

Использование озono-кислородной газовой смеси в терапии военнослужащих, страдающих атопическим дерматитом

¹3-й Военный госпиталь внутренних войск Министерства внутренних дел России, Санкт-Петербург

²Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

³Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург

Резюме. Представлены данные иммунологического обследования военнослужащих внутренних войск, страдающих атопическим дерматитом, и их динамика в зависимости от применения озонотерапии. Иммунный профиль обследованных соответствует Th2-направленному иммунному ответу. Выявлены статистически значимые ($p < 0,05$) различия по иммунологическим показателям у военнослужащих, страдающих атопическим дерматитом, в сравнении с группой здоровых. Определено увеличение экспрессии В-клеточного маркера CD19+ ($17,6 \pm 1,6\%$, $0,48 \pm 0,04$ пг/мл; здоровые – $6,3 \pm 2,4\%$, $0,23 \pm 0,04$ пг/мл соответственно), уровня сывороточного IL-4 ($6,2 \pm 0,21$ пг/мл; здоровые – $1,5 \pm 1,12$ пг/мл соответственно) и провоспалительного цитокина TNF- α ($4,8 \pm 4,1$ пг/мл; здоровые – $1,8 \pm 3,2$ пг/мл соответственно), снижение относительного числа Т-клеток CD3+ ($61,1 \pm 1,8\%$; здоровые – $71,5 \pm 1,9\%$ соответственно) и CD3+CD8+ ($20,7 \pm 2,6\%$; здоровые – $29,2 \pm 2,1\%$ соответственно). После проведения озонотерапии нормализовались исходно измененные показатели клеточного звена иммунитета CD3+ и CD3+CD8+ ($72,5 \pm 1,4$ и $28,9 \pm 2,2\%$ соответственно), снизился уровень цитокинов TNF- α и IL-2 ($2,6 \pm 3,5$ и $1,1 \pm 0,5$ пг/мл соответственно), вместе с тем, не удалось обнаружить статистически достоверных данных по изменению IFN- γ , IFN- α , IL-1 β , IL-4, IL-6 и IL-10, экспрессия В-клеточного маркера CD19+ осталась на прежнем уровне. Таким образом, иммунологические данные, полученные в процессе исследования, позволяют характеризовать хроническое кожное заболевание как Т-клеточно-ассоциированный атопический дерматит. Подтверждено иммунокорригирующее действие озонотерапии у военнослужащих внутренних войск, страдающих атопическим дерматитом.

Ключевые слова: военнослужащие внутренних войск, озонотерапия, псориаз, экзема, атопический дерматит, хронические дерматозы, иммунный статус, иммунокоррекция, клеточное звено иммунитета.

Введение. Немедикаментозные методы лечения пациентов, страдающих атопическим дерматитом (АтД), заменяющие или существенным образом ограничивающие потребность в лекарственных препаратах, в настоящее время представляют собой востребованный и развивающийся сегмент физиотерапевтических подходов в дерматологии. Одним из таких методов является лечебное применение озона – озонотерапия (ОзТ), получающее все более широкое распространение в нашей стране и за рубежом [1, 12, 18].

В военных госпиталях внутренних войск Министерства внутренних дел Российской Федерации использование озона в целях лечения и профилактики хронических кожных заболеваний: атопического дерматита, экземы, псориаза является актуальным клиническим направлением, которое обеспечивает оптимальную патогенетическую терапию с высокой эффективностью и хорошей переносимостью при относительной дешевизне метода.

