

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

*Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису*

ВАКУЛА ДАР'Я ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК: 616.516-06-053.3/.4-07-084-085

ДИСЕРТАЦІЯ

**ОПТИМІЗАЦІЯ ШЛЯХІВ ДІАГНОСТИКИ, ЛІКУВАННЯ ТА
ПРОФІЛАКТИКИ РОЗВИТКУ УСКЛАДНЕНИХ ФОРМ АТОПІЧНОГО
ДЕРМАТИТУ У ДІТЕЙ РАНЬОГО ВІКУ**

228 Педіатрія

22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття доктора філософії

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

_____ Д.О. Вакула

Науковий керівник – Недельська Світлана Миколаївна, доктор медичних наук, професор

Запоріжжя - 2021

АНОТАЦІЯ

Вакула Д.О. Оптимізація шляхів діагностики, лікування та профілактики розвитку ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей раннього віку. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 228 «Педіатрія» (22 Охорона здоров'я). – Запорізький державний медичний університет МОЗ України, м. Запоріжжя, 2021.

Запорізький державний медичний університет МОЗ України, м. Запоріжжя, 2021.

Дисертаційна робота присвячена удосконаленню ранньої діагностики, лікуванню та профілактики розвитку ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей раннього віку на підставі вивчення фізичного, хімічного бар'єрів та бар'єру - мікробіому та дослідження змін імунологічних показників.

У роботі наведені дані обстеження 85 дітей основної групи з atopічним дерматитом, яких було розділено на групи за тяжкістю перебігу захворювання за шкалою SCORAD: 23 дитини увійшли до I групи, 28 – до II групи та 34 дитини – до III. Пацієнти III групи були розділені на 2 підгрупи. Групу контролю склали 30 здорових дітей, які були репрезентативні за віком.

За результатами анкетування батьків дітей досліджуваних груп було виявлено, що особливу роль у розвитку atopічного дерматиту відіграє сімейний анамнез atopії (підтверджено наявність обтяженого анамнезу у 55,3 % дітей основної групи), характер вигодовування на першому році життя, наявність професійних шкідливостей на роботі у матерів та несприятливі побутові умови (наявність вогкості, пилу, тарганів у оселі). Анкетування показало, що лише 20 % батьків дітей основної групи зверталися по допомогу після появи перших шкірних проявів.

За даними об'єктивного обстеження було виділено та систематизовано основні клінічні варіанти ускладненого активізацією умовно-патогенними

видами мікробіоти atopічного дерматиту: плями, що лущаться, із піднятим або фестончатим краєм, подвійним контуром, чіткої форми, відмежовані; зливний сквамо-еритематозний висип з крупно-пластинчастими лусочками на тлі гіперемії, із вираженою сухістю, гіперлінеарністю і тріщинами у місцях фізіологічних згинів; бляшковий псориазоподібний висип, часто на волосистій частині голови та/або диссемійовано по тілу; ділянки вираженої індурації місця висипки округлої форми, діаметром від 1 до 5 см, у поєднанні із везикулами, мокнуттям, мацерацією та вираженою гіперемією; розповсюджена форма із різнотиповими елементами висипу.

Виявлено, що визначення рівнів трансепідермальної втрати рідини в динаміці протягом лікування є якісним діагностичним критерієм покращення стану фізичного бар'єру ($p < 0,05$). Встановлено статистично значущі відмінності у розподілі генотипів rs9290927 гена щільних міжклітинних контактів Claudin-1 серед дітей з atopічним дерматитом та контрольної груп ($\chi^2 = 6,26$, $p < 0,05$): в основної групи превалював генотип AA (80,3 %), генотип AT – у 15,2 %, у групі контролю генотип AA виявлявся у 63 % дітей та генотип AT у 37 % дітей.

У дітей із клінічними ознаками ускладненого перебігу atopічного дерматиту, нетиповими для atopічного дерматиту за своєю морфологією та локалізацією висипання, що важко піддавалися терапії зволожуючими, протизапальними засобами та елімінаційною дієтою, які є першим етапом у лікуванні atopічного дерматиту згідно з міжнародними рекомендаціями, доведено активізацію умовно-патогенної мікрофлори шляхом виявлення змін рН шкіри (рН $< 5,52$ та рН $> 5,87$, $p < 0,001$, Sp - 86 %, Se – 86,3 %) та проведенням мікробіологічного дослідження.

За даними результатів мікробіологічного дослідження встановлено, що найбільш поширеним збудником був *Staphylococcus aureus*, рідше виявлялися *Streptococcus haemolyticus*, *Chryseobacterium species* та *Enterococcus faecalis*. Серед дітей, які мали ознаки активізації умовно-патогенної грибкової флори, виявлявся надмірний ріст *Candida albicans*, *Candida nonalbicans*,

Normodendrum compactum, *Aspergillus nidulans*, проте чутливість мікробіологічного методу виявлення мікотичної контамінації склала 21,4 %. Виявлені зміни рН шкіри та позитивна мікробіологічна культура потребувала призначення додаткової місцевої терпії.

За результатами дослідження показників імунного статусу діти із тяжким перебігом atopічного дерматиту були розділені на 2 підгрупи: підгрупу IIIa склали діти, які мали позитивну динаміку із проведеним лікуванням із подальшою клінічною ремісією, до підгрупи IIIb були включені діти, які мали ускладнений активізацією умовно-патогенною флорою atopічний дерматит та яким із проведеним лікуванням не вдавалося досягти клінічної ремісії протягом часу нашого спостереження (6-12 місяців). У підгрупі IIIb було виявлено нижчу за референтні значення активність середніх циркулюючих імунних комплексів, достовірно нижчий компонент комплементу C3, вищі показники ТПР-4, нижчі рівні CD3+, CD56+ та зниження сумарної кількості IgA, IgM, IgG у порівнянні з групами I, II та підгрупою IIIb ($p < 0,05$).

Проведений на підставі визначених рівнів CD3+, CD56+ та рівню компонента комплементу C3 ROC-аналіз дозволив прогнозувати затяжний характер перебігу ускладнених форм atopічного дерматиту ($AUC = 0,935$, $Se - 80,0 \%$, $Sp - 84,62 \%$, $p < 0,0001$) та ($AUC = 0,870$, $Se - 75 \%$, $Sp - 75 \%$, $p < 0,0001$) відповідно.

