

ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Сновская М.А.¹, Курбатова О.В.¹, Жужула А.А.¹, Петричук С.В.¹, Семикина Е.Л.^{1,2}, Фисенко А.П.¹

ОСОБЕННОСТИ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИНУКЛЕАРНОГО ФАКТОРА У ДЕТЕЙ С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

¹ ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава РФ, 119991, Москва, Россия;

² ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ (Сеченовский Университет), 119435, Москва, Россия

Атопический дерматит (АтД) представляет собой многофакторное воспалительное заболевание кожи. Пищевые аллергены считаются одним из основных триггеров, запускающих реализацию наследственной предрасположенности к АтД у детей. Имеются данные, описывающие выявление аутоантител при АтД.

Цель работы: изучить типы и титры антинуклеарных антител у детей с атопическим дерматитом в зависимости от тяжести течения заболевания и возраста детей.

Материал и методы. В исследование были включены 96 детей, возраст пациентов $Me=7,37$ [3,76; 11,31] года. Всем пациентам был определен уровень общего IgE (Cobas e411), антинуклеарный фактор (АНФ) методом непрямой иммунофлуоресценции на клеточной линии HEP-2 (Aeskuslides).

Результаты. У 65,6% обследованных детей с АтД выявлен положительный титр АНФ. Титр АНФ варьировал от 1:160 до 1:1280. Анализ типов свечения показал наличие у пациентов с АтД ядерных, цитоплазматических, митотических и смешанных паттернов. Выявлено увеличение титра АНФ и повышение разнообразия типов свечения у детей с возрастом. Показана взаимосвязь числа позитивных титров АНФ со степенью тяжести АтД и распространенностью патологического процесса. Показана взаимосвязь концентрации IgE с результатом тестирования АНФ у детей с АтД: пациенты с положительным АНФ имели статистически значимо более высокие концентрации IgE в сыворотке крови, чем пациенты с отрицательным АНФ.

Заключение. Таким образом, мы показали, что у пациентов с тяжелым атопическим дерматитом выявляются признаки иммунологических процессов, характерные для аутоиммунных заболеваний. Данная находка может объяснить тяжелое течение основного заболевания у детей, низкую эффективность на консервативную терапию. Полученные результаты обосновывают необходимость углубленного обследования детей с АтД на наличие специфических аутоантител и рассмотрение вопроса о коррекции терапии.

Ключевые слова: дети; атопический дерматит; антинуклеарный фактор; HEP-2; аутоантитела, IgE

Для цитирования: Сновская М.А., Курбатова О.В., Жужула А.А., Петричук С.В., Семикина Е.Л., Фисенко А.П. Особенности выявления антинуклеарного фактора у детей с атопическим дерматитом. Клиническая лабораторная диагностика. 2024; 69 (7): 332-340. DOI: https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-7-332-340

Для корреспонденции: Сновская Марина Андреевна, канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии; e-mail: snows@inbox.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 26.04.2024
Принята к печати 23.05.2024
Опубликовано 25.06.2024

Snovskaya M.A.¹, Kurbatova O.V.¹, Zhuzhula A.A.¹, Petrichuk S.V.¹, Semikina E.L.^{1,2}, Fisenko A.P.¹

FEATURES OF THE DETECTION OF ANTINUCLEAR FACTOR IN CHILDREN WITH ATOPIC DERMATITIS

¹ Federal State Autonomous Institution "National Medical Research Center for Children's Health" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 119991, Moscow, Russia;

² Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 119435, Moscow, Russia.

Atopic dermatitis (AD) is a multifactorial inflammatory skin disease. Food allergens are considered one of the main triggers causing the realization of a hereditary predisposition to AD in children. There have been studies describing the appearance of autoantibodies in AD. Purpose of the work. To study the types and titers of antinuclear antibodies in children with atopic dermatitis depending on the severity of the disease and the age of the children.

Material and methods. The study included 96 children, patient age $Me=7.37$ [3.76; 11.31] years old, 54 boys, 42 girls. The level of total IgE (Cobas e411, Roche, Switzerland) and antinuclear factor (ANA, indirect immunofluorescence on the HEP-2 cell line) was determined in all patients. Statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics software (USA), Microsoft Office Excel (USA). **Results.** A positive ANA titer was detected in 65.6% examined children with AD. The ANA titer varied from 1:160 to 1:1280. Analysis of the types of luminescence showed the presence of nuclear, cytoplasmic, mitotic and mixed patterns in patients with AD. An increase in the ANA titer and a greater number of types of luminescence in children with age were revealed. The relationship between the

number of positive ANA titers and the severity of AD and the prevalence of the pathological process is shown. In children with AD, the concentration of IgE in the blood serum with positive ANA was statistically significantly higher than with negative ANA.

Conclusion. Thus, we have shown that patients with severe atopic dermatitis show signs of immunological processes which are typical for autoimmune diseases. This fact may explain the severe course of dermatitis in children and the low response to conservative therapy. The obtained results justify the necessity of an in-depth examination of children with AtD in order to search for specific autoantibodies and to consider the issue of the therapy correction.

Key words: children; atopic dermatitis; antinuclear factor; HEp-2; autoantibodies, IgE

For citation: Snovskaya M.A., Kurbatova O.V., Zhuzhula A.A., Petrichuk S.V., Semikina E.L., Fisenko A.P. Features of the detection of antinuclear factor in children with atopic dermatitis. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (7): 332-340(in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-7-332-340>

For correspondence: Snovskaya M.A, MD, cand. sci. (med.); Leading Research Associate, laboratory of experimental immunology and virusology; e-mail: snows@inbox.ru

Information about authors:

Snovskaya M. A., <https://orcid.org/0000-0002-5263-6743>;

Kurbatova O.V., <https://orcid.org/0000-0002-9213-5281>;

Zhuzhula A.A., <https://orcid.org/0000-0002-6292-7229>;

Petrichuk S.V., <https://orcid.org/0000-0003-0896-6996>;

Semikina E.L., <https://orcid.org/0000-0001-8923-4652>;

Fisenko A.P., <https://orcid.org/0000-0001-8586-7946>.

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 26.04.2024

Accepted 23.05.2024

Published 25.06.2024

Введение. Атопический дерматит (АтД) представляет собой многофакторное воспалительное заболевание кожи, одним из важных звеньев патогенеза которого является дисфункция эпидермального барьера [1]. Атопический дерматит - чрезвычайно распространенное заболевание, особенно среди детского населения: до 20% детей имеют его проявления, а среди взрослого населения частота пациентов с АтД варьирует от 2 до 8% [2, 3]. В Российской Федерации АтД наиболее часто встречается у детей 0–4 лет, по данным ряда исследований распространенность данной патологии среди детей 0–14 лет достигает 1444, а заболеваемость – 644 случая на 100 тысяч детей [4].

