

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

ДЕРКАЧ НАДІЯ ВІКТОРІВНА

УДК 616.5-002-056.43-092-07-085-059.1

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

14.01.20 – шкірні та венеричні хвороби

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук



Київ – 2020

Дисертацією є рукопис
Робота виконана на кафедрі дерматовенерології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України

Науковий керівник:

доктор медичних наук, професор
Літус Олександр Іванович,
Національна медична академія післядипломної освіти імені
П.Л. Шупика МОЗ України, завідувач кафедри
дерматовенерології, м. Київ

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки України
Дудченко Микола Олексійович,
Українська медична стоматологічна академія МОЗ України,
професор кафедри шкірних та венеричних хвороб, м. Полтава

доктор медичних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки України
Айзятгулов Рушан Фатихович,
Донецький національний медичний університет, завідувач
кафедри дерматовенерології та косметології, м. Лиман

Захист відбудеться " 6 " листопада 2020 о 12⁰⁰ годині на
засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.615.03 при Національній медичній
академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика за адресою: 04112, м. Київ, вул.
Дорогожицька, 9.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Національної медичної академії
післядипломної освіти імені П.Л. Шупика за адресою: 04112, м. Київ,
вул. Дорогожицька, 9.

Автореферат розісланий " 5 " жовтня 2020 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
кандидат медичних наук, доцент


К. О. Бардова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Атопічний дерматит (АД) є хронічним запальним захворюванням шкіри, що характеризується порушеннями її бар'єрної функції й імунної відповіді (Weidinger S., 2016; Возіанова С., 2015; Yang G., 2020). АД – це гетерогенне захворювання, що має величезну кількість клінічних фенотипів, імунологічних ендотипів і генотипів, у багатьох випадках потребує персоналізованого підходу до діагностики та лікування (Калюжна Л., 2011, 2014, 2015; Mu Z., 2020; Olisova O.Y., 2020). Активация імунної відповіді 2-го типу з підвищеним синтезом інтерлейкіну (ІЛ)-4, 5, 13 та імуноглобуліну Е (ІgЕ) є маркером ІgЕ-залежного АД (Akdis C., 2020; Fujii M., 2020; Rafei-Shamsabadi D., 2019). 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) (Brogger P., 2020; Kanoh H., 2019). Механізми регуляції імунної відповіді при АД, зокрема за участі мікроорганізмів, мають вирішальне значення в досягненні ефективності лікування (Suzuki T., 2020; Fang Z., 2019).

Молекулярна генетика значно розширила бачення ролі мікроорганізмів у патогенезі АД (Al-Shobaili H., 2016). Дисбіоз мікроорганізмів може призводити до патологічної регуляції імунної відповіді як на локальному, так і системному рівнях при різних формах АД (Sanchez B., 2017; Болотная Л., 2014).

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 (Morris M., 2014; Sun L., 2019). У дитячому віці високі концентрації ендотоксину в домашньому пилу захищають від розвитку алергії (Ober C., 2017). Стимуляція ендотоксином рецепторів CD14 і TLR-4 при АД може призводити до вивільнення прозапальних цитокінів, що можуть індукувати хронічне запалення (Song P., 2002). 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) (Бисюк Ю., 2013; Бисюк Ю., 2014; Zhao L., 2011; Sinha S., 2014).

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 (Sartor R., 2005; Калюжна Л., 2015). Було показано, що пробіотичні бактеріальні штами інгібують реакцію клітин Т-хелперів 2-го типу (Th-2) та стимулюють продукцію цитокінів Th-1 (Winkler P., 2007).

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 фенотипу АД, зокрема асоційованих з поліморфізмом генів рецепторів CD14/TLR-4.

Саме вирішенню цих питань і присвячена дана дисертаційна робота.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, 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 ППШ 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 імунoglobулін Е-залежною й імунoglobулін Е-незалежною формами, імунонатогенетично 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 імунoglobулін Е-залежної й імунoglobулін Е-незалежної форм захворювання.

