

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ
ІМЕНІ П.Л.ШУПИКА

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ДЕРКАЧ НАДІЯ ВІКТОРІВНА

УДК 616.5-002-056.43-092-07-085-059.1

ДИСЕРТАЦІЯ
УДОСКОНАЛЕННЯ ПЕРСОНАЛІЗОВАНОЇ ДІАГНОСТИКИ ТА
ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА АТОПІЧНИЙ ДЕРМАТИТ З УРАХУВАННЯМ
ЕНДОТОКСИН-ОПОСЕРЕДКОВАНИХ ФАКТОРІВ
ІМУНОПАТОГЕНЕЗУ

14.01.20 – Шкірні та венеричні хвороби

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело


_____ Н.В. Деркач

Науковий керівник Літус Олександр Іванович, доктор медичних наук, професор

Київ – 2020

АНОТАЦІЯ

Деркач Н.В. Удосконалення персоналізованої діагностики та лікування хворих на atopічний дерматит з урахуванням ендотоксин-опосередкованих факторів імунопатогенезу. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.20 “Шкірні та венеричні хвороби”. – Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України, Київ, 2020.

Пошук персоналізованих методів діагностики та лікування atopічного дерматиту (АД) в сучасній дерматології має високу медико-соціальну значущість через високу розповсюдженість, гетерогенність патогенезу та резистентність до стандартного лікування. Ендотоксин грам-негативних бактерій є одним з основних регуляторів, що впливає на розвиток алергії й АД зокрема. Визначення впливу ендотоксину та поліморфізму його рецепторів на імунопатогенез, ризик розвитку АД може значно підвищити ефективність діагностики та лікування цього захворювання.

Метою дослідження було удосконалення персоналізованої діагностики та лікування дорослих хворих на АД шляхом вивчення клінічних критеріїв, параметрів шкірних прик-тестів, концентрації цитокінів у периферичній крові (фактор некрозу пухлин α (ФНП- α), інтерферон γ (ІФ- γ), інтерлейкін (ІЛ) 2, 4, 5, 10, трансформуючий фактор росту β (ТФР- β)) для стратифікації на екзогенну (імуноглобулін Е (ІgЕ)-залежну) й ендогенну (ІgЕ-незалежну) форми; визначення ризику розвитку, ендотоксин-опосередкованого імунопатогенезу й ефективності пробіотиків з урахуванням поліморфізму генів рецепторів CD14/TLR-4.

У дослідження були включені 96 дорослих хворих на АД. Групу контролю склали 90 здорових волонтерів. Робота складалася з 3 основних етапів.

1-й етап включав крос-секційне дослідження з аналізом клінічних (вік, стать, критерії тяжкості й якості життя, вікові характеристики початку розвитку АД, параметри спадковості, супутні захворювання, частота загострень залежно від сезону, під впливом тригерних факторів, супутніх алергічних захворювань, сенсibilізації до основних алергенів за даними алергоанамнезу), інструментальних (виявлення сенсibilізації до основних мікст-алергенів і харчових продуктів за даними шкірних прик-тестів), імунологічних (визначення вмісту ФНП- α , ІЛ-2, γ -ІФ, ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-10, ТФР- β в периферичній крові) показників.

На 2-му етапі роботи було проведене вивчення асоціації поліморфізму генів рецепторів ендотоксину (С-159-CD14, А-896G-TLR-4, 1196 С>Т-TLR-4) з визначенням показників цитокінового профілю (ФНП- α , ІЛ-2, γ -ІФ, ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-10, ТФР- β) в загальній сукупності досліджуваних і залежно від розподілу на ІgЕ-залежний та ІgЕ-незалежний фенотипи АД.

На 3-му етапі здійснювалося відкрите, контрольоване, рандомізоване, в 6 паралельних групах клінічне дослідження протягом 28 днів з включенням 37 хворих на АД.

Для вивчення впливу пробіотика (*Lactobacillus acidophilus* – не менше 1×10^9 КУО, *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* – не менше 1×10^9 КУО) на тяжкість хвороби, якість життя й імунні параметри з урахуванням генотипів СС і СТ усі пацієнти були розділені на 3 групи для ІgЕ-залежного й ІgЕ-незалежного АД. До першої групи були відібрані хворі з генотипом СС (С-159Т), які отримували стандартну терапію (мазь флютиказону пропіонат 0,005 % 2 рази на добу, емолієнт 2 рази на добу) та пробіотик (*Lactobacillus acidophilus* – не менше 1×10^9 КУО, *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* – не менше 1×10^9 КУО 1 капсула 2 рази на добу). До другої групи увійшли пацієнти з генотипом СС, які одержували тільки стандартну терапію. Третя група була представлена хворими з генотипом ТТ (С-159Т), які отримували стандартну

терапію та пробіотик. Індeksi SCORAD і DLQI оцінювали в момент рандомізації (день 0), на 14-й і 28-й дні. Цитокіни ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-10, ТФР- β визначали в день рандомізації та 28-й день.

Результати роботи довели, що частота ІgЕ-залежного АД становить 35,4 %, ІgЕ-незалежного – 64,6 %. Додатковими клінічними критеріями для стратифікації ІgЕ-залежного АД від ІgЕ-незалежного можуть бути вік пацієнтів і початок розвитку захворювання. При ІgЕ-незалежному АД вік хворих достовірно більший ($p=0,028$) порівняно з ІgЕ-залежним. Початок захворювання на АД у віковій групі від 31 до 60 років зареєстрований у 25,8 % пацієнтів з ІgЕ-незалежною формою, що достовірно відрізнялося ($P=0,034$) від ІgЕ-залежної (5,8 %).

Проведений алергоанамнез при ІgЕ-незалежному АД показав, що тригерами загострення з невисокою частотою можуть бути класичні алергени, хоча при проведенні шкірних прик-тестів сенсibilізація до них не підтвердилася. Для ІgЕ-незалежного АД характерні загострення взимку, ІgЕ-залежного – навесні та влітку. За результатами шкірних прик-тестів у пацієнтів з ІgЕ-залежним АД виявлена сенсibilізація до класичних алергенів: злакових (38,2 %), бур'янів (35,3 %), дерев (29,4 %) і лучних трав (32,4 %) з максимальною частотою (64,7 %) до кліщів домашнього пилу та харчових продуктів.

Імунологічні дослідження показали, що хронічне запалення асоціюється з достовірним ($P<0,05$) підвищенням у периферичній крові ФНП- α , медіаторів імунної відповіді 1/2-го типів (ІФ- γ , ІЛ-2, 4, 5) і зниженням супресивних цитокінів (ІЛ-10, ТФР- β) порівняно з контролем. Для ІgЕ-незалежної форми АД, на відміну від ІgЕ-залежної, характерне достовірне ($P<0,05$) підвищення рівня ФНП- α в периферичній крові відносно контрольної групи. Водночас відсутні достовірні ($P>0,05$) відмінності в концентрації цитокінів 1/2-го типів і супресивних медіаторів між ІgЕ-

залежним та IgE-незалежним АД.

Генетичні дослідження показали, що ризик розвитку АД достовірно підвищений ($P=0,033$) при превалюванні алеля С поліморфної ділянки CD14 рецептора. За наявності генотипу СС для пацієнтів з IgE-залежним АД характерні високі рівні загального IgE, ІЛ-5 і низькі – ІЛ-10, ТФР- β порівняно з іншими генотипами. Зменшення ризику розвитку як IgE-залежного, так й Ig E-незалежного АД асоціюється з превалюванням у популяції генотипів СТ і ТТ. Знижений ризик розвитку АД за наявності алеля Т характеризується низькою концентрацією ІЛ-5 і високою – ІЛ-10, ТФР- β відносно гомозиготного генотипу СС.

Ризик розвитку АД також залежить від поліморфізму А-896G (Asp299Gly) гена TLR-4 рецептора та достовірно підвищений (ВШ=2,448; $P=0,006$) за наявності алеля G. При стратифікації пацієнтів на IgE-залежний та IgE-незалежний АД встановлено, що підвищений ризик розвитку пов'язаний тільки з IgE-залежною формою. В осіб з Ig E-незалежним АД рівень ІЛ-5 в сироватці крові при генотипі AG+GG є достовірно більшим ($P<0,05$) порівняно з генотипом AA.

Зі свого боку ризик розвитку АД в дорослих у досліджуваній популяції не залежить від поліморфізму 1196 C>T (Thr399Ile) гена TLR-4. У пацієнтів з IgE-залежною формою АД виявлена тенденція, що вказує на превалювання гетерозиготного генотипу СТ (ВШ=3,000; $P=0,065$) у поєднанні з підвищеними рівнями загального IgE й ІЛ-2.

Додавання пробіотика (*Lactobacillus acidophilus* – не менше 1×10^9 КУО, *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* – не менше 1×10^9 КУО) до стандартної терапії (мазь флютиказону пропіонат 0,005 %, емолієнт) протягом 28 днів значно підвищує ефективність лікування IgE-залежного АД у дорослих з генотипом СС (С-159), що підтверджується клінічними (достовірно зниження ($P<0,05$) індексів SCORAD і DLQI) й імунологічними

(достовірне ($P < 0,05$) зменшення ІЛ-4 та підвищення ТФР- β) критеріями. Одночасне встановлення ІgЕ-залежної та ІgЕ-незалежної форм, ідентифікація генотипів С-159Т рецептора, визначення вмісту сироваткових цитокінів ІЛ-4 та ТФР- β можуть слугувати алгоритмом персоналізованого лікування хворих на АД.

Ключові слова: atopічний дерматит, ендотоксин, хронічне запалення, поліморфізм генів, пробіотики.

SUMMARY

Derkach N.V. Improvement of personalized diagnostics and treatment of patients with atopic dermatitis given endotoxin-mediated factors of immunopathogenesis. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Candidate of Medical Sciences in specialty 14.01.20 “Skin and Venereal Diseases”. – Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, 2020.

The search for personalized methods of diagnosis and treatment of atopic dermatitis due to its high prevalence, heterogeneity of pathogenesis and resistance to standard treatment in modern dermatology is of high medical and social importance. Endotoxin of gram-negative bacterial is one of the major regulators that affects the development of allergy and atopic dermatitis. Determining the effect of endotoxin and its receptor polymorphism on immunopathogenesis, the risk of developing atopic dermatitis can greatly increase the effectiveness of diagnosis and treatment of this disease.

The aim of the study was to improve personalized diagnosis and treatment of adult patients with atopic dermatitis by examining clinical criteria, skin prick test parameters, cytokine concentration in peripheral blood (tumor necrosis factor α , interferon γ , interleukin 2, 4, 5, 10, β) for stratification into exogenous and endogenous form; to determine the risk of development, endotoxin-mediated

immunopathogenesis and the effectiveness of probiotics, taking into account the polymorphism of the CD14/TLR-4 receptor genes.

The study included 96 adult AD patients. The control group consisted of 90 healthy volunteers. The work consisted of 3 main stages.

Stage 1 included a cross-sectional study analyzing clinical indicators: age, gender, severity and quality of life criteria, age characteristics of the onset of AD development, hereditary parameters, comorbidities, frequency of exacerbations depending on season, frequency of exacerbations under the influence of trigger factors, frequency of concomitant allergic diseases, frequency of sensitization to the main allergens according to allergoamnesis; instrumental: detection of sensitization to major mixtures of allergens and food according to skin prick tests; immunological: determination of TNF- α , IL-2, γ -IF, IL-4, IL-5, IL-10, TGF- β levels in peripheral blood.

In stage 2, the study of the association of endotoxin receptor gene polymorphism (C-159-CD14; A-896G-TLR-4, 1196 C> T-TLR-4) with determination of cytokine profile (TNF- α , IL-2, γ -IF, IL-4, IL-5, IL-10, TGF- β) in the total population studied and depending on the distribution of exogenous and endogenous phenotype of AD.

In stage 3, an open-label, controlled, randomized clinical trial was conducted in 6 parallel groups for 28 days, with the inclusion of 37 AD patients. To study the effect of probiotic (Linex forte) on the severity of the disease, quality of life and immune parameters with regard to CC and CT genotypes, all patients were divided into 3 groups for both exogenous and endogenous AD. The first group selected patients with the genotype CC (C-159T), who received standard therapy (ointment fluticasone propionate 0,005 % – 2 times a day, loco bite of the ripe – 2 times a day) and probiotic (Linex forte – 1 capsule 2 times a day). The second group included patients with the CC genotype who received only standard therapy. The third group was represented by patients with the

genotype TT (C-159T) who received standard therapy and a probiotic. The SCORAD and DLQI indices were evaluated at the time of randomization (day 0) at days 14 and 28. IL-4, IL-5, IL-10, TGF- β cytokines were determined on the day of randomization and on day 28.

The dissertation is devoted to the improvement of personalized diagnostics and treatment of adult patients with atopic dermatitis by studying clinical, instrumental, immunological criteria of stratification for exogenous and endogenous form and determination of the risk of developing the disease and endotoxin-mediated immune pathogenesis.

The results showed that the incidence of exogenous atopic dermatitis is 35,4 %, endogenous – 64,6 %. Additional clinical criteria for stratification of endogenous and exogenous atopic dermatitis may be patients' age and onset of disease. Patients' age of endogenous atopic dermatitis was significantly greater ($p=0,028$) compared to exogenous ones. The onset of AD in patients with endogenous form in the age group of 31 to 60 years was reported in 25,8 %, which was significantly different ($P=0,034$) compared with exogenous (5,8 %).

Conducted allergeamnesis in endogenous atopic dermatitis showed that triggers with low-frequency exacerbation can be classic allergens, although during skin pre-tests sensitization to these allergens has not been confirmed. Endogenous atopic dermatitis is characterized by exacerbation in winter and exogenous in spring and summer. As a result of skin prick tests in patients with exogenous atopic dermatitis, sensitization to classical allergens was detected: cereals (38,2 %), weeds (35,3 %), trees (29,4 %) and meadow herbs (32,4 %) with the highest frequency (64,7 %) for household dust mites and food.

Immunological studies have shown that chronic inflammation is associated with a significant ($P<0,05$) increase in peripheral blood tumor necrosis factor α , mediators of the 1/2 immune response (interferon γ , interleukin 2, 4, 5) and a decrease in suppressive cytokines (interleukin 10, transforming growth factor β)

compared to control. The endogenous form of atopic dermatitis, unlike exogenous, is characterized by a significant ($P < 0,05$) increase in the level of tumor necrosis factor α in the peripheral blood compared with the control group. However, there are no significant ($P > 0,05$) differences in the concentration of type 1/2 cytokines and suppressive mediators between exogenous and endogenous atopic dermatitis.

Genetic studies have shown that the risk of developing atopic dermatitis was significantly increased ($P = 0,033$) with the prevalence of the polymorphic CD14 receptor allele C. In the presence of the CC genotype, patients with exogenous atopic dermatitis are characterized by high levels of total IgE, IL-5, and low IL-10, TGF- β compared to other genotypes. Reducing the risk of both endogenous and exogenous atopic dermatitis is associated with a prevalence of CT and TT genotypes in the population. The reduced risk of developing atopic dermatitis in the presence of the T allele is characterized by low concentrations of IL-5 and high IL-10, TGF- β compared to the homozygous CC genotype.

The risk of developing atopic dermatitis in the Ukrainian population also depends on the TLR-4 receptor TLR-4 gene A-896G (Asp299Gly) polymorphism and is significantly elevated ($OR = 2,448$; $P = 0,006$) in the presence of the allele G. that the increased risk of development is related only to the exogenous form. In patients with endogenous atopic dermatitis, the serum IL-5 level in the AG+GG genotype was significantly higher ($P < 0,05$) compared to the AA genotype.

In turn, the risk of developing atopic dermatitis in adults in the study population is independent of the TLR-4 gene 1196 C>T (Thr399Ile) polymorphism. In patients with exogenous form of atopic dermatitis, a tendency was observed that indicates the prevalence of heterozygous CT genotype ($HV = 3,000$; $P = 0,065$) in combination with increased levels of total IgE and IL-2.

Addition of probiotic (Linex forte) to standard treatment (ointment fluticasone propionate 0,005 %, emollient) for 28 days significantly increases the

effectiveness of treatment of exogenous atopic dermatitis in adults with CC (C-genotype, which is confirmed by clinical (<significant 0,05) of SCORAD and DLQI indices) and immunological criteria (significant ($P < 0,05$) decrease in IL-4 and increase in TGF- β). Simultaneous establishment of exogenous or endogenous form, identification of C-159T receptor genotypes, determination of IL-4 and TGF- β serum cytokines can serve as an algorithm for personalized treatment of patients with atopic dermatitis.

Key words: atopic dermatitis, endotoxin, chronic inflammation, gene polymorphism, probiotics.

Список публікацій здобувача

1. Деркач НВ. Алергоанамнез та шкірні прик-тести у дорослих, хворих на atopічний дерматит. Дерматологія та венерологія. 2017;(4):42-6.
2. Літус ОІ, Деркач НВ, Літус ВІ. Цитокиновий профіль периферичної крові при екзогенному (IgE-залежному) та ендогенному (IgE-незалежному) atopічному дерматиті у дорослих. Імунологія та алергологія. 2017;(2):22-6.
3. Деркач НВ. Клінічні критерії стратифікації екзогенного (IGE-залежного) та ендогенного (IGE-незалежного) atopічного дерматиту у дорослих. Акт. проблеми сучас. медицини: Вісн. Укр. мед. стоматол. акад. 2018;18(1):29-34.
4. Литус АИ, Деркач НВ, Литус ВИ. Цитокиновый профиль и A-896G полиморфизм гена TLR-4 при atopическом дерматите у взрослых. Лаб. диагностика. Вост. Европа. 2018;7(1):104-11.
5. Литус ВИ, Деркач НВ, Литус АИ. Воспалительные/супрессивные цитокины периферической крови и 1196 СТ (Thr399Ile) полиморфизм гена TLR-4 при atopическом дерматите у взрослых. Лаб. диагностика. Вост. Европа. 2018;7(3):333-41.
6. Літус ВІ, Деркач НВ, Літус ОІ. Клінічні та імуногенетичні особливості перебігу atopічного дерматиту. Здоров'я суспільства.

2018;7(3):142-9.

7. Літус ОІ, Деркач НВ, Літус ВІ. С-159Т поліморфізм гену CD14 та цитокіновий профіль при атопічному дерматиту у дорослих. Укр. журн. медицини, біології та спорту. 2018;3(1):156-63.

8. Litus O, Derkach N, Litus V, Bisyuk Y, Lytvynenko B. Efficacy of probiotic therapy on atopic dermatitis in adults depends on the C-159T polymorphism of the *CD14* receptor gene – a pilot study. Open Access Maced J Med Sci. 2019 Apr 10;7(7):1053-8.

9. Litus O, Derkach N, Litus V, Bisyuk Y, DuBuske L. A501. The C-159T polymorphism of the CD-14 gene and cytokine profiles in adults with atopic dermatitis. Ann Allergy Asthma Immunol. 2018 Nov;121(5 Suppl, 2018 Annual Scientific Meeting of the American College of Allergy, Asthma and Immunology Practice Empowerment. Patients. Community. Partners; 2018 Nov 15-19; Seattle, Washington):S17.

10. Bisyuk Y, Litus O, Derkach N, Litus V, DuBuske LM. Assessment of the impact of the A-896G polymorphism of the TLR-4 gene in adults with extrinsic and intrinsic atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol. 2019 Feb;143(2 Suppl, Programs and Abstracts of Papers to be Presented During Scientific Sessions: 2019 AAAAI Annual Meeting):AB124.

11. Litus O, Derkach N, Litus V, Bisyuk Y, DuBuske L. P502. Clinical parameters, skin tests and cytokines profile in adult exogenous and endogenous atopic dermatitis. Ann Allergy Asthma Immunol. 2019 Nov;123(5 Suppl, 2019 Annual Scientific Meeting of the American College of Allergy, Asthma and Immunology New Frontiers. Advocating for Patients, Practices and Research; 2019 Nov 07-11; Houston, Texas):S62.

12. Litus O, Derkach N, Litus V, Bisyuk Y, DuBuske LM. TP0995. The 1196 C> T polymorphism of the TLR-4 gene and cytokine profiles in adults with extrinsic (exogenous) and intrinsic (endogenous) forms of atopic dermatitis. Allergy.

2019 Aug;74(S106, Abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress; 2019 Jun 01-05; Lisbon, Portugal):541.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ ВИМІРЮВАННЯ, СКОРОЧЕНЬ	15
ВСТУП	18
РОЗДІЛ 1. КЛІНІЧНІ Й ІМУНОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ АТОПІЧНОГО ДЕРМАТИТУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	25
1.1. Епідеміологія та клінічні фенотипи atopічного дерматиту	25
1.2. Роль імунного запалення в патогенезі atopічного дерматиту	29
1.3. Молекулярно-генетичне прогнозування розвитку та перебігу atopічного дерматиту	33
1.4. Модифікація хронічного запалення під впливом місцевого та системного лікування. Роль пробіотиків	36
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	44
2.1. Протокол і дизайн дослідження, характеристика основних етапів	44
2.2. Методи визначення тяжкості й якості життя у хворих на atopічний дерматит	46
2.3. Методика проведення алергопроб	47
2.4. Методи визначення вмісту цитокінів і загального імуноглобуліну E	48
2.5. Методи визначення поліморфізму генів CD 14 і TLR-4	48
2.6. Методи статистичного аналізу	49
РОЗДІЛ 3. КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ДОСЛІДЖУВАНИХ ГРУП	51
3.1. Загальноклінічні й анамнестичні параметри у хворих на atopічний дерматит	51
3.2. Алергічний анамнез та алергодіагностика у хворих на atopічний	

	14
дерматит	60
РОЗДІЛ 4. ЦИТОКІНОВИЙ ПРОФІЛЬ І ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ У ХВОРИХ НА АТОПІЧНИЙ ДЕРМАТИТ	67
4.1. Профіль цитокінів імунної відповіді 1-го та 2-го типів	67
4.2. С-159Т поліморфізм гена CD14 і цитокіновий профіль	69
4.3. Asp299Gly поліморфізм гена TLR-4 та цитокіновий профіль	77
4.4. Thr399Ile поліморфізм гена TLR-4 та цитокіновий профіль	85
РОЗДІЛ 5. ПОРІВНЯЛЬНА ЕФЕКТИВНІСТЬ КОНТРОЛЮЮЧИХ ПРЕПАРАТІВ	92
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	105
ВИСНОВКИ	114
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	117
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	119
Додаток А	143
Додаток Б	145

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ
ВИМІРЮВАННЯ, СКОРОЧЕНЬ**

АД	атопічний дерматит
ВШ	відношення шансів
ГМ-КСФ	гранулоцитарно-макрофагальний колоніестимулюючий фактор
ДІ	довірчий інтервал
ДІЯЖ/DLQI	дерматологічний індекс якості життя/Dermatology Life Quality Index
ДК	дендритні клітини
ЕТ	ендотоксин
ІІ	інтерлейкін
ІФ- γ	інтерферон гамма
ЛЗБ	ліпополісахарид-зв'язуючий білок
ЛПС	ліпополісахарид
Ме	медіана
ПРР	патерн-розпізнавальні рецептори
ТПР	толл-подібні рецептори
ТФР- β	трансформуючий фактор росту β
Тх	Т-хелпери
ФНП- α	фактор некрозу пухлин α
A	adenine
Asp	aspartic acid
C	cytosine
FLG	Filaggrin
G	guanine
Gly	glycine

IgE	імуноглобулін E
ILC	innate lymphoid cell
LBP	lipopolysaccharide binding protein
mCD14	membrane CD14
MD-2	myeloid differentiation factor 2
MyD88	myeloid differentiation primary response gene 88
NFκB	nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NOD	nucleotide-binding oligomerization domain pDCs – plasmacytoid DCs
P	достовірність відмінностей між IgE-залежним та IgE- незалежним АД з використанням тесту χ^2 в таблиці спряженості
P (Б)	достовірність при множинному порівнянні ANOVA з поправкою Банфероні
P (К-У)	достовірність при множинному порівнянні з використанням критерію Краскела-Уолліса
PI3K	phosphatidylinositol-3-kinases
PRRs	pattern recognition receptors
RIG-I	retinoic acid-inducible gene I
RLRs	RIG-I-like receptors
RORα	retinoic acid receptor-related orphan receptor alpha
sCD14	soluble CD14
SCORAD	SCORing Atopic Dermatitis
SD	середньоквадратичне відхилення
T	thymine
TGF-β	transforming growth factor β
TLR-4	toll-like receptor 4
TLRs	toll-like receptors

TRIF	TIR-domain-containing adaptor protein inducing interferon- β
TSLP	thymic stromal lymphopoietin
\bar{x}	середнє значення

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження.

Атопічний дерматит (АД) є хронічним запальним захворюванням шкіри, що характеризується порушеннями її бар'єрної функції й імунної відповіді. [6,204,210] АД – це гетерогенне захворювання, що має величезну кількість клінічних фенотипів, імунологічних ендотипів і генотипів, у багатьох випадках потребує персоналізованого підходу до діагностики та лікування. [13-15,142,154] Активація імунної відповіді 2-го типу з підвищеним синтезом інтерлейкіну (ІЛ)-4, 5, 13 та імуноглобуліну Е (ІgЕ) є маркером ІgЕ-залежного АД. [34,83,161] Для ІgЕ-незалежного АД характерні імунні порушення, що призводять до стимуляції імунної відповіді 1-го типу з подальшим синтезом ІЛ-2 та γ -інтерферону (γ -ІФ). [54,108] Механізми регуляції імунної відповіді при АД, зокрема за участі мікроорганізмів, мають вирішальне значення в досягненні ефективності лікування. [76,187]

Молекулярна генетика значно розширила бачення ролі мікроорганізмів у патогенезі АД. [35] Дисбіоз мікроорганізмів може призводити до патологічної регуляції імунної відповіді як на локальному, так і системному рівнях при різних формах АД. [5,167]

Ендотоксин або ліпополісахарид (ЛПС) грам-негативних бактерій діє через активацію рецепторів CD14 і toll-like receptor 4 (TLR-4) на поверхні моноцитів, макрофагів і гранулоцитів, є одним з основних регуляторів імунної відповіді, що впливає на розвиток алергії. [140,186] У дитячому віці високі концентрації ендотоксину в домашньому пилу захищають від розвитку алергії. [151] Стимуляція ендотоксином рецепторів CD14 і TLR-4 при АД може призводити до вивільнення прозапальних цитокінів, що можуть індукувати хронічне запалення. [182] Такі дуальні ефекти можуть бути пов'язаними з поліморфізмом генів рецепторів CD14 і TLR-4.

Нині відомо, що ризик розвитку алергічного риніту, астми й АД може залежати від поліморфізму генів рецепторів CD14 (C-159T), TLR-4 (A-896G, 1196 C>T). [3,4,179.215]

Пробіотики володіють антагоністичними властивостями щодо активаційних механізмів запалення, зокрема ендотоксин-залежного. Ці препарати модулюють місцеву мікробіоту шлунково-кишкового тракту й імунні реакції за допомогою багатьох механізмів, включаючи пряме інгібування активності кишкових патогенів, зниження рН, індукцію механізму захисту епітелію та модифікацію імунорегуляції за рахунок зменшення прозапальних медіаторів. [12,168] Було показано, що пробіотичні бактеріальні штами інгібують реакцію клітин Т-хелперів 2-го типу (Тх-2) та стимулюють продукцію цитокінів Тх-1. [209]

Нині відсутні дані про асоціацію поліморфізму генів рецепторів CD14 (C-159T), TLR-4 (A-896G, 1196 C>T) з ризиком розвитку АД в українській популяції. Немає даних про порівняльну ефективність пробіотиків залежно від фенотипів АД, зокрема асоційованих з поліморфізмом генів рецепторів CD14/TLR-4.

Саме вирішенню цих питань і присвячена дана дисертаційна робота.

Зв'язок роботи з науковими планами, програмами, темами.

Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри дерматовенерології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика “Оптимізація алгоритмів діагностики, лікування хронічних дерматозів, новоутворень шкіри та ПСШ з урахуванням впливу фонових патологій, соціальних факторів і чинників довкілля” (№ державної реєстрації 0115U002359, строки виконання – 2015-2019 рр.).

Мета дослідження.

Удосконалення персоналізованої діагностики та лікування хворих на atopічний дерматит шляхом виділення груп пацієнтів з імуноглобулін Е-

залежною й імуноглобулін Е-незалежною формами, імунопатогенетично обумовленого призначення пробіотиків на основі визначення клінічних критеріїв, параметрів шкірних прик-тестів, концентрації цитокінів у периферичній крові з урахуванням поліморфізму генів рецепторів ендотоксину CD14/TLR-4.

Завдання дослідження:

1. Встановити клініко-епідеміологічні особливості у хворих на atopічний дерматит для диференціації імуноглобулін Е-залежної й імуноглобулін Е-незалежної форм захворювання.

2. Визначити особливості алергічного анамнезу та провести алергодіагностику чутливості до основних мікст-алергенів і харчових продуктів у хворих для диференціації імуноглобулін Е-залежної й імуноглобулін Е-незалежної форм atopічного дерматиту.

3. Встановити імунологічні параметри системного хронічного запалення при atopічному дерматиті для диференціації імуноглобулін Е-залежної й імуноглобулін Е-незалежної форм захворювання.

4. Визначити наявність асоціації між поліморфізмом генів рецепторів CD14 (C-159T), TLR-4 (A-896G, 1196 C>T) і ризиком розвитку atopічного дерматиту в дорослих.

5. Дослідити вплив поліморфізму (C-159T, A-896G, 1196 C>T) генів рецепторів CD14/TLR-4 на стан хронічного системного запалення (фактор некрозу пухлин α , медіатори імунної відповіді 1/2-го типів, супресивні/регуляторні цитокіни) у хворих на atopічний дерматит.

6. Удосконалити лікування пацієнтів з atopічним дерматитом шляхом додавання пробіотика (*Lactobacillus acidophilus* – не менше 1×10^9 КУО, *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* – не менше 1×10^9 КУО) до стандартної терапії (мазь флютиказону пропіонат 0,005 %, емолієнт) залежно від стратифікації пацієнтів на генотипи СС і СТ поліморфної ділянки C-159T гена

CD14 рецептора.

Об'єкт дослідження: АД (L20.9).

Предмет дослідження: клінічні, інструментальні й імунологічні показники стратифікації IgE-залежного й IgE-незалежного АД, оцінка ефективності пробіотиків залежно від поліморфізму генів CD14/TLR-4.

Методи дослідження: загальноклінічні, інструментальні, анкетування (дерматологічний індекс якості життя (DLQI)), імунологічні (імуноферментне визначення цитокінів та IgE в периферичній крові), молекулярно-генетичні (визначення поліморфізму С-159Т, А-896G, 1196 С>Т генів рецепторів CD14/TLR-4 за допомогою полімеразної ланцюгової реакції), статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів.

Вперше в Україні був вивчений поліморфізм генів рецепторів CD14 (С-159Т), TLR-4 (А-896G, 1196 С>Т) у хворих на АД.

Вперше на достовірно значущому рівні було встановлено, що алель С поліморфної ділянки С-159Т CD14 рецептора й алель G поліморфної ділянки А-896G TLR-4 асоційовані з підвищеним ризиком розвитку АД.

Вперше на достовірно значущому рівні було виявлено, що додавання пробіотика до стандартної терапії є ефективним у пацієнтів з АД з генотипом СС поліморфізму С-159Т гена рецептора CD14.

Практичне значення отриманих результатів.

Встановлено, що додатковими клінічними критеріями для стратифікації IgE-залежного від IgE-незалежного АД, крім визначення рівня загального IgE, проведення шкірних прик-тестів, є вік пацієнтів і початок розвитку захворювання.

Виявлено, що для прогнозування ризику розвитку АД раціональним є визначення поліморфізму генів рецепторів CD14/TLR-4. У пацієнтів з генотипом СС або СТ (С159Т-CD14), АG (А-896G-TLR-4) зростає ймовірність

розвитку АД.

Виявлено, що одночасне встановлення IgE-залежної чи IgE-незалежної форми, ідентифікація генотипів С-159Т рецептора CD14, визначення вмісту сироваткових цитокінів ІЛ-4 та трансформуючого фактора росту (ТФР)- β можуть слугувати додатковими критеріями персоналізованого призначення пробіотиків у дорослих хворих на АД.

Удосконалені підходи до діагностики та лікування АД шляхом встановлення ендотоксин-опосередкованих факторів імунопатогенезу.

Отримані в ході дослідження дані можуть бути використані в практичній діяльності лікарів-дерматовенерологів і дерматопатологів, у підготовці лікарів різних спеціальностей як на рівні навчання в медичних університетах, так і в закладах післядипломної освіти.

Отримані в роботі нові дані застосовуються в практичній діяльності комунального підприємства “Волинський обласний шкірно-венерологічний диспансер” Волинської обласної ради та державної установи “Інститут дерматології та венерології Національної академії медичних наук України”.

Результати дисертації впроваджені в педагогічний процес кафедр: дерматовенерології, клінічної, лабораторної імунології та алергології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика; внутрішньої медицини № 2, клінічної імунології та алергології ім. академіка Л.Т. Малої Харківського національного медичного університету; шкірних та венеричних хвороб з курсами патоморфології та фтизіатрії Ужгородського національного університету.

Особистий внесок здобувача.

Самостійно проведені літературний і патентно-інформаційний пошуки. Мета та завдання роботи сформульовані разом з науковим керівником.

Здобувач самостійно проводила формування груп, спостереження й обстеження хворих, здійснювала постановку, апробацію методик, всі серії лабораторних досліджень. Самостійно проводила аналіз, статистичну обробку даних та оформлення роботи. Опубліковані наукові праці, що містять матеріали дисертації, мають оригінальний характер і авторський внесок. Конфлікту інтересів немає.

Апробація матеріалів дисертації.

Основні положення роботи апробовані на: 2018 Annual Scientific Meeting of the American College of Allergy, Asthma and Immunology “Practice Empowerment. Patients. Community. Partners” (м. Сіетл, США, 15-19 листопада 2018 р.); 2019 AAAAI Annual Meeting (м. Сан-Франциско, США, 22-25 лютого 2019 р.); European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress 2019 (м. Ліссабон, Португалія, 01-05 червня 2019 р.); 2019 Annual Scientific Meeting of the American College of Allergy, Asthma and Immunology “New Frontiers. Advocating for Patients, Practices and Research” (м. Г’юстон, США, 07-11 листопада 2019 р.).