Клинические признаки АтД включают сухость кожи, лихенизацию, развитие эритемы, появление папулезных, сквамозных высыпаний, мокнутий, выраженного зуда и как его следствие механического повреждения кожи в виде расчесов. Заболевание носит хронический рецидивирующий характер и, в ряде случаев, осложняется вторичной инфекцией [3, 5].

Современная концепция патогенеза АтД учитывает генетическую предрасположенность организма к повреждению кожных барьеров и гиперпродукции IgE, принимает во внимание повреждающее воздействие окружающей среды, учитывает важную роль микробиома кожи, бактериальных и аллергенных триггеров воспаления в воздействии на целостность кожного барьера, а так же отмечает ключевую роль сложного иммунного ответа [6, 7].

Генетически обусловленное нарушение кератинизации рогового слоя у детей с атопическим дерматитом ведет к неспособности его удерживать воду. Сухой и ломкий роговой слой эпидермиса не может предотвратить проникновение внешних повреждающих агентов в глубокие слои кожи, что сопровождается её сенсибилизацией и развитием воспалительного ответа [1, 8]. Воспалительная пролиферация эпидермиса приводит к нарушению дифференцировки рогового слоя.

У детей с атопией имеется наследственно обусловленная предрасположенность к иммунному ответу по Th2-зависимому пути, для которого характерно появление высоких уровней цитокинов IL-4, IL-5, IL-13, переключение синтеза иммуноглобулинов с класса G на класс E, снижение продукции гамма-интерферона [6, 7].

Предполагается, что увеличение содержания Th2-лимфоцитов в крови и коже может привести к более высокой распространенности воспалительного процесса [7].

Пищевые аллергены считаются одним из основных триггеров, запускающих реализацию наследственной предрасположенности к АтД у детей, особенно на первом году жизни. Незавершенное формирование барьеров ЖКТ у новорожденных, нарушение полостного и внутриклеточного пищеварения в результате воспалительных заболеваний кишечника у детей старшего возраста, повреждение целостности слизистой оболочки ЖКТ химическими агентами способствуют повышению проницаемости эпителиального слоя, что приводит к попаданию аллергенов в глубокие слои стенки кишечника, в лимфоидные образования, в кровь и, в конечном итоге, к сенсибилизации организма [9].

Поскольку аллергены являются чужеродными для организма человека белками, то они вызывают иммунный ответ, который реализуется как клеточным, так и гуморальным механизмами.

Помимо защитных реакций при срыве толерантности иммунная система может развивать аутоагрессию на собственные ткани [6].

Для диагностики атопических заболеваний, оценки их тяжести и прогноза течения, подбора терапии применяются методы определения аллерген-специфических IgE, подклассов IgG, цитокинов, ассоциированных с Th2-ответом, медиаторов тучных клеток, базофильный активационный тест, а также рутинные биохимические и общеклинические анализы [10]. Атопические заболе-

вания не относят к системным аутоиммунным заболеваниям, таким как системная красная волчанка, системная склеродермия и др. Однако, это не исключает наличие у пациентов с атопией аутоантител.

В диагностике аутоиммунных заболеваний “золотым стандартом” является определение антинуклеарного фактора (АНФ), который позволяет выявить аутоагрессивные антитела, направленные против собственных структур клетки, как цитоплазматических (аппарат Гольджи, актиновые волокна и т.д.), так и ядерных (гистоны, ДНК, транскрипционные факторы и т.д.) [11]. Антинуклеарный фактор определяют с помощью реакции непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ), а субстратом реакции является клеточная линия HEp-2 [11]. Клетки этой линии несут все цитоплазматические и ядерные структуры, в том числе характерные для клеток в состоянии митоза, к которым возможно образование аутоантител. Наиболее характерным признаком заболеваний соединительной ткани является появление антинуклеарных антител (antinuclear antibodies – ANA) [12].

Положительный АНФ отражает факт появления аутоантител и позволяет сделать предположение о мишенях аутоагрессии, так как описаны ассоциации определенных типов свечения с выявлением аутоантител той или иной специфичности [11].

Для части аутоантител известна их клиническая значимость, роль других остается недостаточно изучена и лишь отмечается факт появления этих антител у пациентов, клинически не имеющих признаков системного аутоиммунного заболевания [11, 13]. Появляются работы, показывающие ассоциацию некоторых маркеров, характерных для аутоиммунной патологии, с атопическими заболеваниями [13, 14].

Кроме того, показана взаимосвязь между наличием АНА и более высокими уровнями IgE и ЛДГ в сыворотке крови пациентов с АтД по сравнению с пациентами, у которых АНА не выявлялись [15].

Вместе с тем остается недостаточно изучена диагностическая значимость метода определения АНФ у детей с аллергологическими болезнями, в том числе атопическим дерматитом. В связи с изложенным выше, актуальным является изучение вопроса о наличии аутоиммунного компонента и его значимости для пациентов с атопией.

Цель работы: изучить типы и титры антинуклеарных антител у детей с атопическим дерматитом в зависимости от тяжести течения заболевания и возраста детей.

Материал и методы. Нами проведено одноцентровое сравнительное ретроспективное исследование титров и типов свечения антинуклеарного фактора (АНФ) у детей с атопическим дерматитом, проходивших диагностику и лечение в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. В исследование были включены 96 детей в возрасте от 6 месяцев до 17 лет, возраст пациентов составил $M \pm m = 7,37$ [3,76; 11,31] лет, распределение по полу: 54 мальчика, 42 девочки. АтД тяжелого течения был у 44 пациентов, средне тяжелого – у 34, легкого – у 18 детей. Тяжесть течения АтД оценивали по шкале SCORAD (Severity Scoring of Atopic Dermatitis), согласно которой легкая степень тяжести атопического дерматита соответствовала значениям менее 25 баллов, средняя — от 25 до 50 баллов, а тяжелая — более 50 баллов. В зависимости от распространенности воспалительного процесса на коже у 80 пациентов наблюдалась распространенная форма АтД,

а у 16 пациентов локализованная (ограниченная) форма. Согласно клиническим рекомендациям Минздрава Российской Федерации ограниченной формой АтД принято считать поражение кожи площадью не более 5–10% с локализацией преимущественно на лице; распространенной формой АтД – поражение кожи площадью от 10 до 50%. Диффузная форма АтД с поражением более 50% поверхности кожных покровов не встречалась у пациентов, вошедших в наше исследование.

От родителей (опекунов) получено добровольное информированное согласие на госпитализацию, проведение исследования и лечения в ФГАУ «НМИЦ Здоровья детей» Минздрава России (протокол № 6 от 07.07.2022 заседания локального независимого этического комитета ФГАУ «НМИЦ здоровья детей»).