Концентрація ІЛ-13 зростала із вираженістю проявів atopічного дерматиту. Проведений кореляційний аналіз виявив сильний позитивний зв'язок тяжкості atopічного дерматиту за шкалою SCORAD у групах I, II та IIIa із рівнями ІЛ-13 ($r = + 0,73$; $p < 0,05$). У дітей із тяжким перебігом захворювання без клінічної ремісії (підгрупа IIIb) було виявлено достовірне зниження рівнів ІЛ-13 та ІЛ-4 у порівнянні з іншими групами дітей з atopічним дерматитом ($p < 0,05$).

Тяжкість atopічного дерматиту мала достовірний прямий зв'язок середньої сили із концентрацією ІЛ-1 β ($r = +0,67$, $p < 0,05$). Рівні ІЛ-1 β у

підгрупах Ша та Шб достовірно не відрізнялися. Рівні ІЛ-12 достовірно збільшувалися із тяжкістю АД ($p < 0,05$) та були достовірно вищими у підгрупі Шб у порівнянні із підгрупою Ша ($p < 0,05$). Кореляційний аналіз рівнів ІЛ-12 із показниками ТПР-4 у пацієнтів Шб підгрупи виявив прямий кореляційний зв'язок слабкої сили ($r = +0,29$, $p < 0,05$).

Розроблена на підставі оцінки морфологічних змін та змін рН шкіри математична модель дозволила з 95 % вірогідністю прогнозувати розвиток активації умовно-патогенної мікрофлори у дітей раннього віку з atopічним дерматитом. На підставі отриманих даних запропоновано алгоритм ведення пацієнтів із тяжким перебігом atopічного дерматиту, який включає об'єктивний огляд, виявлення морфологічних змін активації умовно-патогенної мікрофлори шкіри, проведення рН-метрії шкіри та бактеріологічного дослідження.

Доведено, що використання емолієнтів при перших ознаках atopії на шкірі є ефективним методом профілактики прогресування захворювання, який допомагає достовірно відновити вологість шкіри на 4-5 добу при легких проявах atopії та на 10-14 добу у дітей із середнь-тяжким та тяжким перебігом atopічного дерматиту ($p < 0,05$). Призначення терапії ex juvantibus протигрибковими засобами у дітей з ознаками активації умовно-патогенної флори та змінами рН шкіри є ефективним та дозволяє відновити кислотність шкіри на 10-14 день лікування ($p < 0,001$). Для контролю відновлення фізичного бар'єру рекомендовано проводити вимірювання трансепідермальної втрати рідини, а хімічного бар'єру – шляхом вивчення рН шкіри до та після лікування ($p < 0,05$).

Наукова новизна дослідження. Вперше в Україні було вивчено роль гену Claudin-1 та його зв'язок із формуванням та перебігом ускладнених форм atopічного дерматиту. Вперше розроблена стратегія диференційованих підходів до діагностики, лікування та профілактики розвитку ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей раннього віку. Визначено особливості фізичного, хімічного бар'єру шкіри та особливості мікробіому шкіри у дітей

раннього віку з ускладненими формами atopічного дерматиту. Поглиблено наукові дані зодо особливості перебігу ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей та виділені їх клінічні варіанти. Доведено діагностичну значущість рН-метрії шкіри при активації умовно-патогенної грибкової мікрофлори. Поглиблено наукові дані стосовно імунологічних змін у показниках вродженого та адаптивного імунітету при ускладнених формах atopічного дерматиту у ранньому віці. Встановлено фактори, які впливають на розвиток ускладненого неконтрольованого перебігу захворювання в ранньому віці, а саме, низькі рівні сумарних Ig (IgA, IgM, IgG), комплементу C3 та цитотоксичних клітин (CD3+, CD56+).

Практичне значення отриманих результатів. З метою удосконалення лікування на ранніх етапах розвитку ускладнених форм atopічного дерматиту за рахунок активізації умовно-патогенних мікроорганізмів запропоновано спосіб діагностики, який полягає в оцінці клінічних варіантів висипу на шкірі та вимірюванні рН шкіри. При рН <5,52 та >5,87 вірогідність розвитку ускладнених форм зростає до 95 %. Виділено та систематизовано основні клінічні варіанти ускладненого активізацією умовно-патогенними видами мікробіоти atopічного дерматиту

Розроблено спосіб прогнозування розвитку затяжного неконтрольованого перебігу atopічного дерматиту у дітей раннього віку шляхом створення ROC-кривої показників клітинної ланки CD3+, CD 56+ та вродженого імунітету – рівня компонента комплементу C3.

Створено та впроваджено алгоритм ведення пацієнтів з ускладненими формами atopічного дерматиту.

Результати досліджень впроваджено в практику та використовуються у роботі інфекційно-боксованого відділення дітей раннього віку та денного стаціонару соматичного профілю поліклінічного відділення №1 КНП «Міська дитяча лікарня №5» Запорізької міської ради, алергологічному відділенні КНП «Міська дитяча лікарня м. Львова», педіатричному відділенні КНП «Дитяча клінічна лікарня Святої Зинаїди» Сумської міської ради, КНП

«Міська дитяча поліклініка №23» Харківської міської ради, інфекційно-боксованому відділення для дітей молодшого віку НДСЛ «ОХМАДИТ».

Матеріали дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес на кафедрі факультетської педіатрії Запорізького державного медичного університету, кафедрі педіатрії №2 Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, кафедрі педіатрії Медичного інституту Сумського державного університету, кафедрі пропедевтики педіатрії Харківського національного медичного університету, кафедрі педіатрії №1 НМАПО імені П.Л.Шупика.

Ключові слова: діти, атопічний дерматит, алергія, лікування, профілактика.

ANNOTATION

Vakula D.O. Optimizing the ways of diagnostics, treatment and prevention of complicated atopic dermatitis forms development in infants. – Qualifying scientific paper published as a manuscript.

Dissertation for the Doctor of Philosophy degree in the specialty (228 “Pediatrics” (22 Health Care). – Zaporizhzhia State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia City, 2021.

Zaporizhzhia State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia City, 2021.

The thesis paper is devoted to the improvement of early diagnostics, treatment and preventing the development of complicated atopic dermatitis forms in infants based on studying the physical, chemical and microbiome barriers and researching the changes in the immunological indicators.

The paper represents the data of examination of the main group of 85 children with the atopic dermatitis divided into groups based on their morbidity at the SCORAD scale: 23 children entered group I; 28 children were group II and 34 children were in group III. Group III patients were divided into

2 subgroups. The control group consisted of 30 healthy children who were representative in terms of age.