Публікації.

Основні результати дослідження та положення дисертації опубліковані в 12 наукових працях, зокрема 8 статтях (з них 2 одноосібні), 5 з яких у фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 4 тезах доповідей у матеріалах науково-практичних конференцій, конгресів, з’їздів.

Структура та обсяг дисертації.

Дисертація викладена українською мовою на 145 сторінках комп’ютерного тексту. Робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, узагальнення й аналізу отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, додатків. Дисертація ілюстрована 39 таблицями, 7 рисунками. Список

використаної літератури містить 216 джерел, зокрема 31 – кирилицею, 185 – латиницею.

РОЗДІЛ 1

КЛІНІЧНІ Й ІМУНОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ АТОПІЧНОГО ДЕРМАТИТУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Епідеміологія та клінічні фенотипи atopічного дерматиту

АД або atopічна екзема є хронічним запальним захворюванням шкіри, що становить серйозну проблему для громадського здоров'я в усьому світі. На АД страждають 10-20 % педіатричного та 1-3 % дорослого населення. [42]

Ця хвороба має істотний соціально-економічний вплив частково через відсутність ефективного лікування, здатного контролювати захворювання в довгостроковій перспективі. [46,178,207]

Поширеність АД протягом останніх 30 років у всьому світі зростає, включаючи близько п'ятої частини населення розвинутих країн. [39,82] Частота розвитку цього захворювання в дітей оцінюється в межах від 15 % до 30 %, у дорослих – від 0,3 % до 14,3 %, хоча більшість авторів погоджуються, що вона становить від 1 % до 3 %. [65,112,129,204] Відомо, що частота випадків у літніх людей (>65 років) у промислово розвинених країнах також зростає. [112]

Розповсюдженість АД (АД, I20) в Україні за останні роки щорічно збільшується (149,6 – 2003 р.; 151,7 – 2004 р.; 159,5 – 2005 р.; 172,5 – 2006 р.; 174,4 – 2007 р.; 172,3 – 2008 р.; 184,3 – 2009 р.; 186,1 – 2010 р.; 190,9 – 2011 р.; 194,9 – 2012 р.). На тлі зростання захворюваності на АД фактично половина хворих припадають на вперше зареєстрованих. Інтенсивний показник захворюваності на 100000 населення в Україні складає: у 2003 р. – 74,5; 2004 р. – 83,0; 2005 р. – 78,9; 2006 р. – 77,0; 2007 р. – 82,5; 2008 р. – 82,0; 2009 р. – 83,4; 2010 р. – 83,0; 2011 р. – 84,6; 2012 р. – 86,3. [28]

Розвиток АД може початися в будь-якому віці, хоча приблизно в 60 %

випадків симптоми проявляються на першому році життя. [204] У 60-74 % осіб при досягненні 16 років може відбутися ремісія, а в інших симптоми АД залишаються протягом усього життя. [175]

Клінічна картина АД значно залежить від віку пацієнта. [204] З урахуванням даного критерію виділяють щонайменше 4 різних клінічних фенотипи АД: в дітей грудного віку (від 3 місяців до 2 років), дошкільного та шкільного віку (від 2 до 12 років), підлітків і дорослих (від 12 до 60 років), літніх людей (старше 60 років). [44]

Важливе значення має початок розвитку дерматиту. За допомогою ретроспективного дослідження були ідентифіковані 6 фенотипів АД. [44]

Дуже ранній початок (від 3 місяців до 2 років). Залежно від епідеміологічних досліджень частота цього фенотипу становить від 60 % до 80 % від усіх форм АД. У значної частини пацієнтів ремісія може відбутися до 2 років. Ще одна частина, що оцінюється приблизно на рівні 40 %, продовжує хворіти протягом тривалого періоду часу та може представляти частку з найбільшим ризиком розвитку атопічного маршу.

Ранній початок (від 2 до 6 років). Пацієнти даного фенотипу мають високий ризик розвитку хронічної форми АД.

Підлітковий тип (від 14 до 18 років). Початок розвитку АД в підлітків становить приблизно 10 %. Для даної категорії пацієнтів існують лише обмежені епідеміологічні дані щодо захворювання.

Початок у дорослих (від 20 до 60 років). Частота даного фенотипу становить близько 20 % від загальної кількості, переважно спостерігається в пацієнтів жіночої статі з досить м'яким клінічним фенотипом і дуже обмеженим спектром сенсibiliзації, зазвичай супроводжується нормальним рівнем загального IgE.

Дуже пізній початок (>60 років). Фенотип з пізнім початком розвитку АД являє собою когорту пацієнтів, що інтенсивно досліджується останніми

роками. [191] У межах цієї групи можна визначити принаймні 2 додаткових підгрупи: ті, хто раніше мав АД з більш тривалим періодом ремісії, та ті, в яких захворювання настає дуже пізно. [190] Часто в цих пацієнтів спостерігаються дуже важка форма захворювання та високий рівень загального IgE.

Для дитячого віку характерні гострі ураження шкіри, а для пізнішого – хронічні, зокрема з ліхеніфікацією та вузловими інфільтратами. Хронічна форма АД визначається як пруріго фенотип. [44]

АД може асоціюватися з розвитком іхтіозу, фолікулярного кератозу та важкої екземи (нульовий генотип Filaggrin (FLG)). До морфологічних варіантів АД відносять нумулярну екзему, пруріго Бен'є, лишай-подібний дерматит і себорейну екзему. Крім цього, виділяють локальні форми АД: екзема рук, синдром долонно-підшовної еритродизестезії, дерматит повік, хейліт і дерматит сосків. [159]

АД часто пов'язаний з розвитком інших неалергійних захворювань. [65]

Подібно до псоріазу, дорослі з АД мають підвищений ризик розвитку серцево-судинних захворювань. [173] АД частіше виникає в курців та осіб, які споживають велику кількість алкоголю та мають знижену фізичну активність. [174]

Отже, АД – це гетерогенне захворювання, що може мати різні клінічні фенотипи, що використовуються як діагностичні критерії. У розвинутих країнах та Україні використовуються діагностичні критерії Hanifin і Rajka. [30,95] На додаток до класичних діагностичних критеріїв, визначення тяжкості захворювання переважно проводиться з застосуванням шкали SCORAD (SCORing Atopic Dermatitis). [85]

Теперішнє поняття про АД різко змінилося впродовж останніх років, насамперед через значний прогрес в епідеміології та генетиці, величезний прорив у розумінні концепції атопічного маршу, а також завдяки розкриттю

нових аспектів щодо анамнезу хвороби та вивченню форм АД, що персистують протягом усього життя. [69,84,132,141,160]

Епідеміологічні дослідження зосереджені на визначенні можливих факторів, що пов'язані з оточуючим середовищем і способом життя. Вони можуть впливати на підвищений ризик розвитку АД. Наприклад, АД частіше зустрічається в містах, ніж у сільській місцевості. [169] Відомо, що АД більш поширений у західних промислово розвинутих країнах, ніж у тих, що розвиваються. [99,152] Ризик розвитку АД також вищий у дітей, які ростуть у малих родинах і з вищим соціально-економічним становищем. [111] Усі ці фактори вказують на гігієнічну природу розвитку цього захворювання.

Гігієнічна гіпотеза була сформульована наприкінці 80-х років ХХ сторіччя, виходячи зі спостереження, що АД і сінна лихоманка були менш поширеними серед дітей Великобританії, які зростали з більшою кількістю старших братів і сестер. [184]

Спочатку це було пояснено тим, що у великих родинах вища контамінація з вірусними та бактеріальними патогенами. Гігієнічна гіпотеза стимулювала велику кількість як епідеміологічних, так і імунологічних досліджень. Наприклад, на моделях тварин було показано, що алергічні хвороби виникають, коли дозріваюча імунна система позбавляється обов'язкової стимуляції мікробними антигенами, особливо якщо це відбувається безпосередньо після пологів або навіть внутрішньоматково. [37]

У когортних та інтервенційних дослідженнях у країнах, що розвиваються, було отримано, що гельмінти, зокрема нематоди та шистосоми, можуть захищати від розвитку АД, особливо якщо такі експозиції з'являються вже під час вагітності. [81]

Захисний ефект від розвитку АД може бути пов'язаним зі

споживання непастеризованого фермерського молока й експозицією ендотоксину грамнегативних бактерій. Час, як і ступінь впливу, найімовірніше мають важливе значення. Наприклад, це було показано для ендотоксину, де тільки високий рівень експозиції в ранньому віці має протекторні властивості.

Діти з підвищеним ризиком виникнення алергії повинні впродовж 6 місяців вигодовуватися тільки материнським молоком. Якщо ж природне вигодовування неможливе, то для попередження ранньої сенсibilізації не слід давати готові молочні суміші, що містять коров'яче молоко, а застосовувати гіпоалергенні суміші. [10]

З погляду імунології, ця гіпотеза пояснюється наявністю дисбалансу між імунною відповіддю 1-го та 2-го типів. Мікробна стимуляція дендритних клітин через toll-подібні рецептори на рівні слизової оболонки шлунково-кишкового тракту або інших лімфоїдних тканин у ранньому віці може стимулювати регуляторні Т-клітини, які зі свого боку через виділення ІЛ-10 і ТФР- β захищають від розвитку алергії. [109,153]

Чітке визначення різних клінічних фенотипів і потенційних біомаркерів є ключовим елементом успішного розвитку нових і персоналізованих терапевтичних підходів у хворих на АД. [45]

1.2. Роль імунного запалення в патогенезі atopічного дерматиту

Для АД характерні різні типи запалення, що в літературі позначаються як ендо- або субтипи. Ендотипи при АД мають значні варіації. [43,205] Вони базуються на визначенні рівня IgE (ендогенний/екзогенний АД або IgE-залежний/IgE-незалежний), стану мутації гена FLG, раси та віку. [135,146,155,185,195]

Було досліджено, що підвищення рівня загального IgE корелює зі

збільшенням концентрації CD22+ лімфоцитів у крові пацієнтів у випадку, коли діти та їхні батьки хворі на АД. [25]

Мутації в гені FLG призводять до дефіциту FLG, що викликає виникнення тяжкої та персистуючої форми АД порівняно з “диким” генотипом цього гена. При мутації в гені відбувається імунна дисрегуляція, що характеризується високою активністю інтерферону 1 типу, ІЛ-1, частими шкірними інфекціями та присутністю алергії. [59,61,91,103,113,130,131,155] Мутації FLG виявляються приблизно в 30 % хворих (рідко зустрічаються в афроамериканських популяціях). [131] У пацієнтів з мутацією FLG ремісія може відбуватися в дорослому віці. [103] Також було доведено, що ефективність дупілюмабу не залежить від статусу мутації FLG. [93]

В українській популяції було виявлено, що частота мутації R501X і 2282del4 в гені FLG зустрічається в 20,6 % випадків. [24]

Перебіг АД супроводжується зменшенням загальної кількості Т-лімфоцитів зі зростанням чисельності Т-хелперів, Т-лімфоцитів натуральних кілерів, В-лімфоцитів і зниженням кількості цитотоксичних Т-лімфоцитів. Зміни в цитокиновій системі характеризуються зменшенням ІЛ-2, ІФ- γ та зростанням ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-10, що залежить від тяжкості перебігу. При аналізі показників гуморальної ланки імунітету була виявлена тенденція до дизімуноглобулінемії, що характеризувалася зниженням рівнів сироваткового ІgА та підвищенням концентрації сироваткових ІgЕ й ІgG.

В іншій роботі було показано, що у хворих на АД спостерігається достовірне збільшення вмісту практично всіх класів імуноглобулінів і концентрації сумарних антитіл (ІgА, М, G) до антигена *Helicobacter pylori* переважно при середньому та важкому ступенях тяжкості захворювання. [29]

Подібно до псоріазу, розвиток якого залежить від активації Т-хелперів 17-го та 22-го типів, АД асоціюється з активацією практично всіх типів Т-лімфоцитів.

Хоча при АД і відбувається сильна активація Тн-2-клітин як у запальних, так і незапальних ділянках шкіри, активація Тн-22, Тн-17/ІЛ-23 та Тн-1 відіграє певну роль у патогенезі, особливо при деяких субтипах захворювання. [122,205]

На початку запалення при АД відбувається різке підвищення рівнів Т-хелперів 2-го (ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-13, ІЛ-31, ССЛ1) і 22-го (ІЛ-22, S100A) типів. [57,61] Медіатори цих клітин супресують синтез білків тісних контактів кератиноцитів, як-от клаудіни, що призводить до пошкодження бар'єрної функції епідермісу. [64,73,148]

Нещодавно було продемонстровано, що вроджені лімфоїдні клітини 2-го типу також можуть продукувати цитокіни Т-хелперів 2-го типу. Незважаючи на те, що вони присутні набагато менше, ніж інші Т-клітини, вміст вроджених лімфоїдних клітин 2-го типу в уражених ділянках шкіри є значно більшим порівняно з контролем, тим самим, можливо, призводячи до додаткової активації Тн-2 клітин. [51,55,92,114]

Досліджено, що в дітей з хронічним безперервно рецидивуючим перебігом АД резистентністю до традиційної терапії у 88,6 % випадків відмічається стафілококова колонізація шкіри: в ізольованому та у вигляді мікст-інфекції (стафілокок+гриби та стафілокок+інша бактеріальна флора). [26]

Активація Т-хелперів 2-го типу полегшує зв'язування та колонізацію шкіри *Staphylococcus aureus*. [53] ІЛ-4 й ІЛ-13 інгібують вироблення антимікробних пептидів, що призводить до розвитку бактеріальної інфекції та втрати бар'єрної функції шкіри. [116,143,145]

Медіатори (ІЛ-17А, інгібітор пептидази 3/елафін, ССL20), що асоційовані з активацією Т-хелперів 17-го типу, в пацієнтів з гострими та хронічними формами АД постійно підвищуються, але на нижчих рівнях, ніж у хворих на псоріаз. [70,87]

Цікаво, що при хронічному ураженні шкіри Тх-2 та Тх-22 частіше паралельно активують Т-хелпери 1-го типу (ІФ- γ , CXCL9 і CXCL10), а не перемикають імунну відповідь на Тх-1. [87]

P.I. Song і співавт. [182] виявили, що кератиноцити людини експресують рецептори CD14 і TLR4. Зв'язування ліпополісахариду (ЛПС) з рецепторним комплексом CD14/TLR4 на кератиноцитах призводить до вираженої секреції прозапальних цитокінів і хемокінів.

Структура ЛПС складається з полісахаридного ланцюга (О-антиген), сердечника (core) та ліпіда А, що фіксує молекулу ЛПС в зовнішній мембрані грамнегативних бактерій. [72] ЛПС приєднується до ЛПС-зв'язуючого білка, що доставляє ендотоксин до рецепторного комплексу CD14/TLR4/MD-2. [62]

Після приєднання ЛПС до TLR4 відбувається активація внутрішньоклітинної сигналізації через MyD88 (Myeloid differentiation primary response gene 88)-залежний шлях. MyD88-залежний шлях передачі сигналів призводить до активації мітоген-активованої протеїн-кінази (МАРК – mitogen-activated protein kinases) та ядерного фактора κ B (NF κ B – nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) з подальшою індукцією синтезу прозапальних цитокінів. [66]

Понад 85 0% пацієнтів з АД є сенсibilізованими до домашнього кліща, що підтверджується детекцією специфічних IgE до його алергенів. [63] Алерген пилового кліща Der p2 імітує LPS-зв'язуючий сайт і призводить до активації MyD88, TLR2 та TLR4. [193,196]

Було показано, що рівень експресії TLR4 на моноцитах крові в пацієнтів з

АД був достовірно вищим порівняно з контролем у період загострення та через 4 місяці після нього. [198] Також відомо, що активація TLR2 та TLR4 може сприяти підвищенню активності Th-17 клітин, що призводить до посилення синтезу ІЛ-17а й ІЛ-22. [216]

Отже, можна припустити, що ендотоксин грамнегативних бактерій має дуальний ефект. З одного боку, в грудному віці він стимулює Т-регуляторні клітини, що супресують розвиток алергії, з іншого, – в пацієнтів, у яких вже розвинувся АД, він призводить до активації як Т-хелперів 1-го типу, так і 2-го, 17-го, 22-го. Такі дані, очевидно, пов'язані з генами, що відповідають за біологічні ефекти ендотоксину.

1.3. Молекулярно-генетичне прогнозування розвитку та перебігу atopічного дерматиту

Як показують різні дослідження, частота виникнення АД становить 72-86 % в однозиготних і 21-23 % в дизиготних близнюків. [60] Зокрема, в норвезьких близнюків спадковість АД визначалася на рівні 72 %. [183]

Повногеномний пошук асоціацій і дослідження одонуклеотидних поліморфізмів виявили величезну кількість локусів, що відповідають за ризик розвитку та перебігу АД. [157]

Умовно ці гени можна поділити на 7 груп: 1) FLG; 2) SPINK5 (serine protease inhibitor Kazal-type 5) і LEKTI (lymphoepithelial Kazal-type-related inhibitor); 3) МНС; 4) гени вродженого імунітету (NOD1, NOD2, CD14, MBL2 – mannose-binding lectin, TLR2, TLR4, TLR6, TLR 9, DEFB1 – human β -defensin 1); 5) гени адаптивного імунітету (IL-1 α , IL- β gene, IL1RN – gene interleukin 1 receptor antagonist, IL1RL1 – interleukin 1 receptor-like 1, IL-4, IL-4R α , IL-5, IL-6, IL-9, IL-9R, IL-10, IL-12 β , IL-12R β , IL-13,

IL-18, TNF- α , TNF- β , TGF- β 1, IFN γ , STAT6 – signal transducer and activator of transcription 6, GM-CSF – granulocyte macrophage colony-stimulating factor); 6) хемокіни (CCL5 C-Cmotif ligand 5, CCL11, CCL17, CCR3 – C-Cmotif receptor 3, CCR4 – C-Cmotif receptor 4, CMA1 – Mast cell chymase 1); 7) ферменти, що відповідають за метаболізм ліків (GST – glutathione S transferase, NAT-2 – N-acetyl transferase 2); 8) інші молекули (CTLA-4 – Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4, KLK – kallikrein, RUNX1 – runt-related transcription factor1, IRF2 – interferon regulatory factor 2, FCER1B – high affinity IgE receptor beta chain, PHF11 – plant homeodomain Zink finger 11). [35]

У рамках нашої роботи необхідно сфокусуватися на ролі поліморфізму рецепторів CD14 і TLR-4 в ризику розвитку та патогенезі АД.

Ген CD14 рецептора локалізується в хромосомі 5q31.1, має 2 екзони та 3900 нуклеотидів. [38] У тих самих локусах знаходяться гени, що відповідають за синтез IgE. Вивченню C-159T поліморфізму (rs2569190) CD14 рецептора приділяють велику увагу. [215] Для цього поліморфізму характерне заміщення цитозину (С-цитозин) на тимін (Т-тимін) у 159-й позиції промоторної ділянки, що призводить до присутності в популяції гомозиготи за цитозином і тиміном (СС, ТТ), гетерозиготи цитозин-тимін (СТ). [38]

Ген TLR4 розташований у хромосомі 9q32-33. Поліморфізм Asp299Gly (rs4986790) гена TLR4 призводить до однонуклеотидної заміни аденіну (А) на гуанін (G) у положенні +896 екзона 4, що спричиняє заміщення аспарагінової кислоти на гліцин у 299-му положенні поліпептидного ланцюга рецептора. [36] При поліморфізмі Thr399Ile (399C>T, T399I, rs4986791) відбувається заміна тиміну на цитозин у ділянці 1,196 bp, що викликає заміщення ізолейцину на треонін у 399-му положенні позаклітинного домену рецептора TLR-4. [36]

У першому дослідженні з вивчення С-159Т поліморфізму було показано, що в дітей з алергією та генотипом СС рівень загального ІgЕ був достовірно вищим порівняно з ТТ. Кількість позитивних шкірних тестів була достовірно більшою в пацієнтів з генотипом СС порівняно з ТТ. [38] У популяції Нідерландів було показано, що в осіб з позитивними шкірними тестами рівень загального ІgЕ був достовірно ($p < 0,05$) вищим при СС порівняно з ТТ генотипом. [118] В Австралії було встановлено, що ризик розвитку atopії в дітей значно вищий при СС генотипі (ВШ=2,0; $P=0,04$). [149]

В українській популяції був вивчений поліморфізм гена рецептора CD14 (C159T) у 275 пацієнтів з atopічним і 56 осіб з неatopічним фенотипом бронхіальної астми. У пацієнтів з неatopічною астмою частота розподілу генотипів достовірно відрізнялася ($\chi^2=14,86$; $p=0,00012$) від atopічної. Результати дослідження показали, що протективні властивості щодо розвитку неatopічної бронхіальної астми пов'язані з переважанням алеля Т, а ймовірність захворіти на неatopічну астму – з перевагою алеля С. [4]

В іншому дослідженні було встановлено, що в пацієнтів з Т алелем спостерігається достовірно більша кількість позитивних шкірних алерготестів порівняно з С алелем. [150] Ще в одній роботі було показано, що в осіб з генотипами СТ і ТТ достовірно збільшується ризик розвитку екземи. Також у цих хворих із СТ і ТТ генотипами рівень ІgЕ був достовірно вищим порівняно з СС. [124] У китайській популяції було виявлено, що ризик розвитку atopічної астми достовірно вищий у дітей, які є носіями алеля Т. Рівень загального ІgЕ був достовірно більшим ($p < 0,05$) у дітей з генотипом ТТ порівняно з СС. [214] При вивченні асоціації астми, риніту, екземи, сенсibiliзації й ІgЕ з С159Т поліморфізмом було встановлено, що частота позитивних шкірних алерготестів у пацієнтів з генотипом СС

достовірно не відрізнялася від ТТ. [170]

При дослідженні поліморфізму Asp299Gly було виявлено, що в осіб з алелем G спостерігається важчий перебіг atopічної астми порівняно з носіями алеля А. [7] У дослідженні, що проводилося в Полтавській області, було показано, що наявність мутантного алеля G більш ніж у 4 рази збільшувала ймовірність неконтрольованого перебігу atopічної бронхіальної астми. [16]

В українській популяції поліморфізм Asp299Gly був вивчений у 275 пацієнтів з atopічним і 56 осіб з неatopічним фенотипом бронхіальної астми. У контрольній групі частота розподілу генотипів достовірно відрізнялася ($p=0,037$) від atopічної бронхіальної астми. У пацієнтів з неatopічною астмою частота розподілу генотипів достовірно не різнилася ($p=0,423$) від контролю. Результати дослідження показали, що ризик розвитку atopічної бронхіальної астми пов'язаний зі збільшенням частоти алеля G і зменшенням А (ВШ=1,634; $\chi^2=6,08$; $p=0,014$) гена TLR-4. [3] У фінській популяції не було виявлено зв'язку між поліморфізмом Asp299Gly та ризиком розвитку астми. [33]

Треба зазначити, що генетичний поліморфізм рецепторів CD14/TLR-4 у пацієнтів з atopічними захворюваннями має високу різноманітність, хоча більшість даних свідчать про зв'язок IgE з генотипами CC (C159T) CD14, AG (Asp299Gly) TLR-4, CC (Thr399Ile) TLR-4.

Відомо, що пробіотики можуть модифікувати запалення при АД, зокрема й асоційоване з дисбалансом антиендотоксिनного імунітету. [2]

1.4. Модифікація хронічного запалення під впливом місцевого та системного лікування. Роль пробіотиків

Ефективність лікування хворого на дерматит залежить від адекватності

підбраної лікарської речовини та форми препарату з урахуванням активності процесу, його глибини й індивідуальних характеристик пацієнта. При ексудативних процесах рекомендують застосовувати топічні глюкокортикоїди 2-го класу, середньої сили дії. Проте терапію АД варто починати з найслабших, переходячи на більш активні стероїдні препарати через 2-3 тижні за відсутності ефекту. Комбінація топічного глюкокортикоїду з антисептиком на гідрофільній основі забезпечує потрібний ефект препарату для лікування при запальних захворюваннях шкіри, може бути рекомендована як препарат вибору в пацієнтів з дерматитом середньої тяжкості, приєднаною вторинною інфекцією та порушеною картиною первинного захворювання за умови неефективності або недостатньої ефективності топічних глюкокортикоїдів 1-го класу активності. [11]

Відомо, що комплексне лікування АД без застосування протимікробних засобів спричиняє достовірне зменшення щільності колонізації шкіри та частоти виявлення стафілококів, стрептококів і грам-негативної паличкової флори в прилеглих до вогнища ділянок, практично не впливає на ці показники у віддалених зонах шкіри. [1]

Застосування емолієнтів у хворих на АД у період лікування є обов'язковою складовою терапії та значно впливає на регрес об'єктивних і суб'єктивних ознак захворювання. У міжрецидивний період емолієнти є основною базовою зовнішньою терапією. [23]

Системне лікування рекомендується проводити при важких, хронічних і стійких формах АД, після ретельної оцінки в спеціалізованих центрах. [144] Приблизно 10 % дорослих пацієнтів отримують системну протизапальну терапію, водночас у дітей вона використовується рідко. [206] Довготривале лікування з пероральною імуносупресивною терапією зазвичай призначають тоді, коли місцеве лікування з використанням кортикостероїдів та/або інгібіторів кальциневрину не є

успішним. Циклоспорин є найбільш широко використовуваним препаратом, що призначається як для короткочасного лікування, так і для підтримувальної терапії в дорослих і дітей. [176] Крім того, інші імуносупресивні засоби, як-от азатіоприн, мікофенолат мофетил і метотрексат, мають високу ефективність у лікуванні рецидивуючих і важких форм АД. [200] Також важливо поєднувати ці імуносупресивні методи терапії з місцевими препаратами, що дозволяє краще контролювати запалення при АД. [67]

Ультрафіолетова терапія – це ще один з альтернативних методів лікування, який слід застосовувати, коли місцева терапія не є ефективною. Вузькосмугова (NB-UVB) і середньодозова (UVA1) ультрафіолетова терапія ефективна при резистентності до топічних кортикостероїдів або коли присутні побічні ефекти системного лікування. [164]

Біологічні препарати, особливо дупілумаб, являють собою перспективну терапію для дорослих пацієнтів з АД, оскільки вони пропонують зручніші режими дозування, ніж інші системні препарати, а також мають менше побічних ефектів. [88] Уstekінумаб також має високу ефективність при залученні в патогенезі Т-хелперів 17-го, 22-го, 1-го та 2-го типів. Хоча дослідження з ефективності та безпеки цього препарату ще тривають.

Апреміласт – це новий пероральний препарат, що модулює декілька протизапальних шляхів, спрямованих на інгібування фосфодіестерази IV типу (PDE4). [32]

Слід зазначити, що нині практично відсутні препарати для лікування АД, що можуть модифікувати хронічне запалення або активувати природні супресорні імунні механізми, зокрема шляхом активації регуляторних Т-лімфоцитів. Хоча саме пробіотики можуть мати такі властивості.

Пробіотики є живими мікроорганізмами, що можуть приносити користь

для здоров'я при введенні в адекватних дозах. [158] Найчастіше використовуються *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Pronionibacterium* і деякі дріжджі, як-от *Saccharomyces boulardii*. Їхня користь доведена при лікуванні діареї після приймання антибіотиків, синдрому подразненого кишечника, запального захворювання кишечника. [167]

Пребіотики – це інгредієнти або речовини, що можуть сприяти росту певних бактерій у кишечнику. Вважається, що препарат повинен мати три основних риси. По-перше, він має протистояти розщепленню ферментами шлунково-кишкового тракту; по-друге, повинен бути ферментованим мікробіотою кишечника; по-третє, повинен мати можливість селективно стимулювати ріст та/або активність кишкових бактерій з доведеними позитивними властивостями. [86] Пребіотики зазвичай орієнтовані на підвищення активності лактобацил і біфідобактерій. [180]

Багато досліджень описують тісний зв'язок між мікроорганізмами кишечника та розвитком АД. [107] Було показано, що кількість біфідобактерій була значно нижчою у пацієнтів з АД, ніж у здорових людей.

У шведсько-естонському дослідженні при порівнянні алергічних (позитивні шкірні прік-тести на харчові антигени) та неалергічних дітей було виявлене зниження кількості лактобацил і біфідобактерій, збільшення чисельності *Staphylococcus aureus* і ентеробактерій в алергічній групі. [49] Також було показано, що відмінності в мікробному складі кишечника передують розвитку алергічних захворювань, що свідчить про порушення мікробіоти кишечника як одну з причин виникнення АД. Вплив мікроорганізмів під час вагітності може бути важливим фактором для запобігання розвитку алергії в дітей. [48,74,105]

Вживання пробіотиків вагітними може знижувати ризик розвитку АД. 415 вагітних жінок були рандомізовані для приймання комбінації *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG), *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* Bb-

12 (Bb-12), *Lactobacillus acidophilus* La-5 (La-5) або плацебо. Діти цих жінок були оцінені щодо ризику розвитку АД впродовж перших 2 років життя. Крім цього, периферична кров, зібрана в дітей у віці 3 місяців, була проаналізована на вміст регуляторних Т-клітин (n=140) і Т-хелперів 1-го, 2-го, 9-го, 17-го, 22-го типів. Результати дослідження показали, що вміст Тх-22 клітин у дітей, матері яких приймали пробіотики, зменшився порівняно з групою плацебо. Різниця між групами пробіотиків і плацебо також спостерігалася в дітей, в яких АД не розвинувся протягом 2-річного спостереження. [162]

Крім імунної модуляції, пробіотики диференційовано співвідносяться з наявністю довголанцюгових насичених жирних кислот і коротколанцюгових жирних кислот. [68,79] Останні можуть стимулювати toll-подібні рецептори 4-го типу або модулювати функцію регуляторних Т-клітин. [121,181]

На мишачій моделі АД було показано, що міграція Т-регуляторних клітин у місця ураження знижувала активність запалення. [119] Зменшення регуляторних Т-лімфоцитів у крові характерне для пацієнтів із загостренням АД порівняно з контролем. Треба зазначити, що в цьому дослідженні рівні ІФ- γ , загального ІgЕ й еозинофілів у контрольній і дослідній групах не відрізнялися. [104,156]

Штам BB-12 *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* має нерегулярну паличкоподібну форму й є однією з найпоширеніших бактерій, що входять до складу пробіотиків. [106] У пацієнтів, які споживали йогуртовий коктейль з BB-12, спостерігалася достовірне ($p=0,0186$) зниження рівня експресії TLR-2 на CD14+HLA-DR+клітинах і зменшення секреції ФНП- α , зокрема ЛПС-стимульованого, порівняно з даними до початку прийому. [137]

Дослідниками з Японії було показано, що щоденне споживання

цитрусового соку, що містить *Lactobacillus plantarum* YIT 0132, зменшує симптоми в пацієнтів з легким і середнім ступенями тяжкості АД. Ба більше, вміст у крові катіонного білка еозинофілу, загального IgE, специфічного IgE до японського кедрра та кипариса достовірно знижувався після курсу лікування. [97]

Дисфункція шкірного бар'єра є одним з основних факторів, що обумовлюють розвиток АД. Використання штаму *Lactobacillus paracasei* в експерименті *ex vivo* показало, що лактобацили здатні посилювати відновлення порушеної бар'єрної функції. [90] Було досліджено, що лізати *Bifidobacterium longum* можуть знижувати реактивність і запалення шкіри. [89]

Цікаві результати були отримані науковцями з Німеччини. В їхньому дослідженні був вивчений вплив косметичного лосьйону, що містить *Lactobacillus sjohnsonii* NCC 533 (HT La1), при колонізації шкіри *Staphylococcus aureus* у пацієнтів з АД. Після застосування цього лосьйону впродовж 3 тижнів спостерігалось зменшення колонізації шкіри *S. Aureus* та індексу SCORAD. Високі вихідні концентрації *S. Aureus* були пов'язаними з хорошими реакціями на лосьйон. [50]

У метааналізі, проведеному S.O. Kim і співавт. [115], було показано, що призначення пробіотиків призводить до достовірного зниження індексу SCORAD у дітей від 1 до 18 років і дорослих. Ще в одному дослідженні було зафіксоване покращення індексу SCORAD при зменшенні рівнів IgE, ФНП- α та збільшенні концентрацій ІФ- γ , TGF- β у групі пробіотиків. [202] У дослідженні Y. Yoshida та співавт. [212] призначення штаму YU *Bifidobacterium breve* дорослим з АД протягом 8 тижнів також призводило до достовірного зниження індексу SCORAD. Антибіотики широкого спектра, що застосовуються як під час вагітності, так і в дитинстві, значно підвищують ризик розвитку АД, можливо, через модифікацію мікрофлори

кишечника, що також пояснює, чому пробіотики можуть мати профілактичний вплив на розвиток АД. [52,77]

Аналізуючи огляд літератури, можна зробити висновок, що стимуляція імунної відповіді ендотоксином грам-негативних бактерій через активацію рецепторного комплексу CD14/TLR4 має різні ефекти, що залежать від клінічного, імунологічного та генетичного поліморфізму АД.

Ендотоксин у період вагітності та в ранньому віці має протекторні властивості щодо розвитку АД шляхом активації регуляторних Т-лімфоцитів і Т-хелперів 1-го типу. У пацієнтів, у яких уже розвинувся АД, ендотоксин стимулює активацію Т-хелперів 1-го, 17-го та 22-го типів. Крім того, при сенсibiliзації до алергенів кліщів домашнього пилу можлива стимуляція рецептора CD14/TLR4 антигеном Der p2.

На генетичному рівні доведений зв'язок атопії з приналежністю до генотипів CC (C159T) CD14, AG (Asp299Gly) TLR-4 та CC (Thr399Ile) TLR-4.

Пробіотики стимулюють регуляторні Т-лімфоцити, збільшують синтез ІФ- γ та TGF- β , інгібують функцію Т-хелперів 2-го типу, знижують секрецію ФНП- α й еозинофільного катіонного білка, концентрацію загального та специфічних IgE, колонізацію шкіри *Staphylococcus aureus*, відновлюють бар'єрну функцію шкіри.