Все дети обследованы при поступлении в ФГАУ «НМИЦ Здоровья детей» до начала терапии. Критерием исключения являлось наличие у пациента аутоиммунного заболевания (системная красная волчанка, системная склеродермия, ювенильный юношеский артрит, болезнь Крона и др.), а также хронические и остропротекающие вирусные инфекции на момент проведения исследования, терапия генно-инженерными биологическими препаратами.

Всем пациентам был определен уровень общего IgE методом электрохемилюминесценции на автоматическом анализаторе Cobas e411 (Roche, Швейцария) и антинуклеарный фактор (АНФ) методом непрямой иммунофлюоресценции на клеточной линии HEp-2 (AeskuSlides® ANA-HEp-2, Aesku.group, Германия).

В ходе реакции непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) исследуемый образец сыворотки крови пациента наносился на фиксированные на стекле клетки эпидермоидной карциномы гортани человека (клеточная линия HEp-2). В процессе первой инкубации аутоагрессивные антитела человека связывались с антигенными структурами клетки линии HEp-2 (ядерными или цитоплазматическими). Образовавшийся комплекс выявлялся с помощью моноклональных антител, меченных флюоресцентной меткой (FITC). Исследование проводили с помощью флюоресцентного микроскопа Nikon Eclipse Ni (Nikon, Япония).

При анализе АНФ определялись два параметра: титр АНФ и тип флюоресцентного свечения (паттерн). Титр АНФ в РНИФ считался положительным при значениях 1:160, т.е. при наличии флюоресцентного свечения в образцах, разведенных в 160 раз.

Результаты РНИФ оценивались с использованием международной номенклатуры типов свечения ядра и цитоплазмы клетки, разработанной Международной Согласительной группой по типам свечения АНФ – International Consensus on ANA Patterns (ICAP). В данной номенклатуре типы свечения обозначены буквенно-цифровым кодом AC (anti-cell pattern) и подразделяются на три группы: ядерные, цитоплазматические и митотические. Каждая их указанных групп включает в себя различные паттерны свечения в зависимости от того, с какой клеточной структурой связались аутоагрессивные антитела. В настоящее время выделяют паттерны от AC-1 до AC-28 [16].

Описательный и сравнительный статистический анализ данных выполнен с помощью программного обеспечения IBM SPSS Statistics (США) и программы Microsoft

Office Excel (США), результаты представлены в виде сводных таблиц и рисунков. Сравнительный анализ данных проводили с использованием U-критерия Манна-Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принят $p = 0,05$.

Результаты. Положительный титр АНФ был выявлен у 63 пациентов из 96 обследованных детей с АтД (65,6%). Анализ типов свечения показал наличие у пациентов с АтД ядерных, цитоплазматических, митотических и смешанных паттернов (рис.1.).

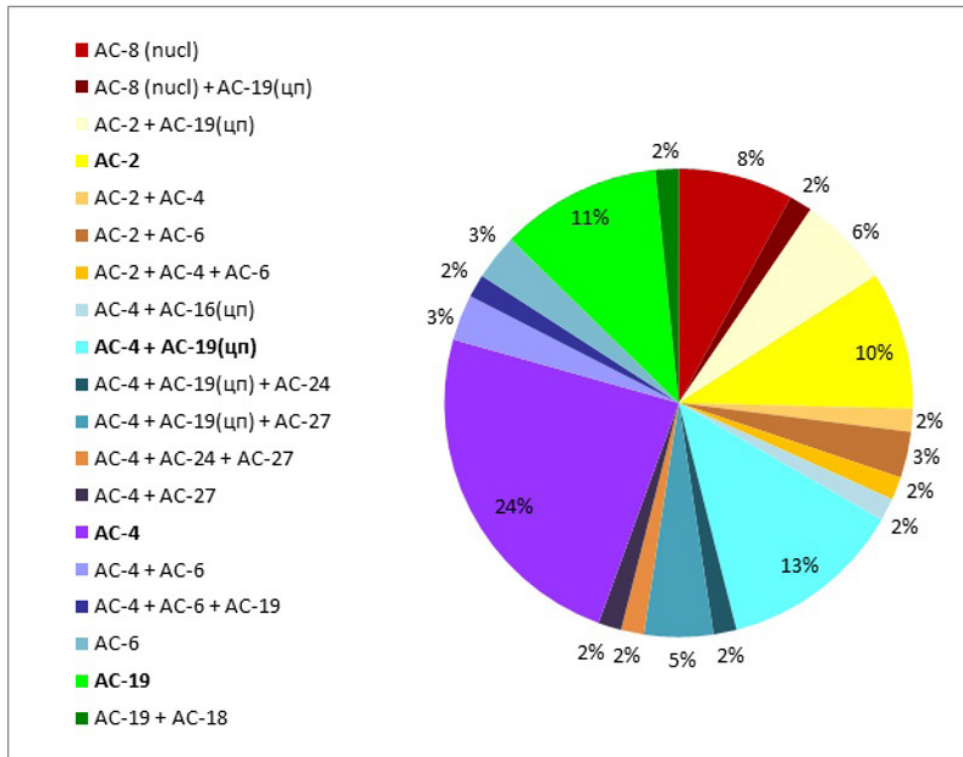


Рис. 1. Процентное соотношение встречаемости разных типов АНА у детей с АтД.

Ядерный паттерн свечения обнаружен у 55 пациентов (57,3%), цитоплазматический – у 27 (28,1%), митотический – у 6 детей (6,25%). При этом у 42 детей (43,7%) с АтД обнаружен только одна группа паттернов (ядерный – у 34 ребенка, цитоплазматический – у 8 детей), а у 21 пациента (21,9%) встречался смешанный тип свечения (ядерный и цитоплазматический – 15, ядерный и митотический - 2, ядерный в сочетании с цитоплазматическим и митотическим – 4).

У детей с АтД наиболее часто выявлялся ядерный мелкогранулярный тип свечения (АС-4), для которого характерны светящиеся мелкие гранулы, распределенные по всей нуклеоплазме покоящихся клеток, а в митотических клетках - неокрашенный хроматин (рис. 2, А).

Тип свечения АС-4 выявлен у 34 пациентов (35,4%). Из них у 5 детей отмечался смешанный тип ядерного паттерна свечения, у 10 детей выявлено сочетание АС-4 с цитоплазматическим паттерном, у 2 детей – с митотическим, у 4 детей – с цитоплазматическим и митотическим паттерном (данные представлены в таблице).

У 15 детей (15,6%) выявлен ядерный плотный мелкогранулярный тип свечения (АС-2), при котором в интерфазном ядре отмечаются области с большей или меньшей гранулярностью, а в митотических клетках метафазная пластинка имеет интенсивное гранулярное свечение с единичными крупными гранулами (рис. 2, Б). У 4 из них вы-

явлено сочетание АС-2 с цитоплазматическим паттерном свечения, у 4 детей выявлен смешанный тип ядерного паттерна свечения.