В последнее десятилетие активно внедряются и используются способы, связанные с парентеральным (внутривенным, внутримышечным, подкожным) введением терапевтических доз озона в клинической

дерматологии [5]. Имеются данные по иммуномодулирующему действию озонотерапии, но исследования на эту тему были до сих пор немногочисленными и фрагментарными. В частности, доказано как прямое, так и опосредованное иммуностропное действие озона (реализуемое через различные механизмы регуляции гомеостаза) [6, 7]. Установлено, что парентеральное введение озono-кислородной газовой смеси способствует нормализации показателей клеточного иммунитета, оказывает модулирующее влияние на гуморальное звено иммунитета [5, 18]. Как известно, в иммунопатогенезе атопического дерматита основная роль принадлежит Т-хелперам 2-го типа (Th2-клетки) [10, 11, 14]. Данный тип CD4 Т-клеток секретирует набор цитокинов, необходимых для гуморального иммунного ответа: IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, (дискриминантный цитокин – IL-4) [2, 3, 9, 15]. С учетом наследственной предрасположенности (задействовано около 20 генов) к атопическому дерматиту и пенетрантности генов, реакция иммунитета может отличаться в зависимости от индивидуальных генетических характеристик [16, 17].

Поскольку патогенез многих хронических дерматозов сопряжен с различными иммунными наруше-

ниями, иммунопатогенетический подход в лечении является наиболее приемлемым и адекватным. Физиотерапевтическая методика подкожного введения озono-кислородной газовой смеси, как компонент комплексной терапии, с учетом иммуностропного влияния, является оптимальной для пациентов, страдающих атопическим дерматитом [4, 5].

Цель исследования. Исследовать особенности иммунного статуса у военнослужащих внутренних войск, страдающих атопическим дерматитом, и оценить иммуномодулирующий эффект озонотерапии.

Материалы и методы. За пятилетний период проведения исследования, с 2010 по 2015 гг., обследован 51 военнослужащий внутренних войск Северо-Западного регионального командования внутренних войск Министерства внутренних дел Российской Федерации в возрасте $26 \pm 2,7$ лет с диагностированным атопическим дерматитом. На момент обследования военнослужащие не предъявляли жалоб, заболевание находилось в фазе ремиссии, что позволяло выполнять служебные обязанности в полном объеме. Контрольную группу (КГ) составили 25 здоровых такого же возраста военнослужащих-контрактников Северо-Западного регионального командования внутренних войск Российской Федерации.

Аппаратное обеспечение подкожного введения озono-кислородной газовой смеси проводилось с использованием полностью автоматизированной установки отечественного производства «УОТА-60-01» фирмы «Медозон» (Москва), предназначенной для проведения различных методик местной и системной озонотерапии, в том числе, для парентерального введения терапевтических доз озона. Концентрация озона составляла 10 мкг/мл. Для выполнения процедуры использовали пластиковый мешок, который наполняли газовой смесью с заданной концентрацией озона. Далее, к мешку присоединяли шприц и заполняли его 20 мл озono-кислородной газовой смеси, после чего ее микроиглой вводили подкожно в 8–10 произвольных точек на передней поверхности живота. Физиотерапевтический лечебный курс состоял из 5 процедур озонотерапии с интервалами в 2 дня.

Лабораторный иммунологический контроль эффективности озонотерапии проводился с использованием стандартных унифицированных методик, рекомендованных для оценки иммунного профиля [8, 15]. Состояние системы Т- и В-лимфоцитарного звена иммунитета определяли иммунофлуоресцентным методом по А.В. Филатову в модификации И.В. Нестеровой [7]. Исследование субпопуляций лимфоцитов выполняли на проточном цитометре «Cytomics FC500» фирмы «Beckman Coulter» (Соединенные Штаты Америки) с использованием различных комбинаций прямых моноклональных антител (CD3/CD19, CD3/CD4, CD3/CD8, CD3/CD16+CD56, CD3/HLA-DR, CD3/CD25) и изотипических контролей (IgG1FITC/IgG1PE, IgG1FITC/IgG2PE) той же фирмы. Определение сывороточных цитокинов: фактора некроза опухоли- α

(TNF- α), интерферона- γ (IFN- γ), интерферона- β (IFN- β), интерлейкина-1 β (IL-1 β), интерлейкина-2 (IL-2), интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-6 (IL-6) и интерлейкина-10 (IL-10) проводили с использованием иммуноферментного анализа. Для этого применяли коммерческие тест-системы закрытого акционерного общества «Вектор-Бест-Балтика» и общества с ограниченной ответственностью «Цитокин» (Санкт-Петербург).