Попри велику кількість досліджень, проведених у даній галузі, залишаються питання, на які треба дати відповідь.

У літературі відсутня інформація щодо дослідження поліморфізму генів CD14 і TLR-4 при АД в українській популяції, що може мати важливе практичне значення для прогнозу ризику розвитку хвороби.

Немає даних про інтеграцію клінічних та імунологічних параметрів з урахуванням поліморфізму генів рецептора CD14/TLR4 при АД.

Не вивчена ефективність пробіотиків у хворих на АД з

урахуванням імунологічних і генетичних особливостей ендотоксин-залежного запалення.

Розв'язанню цих питань і присвячена дана робота.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Протокол і дизайн дослідження, характеристика основних етапів

У дослідження були включені 96 дорослих хворих на АД. Групу контролю склали 90 здорових учасників. Для діагностики АД використовували критерії Hanifin and Rajka [95] відповідно до протоколу, затвердженого наказом МОЗ України № 85 від 11.02.2016 р. “Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої), третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги “атопічний дерматит”. [30]

Робота складалася з 3 основних етапів.

1-й етап включав крос-секційне дослідження з аналізом клінічних (вік, стать, критерії тяжкості й якості життя, вікові характеристики початку розвитку АД, параметри спадковості, супутні захворювання, частота загострень залежно від сезону, під впливом тригерних факторів, супутніх алергічних захворювань, сенсibilізації до основних алергенів за даними алергоанамнезу), інструментальних (виявлення сенсibilізації до основних мікст-алергенів і харчових продуктів за даними шкірних прик-тестів), імунологічних (визначення вмісту фактора некрозу пухлин α (ФНП- α), ІЛ-2, γ -ІФ, ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-10, ТФР- β в периферичній крові) показників.

Встановлення тяжкості захворювання проводилося з використанням шкали SCORAD. [171] Якість життя пацієнтів оцінювалася за допомогою анкети ДІЯЖ/DLQI (дерматологічний індекс якості життя/Dermatology Life Quality Index). [80]

Усі пацієнти з АД залежно від рівня загального IgE та позитивності хоча б до одного алергену за результатами шкірних прик-тестів були розділені на 2 основні групи: екзогенний або IgE-залежний АД (рівень загального IgE більше

100 МО/мл), ендогенний або IgE-незалежний АД (рівень загального IgE менше 100 МО/мл).

На 2-му етапі роботи було проведене вивчення асоціації поліморфізму генів рецепторів ендотоксину (C-159-CD14, A-896G-TLR-4, 1196 C>T-TLR-4) з визначенням показників цитокинового профілю (ФНП- α , ІЛ-2, γ -ІФ, ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-10, ТФР- β) в загальній сукупності досліджуваних і залежно від розподілу на IgE-залежний та IgE-незалежний фенотипи АД.

На 3-му етапі здійснювалося відкрите, контрольоване, рандомізоване, в 6 паралельних групах клінічне дослідження протягом 28 днів з включенням 37 хворих на АД.

Критерії включення були наступними: дорослі чоловіки та жінки (≥ 18 років), наявність письмової інформованої згоди, отриманої від пацієнта до будь-яких процедур, пов'язаних з дослідженням, документально встановлений діагноз АД за 3 місяці до скринінгового візиту, загострення АД легкого ступеня тяжкості, що потребувало призначення місцевого лікування, пацієнти, які належали до раніше встановлених генотипів СС (C-159T-CD14) і ТТ (C-159T-CD14), хворі, які приймали топічні кортикостероїди як монотерапію за 2 тижні до скринінгу.

Критерії виключення були такими: вагітні або жінки-годувальниці, госпіталізація через загострення АД за 2 місяці до скринінгового візиту, інфекційне захворювання за 2 місяці до скринінгового візиту, пацієнти, які отримували оральні або парентеральні кортикостероїди чи інші системні імунодепресанти за 2 місяці до скринінгу, непереносність або протипоказання до лікування топічними кортикостероїдами, пробіотиками, емоліентами, або алергія на будь-який компонент досліджуваного лікування, наявність клінічно значущих кардіологічних, ниркових, неврологічних, печінкових, ендокринних захворювань.

Дизайн дослідження. Для вивчення впливу пробіотика (*Lactobacillus*

acidophilus – не менше 1×10^9 КУО, Bifidobacterium animalis subsp. lactis – не менше 1×10^9 КУО) на тяжкість хвороби, якість життя й імунні параметри з урахуванням генотипів СС і СТ усі пацієнти були розділені на 3 групи для IgE-залежного й IgE-незалежного АД. До першої групи були відібрані хворі з генотипом СС (С-159Т), які отримували стандартну терапію (мазь флютиказону пропіонат 0,005 % 2 рази на добу, емолієнт 2 рази на добу) та пробіотик (Lactobacillus acidophilus – не менше 1×10^9 КУО, Bifidobacterium animalis subsp. lactis – не менше 1×10^9 КУО 1 капсула 2 рази на добу). До другої групи увійшли пацієнти з генотипом СС, які одержували тільки стандартну терапію. Третя група була представлена хворими з генотипом ТТ (С-159Т), які отримували стандартну терапію та пробіотик. Індекси SCORAD і DLQI оцінювали в момент рандомізації (день 0), на 14-й і 28-й дні. Цитокіни ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-10, ТФР- β визначали в день рандомізації та 28-й день.

У всіх пацієнтів і волонтерів була отримана добровільна письмова згода на участь у науковому дослідженні, на яку існує дозвіл комісії з біоетики Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика.

2.2. Методи визначення тяжкості й якості життя у хворих на atopічний дерматит

Для оцінки тяжкості захворювання використовували шкалу SCORAD (Scoring of atopic dermatitis). [171] Робота з оцінною шкалою включала чотири етапи. I – оцінка симптомів. Були виділені 6 симптомів: еритема, набряк (папула), мокнуття (кірки), екскоріації, ліхеніфікація, сухість. Кожен з них оцінювався від 0 до 3 балів (0 – відсутність, 1 – легкий, 2 – середній, 3 – високий ступінь вираженості ознаки) відповідно до рекомендованих фотографій. Оцінки виставлялися в спеціальній таблиці, на їхній основі визначався загальний індекс SCORAD. II етап – розрахунок площі ураження шкіри. Вона оцінювалася за

правилом “дев’яток” і відображалася на оцінному аркуші. III етап – оцінка суб’єктивних ознак. Визначалися свербіж, порушення сну за 10-бальною шкалою за середніми цифрами протягом останніх 3 діб. IV етап – розрахунок величини індексу SCORAD за наступною формулою:

$$\text{SCORAD} = A/5 + 7 * B/2 + C,$$

де А – площа ураженої шкіри, виражена у %;

В – сума балів об’єктивних ознак;

С – сума балів суб’єктивних ознак.

Дерматологічний індекс якості життя/Dermatology Life Quality Index (ДІЯЖ/DLQI) є опитувальником, за допомогою якого пацієнт визначає, наскільки проблеми зі шкірою зачіпають якість його життя за останні 7 днів. [80] Анкета складається з 10 питань. Кожне запитання має 4 варіанти відповідей: “дуже сильно” – 3 бали, “сильно” – 2 бали, “трохи” – 1 бал, “зовсім немає” – 0 балів. ДІЯЖ розраховується шляхом підсумовування балів кожного питання, в результаті максимальний результат складає 30 балів, мінімальний – 0. Чим вища оцінка (кількість балів), тим гірша якість життя. Кількість балів 0-1 інтерпретується як та, що не впливає на життя пацієнта, 2-5 чинить незначний ефект, 6-10 – помірний, 11-20 – дуже сильний, 21-30 – надзвичайно сильний.

2.3. Методика проведення алергопроб

Шкірне тестування було проведене під час ремісії захворювання. Постановку й оцінку проб виконували відповідно до наказу МОЗ та НАМН України № 127/18 від 02.04.2002 р. Шкірні проби методом прик-тесту проводили з використанням мікстів (№ 1 – пилок дерев (береза, вільха клейка, ліщина звичайна, дуб); № 2 – лучні трави (грястиця збірна, тонконіг

лучний, пажитниця багаторічна, костриця лучна, китник лучний); № 3 – злакові (стоколос прямий, пирій повзучий, жито посівне, тимофіївка лучна); № 4 – бур'яни (полин, амброзія, лобода, соняшник); № 5 – побутові алергени (домашній пил, збагачений *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Acarus siro* та пір'я подушок)); алергену з коров'ячого молока, білка та жовтка курячих яєць, яловичини, свинини, сьомги, лосося, пшеничного борошна, томатів, апельсину, мандарину, арахісу, волоського горіха та фундука.

Контрольні проби були виконані з тест-контрольною рідиною (негативний контроль) і розчином гістаміну 0,01 % (позитивний контроль). Для проведення шкірних прик-тестів використовували алергени виробництва “Імунолог” (Вінниця).

2.4. Методи визначення вмісту цитокінів і загального імуноглобуліну Е

Вміст цитокінів і загального IgE в периферичній крові досліджували імуноферментним методом з використанням реактивів виробництва Вектор-Бест. Оптичну щільність встановлювали на аналізаторі “STAT FAX 303 PLUS” (США). Концентрацію цитокінів визначали в пг/мл, IgE – МО/мл.

2.5. Методи визначення поліморфізму генів CD 14 і TLR-4

Для аналізу поліморфізму генів рецепторів CD14 (C-159T, rs2569190) і TLR-4 (A-896G, Asp299Gly, rs4986790; 1196 C>T, Thr399Ile, rs 4986791) був використаний метод алель-специфічної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з електрофоретичною детекцією.

Виділення дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК) здійснювалося з

цільної крові пацієнтів з АД і здорових волонтерів за допомогою набору “ДНК-експрес кров” (“Літех”, РФ) згідно з інструкцією виробника.

Постановка алель-специфічної ПЛР виконувалася за допомогою наборів “Мутація антигену диференціювання моноцитів C-159T”, “Мутація Толл-подібного рецептора-4 Asp299Gly, rs4986790”, “Мутація Толл-подібного рецептора 4 Thr399Ile, rs 4986791” (“Літех”, РФ) відповідно до інструкції виробника.

Детекція продуктів ампліфікації здійснювалася після поділу методом горизонтального електрофорезу за допомогою набору “Комплект № 2 (3 %) для електрофоретичної детекції” (“Літех”, РФ). Фореграма фіксувалася цифровою камерою Samsung.

2.6. Методи статистичного аналізу

Статистична обробка результатів проводилася за допомогою програми “Minitab 16”. Для перевірки розподілу на нормальність використовували тест Колмогорова-Смірнова, порівняння центральних тенденцій двох незалежних вибірок – U-критерій Манна-Уїтні, середніх двох незалежних вибірок – критерій Стьюдента. Кількісні змінні були представлені у вигляді середніх значень (\bar{X}) і середньоквадратичних відхилень (SD) або 95 % довірчим інтервалом для параметричних методів, медіани (Me) з 1-м (Q1) і 3-м (Q3) квантилями або 95 % довірчим інтервалом для непараметричних. Множинне порівняння проводилося за допомогою критеріїв Краскела-Уолліса, ANOVA з поправкою Банфероні та Шеффе. Достовірність відмінностей між IgE-залежним та IgE-незалежним АД обчислювалася з використанням тесту χ^2 у таблиці спряженості.

Розподіл генотипів відповідно до закону Харді-Вайнберга, визначення різниці частот генотипів, алелів контролю та хворих на АД проводилися з

застосуванням логістичної регресії за допомогою online-програми (<http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>).

РОЗДІЛ 3

КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ДОСЛІДЖУВАНИХ ГРУП

3.1. Загальноклінічні й анамнестичні параметри у хворих на atopічний дерматит

Вивчення клінічних, алергологічних, імунологічних і генетичних параметрів, за допомогою яких можна диференціювати IgE-залежну форму АД від IgE-незалежної, має дуже важливе значення для прогнозу та лікування цього захворювання.

У рамках проведеної роботи всі пацієнти з АД залежно від результатів визначення загального IgE та присутності позитивних шкірних алерготестів були розділені на 2 основних групи: екзогенний або IgE-залежний АД, ендогенний або IgE-незалежний АД. Рівень загального IgE в контрольній і дослідних групах представлений на рис. 3.1.

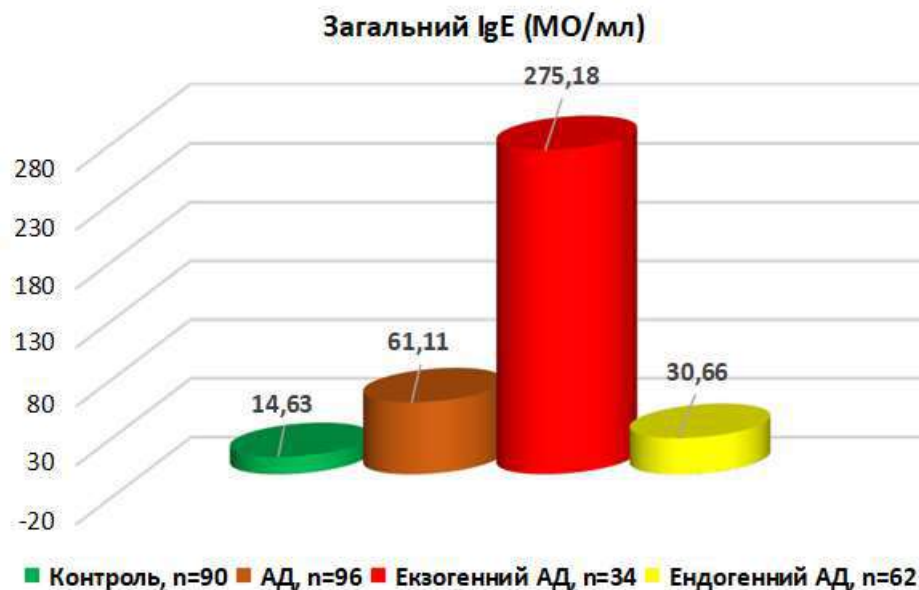


Рис. 3.1. Рівень імуноглобуліну E в досліджуваних групах.

Вміст загального IgE в контрольній групі (Me – 14,63; 95 % ДІ 11,94-

17,70) був достовірно меншим ($P < 0,001$) порівняно з загальною (Me – 61,11; 95 % ДІ 39,05-88,33) і при розподілі на IgE-залежний (Me – 275,18; 95 % ДІ 217,27-340,73) та IgE-незалежний (Me – 30,66; 95 % ДІ 26,78-39,12) АД. Треба зазначити, що Me рівня в загальній групі була нижчою за верхню границю референтних значень для цього показника (менше 100 МО). Отримані результати, очевидно, були пов'язаними з віком пацієнтів. Вік і стать хворих представлені в табл. 3.1.

Таблиця 3.1

Вік і стать у досліджуваних групах

Показники	Групи				P
	контроль (n=90)	АД (n=96)	IgE-залежний АД (n=34)	IgE-незалежний АД (n=62)	
Вік, роки	26,50	26,00	23,00*	27,00*	P (К- У)=0,059
Me (95 % ДІ)	(24,00-29,77)	(24,00-28,08)	(20,83-27,35)	(25,00-35,00)	
Стать, Ж/Ч,	53 (59)	57 (59)	19 (56)	38 (61)	$\chi^2=0,272$ P=0,965
n (%)	37 (41)	39 (41)	15 (44)	24 (39)	

Примітка. * – достовірність відмінностей ($p=0,028$) між групами.

При множинному порівнянні вік у досліджуваних групах достовірно не відрізнявся ($P=0,059$), хоча в пацієнтів з IgE-незалежним АД він був достовірно більшим ($p=0,028$) порівняно з IgE-залежним. Контрольна та дослідні групи достовірно не різнилися ($P=0,965$) за гендерним показником (співвідношення жінок до чоловіків). Кількість жінок (59 %) у контрольній і дослідних групах була більшою, ніж чоловіків (41 %).

Отже, для IgE-залежного, на відміну від IgE-незалежного, АД характерним був молодший вік пацієнтів, що пояснювалося превалюванням IgE-залежних реакцій у такому віковому періоді.

Наступним етапом дослідження став аналіз показників тяжкості захворювання, якості життя та тривалості АД (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Тяжкість та якість життя хворих на atopічний дерматит

Показники	Групи			P
	АД (n=96)	IgE-залежний АД (n=34)	IgE-незалежний АД (n=62)	
Індекс SCORAD, бали ($\bar{X} \pm SD$)	14,56±8,38	13,41±6,88	15,19±9,08	P(B)=0,609
Тривалість хвороби, роки ($\bar{X} \pm SD$)	16,78±7,95	17,88±7,04	16,18±8,40	P(B)=0,605
Кількість загострень за останній рік (Me)	3	3	3	P (K-Y)=0,987
Індекс DLQI, бали Me (95 % ДІ)	9,00 (7,92-10,08)	9,00 (7,00-12,00)	8,50 (7,00-11,00)	P (K-Y)=0,858

Як видно з отриманих результатів, тривалість захворювання для всіх досліджуваних груп у середньому становила понад 16 років. Тяжкість захворювання за індексом SCORAD у середньому складала більше 13 балів, що відповідало легкому ступеню тяжкості АД. Медіана кількості загострень для всіх груп становила 3 з коливанням від 1 до 6 за останній рік. Значення індексу DLQI повторювали основні закономірності, що були отримані для індексу SCORAD. Треба зазначити, що за даними критеріями не було встановлено достовірних відмінностей між IgE-залежним та Ig-незалежним АД.

Важливим фактором, що може впливати на розвиток IgE-залежного або

Ig-незалежного АД, є початок розвитку захворювання. Стратифікація пацієнтів залежно від віку початку АД представлена в табл. 3.3.

Таблиця 3.3

Вікові характеристики початку розвитку atopічного дерматиту

Початок захворювання	Групи			P
	АД (n=96)	IgE-залежний АД (n=34)	IgE-незалежний АД (n=62)	
3 міс. – 2 роки, n (%)	36 (37,5)	17 (50,0)	19 (30,6)	$\chi^2=2,732$ P=0,098
2-6 років, n (%)	8 (8,3)	4 (11,8)	4 (6,5)	$\chi^2=0,265$ P=0,607
7-11 років, n (%)	8 (8,3)	3 (8,8)	5 (8,1)	$\chi^2=0,066$ P=0,797
12-18 років, n (%)	11 (11,5)	4 (11,8)	7 (11,3)	$\chi^2=0,070$ P=0,791
Старше 19 років, n (%)	33 (34,4)	6 (17,6)	27 (43,5)	$\chi^2=13,513$ P<0,001

Представлені результати вказують на те, що найчастіше АД розвивався у віці від 3 місяців до 2 років (37,5 %) і після 19 років (34,4 %).

Найменший відсоток (8,3 %) був зафіксований для категорій 2-6 і 7-11 років. Середня частота АД була характерною для пацієнтів 12-18 (11,5 %) і 19-30 (14,6 %) років.

При порівнянні цих даних між IgE-залежним та IgE-незалежним АД була виявлена тенденція (P=0,098) до превалювання дуже раннього початку (3-2 роки) для осіб з IgE-залежним патогенезом. Достовірні відмінності (P<0,001) були отримані тільки для групи старше 19 років: початок захворювання був

zareєстрований у 43,5 % пацієнтів з IgE-незалежною формою, 17,6 % – IgE-залежною.

Такі результати, очевидно, були пов'язаними зі спадковістю АД як за материнською лінією, так і за батьківською. Результати оцінки спадковості АД представлені в табл. 3.4.

Таблиця 3.4

Параметри спадковості у хворих на atopічний дерматит

Показники	Групи			P
	АД (n=96)	IgE-залежний АД (n=34)	IgE-незалежний АД (n=62)	
Кількість осіб зі встановленою спадковістю, n (%)	39 (40,6)	16 (47,1)	23 (37,1)	$\chi^2=0,538$ P=0,463
АД у матері, n (%)	5 (5,2)	3 (8,8)	2 (3,2)	$\chi^2=0,490$ P=0,484
Атопічні захворювання за материнською лінією, n (%)	12 (12,5)	3 (8,8)	7 (11,3)	$\chi^2=0,026$ P=0,872
АД у батька, n (%)	5 (5,2)	2 (5,9)	3 (4,8)	$\chi^2=0,068$ P=0,795
Атопічні захворювання за батьківською лінією, n (%)	11 (11,5)	6 (17,6)	5 (8,1)	$\chi^2=1,155$ P=0,283
АД у брата/сестри, n (%)	10 (10,4)	4 (11,8)	6 (9,7)	$\chi^2=0,001$ P=0,977
Атопічні захворювання в брата/сестри, n (%)	12 (12,5)	5 (14,7)	7 (11,3)	$\chi^2=0,026$ P=0,872

Показники	Групи			P
	АД (n=96)	IgE-залежний АД (n=34)	IgE-незалежний АД (n=62)	
Більше 2-х ознак спадковості, n (%)	10 (10,4)	5 (14,7)	5 (8,1)	$\chi^2=0,448$ P=0,503

Спадковість АД в загальній групі дослідження складала 40,6 %. Частота виявлення АД в матері та батька була однаковою та становила 5,2 %. Атопічні захворювання за материнською лінією були на рівні 12,5 %, батьківською – 11,5 %. Відсоток АД в брата/сестри складав 10,4 %, атопічних захворювань – 12,5 %. Більше двох ознак спадковості мали 10,4 % пацієнтів.

При IgE-залежному АД порівняно з IgE-незалежним відсоток осіб з АД у матері, атопічними захворюваннями за материнською та батьківською лініями був більшим, хоча різниця була недостовірною.

Наступним етапом роботи став аналіз супутньої патології у хворих на АД. Супутні захворювання, що асоційовані з хронічним запаленням, представлені в табл. 3.5.

Таблиця 3.5

Супутні захворювання в пацієнтів з атопічним дерматитом

Показники	Групи			P
	АД (n=96)	IgE-залежний АД (n=34)	IgE-незалежний АД (n=62)	
Ішемічна хвороба серця, n (%)	11 (11,5)	3 (8,8)	8 (12,9)	$\chi^2=0,538$ P=0,463
Гіпертонічна хвороба, n (%)	22 (22,9)	7 (20,6)	15 (24,2)	$\chi^2=0,490$ P=0,484

Показники	Групи			P
	АД (n=96)	IgE-залежний АД (n=34)	IgE-незалежний АД (n=62)	
Хронічні запальні захворювання шлунково-кишкового тракту, n (%)	16 (16,7)	6 (17,6)	10 (16,1)	$\chi^2=0,026$ P=0,872
Хронічні запальні захворювання сечостатевої системи, n (%)	16 (16,7)	5 (14,7)	11 (17,7)	$\chi^2=0,026$ P=0,872

У пацієнтів з АД найчастішою супутньою патологією була гіпертонічна хвороба (22,9 %). Хронічні запальні захворювання шлунково-кишкового тракту та сечостатевої системи були виявлені в 16,7 % випадків, ішемічна хвороба серця – 11,5 %. При порівнянні цих параметрів між IgE-залежним та IgE-незалежним АД достовірних відмінностей встановлено не було.

Застосування як місцевої, так і системної терапії АД має свої особливості при різних фенотипах хвороби. Анамнестичні дані щодо використання пацієнтами препаратів за останній рік представлені в табл. 3.6, 3.7.

Як видно з отриманих результатів, більшість хворих приймали емолієнти (64,6 %), антигістамінні препарати (72,9 %) і топічні глюкокортикостероїди (21,9 %). Незначна кількість пацієнтів вживали комбінацію глюкокортикостероїдів з антибіотиками (9,4 %), антисептиками (7,3 %), протигрибковими (10,4 %), комбінацію протигрибкових+антибактеріальних препаратів (8,3 %). Топічні інгібітори кальциневрину призначалися в 7,3 % випадків.

Препарати місцевої дії при атопічному дерматиті

Показники	Групи			P
	АД (n=96)	IgE- залежний АД (n=34)	IgE- незалежний АД (n=62)	
Емолієнти, n (%)	62 (64,6)	21 (61,8)	41 (66,1)	$\chi^2=0,042$ P=0,838
Антигістамінні препарати, n (%)	70 (72,9)	22 (64,7)	48 (77,4)	$\chi^2=1,211$ P=0,271
Топічні глюкокортикостероїди, n (%)	21 (21,9)	8 (23,5)	13 (20,9)	$\chi^2=0,001$ P=0,974
Топічні глюкокортикостероїди +антибіотики, n (%)	9 (9,4)	2 (5,9)	7 (11,3)	$\chi^2=0,253$ P=0,615
Топічні глюкокортикостероїди +антисептики, n (%)	7 (7,3)	2 (5,9)	5 (8,1)	$\chi^2=0,001$ P=0,986
Топічні глюкокортикостероїди +протигрибкові, n (%)	10 (10,4)	2 (5,9)	8 (12,9)	$\chi^2=0,530$ P=0,467
Топічні глюкокортикостероїди +протигрибкові +антибактеріальні, n (%)	8 (8,3)	2 (5,9)	6 (9,7)	$\chi^2=0,066$ P=0,797
Топічні інгібітори кальциневрину, n (%)	7 (7,3)	3 (8,8)	4 (6,4)	$\chi^2=0,001$ P=0,986

Системна терапія (табл. 3.7) призначалася в незначній кількості. Фототерапію отримували 7,3 % осіб, алерген-специфічну імунотерапію – 1 %, системні глюкокортикостероїди – 6,3 %, цитостатики – 6,3 %, моноклональні

антитіла – 1 %.

Не було встановлено достовірної відмінності щодо призначення препаратів місцевої і системної дії між IgE-залежним та IgE-незалежним АД.

Таблиця 3.7

Препарати системної дії при atopічному дерматиті

Препарати	Групи			P
	АД (n=96)	IgE-залежний АД (n=34)	IgE-незалежний АД (n=62)	
Фототерапія, n (%)	7 (7,3)	3 (8,8)	4 (6,5)	$\chi^2=0,001$ P=0,986
Алерген-специфічна імунотерапія, n (%)	1 (1,0)	1 (2,9)	0 (0)	$\chi^2=0,094$ P=0,759
Системні глюкокортикостероїди, n (%)	6 (6,3)	2 (5,9)	4 (6,5)	$\chi^2=0,109$ P=0,741
Цитостатики, n (%)	6 (6,3)	2 (5,9)	4 (6,5)	$\chi^2=0,109$ P=0,741
Моноклональні антитіла, n (%)	1 (1,0)	0 (0)	1 (1,6)	$\chi^2=0,094$ P=0,759

Отже, проведений аналіз показав, що основними загальноклінічними критеріями, що можуть додатково розмежувати IgE-залежний та IgE-незалежний АД, є вік пацієнтів і початок розвитку захворювання. Для IgE-незалежного, на відміну від IgE-залежного, АД характерними є біль, пізніші вік пацієнтів і початок розвитку хвороби.

Наступним етапом роботи став аналіз алергоанамнезу та сенсibiliзації до основних алергенів у хворих на АД.

3.2. Алергічний анамнез та алергодіагностика у хворих на атопічний дерматит

У проведеній роботі для ідентифікації ІgЕ-залежного АД використовувалися методи дослідження, що ґрунтуються на патогенезі гіперчутливості негайного типу. ІgЕ-незалежний АД може асоціюватися з II (цитотоксичний тип), III (імунокомплексний тип), а іноді IV (гіперчутливість сповільненого типу) типами алергічних реакцій. Одні й ті самі алергени можуть активувати різні типи алергічних реакцій. При вивченні алергоанамнезу необхідно враховувати такі особливості патогенезу АД.

Пора року значно впливає на частоту загострень при АД. Анамнестичні дані щодо частоти загострень залежно від сезону за останній рік від моменту обстеження представлені в табл. 3.8.

Таблиця 3.8

Частота загострень атопічного дерматиту залежно від сезону

Показники	Групи			P
	АД (n=96)	ІgЕ-залежний АД (n=34)	ІgЕ-незалежний АД (n=62)	
Зима, n (%)	58 (60,4)	15 (44,1)	43 (69,4)	$\chi^2=4,840$ P=0,028
Весна, n (%)	31 (32,3)	20 (58,8)	11 (17,7)	$\chi^2=15,123$ P<0,001
Літо, n (%)	26 (27,1)	20 (58,8)	6 (9,7)	$\chi^2=24,425$ P<0,001
Осінь, n (%)	52 (54,2)	19 (55,9)	33 (53,2)	$\chi^2=0,001$ P=0,972

У загальній групі пацієнтів загострення найчастіше спостерігалися взимку (60,4 %) та восени (54,2 %). Частота загострень для весни (32,3 %) та літа (27,1 %) була помірною. Для IgE-незалежного АД, на відміну від IgE-залежного, характерним було достовірне ($P=0,028$) збільшення частоти загострень (69,4 %) у зимовий період. Зі свого боку при аналогічному порівнянні було встановлено, що частота загострень (58,8 %) навесні та влітку при IgE-залежному АД була достовірно більшою ($P<0,001$). Для осіннього періоду при такому порівнянні достовірних відмінностей встановлено не було ($P=0,972$).

Тригерні фактори відіграють важливу роль у загостренні АД. Дані щодо них представлені в табл. 3.9.

Таблиця 3.9

Тригерні фактори при атопічному дерматиті

Показники	Групи			P
	АД (n=96)	IgE-залежний АД (n=34)	IgE-незалежний АД (n=62)	
Аероалергени, n (%)	28 (29,2)	23 (67,6)	5 (8,1)	$\chi^2=34,903$ $P<0,001$
Домашній пил, n (%)	26 (27,1)	22 (64,7)	4 (6,5)	$\chi^2=34,841$ $P<0,001$
Кіт, n (%)	15 (15,6)	11 (32,4)	4 (6,5)	$\chi^2=9,296$ $P=0,002$
Собака, n (%)	17 (17,7)	12 (35,3)	5 (8,1)	$\chi^2=9,382$ $P=0,002$
Цвілеві гриби, n (%)	19 (19,8)	10 (29,4)	9 (14,5)	$\chi^2=2,203$ $P=0,138$
Харчові алергени, n (%)	29 (30,2)	22 (64,7)	7 (11,3)	$\chi^2=27,237$ $P<0,001$

Показники	Групи			P
	АД (n=96)	IgE-залежний АД (n=34)	IgE-незалежний АД (n=62)	
Лікарські препарати, n (%)	21 (21,9)	15 (44,1)	6 (9,7)	$\chi^2=13,292$ P<0,001
Побутові алергени, n (%)	18 (18,8)	8 (23,5)	10 (16,1)	$\chi^2=0,378$ P=0,539

Основними факторами, що призводили до виникнення загострення в загальній групі, були харчові алергени (30,2 %), аероалергени (29,2 %), домашній пил (27,1 %). Тригерні фактори, як-от лікарські препарати (21,9 %), цвілеві гриби (19,8 %), побутові алергени (18,8 %), викликали загострення рідше. Найрідше до загострення призводили алергени домашніх тварин (собака (17,7 %), кіт (15,6 %)).

Частота загострень для IgE-залежного АД порівняно з IgE-незалежним була достовірно більшою для аероалергенів, домашнього пилу, харчових алергенів, лікарських препаратів та алергенів домашніх тварин (собака, кіт). Для побутових алергенів (p=0,539) і цвілевих грибів (p=0,138) достовірних відмінностей у кількості загострень при такому порівнянні виявлено не було.

За даними анамнезу (табл. 3.10) у загальній групі найчастішими супутніми алергічними захворюваннями при АД були кропив'янка (16,7 %) і сезонний алергічний риніт (13,5 %). Рідше зустрічалися цілорічний алергічний риніт (6,3 %) і бронхіальна астма (3,1 %). У пацієнтів з IgE-незалежним АД бронхіальної астми, цілорічного та сезонного алергічного риніту в анамнезі не було. Зі свого боку у хворих на IgE-залежну форму АД основними супутніми алергічними патологіями були сезонний алергічний риніт і кропив'янка. В 11,3 % пацієнтів з IgE-незалежним АД в анамнезі була ідентифікована

кропив'янка, що не пов'язана з розвитком гіперчутливості негайного типу.

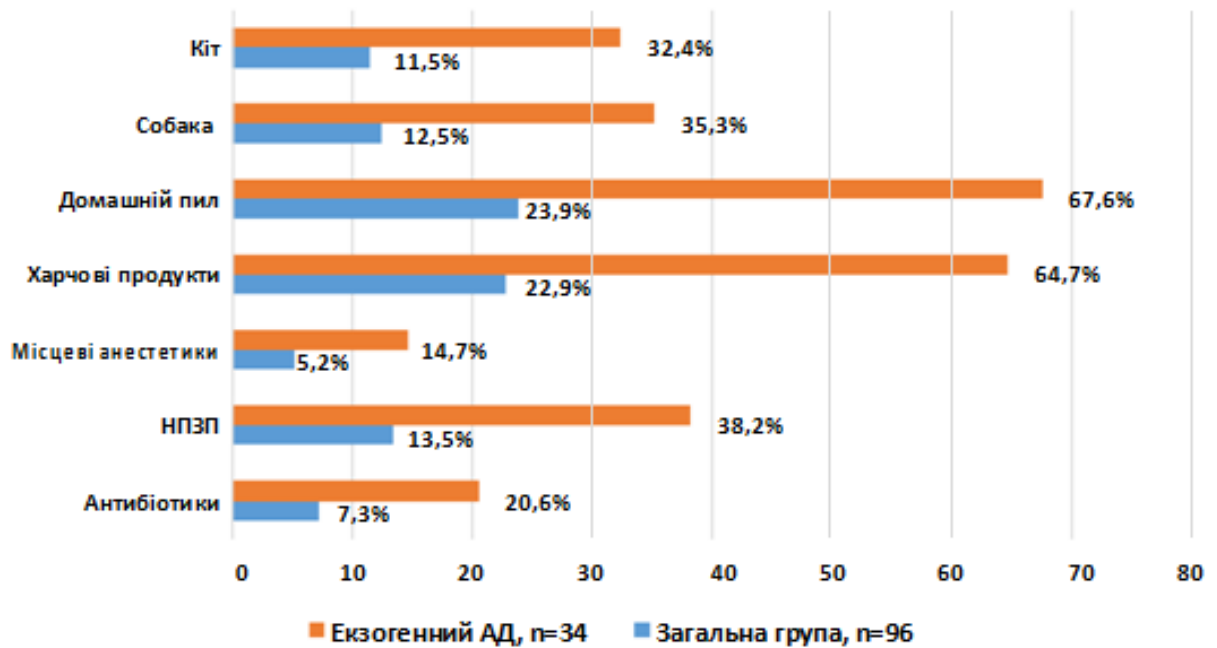
Таблиця 3.10

Супутні алергічні захворювання у хворих на atopічний дерматит

Показники	Групи		
	АД (n=96)	IgE-залежний АД (n=34)	IgE-незалежний АД (n=62)
Цілорічний алергічний риніт, n (%)	6 (6,3)	6 (17,6)	0 (0)
Сезонний алергічний риніт, n (%)	13 (13,5)	13 (38,2)	0 (0)
Бронхіальна астма, n (%)	3 (3,1)	3 (8,8)	0 (0)
Кропив'янка, n (%)	16 (16,7)	9 (26,5)	7 (11,3)

Згідно з даними анамнезу, в пацієнтів з АД (рис. 3.2) переважно була виявлена сенсibilізація до алергенів домашнього пилу (23,9 %) і харчових продуктів (22,9 %). Крім цього, була зафіксована алергія до алергенів собаки (12,5 %), kota (11,5 %) і медикаментозних препаратів (нестероїдні протизапальні препарати (13,5 %), антибіотики (7,3 %), місцеві анестетики (5,2 %)). Склад алергенів, до яких була виявлена сенсibilізація, практично збігався з тригерними факторами. У пацієнтів з IgE-незалежним АД не спостерігалось сенсibilізації до жодних алергенів. При IgE-залежному АД найбільша кількість хворих мали сенсibilізацію до домашнього пилу та харчових алергенів.