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

3. Встановити імунологічні параметри системного хронічного запалення при atopічному дерматиті для диференціації імунoglobулін Е-залежної й імунoglobулін 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 CC і CT 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 (імунферментне визначення цитокінів та IgE в периферичній крові), молекулярно-генетичні

(визначення поліморфізму C-159T, A-896G, 1196 C>T генів рецепторів CD14/TLR-4 за допомогою полімеразної ланцюгової реакції), статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше в Україні був вивчений поліморфізм генів рецепторів CD14 (C-159T), TLR-4 (A-896G, 1196 C>T) у хворих на АД.

Вперше на достовірно значущому рівні було встановлено, що алель C поліморфної ділянки C-159T CD14 рецептора й алель G поліморфної ділянки A-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 CC поліморфізму C-159T 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 CC або CT (C159T-CD14), AG (A-896G-TLR-4) зростає ймовірність розвитку АД.

Виявлено, що одночасне встановлення IgE-залежної чи IgE-незалежної форми, ідентифікація генотипів C-159T рецептора CD14, визначення вмісту сироваткових цитокінів IL-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 фізіотерії 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. Сієтл, 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. Лісабон, 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 204 джерела, зокрема 21 – кирилицею, 183 – латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. У дослідження були включені 96 дорослих хворих на АД. Групу контролю склали 90 здорових осіб. Для діагностики АД використовували критерії Hanifin і Rajka 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".

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 (SCORing Atopic Dermatitis). Якість життя пацієнтів оцінювалася за допомогою анкети ДІЯЖ/DLQI (дерматологічний індекс якості життя/Dermatology Life Quality Index). Усі пацієнти з АД залежно від рівня загального ІgE та позитивності хоча б до одного алергену за результатами шкірних прик-тестів були розділені на 2 основні групи: екзогенний або ІgE-залежний АД (рівень загального ІgE більше 100 МО/мл), ендогенний або ІgE-

незалежний АД (рівень загального ІgE менше 100 МО/мл). На 2-му етапі роботи було проведено вивчення асоціації поліморфізму генів рецепторів ендотоксину (C-159-CD14, A-896G-TLR-4, 1196 C>T-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 ІgE-залежний та ІgE-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 в якості монотерапії 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, емолієнтами, 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 ІgE-залежного й ІgE-незалежного АД. До першої групи були відібрані хворі з генотипом СС (C-159T), які отримували стандартну терапію (мазь флотиказону 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 (C-159T), 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.

Шкірне тестування було проведено під час ремісії захворювання. Постановку й оцінку проб виконували відповідно до наказу МОЗ та АМН України № 127/18 від 02.04.2002 р. Для проведення шкірних прик-тестів використовували алергени виробництва "Імунолог" (Вінниця).

Вміст цитокінів і загального ІgE в периферичній крові досліджували імуноферментним методом із застосуванням реактивів виробництва Вектор-Бест.

Оптичну щільність встановлювали на аналізаторі "STAT FAX 303 PLUS" (США). Концентрацію цитокінів визначали в пг/мл, IgE – МО/мл.

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 алей-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" ("Літєх", РФ) згідно з інструкцією виробника.

Постановка алей-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" ("Літєх", РФ) відповідно до інструкції виробника.

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

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 Стюдента. 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 екзогенним та ендогенним АД обчислювалася з використанням тесту χ^2 у таблиці спряженості.

Розподіл генотипів відповідно до закону Харді-Вайнберга, визначення різниці частот генотипів, алейв контролю та хворих на АД проводилися з застосуванням логістичної регресії за допомогою online-програми (<http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>).

Результати дослідження та їх обговорення. У рамках проведеної роботи всі пацієнти з АД залежно від рівня загального IgE та присутності позитивних шкірних алерготестів були розділені на 2 основних групи: екзогенний або IgE-залежний АД, ендогенний або IgE-незалежний АД.