Полученные в процессе исследования экспериментальные данные были обработаны с использованием пакета прикладных программ Statistica 10.0 методами параметрической и непараметрической статистики с учетом критериев Стьюдента и Вилкоксона. Уровень достоверности считался достаточным при $p \leq 0,05$ [13].

Результаты и их обсуждение. Исследование клеточного звена иммунитета у военнослужащих, страдающих атопическим дерматитом в период до назначения озонотерапии (I этап) выявило статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение экспрессии В-клеточного маркера CD19+, являющегося ключевым компонентом трансдукции сигналов, регулирующих развитие, активацию и дифференцировку В-лимфоцитов [10, 16]. Также определено снижение относительного числа Т-клеток (CD3+), что свидетельствует о Th2-направленности иммунного ответа [10, 14]. Выявлено уменьшение относительного количества цитотоксических лимфоцитов с фенотипом CD3+CD8+ по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$), что характерно для аллергических состояний различного генеза [16].

Обследование военнослужащих после физиотерапевтического курса подкожного введения озono-кислородной газовой смеси (II этап) выявило достоверное ($p < 0,05$) увеличение относительного количества Т-клеток с фенотипами CD3+ и CD3+CD8+ по сравнению с результатами I этапа исследования (табл. 1).

Изучение цитокинового профиля на I этапе обследования у военнослужащих, страдающих атопическим дерматитом, выявило статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение уровня сывороточного IL-4 по сравнению с КГ, коррелирующее с Th2-направленностью иммунного ответа. Уровень провоспалительного цитокина – TNF- α в сравнении с КГ характеризовался более высокими значениями.

Подкожное введение озono-кислородной газовой смеси у военнослужащих внутренних войск, страдающих атопическим дерматитом (II этап исследования) обусловило достоверное ($p < 0,05$) снижение уровня провоспалительного цитокина – TNF- α , определяющего активность воспалительного процесса [9, 12]. Также выявлено статистически значимое ($p < 0,05$) уменьшение уровня сывороточного цитокина IL-2, обусловленное уменьшением активности иммунокомпетентных клеток. Не удалось обнаружить статистически достоверных различий по изменению IFN- γ , IFN- α , IL-1 β , IL-4, IL-6 IL-10 как до применения озонотерапии, так и после ее применения (табл. 2).

Таблица 1

Состояние клеточного звена иммунитета у военнослужащих, страдающих АтД, М±m

Показатель	Военнослужащие, страдающие АтД		КГ
	до ОзТ (I этап)	после ОзТ (II этап)	
CD3 ⁺ -лимфоциты, %	61,1±1,8*	72,5±1,4**	71,5±1,9
CD3 ⁺ -лимфоциты, ×10 ⁹ /л	1,42±0,07	1,39±0,05	1,34±0,04
CD3 ⁺ CD4 ⁺ -лимфоциты, %	40,2±1,2	40,7±1,8	41,5±2,5
CD3 ⁺ CD4 ⁺ -лимфоциты, ×10 ⁹ /л	0,92±0,03	0,88±0,02	0,87±0,07
CD3 ⁺ CD8 ⁺ -лимфоциты, %	20,7±2,6*	28,9±2,2**	29,2±2,1
CD3 ⁺ CD8 ⁺ -лимфоциты, ×10 ⁹ /л	0,48±0,05	0,45±0,07	0,47±0,05
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ -лимфоциты, %	8,2±1,1	7,8±1,4	8,2±1,2
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ -лимфоциты, ×10 ⁹ /л	0,31±0,03	0,35±0,05	0,28±0,05
CD19 ⁺ -лимфоциты, %	17,6±1,6*	17,4±1,8*	6,3±2,4
CD19 ⁺ -лимфоциты, ×10 ⁹ /л	0,48±0,04*	0,46±0,05*	0,23±0,04
CD3 ⁺ CD25 ⁺ -лимфоциты, %	10,2±2,8	10,4±2,2	10,1±2,6
CD3 ⁺ CD25 ⁺ -лимфоциты, ×10 ⁹ /л	0,18±0,02	0,17±0,06	0,19±0,08

Примечание: * – различия по сравнению с КГ; ** – по сравнению с I этапом, p<0,05.