Для підтвердження анамнестичних даних необхідно було виконати алергологічні дослідження. У проведеній роботі були використані шкірні прик-тести. Частота сенсibilізації за їхніми результатами для основних причинно-значущих алергенів представлена на рис. 3.3.



Примітка. НПЗП – нестероїдні протизапальні препарати.

Рис. 3.2. Алергоанамнез у пацієнтів з атопічним дерматитом.

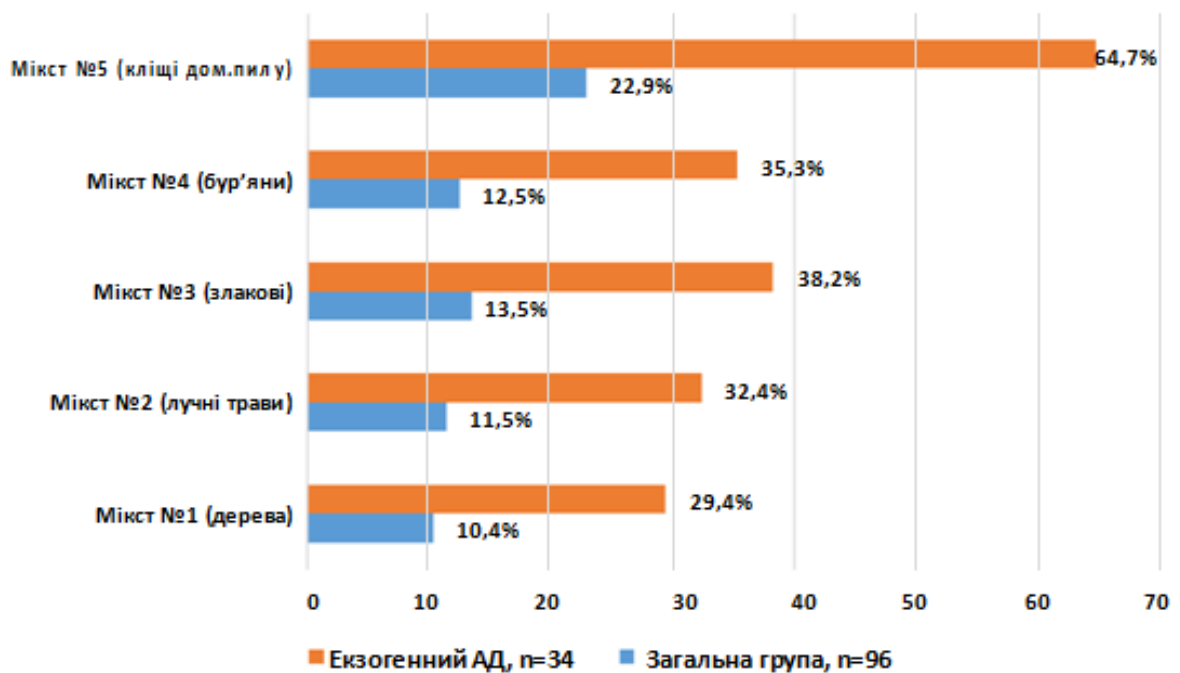


Рис. 3.3. Сенсibilізація до основних мікст-алергенів.

У 22,9 % пацієнтів загальної групи була підтверджена сенсibilізація до кліщів домашнього пилу. Понад 10 % хворих були сенсibilізованими до

злакових (стоколос прямий, пирій повзучий, жито посівне, тимофіївка лучна), бур'янів (полин, амброзія, лобода, соняшник), дерев (береза, вільха клейка, ліщина звичайна, дуб) і лучних трав (грястиця збірна, тонконіг лучний, пажитниця багаторічна, костриця лучна, китник лучний). У більшості пацієнтів (64,7 %) з IgE-залежним АД була виявлена сенсibilізація до алергенів кліщів домашнього пилю.

Додатково була визначена сенсibilізація до харчових алергенів. Її частота за результатами шкірних прік-тестів представлена на рис. 3.4.

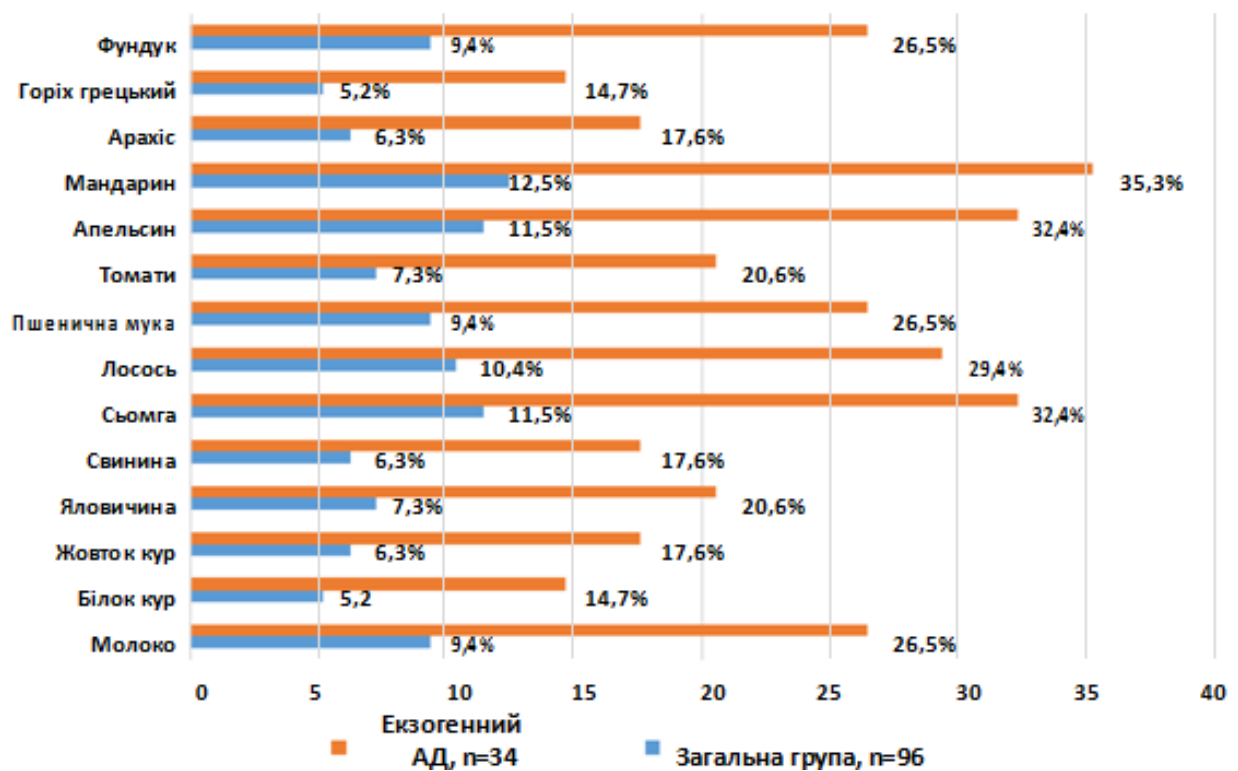


Рис. 3.4. Сенсibilізація до харчових алергенів.

При аналізі з урахуванням загальної групи основними харчовими продуктами, що викликали сенсibilізацію, були цитрусові (апельсин, мандарин), риба (сьомга, лосось), пшеничне борошно, молоко та фундук. Від 6 до 7 % пацієнтів мали сенсibilізацію до курячого жовтка, м'яса (яловичина, свинина), томатів та арахісу. У 5,2 % осіб була зареєстрована гіперчутливість до курячого білка та волоського горіха. У пацієнтів з IgE-залежним АД

перерахунок частоти сенсibilізації до досліджуваних харчових продуктів показав тенденцію, аналогічну загальній групі.

Аналізуючи алергоанамнез та алергологічні дослідження, можна дійти висновку, що для IgE-незалежного АД характерні загострення взимку, IgE-залежного – навесні та влітку. Незначна кількість пацієнтів з IgE-незалежним АД мають позитивний алергоанамнез до основних алергенів, хоча при проведенні шкірних прік-тестів така сенсibilізація не була підтверджена.

Зі свого боку особи з IgE-залежним АД мають полівалентну сенсibilізацію до класичних алергенів з максимальною частотою чутливості до кліщів домашнього пилу та харчових продуктів.

Виявлені клінічні й інструментальні відмінності між IgE-залежним та IgE-незалежним АД вочевидь впливають на стан хронічного запалення, що асоційоване з патогенезом даного захворювання.

Наступним етапом роботи став аналіз цитокінового профілю хронічного системного запалення з урахуванням різних фенотипів АД.

РОЗДІЛ 4

ЦИТОКІНОВИЙ ПРОФІЛЬ І ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ У ХВОРИХ НА АТОПІЧНИЙ ДЕРМАТИТ

4.1. Профіль цитокінів імунної відповіді 1-го та 2-го типів

Клінічна гетерогенність з одного боку й імунологічна з іншого допомагають стратифікувати пацієнтів на IgE-залежний та IgE-незалежний АД. Визначення ролі цитокінів у периферичній крові має важливе значення як для прогнозу, так і сучасного лікування АД з використанням антицитокінових моноклональних антитіл. Рівні ФНП- α , ІЛ-2 й ІФ- γ представлені в табл. 4.1.

Таблиця 4.1

Вміст сироваткових цитокінів імунної відповіді 1-го типу, пг/мл

Показники	Групи				P
	контроль (n=90)	АД (n=96)	IgE-залежний АД (n=34)	IgE-незалежний АД (n=62)	
ФНП- α ($\bar{X} \pm SD$)	1,32 \pm 0,71	1,80 \pm 0,97*	1,62 \pm 0,96	1,90 \pm 0,97***	P(Б)<0,001
ІЛ-2 ($\bar{X} \pm SD$)	11,44 \pm 6,94	15,93 \pm 9,16*	16,67 \pm 10,50**	15,52 \pm 8,40***	P(Б)<0,001
ІФ- γ ($\bar{X} \pm SD$)	1,03 \pm 0,63	1,29 \pm 0,82	1,28 \pm 0,87	1,30 \pm 0,80	P(Б)=0,069

Примітка. * – достовірність ($P < 0,05$) між контролем і загальною групою АД; ** – достовірність ($P < 0,05$) між контролем та IgE-залежним АД; *** – достовірність ($P < 0,05$) між контролем та IgE-незалежним АД.

Рівень прозапального цитокіну ФНП- α при множинному порівнянні був достовірно вищим ($P < 0,05$) у пацієнтів загальної групи та з IgE-незалежним АД порівняно з контролем. Достовірних відмінностей між IgE-залежним та IgE-

незалежним АД встановлено не було, хоча вміст ФНП- α в осіб з IgE-залежним АД достовірно не відрізнявся ($P>0,05$) від контрольних показників. Вміст ІЛ-2 був достовірно вищим ($P<0,05$) за контроль для всіх досліджуваних груп, але його рівень достовірно не відрізнявся між IgE-залежним та IgE-незалежним АД. Зі свого боку вміст ІФ- γ достовірно не різнився від контролю.

Наступним етапом став аналіз вмісту ІЛ-4 й ІЛ-5 у периферичній крові (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

Вміст сироваткових цитокінів імунної відповіді 2-го типу, пг/мл

Показники	Групи				P
	контроль (n=90)	АД (n=96)	IgE- залежний АД (n=34)	IgE- незалежний АД (n=62)	
ІЛ-4 ($\bar{x}\pm SD$)	16,49 \pm 7,66	21,89 \pm 8,90*	23,13 \pm 10,31**	21,21 \pm 8,03***	P(Б)<0,001
ІЛ-5 ($\bar{x}\pm SD$)	17,68 \pm 7,75	22,19 \pm 9,18*	24,28 \pm 8,82**	21,04 \pm 9,24	P(Б)<0,001

Примітка. * – достовірність ($P<0,05$) між контролем і загальною групою АД; ** – достовірність ($P<0,05$) між контролем та IgE-залежним АД; *** – достовірність ($P<0,05$) між контролем та IgE-незалежним АД.

Вміст ІЛ-4 був достовірно вищим ($P<0,05$) за контрольні значення для всіх досліджуваних груп. При порівнянні рівня цього цитокіну між IgE-залежним та IgE-незалежним АД достовірних відмінностей встановлено не було.

Для ІЛ-5 була виявлена інша картина. Його рівень був достовірно вищим ($P<0,05$) за контроль тільки для загальної групи та в пацієнтів з IgE-залежним АД. Для IgE-незалежного АД не було виявлено достовірного підвищення ІЛ-5 порівняно з контролем. Рівні ІЛ-10 і ТФР- β в сироватці крові представлені в табл. 4.3.

Вміст супресивних цитокінів у сироватці крові, пг/мл

Показники	Групи				P
	контроль (n=90)	АД (n=96)	IgE- залежний АД (n=34)	IgE- незалежний АД (n=62)	
IL-10 ($\bar{X} \pm SD$)	49,97 \pm 15,27	39,49 \pm 17,35*	37,42 \pm 16,82**	40,63 \pm 17,66***	P(Б)<0,001
ТФР- β ($\bar{X} \pm SD$)	38,92 \pm 11,69	31,36 \pm 11,89*	29,89 \pm 11,79**	32,16 \pm 11,96***	P(Б)<0,001

Примітка. * – достовірність ($P < 0,05$) між контролем і загальною групою АД; ** – достовірність ($P < 0,05$) між контролем та IgE-залежним АД; *** – достовірність ($P < 0,05$) між контролем та IgE-незалежним АД.

Вміст IL-10 і ТФР- β був достовірно нижчим ($P < 0,05$) за контроль у пацієнтів загальної групи та при IgE-залежному/IgE-незалежному АД. При порівнянні значень супресивних цитокінів між IgE-залежним та IgE-незалежним АД достовірної різниці ($P > 0,05$) встановлено не було.

Отже, хронічне запалення при АД асоціюється з підвищенням медіаторів імунної відповіді 1/2-го типів і зниженням супресивних цитокінів. Для IgE-незалежного АД, на відміну від IgE-залежного, характерним є збільшення рівня ФНП- α в сироватці крові. Водночас відсутні відмінності в концентрації цитокінів 1/2-го типів між IgE-залежним та IgE-незалежним АД. Хоча така різниця може існувати з урахуванням генетичного поліморфізму.

4.2. С-159Т поліморфізм гена CD14 і цитокіновий профіль

Відмінності в частоті генотипів і алелів здорових волонтерів і пацієнтів з АД представлені в табл. 4.4.

Частота розподілу генотипів та алелів CD14 (C-159T) у хворих на atopічний дерматит і здорових волонтерів

Генотипи/алелі	Контроль, n (%)	АД, n (%)	Статистичні дані
CC	20 (22,2)	39 (40,6)	$\chi^2=7,452$; $P=0,024$ Ризик за алелем Т $CC \leftrightarrow CT$; $ВШ=0,395$; $P=0,008$
CT	48 (53,3)	37 (38,5)	
TT	22 (24,5)	20 (20,9)	
CT+TT	70 (77,8)	57 (59,4)	Ризик за алелем Т $CC \leftrightarrow CT+TT$; $ВШ=0,418$; $P=0,007$
C	88 (48,9)	115 (59,9)	Ризик за алелем С $T \leftrightarrow C$; $ВШ=1,561$; $P=0,033$
T	92 (51,1)	77 (40,1)	Ризик за алелем Т $C \leftrightarrow T$; $ВШ=0,640$; $P=0,033$

Частота розподілу генотипів поліморфної ділянки C-159T контролю достовірно відрізнялася ($P=0,024$) від загальної групи пацієнтів з АД. У хворих на АД частота генотипу CC (40,6 %) була більшою, а CT (38,5 %) і TT (20,9 %) – меншою порівняно з контрольною групою (CC – 22,2 %; CT – 53,3 %; TT – 24,5 %). При використанні моделі ризику за алелем Т було встановлено, що ризик розвитку АД був достовірно зниженим при превалюванні в здорових волонтерів генотипу CT ($ВШ=0,395$) і присутності алеля Т ($ВШ=0,640$) порівняно з гомозиготним генотипом CC. Домінантна модель ($CC \leftrightarrow CT+TT$) також показала зменшення ризику розвитку АД ($ВШ=0,418$) при збільшенні наявності алеля Т у контрольній групі. Зі свого боку порівняння різниці частот алелів виявило підвищення ризику розвитку АД ($ВШ=1,561$) за присутності алеля С.

Отже, проведений статистичний аналіз показав, що наявність алеля Т має

протективний характер щодо розвитку АД, водночас ризик значно зростає за присутності алеля С. Отримані результати необхідно додатково проаналізувати з урахуванням розподілу пацієнтів на ІgЕ-залежний та ІgЕ-незалежний АД. Результати такого аналізу представлені в табл. 4.5 і 4.6.

Таблиця 4.5

Частота розподілу генотипів і алелів CD14 (C-159T) у хворих на імуноглобулін Е-залежний atopічний дерматит і здорових волонтерів

Генотипи/алелі	Контроль, n (%)	ІgЕ-залежний АД, n (%)	Статистичні дані
CC	20 (22,2)	16 (47,1)	$\chi^2=7,683$; P=0,022 Ризик за алелем Т CC<->СТ; ВШ=0,286; P=0,007
СТ	48 (53,3)	11 (32,3)	
ТТ	22 (24,5)	7 (20,6)	
СТ+ТТ	70 (77,8)	18 (52,9)	Ризик за алелем Т CC<->СТ+ТТ; ВШ=0,321; P=0,007
С	88 (48,9)	43 (63,2)	Ризик за алелем С Т<->С; ВШ=1,798; P=0,043
Т	92 (51,1)	25 (36,8)	Ризик за алелем Т С<->Т; ВШ=0,556; P=0,043

При порівнянні частот розподілу генотипів у хворих на ІgЕ-залежний АД з контролем були виявлені результати, аналогічні отриманим на попередньому етапі. Хоча ризик розвитку ІgЕ-залежного АД за наявності алеля Т (CC<->СТ; ВШ=0,286; CC<->СТ+ТТ; ВШ=0,321) був ще більш зниженим порівняно з загальною групою пацієнтів. Збільшення частоти алеля С достовірно підвищувало ризик розвитку (ВШ=1,798; P=0,043) ІgЕ-залежної форми АД.

Частота розподілу генотипів та алелів CD14 (C-159T) у хворих на імуноглобулін Е-незалежний atopічний дерматит і здорових волонтерів

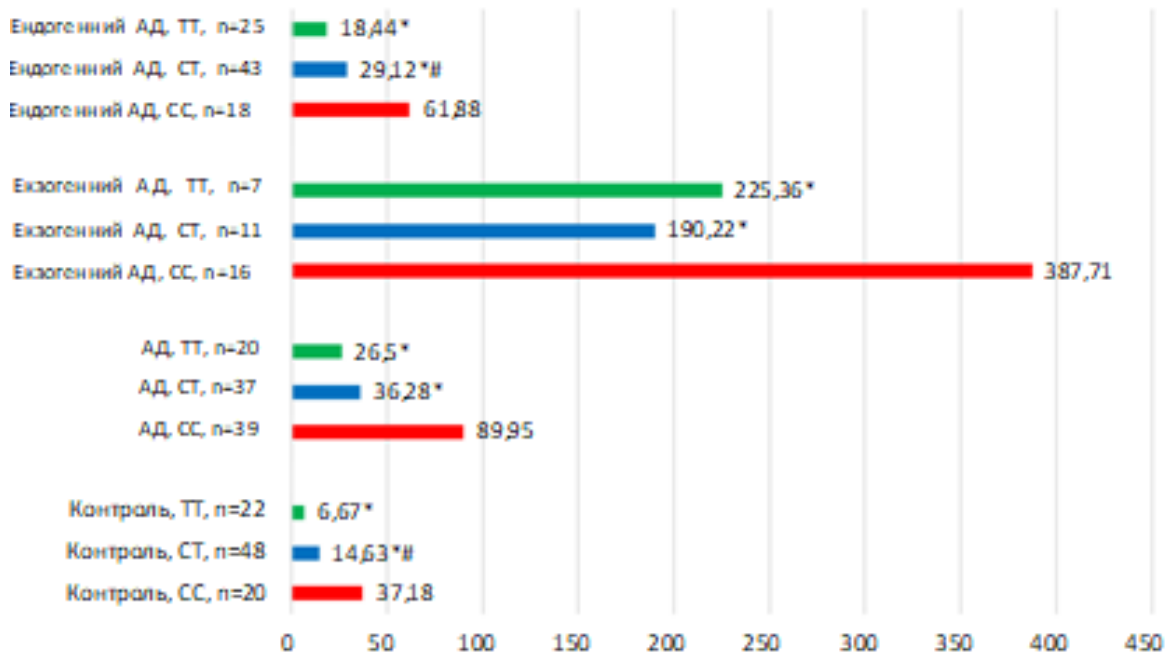
Генотипи/алелі	Контроль, n (%)	IgE-залежний АД, n (%)	Статистичні дані
СС	20 (22,2)	23 (37,1)	$\chi^2=4,043$; $P=0,132$ Ризик за алелем Т $CC \leftrightarrow CT$; $VШ=0,471$; $P=0,052$
СТ	48 (53,3)	26 (41,9)	
ТТ	22 (24,5)	13 (21,0)	
СТ+ТТ	70 (77,8)	39 (62,9)	Ризик за алелем Т $CC \leftrightarrow CT+TT$; $VШ=0,484$; $P=0,045$
С	88 (48,9)	72 (58,1)	Ризик за алелем С $T \leftrightarrow C$; $VШ=1,448$; $P=0,115$
Т	92 (51,1)	52 (41,9)	Ризик за алелем Т $C \leftrightarrow T$; $VШ=0,691$; $P=0,115$

Частота генотипів С-159Т у пацієнтів з ІgЕ-незалежним АД достовірно не відрізнялася ($P=0,052$) від контрольної групи. Хоча при використанні домінантної моделі ($CC \leftrightarrow CT+TT$) було виявлено, що ризик розвитку ІgЕ-незалежного АД достовірно знижений ($VШ=0,484$; $P=0,045$) за наявності алеля Т. При даному фенотипі АД ризик розвитку захворювання не пов'язаний ($VШ=1,448$; $P=0,115$) з присутністю алеля С.

Отже, проведений статистичний аналіз щодо порівняння частот генотипів та алелів С-159Т встановив, що ризик розвитку АД підвищений тільки для ІgЕ-залежної форми та пов'язаний з превалюванням гомозиготного генотипу СС, знижений за наявності алеля Т для ІgЕ-залежного й ІgЕ-незалежного фенотипів.

Виявлені результати можуть бути пов'язаними з вмістом загального ІgЕ. Концентрація ІgЕ залежно від розподілу груп на генотипи СС, СТ і ТТ

представлена на рис. 4.1.



Примітка. * – достовірність відмінностей між групою з генотипом СС відносно генотипів СТ і ТТ; # – достовірність відмінностей між генотипами СТ і ТТ.

Рис. 4.1. Вміст загального імуноглобуліну Е залежно від розподілу за генотипами С-159Т.

Вміст загального IgE в пацієнтів з генотипом СС у контрольній (Me – 37,18; 95 % ДІ 21,18-48,19) і загальній (Me – 89,95; 95 % ДІ 66,96-239,38) групах, групах з IgE-залежним (Me – 387,71; 95 % ДІ 303,68-635,36) та IgE-незалежним (Me – 61,88; 95 % ДІ 41,10-77,17) АД був достовірно вищим ($P < 0,05$) порівняно з генотипами СТ і ТТ.

Отже, незалежно від досліджуваної групи, рівень загального IgE залежав від приналежності до гомозиготного генотипу СС. Така висока концентрація IgE з генотипом СС може бути результатом реципрокного впливу цитокінів імунної відповіді 1/2-го типів і регуляторної дії супресорних медіаторів.

Концентрація цитокінів імунної відповіді 1-го типу в усіх досліджуваних

групах залежно від приналежності до генотипів СС, СТ і ТТ представлена в табл. 4.7.

Таблиця 4.7

Вміст сироваткових цитокінів фактор некрозу пухлин- α , інтерлейкін-2 й інтерферон- γ залежно від розподілу за генотипами С-159Т

Показники		Групи				P1
		контроль (n=90)	АД (n=96)	IgE-залежний АД (n=34)	IgE-незалежний АД (n=62)	
ФНП- α , пг/мл	СС	1,36 \pm 0,78	1,83 \pm 1,03	1,37 \pm 0,90	2,16 \pm 1,00#	0,021
	СТ	1,34 \pm 0,66	1,78 \pm 0,96	1,55 \pm 0,95	1,88 \pm 0,97#	0,034
	ТТ	1,25 \pm 0,80	1,78 \pm 0,93	2,30 \pm 0,93*	1,50 \pm 0,84	0,035
	P2	0,852	0,969	0,098	0,152	-
ІЛ-2, пг/мл	СС	10,95 \pm 6,67	16,23 \pm 9,74	18,17 \pm 11,74	14,88 \pm 8,08	0,099
	СТ	12,85 \pm 7,47	16,56 \pm 9,41	14,31 \pm 8,63	17,51 \pm 9,72	0,102
	ТТ	8,80 \pm 5,17	14,17 \pm 7,60	16,94 \pm 11,02*	12,67 \pm 4,89	0,020
	P2	0,069	0,624	0,656	0,216	-
ІФ- γ , пг/мл	СС	1,12 \pm 0,61	1,23 \pm 0,81	1,34 \pm 0,93	1,15 \pm 0,74	0,840
	СТ	1,02 \pm 0,63	1,27 \pm 0,76	1,08 \pm 0,56	1,35 \pm 0,83	0,207
	ТТ	0,98 \pm 0,68	1,47 \pm 0,95	1,47 \pm 1,16	1,46 \pm 0,88	0,233
	P2	0,768	0,557	0,631	0,501	-

Примітка. P1 – достовірність при множинному порівнянні ANOVA з поправкою Банфероні між досліджуваними групами; P2 – достовірність при множинному порівнянні ANOVA з поправкою Банфероні між генотипами; * – достовірність відмінностей між контролем та IgE-залежним АД, P<0,05; # – достовірність відмінностей між контролем та IgE-незалежним АД.

Вміст ФНП- α , ІЛ-2 й ІФ- γ при множинному статистичному аналізі в усіх

досліджуваних групах достовірно не відрізнявся ($P > 0,05$) між генотипами СС, СТ і ТТ. Концентрація ФНП- α була достовірно вищою ($P < 0,05$) за контроль тільки в пацієнтів з ІgЕ-незалежним АД за наявності генотипів СС і СТ. Зі свого боку в осіб з ІgЕ-залежним АД вміст ФНП- α й ІЛ-2 був достовірно більшим ($P < 0,05$) за контроль при генотипі ТТ.

Концентрація цитокінів імунної відповіді 2-го типу представлена в табл. 4.8.

Таблиця 4.8

Вміст сироваткових цитокінів інтерлейкін-4 й інтерлейкін-5 залежно від розподілу за генотипами С-159Т

Показники		Групи				P1
		контроль (n=90)	АД (n=96)	ІgЕ-залежний АД (n=34)	ІgЕ-незалежний АД (n=62)	
ІЛ-4, пг/мл	СС	13,06±7,23	28,59±7,61*	30,07±8,45*	27,57±6,96*	<0,001
	СТ	17,16±7,51	18,46±6,07#	20,37±6,41#	17,65±5,86#	0,498
	ТТ	18,16±7,75	15,18±6,93#	11,61±6,43#&	17,10±6,63#	0,172
	P2	0,065	<0,001	<0,001	<0,001	-
ІЛ-5, пг/мл	СС	24,66±8,24	30,13±7,55	30,54±7,53	29,85±7,72	0,051
	СТ	15,95±6,68#	18,07±5,54#	20,38±4,36#	17,09±5,77#	0,118
	ТТ	15,11±5,75#	14,33±4,63#	16,07±6,57#	13,38±3,09#	0,653
	P2	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	-

Примітка. P1 – достовірність при множинному порівнянні ANOVA з поправкою Банфероні між досліджуваними групами; P2 – достовірність при множинному порівнянні ANOVA з поправкою Банфероні між генотипами; * – достовірність відмінностей контролю від досліджуваних груп, $P < 0,05$; # – достовірність відмінностей між групою з генотипом СС щодо генотипів СТ і ТТ; & – достовірність відмінностей між генотипами СТ і ТТ.

У контрольній групі рівень ІЛ-4 достовірно не відрізнявся ($P > 0,05$) між досліджуваними генотипами. Зі свого боку у волонтерів контрольної групи з генотипом СС концентрація ІЛ-5 була достовірно вищою ($P < 0,05$) порівняно з генотипами СТ і ТТ. У хворих на АД з генотипом СС у загальній групі, при ІgЕ-залежному й ІgЕ-незалежному фенотипах вміст ІЛ-4 й ІЛ-5 був достовірно більшим ($P < 0,05$) відносно СТ і ТТ генотипів. Концентрація ІЛ-4 була достовірно вищою ($P < 0,05$) за контроль у пацієнтів з ІgЕ-залежним АД і генотипом СС.

Вміст ІЛ-10 і ТФР- β (табл. 4.9) у здорових волонтерів з генотипом СС був достовірно нижчим ($P < 0,05$) порівняно з генотипами СТ і ТТ. Аналогічні результати були отримані для всіх досліджуваних груп. Концентрації ІЛ-10 і ТФР- β була значно нижчими в пацієнтів з генотипом СС. Тільки у хворих з генотипом СС вміст ІЛ-10 був достовірно меншим ($P < 0,05$) за контроль. Концентрація ТФР- β при генотипі СС була достовірно нижчою за контроль ($P < 0,05$) лише в пацієнтів загальної групи. Також було встановлено, що рівень ІЛ-10 при генотипі ТТ був достовірно вищим ($P < 0,05$) порівняно з генотипом СТ у контрольній, загальній групах і в осіб з ІgЕ-незалежним АД. Концентрація ТФР- β також була достовірно вищою ($P < 0,05$) у пацієнтів усіх досліджуваних груп з генотипом ТТ порівняно з СТ.

Отже, аналізуючи отримані результати, можна дійти висновку, що превалювання генотипу СС призводить до підвищення ризику розвитку ІgЕ-залежного АД, що, очевидно, пов'язано з високими рівнями загального ІgЕ, ІЛ-5 та низькими – ІЛ-10, ТФР- β при даному генотипі. Водночас зниження ризику розвитку ІgЕ-залежного й ІgЕ-незалежного АД асоціюється з превалюванням у популяції генотипів СТ і ТТ. Знижений ризик розвитку АД за наявності алеля Т може пояснюватися низькою концентрацією ІЛ-5 та високою – ІЛ-10, ТФР- β порівняно з гомозиготним генотипом СС.

Наступним етапом роботи став аналогічний аналіз А896G поліморфізму

гена TLR-4.

Таблиця 4.9

**Вміст сироваткових цитокінів інтерлейкін-10 і трансформуючий фактор
росту β залежно від розподілу за генотипами C-159T**

Показники		Групи				P1
		контроль (n=90)	АД (n=96)	IgE- залежний АД (n=34)	IgE- незалежний АД (n=62)	
ІЛ- 10, пг/мл	СС	36,38±10,18	22,98±8,54*	21,90±7,21*	23,73±9,44*	<0,001
	СТ	50,63±14,85#	46,44±10,29#	48,05±6,27#	45,77±11,62#	0,312
	ТТ	60,88±9,95#&	58,84±10,50#&	56,20±9,95#	60,25±10,91#&	0,740
	P2	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	-
ТФР- β , пг/мл	СС	24,76±6,57	20,00±6,43*	19,26±6,39	20,51±6,55	0,036
	СТ	41,64±9,88#	35,71±6,25*#	36,31±4,05#	35,46±7,03*#	0,002
	ТТ	45,86±7,95#	45,45±6,26#&	44,09±4,86#&	46,18±6,97#&	0,926
	P2	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	-

Примітка. P1 – достовірність при множинному порівнянні ANOVA з поправкою Банфероні між досліджуваними групами; P2 – достовірність при множинному порівнянні ANOVA з поправкою Банфероні між генотипами; * – достовірність відмінностей контролю від досліджуваних груп, $P < 0,05$; # – достовірність відмінностей між групою з генотипом СС щодо генотипів СТ і ТТ; & – достовірність відмінностей між генотипами СТ і ТТ.

4.3. Asp299Gly поліморфізм гена TLR-4 та цитокіновий профіль

Відмінності в частоті генотипів і алелів TLR-4 (Asp299Gly) здорових волонтерів і хворих на АД представлені в табл. 4.10.