Вміст загального IgE в контрольній групі (Me – 14,63; 95% ДІ 11,94-17,70) був достовірно нижчим ($P < 0,001$) порівняно з загальною групою (Me – 61,11; 95% ДІ 39,05-88,33) та при розділенні на IgE-залежний (Me – 275,18; 95% ДІ 217,27-340,73) та IgE-незалежний АД (Me – 30,66; 95% ДІ 26,78-39,12). При множинному порівнянні вік у досліджуваних групах достовірно не відрізнявся ($P = 0,059$), хоча в пацієнтів з ендогенним АД він був достовірно більшим ($p = 0,028$) порівняно з екзогенним. Отже, для екзогенного АД, на відміну від ендогенного, характерним є молодший вік пацієнтів, що пояснюється превалюванням IgE-залежних реакцій у такому віковому періоді.

Тривалість захворювання для всіх досліджуваних груп у середньому становила більше 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 загострень за останній рік. Значення індексу DLQI повторили основні закономірності, що були отримані для індексу SCORAD. Треба зазначити, що за даними критеріями не було встановлено достовірних відмінностей між IgE-залежним та IgE-незалежним АД ($p > 0,05$). При вивченні початку виникнення захворювання була виявлена тенденція ($P = 0,098$) до превалювання дуже раннього початку (3-2 роки) для пацієнтів з IgE-залежним патогенезом. Достовірні відмінності ($P < 0,001$) були отримані тільки для групи старше 19 років: початок захворювання був зареєстрований у 43,5% пацієнтів з IgE-незалежною формою, 17,6% – IgE-залежною.

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

На момент включення більшість хворих приймали емолієнти (64,6%), антигістамінні препарати (72,9%), топічні глюкокортикостероїди (21,9%). Незначна кількість пацієнтів вживали комбінацію глюкокортикостероїдів з антибіотиками (9,4%), антисептиками (7,3%), протигрибковими (10,4%) препаратами, протигрибкові+антибактеріальні (8,3%). Топічні інгібітори кальцеврину призначалися в 7,3% випадків. Системна терапія приписувалася в незначній кількості. Фототерапію отримували 7,3% осіб, алерген-специфічну імунотерапію – 1%, системні глюкокортикостероїди – 6,3%, цитостатики – 6,3%, моноклональні антитіла – 1%. Достовірних відмінностей щодо призначення препаратів місцевої та системної дії між IgE-залежним та IgE-незалежним АД встановити не вдалося ($p > 0,05$).

Наступним етапом роботи став аналіз алергоанамнезу та сенсibilізації до основних алергенів у хворих на АД. 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 ($P < 0,001$).

За результатами шкірних прик-тестів у 22,9% пацієнтів була підтверджена сенсibilізація до кліщів домашнього пилу. Більше 10% хворих були сенсibilізованими до злакових (стоколос прямиий, пирії повзучий, жито посівне, тимофіївка лучна), бур'янів (полін, 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 пилу. Основними харчовими продуктами, що викликали

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. У досліджуваній популяції розподіл генотипів пацієнтів з АД достовірно відрізнявся ($P=0,024$) від контролю. При порівнянні генотипів АА й АG в досліджуваних групах було встановлено, що у хворих на АД частота генотипу АG була більшою, АА – меншою відносно контролю (відношення шансів (ВШ)=2,448; $P=0,007$). Частота генотипів (АА, АG, GG) у пацієнтів з ІgE-залежним АД, як і в загальній групі хворих, достовірно відрізнялася ($\chi^2=10,004$; $P=0,007$) від контролю. При порівнянні частот гомозиготи АА та гетерозиготи АG між групами було встановлено значне (ВШ=3,712) і достовірне ($P=0,002$) превалювання генотипу АG при ІgE-залежному АД. Частота розподілу генотипів TLR-4 (А-896G) у хворих на ІgE-незалежний АД достовірно не відрізнялася ($\chi^2=3,088$; $P=0,214$) від контролю. При порівнянні частот генотипів АА й АG між групами не було виявлено достовірних відмінностей (ВШ=1,924; $P=0,082$). Отже, встановлені дані щодо підвищеного ризику розвитку АД в загальній групі пацієнтів, які є носіями алеля G, тісно пов'язані з ІgE-залежною формою АД. Рівень загального ІgE був достовірно вищим у хворих з генотипом АG+GG порівняно з АА в загальній групі та при розділенні пацієнтів на ІgE-залежний та ІgE-незалежний АД. Крім цього, в здорових волонтерів рівень ІgE при генотипі АG+GG був достовірно більшим порівняно з генотипом АА.