Following the study of survey results of children's parents, it was detected that the atopy family medical history (a remarkable anamnesis was confirmed in the 55.3 % of the main group children), the feeding character in the first year, occupational hazards at mothers' work and negative living conditions (humidity, dust, cockroaches) play the main role in developing atopic dermatitis. The questionnaire shows that only 20 % of the main group of children's parents applied for help after noticing the first skin manifestations.

The main clinical variants of complicated activation of the potentially pathogenic atopic dermatitis microbiome types were found and systematized following the physical examination data: scaly spots with a raised or scalloped border, double counters, a clear form, separated; a coalesced squaw-erythematous rash with large lamellar scaly crust in contrast to hyperemia with denominated dryness, hyperlinearity and fissures in the areas of physiologic bends; plaque psoriasis-like rash, often on a hairy part of the head and/or dispersed throughout the body; induration areas, the round-shaped rashes from 1 to 5 cm in diameter combining vesicles, oozing lesion, maceration and denominated hyperemia; common form with different rash elements.

It was revealed that the determination of transepidermal liquid loss levels over time in the treatment course is a qualitative diagnostic criterion of a physical barrier state improvement ($p < 0.05$). Statistically, a significant difference was found in the rs9290927 genotype distribution of Claudin-1 well-heeled intercellular junctions gene among children with atopic dermatitis and control groups ($\chi^2 = 6.26$, $p < 0, 05$): in the main group the genotype AA was prevalent (80,3 %), the genotype AT – in 15,2 %, in the control group the genotype AA was found in 63 % of children and the genotype AT in 37 % of children.

For the children with clinical signs of complicated atopic dermatitis, not typical for atopic dermatitis due to its morphology and eruption localization, it was hard to be amenable to the therapy of moistening anti-inflammatory agents and

elimination diet, which are the first stage in treating atopic dermatitis according to the international recommendations, the activation of opportunistic pathogenic microflora was proved by detecting changes in the skin pH (pH <5.52 ta pH >5.87, $p < 0.001$, Sp – 86 %, Se – 86,3 %) and conducting a microbiological study.

Following the microbiological study results, it was found that the most common causative agent was *Staphylococcus aureus*; more rarely they were *Streptococcus haemoliticus*, *Chryseobacterium* species and *Enterococcus faecalis*. Excessive growth of *Candida albicans*, *Candida nonalbicans*, *Hormodendrum compactum*, *Aspergillus nidulans* was found among the children having the active opportunistic pathogenic mycetology, however, the microbiological method sensitivity for detecting the mycotic contamination was 21,4 %. The detected pH skin changes and a positive microbiological culture needed an extra local therapy assignment.

Based on the study results of the immune status, the children with complicated atopic dermatitis were divided up into 2 subgroups: the IIIa subgroup was for the children who had positive dynamics with providing treatment followed by a clinical remission, IIIb subgroup included the children who had atopic dermatitis complicated by activating the opportunistic pathogenic flora and whose treatment could not achieve the clinical remission during our observation time (6-12 months). The lower reference values activity of the average circulating immune complex, a truly lower complement component of C3, TLR-4 higher indicators, CD3+, CD56+ lower levels and a decrease in the total amount of IgA, IgM, IgG compared with the I, II groups and IIIb subgroup ($p < 0.05$) were found in the IIIb subgroup.

Conducted on the grounds of the certain CD3+, CD56+ levels and C3 complement component level, a ROC-analysis made it possible to predict the protracted nature of complicated atopic dermatitis forms (AUC = 0.935, Se – 80.0 %, Sp – 84.62 %, $p < 0,0001$) and (AUC = 0,870, Se - 75 %, Sp - 75 %, $p < 0.0001$), consequently.

The IL-13 concentration increased with a symptom appearance of atopic dermatitis. The strong positive connection of atopic dermatitis at the SCORAD scale in the I, II and III groups with the IL-13 levels ($r = + 0.73$; $p < 0.05$) were found by conducting the correlation analysis. The children with a severe disease course without clinic remission (IIIb subgroup) had a reliable decrease in the IL-13 and IJL-4 levels comparing with other children's groups with atopic dermatitis ($p < 0.05$).

The atopic dermatitis severity had a reliable direct connection of average strength with the IL-1 IL-1 β concentration ($r = +0.67$, $p < 0.05$). The IL-1 β levels in the IIIa and IIIb groups did not truly differ. The IL-12 levels reliably increased with the atopic dermatitis severity ($p < 0.05$) and were higher in the IIIb subgroup comparing with the IIIa group ($p < 0.05$). The correlation analysis of the IL-12 levels with TLR -4 indicators in the IIIb group patients showed a direct correlation connection of the weak strength ($r = +0.29$, $p < 0.05$).

Based on the estimates of morphological and skin pH changes, the developed mathematical model made it possible to predict the development of opportunistic pathogenic microflora activation in infants with atopic dermatitis with 95 % of probability. Following the obtained data, an algorithm of managing patients with complicated atopic dermatitis severity, which includes a physical examination, identifying the morphological changes of opportunistic pathogenic skin microflora activation, conducting the skin pH-metry and bacteriological study, was proposed.

It was proved that using emollients on the skin at the first signs of atopy is an effective way to prevent the disease progression that truly helps to restore the skin moisture for 4-5 days at the mild atopic symptom and 10-14 days in infants at the mild-severe and severe atopic dermatitis symptom ($p < 0.05$). The ex juvantibus therapy institution by antifungal agents for infants with activation signs of opportunistic pathogenic flora and pH skin changes is effective and makes it possible to restore skin acidity on 10-14 treatment day ($p < 0.001$). It is recommended to measure the transepidermal liquid loss to control the physical

barrier recovery and the chemical barrier by studying the skin pH before after treatment ($p < 0.05$).

The scientific novelty of the research. The role of the Claudin-1 gene and its connection with the formation and course of complicated atopic dermatitis forms was first studied in Ukraine. The strategy of differentiated approaches was firstly developed to diagnose, treat and prevent the development of complicated atopic dermatitis forms in infants. The skin physical, chemical barrier and skin microbiome features in infants with complicated atopic dermatitis forms were found. The scientific data on course features of complicated atopic dermatitis forms in infants were deepened, and their clinical variants were highlighted. The skin pH-metry diagnostic significance at activating the opportunistic pathogenic microflora was proved. The scientific data on immunologic changes in the indicators of inborn and adaptive immunity in complicated atopic dermatitis forms at an early age were deepened. The factors that influence the development of complicated uncontrolled disease course at an early age, namely, low levels of total Ig (IgA, IgM, IgG), C3 complement and cytotoxic cells (CD3+, CD56+) were discovered.

