

Все пациенты высоко оценили эффективность и безопасность применения лонгидазы.

Таким образом, применение препарата Лонгидаза в комплексной терапии дерматозов, сопровождающихся и/или приводящих к патологическому рубцеванию, эффективно предотвращает и значительно снижает риск формирования патологической рубцовой ткани, обеспечивая косметический эффект у пациентов (до 85%) и позволяет корректировать сформировавшийся косметический недостаток.

Применение препарата Лонгидаза рекомендуется в комплексной терапии уже имеющихся рубцов:

- гипертрофических, келоидных и формирующих рубцов;
- патологических рубцов постакне;
- склероатрофических поражений кожи, ограниченной склеродермии;
- саркоидоза кожи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дворникова А.С., Круглова Л.С., Скрипкин Ю.С., Богош П.Г. // *Вестн. дерматол. и венерол.* — 2007. — № 5. — С. 57—59.
2. Долженецына Н. А., Кенсовская И.М., Панченко Д.С. Опыт лечения угревой болезни: Материалы Научного форума Национального альянса дерматологов и косметологов. — Ростов-н/Д; 2007. — С. 78—80.
3. Жукова О.В., Потехаев Н.Н., Стенько А.Г., Бурдина А.А. // *Клин. дерматол. и венерол.* — 2009. — № 3. — С. 6—9.
4. Иванов Д. В., Буданов С.В. // *Клин. дерматол. и венерол.* — 2007. — № 2. — С. 52—62.
5. Костина Г. А., Рындаева Н.Н. // *Науч. альманах "Косметика и медицина"*. — 1999. — № 2. — С. 53—57.
6. Орехова Э.М., Кончугова Т.В., Лукьянова Т.В. и др. Применение препарата "Лонгидаза 3000 МЕ" при заболеваниях, сопровождающихся патологией соединительной ткани: Справочник для врачей. — М.: Тактик-студия; 2008. — С. 18—20.
7. Пальцев М.А., Потехаев Н.Н., Казанцева И.А., Кряжева С.С. Клинико-морфологическая диагностика и принципы лечения кожных болезней: Руководство для врачей. — М.: Медицина; 2006. — С. 65—70.
8. Руководство по дерматокосметологии / Под ред. Е.Р. Аравийской, Е.В. Соколовского. — СПб.: Фолиант; 2008. — С. 396—402.
9. Снарская Е.С. // *Рос. журн. кож. и вен. бол.* — 2011. — № 3. — С. 36—44.
10. Снарская Е.С., Кряжева С.С., Сурикова Н.С. // *Рос. журн. кож. и вен. бол.* — 2011. — № 1. — С. 40—44.
11. Соколовский Е. В. *Дерматовенерология*. — М.: Академия; 2005. — С. 284—291.
12. Elewski B.E. // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* — 2000. — Vol. 14, N 5. — P. 423—424.

Поступила 12.10.11

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012
УДК 616.5-004.1-02:616.98:579.834.114]-078.33

Выявление боррелиозной инфекции с помощью инновационной тест-системы в формате иммуночипа при склероатрофических поражениях кожи

В.А. Молочков, Т.А. Чеканова, М.Л. Маркелов, Л.С. Карань, Е.С. Снарская, А.С. Ромашкина

¹Кафедра кожных и венерических болезней (зав. — проф. В.А. Молочков) ФППОВ ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздравсоцразвития России; ²лаборатория эпидемиологии природно-очаговых инфекций (зав. — проф. А.Е. Платонов) и группа биотехнологии и геномной инженерии (руководитель — канд. биол. наук М.Л. Маркелов) отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии (зав. — канд. мед. наук Г.А. Шипулин) ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (дир. — акад. РАМН В.И. Покровский)

Представлен обзор 15 источников отечественной и зарубежной литературы по вопросам диагностики иксодового клещевого боррелиоза с помощью метода иммунного блоттинга. Описана новая отечественная тест-система для иммунного блоттинга в формате иммуночипа. Представлен анализ собственных наблюдений 35 больных с различными склероатрофическими поражениями кожи, ассоциированными с боррелиозной инфекцией, выявленной методом иммунного блоттинга.