**Частота розподілу генотипів та алелів TLR-4 (A-896G) у хворих на
атопічний дерматит і здорових волонтерів**

Генотипи/алелі	Контроль, n (%)	IgE-залежний АД, n (%)	Статистичні дані
AA	71 (78,9)	58 (60,4)	$\chi^2=7,458$; $P=0,024$ Ризик за алелем G AA \leftrightarrow AG; ВШ=2,448; $P=0,007$
AG	18 (20,0)	36 (37,5)	
GG	1 (1,1)	2 (2,1)	
AG+GG	19 (21,1)	38 (39,6)	Ризик за алелем G AA \leftrightarrow AG+GG; ВШ=2,448; $P=0,006$
A	160 (88,9)	152 (79,2)	Ризик за алелем A G \leftrightarrow A; ВШ=0,475; $P=0,011$
G	20 (11,1)	40 (20,8)	Ризик за алелем G A \leftrightarrow G; ВШ=2,105; $P=0,011$

У досліджуваній популяції розподіл генотипів пацієнтів з АД достовірно відрізнявся ($P=0,024$) від контролю. При порівнянні генотипів AA й AG у досліджуваних групах було встановлено, що у хворих на АД частота генотипу AG була більшою, AA – меншою відносно контролю (ВШ=2,448; $P=0,007$). При використанні домінантної моделі за алелем G (AA \leftrightarrow AG+GG) було показано, що ризик розвитку АД достовірно підвищений (ВШ=2,448; $P=0,006$) у загальній групі, що пов'язано з присутністю алеля G. При порівнянні частот алелів A та G було виявлено, що ризик розвитку АД за алелем A знижений (ВШ=0,475), G – збільшений (ВШ=2,105).

Виявлені відмінності можуть проявлятися по-різному залежно від розподілення пацієнтів на IgE-залежний чи IgE-незалежний АД. Дані щодо розподілу генотипів TLR-4 (A-896G) в осіб з IgE-залежним АД представлені в

табл. 4.11.

Таблиця 4.11

Частота розподілу генотипів та алелів TLR-4 (A-896G) у хворих на імуноглобулін Е-залежний atopічний дерматит і здорових волонтерів

Генотипи/алелі	Контроль, n (%)	IgE-залежний АД, n (%)	Статистичні дані
AA	71 (78,9)	17 (50,0)	$\chi^2=10,004$; $P=0,007$ Ризик за алелем G AA<->AG; ВШ=3,712; $P=0,002$
AG	18 (20,0)	16 (47,1)	
GG	1 (1,1)	1 (2,9)	
AG+GG	19 (21,1)	17 (50,0)	Ризик за алелем G AA<->AG+GG; ВШ=3,712; $P=0,002$
A	160 (88,9)	50 (73,5)	Ризик за алелем A G<->A; ВШ=0,347; $P=0,003$
G	20 (11,1)	18 (26,5)	Ризик за алелем G A<->G; ВШ=2,880; $P=0,003$

Частота генотипів (AA, AG, GG) у пацієнтів з IgE-залежним АД, як і в загальній групі хворих, достовірно відрізнялася ($\chi^2=10,004$; $P=0,007$) від контролю. При порівнянні частот гомозиготи AA та гетерозиготи AG між групами було встановлене значне (ВШ=3,712) і достовірне ($P=0,002$) превалювання генотипу AG при IgE-залежному АД. Ризик за алелем G при використанні в порівнянні домінантної моделі (AA<->AG+GG) також був значно підвищеним (ВШ=3,712; $P=0,002$) при цій формі АД. При алельному аналізі теж було встановлене превалювання частоти алеля G (ВШ=2,880; $P=0,003$) та зниження – A (ВШ=0,347; $P=0,003$) у пацієнтів з IgE-залежним АД.

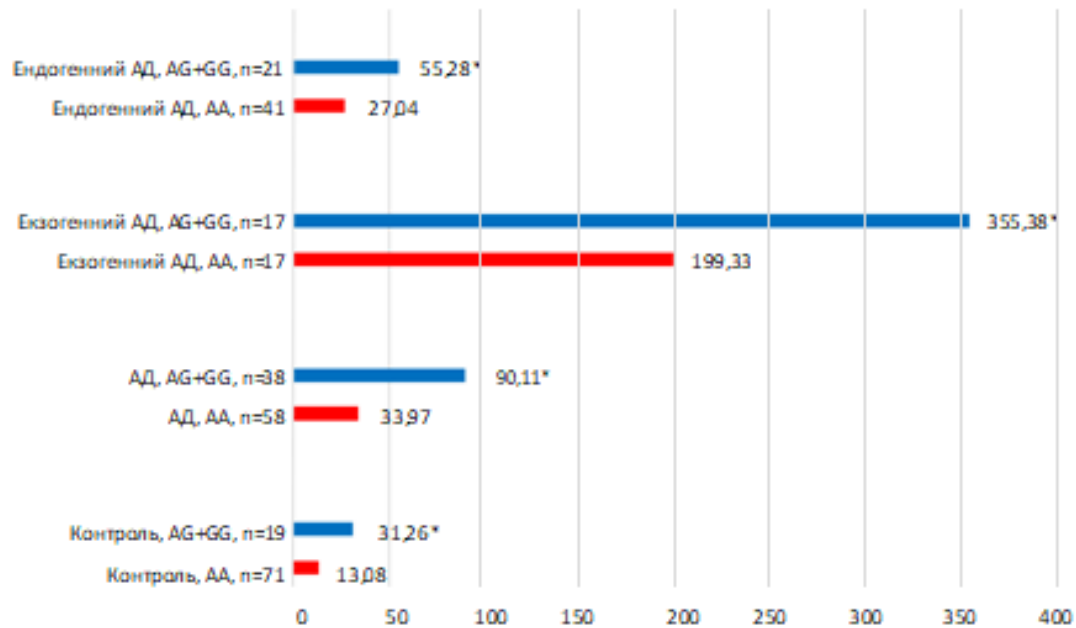
Наступним етапом став аналогічний статистичний аналіз в осіб з IgE-незалежним АД (табл. 4.12).

Частота розподілу генотипів та алелів TLR-4 (A-896G) у хворих на імуноглобулін Е-незалежний atopічний дерматит і здорових волонтерів

Генотипи/алелі	Контроль, n (%)	IgE- незалежний АД, n (%)	Статистичні дані
AA	71 (78,9)	41 (66,1)	$\chi^2=3,088$; P=0,214 Ризик за алелем G AA<->AG; ВШ=1,924; P=0,082
AG	18 (20,0)	20 (32,3)	
GG	1 (1,1)	1 (1,6)	
AG+GG	19 (21,1)	21 (33,9)	Ризик за алелем G AA<->AG+GG; ВШ=1,914; P=0,079
A	160 (88,9)	102 (82,3)	Ризик за алелем A G<->A; ВШ=0,580; P=0,099
G	20 (11,1)	22 (17,7)	Ризик за алелем G (A<->G; ВШ=1,725; P=0,099

Частота розподілу генотипів TLR-4 (A-896G) у хворих на IgE-незалежний АД достовірно не відрізнялася ($\chi^2=3,088$; P=0,214) від контролю. При порівнянні частот генотипів AA й AG між групами не було виявлено достовірних відмінностей (ВШ=1,924; P=0,082). Також не спостерігалось різниці при порівнянні груп з використанням домінантної моделі G (P=0,079), алельному аналізі (P=0,099).

Отже, встановлені дані щодо підвищеного ризику розвитку АД в загальній групі пацієнтів, які є носіями алеля G, тісно пов'язані з IgE-залежною формою АД. Очевидно, що присутність мутантного алеля G може впливати на рівень загального IgE. Порівняння загального рівня IgE між досліджуваними генотипами представлено на рис. 4.2.



Примітка. * – достовірність відмінностей між групою з генотипом AA щодо генотипів AG і GG.

Рис. 4.2. Вміст загального імуноглобуліну Е залежно від розподілу за генотипами А-896G.

Як видно з отриманих результатів, рівень загального IgE був достовірно вищим у пацієнтів з генотипом AG+GG порівняно з AA як у загальній групі, так і при розподілі хворих на IgE-залежний та IgE-незалежний АД. Крім цього, в здорових волонтерів рівень IgE при генотипі AG+GG був достовірно більшим порівняно з AA.

У рамках проведеної роботи необхідно було виявити залежність рівнів різних цитокінів від розподілу пацієнтів за генотипами А-896G. Вміст ФНП- α , ІЛ-2 й ІФ- γ залежно від розподілення за генотипами А-896G представлений у табл. 4.13.

При порівнянні концентрацій ФНП- α , ІЛ-2, ІФ- γ залежно від розподілу на генотипи AA й AG+GG у всіх досліджуваних групах достовірних відмінностей виявлено не було. Було встановлено, що при генотипі AA в пацієнтів загальної

групи та групи з IgE-незалежним АД рівні ФНП- α й ІЛ-2 були достовірно вищими за контроль. Зі свого боку в осіб з IgE-залежним АД і генотипом AG+GG рівень ІЛ-2 був достовірно більшим за контроль. Вміст ІФ- γ достовірно не відрізнявся при такому порівнянні.

Таблиця 4.13

Вміст сироваткових цитокінів фактор некрозу пухлин- α , інтерлейкін-2 й інтерферон- γ залежно від розподілу за генотипами А-896G

Показники		Групи				P1
		контроль (n=90)	АД (n=96)	IgE- залежний АД (n=34)	IgE- незалежний АД (n=62)	
ФНП- α , пг/мл	AA	1,31 \pm 0,72	1,74 \pm 1,04&	1,44 \pm 1,08	1,87 \pm 1,01#	0,008
	AG+GG	1,37 \pm 0,70	1,90 \pm 0,87	1,80 \pm 0,82	1,98 \pm 0,92	0,105
	P2	0,727	0,431	0,290	0,662	-
ІЛ-2, пг/мл	AA	11,83 \pm 7,25	15,92 \pm 8,91&	15,05 \pm 8,37	16,28 \pm 9,20#	0,014
	AG+GG	9,99 \pm 5,53	15,94 \pm 9,66	18,29 \pm 12,32*	14,04 \pm 6,53	0,037
	P2	0,239	0,989	0,377	0,274	-
ІФ- γ , пг/мл	AA	1,03 \pm 0,60	1,34 \pm 0,87	1,51 \pm 1,03	1,28 \pm 0,80	0,041
	AG+GG	1,05 \pm 0,74	1,22 \pm 0,75	1,06 \pm 0,62	1,33 \pm 0,83	0,541
	P2	0,886	0,445	0,133	0,749	-

Примітка. P1 – достовірність при множинному порівнянні ANOVA з поправкою Банфероні між досліджуваними групами; P2 – достовірність між генотипами; & – достовірність відмінностей між контролем та АД; * – достовірність відмінностей між контролем та IgE-залежним АД, P<0,05; # – достовірність відмінностей між контролем та IgE-незалежним АД.

Рівні ІЛ-4 й ІЛ-5 залежно від розподілу за генотипами А-896G

представлені в табл. 4.14.

Таблиця 4.14

Вміст сироваткових цитокінів інтерлейкін-4 й інтерлейкін-5 залежно від розподілу за генотипами A-896G

Показники		Групи				P1
		контроль (n=90)	АД (n=96)	IgE- залежний АД (n=34)	IgE- незалежний АД (n=62)	
ІЛ-4, пг/мл	AA	16,89±7,71	20,59±8,27&	20,61±10,27	20,58±7,44	0,029
	AG+GG	15,03±7,47	23,89±9,55&	25,66±10,01*	22,45±9,15	0,003
	P2	0,346	0,086	0,156	0,423	-
ІЛ-5, пг/мл	AA	16,76±7,13	20,02±8,49	22,57±7,72*	18,96±8,66	0,022
	AG+GG	21,13±9,12	25,50±9,31	25,98±9,73	25,11±9,18	0,336
	P2	0,065	0,005	0,266	0,015	-

Примітка. P1 – достовірність при множинному порівнянні ANOVA з поправкою Банфероні між досліджуваними групами; P2 – достовірність між генотипами; & – достовірність відмінностей між контролем та АД; * – достовірність відмінностей між контролем та IgE-залежним АД, P<0,05; # – достовірність відмінностей між контролем та IgE-незалежним АД.

Рівень ІЛ-4 достовірно не відрізнявся між генотипами AA й AG+GG. У пацієнтів з IgE-залежним АД і генотипом AG+GG концентрація ІЛ-4 була достовірно вищою порівняно з контролем. При аналізі вмісту ІЛ-5 було виявлено, що рівень цього медіатора в осіб загальної групи та з IgE-незалежним АД при генотипі AG+GG був достовірно вищим порівняно з AA.

Вміст сироваткових цитокінів ІЛ-10 і ТФР-β залежно від розподілу за генотипами представлений у табл. 4.15.

**Вміст сироваткових цитокінів інтерлейкін-10 і трансформуючий фактор
росту β залежно від розподілу за генотипами A-896G**

Показники		Групи				P1
		контроль (n=90)	АД (n=96)	IgE- залежний АД (n=34)	IgE- незалежний АД (n=62)	
ІЛ- 10, пг/мл	AA	51,14±15,56	41,90±17,66&	41,09±16,06	42,24±18,56#	0,005
	AG+GG	45,60±13,62	35,81±16,41	33,75±17,22	37,48±15,96	0,018
	P2	0,137	0,088	0,208	0,297	-
ТФР- β , пг/мл	AA	40,03±11,63	33,65±10,40&	33,26±9,58	33,81±10,84#	0,002
	AG+GG	34,77±11,24	27,86±13,24	26,51±13,07	28,95±13,60	0,205
	P2	0,083	0,026	0,096	0,165	-

Примітка. P1 – достовірність при множинному порівнянні ANOVA з поправкою Банфероні між досліджуваними групами; P2 – достовірність між генотипами; & – достовірність відмінностей між контролем та АД; * – достовірність відмінностей між контролем та IgE-залежним АД, P<0,05; # – достовірність відмінностей між контролем та IgE-незалежним АД.

Концентрації ІЛ-10 і ТФР- β достовірно не відрізнялися між досліджуваними генотипами. При множинному порівнянні було встановлено, що рівні ІЛ-10, ТФР- β були достовірно нижчими за контроль при генотипі AA в пацієнтів загальної групи, з IgE-незалежним АД.

Отже, підбиваючи підсумок, на даному етапі можна зазначити, що ризик розвитку АД в досліджуваній популяції пов'язаний з превалюванням мутантного алеля G в асоціації з високими рівнями загального IgE й ІЛ-5 у сироватці крові.

На кінцевому етапі необхідно було встановити роль Thr399Ple поліморфізму гена TLR-4 та цитокінового профілю в розвитку АД.

4.4. Thr399Ple поліморфізм гена TLR-4 та цитокіновий профіль

Частота поліморфізму 1196 C>T гена TLR-4 у пацієнтів з АД та осіб контрольної групи представлена в табл. 4.16.

Таблиця 4.16

Частота розподілу генотипів та алелів TLR-4 (1196 C>T) у хворих на atopічний дерматит і здорових волонтерів

Генотипи/алелі	Контроль, n (%)	АД, n (%)	Статистичні дані
CC	84 (93,3)	85 (88,5)	$\chi^2=0,772$; $P=0,380$ Ризик за алелем Т CC<->CT; ВШ=1,812; $P=0,257$
CT	6 (6,7)	11 (11,5)	
TT	0	0	
C	174 (96,7)	181 (94,3)	Ризик за алелем С T<->C; ВШ=0,567; $P=0,269$
T	6 (3,3)	11 (5,7)	Ризик за алелем Т C<->T; ВШ=1,762; $P=0,269$

Вивчення цього поліморфізму показало, що в досліджуваній популяції характерною є відсутність гомозиготного генотипу TT. Тільки в 11 хворих на АД і 6 волонтерів був виявлений гетерозиготний генотип CT. При статичному порівнянні частот генотипів, алелів і різниці за ризиком за алелем Т між досліджуваними групами достовірних відмінностей встановити не вдалося.

Аналогічний статистичний аналіз з урахуванням розподілу пацієнтів на IgE-залежний та IgE-незалежний АД представлений в табл. 4.17, 4.18.

Таблиця 4.17

Частота розподілу генотипів та алелів TLR-4 (1196 C>T) у хворих на імуноглобулін Е-залежний atopічний дерматит і здорових волонтерів

Генотипи/алелі	Контроль, n (%)	АД, n (%)	Статистичні дані
СС	84 (93,3)	28 (82,4)	$\chi^2=2,264$; $P=0,132$ Ризик за алелем Т СС<->СТ; ВШ=3,000; $P=0,065$
СТ	6 (6,7)	6 (17,6)	
ТТ	0	0	
С	174 (96,7)	62 (91,2)	Ризик за алелем С Т<->С; ВШ=0,356; $P=0,099$
Т	6 (3,3)	6 (8,8)	Ризик за алелем Т С<->Т; ВШ=2,806; $P=0,099$

При порівнянні частот і алелів поліморфної ділянки 1196 C>T гена TLR-4 у пацієнтів з ІgЕ-залежною формою АД та волонтерів достовірної різниці встановлено не було. Хоча при використанні моделі за ризиком за алелем Т спостерігалася тенденція ($P=0,065$) до превалювання гетерозиготного генотипу СТ у хворих на ІgЕ-залежний АД.

Таблиця 4.18

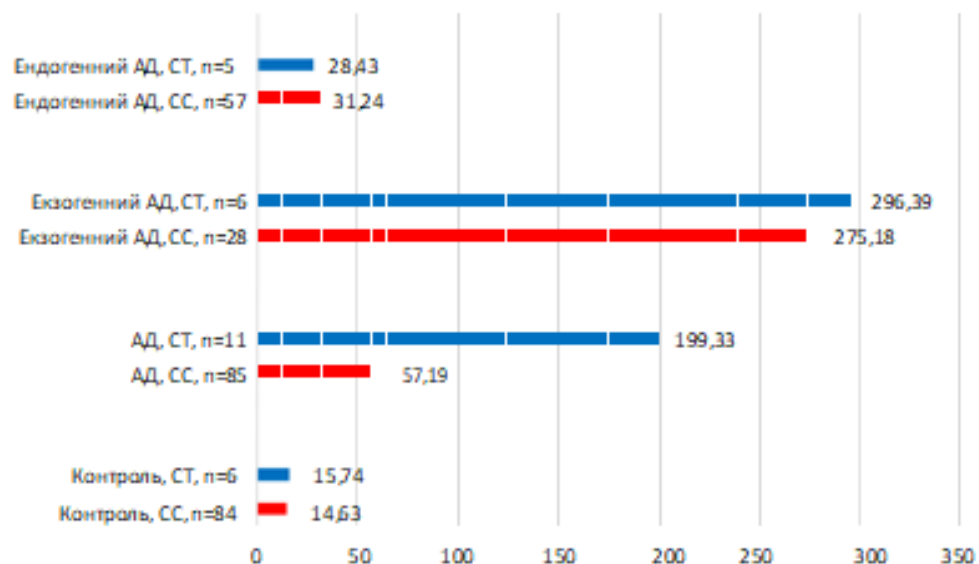
Частота розподілу генотипів та алелів TLR-4 (1196 C>T) у хворих на імуноглобулін Е-незалежний atopічний дерматит і здорових волонтерів

Генотипи/алелі	Контроль, n (%)	АД, n (%)	Статистичні дані
СС	84 (93,3)	57 (91,9)	$\chi^2<0,001$; $P=0,993$ Ризик за алелем Т СС<->СТ; ВШ=1,228; $P=0,744$
СТ	6 (6,7)	5 (8,1)	
ТТ	0	0	

Генотипи/алелі	Контроль, n (%)	АД, n (%)	Статистичні дані
С	174 (96,7)	119 (96,0)	Ризик за алелем С Т<->С; ВШ=0,821; P=0,763
Т	6 (3,3)	5 (4,0)	Ризик за алелем Т С<->Т; ВШ=1,218; P=0,763

У пацієнтів з ІgЕ-незалежним АД порівняно з контролем достовірної різниці між частотою розподілу генотипів та алелів також виявлено не було.

Рівень загального ІgЕ між генотипами (рис. 4.3) достовірно не відрізнявся в контрольній і загальній групах АД та залежно від розподілу хворих на ІgЕ-залежну й ІgЕ-незалежну форми. У пацієнтів загальної групи АД з генотипом СТ рівень ІgЕ (МЕ – 199,33 МО; 95 % ДІ 26,56-409,78) був значно вищим порівняно з СС (МЕ – 57,19 МО; 95 % ДІ 36,28-77,91), хоча ця різниця не була достовірною.



Примітка. * – достовірність відмінностей між генотипами СС і СТ.

Рис. 4.3. Вміст загального імуноглобуліну Е залежно від розподілу за генотипами TLR-4 (1196 С>Т).

Рівень цитокінів ФНП- α , ІЛ-2, ІФ- γ залежно від розподілу досліджуваних груп на генотипи СС і СТ представлений у табл. 4.19.

Таблиця 4.19

Вміст сироваткових цитокінів фактор некрозу пухлин α , інтерлейкін-2 й інтерферон- γ залежно від розподілу за генотипами TLR-4 (1196 C>T)

Показники		Групи				P1
		контроль (n=90)	АД (n=96)	IgE- залежний АД (n=34)	IgE- незалежний АД (n=62)	
ФНП- α , пг/мл	СС	1,32 \pm 0,71	1,80 \pm 1,00*	1,54 \pm 0,98	1,93 \pm 0,99*	<0,001
	СТ	1,37 \pm 0,79	1,83 \pm 0,77	2,01 \pm 0,84	1,61 \pm 0,70	0,511
	P2	0,895	0,919	0,258	0,377	-
ІЛ-2, пг/мл	СС	11,41 \pm 6,94	15,10 \pm 8,18*	14,47 \pm 9,02	15,42 \pm 7,81*	0,006
	СТ	11,85 \pm 7,61	22,28 \pm 13,59	26,92 \pm 11,65	16,72 \pm 14,87	0,189
	P2	0,895	0,115	0,049	0,856	-
ІФ- γ , пг/мл	СС	1,04 \pm 0,62	1,28 \pm 0,83	1,23 \pm 0,85	1,31 \pm 0,82	0,126
	СТ	0,88 \pm 0,82	1,37 \pm 0,82	1,51 \pm 1,00	1,20 \pm 0,61	0,578
	P2	0,651	0,752	0,550	0,729	-

Примітка. P1 – достовірність при множинному порівнянні ANOVA з поправкою Банфероні між досліджуваними групами; P2 – достовірність при порівнянні між генотипами; * – достовірність відмінностей між контролем і дослідними групами, P<0,05.

Рівень ІЛ-2 між генотипами достовірно не відрізнявся. У досліджуваних з генотипом СС вміст цього цитокіну був достовірно вищим за контроль у загальній групі АД та з ІgE-незалежною формою. У пацієнтів з ІgE-залежним АД концентрація ІЛ-2 була достовірно вищою (P=0,049) при

генотипі СТ порівняно з СС. Вміст ІФ- γ при такому порівнянні достовірно не відрізнявся.

Концентрація ІЛ-4 в пацієнтів з генотипом СС (табл. 4.20) була достовірно вищою за контроль для загальної групи, груп з ІgЕ-залежним та ІgЕ-незалежним АД. Достовірної різниці між генотипами виявлено не було. Вміст ІЛ-5 при порівнянні даних груп достовірно не відрізнявся.

Таблиця 4.20

Вміст сироваткових цитокінів інтерлейкін-4 й інтерлейкін-5 залежно від розподілу за генотипами TLR-4 (1196 C>T)

Показники		Групи				P1
		контроль (n=90)	АД (n=96)	ІgЕ-залежний АД (n=34)	ІgЕ-незалежний АД (n=62)	
ІЛ-4, пг/мл	СС	16,43±7,63	21,69±8,72*	22,10±9,90*	21,49±8,16*	<0,001
	СТ	17,42±8,78	23,48±10,54	27,97±11,80	18,10±6,12	0,240
	P2	0,797	0,599	0,293	0,302	-
ІЛ-5, пг/мл	СС	17,62±7,63	21,71±8,91	23,38±7,79	20,89±9,37	0,003
	СТ	18,52±10,08	25,89±10,78	28,45±12,67	22,82±8,28	0,412
	P2	0,839	0,241	0,382	0,642	-

Примітка. P1 – достовірність при множинному порівнянні ANOVA з поправкою Банфероні між досліджуваними групами; P2 – достовірність при порівнянні між генотипами; * – достовірність відмінностей між контролем і дослідними групами, P<0,05.

Концентрації ІЛ-10 і ТФР- β (табл. 4.21) між досліджуваними генотипами достовірно не відрізнялися. Рівень ІЛ-10 був достовірно нижчим за контроль для пацієнтів з генотипом СС у всіх досліджуваних групах.

Вміст ТФР- β був достовірно меншим за контроль тільки в загальній групі хворих на АД.

Таблиця 4.21

Вміст сироваткових цитокінів інтерлейкін-10 і трансформуючий фактор росту β залежно від розподілу за генотипами TLR-4 (1196 C>T)

Показники		Групи				P1
		контроль (n=90)	АД (n=96)	IgE-залежний АД (n=34)	IgE-незалежний АД (n=62)	
ІЛ-10, пг/мл	CC	49,98 \pm 15,35	39,20 \pm 17,72*	37,42 \pm 17,25*	40,07 \pm 18,04*	<0,001
	CT	49,82 \pm 15,40	41,77 \pm 14,61	37,41 \pm 16,13	47,00 \pm 12,09	0,479
	P2	0,981	0,600	0,999	0,285	-
ТФР- β , пг/мл	CC	38,66 \pm 11,60	31,27 \pm 11,86*	30,01 \pm 11,19	31,89 \pm 12,22	<0,001
	CT	42,57 \pm 13,43	32,03 \pm 12,70	29,32 \pm 15,53	35,28 \pm 8,79	0,320
	P2	0,513	0,855	0,921	0,461	-

Примітка. P1 – достовірність при множинному порівнянні ANOVA з поправкою Банфероні між досліджуваними групами; P2 – достовірність при порівнянні між генотипами; * – достовірність відмінностей між контролем і дослідними групами, P<0,05.

Отже, отримані результати вказують на відсутність зв'язку поліморфізму 1196 C>T гена TLR-4 з ризиком розвитку АД в досліджуваній популяції. Такі результати можна пояснити невисоким розповсюдженням алеля T в українській популяції, з одного боку, дослідженням відносно невеликої кількості хворих і волонтерів – з іншого. Цікавою може бути виявлена тенденція, що вказує на превалювання гетерозиготного генотипу CT в поєднанні з підвищеними рівнями загального IgE й ІЛ-2. Підвищення вмісту ІЛ-2 в пацієнтів з IgE-залежним АД

при генотипі СТ, що не є типовим для даної форми, додатково розширює розуміння про гетерогенність того чи іншого фенотипу АД.

РОЗДІЛ 5

ПОРІВНЯЛЬНА ЕФЕКТИВНІСТЬ КОНТРОЛЮЮЧИХ ПРЕПАРАТІВ

Для вивчення впливу пробіотика (*Lactobacillus acidophilus* 1×10^9 КУО та *Bifidobacterium animalis subsp. Lactis* 1×10^9 КУО) на тяжкість хвороби, якість життя й імунні параметри з урахуванням генотипів СС і СТ усі пацієнти були розділені на 3 групи як для ІgЕ-залежного, так й ІgЕ-незалежного АД. До першої групи були відібрані хворі з генотипом СС (С-159Т), які отримували стандартну терапію (мазь флютиказону пропіонат 0,005 %, емолієнт) і пробіотик. До другої групи увійшли пацієнти з генотипом СС, які одержували тільки стандартне лікування. Третя група була представлена хворими з генотипом ТТ (С-159Т), які отримували стандартну терапію та пробіотик. Усі досліджувані параметри оцінювали в момент рандомізації (день 0), на 14-й і 28-й дні.

Середній вік пацієнтів з ІgЕ-залежним АД ($(28,32 \pm 11,70)$ років) достовірно не відрізнявся ($p=0,520$) від осіб з ІgЕ-незалежною формою ($(29,11 \pm 9,99)$ років). Дослідні групи достовірно не різнилися ($P=0,851$) за гендерним показником (ІgЕ-залежний АД, співвідношення жінок до чоловіків – 11/8; ІgЕ-незалежний АД, співвідношення жінок до чоловіків – 10/8). Тривалість хвороби (ІgЕ-залежний АД – $(17,68 \pm 6,39)$; ІgЕ-незалежний АД – $(16,44 \pm 7,04)$; $p=0,676$) і кількість загострень за останній рік (ІgЕ-залежний АД – $(3,00 \pm 0,94)$; ІgЕ-незалежний АД – $(2,78 \pm 1,06)$; $p=0,625$) також достовірно не відрізнялися між групами.

Оцінка тяжкості захворювання за шкалою SCORAD на день 0, 14-й і 28-й дні представлена в табл. 5.1.

Як видно з отриманих результатів, у пацієнтів з генотипами СС і ТТ при ІgЕ-залежному АД стандартне лікування з пробіотиками на 28-й день достовірно знижувало кількість балів SCORAD. Водночас стандартна терапія у

хворих з генотипом СС призводила до зменшення кількості балів, але такі зміни були недостовірними ($p=0,121$). Найбільший ступінь зниження балів ($p=0,022$) мали пацієнти з генотипом СС на 28-й день, які отримували стандартне лікування з пробіотиками.

Таблиця 5.1

Динаміка балів SCORing Atopic Dermatitis під час лікування залежно від розподілу хворих за генотипами С-159Т (медіана, 95 % довірчий інтервал)

Групи		День 0	День 14	День 28	P1
IgE-залежний АД	генотип СС, стандартне лікування+пробіотики (n=7)	12,00 (10,50-21,52)	6,00 (2,50-10,02)	3,00 (2,00-5,51)#	0,001
	генотип СС, стандартне лікування (n=6)	12,50 (8,19-18,61)	7,50 (6,19-16,61)	5,50 (4,19-14,81)*	0,121
	генотип ТТ, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	14,00 (10,19-22,42)	8,50 (6,39-14,81)	6,50 (4,19-11,23)*#	0,015
	P2	0,786	0,132	0,022	
IgE-незалежний АД	генотип СС, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	14,50 (9,19-21,42)	9,00 (6,27-12,73)#	6,00 (4,19-7,81)#	0,006
	генотип СС, стандартне лікування (n=6)	14,00 (11,19-20,61)	11,00 (8,39-16,03)	9,50 (7,19-13,42)*#	0,039
	генотип ТТ, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	16,00 (10,00-23,42)	11,00 (7,39-13,61)	8,50 (6,19-9,81)*#	0,011
	P2	0,891	0,558	0,020	

Примітка. P1 – достовірність при множинному порівнянні з використанням тесту Краскела-Уолліса в групі на 0-й, 14-й і 28-й дні; P2 – достовірність при множинному порівнянні з використанням тесту Краскела-Уолліса між групами; * – достовірність відмінностей групи з генотипом СС (стандартне лікування+пробіотики) від груп з генотипами СС (стандартне

лікування), ТТ (стандартне лікування+пробіотики), $P < 0,05$; # – достовірність відмінностей груп на 0-й день порівняно з 14-м і 28-м, $P < 0,05$.

Зі свого боку при ІgЕ-незалежному АД у хворих усіх груп спостерігалось достовірне зниження кількості балів шкали SCORAD. У групі з генотипом СС, пацієнти якої отримували стандартне лікування з пробіотиками, чисельність балів SCORAD була достовірно нижчою ($p=0,020$) порівняно з іншими групами.

Наступним етапом роботи став аналіз якості життя хворих під час лікування. Дані балів індексу DLQI представлені в табл. 5.2.

Таблиця 5.2

Динаміка балів Dermatology Life Quality Index під час лікування залежно від розподілу пацієнтів за генотипами С-159Т (медіана, 95 % довірчий інтервал)

Групи		День 0	День 14	День 28	P1
ІgЕ-залежний АД	генотип СС, стандартне лікування+пробіотики (n=7)	10,00 (7,50-15,53)	7,00 (4,50-10,01)#	3,00 (2,00-3,50)#	0,001
	генотип СС, стандартне лікування (n=6)	9,50 (7,19-19,06)	6,50 (5,19-15,25)	4,50 (3,19-12,45)*#	0,037
	генотип ТТ, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	12,50 (6,19-21,42)	9,50 (4,19-14,81)	6,00 (3,19-11,61)*	0,150
	P2	0,841	0,715	0,012	
ІgЕ-незалежний АД	генотип СС, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	12,50 (6,39-19,42)	8,50 (5,00-13,42)	5,50 (3,19-8,42)#	0,034
	генотип СС, стандартне лікування (n=6)	11,00 (7,39-17,42)	7,00 (4,19-11,81)	4,50 (3,19-8,81)#	0,027
	генотип ТТ, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	13,50 (8,19-19,42)	10,00 (6,19-13,81)	6,00 (4,19-9,81)#	0,031
	P2	0,816	0,442	0,544	

Примітка. P1 – достовірність при множинному порівнянні з використанням тесту Краскела-Уолліса в групі на 0-й, 14-й і 28-й дні; P2 – достовірність при множинному порівнянні з використанням тесту Краскела-Уолліса між групами; * – достовірність відмінностей групи з генотипом СС (стандартне лікування+пробіотики) від груп з генотипами СС (стандартне лікування), ТТ (стандартне лікування+пробіотики), $P < 0,05$; # – достовірність відмінностей груп на 0-й день порівняно з 14-м і 28-м, $P < 0,05$.

Для IgE-залежної форми АД достовірне зменшення кількості балів DLQI було зафіксоване на 28-й день для хворих обох груп з генотипом СС ($p < 0,05$). Для пацієнтів з генотипом ТТ такі зміни були недостовірними ($p = 0,150$). Навпаки, для IgE-незалежного АД зниження кількості балів було достовірним ($p < 0,05$) для всіх груп. Найменша кількість балів спостерігалася в пацієнтів з генотипом СС (стандартне лікування+пробіотики), що достовірно відрізнялася ($p = 0,012$) від інших груп при IgE-залежній формі АД.

Динаміка концентрації ІЛ-4 представлена в табл. 5.3.