У 8 детей (8,3%) обнаружены множественные точки в ядре - тип АС-6, при котором в ядре наблюдаются подпадающие подсчету разрозненные точки (от 6 до 20 на клетку). Данный тип свечения встречался преимущественно в сочетании с другими (АС-2 или АС-4) типами свечения ядерной группы (у 6 детей).

У 6 детей (6,2%) обнаружен гомогенный ядрышковый тип свечения (АС-8), видимый как диффузное флуоресцентное окрашивание всего ядрышка, при этом метафазная пластинка делящихся клеток не окрашена (рис. 2, В). Данный тип свечения сочетался с АС-19 у одного пациента.

Цитоплазматические паттерны свечения были представлены цитоплазматическим мелкогранулярным типом (АС-19), при котором свечение почти однородно распределено по всей цитоплазме (26 пациентов - 27,1%), и цитоплазматическим с фибриллярными филаментами (АС-16), при котором видны светящиеся микротрубочки и промежуточные филаменты, распространяющиеся в цитоплазме от периферии ядра (1 пациент - 1,04%).

Митотические типы свечения обнаружены у 6 детей (6,2%), при этом у 2 детей - в сочетании с ядерным АС-4, а у 4 - в сочетании с АС-4 и цитоплазматическим АС-19. По типам свечения: у 4 пациентов выявлен пат-

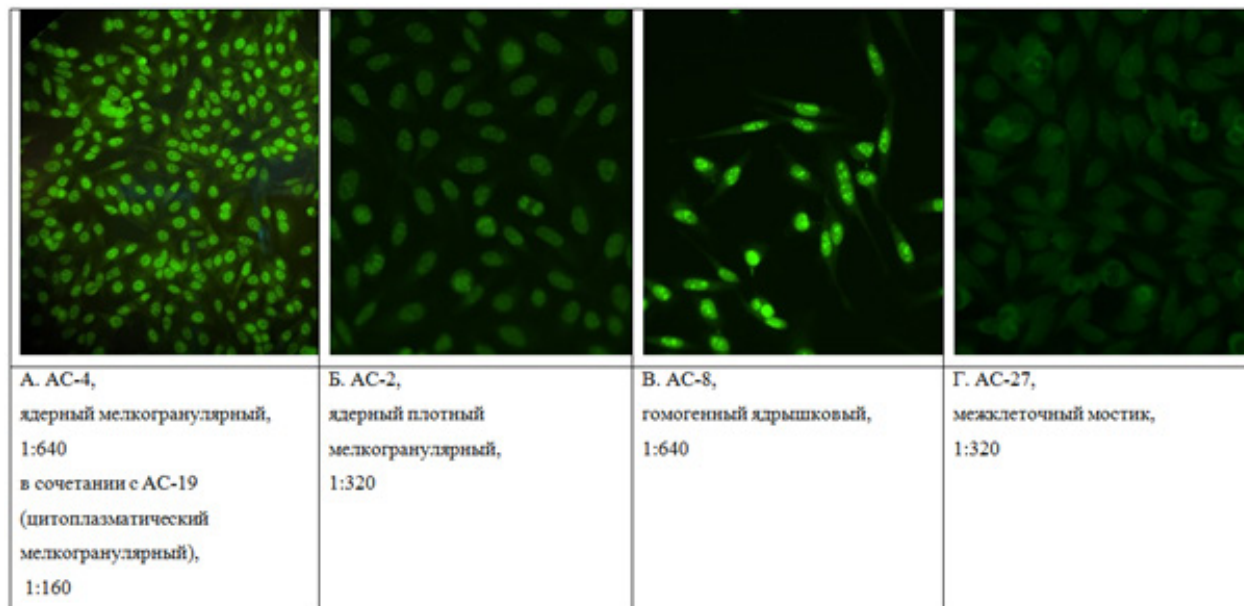


Рис. 2. Типы свечения по номенклатуре ICAP. АНФ на клеточной линии HEp-2 (Aeskuslides® ANA-HEp-2, Aesku.group, Германия), флюоресцентная микроскопия, микроскоп Nikon Eclipse Ni (Япония), ув. ×40 .

терн межклеточный мостик (AC-27), видимый как светящийся мост, соединяющий дочерние клетки к концу митоза, сохраняющийся до момента разделения дочерних клеток (рис. 2, Г); у одного пациента – свечение центриолей на полюсах митотического веретена (AC-24); у одного пациента – сочетание AC-24 и AC-27.

Титр АНФ у пациентов с АтД с позитивным результатом варьировал от 1:160 до 1:1280 и был наиболее высоким при выявлении ядерных паттернов

свечения. У пациентов с ядерным мелкогранулярным типом AC-4 титр свечения был от 1:160 до 1:640, при ядерном плотном мелкогранулярном типе AC-2 - от 1:160 до 1:1280. Титр АНФ цитоплазматических паттернов был ниже ядерного: 1:160 и 1:320. Все случаи митотического свечения имели титр 1:640. Нами выявлено увеличение титра АНФ и большее число типов свечения у детей с возрастом. Данные представлены в таблице.

Типы и титры свечения антиядерного фактора у детей с атопическим дерматитом в зависимости от возраста

Показатели		0-1 год (n=8, n_поз=1)	1-2 года (n=12, n_поз=5)	2-6 лет (n=27, n_поз=22)	6-12 лет (n=35, n_поз=24)	>12 лет (n=14, n_поз=11)
Паттерн свечения	Ядерный	AC-4	AC-4 AC-8	AC-2 AC-4 AC-6	AC-2 AC-4 AC-6 AC-8	AC-2 AC-4 AC-6
	Цитоплазматический	-	AC-19	AC-16 AC-19	AC-18 AC-19	AC-19
	Митотический	-	-	AC-27	AC-24 AC-27	AC-24 AC-27
Титр АНФ	Ядерный	1:160	1:160 1:320	1:160 1:320 1:640	1:160 1:320 1:640 1:1280	1:160 1:320 1:640 1:1280
	Цитоплазматический	-	1:160	1:160 1:320	1:160 1:320	1:160 1:320
	Митотический	-	-	1:640	1:640	1:640

У детей с АтД первых двух лет жизни наблюдалось два ядерных паттерна свечения и один цитоплазматический, не встречался митотический тип, а титр АНФ не превышал 1:320. У детей в возрасте 2-6 лет выявлялось 3 ядерных, 2 цитоплазматических, а также один митотический паттерн, максимально выявленный титр свечения - 1:640. У детей 6-12 лет наблюдалось наибольшее разнообразие типов свечения – 8 различных паттернов,

в том числе митотический, и максимальные среди обследованных детей титры АНФ 1:1280. У детей старше 12 лет не встречался ядрышковый тип свечения, а цитоплазматическое свечение было представлено только плотным мелкогранулярным паттерном AC-19, максимальный титр АНФ при этом составил 1:1280.