The practical importance of the obtained results. The method of diagnostics, which consists of estimating the enanthesis clinical variants and measuring the skin pH, is suggested to improve the treatment at the early development stages of complicated atopic dermatitis forms by activating the opportunistic pathogenic microorganisms. At the pH < 5.52 and > 5.87 , the possibility of developing complicated forms increases up to 95 %. The main clinical variants of complicated activation of the potentially pathogenic atopic dermatitis microbiome types were found and systematized.

The way to predict the development of lingering uncontrolled atopic dermatitis course for infants was discovered by creating the ROC-curve of CD3+, CD 56+ cell element indexes and inborn immunity – C3 complement component level.

The algorithm for managing patients with complicated atopic dermatitis forms was created and implemented.

The study results are implemented into practice and used in the work of the infectious box department for infants and somatic day patient facility of polyclinic department No.1 at Public Non-Profit Enterprise “City Children’s Hospital No.5” of Zaporizhzhia City Council, the allergy department of Public Non-Profit Enterprise “Lviv City Children’s Hospital”, pediatric department of Public Non-Profit Enterprise “Children’s Clinic Hospital of St. Zinaida” of Sumy City Council, Public Non-Profit Enterprise “City Children’s Polyclinic No.23” of Kharkiv City Council, infectious box department for infants at National Children Specialized Hospital “OHMADYT”.

The thesis paper materials were implemented into the educational process at the Department of the Faculty Pediatrics at Zaporizhzhia State Medical University, the Department of Pediatrics No.2 at Danylo Halytsky Lviv National University, the Department of Pediatrics at Medical Institute of Sumy State University, the Department of Propedeutic Pediatrics at Kharkiv National University, the Department of Pediatrics No.1 at National Medical Academy of Postgraduate Education after P.L. Shupik.

Keywords: children, atopic dermatitis, allergy, treatment, prevention.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ
ДИСЕРТАЦІЇ

1. Nedelska S. M., Vakula D. O., Pakholchuk O. P. Cytokines profile (IL-4, IL-13) of children with severe forms of atopic dermatitis versus their grades of severity. *Biological markers in fundamental and clinical medicine*. 2019. Vol. 3, N 2. P. 29–33. (Дисертанткою проведено літературний пошук, статистична обробка результатів та підготовка до друку).

2. Недельська С. М., Вакула Д. О., Пахольчук О. П. Роль умовно-патогенних грибкових штамів у перебігу atopічного дерматиту у дітей. *Вісник проблем біології і медицини*. 2020. Вип. 3. С. 287–293. (Дисертанткою проведено набір хворих, клінічне спостереження, діагностика, лікування, літературний пошук, підготовлено статтю до друку).

3. Недельська С. М., Вакула Д. О. Особливості імунного статусу дітей із різною тяжкістю atopічного дерматиту. *Здоров'я дитини*. 2021. Т. 16, № 1. С. 20–26. (Дисертанткою проведено огляд хворих, літературний пошук, аналіз та статистична обробка даних, підготовлено статтю до друку).

4. Вакула Д. О. Діагностична значимість рН-метрії шкіри удітей з atopічним дерматитом. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації* (до 50-річчя заснування Запорізького державного медичного університету МОЗ України : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф., -30 квіт. 2018 р. Запоріжжя, 2018. С. 90.

5. Вакула Д. О. Умови формування та фактори ризику розвитку atopічного дерматиту у дітей раннього віку в Запорізькій області. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія*. 2019. № 2 (115). С. 67–68.

6. Вакула Д. О. Особливості імунітету у дітей раннього віку з ускладненими формами atopічного дерматиту. *XXIII міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених*, 15-17 квіт. 2019 р. Тернопіль, 2019. С. 163.

7. Вакула Д. О., Недельська С. М. Клінічні варіанти шкірних проявів атопічного дерматиту із вторинним грибковим інфікуванням у дітей раннього віку. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019* : зб. тез доп. наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів, 13-17 трав. 2019 р. Запоріжжя, 2019. С. 84–85. (Дисертанткою проведено набір пацієнтів, клінічне спостереження, діагностика та лікування хворих, літературний огляд та підготовлено тези до друку).

8. Вакула Д. О. Роль порушення шкірного бар'єру у дітей раннього віку з атопічним дерматитом. *Актуальні питання виявлення і лікування алергічних захворювань* : зб. тез доп. IV Всеукр. з'їзду алергологів України, 23-25 трав. 2019 р. К., 2019. С. 21.

9. Vakula D., Pakholchuk O. Features of the clinical course of atopic dermatitis related to the types of breeds of microorganisms in young children. *EAACI Congress 2019*, 1-5 June 2019. Lisbon, 2019. P. 766. (Дисертанткою проведено обстеження хворих, літературний пошук, статистична обробка та аналіз даних, підготовлено тези до друку).

10. Недельська С. М., Вакула Д. О. Імунний статус у дітей з різною тяжкістю атопічного дерматиту. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія*. 2020. № 2. С. 69–70. (Дисертанткою проведено огляд хворих, проведено дослідження, літературний пошук, статистична обробка та аналіз даних, підготовлено тези до друку).

11. Вакула Д. О., Йожикова Д. О. Роль інтерлейкіну - 4 та інтерлейкіну- 13 в залежності від важкості форми атопічного дерматиту у дітей. *Наукова конференція студентів ЗДМУ - 2021* : зб. тез доп. в рамках І туру «Всеукраїнського конкурсу студентських наукових робіт з галузей звань і спеціальностей у 2020-2021 н.р.», м. Запоріжжя, 05 лют. 2021 р. Запоріжжя, 2021. С. 31. (Дисертанткою проведено огляд хворих, проведено дослідження, літературний пошук, статистична обробка та аналіз даних, підготовлено тези до друку).