Було встановлено, що при генотипі АА в пацієнтів загальної групи та в групі з ІgE-незалежним АД рівні ФНП- α й ІЛ-2 були достовірно вищими за контроль. Зі свого боку в осіб з ІgE-залежним АД і генотипом АG+GG рівень ІЛ-2 був достовірно більшим відносно контролю.

У пацієнтів з ІgE-залежним АД і генотипом АG+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 ІgE-незалежним АД при генотипі АG+GG був достовірно більшим відносно генотипу АА.

Отже, ризик розвитку АД в досліджуваній популяції пов'язаний з превалюванням мутантного алеля G в асоціації з високими рівнями загального ІgE й ІЛ-5 у сироватці крові.

На заключному етапі встановлювалася роль Thr399Pc поліморфізму гена TLR-4 та цитокінового профілю в розвитку АД. Вивчення цього поліморфізму показало, що в досліджуваній популяції характерною є відсутність гомозиготного генотипу ТТ. Тільки в 11 хворих на АД і 6 волонтерів був виявлений гетерозиготний генотип СТ. При статичному порівнянні частот генотипів, алелів і різниці за ризиком за алелем Т між досліджуваними групами достовірних відмінностей встановити не вдалося. Отже, отримані результати вказують на відсутність зв'язку поліморфізму 1196 C>T гена TLR-4 з ризиком розвитку АД в досліджуваній популяції. Це можна пояснити невисоким розповсюдженням алеля Т серед пацієнтів, включених у дослідження, з одного боку, дослідженням відносно невеликої кількості хворих і волонтерів – з іншого.

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 ІgE-залежного, так й ІgE-незалежного АД. До першої групи були відібрані хворі з генотипом СС (С-159Т), які отримували стандартну терапію (мазь флотиказону пропіонат 0,005 %, смолієнт) 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.

У пацієнтів з генотипами СС і ТТ при ІgE-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. Зі свого боку при ІgE-незалежному АД у хворих усіх груп спостерігалася достовірне зменшення 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. Для ІgE-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 ІgE-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 ІgE-залежній формі АД.

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 спостерігалася достовірне ($p=0,004$) зменшення цього цитокіну тільки в пацієнтів з генотипом СС при ІgE-залежному АД, які отримували стандартну терапію з пробіотиками.

У хворих з генотипом ТТ рівень ІЛ-5 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. Зі свого боку концентрація ІЛ-10 була достовірно вищою на початку та наприкінці лікування в групах пацієнтів з генотипом ТТ порівняно з СС. Терапія як ІgE-залежного, так й ІgE-незалежного АД не призвела до достовірних змін у концентрації ІЛ-10.

У пацієнтів з генотипом СС при ІgE-залежній формі АД, 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 флотиказону пропіонат 0,005 %, смолієнт) значно підвищувало ефективність лікування ІgE-залежного АД в дорослих з генотипом СС

(C-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 ІgE-залежної форми АД з генотипом СС. Пробиотики, ймовірно, викликають найбільш активну супресію саме в такій когорті хворих.

У рамках проведеного дослідження основний курс лікування становив 28 днів і переважно був спрямований на купірування загострень. Для розуміння ефективності терапії загострень, зокрема впливу на частоту появи рецидивів, необхідно оцінити динаміку балів SCORAD і DLQI на 3-й і 6-й місяці. При аналізі віддалених результатів було встановлено, що значення індексу SCORAD 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. При аналізі індексу DLQI 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 прийомом пробіотиків може мати значно кращу ефективність.

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

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 (57 жінок, 39 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 ($p<0,05$), 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 C-159T 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 C>T (Thr399Ple) гена TLR-4.