Нами была выявлена взаимосвязь числа позитивных титров АНФ и степени тяжести атопического дер-

матита и распространенности патологического процесса. Статистически значимо чаще положительные титры АНФ встречались у пациентов с тяжелым течением АтД по сравнению с пациентами со средне-тяжелым и легким течением (U-критерий Манна-Уитни, $p=0,048$ и

$p=0,007$, соответственно). У детей с тяжелым течением АтД положительный титр АНФ выявлялся у 79,5%, в то время как у детей со среднетяжелым и легким течением АтД - у 58,8% и 44,4% соответственно.

Данные представлены на рис. 3, А, Б.

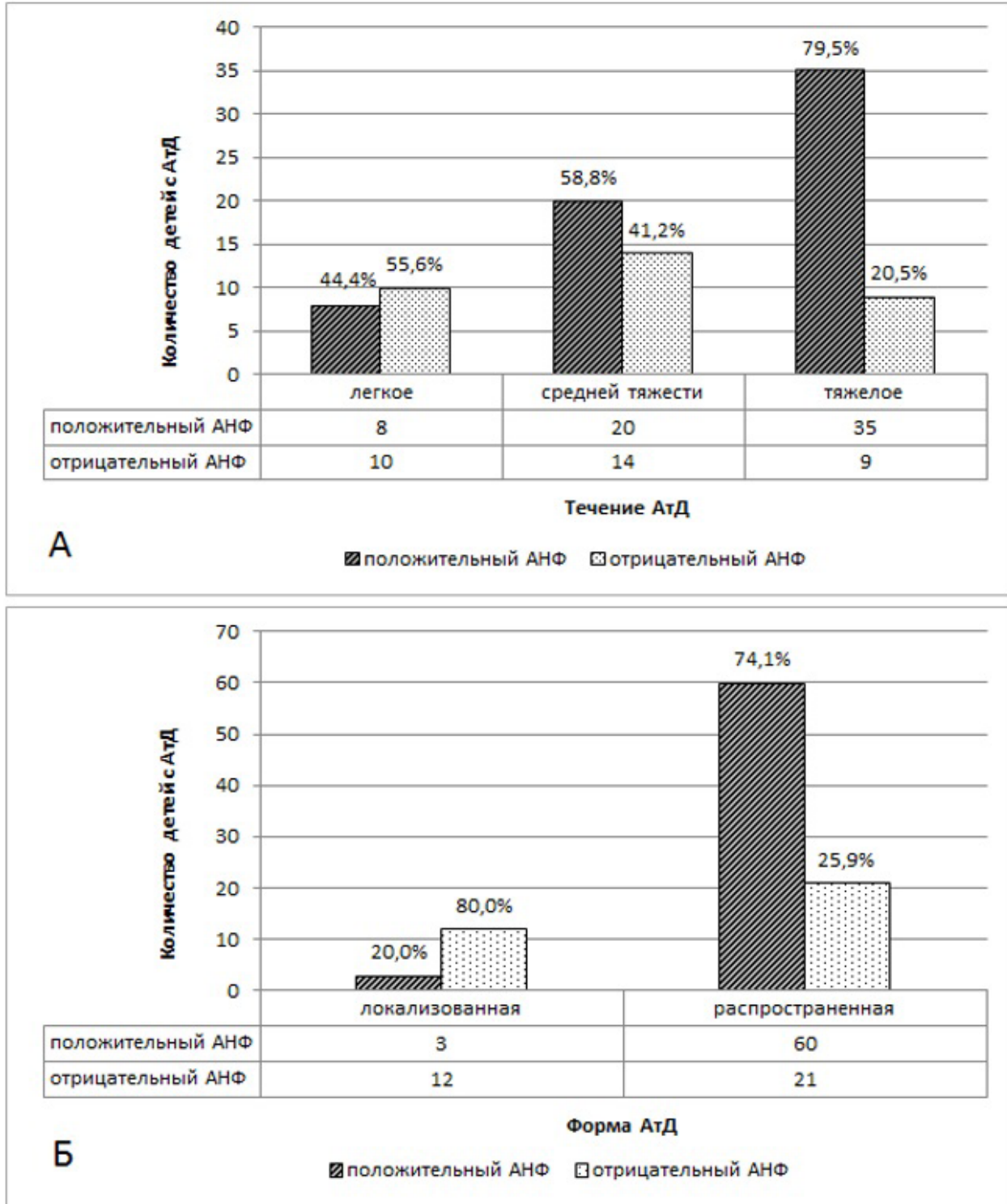


Рис. 3. Частота выявления положительного АНФ у детей с АтД в зависимости от тяжести течения (А) и распространенности процесса (Б).

Также выявлена статистически значимая взаимосвязь частоты выявления положительных АНФ с распространенностью патологического процесса в коже:

у пациентов с распространенной формой АтД положительные титры АНФ встречались статистически значимо чаще по сравнению с пациентами с локализован-

ной формой заболевания (U-критерий Манна-Уитни, $p=0,041$). Данные представлены на рисунке 3Б.

Положительный АНФ обнаружен у 20,0% детей с локализованной формой АтД, при этом титр не превышал значения 1:320. У детей с распространенной формой АтД положительный АНФ выявлялся в 74,1% случаев, а его титр был от 1:160 до 1:1280.

Нами был оценен уровень общего IgE в сыворотках крови пациентов с atopическим дерматитом. В связи с тем, что распределение признака не являлось

нормальным (критерий Колмогорова-Смирнова), то для описания были взяты медиана и процентиля: $Me=261,0$ МЕ/мл, 25 и 75 процентиля [83,0; 1434,0] МЕ/мл. Мы проанализировали уровень общего IgE у детей с АтД в зависимости от результата АНФ: у детей с отрицательным АНФ концентрация общего IgE составила $Me=207,5$ МЕ/мл [30,1; 438,7] МЕ/мл, у детей с положительным АНФ концентрация общего IgE - $Me=348,1$ МЕ/мл [110,1; 2076,0] МЕ/мл (рис. 4).