Таблиця 5.3

Вміст інтерлейкіну-4 (пкг/мл) у сироватці крові під час лікування залежно від розподілу пацієнтів за генотипами С-159Т (медіана, 95 % довірчий інтервал)

Групи		День 0	День 28	P1
IgE-залежний АД	генотип СС, стандартне лікування+пробіотики (n=7)	41,70 (19,98-43,81)*	12,90 (11,50-18,43)	0,004
	генотип СС, стандартне лікування (n=6)	30,20 (24,34-42,51)*	24,15 (14,16-34,77)*	0,240
	генотип ТТ, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	9,80 (8,12-24,58)	9,85 (6,73-19,47)	0,699
	P2	0,014	0,010	

Групи		День 0	День 28	P1
IgE-незалежний АД	генотип СС, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	29,05 (18,87-42,11)*	23,00 (16,32-30,39)*	0,240
	генотип СС, стандартне лікування (n=6)	29,90 (25,13-39,56)*	24,20 (18,07-34,08)*	0,078
	генотип ТТ, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	16,35 (9,91-24,43)	12,90 (8,53-19,42)	0,310
	P2	0,017	0,023	

Примітка. P1 – порівняння центральних тенденцій між 0-м і 28-м днями з використанням U-критерію Манна-Уїтні; P2 – достовірність при множинному порівнянні з використанням тесту Краскела-Уолліса між групами; * – достовірність відмінностей групи з генотипом СС (стандартне лікування+пробіотики) від груп з генотипами СС (стандартне лікування), ТТ (стандартне лікування+пробіотики), $P < 0,05$; # – достовірність відмінностей групи з генотипом СС (стандартне лікування+пробіотики) від групи з генотипом СС (стандартне лікування), $P < 0,05$.

На момент рандомізації (день 0) концентрація ІЛ-4 в осіб з генотипом ТТ була достовірно нижчою порівняно з генотипом СС для двох груп як при ІgE-залежному, так й ІgE-незалежному АД. На 28-й день лікування спостерігалось достовірне ($p=0,004$) зменшення цього цитокіну тільки в пацієнтів з генотипом СС при ІgE-залежному АД, які отримували стандартну терапію з пробіотиками. Для ІgE-незалежної форми АД таких достовірних змін отримано не було.

У хворих з генотипом ТТ рівень ІЛ-5 (табл. 5.4) був достовірно нижчим порівняно з іншими групами як у день рандомізації, так і на 28-му добу. У процесі лікування концентрація ІЛ-5 достовірно не змінювалася в жодній з

досліджуваних груп.

Таблиця 5.4

Вміст інтерлейкіну-5 (пкг/мл) у сироватці крові під час лікування залежно від розподілу пацієнтів за генотипами С-159Т (медіана, 95 % довірчий інтервал)

Групи		День 0	День 28	P1
IgE-залежний АД	генотип СС, стандартне лікування+пробіотики (n=7)	30,70 (23,18-43,16)*	23,10 (16,74-35,14)*	0,074
	генотип СС, стандартне лікування (n=6)	28,80 (20,68-44,06)*	24,50 (15,72-34,93)*	0,132
	генотип ТТ, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	20,50 (10,64-25,46)	13,85 (9,62-21,56)	0,240
	P2	0,023	0,048	
IgE-незалежний АД	генотип СС, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	28,10 (20,59-45,97)*	24,65 (15,64-37,95)*	0,394
	генотип СС, стандартне лікування (n=6)	35,40 (29,87-48,62)*	29,85 (24,59-39,20)*	0,240
	генотип ТТ, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	15,80 (9,77-23,45)	12,40 (8,86-18,91)	0,379
	P2	0,003	0,004	

Примітка. P1 – порівняння центральних тенденцій між 0-м і 28-м днями з використанням U-критерію Манна-Уїтні; P2 – достовірність при множинному порівнянні з використанням тесту Краскела-Уолліса між групами; * – достовірність відмінностей групи з генотипом ТТ (стандартне лікування+пробіотики) від груп з генотипами СС (стандартне лікування) та СС (стандартне лікування+пробіотики), $P < 0,05$; # – достовірність відмінностей групи з генотипом СС (стандартне лікування+пробіотики) від групи з

генотипом СС (стандартне лікування), $P < 0,05$.

Зі свого боку концентрація ІЛ-10 (табл. 5.5) була достовірно вищою на початку та наприкінці лікування в групах пацієнтів з генотипом ТТ порівняно з СС. Терапія як ІgЕ-залежного, так й ІgЕ-незалежного АД не призвела до достовірних змін у концентрації ІЛ-10.

Таблиця 5.5

Вміст інтерлейкіну-10 (пкг/мл) у сироватці крові під час лікування залежно від розподілу пацієнтів за генотипами С-159Т (медіана, 95 % довірчий інтервал)

Групи		День 0	День 28	P1
ІgЕ-залежний АД	генотип СС, стандартне лікування+пробіотики (n=7)	15,40 (10,15-26,45)*	22,20 (13,65-30,20)*	0,210
	генотип СС, стандартне лікування (n=6)	19,25 (11,98-26,52)*	18,90 (14,69-32,67)*	0,589
	генотип ТТ, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	44,65 (39,99-56,23)	46,75 (37,01-62,68)	0,818
	P2	0,003	0,003	
ІgЕ-незалежний АД	генотип СС, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	25,70 (16,34-37,96)*	27,70 (19,87-38,24)*	0,749
	генотип СС, стандартне лікування (n=6)	23,55 (16,68-43,63)*	25,20 (21,07-46,01)*	0,589
	генотип ТТ, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	58,45 (37,61-70,55)	67,85 (47,97-75,34)	0,485
	P2	0,008	0,004	

Примітка. P1 – порівняння центральних тенденцій між 0-м і 28-м днями з використанням U-критерію Манна-Уїтні; P2 – достовірність при множинному

порівнянні з використанням тесту Краскела-Уолліса між групами; * – достовірність відмінностей групи з генотипом ТТ (стандартне лікування+пробіотики) від груп з генотипами СС (стандартне лікування) та СС (стандартне лікування+пробіотики), $P < 0,05$; # – достовірність відмінностей групи з генотипом СС (стандартне лікування+пробіотики) від групи з генотипом СС (стандартне лікування), $P < 0,05$.

Динаміка ТФР- β , на відміну від ІЛ-10, виявилася іншою. У пацієнтів з генотипом СС при ІgЕ-залежній формі АД (табл. 5.6), які отримували стандартне лікування з пробіотиками, вміст ТФР- β достовірно ($p = 0,001$) підвищувався на 28-му добу порівняно з днем рандомізації. Крім цього, рівень ТФР- β в цій групі на 28-му добу достовірно не відрізнявся від групи з генотипом ТТ. У всіх інших випадках концентрація цього цитокіну при генотипі ТТ була достовірно вищою порівняно з СС генотипом.

Результати проведеного дослідження показали, що додавання пробіотика до стандартного лікування (мазь флютиказону пропіонат 0,005 %, емолієнт) значно підвищувало ефективність лікування ІgЕ-залежного АД в дорослих з генотипом СС (С-159), що підтверджувалося клінічними (достовірне зниження індексів SCORAD і DLQI) й імунологічними (достовірне зменшення ІЛ-4 та підвищення ТФР- β) критеріями. Слід зазначити, що клінічна ефективність пробіотиків була зафіксована для різних форм і генотипів. На нашу думку, такі результати пояснюються високою активністю імунної відповіді 2-го типу саме в пацієнтів, які мають поєднання ІgЕ-залежної форми АД з генотипом СС. Пробіотики, ймовірно, викликають найбільш активну супресію саме в такій когорті хворих.

Отже, встановлення ІgЕ-залежної чи ІgЕ-незалежної форми, ідентифікація генотипів С-159Т, визначення вмісту сироваткових цитокінів ІЛ-4 та ТФР- β можуть слугувати алгоритмом персоналізованого лікування пацієнтів з АД.

Вміст трансформуючого фактора росту β (пкг/мл) у сироватці під час лікування залежно від розподілу пацієнтів за генотипами С-159Т (медіана, 95 % довірчий інтервал)

Групи		День 0	День 28	P1
IgE-залежний АД	генотип СС, стандартне лікування+пробіотики (n=7)	16,10 (13,69-21,61)*	35,90 (28,64-47,48)#	0,001
	генотип СС, стандартне лікування (n=6)	17,40 (12,91-25,43)*	18,30 (13,84-20,10)*#	0,998
	генотип ТТ, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	41,90 (31,81-50,34)	39,85 (32,66-52,83)	0,998
	P2	0,003	0,002	
IgE-незалежний АД	генотип СС, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	16,70 (11,12-32,59)*	18,20 (12,84-29,77)*	0,818
	генотип СС, стандартне лікування (n=6)	17,75 (13,17-26,64)*	17,95 (12,12-29,88)*	0,810
	генотип ТТ, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	46,90 (34,86-50,23)	46,85 (37,12-53,04)	0,631
	P2	0,003	0,003	

Примітка. P1 – порівняння центральних тенденцій між 0-м і 28-м днями з використанням U-критерію Манна-Уїтні; P2 – достовірність при множинному порівнянні з використанням тесту Краскела-Уолліса між групами; * – достовірність відмінностей групи з генотипом ТТ (стандартне лікування+пробіотики) від груп з генотипами СС (стандартне лікування) та СС (стандартне лікування+пробіотики), $P < 0,05$; # – достовірність відмінностей групи з генотипом СС (стандартне лікування+пробіотики) від групи з генотипом СС (стандартне лікування), $P < 0,05$.

У рамках проведеного дослідження основний курс лікування становив 28 днів і переважно був спрямований на купірування загострень. Оцінка віддалених результатів мала надзвичайно важливе значення. Для розуміння ефективності лікування загострень, зокрема впливу на частоту появи рецидивів, необхідно було оцінити динаміку балів SCORAD і DLQI на 3-й і 6-й місяці.

При аналізі віддалених результатів було встановлено, що значення індексу SCORAD (табл. 5.7) достовірно зменшувалося ($p=0,031$) тільки для групи пацієнтів з генотипом СС, які отримували стандартну терапію та пробіотики, хоча на 6-му місяці такі зміни майже не відрізнялися від значень на початку лікування. В інших групах позитивні ефекти, що були зафіксовані на 28-му добу, були практично відсутніми на 3-му та 6-му місяцях.

Таблиця 5.7

Динаміка балів SCORing Atopic Dermatitis залежно від розподілу пацієнтів за генотипами С-159Т на 3-й і 6-й місяці (медіана, 95 % довірчий інтервал)

Групи		День 0	Місяць 3	Місяць 6	P1
IgE-залежний АД	генотип СС, стандартне лікування+пробіотики (n=7)	12,00 (10,50- 21,52)	9,00 (4,52- 14,08)#	10,00 (6,35- 18,51)#	0,031
	генотип СС, стандартне лікування (n=6)	12,50 (8,19- 18,61)	11,50 (7,13- 17,59)	10,99 (8,19- 18,22)	0,351
	генотип ТТ, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	14,00 (10,19- 22,42)	12,64 (9,42- 18,55)	13,67 (12,14- 21,14)	0,418
	P2	0,786	0,251	0,453	

Групи		День 0	Місяць 3	Місяць 6	P1
IgE-незалежний АД	генотип СС, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	14,50 (9,19- 21,42)	12,35 (8,34- 19,52)#	11,55 (7,29- 18,98)#	0,255
	генотип СС, стандартне лікування (n=6)	14,00 (11,19- 20,61)	15,00 (12,27- 19,36)	14,33 (9,21- 18,77)	0,437
	генотип ТТ, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	16,00 (10,00- 23,42)	14,33 (8,69- 21,22)	15,63 (9,27- 19,37)	0,411
	P2	0,691	0,758	0,524	

Примітка. P1 – достовірність при множинному порівнянні з використанням тесту Краскела-Уолліса в групі на 0-й, 3-й і 6-й місяці; P2 – достовірність при множинному порівнянні з застосуванням тесту Краскела-Уолліса між групами; * – достовірність відмінностей групи з генотипом СС (стандартне лікування+пробіотики) від груп з генотипами СС (стандартне лікування) та ТТ (стандартне лікування+пробіотики), $P < 0,05$; # – достовірність відмінностей груп на 0-й день в порівнянні на 3-й і 6-й місяці, $P < 0,05$.

При аналізі індексу DLQI (табл. 5.8) були встановлені аналогічні закономірності. Достовірне ($p=0,045$) зниження індексу було зафіксоване тільки для групи пацієнтів з генотипом СС, які приймали стандартну терапію з пробіотиками. Для інших груп достовірних відмінностей встановити не вдалося.

Отже, аналізуючи віддалені результати, можна зробити висновок, що як призначення топічних кортикостероїдів, так і додавання пробіотиків у дорослих пацієнтів з легким ступенем тяжкості має тимчасовий позитивний клінічний ефект. Очевидно, що використання проактивної місцевої терапії з постійним

прийманням пробіотиків може мати значно кращу ефективність.

Таблиця 5.8

Динаміка балів Dermatology Life Quality Index залежно від розподілу пацієнтів за генотипами C-159T на 3-й і 6-й місяці (медіана, 95 % довірчий інтервал)

Групи		День 0	Місяць 3	Місяць 6	P1
IgE-залежний АД	генотип СС, стандартне лікування+пробіотики (n=7)	10,00 (7,50-15,53)	8,34 (6,34-13,47)#	8,89 (7,21-14,69)#	0,045
	генотип СС, стандартне лікування (n=6)	9,50 (7,19-19,06)	10,11 (6,39-17,44)	9,98 (8,19-16,45)	0,421
	генотип ТТ, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	12,50 (6,19-21,42)	11,23 (7,19-20,33)	10,67 (6,34-19,58)	0,354
	P2	0,841	0,715	0,612	
IgE-незалежний АД	генотип СС, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	12,50 (6,39-19,42)	13,21 (6,78-18,34)	11,64 (5,37-21,33)	0,434
	генотип СС, стандартне лікування (n=6)	11,00 (7,39-17,42)	10,69 (6,27-18,34)	11,23 (7,31-19,28)	0,519
	генотип ТТ, стандартне лікування+пробіотики (n=6)	13,50 (8,19-19,42)	12,69 (8,21-21,63)	12,59 (9,13-18,47)	0,631
	P2	0,816	0,642	0,744	

Примітка. P1 – достовірність при множинному порівнянні з використанням тесту Краскела-Уолліса в групі на 0-й, 3-й і 6-й місяці; P2 – достовірність при множинному порівнянні з використанням тесту Краскела-Уолліса між групами; * – достовірність відмінностей групи з генотипом СС (стандартне лікування+пробіотики) від груп з генотипами СС (стандартне лікування) та ТТ (стандартне лікування+пробіотики), $P < 0,05$; # – достовірність відмінностей груп на 0-й день порівняно з 14-м і 28-м, $P < 0,05$.

Інтерпретація результатів даного дослідження ґрунтується на даних невеликої кількості пацієнтів, що вимагає подальшого вивчення даної проблеми з залученням більшої кількості хворих.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Результати проведеної роботи показали, що частота IgE-залежного АД в дорослих становить 35,4 %, IgE-незалежного – 64,6 %. Вік пацієнтів при IgE-незалежному АД був достовірно більшим ($p=0,028$) порівняно з IgE-залежним. Початок захворювання на АД в осіб з IgE-незалежною формою у віковій групі старше 19 років був зареєстрований у 43,5 %, що достовірно відрізнялося ($p<0,001$) від імуноглобулін E-залежної форми (17,6 %).

Серед дорослих, в яких розвивається АД, пікова захворюваність виникає у віці 20-40 років, хоча після цього терміну поява АД не зникає. [192] Якщо врахувати всіх пацієнтів, у яких персистенція АД зберігається після дитинства, то частка дорослих осіб з АД зростає до 45 %. [188] АД у дорослих виникає переважно в жінок, хоча ця тенденція змінюється в осіб старше 65 років, коли захворювання частіше діагностується в чоловіків. [112]

У проведеному дослідженні при виконанні алергоанамнезу при IgE-незалежному АД було виявлено, що тригерами загострення з невисокою частотою можуть бути класичні алергени, хоча при проведенні шкірних прик-тестів сенсibilізація до вказаних алергенів не підтвердилася. Для IgE-незалежного АД характерними були загострення взимку, IgE-залежного – навесні та влітку.

При проведенні шкірних прик-тестів у пацієнтів з IgE-залежним АД була виявлена сенсibilізація до класичних алергенів (злакових (38,2 %), бур'янів (35,3 %), дерев (29,4 %) і лучних трав (32,4 %)) з максимальною частотою (64,7 %) до кліщів домашнього пилу та харчових продуктів.

Клінічна картина АД у хворих під час загострення не завжди корелює з підвищенням рівня загального IgE. IgE-незалежний АД може проявлятися поширеним висипом на шкірі, вираженою ліхеніфікацією, екскоріаціями й інфільтрацією шкіри, стійкою алергічною реакцією на зовнішні подразники в

різних вікових групах. [27]

Було показано, що підвищений рівень загального IgE в сироватці крові корелює зі збільшенням концентрації еозинофілів і базофілів у крові. Водночас рівень загального IgE та превалювання IgE-залежної форми АД зменшуються з віком. [101]

IgE-залежний АД характеризується збільшенням загального й алерген-специфічних IgE рівнів, еозинофілією та родинною історією atopічних захворювань. Навпаки, для IgE-незалежного АД характерний нормальний рівень IgE, пацієнти зазвичай не мають особистої або сімейної історії atopії. Як IgE-залежний, так й IgE-незалежний ендотипи демонструють сильну активацію Т-хелперів 2-го типу, що підтверджується однаковою ефективністю при лікуванні дупілумабом. [41,185] Проте IgE-незалежний АД показує сильнішу активацію Т-хелперів 17-го та 22-го типів, корелюючи з тяжкістю хвороби. [185]

У хворих на IgE-залежну форму АД не спостерігається посилення спонтанної й індукованої продукції *in vitro* клітинами IL-10 як у гострому, так і в хронічному періоді захворювання. Зі свого боку в пацієнтів з IgE-незалежною формою АД відмічається достовірне посилення індукованої продукції клітинами IL-10 у хронічному періоді хвороби. Крім цього, було показано, що в осіб з IgE-залежною формою АД, на відміну від IgE-незалежної, спостерігалось достовірне зниження показників спонтанної й індукованої продукції TGF- β клітинами *in vitro* в умовах загострення алергічного запалення, що, ймовірно, пов'язано з пригніченням функції Treg лімфоцитів. [17]

У відкритому пілотному дослідженні з включенням 5 пацієнтів (середній показник SCORAD – $(67,9 \pm 11,4)$, діапазон – 52,2-81,9; середній рівень IgE в сироватці крові – (5904 ± 5945) ОД/мл, діапазон – 1000-15600 МО/мл) була вивчена селективна імуноадсорбція. Результати дослідження показали, що

такий метод терапії ефективний у селективному зниженні рівня IgE в сироватці крові для всіх хворих (середнє зниження за циклом на (81 ± 12) %, діапазон – 64-93 %). Це також призвело до клінічно стійкого поліпшення перебігу АД з максимальним зниженням показників SCORAD та EASI до 35 % і 52 % порівняно з вихідними даними. [138]

Призначення омалізумабу (анти-IgE) може бути ефективним при лікуванні АД. Терапія зазвичай добре переноситься. До систематичного огляду були включені 26 досліджень з аналізом 174 пацієнтів. У 74,1 % був зафіксований позитивний ефект від лікування, починаючи від малої до повної відповіді. Рекомендація щодо використання в клінічній практиці очікує доказів з проведенням масштабніших рандомізованих контрольованих досліджень. [100]

Нещодавно здійснені дослідження показують, що перехід від гострого до хронічного запалення при АД є кількісним, а не якісним, водночас хронічний АД має одночасно посилені реакції Т-хелперів 1-го, 2-го та 17-го типів. [197]

Результати проведеної роботи вказують, що хронічне запалення при АД відбувається на тлі підвищення в периферичній крові ФНП- α , ІФ- γ , ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-5 та зниження ІЛ-10, ТФР- β .

Концентрація ФНП- α в периферичній крові була достовірно вищою в пацієнтів з IgE-незалежною формою АД порівняно з IgE-залежною. Вміст цитокінів 1/2-го типів і супресивних медіаторів між IgE-залежним та IgE-незалежним АД достовірно не відрізнявся.

Отже, клінічний поліморфізм і вплив мікроорганізмів на імунну систему тісно пов'язані з модуляцією запалення шкіри при АД, зокрема через активацію рецепторного комплексу CD14/TLR-4 ендотоксином грамнегативних бактерій.

У проведеному метааналізі з включенням дітей азійської популяції було

показано, що генотипи ТТ і СТ корелювали зі зниженим ризиком розвитку астми порівняно з атопічним генотипом СС. [213] В інших дослідженнях було повідомлено, що алель С був фактором ризику, та виявлено, що генотип СС корелює з позитивним результатом при проведенні шкірних прик-тестів. [58,189] Навпаки, в осіб, які є носіями алеля С, високий рівень ендотоксину мав захисний ефект. [133] В іншому дослідженні підвищений контакт з ендотоксином призводив до зниження ризику алергічної сенсibilізації, але й до підвищеного ризику неатопічного свистячого дихання в дітей з генотипом СС у положенні -159 гена CD14. [177]

В одній з робіт генотип CD14-159 корелював із загальним рівнем IgE, ця кореляція змінювалася залежно від різних рівнів впливу ендотоксину. [208] В осіб з генотипом СС частіше зустрічаються як клінічні ознаки атопічної хвороби, так і позитивність шкірного тесту з високим рівнем IgE в сироватці крові. [94,201] Аналогічно в дослідженні дітей в Індії генотип CD14 С-159 Т СС був сильно пов'язаним з атопічною астмою та сироватковим IgE. [172] Sackesen і співавт. [163] показали, що алель Т корелює з низьким рівнем загального IgE в дітей з атопічною астмою. Асоціація між генотипом С-159 Т та алергічною сенсibilізацією залежить від рівня впливу ендотоксинів: гомозиготи ТТ захищені при низькому рівні впливу та перебувають у зоні ризику на високих рівнях ендотоксину. [94] Ці дані свідчать про антагоністичну взаємодію між середовищем і С-159 Т як детермінант алергічної сенсibilізації: алель Т може бути або захисним фактором, або фактором ризику залежно від ступеня впливу мікробіологічних продуктів навколишнього середовища. [94]

В інших дослідженнях з поліморфізму С-159 Т не було виявлено кореляції з астмою й атопією (алергічний риніт) у дітей і дорослих. [98,123,170] Ще в одній роботі не спостерігалось кореляції між рівнями С-159 Т та IgE в сироватці

крові. [211]

В одному з досліджень було показано, що в дітей з генотипом СТ відмічалася достовірно нижча поширеність АД у віці 3-х років ($p=0,017$; χ^2 -тест) порівняно з генотипами СС і ТТ. Крім того, рівень ІЛ-13 у відповідь на фітогемаглютинін у дітей з генотипом СТ був значно нижчим (СТ: Ме – 102,8 пг/мл) порівняно з гомозиготами СС і ТТ (СС: Ме – 234,3 пг/мл; ТТ: Ме – 157,3 пг/мл; $p=0,02$; χ^2 -тест).

У відповідь на Der p 1 не було достовірних відмінностей у вивільненні ІЛ-13 між групами. Автори статті вказали на те, що генотип СТ (С159Т) зменшує ризик атопії внаслідок зниження продукції ІЛ-13. [120]

Результати проведеного дослідження показали, що ризик розвитку АД був достовірно підвищеним за наявності алеля С (С159Т) CD14 рецептора. Пацієнти з ІgЕ-залежним АД і генотипом СС мали високі рівні загального ІgЕ, ІЛ-5 та низькі – ІЛ-10, ТФР- β порівняно з СТ і ТТ генотипами.

Також зниження ризику розвитку ІgЕ-залежного й ІgЕ-незалежного АД було пов'язаним з превалюванням генотипів СТ і ТТ. Пацієнти з генотипами СТ і ТТ мали низьку концентрацію ІЛ-5 і високі рівні ІЛ-10, ТФР- β порівняно з гомозиготним генотипом СС.

У людей з поліморфізмом Asp299Gly TLR4 були показані зниження рівнів ІЛ-12 та ІЛ-10, що виробляються мононуклеарними клітинами, стимульованими ЛПС, і вчетверо збільшений ризик розвитку астми. [75]

У дослідження, що відбулося в Італії, були включені 187 пацієнтів з АД і 150 здорових дітей з вивченням 2-х поліморфізмів TLR4 (SNP D299G та T399I). Результати показали, що у хворих на АД достовірно відрізняється частота SNP D299G (14,9 %) порівняно з контролем (6,6 %). [166]

Порівнюючи сироваткові рівні ІФ- γ в пацієнтів з АД, автори ще одного дослідження виявили значне зниження рівня цього цитокіну в групі осіб з поліморфним генотипом (AG), що було в 1,6 раза нижче, ніж його рівень у

пацієнтів з АА генотипом. [199] Концентрації сироваткових інтерлейкінів ІЛ-4 й ІЛ-10 для гетерозиготної групи АG були в 1,3 й 1,6 раза вище порівняно з АА генотипом. Також у пацієнтів з АG генотипом спостерігали зниження рівня секреторного імуноглобуліну А в носовому секреті, що було в 1,4 раза нижче, ніж у групі з гомозиготним генотипом (генотип АА – 129,1 мкг/мл, генотип АG – 90,0 мкг/мл; $p < 0,05$). [199]

При вивченні поліморфізму А-896G (Asp299Gly) гена TLR-4 рецептора було встановлено, що ризик розвитку АД в дослідженні був достовірно підвищеним за наявності алеля G. При стратифікації пацієнтів на ІgE-залежний та ІgE-незалежний АД було виявлено, що підвищений ризик розвитку був пов'язаний тільки з ІgE-залежною формою.

Також було встановлено, що в пацієнтів з ІgE-незалежним АД рівень ІЛ-5 у сироватці крові при генотипі АG+GG був достовірно вищим порівняно з генотипом АА.

Вивчення генотипних частот поліморфізму TLR4 (Thr399Ile) показало, що гомозиготний СС генотип у хворих на астму (84,8 %) був достовірно більшим порівняно з контролем (79,5 %). Частота гетерозиготного генотипу СТ була вищою в контрольній групі (19,0 %) порівняно з пацієнтами з atopічною астмою (14,1 %). Гомозиготний мутантний (ТТ) генотип теж частіше зустрічався в контрольних суб'єктів (1,5 %), ніж у пацієнтів з астмою (1,1 %). Також було виявлено, що генотип СС порівняно з СТ+ТТ має ВШ=0,69, 95 % ДІ 0,49-0,98 зі значенням $P=0,038$. [179] Хоча інше дослідження не встановило взаємозв'язку між генетичними варіантами TLR4 399 та atopічними станами або астмою, також не спостерігалось суттєвого зв'язку між цими генетичними варіантами та тяжкістю астми. [165] Нещодавно проведений метааналіз теж не виявив зв'язку поліморфізму Thr399Ile TLR-4 з ризиком розвитку atopічних захворювань. [194]

Результати проведеної роботи також не встановили асоціації поліморфізму 1196 C>T (Thr399Ile) гена TLR-4 з ризиком розвитку АД в дорослих.

У пацієнтів з IgE-залежною формою АД була виявлена тенденція, що вказує на превалювання гетерозиготного генотипу СТ в поєднанні з підвищеними рівнями загального IgE й ІЛ-2.

Аналізуючи результати дослідження поліморфізму генів CD14/TLR-4 рецепторів у хворих на АД, можна дійти висновку, що генотип СС (С-159Т), на відміну від ТТ (С-159Т), характеризується вищою активністю атопії (високі рівні загального IgE, ІЛ-5 та низькі – ІЛ-10, ТФР-β). З урахуванням моделювального впливу пробіотиків на хронічне запалення при АД (знижують активність імунної відповіді 2-го типу) цікавим є вивчення впливу цих препаратів на клінічні й імунологічні параметри імунного запалення при різних фенотипах АД з урахуванням розподілу пацієнтів на генотипи СС (С-159Т) і ТТ (С-159Т).

Позитивний ефект від призначення пробіотиків виникає з кількох можливих імунологічних механізмів, включаючи модуляцію активації Тх-клітин, індукцію регуляторних Т-лімфоцитів (Трег) і поліпшення відновлення бар'єрної функції. [40] Крім того, застосування пробіотиків збільшує кількість популяцій Т-регуляторних лімфоцитів у експериментальних моделях алергічних захворювань, включаючи АД, найбільш імовірно – індукуючи регуляторні дендритні клітини. [78,110,119]

У рандомізованому подвійному сліпому плацебо-контрольованому дослідженні оцінювали клінічну ефективність приймання пробіотичного штаму (*Lactobacillus salivarius* LS01) у лікуванні дорослих пацієнтів з АД. Були включені 38 хворих на АД, які приймали пробіотики впродовж 16 тижнів. Пацієнти, які отримували пробіотики, показали статистичне зниження індексів SCORAD ($p < 0,0001$) і DLQI ($p = 0,021$) наприкінці

лікування порівняно з групою плацебо. Також було доведено, що терапія *L.salivarius* LS01 зменшує вироблення цитокінів Т-х 2-го типу, зберігаючи стабільну концентрацію Тх-1 цитокінів. Наприкінці лікування також спостерігалось статистично достовірне зниження стафілококів у фекаліях пацієнтів, які приймали пробіотики. [71]

Щоденне вживання йогурту, що містить штам *Lactococcus lactis* 11/19-B1, протягом 8 тижнів значно покращило показник рівня тяжкості АД (SCORAD) з $(38,8 \pm 14,4)$ до $(24,2 \pm 12,0)$ у дітей, які страждали на це захворювання. Гістологічні спостереження показали, що приймання *L. lactis* 11/19-B1 значно пригнічує важкі запальні процеси, як-от фільтрація запальних клітин, епідермальна ерозія й інфільтрація еозинофілів. [187]

48 дорослих пацієнтів були включені в дослідження й отримували лікування комбінацією (*Lactobacillus salivarius* LS01 і *Bifidobacterium breve* BR03 або плацебо) протягом 12 тижнів. Хворі, які одержували пробіотики, показали значне поліпшення клінічних показників (SCORAD ($P < 0,0001$) і DLQI ($P = 0,021$)) від початкових даних. Пробиотики знижували мікробну транслокацію ($P = 0,050$), імунну активацію ($P < 0,001$), покращували відношення Т-хелперів 17/регуляторних Т-клітин (Treg) ($P = 0,029$) і Th1/Th2 ($P = 0,028$). Жодна з цих змін не спостерігалася в групі плацебо. [102]

Результати проведеної роботи показали, що додавання пробіотика (*Lactobacillus acidophilus* (LA-5), *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* (BB-12)) до стандартної терапії захворювання (мазь флютиказону пропіонат 0,005 %, емолієнт) протягом 28 днів значно підвищувало ефективність лікування IgE-залежного АД в дорослих з генотипом CC (C-159), що підтверджувалося клінічними (достовірне зниження індексів SCORAD і DLQI) й імунологічними (достовірне зменшення IL-4 та підвищення ТФР- β) критеріями.

Отже, інтегруючи результати проведеного дослідження, можна дійти висновку, що системне хронічне запалення при IgE-залежній та IgE-незалежній

формах АД тісно пов'язане з поліморфізмом генів рецепторного комплексу CD14/TLR-4 та може моделюватися призначенням пробіотиків.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вирішене наукове завдання – удосконалення персоналізованої діагностики та лікування дорослих хворих на atopічний дерматит шляхом вивчення клінічних, інструментальних, імунологічних критеріїв стратифікації на імуноглобулін Е-залежну (екзогенну) й імуноглобулін Е-незалежну (ендогенну) форми та визначення ризику розвитку захворювання, ендотоксин-опосередкованого імунопатогенезу й ефективності пробіотиків з урахуванням поліморфізму генів рецепторів CD14/TLR-4.

1. За даними крос-секційного дослідження з включенням 96 дорослих пацієнтів (59 % жінок, 41 % чоловіків, середній вік – 26 років; 95 % довірчий інтервал 24,00-28,08) було встановлено, що частота імуноглобулін Е-залежного atopічного дерматиту складає 35,4 %, імуноглобулін Е-незалежного – 64,6 %. Додатковим клінічним критерієм для диференціації імуноглобулін Е-залежної й імуноглобулін Е-незалежної форм atopічного дерматиту є вік хворих. Встановлено, що початок захворювання на atopічний дерматит у пацієнтів з імуноглобулін Е-незалежною формою у віковій групі старше 19 років зареєстрований у 43,5 %, що достовірно відрізнялося ($p < 0,001$) від імуноглобулін Е-залежної форми (17,6 %). Для імуноглобулін Е-незалежного atopічного дерматиту характерні загострення взимку ($p = 0,028$), імуноглобулін Е-залежного – навесні та влітку ($p < 0,001$).

2. За результатами шкірних прик-тестів у пацієнтів з імуноглобулін Е-залежним atopічним дерматитом виявлена сенсibiliзація до класичних алергенів (злакових (38,2 %), бур'янів (35,3 %), дерев (29,4 %) і лучних трав (32,4 %)) з максимальною частотою (64,7 %) до кліщів домашнього пилу та харчових продуктів.

3. Встановлено, що хронічне запалення в досліджуваній популяції асоціюється з достовірним ($P < 0,05$) підвищенням у периферичній крові фактора

некрозу пухлин α , медіаторів імунної відповіді 1/2-го типів (інтерферон γ , інтерлейкін-2, 4, 5) і зниженням супресивних цитокінів (інтерлейкін-10, трансформуючий фактор росту- β) порівняно з контролем. Для імуноглобулін Е-незалежної форми atopічного дерматиту, на відміну від імуноглобулін Е-залежної, характерне достовірне ($P < 0,05$) підвищення рівня фактора некрозу пухлин α в периферичній крові відносно контрольної групи ($(1,90 \pm 0,97)$ для імуноглобулін Е-незалежного atopічного дерматиту, $(1,32 \pm 0,71)$ для групи контролю). Водночас відсутні достовірні ($P > 0,05$) відмінності в концентрації цитокінів 1/2-го типів і супресивних медіаторів між імуноглобулін Е-залежним та імуноглобулін Е-незалежним atopічним дерматитом.