5. За наявності генотипу СС поліморфної ділянки C-159T 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 AG+GG поліморфної ділянки А-896G (Asp299Gly) гена TLR-4 є достовірно вищим ($P<0,05$) порівняно з генотипом АА. При поліморфізмі 1196 C>T (Thr399Ple) гена TLR-4 в осіб з імуноглобулін Е-залежною формою atopічного дерматиту виявлена тенденція 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 (C-159), що підтверджується клінічними критеріями (достовірно 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, грятниця 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 СС або СТ (C159T-CD14), AG (A-896G-TLR-4) зростає ймовірність розвитку atopічного дерматиту.

При генотипі СС 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 НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

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. *(Здобувач проаналізувала клінічні матеріали, провела пошук літератури, сформулювала висновки)*

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. Літус АІ, Деркач НВ, Літус ВІ. Цитокиновий профіль і А-896G поліморфізм гена TLR-4 при atopічному дерматиті у дорослих. *Лаб. діагностика. Вост. Європа*. 2018;7(1):104-11. *(Здобувач проаналізувала клінічні матеріали, провела пошук літератури, сформулювала висновки)*

5. Літус ВІ, Деркач НВ, Літус АІ. Воспалительные/супрессивные цитокины периферической крови и 1196 СТ (Thr399Ile) поліморфізм гена TLR-4 при atopічному дерматиті у дорослих. *Лаб. діагностика. Вост. Європа*. 2018;7(3):333-41. *(Здобувач проаналізувала клінічні матеріали, провела пошук літератури, сформулювала висновки)*

6. Літус ВІ, Деркач НВ, Літус ОІ. Клінічні та імуногенетичні особливості перебігу atopічного дерматиту. *Здоров'я суспільства*. 2018;7(3):142-9. *(Здобувач проаналізувала клінічні матеріали, провела пошук літератури, сформулювала висновки)*

7. Літус ОІ, Деркач НВ, Літус ВІ. C-159T поліморфізм гену CD14 та цитокиновий профіль при atopічному дерматиті у дорослих. *Укр. журн. медицини, біології та спорту*. 2018;3(1):156-63. *(Здобувач проаналізувала клінічні матеріали, провела пошук літератури, сформулювала висновки)*

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. *(Здобувач проаналізувала клінічні матеріали, провела пошук літератури, сформулювала висновки)*

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.

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.

Метою дослідження було удосконалення персоналізованої діагностики та лікування хворих на atopічний дерматит шляхом виділення груп пацієнтів з імуноглобулін Е-залежною (екзогенною) й імуноглобулін Е-незалежною (ендогенною) 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. У дослідження були включені 96 дорослих хворих на atopічний дерматит. Групу контролю склали 90 здорових осіб.

Генетичні дослідження показали, що ризик розвитку atopічного дерматиту достовірно підвищений ($P=0,033$) при превалюванні алеля С поліморфної ділянки CD14 рецептора. За наявності генотипу СС для пацієнтів з імуноглобулін Е-залежним atopічним дерматитом характерні високі рівні загального імуноглобуліну Е, інтерлейкіну-5 та низькі – інтерлейкіну-10, трансформуючого фактора росту- β порівняно з іншими генотипами. Зниження ризику розвитку як імуноглобулін Е-незалежного, так й імуноглобулін Е-залежного atopічного дерматиту асоціюється з превалюванням у популяції генотипів СТ і ТТ. Зменшений ризик розвитку atopічного дерматиту за наявності алеля Т характеризується низькою концентрацією інтерлейкіну-5 та високою – інтерлейкіну-10, трансформуючого фактора росту- β порівняно з гомозиготним генотипом СС.

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 (достовірне зниження ($P<0,05$) індексів SCORAD та DLQI) й імунологічними критеріями (достовірне ($P<0,05$) зменшення інтерлейкіну-4 та підвищення трансформуючого фактора росту- β).

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

АННОТАЦИЯ

Деркач Н.В. Усовершенствование персонализированной диагностики и лечения больных atopическим дерматитом с учетом эндотоксин-опосредованных факторов иммунопатогенеза. – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.20 “Кожные и венерические болезни”. – Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика МЗ Украины, Киев, 2020.

