются нарушениями в работе иммунных факторов и склонны к хроническому рецидивирующему течению. Поэтому использование в их лечении иммуномодуляторов является важной частью комплексной терапии. Однако до сих пор не существует алгоритма, позволяющего определиться с точным выбором и оценкой эффективности действия иммуномодулятора, используемого в ходе комплексной терапии различных патологических состояний [5–7].

Одним из простых и неинвазивных методов для выявления патологических изменений в организме человека служит оценка уровня естественной колонизации буккальных эпителиоцитов [8, 9]. Способность к адгезивным взаимодействиям является важнейшей функциональной характеристикой эпителиоцитов и может быть источником важной диагностической и прогностической информации [10].

В работе нами была сделана попытка оценить информативность показателя естественной колонизации буккальных эпителиоцитов при определении эффективности комплексной терапии хронических патологий: микробной экземы и онихомикоза дрожжевого генеза с использованием иммуномодулирующих препаратов Полиоксидоний и Деринат. Выбор данных препаратов был обусловлен их широким применением в различных областях медицины (педиатрия, гинекология, кардиология, онкология и др.) [2].

Цель исследования — определить значимость показателя естественной колонизации эпителиоцитов в оценке эффективности лечебно-профилактических

мероприятий с использованием иммуномодуляторов у больных с микробной экземой и онихомикозом дрожжевого генеза.

Материалы и методы. Естественная колонизация буккальных эпителиоцитов исследована у 52 больных микробной экземой. Часть пациентов с микробной экземой (n=28) получали терапию согласно стандарту лечения данного заболевания. В группе с комбинированной терапией (n=24) пациентам дополнительно назначали иммуномодулятор Полиоксидоний (азоксимера бромид) (НПО «Петровакс Фарм», Россия) 24 мг 2 раза в день 10 дней.

Также в работе исследованы буккальные эпителиоциты, полученные от больных с онихомикозом до и после курса лечения: после классического лечения антимикотиками (n=26) и комплексного лечения с препаратом Деринат (дезоксирибонуклеат натрия, ФП «Техномедсервис, Россия) (n=27) — внутримышечно по 5 мл 1,5% раствора с интервалом 24–72 ч, курс 5–10 инъекций.

Контрольную группу (n=28) составили здоровые мужчины и женщины 21–38 лет.

Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией, принятой в июне 1964 г. (Хельсинки, Финляндия) и пересмотренной в октябре 2000 г. (Эдинбург, Шотландия), и одобрено Этическим комитетом НижГМА. От каждого пациента получено информированное согласие.

Буккальные эпителиоциты получали утром, натощак, с внутренней поверхности щеки, дважды отмывали (40 г, 5 мин) забуференным физиологическим раствором, готовили взвесь с концентрацией 10⁶ кл./мл. Оценку естественной колонизации у пациентов проводили путем подсчета общего количества бактериальных клеток, адгезированных на эпителиоцитах. Из суспензии буккальных эпителиоцитов готовили мазки, фиксировали метанолом (10 мин), окрашивали 0,25% водным раствором азура А (Sigma-Aldrich, США). Индекс естественной колонизации оценивали по числу бактериальных клеток в пересчете на один эпите-

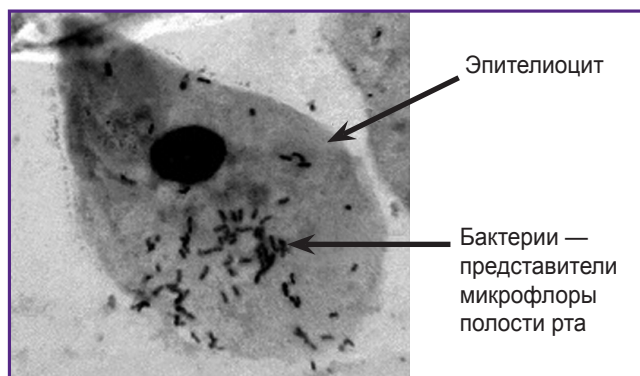


Рис. 1. Естественная колонизация буккального эпителиоцита; $\times 900$; окраска азуром А

лиоцит (бакт./эп.). Учитывали средний результат после подсчета 100 эпителиоцитов (рис. 1).

Для оценки значимости индекса естественной колонизации буккального эпителия в определении эффективности комплексной терапии мы сравнили его изменения с изменениями растворимых молекул межклеточной адгезии sICAM-1 и иммуноглобулинов IgG, IgE. Исследование их уровня проводили методом иммуноферментного анализа на спектрофотометре Bio-Rad 480 (Bio-Rad Laboratories, США). Кровь

из локтевой вены отбирали утром натощак в объеме 5 мл, получали сыворотку путем центрифугирования (1000 g, 20 мин, 4°C). Для определения уровня иммуноглобулинов и sICAM-1 использовали коммерческие тест-системы («Вектор Бест», Россия и Bender MedSystems, Австрия).