12. Вакула Д. О., Йожикова Д. О. Роль маркерів запалення ІЛ-1 β та ТНФ- α у дітей раннього віку з атопічним дерматитом. *Актуальні питання сучасної медицини та фармації - 2021* : зб. тез доп. наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів, 15-16 квіт. 2021 р. Запоріжжя, 2021. С. 71. *(Дисертанткою проведено огляд хворих, проведено дослідження, літературний пошук, статистична обробка та аналіз даних, підготовлено тези до друку).*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	18
ВСТУП.....	19
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА ПРОБЛЕМУ АТОПІЧНОГО	
ДЕРМАТИТУ У ДІТЕЙ РАНЬОГО ВІКУ	27
1.1 Сучасні погляди на частоту перебігу atopічного дерматиту у дітей раннього віку.....	27
1.2 Значення ролі шкірного бар'єру у патогенезі розвитку atopічного дерматиту	28
1.3 Біорізноманіття факторів розвитку atopічного дерматиту.....	33
1.4 Особливості мікробіотичного стану шкіри у дітей з atopічним дерматитом.....	36
1.5 Роль стану шлунково-кишкового тракту при atopічному дерматиті..	38
1.6 Імунопатологічні аспекти atopічного дерматиту у дітей раннього віку.....	42
1.7 Екологічний вплив на розвиток алергічних захворювань	47
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	49
2.1 Клінічна характеристика обстежених дітей	49
2.1.1 Клінічні варіанти перебігу ускладнених форм atopічного дерматиту, асоційовані з активізацією умовно-патогенних видів мікробіоти	58
2.2 Матеріали та методи дослідження	61
2.2.1 Вивчення трансепідермальної втрати рідини.....	61
2.2.2 Вивчення рН шкірних покривів	62
2.2.3 Мікробіологічні методи дослідження.....	63
2.2.4 Методи специфічної діагностики чутливості до алергенів	64
2.2.5 Методи оцінки показників периферійної крові та показників імунного статусу пацієнтів.	65
2.2.6 Імуноферментний аналіз	65
2.2.7 Методика генетичного аналізу.....	67
2.2.8 Методи математичного аналізу і статистичної обробки даних.....	68
РОЗДІЛ 3. ОСОБЛИВОСТІ ФІЗИЧНОГО, ХІМІЧНОГО ТА	
МІКРОБІОЛОГІЧНОГО БАР'ЄРУ ШКІРИ У ДІТЕЙ РАНЬОГО ВІКУ З	
РІЗНОЮ ТЯЖКІСТЮ АД.....	70

3.1	Оцінка тяжкості перебігу АД у досліджуваних дітей за даними шкали SCORAD та рівнем трансепідермальної втрати рідини	70
3.2	Роль поліморфізму гена Claudin-1 у порушенні цілісності шкірного бар'єру	72
3.3	Оцінка порушення хімічного бар'єру шкіри у дітей з atopічним дерматитом	74
3.4	Особливості бар'єру-мікрібіома шкіри у дітей з atopічним дерматитом	78
РОЗДІЛ 4. ОЦІНКА ІМУННОГО СТАТУСУ У ДІТЕЙ З АТОПІЧНИМ ДЕРМАТИТОМ.....		81
4.1	Особливості імунної відповіді у дітей із середньотяжким та тяжким перебігом atopічного дерматиту	81
4.2	Оцінка біологічних маркерів запалення у дітей з різною тяжкістю atopічного дерматиту	95
РОЗДІЛ 5. ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОВЕДЕНОЇ ТЕРАПІЇ АТОПІЧНОГО ДЕРМАТИТУ У ДІТЕЙ РАНЬОГО ВІКУ		106
5.1	Динаміка змін показників фізичного та хімічного бар'єру шкіри у дітей після проведеного лікування	106
5.2	Динаміка змін імунологічних показників у дітей з atopічним дерматитом після проведеного лікування	110
5.3	Алгоритм ведення пацієнтів з різною тяжкістю АД та ускладненим перебігом	113
5.4	Клінічний випадок пацієнта нашого дослідження з АД	116
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ		118
ВИСНОВКИ		135
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ		137
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....		138
ДОДАТОК А.		154
ДОДАТОК Б. СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ ДИСЕРТАЦІЇ.....		165
ДОДАТОК В. ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ.....		168

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- АД - атопічний дерматит
АЗ – алергічні захворювання
ВЛК – вроджені лімфоїдні клітини
ІІ - інтерлейкін
ТПР – толл-подібний рецептор
ФНП - фактор некрозу пухлин
ШОЕ – швидкість осідання еритроцитів
CD - кластери диференціювання лімфоцитів
Ig - імуноглобулін
IgE - імуноглобулін класу E
spIgE - специфічний імуноглобулін класу E
Th - Т-лімфоцит хелпер
С3 – компонент комплементу С3
АМП – антимікробні пептиди
ІФН – інтерферон
NK – натуральний кілер
SCORAD - Scoring of Atopic Dermatitis
ШКТ - шлунково-кишковий тракт
ГДК – гранично-допустимі концентрації
ТЕВР – трансепідермальна втрата рідини
КУО – колонієутворюючі одиниці
ДІ - 95 % довірчий інтервал
ЕДТА - етилендіамінтетраоцтова кислота

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Атопічний дерматит (АД) залишається глобальною проблемою у сучасному світі. Із кожним роком поширеність АД серед дитячого населення зростає. Дані тенденції вказують на те, що в багатьох країнах близько 20 % пацієнтів страждають на АД. Розповсюдженість АД серед дітей у загальній популяції варіюється: в середньому складає близько 12-13 % у Японії, 15 % у США, 20 % у Європі та до 22 % у Азії [1].

На сучасному етапі розвитку медицини доведено, що шкіра є масивною екосистемою, яка виконує функції бар'єру специфічного захисту. Первинну функцію шкіри забезпечує цілісність шкірного бар'єру, яка створює механічну протидію приєднанню патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, секреція сальних і потових залоз, які беруть участь у регуляції кислотності, постійна мікрофлора шкіри і процеси кератинізації, які відповідають за постійне оновлення рогового прошарку [2-3].

Новий погляд на атопічний дерматит розкриває важливу роль структурної патології в епідермісі, в результаті якого порушується цілісність епітеліального бар'єру, а також відбувається патологічна хронічна активація імунної системи [4]. Пацієнти з атопічним дерматитом мають схильність до колонізації мікроорганізмами, особливо часто золотистим стафілококом, стрептококом та різними патогенними грибковими агентами [5]. Наявність вірусних, бактеріальних та грибкових інфекцій у пацієнтів із шкірними ураженнями давно описана в роботах європейських авторів [6]. Однак досі залишається незрозумілим, що є первинним фактором розвитку цих ускладнень у пацієнтів із АД [2]. Складність вивчення патогенетичних аспектів розвитку АД полягає у багатофакторності впливу на дитячий організм [7].