Целью исследования было усовершенствование персонализированной диагностики и лечения больных atopическим дерматитом путем выделения групп пациентов с иммуноглобулин Е-зависимой (экзогенной) и иммуноглобулин Е-независимой (эндогенной) формами, иммунопатогенетически обусловленного назначения пробиотиков на основе определения клинических критериев, параметров кожных прик-тестов, концентрации цитокинов в периферической крови с учетом полиморфизма генов рецепторов эндотоксина CD14/TLR-4. В исследование были включены 96 взрослых больных atopическим дерматитом. Группу контроля составили 90 здоровых лиц.

Генетические исследования показали, что риск развития atopического дерматита достоверно повышен ($P=0,033$) при превалировании аллеля С полиморфного участка CD14 рецептора. При наличии генотипа СС для пациентов с иммуноглобулин Е-зависимым atopическим дерматитом характерны высокие уровни общего иммуноглобулина Е, интерлейкина-5 и низкие – интерлейкина-10, трансформирующего фактора роста- β сравнительно с другими генотипами. Снижение риска развития как иммуноглобулин Е-независимого, так и иммуноглобулин Е-зависимого atopического дерматита ассоциируется с превалированием в популяции генотипов СТ и ТТ. Уменьшенный риск развития atopического дерматита при наличии аллеля Т характеризуется низкой концентрацией интерлейкина-5 и высокой – интерлейкина-10, трансформирующего фактора роста- β сравнительно с гомозиготным генотипом СС.

Прибавление пробиотика (*Lactobacillus acidophilus* (LA-5), *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* (BB-12)) к стандартной терапии заболевания (мазь флютиказона пропионат 0,005 %, эмолиент) на протяжении 28 дней значительно повышает эффективность лечения иммуноглобулин Е-зависимого atopического дерматита у больных с генотипом СС (С-159), что подтверждается клиническими (достоверное снижение ($P<0,05$) индексов SCORAD и DLQI) и иммунологическими критериями (достоверное ($P<0,05$) уменьшение интерлейкина-4 и повышение трансформирующего фактора роста- β).

Ключевые слова: atopический дерматит, эндотоксин, хроническое воспаление, полиморфизм генов, пробиотики.

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 a scientific degree of candidate of medical sciences in specialty 14.01.20 “Skin and venereal diseases” (222 – Medicine). – 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.

Materials and methods. 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 concomitants allergic diseases, frequency of sensitization to the main allergens according to allergoamnesia; 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 (*Lactobacillus acidophilus* (LA-5), *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* (BB-12)) 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 (*Lactobacillus acidophilus* (LA-5), *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* (BB-12)- 1 capsule 2 times a day 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.

Results and conclusions. 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 allergoamnesia 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 (*Lactobacillus acidophilus* (LA-5), *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* (BB-12)) 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-159) genotype, which is confirmed by clinical (<math>P<0,05</math>) of SCORAD and DLQI indices) and immunological criteria (significant (<math>P<0,05</math>) 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.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АД	атопічний дерматит
ВШ	відношення шансів
ІІ	інтерлейкін
ІФ- γ	інтерферон гамма
ТФР- β	трансформуючий фактор росту β
Тх	Т хелпери
ФНП- α	фактор некрозу пухлин α
А	adenine
Asp	aspartic acid
С	cytosine
G	guanine
Gly	glycine
IgE	імуноглобулін Е
Т	thymine
TGF- β	transforming growth factor β
TLR-4	toll-like receptor 4

Підписано до друку 30.09.2020 р. Формат 60x90^{1/16}.

Ум. друк. арк. 0,9. Обл.-вид. арк. 0,9

Наклад 100 прим. Замовлення № 577.

Віддруковано на ризографі в видавничому центрі «Принт-центр»
04053, м.Київ, вул. Січових Стрільців, 26А

Тел./факс: 486-50-88, (050)712-40-80, (097)182-07-07, 277-40-16

<http://www.printc.kiev.ua>; E-mail: printcentr@ukr.net