Статистическую обработку данных проводили по общепринятой методике. Рассчитывали среднюю арифметическую и ее стандартную ошибку ($M \pm m$). Достоверность различий оценивали при помощи критериев Вилкоксона и Манна–Уитни. Различия расценивали как статистически значимые при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что у больных микробной экземой до лечения наблюдалось повышение средних значений всех выбранных показателей (см. таблицу). Стандартная схема лечения приводила к несущественному снижению индекса естественной колонизации — с $36,79 \pm 15,52$ до $35,12 \pm 15,21$ бакт./эп. После комплексной терапии с использованием препарата Полиоксидоний индекс естественной колонизации снижался в большей степени ($p > 0,05$) и составлял $26,47 \pm 12,03$ бакт./эп., приближаясь к показателям в контрольной группе — $14,31 \pm 6,91$ бакт./эп. (рис. 2).

Концентрация сывороточных факторов sICAM-1, IgG и IgE также повышалась при патологии, однако в отличие от индекса естественной колонизации не от-

Естественная колонизация буккального эпителия и сывороточные показатели у больных с микробной экземой при различных схемах лечения ($M \pm m$)

Группы	Показатель адгезии, бакт./эп.	Факторы сыворотки		
		sICAM-1, нг/мл	IgG, мг/мл	IgE, мг/мл
Здоровые добровольцы (n=28)	14,31±6,91	377,60±92,78	10,45±0,68	25,53±5,51
Пациенты с экземой до лечения (n=52)	36,79±15,52↑	514,73±110,57↑	12,92±0,93	42,38±15,74↑
Пациенты с экземой после стандартного лечения (n=28)	35,12±15,21	510,54±110,26	12,92±0,89	42,85±15,25
Пациенты с экземой после комплексного лечения* (n=24)	26,47±12,03↓	505,61±114,29	12,87±0,56	43,81±16,87

Примечание. * — комплексное лечение с применением препарата Полиоксидоний; ↑ — увеличение показателя относительно группы здоровых; ↓ — снижение показателя в процессе лечения.

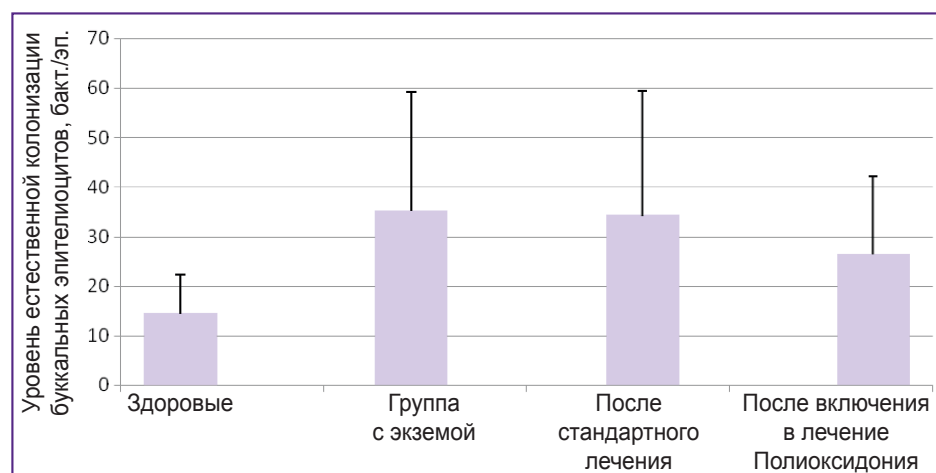


Рис. 2. Уровень естественной колонизации буккальных эпителиоцитов у больных микробной экземой при лечении с использованием иммуномодулятора Полиоксидоний