Значну увагу дослідники приділяють ліпополісахаридам, основним компонентам клітинної стінки грамнегативних бактерій, які, як потужний імуномодулятор, можуть забезпечувати захист від атопії та атопічних

захворювань, хоча кількість бактерій, маршрут їх потрапляння в організм і час експозиції можуть бути визначально важливими факторами [8, 9].

Філогенетичне профілювання мікробіому шкіри показало, що гриби є частиною нормальної флори шкіри на всіх ділянках тіла і становлять 1 %-22 % філогенетичного складу мікробіому шкіри залежно від регіону проживання [10]. Грибкова флора здорової шкіри майже виключно складається з дріжджів роду *Malassezia* spp., тому вони є головним членом еукаріотної мікробної флори шкіри. Незважаючи на роль коменсалів на здоровій шкірі людини, дріжджі роду *Malassezia* spp. мають свою патогенетичну роль при АД [11]. Механізми, завдяки яким дріжджі роду *Malassezia* spp. можуть вносити свій внесок у патогенез АД, до кінця не вивчені, однак існують різні гіпотези. Була встановлена роль непатогенних грибів та бактерій, зокрема шляхом впливу на Толл-подібні рецептори (ТПР), у підтримці гомеостазу слизової оболонки та захисту від її пошкодження [12, 13]. У багатих мікробних середовищах постійні експозиції до мікробних компонентів через шкіру, дихальні шляхи і кишечник призводять до толерантності через взаємодію із вродженим імунітетом [14].

Проведені дослідження, які порівнювали здорових осіб і хворих на АД, майже не виявили відмінностей у частоті колонізації шкіри *Malassezia* spp. між обома групами, однак було показано, що IgE-опосередкована сенсibilізація до дріжджів індукується виключно у пацієнтів, які страждають на atopічний дерматит [15]. Основною причиною даної специфічної сенсibilізації може бути порушений захисний бар'єр шкіри, що полегшує поглинання алергенів, які можуть сприяти трансформації захворювання у хронічну форму, а, може, і збочена реакція імунної системи на наявність антигенів цих грибів [16, 17].

Різні фенотики atopічного дерматиту можуть виникати за рахунок складної комбінації мутацій та епігенетичних ефектів генів, які контролюють експресію білка Claudin-1 у бар'єрі шкіри, вродженої і адаптивної імунної відповіді із сильним впливом навколишнього середовища [18]. Згідно з

літературними даними, білок Claudin-1 є структурною одиницею, що бере участь у формуванні щільного шкірного бар'єру [19]. Дослідження показали, що варіанти гена Claudin-1 (rs17501010, rs9290927, rs9290929 і rs893051) впливали на тяжчий перебіг atopічного дерматиту серед населення [20]. Дана проблематика раніше не досліджувалася на території європейських країн, в тому числі в Україні, тому вивчення цих питань є актуальним.

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

Дисертація є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри факультетської педіатрії Запорізького державного медичного університету МОЗ України: «Розробка методів ранньої діагностики найбільш поширених алергічних захворювань у дітей різних вікових груп, профілактики та лікування основних функціональних порушень та супутньої патології у цієї групи хворих» (№ державної реєстрації 0112U005648) та «Оптимізація диференційної діагностики та лікування алергічних захворювань у дітей різного віку» (№ державної реєстрації 0118U4254).

Мета дослідження: оптимізувати діагностику, лікування та профілактику розвитку ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей раннього віку шляхом вивчення сімейного анамнезу, факторів ризику, клінічних особливостей, біохімічних та імунологічних механізмів.

Завдання дослідження:

1. Визначити особливості перебігу ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей раннього віку та оцінити діагностичну значущість різних методів діагностики.

2. Дослідити показники фізичного, хімічного бар'єру шкіри та особливості мікробіому шкіри у дітей раннього віку з ускладненими формами atopічного дерматиту.

3. Встановити зв'язок між тяжкістю перебігу atopічного дерматиту у дітей з імунологічними змінами шляхом вивчення показників вродженого та адаптивного імунітету.

4. Встановити зв'язок поліморфізму гена Claudin-1 із формуванням та перебігом ускладнених форм atopічного дерматиту.

5. Розробити та впровадити науково обґрунтовану стратегію диференційованих підходів до діагностики, лікування та профілактики розвитку ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей раннього віку.

Об'єкт дослідження: atopічний дерматит у дітей

Предмет дослідження: клінічні прояви ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей, анамнестичні дані, загальноклінічні, біохімічні, імунологічні показники, прозапальні цитокіни, функціональний стан шкіри, мікробіологічний стан шкіри, способи діагностики, лікування, профілактики.

Методи дослідження: Заповнення батьками шкали SCORAD. Метод імуноферментного аналізу для виявлення загального та специфічних IgE (до найпоширеніших регіональних харчових, побутових, пилоквих, грибкових алергенів) у лабораторії ТОВ «СІНЕВО». Визначення імунологічних показників (рівні сироваткових IgA, IgM, IgG, загального IgE, компонент комплементу С3, компонент комплементу С4-2, функціональна активність імунних клітин, фагоцитарний індекс, проліферативна активність лімфоцитів, циркулюючі імунні комплекси, показники субпопуляцій лімфоцитів у крові: Т-лімфоцити (CD3+,CD19-), Т-хелпери/Т-індуктори (CD4+,CD8-), Т-супресори/Т-цитотоксичні клітини (CD4-, CD8+), імунорегуляторний індекс (CD4+, CD8-/CD4-, CD8+), цитотоксичні клітини (CD3+, CD56+), NK-клітини (CD3-, CD56+), В-лімфоцити (CD3-, CD19+), моноцити/макрофаги (CD14), загальний лейкоцитарний антиген (ОЛА, CD45) методом проточної цитофлуометрії. Визначення трансепідермальної втрати рідини (Queentone, Франція), кислотність (рН) шкіри (Ezodo, Тайвань). Методом імуноферментного аналізу вивчення рівнів концентрації прозапальних цитокінів (ІЛ-1β, ІЛ-4, ІЛ-12, ІЛ-13, ФІН-α). Методом ПЦР вивчення поліморфізму гена Claudin-1 (rs17501010, rs9290929, rs893051, rs9290927). Визначення рівня експресії імуногістохімічних маркерів (ТПР-4, ТПР-9).

Статистичні непараметричні методи обробки даних із застосуванням пакету програм Statistica.