Таблица 2

Показатели TNF-α, IFN-γ, IFN-α, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6 и IL-10 у военнослужащих, страдающих АтД, М±m

Показатель	Военнослужащие, страдающие АтД		КГ
	До ОзТ(I этап)	После ОзТ(II этап)	
TNF-α, пг/мл	4,8±4,1*	2,6±3,5**	1,8±3,2
IFN-γ, пг/мл	10,3±1,2	10,6±1,5	11,1±2,1
IFN-α, пг/мл	12,1±2,6	11,8±3,7	11,9±2,8
IL-1β, пг/мл	3,9±0,6	4,2±0,7	4,2±0,6
IL-2, пг/мл	5,8±0,3	1,1±0,5**	5,7±0,8
IL-4, пг/мл	6,2±0,21*	6,2±0,34	1,5±1,12
IL-6, пг/мл	8,1±1,3	8,5±1,1	7,8±1,8
IL-10, пг/мл	8,8±4,5	8,9±3,45	9,2±4,8

Примечание: * – различия по сравнению с КГ; ** – по сравнению с I этапом, p<0,05.

Заключение. Иммунологические данные, полученные в процессе исследования, позволяют характеризовать хроническое кожное заболевание как Т-клеточно-ассоциированный атопический дерматит. Подтверждено иммунокорригирующее действие озонотерапии у военнослужащих внутренних войск, страдающих атопическим дерматитом. Определено, что влияние физиотерапевтического парентерального применения озono-кислородной газовой смеси, путем подкожного введения, обладает многофункциональным иммуномодулирующим эффектом. Правоммерно заключение о преимущественным влиянием озонотерапии на Т-клеточную систему иммунитета, однако с учетом того, что регуляция всех иммунных процессов осуществляется с помощью цитокинов, действие которых всегда плейотропное, селективность методики остается относительной.

Литература

- Алехина, С.П. История развития озонотерапии / С. П. Алехина, Т.Г. Щербатюк // Озонотерапия: клинические и экспериментальные аспекты. – Н. Новгород. – 2003. – С. 4–5.
- Долгих, В.Т. Основы иммунопатологии: учебное пособие / В.Т. Долгих. – Ростов н/Д: Феникс, 2007. – 320 с.
- Кетлинский, С.А. Современные аспекты изучения цитокинов / С.А. Кетлинский // Russ. J. of Immunol. – 1999. – Vol. 4, Suppl. 1. – P. 46–52.
- Кочергин, Н.Г. Атопический дерматит: современные аспекты патогенеза и терапии / Н.Г. Кочергин // Русс. мед. журн. – 2004. – № 18. – С. 1076–1081.
- Криваткин, С.Л. Озонотерапия заболеваний кожи / С.Л. Криваткин, Е.В. Криваткина // «Озон и методы эфферентной терапии в медицине». Мат. III Всероссийской научно-практической конференции. – Н. Новгород: МЗРФ, 1998. – С. 125–127.
- Лебедев, К.А. Иммунная недостаточность (выявление и лечение) / К.А. Лебедев, Д.Б. Понякина. – Н. Новгород: НГМА, 2003. – 443 с.
- Нестерова, И. В. Комплексное трехуровневое исследование системы нейтрофильных гранулоцитов с возможностью диагностики иммунодефицитных состояний при различной патологии: метод. рекоменд. / И.В. Нестерова, Н.В. Колесникова, Г.А. Чудилова. – М.: МЗРФ, 1996. – 25 с.
- Никулин, Б.А. Оценка и коррекция иммунного статуса / Б.А. Никулин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 376 с.
- Ревакина, В.А. Атопический дерматит: роль цитокинов в механизмах развития / В.А. Ревакина, С.Д. Коростовцев // Аллергология. – 2001. – № 1. – С. 40–48.