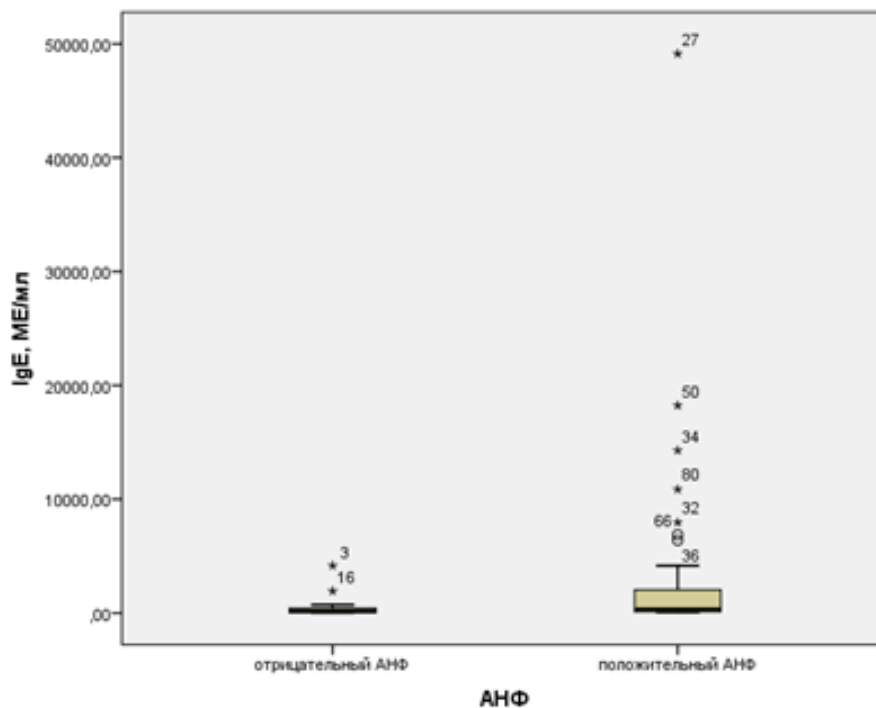


Рис. 4. Уровни общего IgE у детей с отрицательным АНФ и детей с положительным АНФ.

Выявлена статистически значимое различие концентрации общего IgE у пациентов с отрицательным АНФ и пациентов с положительным АНФ: концентрация IgE в сыворотке крови детей с положительным АНФ была статистически значимо выше (U-критерий Манна-Уитни, $p=0,037$).

Обсуждение. В проведенном нами исследовании у 65,6% (63 из 96 обследованных) детей с atopическим дерматитом выявлено наличие положительного титра АНФ. При этом наибольшая частота случаев положительных АНФ наблюдалась в группе пациентов, имеющих распространенную форму АтД (74,1%) и у пациентов с тяжелым течением (79,5%). Также нами показано значимое увеличение числа случаев выявления АНФ у детей в возрасте старше 2 лет. В литературе описаны случаи выявления положительного АНФ у клинически здоровых пациентов, без признаков системного воспалительного заболевания, однако частота их не превышает 5-10% [13]. Появление положительного АНФ у детей с тяжелым распространенным АтД можно объяснить длительностью самого заболевания, при котором хроническое воспаление, поддерживаемое иммунной системой, может приводить к деструкции тканей и образованию аутоагрессивных антител.

Нами выявлено большое разнообразие паттернов свечения АНФ, их можно сгруппировать по типам структур, к которым образовались антитела: ядерный, цитоплазматический или смешанный.

Важно отметить, что наиболее часто у детей с АтД встречался ядерный паттерн свечения АНФ, среди которых преобладал ядерный мелкогранулярный - AC-4 (35,4% пациентов). В литературе описано, что данный паттерн наиболее часто выявляется у пациентов с дерматомиозитом или полимиозитом, или системной склеродермией [17]. Полученные нами данные могут отражать факт развития у пациента с АтД субклинической аутоиммунной патологии, при которой появляются аутоагрессивные антитела, например, миозит специфичные антитела, к таким белкам как SS-A/Ro, SS-B/La, Mi-2, TIF1 γ , TIF1 β , Ku, что согласуется с мировыми исследованиями [18, 19]. Так в работе Xu Y и соавторов показана ассоциация паттерна AC-4 с наличием антител к Mi-2 у лиц с дерматомиозитом [18], а в работе Satoh M. и соавторов паттерн AC-4 наиболее часто встречался при полимиозите (30-60%), реже при дерматомиозите (10-40%) [19]. Однако мы не встретили работ, изучавших значимость выявления AC-4 и

анти-Mi-2 антител у пациентов с АтД.

Подтверждением значимости выявления АНФ для пациентов с АтД могут быть данные, полученные в работе Z. Betteridge и соавторов [17]. Авторы показали, что не только у пациентов с дерматомиозитом, но и с обширными поражениями кожи по типу гиперкератоза, псориазо-подобного дерматита выявляются антитела к TIF1 γ/α (фактор 1- γ – посредник транскрипции (p155)). TIF1 γ/α участвует в транскрипции и метаболизме РНК, а антитела к TIF1 γ/α дают характерный АС-4 паттерн свечения при определении АНФ [17].

Среди обследованных нами пациентов ни у одного ребенка не было установлено наличие клинических симптомов воспалительных миопатий, таких как полимиозит (ПМ) или дерматомиозит (ДМ), отсутствовали признаки поражения мышечной ткани. В то же время мы выявили положительный АНФ и АС-4 паттерн у большого числа пациентов с АтД тяжелого течения и с распространенной формы. Полученные нами данные могут свидетельствовать о развитии аутоагрессии иммунной системы, направленной на структурные компоненты кожи, что выражается в более тяжелом течении АтД и распространенной форме патологического процесса, а также обуславливать резистентность к консервативному лечению.

Выявленный нами ядерный плотный мелкогранулярный паттерн флуоресценции АС-2 у 15 детей (15,6%) с тяжелым АтД был вторым по частоте встречаемости среди ядерных типов свечения. По данным Н.А. Mariz и соавторов [13], АС-2 ассоциирован с наличием у пациента антител к антигену DFS70 - белку, идентичному фактору роста, коактиватору транскрипции p75 (LEDGF/p75), но его клиническая значимость в разных работах оценивается неоднозначно. В работе D. Kiefer и соавт. [20] показано, что антитела к DFS70 редко присутствуют у пациентов с системными заболеваниями соединительной ткани, но при этом аутоиммунная патология не может быть достоверно исключена. В ряде работ показано, что тип свечения АС-2 может выявляться у некоторых клинически здоровых людей [13, 21], частота выявления которого не превышает 5% [13]. Однако отсутствуют длительные проспективные наблюдения, однозначно отрицательные роль антител к DFS70 в развитии аутоиммунной патологии у этих людей в будущем.

Полученные нами данные о наличии паттерна АС-2 у детей с АтД согласуются с данными работы, в которой отмечается, что у пациентов, сенсibilизированных к аллергенам, увеличивается титр антител к DFS70 [22]. Значимость определения АНФ у пациентов с АтД также подчеркнута в работе B. Santler и соавт. [14], в которой описан АС-2 паттерн у 35% у пациентов с АтД с подозрением на сопутствующее заболевание соединительной ткани.