Ключевые слова: склеродермия, иксодовый клещевой боррелиоз, иммунный блоттинг

Сведения об авторах:

Молочков В.А. — д-р мед. наук, проф.; Чеканова Т.А. — ст. науч. сотр.; Маркелов М.Л. — канд. биол. наук; Карань Л.С. — науч. сотр.; Снарская Е.С. — д-р мед. наук, проф.; Ромашкина А.С. — аспирант (RomashkinaAS@mail.ru).

DETECTION OF BORRELIA INFECTION BY AN INNOVATION TEST SYSTEM (IMMUNOCHIP) IN PATIENTS WITH SCLEROATROPHIC LESIONS OF THE SKIN

V.A.Molochkov, T.A.Chekanova, M.L.Markelov, L.S.Karan, E.S.Snarskaya, A.S.Romashkina

The authors review 15 Russian and foreign publications on the diagnosis of tick-borne borreliosis by the immunoblotting method. A new Russian immunoblotting test system (immunoChip) is described. Thirty-five patients with various scleroatrophic lesions of the skin associated with *Borrelia* infection, diagnosed by immunoblotting method, were observed.

Key words: scleroderma, tick-borne borreliosis, immunoblotting

Иксодовый клещевой боррелиоз — ИКБ (син. Лайм-боррелиоз) — природно-очаговое мульти-системное воспалительное заболевание, вызываемое спирохетами рода *Borrelia*, переносчиками которых являются иксодовые клещи [4, 6, 13]. Возбудители ИКБ входят в группу *Borrelia burgdorferi sensu lato*, насчитывающую 14 геновидов, из которых патогенными для человека являются три: *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii*, *B. afzelii* [5, 6, 13, 15].

При развитии боррелиозной инфекции поражаются многие органы и системы, что проявляется широким спектром клинических проявлений. Маркером ранней локализованной (I) стадии ИКБ является мигрирующая эритема Авцелиуса — Липщютца в месте присасывания клеща. Другие патогномичные признаки поражения кожи — боррелиозная лимфоцитоматозная как проявление ранней диссеминированной (II) стадии и хронический атрофический акродерматит как проявление поздней диссеминированной (III) стадии. К сожалению, другие клинические симптомы поражения кожи редко имеют диагностическое значение [4, 6, 7, 13, 15]. В настоящее время широко обсуждается роль геновидов *B. garinii* и *B. afzelii* в развитии таких склероатрофических поражений кожи, как бляшечная склеродермия, атрофодермия Пазини—Пьерини, склероатрофический лишай [3, 6].

В отличие от многих бактериальных инфекций прямые методы обнаружения возбудителя для подтверждения ИКБ широко не используют. Боррелии трудны для культивирования *in vitro*, а частота выделения возбудителя из клинического материала низка (за исключением кожи из участков мигрирующей эритемы) [1, 2, 5, 7, 14]. Как правило, лабораторные методы диагностики ИКБ основаны на определении антител к белкам боррелий. К ним относят реакцию непрямой иммунофлуоресценции, иммуноферментный анализ, иммунный блоттинг [5, 7, 9]. Иммунный блоттинг является современным высокоинформативным способом выявления антиборрелиозных антител, характеризуется высокой чувствительностью и специфичностью и позволяет выявлять специфические антитела к определенным белкам микроорганизма [1, 3, 5, 6, 8]. С целью повышения диагностической точности Американский центр контроля болезней предложил подтверждать положительные или сомнительные результаты первичных серологических тестов с помощью иммунного блоттинга, причем серологическое тестирование считают положительным, если при исследовании одной и той же сыворотки скрининговый метод и иммунный блоттинг дали положительные результаты [1, 2, 5, 8—12].

В ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора разработана диагностическая тест-система в формате

иммуночипа, которая позволяет в одной постановке дифференциально выявлять широкий спектр антител классов G (IgG) и M (IgM) к различным антигенам боррелий *B. afzelii* и *B. garinii* — геновидам, наиболее распространенным в Российской Федерации. В состав иммуносорбента включены 14 антигенов: p100 *B. garinii*, p100 *B. afzelii*, VlsE *B. afzelii*, VlsE *B. garinii*, p58 *B. afzelii*, p41 *B. garinii*, p41 *B. afzelii*, p39 *B. afzelii*, BBK32 *B. garinii*, BBK32 *B. afzelii*, OspC *B. garinii*, OspC *B. afzelii*, p17 *B. garinii*, p17 *B. afzelii* (всего 8 групп антигенов — p100, VlsE, p58, p41, p39, BBK32, OspC, p17), которые иммобилизованы в пределах каждого эррея в виде индивидуальных спотов (микроточек) в повторах на твердой фазе — микроскопных слайдах шириной 25 ± 1 мм, длиной 75 ± 1 мм и толщиной 1 мм с модифицированной химической поверхностью. На одном слайде 12 индивидуальных эрреев. Один эррей служит для постановки одного клинического или контрольного образца.