4. Встановлено, що розвиток atopічного дерматиту достовірно асоційований (відношення шансів=1,561; $P=0,033$) з алелем С поліморфної ділянки С-159Т CD14 рецептора. Зниження ризику розвитку як імуноглобулін Е-незалежного, так й імуноглобулін Е-залежного atopічного дерматиту асоціюється з превалюванням у популяції генотипів СТ і ТТ. Також ризик розвитку atopічного дерматиту залежить від поліморфізму А-896G (Asp299Gly) гена TLR-4 рецептора та достовірно підвищений (відношення шансів=2,448; $P=0,006$) за наявності алеля G. При стратифікації пацієнтів на імуноглобулін Е-залежний та імуноглобулін Е-незалежний atopічний дерматит встановлено, що підвищений ризик розвитку пов'язаний тільки з імуноглобулін Е-залежною формою. Виявлено, що розвиток atopічного дерматиту в дорослих у досліджуваній популяції не асоційований з поліморфізмом 1196 С>Т (Thr399Ile) гена TLR-4.

5. За наявності генотипу СС поліморфної ділянки С-159Т гена рецептора CD14 для пацієнтів з імуноглобулін Е-залежним atopічним дерматитом характерні високі рівні загального імуноглобуліну Е, інтерлейкіну-5 і низькі – інтерлейкіну-10, трансформуючого фактора росту- β порівняно з іншими генотипами. Знижений ризик розвитку atopічного дерматиту за

наявності алеля Т характеризується низькою концентрацією інтерлейкіну-5 і високою – інтерлейкіну-10, трансформуючого фактора росту- β відносно гомозиготного генотипу СС. У пацієнтів з імуноглобулін Е-незалежним atopічним дерматитом рівень інтерлейкіну-5 у сироватці крові при генотипі АG+GG поліморфної ділянки А-896G (Asp299Gly) гена TLR-4 є достовірно вищим ($P<0,05$) порівняно з генотипом АА. При поліморфізмі 1196 С>Т (Thr399Ile) гена TLR-4 в осіб з імуноглобулін Е-залежною формою atopічного дерматиту виявлена тенденція, що вказує на превалювання гетерозиготного генотипу СТ (відношення шансів=3,000; $P=0,065$) у поєднанні з підвищеними рівнями загального імуноглобуліну Е й інтерлейкіну-2.

6. Додавання пробіотика (*Lactobacillus acidophilus* (LA-5), *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* (BB-12)) до стандартної терапії захворювання (мазь флютиказону пропіонат 0,005 %, емолієнт) протягом 28 днів значно підвищує ефективність лікування імуноглобулін Е-залежного atopічного дерматиту у хворих з генотипом СС (С-159), що підтверджується клінічними критеріями (достовірне зниження ($P<0,05$) індексів SCORing Atopic Dermatitis (медіана – з 12,0 до 3,0 балів; $p<0,001$) і Dermatology Life Quality Index (медіана – з 10,0 до 3,0 балів; $p<0,001$), рівня інтерлейкіну-4 (медіана – з 41,70 до 12,90 пкг/мл; $p=0,004$) та підвищення рівня трансформуючого фактора росту- β (з 16,10 до 35,90 пкг/мл; $p=0,001$).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Додатковими клінічними критеріями для стратифікації імуноглобулін Е-залежного від імуноглобулін Е-незалежного atopічного дерматиту, крім визначення рівня загального імуноглобуліну Е, проведення шкірних прик-тестів (береза, вільха клейка, ліщина звичайна, дуб, грястиця збірна, тонконіг лучний, пажитниця багаторічна, костриця лучна, китник лучний, стоколос прямий, пирій повзучий, жито посівне, тимофіївка лучна, амброзія, лобода, соняшник, домашній пил, збагачений *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Acarus siro* та пір'я подушок, алерген з коров'ячого молока, білка курячих яєць, жовтка курячих яєць, яловичини, свинини, сьомги, лосося, пшеничного борошна, томатів, апельсину, мандарину, арахісу, горіха волоського та фундука), можуть бути вік пацієнтів і початок розвитку захворювання.

Для прогнозування ризику розвитку atopічного дерматиту раціональним є встановлення поліморфізму генів рецепторів CD14/TLR-4. У пацієнтів з генотипом CC або CT (C159T-CD14), AG (A-896G-TLR-4) зростає ймовірність розвитку atopічного дерматиту.

При генотипі CC поліморфної ділянки C-159T гена рецептора CD14 при імуноглобулін Е-залежному atopічному дерматиті доцільним є додаткове призначення пробіотика (*Lactobacillus acidophilus* (LA-5), *Bifidobacterium animalis subsp. Lactis* (BB-12)) до стандартної терапії на 28 днів з метою більш ефективного лікування загострення atopічного дерматиту.

Встановлення імуноглобулін Е-залежної чи імуноглобулін Е-незалежної форми, ідентифікація генотипів C-159T рецептора CD14, визначення вмісту сироваткових цитокінів (інтерлейкін-4 та трансформуючий фактор росту- β) можуть слугувати додатковими

критеріями персоналізованого призначення пробіотиків у дорослих хворих на atopічний дерматит.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Александрук ОД. Вплив системного стандартного лікування на стан бактеріального заселення шкіри дорослих хворих на atopічний дерматит. Галиц. лікар. вісн. 2014;21(3):8-9.
2. Белоглазов ВА, Знаменская ЛК. Местный и системный антиэндотоксиновый иммунитет при специфической иммунотерапии бронхиальной астмы. В: Матеріали I-го Національного Астма Конгресу; 2007; Київ. Астма та алергія. 2007;(1-2):66.
3. Бисюк ЮА. Полиморфизм (ASP299GLY) гена TLR-4 у взрослых больных бронхиальной астмой с atopическим и неatopическим фенотипом в популяции Крыма. Пульмонология. 2014;(3):68-72.
4. Бисюк ЮА, Белоглазов ВА, Дубовой АИ, Знаменская ЛК. С159Т полиморфизм гена рецептора CD 14 у взрослых больных с atopическим и неatopическим фенотипом бронхиальной астмой в популяции Крыма. Імунологія та алергологія. 2013;(4):9-15.
5. Болотная ЛА, Осипенко ТС. Коррекция дисбиоза у больных atopическим дерматитом. Дерматологія та венерологія. 2014;(3):67-8.
6. Возіанова СВ, Літус ОІ, Літус ВІ, Мурзіна ЕО. Екземи. В: Зб. наук. пр. співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. Київ; 2015;(24 Кн 4). с. 358-64.
7. Воронько ОЕ, Дмитриева-Здорова ЕВ, Латышева ЕА, Аксенова МГ, Сторожаков ГИ, Бодоев НВ, и др. Полиморфные варианты генов CARD15 и TLR4 при atopической бронхиальной астме. Молекуляр. биология. 2011;45(5):831-9.
8. Деркач НВ. Алергоанамнез та шкірні прик-тести у дорослих, хворих на atopічний дерматит. Дерматологія та венерологія. 2017;(4):42-6.
9. Деркач НВ. Клінічні критерії стратифікації екзогенного (IGE-залежного) та ендогенного (IGE-незалежного) atopічного дерматиту у

дорослих. Акт. проблеми сучас. медицини: Вісн. Укр. мед. стоматол. акад. 2018;18(1):29-34.

10. Іщейкін КЄ. Штучне вигодовування як провокуючий фактор atopічного дерматиту у дітей. Проблеми екології та медицини. 2012;16(5-6):3-7.

11. Калюжна ЛД. Місце топічних глюкокортикоїдів у лікуванні дерматитів різної етіології. Здоров'є жінчини. 2016;(8):33-6.

12. Калюжна ЛД, Гречанська ЛВ. Обґрунтування застосування імунобіотиків при алергійних захворюваннях шкіри. Укр. журн. дерматології, венерології, косметології. 2015;(3):95-8.

13. Калюжна ЛД, Паппа ІВ. Особливості алергологічного статусу пацієнтів хворих на atopічний дерматит з урахуванням сімейної схильності. Дерматологія та венерологія. 2015;(2):49-60.

14. Калюжна ЛД, Ошивалова ОО, Бойчук АМ, Резнікова АА. Погляд на лікування алергодерматозів. Укр. журн. дерматології, венерології, косметології. 2011;(4):56-60.

15. Калюжная ЛД. Принципы топической терапии atopического дерматита. Укр. мед. часопис. 2014;(5):59-61.

16. Крючко ТА, Вовк ЮА, Ткаченко ОЯ. Роль генетических факторов в развитии тяжелой atopической бронхиальной астмы у детей. Здоров'є ребенка. 2012;(5):58-62.

17. Курченко АІ. Функціональна активність моноклеарних клітин *in vitro* у хворих на atopічний дерматит за продукцією цитокінів (IL-10 TGF- β) у гострому хронічному періоді захворювання. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2013;(3):24-8.

18. Литус АІ, Деркач НВ, Литус ВІ. Цитокиновый профиль и А-896G полиморфизм гена TLR-4 при atopическом дерматите у взрослых. Лаб. диагностика. Вост. Европа. 2018;7(1):104-11.

19. Литус ВІ, Деркач НВ, Литус АІ. Воспалительные/супрессивные

- цитокины периферической крови и 1196 СТ (Thr399Ile) полиморфизм гена TLR-4 при atopическом дерматите у взрослых. Лаб. диагностика. Вост. Европа. 2018;7(3):333-41.
20. Літус ВІ, Деркач НВ, Літус ОІ. Клінічні та імуногенетичні особливості перебігу atopічного дерматиту. Здоров'я суспільства. 2018;7(3):142-9.
21. Літус ОІ, Деркач НВ, Літус ВІ. Цитокінний профіль периферичної крові при екзогенному (IgE-залежному) та ендogenous (IgE-незалежному) atopічному дерматиті у дорослих. Імунологія та алергологія. 2017;(2):22-6.
22. Літус ОІ, Деркач НВ, Літус ВІ. С-159Т поліморфізм гену CD14 та цитокінний профіль при atopічному дерматиту у дорослих. Укр. журн. медицини, біології та спорту. 2018;3(1):156-63.
23. Маштакова ІО. Обґрунтування необхідності базової терапії у хворих на atopічний дерматит. Дерматологія та венерологія. 2014;(2):53-7.
24. Паппа ІВ. Аналіз мутацій гену філаггріну у хворих на atopічний дерматит, що генетично обтяжені. В: Зб. наук. пр. співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. Київ; 2013;(22 Кн 3). с. 101-6.
25. Паппа ІВ, Губко ЛМ. Особливості вмісту Ig E, експресії CD-22 та алергізації організму у хворих на atopічний дерматит з урахуванням сімейної схильності. Дерматологія та венерологія. 2013;(1):39-44.
26. Попова ІБ, Дудченко МО, Артеменко АФ, Васильєва КВ. Аналіз структури мікробіоценозу шкіри у дітей хворих на atopічний дерматит. Дерматовенерологія. Косметологія. Сексопатологія. 2014;(1-4):165-7.
27. Резнікова АО. Клінічна характеристика дітей та дорослих у IgE-залежного та IgE-незалежного atopічного дерматиту. В: Зб. наук. пр. співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. Київ; 2014;(23 Кн 2). с. 478-84.
28. Солошенко ЕМ, Волкославська ВМ, Гутнев ОЛ. Динаміка

розповсюдженості та захворюваності на поширені дерматози в Україні і Харківському регіоні за останні 10 років. *Дерматологія та венерологія*. 2014;(1):69-78.

29. Солошенко ЕМ, Савенкова ВВ, Шевченко ЗМ, Ярмач ТП. Стан гуморального імунітету у хворих на алергодерматози в залежності від тяжкості перебігу. *Дерматологія та венерологія*. 2013;(2):38-44.

30. Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної спеціалізованої, третинної високоспеціалізованої медичної допомоги “Атопічний дерматит”. *Клін. імунологія. Алергологія. Інфектологія*. 2016;(8):37-44.

31. Федорців ОЄ, Мочульська ОМ, Олійник ЯВ. Стан клітинного та гуморального імунітету, цитокіновий статус і медіатори запалення при атопічному дерматиті в дітей. *Акт. питання педіатрії, акушерства та гінекології*. 2016;(2):26-8.

32. Abrouk M, Farahnik B, Zhu TH, Nakamura M, Singh R, Lee K, et al. Apremilast treatment of atopic dermatitis and other chronic eczematous dermatoses. *J Am Acad Dermatol*. 2017 Jul;77(1):177-80.

33. Adjers K, Karjalainen J, Pessi T, Eklund C, Hurme M. Epistatic effect of TLR4 and IL4 genes on the risk of asthma in females. *Int Arch Allergy Immunol*. 2005 Nov;138(3):251-6.

34. Akdis CA, Arkwright PD, Bruggen MC, Busse W, Gadina M, Guttman-Yassky E, et al. Type 2 immunity in the skin and lungs. *Allergy*. 2020 Jul;75(7):1582-605.

35. Al-Shobaili HA, Ahmed AA, Alnomair N, Alobead ZA, Rasheed Z. Molecular genetic of atopic dermatitis: an update. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2016 Jan;10(1):96-120.

36. Arbour NC, Lorenz E, Schutte BC, Zabner J, Kline JN, Jones M, et al. TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat Genet*. 2000 Jun;25(2):187-91.

37. Bach JF. The protective effect of infections on immune disorders. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2005 Apr;40 Suppl 1:S8.
38. Baldini M, Lohman IC, Halonen M, Erickson RP, Holt PG, Martinez FD. A Polymorphism* in the 5' flanking region of the CD14 gene is associated with circulating soluble CD14 levels and with total serum immunoglobulin E. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1999 May;20(5):976-83.
39. Bannister MJ, Freeman S. Adult-onset atopic dermatitis. *Australas J Dermatol.* 2000 Nov;41(4):225-8.
40. Baquerizo Nole KL, Yim E, Keri JE. Probiotics and prebiotics in dermatology. *J Am Acad Dermatol.* 2014 Oct;71(4):814-21.
41. Beck LA, Thaci D, Hamilton JD, Graham NM, Bieber T, Rocklin R, et al. Dupilumab treatment in adults with moderate-to-severe atopic dermatitis. *N Engl J Med.* 2014 Jul 10;371(2):130-9.
42. Bieber T. Atopic dermatitis. *N Engl J Med.* 2008 Apr 3;358(14):1483-94.
43. Bieber T. Atopic dermatitis 2.0: from the clinical phenotype to the molecular taxonomy and stratified medicine. *Allergy.* 2012 Dec;67(12):1475-82.
44. Bieber T, D'Erme AM, Akdis CA, Traidl-Hoffmann C, Lauener R, Schappi G, et al. Clinical phenotypes and endophenotypes of atopic dermatitis: Where are we, and where should we go? *J Allergy Clin Immunol.* 2017 Apr;139(4S):S58-64.
45. Bieber T, Vieths S, Broich K. New opportunities and challenges in the assessment of drugs for atopic diseases. *Allergy.* 2016 Dec;71(12):1662-5.
46. Bieber T, Straeter B. Off-label prescriptions for atopic dermatitis in Europe. *Allergy.* 2015 Jan;70(1):6-11.
47. Bisyuk Y, Litus O, Derkach N, Litus V, DuBuske LM. Assessment of the impact of the A-896G polymorphism of the TLR-4 gene in adults with extrinsic and intrinsic atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2019 Feb;143(2 Suppl, Programs and Abstracts of Papers to be Presented During Scientific Sessions: 2019 AAAAI

Annual Meeting):AB124.

48. Bjorksten B, Sepp E, Julge K, Voor T, Mikelsaar M. Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 Oct;108(4):516-20.
49. Bjorksten B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. *Clin Exp Allergy*. 1999 Mar;29(3):342-6.
50. Blanchet-Rethore S, Bourdes V, Mercenier A, Haddar CH, Verhoeven PO, Andres P. Effect of a lotion containing the heat-treated probiotic strain *Lactobacillus johnsonii* NCC 533 on *Staphylococcus aureus* colonization in atopic dermatitis. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2017 Jul 3;10:249-57.
51. Bonefeld CM, Geisler C. The role of innate lymphoid cells in healthy and inflamed skin. *Immunol Lett*. 2016 Nov;179:25-8.
52. Boyle RJ, Leonardi-Bee J, Bath-Hextall FJ, Tang ML. Probiotics for the treatment or prevention of eczema. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 Jan;123(1):266-7.
53. Brauweiler AM, Goleva E, Leung DYM. Th2 cytokines increase *Staphylococcus aureus* alpha toxin-induced keratinocyte death through the signal transducer and activator of transcription 6 (STAT6). *J Invest Dermatol*. 2014 Aug;134(8):2114-21.
54. Brogger P, Blom LH, Simonsen S, Thyssen JP, Skov L. Antagonism of the interleukin 4 receptor α promotes T_H 1-signalling among T cells from patients with atopic dermatitis after stimulation. *Scand J Immunol*. 2020 Jan;91(1):e12835.
55. Bruggen MC, Bauer WM, Reininger B, Clim E, Captarencu C, Steiner GE, et al. In situ mapping of innate lymphoid cells in human skin: evidence for remarkable differences between normal and inflamed skin. *J Invest Dermatol*. 2016 Dec;136(12):2396-405.

56. Brunner PM, Silverberg JI, Guttman-Yassky E, Paller AS, Kabashima K, Amagai M, et al. Increasing comorbidities suggest that atopic dermatitis is a systemic disorder. *J Invest Dermatol*. 2017 Jan;137(1):18-25.
57. Brunner PM, Guttman-Yassky E, Leung DY. The immunology of atopic dermatitis and its reversibility with broad-spectrum and targeted therapies. *J Allergy Clin Immunol*. 2017 Apr;139(4S):S65-S76.
58. Buckova D, Holla LI, Znojil V, Vasku A. Polymorphisms of the CD14 gene and atopic phenotypes in Czech patients with IgE-mediated allergy. *J Hum Genet*. 2006;51(11):977-83.
59. Cole C, Kroboth K, Schurch NJ, Sandilands A, Sherstnev A, O'Regan GM, et al. Filaggrin-stratified transcriptomic analysis of pediatric skin identifies mechanistic pathways in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Jul;134(1):82-91.
60. Cookson WO. The genetics of atopic dermatitis: strategies, candidate genes, and genome screens. *J Am Acad Dermatol*. 2001 Jul;45(1 Suppl):S7-9.
61. Czarnowicki T, Krueger JG, Guttman-Yassky E. Skin barrier and immune dysregulation in atopic dermatitis: an evolving story with important clinical implications. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2014 Jul-Aug;2(4):371-9.
62. Czerkies M, Kwiatkowska K. Toll-like receptors and their contribution to innate immunity: focus on TLR4 activation by lipopolysaccharide. *Med J Cell Biol*. 2014 Mar;4(1):1-23.
63. D'Auria E, Banderali G, Barberi S, Gualandri L, Pietra B, Riva E, et al. Atopic dermatitis: recent insight on pathogenesis and novel therapeutic target. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2016 Jun;34(2):98-108.
64. Danso MO, van Drongelen V, Mulder A, van Esch J, Scott H, van Smeden J, et al. TNF- α and Th2 cytokines induce atopic dermatitis-like features on epidermal differentiation proteins and stratum corneum lipids in human skin equivalents. *J Invest Dermatol*. 2014 Jul;134(7):1941-50.

65. Deckert S, Kopkow C, Schmitt J. Nonallergic comorbidities of atopic eczema: an overview of systematic reviews. *Allergy*. 2014 Jan;69(1):37-45.
66. Deguchi A, Tomita T, Omori T, Komatsu A, Ohto U, Takahashi S, et al. Serum amyloid A3 binds MD-2 to activate p38 and NF- κ B pathways in a MyD88-dependent manner. *J Immunol*. 2013 Aug 15;191(4):1856-64.
67. Deleuran MS, Vestergaard C. Therapy of severe atopic dermatitis in adults. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2012 Jun;10(6):399-406.
68. den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud DJ, Bakker BM. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J Lipid Res*. 2013 Sep;54(9):2325-40.
69. Dharmage SC, Lowe AJ, Matheson MC, Burgess JA, Allen KJ, Abramson MJ. Atopic dermatitis and the atopic march revisited. *Allergy*. 2014 Jan;69(1):17-27.
70. Dhingra N, Guttman-Yassky E. A possible role for IL-17A in establishing Th2 inflammation in murine models of atopic dermatitis. *J Invest Dermatol*. 2014 Aug;134(8):2071-4.
71. Drago L, Iemoli E, Rodighiero V, Nicola L, De Vecchi E, Piconi S. Effects of *Lactobacillus salivarius* LS01 (DSM 22775) treatment on adult atopic dermatitis: a randomized placebo-controlled study. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2011 Oct-Dec;24(4):1037-48.
72. Duerr CU, Zenk SF, Chassin C, Pott J, Gutle D, Hensel M, et al. O-antigen delays lipopolysaccharide recognition and impairs antibacterial host defense in murine intestinal epithelial cells. *PLoS Pathog*. 2009 Sep;5(9):e1000567.
73. Egawa G, Kabashima K. Multifactorial skin barrier deficiency and atopic dermatitis: Essential topics to prevent the atopic march. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Aug;138(2):350-8.e1.
74. Ege MJ, Bieli C, Frei R, van Strien RT, Riedler J, Ublagger E, et al. Prenatal farm exposure is related to the expression of receptors of the innate immunity and to

atopic sensitization in school-age children. *J Allergy Clin Immunol.* 2006 Apr;117(4):817-23.

75. Fageras Bottcher M, Hmani-Aifa M, Lindstrom A, Jenmalm MC, Mai XM, Nilsson L, et al. A TLR4 polymorphism is associated with asthma and reduced lipopolysaccharide-induced interleukin-12(p70) responses in Swedish children. *J Allergy Clin Immunol.* 2004 Sep;114(3):561-7.

76. Fang Z, Li L, Zhao J, Zhang H, Lee YK, Lu W, et al. Bifidobacteria adolescentis regulated immune responses and gut microbial composition to alleviate DNFB-induced atopic dermatitis in mice. *Eur J Nutr.* 2019 Nov 30. doi: 10.1007/s00394-019-02145-8.

77. Fang Z, Lu W, Zhao J, Zhang H, Qian L, Wang Q, et al. Probiotics modulate the gut microbiota composition and immune responses in patients with atopic dermatitis: a pilot study. *Eur J Nutr.* 2020 Aug;59(5):2119-30.

78. Feleszko W, Jaworska J, Rha RD, Steinhausen S, Avagyan A, Jaudszus A, et al. Probiotic-induced suppression of allergic sensitization and airway inflammation is associated with an increase of T regulatory-dependent mechanisms in a murine model of asthma. *Clin Exp Allergy.* 2007 Apr;37(4):498-505.

79. Fernandes J, Su W, Rahat-Rozenbloom S, Wolever TM, Comelli EM. Adiposity, gut microbiota and faecal short chain fatty acids are linked in adult humans. *Nutr Diabetes.* 2014 Jun 30;4(6):e121.

80. Finlay AY, Khan GK. Dermatology Life Quality Index (DLQI) – a simple practical measure for routine clinical use. *Clin Exp Dermatol.* 1994 May;19(3):210-6.

81. Flohr C, Yeo L. Atopic dermatitis and the hygiene hypothesis revisited. *Curr Probl Dermatol.* 2011;41:1-34.

82. Folster-Holst R. Management of atopic dermatitis: are there differences between children and adults? *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2014 May;28 Suppl 3:5-8.

83. Fujii M. Current Understanding of Pathophysiological Mechanisms of Atopic

Dermatitis: Interactions among Skin Barrier Dysfunction, Immune Abnormalities and Pruritus. *Biol Pharm Bull.* 2020;43(1):12-9.

84. Garmhausen D, Hagemann T, Bieber T, Dimitriou I, Fimmers R, Diepgen T, et al. Characterization of different courses of atopic dermatitis in adolescent and adult patients. *Allergy.* 2013 Apr;68(4):498-506.

85. Gerbens LA, Chalmers JR, Rogers NK, Nankervis H, Spuls PI. Reporting of symptoms in randomized controlled trials of atopic eczema treatments: a systematic review. *Br J Dermatol.* 2016 Oct;175(4):678-86.

86. Gibson GR, Probert HM, Loo JV, Rastall RA, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev.* 2004 Dec;17(2):259-75.

87. Gittler JK, Shemer A, Suarez-Farinas M, Fuentes-Duculan J, Gulewicz KJ, Wang CQ, et al. Progressive activation of T(H)2/T(H)22 cytokines and selective epidermal proteins characterizes acute and chronic atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2012 Dec;130(6):1344-54.

88. Gooderham M, Lynde CW, Papp K, Bourcier M, Guenther L, Gulliver W, et al. Review of systemic treatment options for adult atopic dermatitis. *J Cutan Med Surg.* 2017 Jan/Feb;21(1):31-9.

89. Gueniche A, Bastien P, Ovigne JM, Kermici M, Courchay G, Chevalier V, et al. Bifidobacterium longum lysate, a new ingredient for reactive skin. *Exp Dermatol.* 2010 Aug;19(8):e1-8.

90. Gueniche A, Benyacoub J, Philippe D, Bastien P, Kusy N, Breton L, et al. *Lactobacillus paracasei* CNCM I-2116 (ST11) inhibits substance P-induced skin inflammation and accelerates skin barrier function recovery in vitro. *Eur J Dermatol.* 2010 Nov-Dec;20(6):731-7.

91. Gutowska-Owsiak D, Schaupp AL, Salimi M, Selvakumar TA, McPherson T, Taylor S, et al. IL-17 downregulates filaggrin and affects keratinocyte expression of genes associated with cellular adhesion. *Exp*

Dermatol. 2012 Feb;21(2):104-10.

92. Halim TY, Steer CA, Matha L, Gold MJ, Martinez-Gonzalez I, McNagny KM, et al. Group 2 innate lymphoid cells are critical for the initiation of adaptive T helper 2 cell-mediated allergic lung inflammation. *Immunity*. 2014 Mar 20;40(3):425-35.

93. Hamilton JD, Suarez-Farinas M, Dhingra N, Cardinale I, Li X, Kostic A, et al. Dupilumab improves the molecular signature in skin of patients with moderate-to-severe atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Dec;134(6):1293-300.

94. Han D, She W, Zhang L. Association of the CD14 gene polymorphism C-159T with allergic rhinitis. *Am J Rhinol Allergy*. 2010 Jan-Feb;24(1):e1-3.

95. Hanifin JM, Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)*. 1980;92:44-7.

96. Harden JL, Krueger JG, Bowcock AM. The immunogenetics of Psoriasis: A comprehensive review. *J Autoimmun*. 2015 Nov;64:66-73.

97. Harima-Mizusawa N, Kamachi K, Kano M, Nozaki D, Uetake T, Yokomizo Y, et al. Beneficial effects of citrus juice fermented with *Lactobacillus plantarum* YIT 0132 on atopic dermatitis: results of daily intake by adult patients in two open trials. *Biosci Microbiota Food Health*. 2016;35(1):29-39.

98. Heinzmann A, Dietrich H, Jerkic SP, Kurz T, Deichmann KA. Promoter polymorphisms of the CD14 gene are not associated with bronchial asthma in Caucasian children. *Eur J Immunogenet*. 2003 Oct;30(5):345-8.

99. Hjern A, Haglund B, Hedlin G. Ethnicity, childhood environment and atopic disorder. *Clin Exp Allergy*. 2000 Apr;30(4):521-8.

100. Holm JG, Agner T, Sand C, Thomsen SF. Omalizumab for atopic dermatitis: case series and a systematic review of the literature. *Int J Dermatol*. 2017 Jan;56(1):18-26.

101. Hu Y, Liu S, Liu P, Mu Z, Zhang J. Clinical relevance of eosinophils, basophils, serum total IgE level, allergen-specific IgE, and clinical features in atopic

dermatitis. *J Clin Lab Anal.* 2020 Jun;34(6):e23214.

102. Iemoli E, Trabattoni D, Parisotto S, Borgonovo L, Toscano M, Rizzardini G, et al. Probiotics reduce gut microbial translocation and improve adult atopic dermatitis. *J Clin Gastroenterol.* 2012 Oct;46 Suppl:S33-40.

103. Irvine AD, McLean WH, Leung DY. Filaggrin mutations associated with skin and allergic diseases. *N Engl J Med.* 2011 Oct 6;365(14):1315-27.

104. Ito Y, Adachi Y, Makino T, Higashiyama H, Fuchizawa T, Shimizu T, et al. Expansion of FOXP3-positive CD4⁺CD25⁺ T cells associated with disease activity in atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2009 Aug;103(2):160-5.

105. Jenmalm MC, Duchon K. Timing of allergy-preventive and immunomodulatory dietary interventions – are prenatal, perinatal or postnatal strategies optimal? *Clin Exp Allergy.* 2013 Mar;43(3):273-8.

106. Jungersen M, Wind A, Johansen E, Christensen JE, Stuer-Lauridsen B, Eskesen D. The Science behind the Probiotic Strain *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12(®). *Microorganisms.* 2014 Mar 28;2(2):92-110.

107. Kalliomaki M, Kirjavainen P, Eerola E, Kero P, Salminen S, Isolauri E. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *J Allergy Clin Immunol.* 2001 Jan;107(1):129-34.

108. Kanoh H, Ishitsuka A, Fujine E, Matsuhaba S, Nakamura M, Ito H, et al. IFN- γ Reduces Epidermal Barrier Function by Affecting Fatty Acid Composition of Ceramide in a Mouse Atopic Dermatitis Model. *J Immunol Res.* 2019 Jan 29;2019:3030268.

109. Kantor R, Silverberg JI. Environmental risk factors and their role in the management of atopic dermatitis. *Expert Rev Clin Immunol.* 2017 Jan;13(1):15-26.

110. Karimi K, Inman MD, Bienenstock J, Forsythe P. *Lactobacillus reuteri*-induced regulatory T cells protect against an allergic airway response in mice. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009 Feb 1;179(3):186-93.

111. Karmaus W, Botezan C. Does a higher number of siblings protect against the development of allergy and asthma? A review. *J Epidemiol Community Health*. 2002 Mar;56(3):209-17.
112. Katsarou A, Armenaka M. Atopic dermatitis in older patients: particular points. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2011 Jan;25(1):12-8.
113. Kezic S, O'Regan GM, Lutter R, Jakasa I, Koster ES, Saunders S, et al. Filaggrin loss-of-function mutations are associated with enhanced expression of IL-1 cytokines in the stratum corneum of patients with atopic dermatitis and in a murine model of filaggrin deficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Apr;129(4):1031-9.e1.
114. Kim BS, Siracusa MC, Saenz SA, Noti M, Monticelli LA, Sonnenberg GF, et al. TSLP elicits IL-33-independent innate lymphoid cell responses to promote skin inflammation. *Sci Transl Med*. 2013 Jan 30;5(170):170ra16.
115. Kim SO, Ah YM, Yu YM, Choi KH, Shin WG, Lee JY. Effects of probiotics for the treatment of atopic dermatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2014 Aug;113(2):217-26.
116. Kisich KO, Carspecken CW, Fieve S, Boguniewicz M, Leung DY. Defective killing of *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis is associated with reduced mobilization of human beta-defensin-3. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Jul;122(1):62-8.
117. Kono M, Nomura T, Ohguchi Y, Mizuno O, Suzuki S, Tsujiuchi H, et al. Comprehensive screening for a complete set of Japanese-population-specific filaggrin gene mutations. *Allergy*. 2014 Apr;69(4):537-40.
118. Koppelman GH, Reijmerink NE, Colin Stine O, Howard TD, Whittaker PA, Meyers DA, et al. Association of a promoter polymorphism of the CD14 gene and atopy. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Mar;163(4):965-9.
119. Kwon HK, Lee CG, So JS, Chae CS, Hwang JS, Sahoo A, et al. Generation of regulatory dendritic cells and CD4⁺Foxp3⁺ T cells by probiotics

administration suppresses immune disorders. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010 Feb 2;107(5):2159-64.

120. Lange J, Heinzmann A, Zehle C, Kopp M. CT genotype of promotor polymorphism C159T in the CD14 gene is associated with lower prevalence of atopic dermatitis and lower IL-13 production. *Pediatr Allergy Immunol*. 2005 Aug;16(5):456-7.

121. Lee JY, Sohn KH, Rhee SH, Hwang D. Saturated fatty acids, but not unsaturated fatty acids, induce the expression of cyclooxygenase-2 mediated through Toll-like receptor 4. *J Biol Chem*. 2001 May 18;276(20):16683-9.

122. Leung DY, Guttman-Yassky E. Deciphering the complexities of atopic dermatitis: shifting paradigms in treatment approaches. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Oct;134(4):769-79.

123. Liang XH, Cheung W, Heng CK, Liu JJ, Li CW, Lim B, et al. CD14 promoter polymorphisms have no functional significance and are not associated with atopic phenotypes. *Pharmacogenet Genomics*. 2006 Apr;16(4):229-36.

124. Litonjua AA, Belanger K, Celedon JC, Milton DK, Bracken MB, Kraft P, et al. Polymorphisms in the 5' region of the CD14 gene are associated with eczema in young children. *J Allergy Clin Immunol*. 2005 May;115(5):1056-62.

125. Litus O, Derkach N, Litus V, Bisjuk Y, DuBuske L. A501. The C-159T polymorphism of the CD-14 gene and cytokine profiles in adults with atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2018 Nov;121(5 Suppl, 2018 Annual Scientific Meeting of the American College of Allergy, Asthma and Immunology Practice Empowerment. Patients. Community. Partners; 2018 Nov 15-19; Seattle, Washington):S17.

126. Litus O, Derkach N, Litus V, Bisjuk Y, Lytvynenko B. Efficacy of probiotic therapy on atopic dermatitis in adults depends on the C-159T polymorphism of the *CD14* receptor gene – a pilot study. *Open Access Maced J Med Sci*. 2019 Apr 10;7(7):1053-8.