Наукова новизна дослідження. Вперше в Україні було вивчено роль гена Claudin-1 та його зв'язок із формуванням і перебігом ускладнених форм atopічного дерматиту. Вперше розроблена стратегія диференційованих підходів до діагностики, лікування та профілактики розвитку ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей раннього віку. Визначено особливості фізичного, хімічного бар'єру шкіри та особливості мікробіому шкіри у дітей раннього віку з ускладненими формами atopічного дерматиту. Поглиблено наукові дані щодо особливості перебігу ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей та виділені їх клінічні варіанти. Доведено діагностичну значущість рН-метрії шкіри при активації умовно-патогенної грибкової мікрофлори. Поглиблено наукові дані стосовно імунологічних змін у показниках вродженого та адаптивного імунітету при ускладнених формах atopічного дерматиту у ранньому віці. Встановлено фактори, які впливають на розвиток ускладненого неконтрольованого перебігу захворювання в ранньому віці, а саме, низькі рівні сумарних Ig (IgA, IgM, IgG), комплементу C3 та цитотоксичних клітин (CD3+, CD56+).

Практичне значення отриманих результатів. З метою удосконалення лікування на ранніх етапах розвитку ускладнених форм atopічного дерматиту за рахунок активізації умовно-патогенних мікроорганізмів запропоновано спосіб діагностики, який полягає в оцінці клінічних варіантів висипу на шкірі та вимірюванні рН шкіри. При рН <5,52 та >5,87 вірогідність розвитку ускладнених форм зростає до 95 %.

Розроблено спосіб прогнозування розвитку затяжного неконтрольованого перебігу atopічного дерматиту у дітей раннього віку шляхом створення ROC-кривої показників клітинної ланки CD3+, CD 56+ та вродженого імунітету – рівня компонента комплементу C3.

Створено та впроваджено алгоритм ведення пацієнтів з ускладненими формами atopічного дерматиту.

Результати досліджень впроваджено в практику та використовуються у роботі інфекційно-боксованого відділення дітей раннього віку та денного стаціонару соматичного профілю поліклінічного відділення №1 КНП «Міська дитяча лікарня №5» Запорізької міської ради, алергологічного відділення КНП «Міська дитяча лікарня м. Львова», педіатричного відділення КНП «Дитяча клінічна лікарня Святої Зинаїди» Сумської міської ради, КНП «Міська дитяча поліклініка №23» Харківської міської ради, інфекційно-боксованого відділення для дітей молодшого віку НДСЛ «ОХМАДИТ».

Матеріали дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес на кафедрі факультетської педіатрії Запорізького державного медичного університету, кафедрі педіатрії №2 Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, кафедрі педіатрії Медичного інституту Сумського державного університету, кафедрі пропедевтики педіатрії Харківського національного медичного університету, кафедрі педіатрії №1 НМАПО імені П.Л.Шупика.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є особистою працею дослідника. Дисертантом був проведений літературний пошук та визначено напрямок дослідження, сформована тема дисертаційної роботи та розроблено дизайн дослідження, проведено підбір та обстеження пацієнтів на базі Комунальне некомерційне підприємство «Міська дитяча лікарня №5» Запорізької міської ради, м. Запоріжжя, вимірювання вологості та кислотності шкіри, проведення зішкрібів зі шкіри для мікробіологічного дослідження та забір крові для виконання лабораторних досліджень. Дисертант самостійно отримував моноцитарний концентрат із сироватки крові для проведення подальших лабораторних досліджень. Імуноферментні, імуногістохімічні та ПЦР-дослідження проводилися на базі Навчального медико-лабораторного центру та на кафедрі клінічної лабораторної діагностики Запорізького державного медичного університету за участю дисертанта. Здобувачем самостійно систематизовані та статистично

опрацьовані отримані дані та написані розділи дисертації, сформульовані висновки та практичні рекомендації. Автором самостійно підготовлені тези та статті до друку за результатами отриманих даних.

Апробація роботи. Основні положення дисертаційної роботи представлені та оприлюднені на Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної медицини і фармації» (до 50- річчя заснування Запорізького державного медичного університету МОЗ України), м. Запоріжжя (2018), Традиційній науково-практичній конференції алергологів України у м. Вінниці «Актуальні питання виявлення і лікування алергічних захворювань» (Вінниця, 2018), XX Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання педіатрії» (Сидельниковські читання) (Харків, 2018), XXIII міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2019), Науково-практичній конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019» (Запоріжжя, 2019), IV Всеукраїнському з'їзді алергологів України «Актуальні питання виявлення і лікування алергічних захворювань» (Вінниця, 2019), Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання та практичні аспекти дитячої пульмонології та алергології: стандарти медичної допомоги» (Київ, 2019), VII Всеукраїнській науково-практичній конференції алергологів Слобожанщини «Актуальні питання виявлення та лікування алергічних захворювань» (Харків, 2019), European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress 2019 (Lisbon, 2019), «Науковій конференції студентів ЗДМУ – 2021» (Запоріжжя, 2021), Науково-практичній конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини та фармації – 2021» (Запоріжжя, 2021).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 12 наукових праць, серед яких 3 статті (1 стаття - у журналі держави, яка входить до Європейського Союзу (Чехія), 2 статті - у фахових виданнях України), 9 тез доповідей, 4 роботи без співавторів.

Структура та обсяг дисертації. Матеріали дисертаційної роботи викладено на 169 сторінках друкованого тексту, проілюстровано 33 таблицями та 23 рисунками. Робота складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаної літератури, що містить 151 джерело, та додатків.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА ПРОБЛЕМУ АТОПІЧНОГО ДЕРМАТИТУ У ДІТЕЙ РАНЬОГО ВІКУ

1.1 Сучасні погляди на частоту перебігу atopічного дерматиту у дітей раннього віку

Атопічний дерматит (АД) – це хронічне рецидивуюче захворювання шкіри, що дебютує у ранньому дитинстві. АД залишається глобальною проблемою у всьому світі, адже належить до числа найбільш розповсюджених алергічних захворювань в дитячому віці. У багатьох розвинутих країнах поширеність АД сягає близько 20 % серед населення дитячого віку [21].

Згідно з даними американського дослідження National Health Interview Survey (NHIS) 2012 року, поширеність atopічного дерматиту сягає піку в ранньому дитинстві, а потім знижується в підлітковому віці, залишаючись відносно стабільною протягом усього дорослого життя [22]. Кожні 10 років розповсюдженість АД у світі зростає вдвічі [23]. Згідно з отриманими даними дослідження поширеності АД серед дітей Охотніковою О.М. та колегами у 2020 році, вона коливається від 9,0 до 28,5 %: у дітей 6-7 років – від 5,5 до 30,8 % та 6,7- 20,7 % – серед підлітків 13-14 років. Крім того, розповсюдженість також варіюється залежно від регіону проживання. Так, у Києві складає 3,8 %, у Харкові до 6,1 % та досягає 11,9 % у Вінницькій області [24].