10. Рабсон, А. Основы медицинской иммунологии / А. Рабсон, А. Ройт, П. Делвз; пер. с англ. – М.: Мир, 2006. – 320 с.
11. Сергеев, Ю.В. Атопический дерматит: новые подходы к профилактике и наружной терапии / Ю.В. Сергеев [и др.] // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2003. – № 2. – С. 57–64.
12. Суворова, К.Н. Атопический дерматит. Иммунопатогенез и стратегия иммунотерапии / К.Н. Суворова // Рус. мед. журн. – 1998. – № 6. – С. 363–367.
13. Трухачева, Н.В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica / Н.В. Трухачева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 377 с.
14. Хазизов, И.Е. Нарушения Т-клеточного иммунитета у больных экземой, атопическим дерматитом, псориазом / И.Е. Хазизов // Клинич. мед. – 2001. – № 10. – С. 36–39.
15. Чепель, Э. Основы клинической иммунологии / Э. Чепель [и др.]; пер. с англ. – 5-е изд. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 416 с.
16. Ярилин, А.А. Иммунология: учебник / А.А. Ярилин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 752 с.
17. Darsow, U. European Task Force on Atopic Dermatitis. Position paper on diagnosis and treatment of atopic dermatitis / U. Darsow [et al.] // J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. – 2005. – Suppl. 19. – № 3. – P. 286–295.
18. Viebahn-Haensler, R / The use of ozone in medicine / R. Viebahn-Haensler – Germany, Heidelberg, 1998. – 148 p.

A.V. Apchel, A.M. Ivanov, D.V. Zaslavskiy

Usage of ozone-oxygen gas mixture in treatment of military personnel with atopic dermatitis

Abstract. We presented data of immunological examination of internal troops with atopic dermatitis and their dynamics depending on the use of ozone therapy. The immune profile meets surveyed Th2-directed immune response. Statistically significant ($p < 0,05$) differences in immunological parameters in personnel with atopic dermatitis compared with healthy. Defined increase in the expression B-cell marker CD19+ ($17,6 \pm 1,6\%$, $0,48 \pm 0,04$ pg/ml; healthy – $6,3\% \pm 2,4$, $0,23 \pm 0,04$ pg/ml, respectively), the level of serum IL-4 ($6,2 \pm 0,21$ pg/ml; healthy – $1,5 \pm 1,12$ pg/ml, respectively) and a pro-inflammatory cytokine TNF- α ($4,8 \pm 4,1$ pg/ml; healthy – $1,8 \pm 3,2$ pg/ml, respectively), a relative decrease of CD3+ T-cells ($61,1 \pm 1,8\%$; healthy – $71,5 \pm 1,9\%$, respectively) and CD3+CD8+ ($20,7 \pm 2,6\%$; healthy – $29,2 \pm 2,1\%$, respectively). After the ozone therapy normalized baseline indicators modified immune cell component CD3+ and CD3+CD8+ ($72,5 \pm 1,4$ and $28,9 \pm 2,2\%$, respectively), decreased levels of cytokines TNF- α and IL-2 ($2,6 \pm 3,5$ and $1,1 \pm 0,5$ pg/ml, respectively), however, failed to detect statistically significant change in data on IFN- γ , IFN- α , IL-1 β , IL-4, IL-6 and IL-10, the expression of B-cell marker CD19+ remained at the same level. Thus, the immunological data obtained during the study allows characterize chronic skin disease as T-cell-associated atopic dermatitis. We confirmed the immunomodulating effect of ozone therapy in internal troops suffering from atopic dermatitis.

Key words: internal troops, ozonotherapy, psoriasis, eczema, atopic dermatitis, chronic dermatoses, immune status, immunotherapy, cellular link of immunity.

Контактный телефон: +7-911-935-67-33; e-mail: apchelandrey@mail.ru