127. Litus O, Derkach N, Litus V, Bisjuk Y, DuBuske L. P502. Clinical parameters, skin tests and cytokines profile in adult exogenous and endogenous atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2019 Nov;123(5 Suppl, 2019 Annual Scientific Meeting of the American College of Allergy, Asthma and Immunology New Frontiers. Advocating for Patients, Practices and Research; 2019 Nov 07-11; Houston, Texas):S62.
128. Litus O, Derkach N, Litus V, Bisjuk Y, DuBuske LM. TP0995. The 1196 C> T polymorphism of the TLR-4 gene and cytokine profiles in adults with extrinsic (exogenous) and intrinsic (endogenous) forms of atopic dermatitis. *Allergy.* 2019 Aug;74(S106, Abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress; 2019 Jun 01-05; Lisbon, Portugal):541.
129. Liu P, Zhao Y, Mu ZL, Lu QJ, Zhang L, Yao X, et al. Clinical Features of Adult/Adolescent Atopic Dermatitis and Chinese Criteria for Atopic dermatitis. *Chin Med J (Engl).* 2016 Apr 5;129(7):757-62.
130. Malajian D, Guttman-Yassky E. New pathogenic and therapeutic paradigms in atopic dermatitis. *Cytokine.* 2015 Jun;73(2):311-8.
131. Margolis DJ, Apter AJ, Gupta J, Hoffstad O, Papadopoulos M, Campbell LE, et al. The persistence of atopic dermatitis and filaggrin (FLG) mutations in a US longitudinal cohort. *J Allergy Clin Immunol.* 2012 Oct;130(4):912-7.
132. Margolis JS, Abuabara K, Bilker W, Hoffstad O, Margolis DJ. Persistence of mild to moderate atopic dermatitis. *JAMA Dermatol.* 2014 Jun;150(6):593-600.
133. Martinez FD. CD14, endotoxin, and asthma risk: actions and interactions. *Proc Am Thorac Soc.* 2007 Jul;4(3):221-5.
134. Matricardi PM, Bonini S. High microbial turnover rate preventing atopy: a solution to inconsistencies impinging on the Hygiene hypothesis? *Clin Exp Allergy.* 2000 Nov;30(11):1506-10.
135. McAleer MA, Irvine AD. The multifunctional role of filaggrin in allergic skin disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2013 Feb;131(2):280-91.

136. McKeever TM, Lewis SA, Smith C, Collins J, Heatlie H, Frischer M, et al. Siblings, multiple births, and the incidence of allergic disease: a birth cohort study using the West Midlands general practice research database. *Thorax*. 2001 Oct;56(10):758-62.
137. Meng H, Ba Z, Lee Y, Peng J, Lin J, Fleming JA, et al. Consumption of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 in yogurt reduced expression of TLR-2 on peripheral blood-derived monocytes and pro-inflammatory cytokine secretion in young adults. *Eur J Nutr*. 2017 Mar;56(2):649-61.
138. Meyersburg D, Laimer M, Kugler A, Muhlthaler E, Lindlbauer N, Hitzl W, et al. Single-use IgE-selective immunoabsorber column for the treatment of severe atopic dermatitis. *J Clin Apher*. 2020 Jan;35(1):50-8.
139. Micheal S, Minhas K, Ishaque M, Ahmed F, Ahmed A. Promoter polymorphisms of the CD14 gene are associated with atopy in Pakistani adults. *J Invest Allergol Clin Immunol*. 2011;21(5):394-7.
140. Morris MC, Gilliam EA, Li L. Innate immune programming by endotoxin and its pathological consequences. *Front Immunol*. 2015 Jan 6;5:680.
141. Mortz CG, Andersen KE, Dellgren C, Barington T, Bindslev-Jensen C. Atopic dermatitis from adolescence to adulthood in the TOACS cohort: prevalence, persistence and comorbidities. *Allergy*. 2015 Jul;70(7):836-45.
142. Mu Z, Zhang J. The role of genetics, the environment, and epigenetics in atopic dermatitis. *Adv Exp Med Biol*. 2020;1253:107-40.
143. Nakamura Y, Oscherwitz J, Cease KB, Chan SM, Munoz-Planillo R, Hasegawa M, et al. *Staphylococcus* δ -toxin induces allergic skin disease by activating mast cells. *Nature*. 2013 Nov 21;503(7476):397-401.
144. Napolitano M, Megna M, Patruno C, Gisondi P, Ayala F, Balato N. Adult atopic dermatitis: a review. *G Ital Dermatol Venereol*. 2016 Aug;151(4):403-11.
145. Niebuhr M, Scharonow H, Gathmann M, Mamerow D, Werfel T. *Staphylococcal* exotoxins are strong inducers of IL-22: A potential role in atopic

dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Dec;126(6):1176-83.e4.

146. Noda S, Suarez-Farinas M, Ungar B, Kim SJ, de Guzman Strong C, Xu H, et al. The Asian atopic dermatitis phenotype combines features of atopic dermatitis and psoriasis with increased TH17 polarization. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 Nov;136(5):1254-64.

147. Nograles KE, Zaba LC, Shemer A, Fuentes-Duculan J, Cardinale I, Kikuchi T, et al. IL-22-producing “T22” T cells account for upregulated IL-22 in atopic dermatitis despite reduced IL-17-producing TH17 T cells. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 Jun;123(6):1244-52.e2.

148. Nomura T, Kabashima K. Advances in atopic dermatitis in 2015. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Dec;138(6):1548-55.

149. O’Donnell AR, Toelle BG, Marks GB, Hayden CM, Laing IA, Peat JK, et al. Age-specific relationship between CD14 and atopy in a cohort assessed from age 8 to 25 years. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004 Mar 1;169(5):615-22.

150. Ober C, Tsalenko A, Parry R, Cox NJ. A second-generation genomewide screen for asthma-susceptibility alleles in a founder population. *Am J Hum Genet*. 2000 Nov;67(5):1154-62.

151. Ober C, Sperling AI, von Mutius E, Vercelli D. Immune development and environment: lessons from Amish and Hutterite children. *Curr Opin Immunol*. 2017 Oct;48:51-60.

152. Odhiambo JA, Williams HC, Clayton TO, Robertson CF, Asher MI. Global variations in prevalence of eczema symptoms in children from ISAAC Phase Three. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 Dec;124(6):1251-8.e23.

153. Okada H, Kuhn C, Feillet H, Bach JF. The ‘hygiene hypothesis’ for autoimmune and allergic diseases: an update. *Clin Exp Immunol*. 2010 Apr;160(1):1-9.

154. Olisova OY, Kochergin NG, Kayumova LN, Zavarykina TM, Dmitriev AA, Asanov AY. Skin DNA methylation profile in atopic dermatitis patients: A case-

control study. *Exp Dermatol*. 2020 Feb;29(2):184-189.

155. Oliva M, Renert-Yuval Y, Guttman-Yassky E. The ‘omics’ revolution: redefining the understanding and treatment of allergic skin diseases. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2016 Oct;16(5):469-76.

156. Orihara K, Narita M, Tobe T, Akasawa A, Ohya Y, Matsumoto K, et al. Circulating Foxp3+CD4+ cell numbers in atopic patients and healthy control subjects. *J Allergy Clin Immunol*. 2007 Oct;120(4):960-2.

157. Paternoster L, Standl M, Waage J, Baurecht H, Hotze M, Strachan DP, et al. Multi-ancestry genome-wide association study of 21,000 cases and 95,000 controls identifies new risk loci for atopic dermatitis. *Nat Genet*. 2015 Dec;47(12):1449-56.

158. Pineiro M, Asp NG, Reid G, Macfarlane S, Morelli L, Brunser O, et al. FAO Technical meeting on prebiotics. *J Clin Gastroenterol*. 2008 Sep;42 Suppl 3 Pt 2:S156-9.

159. Pugliarello S, Cozzi A, Gisondi P, Girolomoni G. Phenotypes of atopic dermatitis. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2011 Jan;9(1):12-20. English, German.

160. Pyun BY. Natural history and risk factors of atopic dermatitis in children. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2015 Mar;7(2):101-5.

161. Rafei-Shamsabadi DA, Klose CSN, Halim TYF, Tanriver Y, Jakob T. Context dependent role of type 2 innate lymphoid cells in allergic skin inflammation. *Front Immunol*. 2019 Nov 6;10:2591.

162. Ro ADB, Simpson MR, Ro TB, Storro O, Johnsen R, Videm V, et al. Reduced Th22 cell proportion and prevention of atopic dermatitis in infants following maternal probiotic supplementation. *Clin Exp Allergy*. 2017 Aug;47(8):1014-21.

163. Sackesen C, Karaaslan C, Keskin O, Tokol N, Tahan F, Civelek E, et al. The effect of polymorphisms at the CD14 promoter and the TLR4 gene on asthma phenotypes in Turkish children with asthma. *Allergy*. 2005 Dec;60(12):1485-92.

164. Saeki H, Nakahara T, Tanaka A, Kabashima K, Sugaya M, Murota H, et al. Clinical practice guidelines for the management of atopic dermatitis 2016. *J*

Dermatol. 2016 Oct;43(10):1117-45.

165. Sahin F, Yildiz P, Kuskucu A, Kuskucu MA, Karaca N, Midilli K. The effect of CD14 and TLR4 gene polymorphisms on asthma phenotypes in adult Turkish asthma patients: a genetic study. *BMC Pulm Med*. 2014 Feb 13;14:20.

166. Salpietro C, Rigoli L, Miraglia Del Giudice M, Cuppari C, Di Bella C, Salpietro A, et al. TLR2 and TLR4 gene polymorphisms and atopic dermatitis in Italian children: a multicenter study. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2011 Oct;24(4 Suppl):33-40.

167. Sanchez B, Delgado S, Blanco-Miguez A, Lourenco A, Gueimonde M, Margolles A. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. *Mol Nutr Food Res*. 2017 Jan;61(1). doi: 10.1002/mnfr.201600240.

168. Sartor RB. Probiotic therapy of intestinal inflammation and infections. *Curr Opin Gastroenterol*. 2005 Jan;21(1):44-50.

169. Schram ME, Tedja AM, Spijker R, Bos JD, Williams HC, Spuls PI. Is there a rural/urban gradient in the prevalence of eczema? A systematic review. *Br J Dermatol*. 2010 May;162(5):964-73.

170. Sengler C, Haider A, Sommerfeld C, Lau S, Baldini M, Martinez F, et al. Evaluation of the CD14 C-159 T polymorphism in the German Multicenter Allergy Study cohort. *Clin Exp Allergy*. 2003 Feb;33(2):166-9.

171. Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. *Dermatology*. 1993;186(1):23-31.

172. Sharma M, Batra J, Mabalirajan U, Goswami S, Ganguly D, Lahkar B, et al. Suggestive evidence of association of C-159T functional polymorphism of the CD14 gene with atopic asthma in northern and northwestern Indian populations. *Immunogenetics*. 2004 Oct;56(7):544-7.

173. Silverberg JI. Association between adult atopic dermatitis, cardiovascular disease, and increased heart attacks in three population-based studies. *Allergy*. 2015 Oct;70(10):1300-8.

174. Silverberg JI, Greenland P. Eczema and cardiovascular risk factors in 2 US adult population studies. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 Mar;135(3):721-8.e6.
175. Silvestre Salvador JF, Romero-Perez D, Encabo-Duran B. Atopic dermatitis in adults: a diagnostic challenge. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2017;27(2):78-88.
176. Simon D. Systemic therapy of atopic dermatitis in children and adults. *Curr Probl Dermatol*. 2011;41:156-64.
177. Simpson A, John SL, Jury F, Niven R, Woodcock A, Ollier WE, et al. Endotoxin exposure, CD14, and allergic disease: an interaction between genes and the environment. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006 Aug 15;174(4):386-92.
178. Simpson EL, Bieber T, Eckert L, Wu R, Ardeleanu M, Graham NM, et al. Patient burden of moderate to severe atopic dermatitis (AD): Insights from a phase 2b clinical trial of dupilumab in adults. *J Am Acad Dermatol*. 2016 Mar;74(3):491-8.
179. Sinha S, Singh J, Jindal SK, Birbian N, Singla N. Role of TLR4 C>1196T (Thr399Ile) and TLR4 A>896G (Asp299Gly) polymorphisms in a North Indian population with asthma: a case-control study. *Int J Immunogenet*. 2014 Dec;41(6):463-71.
180. Slavin J. Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients*. 2013 Apr 22;5(4):1417-35.
181. Smith PM, Howitt MR, Panikov N, Michaud M, Gallini CA, Bohlooly-Y M, et al. The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science*. 2013 Aug 2;341(6145):569-73.
182. Song PI, Park YM, Abraham T, Harten B, Zivony A, Neparidze N, et al. Human keratinocytes express functional CD14 and toll-like receptor 4. *J Invest Dermatol*. 2002 Aug;119(2):424-32.
183. Strachan DP, Wong HJ, Spector TD. Concordance and interrelationship of atopic diseases and markers of allergic sensitization among adult female twins. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 Dec;108(6):901-7.
184. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ*. 1989 Nov

18;299(6710):1259-60.

185. Suarez-Farinas M, Dhingra N, Gittler J, Shemer A, Cardinale I, de Guzman Strong C, et al. Intrinsic atopic dermatitis shows similar TH2 and higher TH17 immune activation compared with extrinsic atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Aug;132(2):361-70.

186. Sun L, Liu W, Zhang LJ. The role of toll-like receptors in skin host defense, psoriasis, and atopic dermatitis. *J Immunol Res*. 2019 Nov 14;2019:1824624.

187. Suzuki T, Nishiyama K, Kawata K, Sugimoto K, Isome M, Suzuki S, et al. Effect of the *Lactococcus Lactis* 11/19-B1 strain on atopic dermatitis in a clinical test and mouse model. *Nutrients*. 2020 Mar 14;12(3):763.

188. Taieb A, Seneschal J, Mossalayi MD. Biologics in atopic dermatitis. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2012 Mar;10(3):174-8.

189. Tan CY, Chen YL, Wu LS, Liu CF, Chang WT, Wang JY. Association of CD14 promoter polymorphisms and soluble CD14 levels in mite allergen sensitization of children in Taiwan. *J Hum Genet*. 2006;51(1):59-67.

190. Tanei R, Hasegawa Y. Atopic dermatitis in older adults: A viewpoint from geriatric dermatology. *Geriatr Gerontol Int*. 2016 Mar;16 Suppl 1:75-86.

191. Tanei R, Katsuoka K. Clinical analyses of atopic dermatitis in the aged. *J Dermatol*. 2008 Sep;35(9):562-9.

192. Thappa DM, Malathi M. Is there something called adult onset atopic dermatitis in India? *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2013 Mar-Apr;79(2):145-7.

193. Thomas WR. Molecular mimicry as the key to the dominance of the house dust mite allergen Der p 2. *Expert Rev Clin Immunol*. 2009 May;5(3):233-7.

194. Tizaoui K, Kaabachi W, Hamzaoui K, Hamzaoui A. Association of single nucleotide polymorphisms in toll-like receptor genes with asthma risk: a systematic review and meta-analysis. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2015 Mar;7(2):130-40.

195. Tokura Y. Extrinsic and intrinsic types of atopic dermatitis. *J Dermatol Sci*. 2010 Apr;58(1):1-7.

196. Trompette A, Divanovic S, Visintin A, Blanchard C, Hegde RS, Madan R, et al. Allergenicity resulting from functional mimicry of a Toll-like receptor complex protein. *Nature*. 2009 Jan 29;457(7229):585-8.
197. Tsoi LC, Rodriguez E, Stolz D, Wehkamp U, Sun J, Gerdes S, et al. Progression of acute-to-chronic atopic dermatitis is associated with quantitative rather than qualitative changes in cytokine responses. *J Allergy Clin Immunol*. 2020 May;145(5):1406-15.
198. Tsybikov NN, Petrisheva I, Fefelova EV, Kuznik BI, Magen E. Expression of TLR2 and TLR4 on peripheral blood monocytes during exacerbation of atopic dermatitis. *Allergy Asthma Proc*. 2015 Nov-Dec;36(6):e140-5.
199. Tyurin YA, Shamsutdinov AF, Kalinin NN, Sharifullina AA, Reshetnikova ID. Association of Toll-Like Cell Receptors TLR2 (p.Arg753GLN) and TLR4 (p.Asp299GLY) Polymorphisms with Indicators of General and Local Immunity in Patients with Atopic Dermatitis. *J Immunol Res*. 2017;2017:8493545.
200. Védie AL, Ezzedine K, Amazan E, Boralevi F, Milpied B, Taieb A, et al. Long-term use of systemic treatments for moderate-to-severe atopic dermatitis in adults: a monocentric retrospective study. *Acta Derm Venereol*. 2016 Aug 23;96(6):802-6.
201. Vercelli D. Learning from discrepancies: CD14 polymorphisms, atopy and the endotoxin switch. *Clin Exp Allergy*. 2003 Feb;33(2):153-5.
202. Wang IJ, Wang JY. Children with atopic dermatitis show clinical improvement after *Lactobacillus* exposure. *Clin Exp Allergy*. 2015 Apr;45(4):779-87.
203. Watanabe S, Narisawa Y, Arase S, Okamatsu H, Ikenaga T, Tajiri Y, et al. Differences in fecal microflora between patients with atopic dermatitis and healthy control subjects. *J Allergy Clin Immunol*. 2003 Mar;111(3):587-91.
204. Weidinger S, Novak N. Atopic dermatitis. *Lancet*. 2016 Mar 12;387(10023):1109-22.
205. Werfel T, Allam JP, Biedermann T, Eyerich K, Gilles S, Guttman-Yassky E, et al. Cellular and molecular immunologic mechanisms in patients with atopic

dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Aug;138(2):336-49.

206. Werfel T, Schwerk N, Hansen G, Kapp A. The diagnosis and graded therapy of atopic dermatitis. *Dtsch Arztebl Int*. 2014 Jul 21;111(29-30):509-20, i.

207. Whiteley J, Emir B, Seitzman R, Makinson G. The burden of atopic dermatitis in US adults: results from the 2013 National Health and Wellness Survey. *Curr Med Res Opin*. 2016 Oct;32(10):1645-51.

208. Williams LK, McPhee RA, Ownby DR, Peterson EL, James M, Zoratti EM, et al. Gene-environment interactions with CD14 C-260T and their relationship to total serum IgE levels in adults. *J Allergy Clin Immunol*. 2006 Oct;118(4):851-7.

209. Winkler P, Ghadimi D, Schrezenmeir J, Kraehenbuhl JP. Molecular and cellular basis of microflora-host interactions. *J Nutr*. 2007 Mar;137(3 Suppl 2):756S-72S.

210. Yang G, Seok JK, Kang HC, Cho YY, Lee HS, Lee JY. Skin Barrier Abnormalities and Immune Dysfunction in Atopic Dermatitis. *Int J Mol Sci*. 2020 Apr 20;21(8):2867.

211. Yazdani N, Amoli MM, Naraghi M, Mersaghian A, Firouzi F, Sayyahpour F, et al. Association between the functional polymorphism C-159T in the CD14 promoter gene and nasal polyposis: potential role in asthma. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2012;22(6):406-11.

212. Yoshida Y, Seki T, Matsunaka H, Watanabe T, Shindo M, Yamada N, et al. Clinical effects of probiotic bifidobacterium breve supplementation in adult patients with atopic dermatitis. *Yonago Acta Med*. 2010;53(2):37-45.

213. Zhang Y, Tian C, Zhang J, Li X, Wan H, He C, et al. The -159C/T polymorphism in the CD14 gene and the risk of asthma: a meta-analysis. *Immunogenetics*. 2011 Jan;63(1):23-32.

214. Zhang YN, Li YJ, Li H, Zhou H, Shao XJ. Association of CD14 C159T polymorphism with atopic asthma susceptibility in children from Southeastern China: a case-control study. *Genet Mol Res*. 2015 Apr 30;14(2):4311-7.

215. Zhao L, Bracken MB. Association of CD14 -260 (-159) C>T and asthma: a systematic review and meta-analysis. *BMC Med Genet*. 2011 Jul 11;12:93.
216. Zuo A, Liang D, Shao H, Born WK, Kaplan HJ, Sun D. In vivo priming of IL-17(+) uveitogenic T cells is enhanced by Toll ligand receptor (TLR)2 and TLR4 agonists via $\gamma\delta$ T cell activation. *Mol Immunol*. 2012 Mar;50(3):125-33.

Додаток А

Список публікацій здобувача

1. Деркач НВ. Алергоанамнез та шкірні прик-тести у дорослих, хворих на atopічний дерматит. *Дерматологія та венерологія*. 2017;(4):42-6.
2. Літус ОІ, Деркач НВ, Літус ВІ. Цитокиновий профіль периферичної крові при екзогенному (IgE-залежному) та ендогенному (IgE-незалежному) atopічному дерматиті у дорослих. *Імунологія та алергологія*. 2017;(2):22-6.
3. Деркач НВ. Клінічні критерії стратифікації екзогенного (IGE-залежного) та ендогенного (IGE-незалежного) atopічного дерматиту у дорослих. *Акт. проблеми сучас. медицини: Вісн. Укр. мед. стоматол. акад.* 2018;18(1):29-34.
4. Литус АИ, Деркач НВ, Литус ВИ. Цитокиновый профиль и А-896G полиморфизм гена TLR-4 при atopическом дерматите у взрослых. *Лаб. диагностика. Вост. Европа*. 2018;7(1):104-11.
5. Литус ВИ, Деркач НВ, Литус АИ. Воспалительные/супрессивные цитокины периферической крови и 1196 СТ (Thr399Ile) полиморфизм гена TLR-4 при atopическом дерматите у взрослых. *Лаб. диагностика. Вост. Европа*. 2018;7(3):333-41.
6. Літус ВІ, Деркач НВ, Літус ОІ. Клінічні та імуногенетичні особливості перебігу atopічного дерматиту. *Здоров'я суспільства*. 2018;7(3):142-9.
7. Літус ОІ, Деркач НВ, Літус ВІ. С-159Т поліморфізм гену CD14 та цитокиновий профіль при atopічному дерматиту у дорослих. *Укр. журн. медицини, біології та спорту*. 2018;3(1):156-63.
8. Litus O, Derkach N, Litus V, Bisyuk Y, Lytvynenko B. Efficacy of probiotic therapy on atopіc dermatitis in adults depends on the С-159Т polymorphism of the *CD14* receptor gene – a pilot study. *Open Access Maced J Med Sci*. 2019 Apr

10;7(7):1053-8.

9. Litus O, Derkach N, Litus V, Bisyuk Y, DuBuske L. A501. The C-159T polymorphism of the CD-14 gene and cytokine profiles in adults with atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2018 Nov;121(5 Suppl, 2018 Annual Scientific Meeting of the American College of Allergy, Asthma and Immunology Practice Empowerment. Patients. Community. Partners; 2018 Nov 15-19; Seattle, Washington):S17.

10. Bisyuk Y, Litus O, Derkach N, Litus V, DuBuske LM. Assessment of the impact of the A-896G polymorphism of the TLR-4 gene in adults with extrinsic and intrinsic atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2019 Feb;143(2 Suppl, Programs and Abstracts of Papers to be Presented During Scientific Sessions: 2019 AAAAI Annual Meeting):AB124.

11. Litus O, Derkach N, Litus V, Bisyuk Y, DuBuske L. P502. Clinical parameters, skin tests and cytokines profile in adult exogenous and endogenous atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2019 Nov;123(5 Suppl, 2019 Annual Scientific Meeting of the American College of Allergy, Asthma and Immunology New Frontiers. Advocating for Patients, Practices and Research; 2019 Nov 07-11; Houston, Texas):S62.

12. Litus O, Derkach N, Litus V, Bisyuk Y, DuBuske LM. TP0995. The 1196 C> T polymorphism of the TLR-4 gene and cytokine profiles in adults with extrinsic (exogenous) and intrinsic (endogenous) forms of atopic dermatitis. *Allergy.* 2019 Aug;74(S106, Abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress; 2019 Jun 01-05; Lisbon, Portugal):541.

Додаток Б
Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи апробовані на: 2018 Annual Scientific Meeting of the American College of Allergy, Asthma and Immunology “Practice Empowerment. Patients. Community. Partners” (м. Сіетл, США, 15-19 листопада 2018 р.); 2019 AAAAI Annual Meeting (м. Сан-Франциско, США, 22-25 лютого 2019 р.); European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress 2019 (м. Ліссабон, Португалія, 01-05 червня 2019 р.); 2019 Annual Scientific Meeting of the American College of Allergy, Asthma and Immunology “New Frontiers. Advocating for Patients, Practices and Research” (м. Г’юстон, США, 07-11 листопада 2019 р.).

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар
ДУ «Інститут дерматології та
венерології Національної
академії медичних наук
України»



20 _____ р.

**Акт
про впровадження**

1. Додавання пробіотику до стандартного лікування atopічного дерматиту у дорослих хворих на протязі 28 днів з урахуванням ендотоксин-опосередкованих факторів імунопатогенезу.

найменування пропозиції для впровадження.

2. Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, 04112, м. Київ, вулиця Дорогожицька, 9.

установа-розробник, її поштова адреса, Прізвище, ім'я по батькові авторів.

3. Джерело інформації: Litus O, Derkach N, Litus V, Bisyuk Y, Lytvynenko B. Efficacy of Probiotic Therapy on Atopic Dermatitis in Adults Depends on the C-159T Polymorphism of the CD14 Receptor Gene - A Pilot Study. Open Access Maced J Med Sci. 2019 Apr 10;7(7):1053-1058.

назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа вихідні дані статті, № а. с. і т. д.

4. Впроваджено - клініка ДУ «Інститут дерматології та венерології Національної академії медичних наук України»

найменування лікувально-профілактичної установи

5. Строки впровадження: з 13.05.2019 р. по 17.12.2019 р.

Загальна кількість спостережень 36

Позитивні (кількість спостережень) 34

Негативні (кількість спостережень) -

Невизначені (кількість спостережень) 2

6. Ефективність впровадження 94,4%

6. Зауваження, додатки: відсутні

«12» 12 2019 р.

Олесь

Сметани І.О.

(Підпис відповідного за впровадження)

(П.І.Б. відповідного за впровадження)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Харківського національного
медичного університету
д.мед.н., професор М'ясоєдов В. В.



20 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Додавання пробіотику до стандартного лікування atopічного дерматиту у дорослих хворих на протязі 28 днів з урахуванням ендотоксин-опосередкованих факторів імунопатогенезу.

2. Установа, її адреса, виконавці: Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, 04112, м. Київ, вулиця Дорогожицька, 9, заочний аспірант кафедри дерматовенерології Деркач Надія Вікторівна.

3. Джерела інформації:

Litus O, Derkach N, Litus V, Bisyuk Y, Lytvynenko V. Efficacy of Probiotic Therapy on Atopic Dermatitis in Adults Depends on the C-159T Polymorphism of the CD14 Receptor Gene - A Pilot Study. Open Access Maced J Med Sci. 2019 Apr 10;7(7):1053-1058.

4. Впроваджено: на кафедрі внутрішньої медицини №2, клінічної імунології та алергології ім. академіка Л.Т. Малої Харківського національного медичного університету.


5. Включено: в лекційний курс та практичні заняття.


6. Результати впровадження: отримані в дослідженні дані дають можливість підтвердити підвищення ефективності лікування у дорослих хворих на atopічний дерматит шляхом додавання до стандартної терапії пробіотику.

5. Термін впровадження: з 23.05.2019 р. по 16.12.2019 р.

6. Зауваження, додатки: Рекомендовано для подальшого використання у викладанні імунології та алергології інтернам та курсантам Харківського національного медичного університету.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри,
протокол № 20 від 18 травня 2020 р.

Голова: завідувач кафедри, д.мед.н., професор  П.Г. Кравчун

Члени комісії: д.мед.н., професор  В.Д. Бабаджан

к.мед.н., доцент  С.О. Крапівко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Т.в.о. директора
комунального підприємства
«Волинський обласний шкірно-
венерологічний диспансер»
Волинської обласної ради

Карпюк Л.В.



« 20 р.

Акт впровадження

результатів наукових досліджень Деркач Н. В.

1. Додавання пробіотику до стандартного лікування atopічного дерматиту у дорослих хворих на протязі 28 днів з урахуванням ендотоксин-опосередкованих факторів імунопатогенезу.

найменування пропозиції для впровадження.

2. Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, 04112, м. Київ, вулиця Дорогожицька, 9, заочний аспірант кафедри дерматовенерології Деркач Н. В..

установа-розробник, її поштова адреса, Прізвище, ім'я по батькові авторів.

3. Джерело інформації: 1) Litus O, Derkach N, Litus V, Bisyuk Y, Lytvynenko B. Efficacy of Probiotic Therapy on Atopic Dermatitis in Adults Depends on the C-159T Polymorphism of the CD14 Receptor Gene - A Pilot Study. Open Access Maced J Med Sci. 2019 Apr 10;7(7):1053-1058.

назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа вихідні дані статті, № а. с. і т. д.

4. Впроваджено у медичну практику лікарів КП «Волинський обласний шкірно-венерологічний диспансер Волинської обласної ради»

найменування лікувально-профілактичної установи

5. Строки впровадження: з 14.05.2019 р. по 12.12.2019 р.

6. Зауваження, додатки: Рекомендовано для подальшого використання лікарями КП «Волинський обласний шкірно-венерологічний диспансер Волинської обласної ради» у практичній діяльності

« 12 » 12 2019 р.

Завідуюча диспансерним відділенням
КП «Волинський обласний
шкірний-венерологічний диспансер»
Волинської обласної ради

Шафранюк І.Г.

Відповідальний за впровадження посада, підпис, П.І.Б.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Ужгородського національного
університету

фіз.-мат.н. професор Студеняк І.П.



_____ 20 ____ р.

Акт впровадження

результатів наукових досліджень Деркач Н. В.

1. Додавання пробіотику до стандартного лікування atopічного дерматиту у дорослих хворих на протязі 28 днів з урахуванням ендотоксин-опосередкованих факторів імунопатогенезу.

найменування пропозиції для впровадження.

2. Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, 04112, м. Київ, вулиця Дорогожицька, 9, заочний аспірант кафедри дерматовенерології Деркач Н. В..

установа-розробник, її поштова адреса, Прізвище, ім'я по батькові авторів.

3. Джерело інформації: 1) Litus O, Derkach N, Litus V, Bisyuk Y, Lytvynenko B. Efficacy of Probiotic Therapy on Atopic Dermatitis in Adults Depends on the C-159T Polymorphism of the CD14 Receptor Gene - A Pilot Study. Open Access Maced J Med Sci. 2019 Apr 10;7(7):1053-1058.

назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа вихідні дані статті, № а. с. і т. д.

4. Впроваджено у викладанні на кафедрі шкірних та венеричних хвороб Ужгородського національного університету

найменування лікувально-профілактичної установи

5. Строки впровадження: з 15.05.2019 р. по 01.12.2019 р.

6. Зауваження, додатки: Рекомендовано для подальшого використання у викладанні шкірних та венеричних хвороб студентам Ужгородського національного університету

«04» 12 2019 р.

Завідувач кафедри
шкірних та венеричних хвороб
Ужгородського національного
університету,
доктор мед. наук, професор
Відповідальний за впровадження посада, підпис, П.І.Б.

Ю.В.Андрашко



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор
НАМПО імені П.Л.Шурика
член-кор. НАМН України,
професор Ю.П. Вдовиченко

« _____ » _____ 20 _____ р.

Акт впровадження

результатів наукових досліджень Деркач Н. В.

1. Додавання пробіотику до стандартного лікування atopічного дерматиту у дорослих хворих на протязі 28 днів з урахуванням ендотоксин-опосередкованих факторів імунопатогенезу.

найменування пропозиції для впровадження.

2. Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шурика, 04112, м. Київ, вулиця Дорогожицька, 9, заочний аспірант кафедри дерматовенерології Деркач Н. В..

установа-розробник, її поштова адреса, Прізвище, ім'я по батькові авторів.

3. Джерело інформації: 1) Litus O, Derkach N, Litus V, Bisyuk Y, Lytvynenko B. Efficacy of Probiotic Therapy on Atopic Dermatitis in Adults Depends on the C-159T Polymorphism of the CD14 Receptor Gene - A Pilot Study. Open Access Maced J Med Sci. 2019 Apr 10;7(7):1053-1058.

назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа вихідні дані статті, № а. с. і т. д.

4. Впроваджено у викладанні на кафедрі дерматовенерології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шурика

найменування лікувально-профілактичної установи

5. Строки впровадження: з 10.05.2019 р. по 02.12.2019 р.

6. Зауваження, додатки: Рекомендовано для подальшого використання у викладанні дерматовенерології інтернам і курсантам національної медичної академії імені П. Л. Шурика

« 17 » _____ 12 _____ 20 19 р.

Завідувач кафедри
Національної медичної академії
післядипломної освіти
імені П.Л. Шурика МОЗ України
доктор мед. наук, професор
Відповідальний за впровадження посада, підпис, П.І.Б.

O.I.Litus



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор
НМАПО імені П.Л.Шупика
член-кор. НАМН України,
професор Ю.П. Вдовиченко

» _____ 20__ р.

Акт впровадження

результатів наукових досліджень Деркач Н. В.

1. Додавання пробіотику до стандартного лікування atopічного дерматиту у дорослих хворих на протязі 28 днів з урахуванням ендотоксин-опосередкованих факторів імунопатогенезу.

найменування пропозиції для впровадження.

2. Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, 04112, м. Київ, вулиця Дорогожицька, 9, заочний аспірант кафедри дерматовенерології Деркач Н. В..

установа-розробник, її поштова адреса, Прізвище, ім'я по батькові авторів.

3. Джерело інформації: 1) Litus O, Derkach N, Litus V, Bisyuk Y, Lytvynenko B. Efficacy of Probiotic Therapy on Atopic Dermatitis in Adults Depends on the C-159T Polymorphism of the CD14 Receptor Gene - A Pilot Study. Open Access Maced J Med Sci. 2019 Apr 10;7(7):1053-1058.

назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа вихідні дані статті, № а. с. і т. д.

4. Впроваджено у викладанні на кафедрі клінічної, лабораторної імунології та алергології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика

найменування лікувально-профілактичної установи

5. Строки впровадження: з 06.05.2019 р. по 03.12.2019 р.

6. Зауваження, додатки: Рекомендовано для подальшого використання у викладанні клінічної, лабораторної імунології та алергології інтернам і курсантам Національної медичної академії імені П. Л. Шупика

« 10 » _____ 12 _____ 2019 р.

Завідувач кафедри
Національної медичної академії
післядипломної освіти
імені П.Л. Шупика МОЗ України
доктор мед. наук, професор
Відповідальний за впровадження посада, підпис, П.І.Б.

В.І.Літус