Диагностическая тест-система в формате иммуночипа представляет собой набор реагентов, который помимо иммуносорбента включает растворы для разведения контрольных и исследуемых образцов, концентрата конъюгата, для промывки иммуносорбента, а также положительный и отрицательный контрольные образцы.

На первой стадии в эрреях иммуносорбента проводят инкубацию клинических/контрольных образцов. Имеющиеся специфичные антитела к боррелиям классов G и M связываются с антигенами на иммуносорбенте. На второй стадии связавшийся иммунный комплекс антиген—антитело выявляют с помощью инкубации с конъюгатом, представляющим собой смесь меченных флюорофорами вторичных антител к иммуноглобулинам человека классов G и M.

Одновременное и дифференциальное обнаружение антител различных классов возможно благодаря использованию конъюгата, состоящего из смеси антител к IgG человека, меченных флюорофором Cy5, и антител к IgM человека, меченных флюорофором Cy3, и учету результатов с помощью многоканального флюоресцентного сканера (например, с помощью систем MarS, GeSim, Германия) при активации соответствующих каналов. Таким образом, на канале Cy5/Red детектировали специфические IgG, на канале Cy3/Green — специфические IgM.

Для каждого спота рассчитывают коэффициент K, представляющий собой отношение абсолютного значения флюоресценции конкретного спота (за вычетом суммарного фона вокруг эррея). Значение критического уровня (cut off) для каждого из антигенов устанавливают путем умножения среднего значения коэффициента K в эррее с внесенным контрольным отрицательным

Таблица 1
Критерии интерпретации результатов на наличие/отсутствии IgM

Результат		
отрицательный	положительный	неопределенный (сомнительный)
<ul style="list-style-type: none"> • Антитела ко всем 14 антигенам отсутствуют • Наличие антител к антигену p17 и/или p100 при отсутствии антител к остальным антителам 	<ul style="list-style-type: none"> • Выявлены антитела к белку OspC • Выявлены антитела как минимум к двум антигенам из группы: p41, VlsE, p17 	<ul style="list-style-type: none"> • Выявлены антитела только к одному антигену из группы: p58, p41, p39, BVK32, VlsE

образцом тест-системы (К⁻) на 2. Для каждого иммобилизованного антигена рассчитывают коэффициенты позитивности (КП) антител как отношение среднего значения К к соответствующему cut off. Положительным результатом на наличие антител к определенному антигену в исследуемом образце считают те показатели, при которых КП больше или равен 1,1.

Далее проводят дифференциальную диагностику антител к ИКБ в соответствии с инструкцией по применению к тест-системе. Критерии интерпретации результатов проведенного анализа с использованием вышеописанного иммуночипа представлены в табл. 1, 2.

При наличии неопределенного результата или с целью динамического наблюдения за развитием болезни, а также за результатами лечения болезни Лайма рекомендуют повторное тестирование в иммуночипе нового образца сыворотки/плазмы крови человека через 1—3 мес одновременно с постановкой образца, взятого ранее и хранившегося при температуре не выше -16°C.

Тест-систему для серологической диагностики ИКБ в формате иммуночипа мы использовали с целью подтверждения боррелиозной этиологии склероатрофических поражений кожи. В отделении дерматовенерологии и дерматоонкологии МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского с 2009 по 2011 г. мы обследовали 237 пациентов с различными склероатрофическими поражениями кожи: у 183 (77%) диагностировали бляшечную склеродермию, у 33 (14%) — склероатрофический лишай, у 15 (6%) — атрофодермию Пазини—Пьерини, у 6 (3%) — хронический атрофический акродерматит.