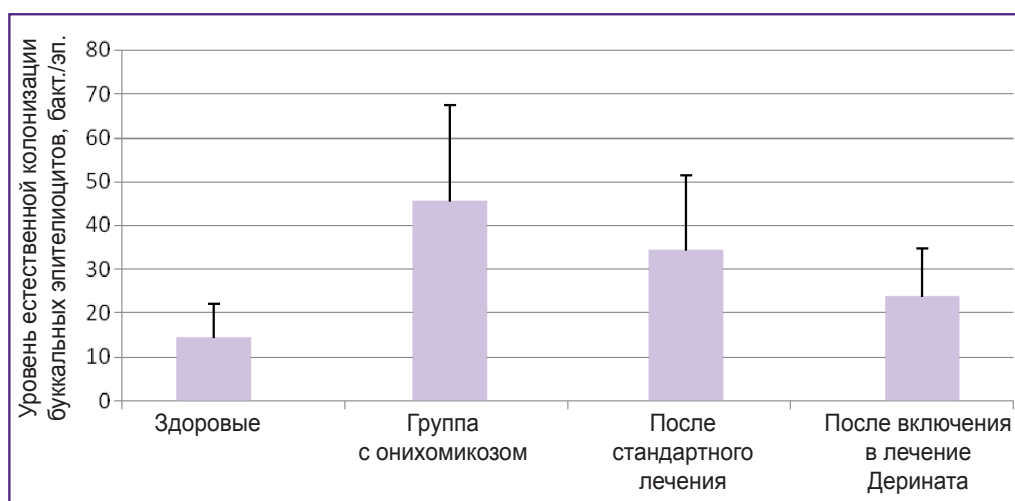


Рис. 3. Уровень естественной колонизации буккальных эпителиоцитов у пациентов с онихомикозом при лечении с использованием иммуномодулятора Деринат

ражала динамику положительных изменений в ходе лечения заболевания (см. таблицу).

На следующем этапе исследования проводили оценку изменения уровня естественной колонизации буккального эпителия на фоне комплексного лечения онихомикозов, вызываемых грибами рода *Candida*, с использованием препарата Деринат.

Установлено, что индекс естественной колонизации эпителиоцитов у больных онихомикозом был также существенно выше, чем у здоровых: $45,32 \pm 22,14$ бакт./эп. против $14,30 \pm 7,89$ бакт./эп. (рис. 3).

После проведенного курса стандартного лечения онихомикоза дрожжевого генеза индекс естественной колонизации был ниже и составлял $34,19 \pm 17,21$ бакт./эп. ($p > 0,05$). При комплексной терапии с использованием препарата Деринат индекс естественной колонизации снижался в большей степени — до $23,71 \pm 11,0$ бакт./эп. ($p > 0,05$), приближаясь к показателям в контрольной группе.

Таким образом, повышение уровня естественной колонизации буккальных эпителиоцитов наблюдалось при обеих патологиях (см. рис. 2, 3). При этом на фоне комплексной терапии уровень микробной колонизации буккальных эпителиоцитов снижался достаточно быстро (в течение 10–14 дней), приближаясь к значениям, характерным для здоровых людей. Кроме того, при проведении комплексной терапии микробной экземы изменение уровня естественной колонизации было выражено намного сильнее, чем у сывороточных показателей (sICAM, IgE).

Известно, что уровень естественной колонизации эпителиоцитов во многом зависит от индивидуальных особенностей человека, его мукозального иммунитета, а также наличия сопутствующих патологий, в частности заболеваний полости рта (кариес и др.) [11]. Этим можно объяснить тот факт, что изменение индекса естественной колонизации

у группы пациентов как на фоне заболевания, так и после лечения имело характер тенденции, поскольку у ряда больных данная динамика отсутствовала. Тем не менее возвращение к нормальным значениям уровня естественной колонизации эпителиоцитов наблюдалось у большинства людей после лечения с использованием иммуномодуляторов. Так, статистически значимое ($p < 0,05$) уменьшение и нормализация индекса естественной колонизации отмечались у 62,6% больных с онихомикозом после комплексной терапии с использованием препарата Деринат. Эффективность комплексной терапии с иммуномодулятором Полиоксидоний при микробной экземе была еще выше: выраженная позитивная динамика наблюдалась у 72,3% пациентов ($p < 0,05$). У меньшей группы больных уровень естественной колонизации эпителиоцитов существенно не изменялся после проведенного курса лечения, что могло свидетельствовать либо об отсутствии терапевтического эффекта в данной группе пациентов, либо о наличии у них дополнительной (невывявленной) патологии. В целом можно считать, что введение иммуномодуляторов в схему комплексной терапии микробной экземы и онихомикоза дрожжевого генеза имеет положительный результат, хотя и не является панацеей.

Заключение. Сравнение уровня естественной колонизации буккальных эпителиоцитов у пациентов с хроническими дерматологическими заболеваниями до и после проведенного курса лечения является доступным методом, позволяющим в короткие сроки оценить эффективность терапевтических мероприятий, в том числе с использованием иммуномодулирующих препаратов.

Финансирование исследования и конфликт интересов. Исследование не финансировалось какими-либо источниками, и конфликты интересов, связанные с данным исследованием, отсутствуют.