Также нами рассматривается возможная роль АС-2 паттерна при АтД как маркера клеточного стресса и воспаления, что согласуется с работой R.L. Ochs и соавт. [23], в которой показана роль DFS70 в качестве белка стресса, связанного с синдромом приобретенного иммунодефицита человека, раком и воспалением.

Таким образом, значительная частота паттерна флуоресценции АС-2 у обследованных нами детей с АтД может подчеркивать роль анти-DFS70 антител в патогенезе аллергопатологии и усилении ее тяжести, а метод определения АНФ выступает важным методом выявления скрытой аутоиммунной агрессии. Длитель-

ное персистирующее воспаление, наблюдаемое при атопическом дерматите, вероятно, способно запускать развитие аутоиммунных реакций против собственных клеточных структур, а выявление DFS70-подобного типа свечения у пациентов с тяжелым распространенным атопическим дерматитом может указывать на связь АС-2 с риском развития аутоиммунной патологии.

Более редко выявляемые типы флуоресцентного свечения АНФ также, на наш взгляд, имеют клиническое значение для пациентов с АтД. Так, АС-8 (гомогенный ядрышковый) может быть ассоциирован с наличием миозит-специфичных антител (к белку PM/Scl), антител, ассоциированных с риском развития кожной формы системной склеродермии (к белку Th/To), антител к ядрышковому белку - шаперону нуклеиновых кислот (ядрышковый фосфопротейин B23) и др. [24].

Гомогенное свечение цитоплазмы, которое мы обнаружили у 27,1% детей с АтД, в литературе описано для случаев системной красной волчанки, антисинтезазного синдрома, интерстициального заболевания легких, полиартрита, феномена Рейно [19, 25, 26]. Однако, мы также обнаружили работы, в которых показана ассоциация цитоплазматического паттерна свечения АНФ с поражением кожи, так называемом симптоме «рука механика» (покраснение и шелушение ладоней, основания ногтевого ложа, грубое шелушение кутикулы ногтей), что подчеркивает наше предположение о вовлечении аутоиммунного механизма в патогенез АтД и важную роль АНФ как дополнительного диагностического метода для детей с атопическим дерматитом.

Редкие случаи выявления митотических паттернов свечения у пациентов с АтД могут быть объяснены присутствием хронического воспаления, при котором запускается пролиферация эпителиоцитов и при этом идет постоянная их деструкция.

На масштаб активации иммунной системы при развитии тяжелого АтД указывает и значительное повышение уровней общего IgE у пациентов, у которых был выявлен положительный АНФ. При этом наши данные согласуются с исследованием J. Holmes и соавт. [27], показавшим ассоциацию АтД с появлением антинуклеарных антител.

У пациентов с тяжелым распространенным атопическим дерматитом наблюдается длительное хроническое воспаление, реорганизация структур кожи, патологическая активация иммунной системы, которая реализуется различными механизмами. Вовлечение в патогенез АтД аутоиммунных механизмов повреждения кожи может быть выявлено с помощью метода определения антинуклеарного фактора и оценки паттернов флуоресцентного свечения. Ассоциация положительного АНФ с тяжестью течения АтД и его распространенностью подчеркивает информативность данного метода для диагностики аутоиммунного компонента патологического процесса при атопическом дерматите у детей. Отсутствие положительного эффекта проводимой консервативной терапии пациентам с тяжелым АтД и выявление факта аутоиммунной агрессии на уровне образования антител к клеточным структурам может быть показанием для применения генно-инженерной биологической терапии.

Заключение. Определение антинуклеарного фактора у детей с тяжелым атопическим дерматитом является актуальным методом диагностики вовлечения аутоиммунного компонента в процесс повреждения кожи. Вы-

явление положительного титра АНФ и специфичных паттернов флюоресцентного свечения может свидетельствовать о развитии в коже аутоиммунной агрессии, характерной для аутоиммунных патологий. Выявление у пациентов положительного АНФ может быть маркером тяжелого течения основного заболевания. Длительное тяжелое течение АтД, низкая отвечаемость на консервативную терапию является показанием к обследованию детей с использованием метода АНФ. В случае выявления специфичных паттернов флюоресцентного свечения и подтверждения наличия аутоагрессивных антител необходимо углубленное обследование детей с АтД и рассмотрение вопроса о коррекции терапии.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 2, 3, 7, 8, 11-27 см.
REFERENCES)