У 35 (15%) больных выявили положительные результаты в иммуночипе. Среди них у 22 (63%) диагностировали бляшечную склеродермию, у 6 (17%) — хронический атрофический акродерматит, у 4 (11%) — атрофодермию Пазини—Пьерини, у 3 (9%) — склероатрофический лишай. Из 35 серопозитивных больных 32 (91%) женщины и 3 (9%) мужчины, в том числе в возрасте от 20 до 30 лет 4 (12%), от 31 года до 40 лет 2 (6%), от 41 года до 50 лет 3 (8%), от 51 года до 60 лет 13 (37%), от 61 года до 70 лет 10 (28%), старше 71 года 3 (8%).

Факт присасывания клеща в анамнезе установили у 10 (28%) больных. Анамнез заболевания составлял от 3 мес до 20 лет. Поражения кожи носили распространенный характер у 28 (80%) больных, и лишь у

Таблица 2
Критерии интерпретации результатов в иммуночипе на наличие/отсутствие IgG

Результат		
отрицательный	положительный	неопределенный (сомнительный)
<ul style="list-style-type: none"> • Антитела ко всем 14 антигенам отсутствуют • Наличие антител к антигену p17 при отсутствии антител к остальным антигенам 	<ul style="list-style-type: none"> • Выявлены антитела к белку VlsE • Выявлены антитела как минимум к двум антигенам из группы: p100, p58, p41, p39, BVK32, OspC, p17 	<ul style="list-style-type: none"> • Выявлены антитела только к одному антигену из группы: p100, p58, p41, p39, BVK32, OspC

7 (20%) отметили единичные (1—3) очаги. Кожный счет по Родману варьировал от 1 до 28 баллов (I—II степень тяжести процесса), индекс активности составил 2—3 балла, индекс склероза — 1—2 балла. При обследовании астеноневротическое состояние выявили у 11 (31%) пациентов, поражение опорно-двигательного аппарата — у 13 (37%), нервной системы — у 14 (40%), сердечно-сосудистой системы — у 5 (14%), субфебрильную температуру — у 7 (20%).

В группе из 35 больных специфические антитела класса М обнаружили в иммуночипе у 12 (34%), при этом наблюдали положительную иммунореактивность к 2—3 группам антигенов боррелий. Наиболее часто детектировали антитела к белкам OspC, p17, p41.

Серопозитивные значения по IgG выявили у всех 35 пациентов, при этом определили от 3 до 8 групп антигенов (табл. 3). Следует отметить, что наиболее полный спектр антител был представлен при хроническом атрофическом акродерматите (8 групп антигенов) и бляшечной склеродермии (7 групп антигенов), что позволяет судить о сходном механизме иммунопатогенеза при развитии данных процессов или одинаковой стадии ИКБ у этих больных. Учитывая небольшую выборку серопозитивных пациентов с атрофодермией Пазини—Пьерини и склероатрофическим лишаем (4 и 3 соответственно), полагаем необходимым продолжить

Таблица 3
Выявляемые группы антигенов класса G у больных с различными формами склероатрофических поражений кожи

Вид склероатрофических поражений кожи	Группы антигенов, выявляемые в иммуночипе
Бляшечная склеродермия (n = 22)	p100, VlsE, p58, p41, p39, OspC, p17
Атрофодермия Пазини—Пьерини (n = 4)	p100, VlsE, p58, OspC
Склероатрофический лишай (n = 3)	p58, p41, p39
Хронический атрофический акродерматит (n = 6)	p100, VlsE, p58, p41, p39, BVK, OspC, p17

Примечание. В скобках — количество серопозитивных больных.

обследование больных с указанной патологией для получения более точных результатов. Однако обращает внимание присутствие во всех группах обследованных больных антигена р58, который может быть маркером поражения кожи при ИКБ.

Таким образом, тест-система в формате иммуночипа обладает высокой чувствительностью и специфичностью, позволяет выявить широкий спектр антител классов М и G к антигенам боррелий *B. afzelii* и *B. garinii*, которые наиболее часто являются этиологическими агентами поражений кожи при ИКБ. Следует отметить, что с помощью данной тест-системы удалось подтвердить боррелиозную этиологию процесса у 15% больных с различными склероатрофическими поражениями кожи. Не вызывает сомнения, что пациентов, страдающих указанной патологией, необходимо выделять в отдельную группу, поскольку они нуждаются в специфической антибактериальной терапии и последующем динамическом наблюдении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ананьева Л.П., Студенцов Е.Е., Левин Э. // Рос. журн. кож. и вен. бол. — 2002. — № 6. — С. 45—47.
2. Конева О.А. Методы определения и клиническое значение антиборрелиозных антител при ревматологических проявлени-