Литература/References

1. Сепиашвили Р.И. От иммунотерапии к персонализированной таргетной иммуномодулирующей терапии и иммунореабилитации. Аллергология и иммунология 2015; 16(4): 323–328. Sepiashvili R.I. From immunotherapy to personalized targeted immunomodulating therapy and immunorehabilitation. *Allergologiya i immunologiya* 2015; 16(4): 323–328.

2. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Механизм действия и клиническое применение иммуномодуляторов. Аллергия, астма и клиническая иммунология 2003; 8: 43–49. Khaitov R.M., Pinegin B.V. The mechanism of action and clinical application of immunomodulators. *Allergiya, astma i klinicheskaya immunologiya* 2003; 8: 43–49.

3. Аллахвердиева Л.И., Эюбова А.А., Ахмедова Г.П. Влияние иммуномодулирующей терапии на показатели иммунитета и апоптоз у детей с atopической бронхиальной астмой. Иммунология 2011; 32(3): 160–163. Allahverdieva L.I., Eyubova A.A., Akhmedova G.P. The influence of immunomodifying therapy on the immune characteristics and apoptosis in children suffering atopic bronchial asthma. *Immunologiya* 2011; 32(3): 160–163.

4. Караулов А.В. Полиоксидоний в клинической практике. М: ГЭОТАР-Медиа; 2008; 136 с. Karaulov A.V. *Polioksidoniy v klinicheskoy praktike* [Polyoxidonium in clinical practice]. Moscow: GEOTAR-Media; 2008; 136 p.

5. Булгакова В.А. Практика клинического применения азоксимера бромида (Полиоксидоний®) для терапии и профилактики респираторных инфекций. Российский аллергологический журнал 2014; 3: 73–81. Bulgakova V.A. The practice of clinical use of azoximer bromide for therapy and prevention of respiratory infections. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal* 2014; 3: 73–81.

6. Márquez-González H., López-Gallegos D., González-Espinosa A.M., Zamudio-López J.O., Yáñez-Gutiérrez L. Effect of immune therapy in the prognosis of viral myocarditis in pediatric patients. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2016; 54(Suppl 3): S296–S301.

7. Абдрахимова Н.А., Хисматуллина З.Р., Мустафина Г.Р., Надырченко Р.М., Гареев Е.М. Роль иммуно-

модулирующей терапии в лечении микробной экземы. В кн.: Проблемы медицины в современных условиях. Казань; 2015; с. 31–33. Abdrakhimova N.A., Khismatullina Z.R., Mustafina G.R., Nadyrchenko R.M., Gareev E.M. Rol' immunomoduliruyushchey terapii v lechenii mikrobnoy ekzemy. V kn.: *Problemy meditsiny v sovremennykh usloviyakh* [The role of immunomodulating therapy in management of microbial eczema. In: Problems of medicine in the modern context]. Kazan; 2015; p. 31–33.

8. Маянский А.Н., Абаджиди М.А., Маянская И.В., Заславская М.И., Махрова Т.В. Реактивность буккальных эпителиоцитов: индикация местных и общих нарушений гомеостаза (обзор литературы). Клиническая лабораторная диагностика 2004; 8: 31–34. Mayansky A.N., Abadjidi M.A., Mayanskaya I.V., Zaslavskaya M.I., Makhrova T.V. Reactivity of buccal epitheliocytes: indication of local and general impairment in hemostasis (literature survey). *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* 2004; 8: 31–34.

9. Махрова Т.В. Влияние метаболитов стафилококка на адгезивные реакции в системе «Candida albicans — буккальные эпителиоциты». Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии 2004; 5: 4–7. Makhrova T.V. The influence of staphylococcal metabolites on adhesive reactions in the system “Candida albicans — buccal epithelial cells”. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* 2004; 5: 4–7.

10. Полякова В.О., Пальцева Е.М., Крулевский В.А. Буккальный эпителий. Новые подходы к молекулярной диагностике социально-значимой патологии. СПб: Н-Л; 2015; 128 с. Polyakova V.O., Pal'tseva E.M., Krulevskiy V.A. *Bukkal'nyy epiteliy. Novye podkhody k molekulyarnoy diagnostike sotsial'no-znachimoy patologii* [Buccal epithelium. New approaches to molecular diagnosis of socially significant pathology]. Saint Petersburg: N–L; 2015; 128 p.

11. Рацюк М.М., Лукиных Л.М., Зеленова Е.Г. Индекс естественной колонизации буккального эпителия в клинике терапевтической стоматологии. Нижегородский медицинский журнал. Стоматология 2003; прил.: 65–66. Ratsyuk M.M., Lukinykh L.M., Zelenova E.G. An index of the buccal epithelium natural colonization in a therapeutic stomatology clinic. *Nizhegorodskiy meditsinskiy zhurnal. Stomatologiya* 2003; Suppl: 65–66.