1. Мурашкин Н.Н., Иванов Р.А., Амбарчян Э.Т., Епишев Р.В., Материкин А.И., Опрятин Л.А., Савелова А.А. Филаггрин и атопический дерматит: клинико-патогенетические параллели и возможности терапевтической коррекции. *Вопросы современной педиатрии*. 2021; 20(5): 435-40.
4. Кубанов А.А., Богданова Е.В. Результаты деятельности медицинских организаций, оказывающих медицинскую помощь по профилю «дерматовенерология» в 2019-2021 гг. в Российской Федерации. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2022; 5(98): 18-33.
5. Хаитов Р.М., ред. Клиническая аллергология: Руководство для практикующих врачей. М.: МЕДпресс-информ; 2002.
6. Аббас А.К., Лихтман Э.Г., Пиллаи Ш. Основы иммунологии. Функции иммунной системы и их нарушения. Хаитов Р.М., Гариб Ф.Ю., ред. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2022.
9. Боровик Т.Э., Макарова С. Г., Яцык Г.В., Степанова Т.Н., Грибакин С.Г. Роль нарушений барьерной функции кишечника в развитии пищевой аллергии у детей. *Вопросы современной педиатрии*. 2013; 12(2): 12-9.
10. Долгов В.В., ред. Клиническая лабораторная диагностика: в 2-х т. Т.2. М.: ООО «Лабдиаг»; 2018.
- 12-9. (in Russian)
10. Dolgov V.V., ed. Clinical laboratory diagnostics: in 2 vol. Vol. 2 [Klinicheskaya laboratornaya diagnostika: v 2 tomakh. Tom 2]. Moscow: OOO Labdiag; 2018. (in Russian)
11. Damoiseaux J., Andrade L.E.C., Carballo O.G., Conrad K., Francescantonio P.L.C., Fritzler M.J. et al., Clinical relevance of HEP-2 indirect immunofluorescent patterns: the International Consensus on ANA patterns (ICAP) perspective. *Ann. Rheum. Dis*, 2019; 78(7):879-89. DOI: 10.1136/annrheumdis-2018-214436.
12. Tešija Kuna A, Đerek L, Drvar V, Kozmar A, Gugo K. Assessment of antinuclear antibodies (ANA): National recommendations on behalf of the Croatian society of medical biochemistry and laboratory medicine. *Biochem. Med. (Zagreb)*. 2021; 31(2):020502. DOI: 10.11613/BM.2021.020502.
13. Mariz H.A., Sato E.I., Barbosa S.H., Rodrigues S.H., Dellavance A., Andrade L.E. Pattern on the antinuclear antibody-HEP-2 test is a critical parameter for discriminating antinuclear antibody-positive healthy individuals and patients with autoimmune rheumatic diseases. *Arthritis Rheum*. 2011; 63:191-200. DOI: 10.1002/art.30084.
14. Santler B., Wimmer L., Schlueter B., Ehrchen J.. Anti-DFS70 antibodies are associated with atopic dermatitis and can cause misdiagnosis of connective tissue disease. *J. Dtsch. Dermatol. Ges*. 2023; 21(5):464-70. DOI: 10.1111/ddg.15022.
15. Higashi N., Niimi Y., Aoki M., Kawana S. Clinical features of antinuclear antibody-positive patients with atopic dermatitis. *J. Nippon. Med. Sch*. 2009; 76(6):300-7. DOI: 10.1272/jnms.76.300.
16. Chan E.K., Damoiseaux J., Carballo O.G., Conrad K., de Melo Cruvinel W., Francescantonio P.L. et al. Report of the first international consensus on standardized nomenclature of antinuclear antibody HEP-2 cell patterns 2014-2015. *Front Immunol*. 2015; 6:412. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00412.
17. Betteridge Z., McHugh N. Myositis-specific autoantibodies: an important tool to support diagnosis of myositis. *J. Intern. Med*. 2016; 280(1):8-23. DOI: 10.1111/joim.12451.
18. Xu Y, Yang Y, Fan S. Research progress on the dermatomyositis specific autoantibodies and malignancy associated dermatomyositis. *J. of Central South University*. 2023; 48(12):1890-8. DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347.2023.220594.
19. Satoh M., Tanaka S., Ceribelli A., Calise S.J., Chan E.K. A Comprehensive Overview on Myositis-Specific Antibodies: New and Old Biomarkers in Idiopathic Inflammatory Myopathy. *Clin. Rev. Allergy Immunol*. 2017; 52(1):1-19. DOI: 10.1007/s12016-015-8510-y.
20. Kiefer D., von Brunn M., Baraliakos X., Andreica I., Braun J. Clinical significance of determination of DFS70 antibodies to rule out connective tissue diseases. *J. Rheumatol*. 2020; 79(8):749-54. DOI: 10.1007/s00393-019-00741-x. PMID: 31889213.
21. Mockenhaupt L.M., Dolscheid-Pommerich R., Stoffel-Wagner B., Behning C., Brossart P., Schäfer V.S. Autoantibodies to dense-fine-speckled 70 (DFS70) do not necessarily rule out connective tissue diseases. *Semin Arthritis Rheum*. 2022; 52:151936. DOI: 10.1016/j.semarthrit.2021.12.006.
22. Togay A., Yilmaz N. An investigation of the relationship between isolated anti-dense fine-speckled 70 autoantibodies and allergen-specific immunoglobulin E. *Cureus*. 2023; 15(5):e38494. DOI: 10.7759/cureus.38494.
23. Ochs R.L., Mahler M., Basu A., Rios-Colon L., Sanchez T.W., Andrade L.E. et al. The significance of autoantibodies to DFS70/LEDGFp75 in health and disease: integrating basic science with clinical understanding. *Clin. Exp. Med*. 2016; 16:273-93. DOI: 10.1007/s10238-015-0367-0.
24. Mahler M., Fritzler M.J., Satoh M. Autoantibodies to the mitochondrial RNA processing (MRP) complex also known as Th/To autoantigen. *Autoimmun. Rev*. 2015; 14(3):254-7. DOI: 10.1016/j.autrev.2014.11.007.
25. Sciascia S., Bertolaccini M.L., Roccatello D., Khamashta M.A., Sanna G. Autoantibodies involved in neuropsychiatric manifestations associated with systemic lupus erythematosus: a systematic review. *J. Neurol*. 2014; 261:1706-14. DOI: 10.1007/s00415-014-7406-8.
26. Yura H., Sakamoto N., Satoh M., Ishimoto H., Hanaka T., Ito C. et al. Clinical characteristics of patients with anti-aminoacyl-tRNA synthetase antibody positive idiopathic interstitial pneumonia. *Respir. Med*. 2017; 132:189-94. DOI: 10.1016/j.rmed.2017.10.020.
27. Holmes J., Fairclough L.C., Todd I. Atopic dermatitis and autoimmunity: the occurrence of autoantibodies and their association with disease severity. *Arch. Dermatol. Res*. 2019; 311(3):141-62. DOI: 10.1007/s00403-019-01890-4.

REFERENCES

1. Murashkin N.N., Ivanov R.A., Ambarchyan E.T., Epishev R.V., Materikin A.I., Opryatin L.A., Savelova A.A. Filaggrin and atopic dermatitis: clinical and pathogenetic parallels and possibilities for therapeutic correction. *Voprosy sovremennoy pediatrii*. 2021; 20(5):435-40. (in Russian)
2. Wollenberg A., Christen-Zäch S., Taieb A., Paul C., Thyssen J.P., de Bruin-Weller M. et al. ETFAD/EADV Eczema task force 2020 position paper on diagnosis and treatment of atopic dermatitis in adults and children. *J. Eur. Acad. Dermatol. and Venereol*. 2020; 34(12): 2717-44. DOI: 10.1111/jdv.16892.
3. Kruse L.L., Mancini A.J. Atopic Dermatitis in Children. *Pediatr Ann*. 2024; 53(4):e121-e128. DOI: 10.3928/19382359-20240205-02.
4. Kubanov A.A., Bogdanova E.V. Results of the activities of medical organizations providing medical care in the field of dermatovenerology in 2019-2021. *Vestnik dermatologii i venerologii*. 2022; 5(98): 18-33. (in Russian)
5. Khaïtov R.M., ed. Clinical allergology: A guide for practitioners. Moscow: MEDpress-inform; 2002. (in Russian)
6. Abbas A.K., Lichtman E.G., Pillai S. Fundamentals of immunology. Functions of the immune system and their disorders. Khaïtov R.M., Garib F.Yu., eds. Moscow: GEOTAR-Media; 2022. (in Russian)
7. Thyssen J.P., Rinnov M.R., Vestergaard C. Disease mechanisms in atopic dermatitis: a review of aetiological factors. *Acta Derm. Venereol*. 2020; 100(12):adv00162. DOI: 10.2340/00015555-3512.
8. Brown S.J., Elias M.S., Bradley M. Genetics in Atopic Dermatitis: Historical Perspective and Future Prospects. *Acta Derm. Venereol*. 2020; 100(12):adv00163. DOI: 10.2340/00015555-3513.
9. Borovik T.E., Makarova S.G., Yatsyk G.V., Stepanova T.N., Gribakin S.G. The role of intestinal barrier dysfunction in the development of food allergies in children. *Voprosy sovremennoy pediatrii*. 2013; 12(2):