3. Курдина М.И., Макарова Л.А. // Рос. журн. кож. и вен. бол. — 2009. — № 6. — С. 23—25.
4. Лобзин Ю.В., Рахманова А.Г., Антонов В.С. и др. Эпидемиология, этиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика иксодовых клещевых боррелиозов: Рекомендации для врачей. — СПб.; 2000.
5. Малеев В.В. // Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер. — 2005. — Т. 7, № 2. — С. 130—153.
6. Молочков В.А., Снарская Е.С., Маркелов М.Л. и др. // Рос. журн. кож. и вен. бол. — 2011. — № 1. — С. 45—49.
7. Agüero-Rosenfeld M.E., Wang G., Schwarts I., Wormser G. // Clin. Microbiol. Rev. — 2005. — Vol. 18, N 3. — P.484—509.
8. Blaauw A.A.M., Loon A.M., Schellekens J.F.P., Bijlsma J.W.J. // Rheumatology. — 1999. — Vol. 38. — P. 1121—1126.
9. Bratton R.L., Whiteside J.W., Hovan M.J. // Mayo Clin. Proc. — 2008. — Vol. 83, N 5. — P. 566—571.
10. Recommendations for test performance and interpretations from the Second National Conference on Serologic Diagnosis of Lyme disease // Morbid. Mortal. Wkly Rep. — 1995. — Vol. 44, N 31. — P. 590—591.
11. Dillon R., O'Connell S., Wright S. // Clin. Med. — 2010. — Vol. 10, N 5. — P. 454—457
12. Mavin S., Milner R.M., Evans R. // J. Med. Microbiol. — 2007. — Vol. 56. — P. 47—51.
13. Steere A.C. // N. Engl. J. Med. — 2001. — Vol. 345, N 2. — P. 115—125.
14. Tugwell P., Dennis D.T., Weinstein A., Welsl G. // Ann. Intern. Med. — 1997. — Vol. 127, N 12. — P. 1109—1123.
15. Yanagihara Y., Masuzawa T. // Immunol. Med. Microbiol. — 1997. — Vol. 18. — P. 249—261.

Поступила 15.09.11

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 615.5-002.4-085.835.3

Системная кислородно-озоновая терапия липоидного некробиоза

Н.П. Теплюк, И.В. Кошелева, Л.Р. Плиева, А.А. Лепехова

Кафедра кожных и венерических болезней (зав. — проф. О.Л. Иванов) лечебного факультета ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздравсоцразвития России

Липоидный некробиоз (ЛН) часто сочетается с сахарным диабетом, у многих больных выявляют отягощенный семейный анамнез по сахарному диабету, нарушение толерантности к глюкозе. Микроангиопатия является ведущим патогенетическим звеном в развитии ЛН, который отличается торпидностью к лечению. Предложен и обоснован новый метод лечения ЛН внутривенными инфузиями озонированного физиологического раствора в сочетании с тренталом.

Ключевые слова: липоидный некробиоз, сахарный диабет, системная кислородно-озоновая терапия

TOTAL SYSTEMS OXYGEN OZONE THERAPY FOR NECROBIOSIS LIPOIDICA

N.P.Teplyuk, I.V.Kosheleva, L.R.Plieva, A.A.Lepekhova

Necrobiosis lipoidica (NL) is often concomitant with diabetes mellitus. Many patients with this condition have aggravated family history for diabetes mellitus and disorders of glucose tolerance. Microangiopathies are the leading pathogenetic factor in the development of NL, which is resistant to therapy. A new method for the treatment of NL by intravenous infusions of ozonated saline combined with trental therapy is suggested.

Key words: necrobiosis lipoidica, diabetes mellitus, total systems oxygen ozone therapy

Липоидный некробиоз (ЛН) — хронический дерматоз из группы липоидозов кожи, сопровождающийся дегенерацией коллагеновых волокон, микро-

циркуляторными нарушениями и в ряде случаев развитием гранулематоза.

ЛН впервые описал М. Оппенгейм в 1929 г. как

Сведения об авторах:

Теплюк Н.П. — канд. мед. наук, доц.; Кошелева И.В. — канд. мед. наук, доц.; Плиева Л.Р. — канд. мед. наук; Лепехова А.А. — клинический ординатор (anfisa.lepehova@yandex.ru).