Відсутність єдиних критеріїв в оцінці поширеності, єдиної характерної ознаки АД та єдиного діагностичного методу лабораторного дослідження призводять до зниженої валідності постановки діагнозу АД та важкості проведення досліджень у різних регіонах [25].

Поширеність алергічних захворювань має міцний зв'язок з генетикою та навколишнім середовищем, однак менш зрозуміло, чому саме алергічні захворювання займають одну з лідируючих позицій у світі [26, 27].

1.2 Значення ролі шкірного бар'єру у патогенезі розвитку atopічного дерматиту

Атопічний дерматит є мультифакторним захворюванням, маніфестація та розвиток якого визначається особливістю функціонування бар'єру шкіри, вродженими дефектами імунної системи, впливом генетичних факторів та факторів зовнішнього середовища [26, 27].

На сучасному етапі розвитку медицини погляд на шкіру змінився: перетворився з інертного механічного бар'єру на активний орган, який може сприймати сигнали небезпеки та встановлювати ідеально адаптовані захисні заходи у відповідь на вторгнення патогенів. Шкіра є нашим найбільшим органом і забезпечує цілісність та ідентичність нашого організму, дозволяє взаємодіяти із середовищем, одночасно опосередковуючи захист від нього. Шкіра врівноважує температуру тіла і вологу, захищає від ультрафіолетового випромінювання, передає відчуття і являє собою щільний бар'єр, що виконує функцію специфічного захисту [28, 29].

Механічний бар'єр створює епідерміс за рахунок кератиноцитів на різних стадіях диференціювання, утворюючи роговий прошарок. Дерма представлена фібробластами, колагеновими, еластичними та аргірофільними волокнами, кровоносними і лімфатичними судинами, нервами. Ці структурні анатомічні шари мають вирішальне значення для розуміння багатофункціональності шкіри [30].

Дослідниками виділено чотири ретельно організовані функціональні рівні шкірного бар'єру: фізичний бар'єр, хімічний бар'єр, бар'єр-мікробіом та імунний. Разом вони забезпечують шкірний гомеостаз та специфічний захист. Зміни в кожному із рівнів можуть призвести до розвитку патологічних станів. Отже, найкраще розуміння функціонування різних ділянок шкіри є необхідною умовою розробки стратегій збереження її цілісності та відновлення порушених бар'єрів [31, 32].

Важливими частинами фізичного бар'єру є роговий прошарок і система щільних контактів та їх регулювання. Утворення рогового прошарку -

наслідок дозрівання кератиноцитів, переміщення їх по епідермальних шарах та перетворення на корнеоцити шляхом термінальної диференціації [33]. Щільні контакти, присутні в епітеліальних, ендотеліальних і мезотеліальних клітинах, як "шлюзи", регулюють дифузію молекул та іонів через міжклітинний простір. Вони утворюють "паркан", що відокремлює апікальну частину клітини від базальної, таким чином запобігаючи злиттю мембранних білків між собою, перешкоджає проникненню патогенних мікроорганізмів через епітеліальні шари за рахунок системи вродженого імунітету [34]. Щільні контакти складаються з ряду трансмембранних (сімейства клаудинів, окклюдину, трицеллюліну, молекули сполучної адгезії) та каркасних білків.

Claudin-1 - це білок, який у літературі висвітлюється як основний, що має вирішальне значення в трансепідермальній втраті рідини. Недавнє дослідження Gruber R. та Vornchen C. показало, що експресія білка Claudin-1 пригнічується в ураженій шкірі пацієнтів з atopічним дерматитом [35]. Привертає увагу і дослідження 2002 року, проведене Fuguse та співавторами. У цьому дослідженні було виявлено, що миші з дефіцитом Claudin -1 померли протягом 24 годин після народження та мали зморшкувату шкіру, зневоднення і підвищену епідермальну проникність, яка була виміряна рівнем трансепідермальної втрати рідини [36]. Аномалії щільних контактів спостерігалися як при загальних, так і при рідкісних захворюваннях шкіри. Різні дослідження показали, що відсутність у людини Claudin -1 призводить до рідкісного спадкового генетичного розладу - синдрому іхтіозо-склерозуючого холангіту у новонароджених, а змінена експресія білка в щільних місцях спостерігалася при ряді шкірних розладів людини, включаючи псоріаз, плаский лишай, вульгарний іхтіоз та АД [37, 38].

Різні фенотипи atopічного дерматиту можуть виникати за рахунок складної комбінації мутацій та епігенетичних ефектів генів, які контролюють експресію білка Claudin -1 у бар'єрі шкіри. Нещодавнє дослідження продемонструвало вплив зниженої експресії Claudin -1 на шкірні бар'єрні функції залежно від обробки шкіри епідермальними еквівалентами

інтерлейкінів (ІЛ) – ІЛ-4, ІЛ-13 та ІЛ-31. Було виявлено, що вплив прозапальних маркерів знижував регуляцію експресії гена Claudin -1, що підвищувало ризик чутливості шкіри до алергенів [35]. Дефекти гена Claudin -1 також спричиняють запалення через індукування вироблення прозапального цитокіну ІЛ-1 β та місцеву інфільтрацію лейкоцитів [18]. Ці спостереження дослідників вказують на те, що щільні контакти можуть бути ключовими у підтриманні шкірного гомеостазу.

Щоб встановити роль різних варіантів Claudin -1 у пацієнтів з АД нашого регіону, ми вирішили проаналізувати дані чотирьох однонуклеотидних поліморфізмів (SNPs), а саме rs17501010, rs893051, rs9290927, rs9290929. Попереднє генотипування цих же SNPs Claudin -1 у випадках / контролях ефіопської раси не виявило асоціацій. Однак був помічений зв'язок поліморфізму rs893051 у пацієнтів із раннім дебютом atopічного дерматиту (до 5 років) ($p < 0,03$). Дана проблематика раніше не досліджувалася на території європейських країн, в тому числі в Україні.

Фізичний бар'єр порушується і внаслідок інгібування генів рогового прошарку (філаггріну та лорикрину), зниження рівнів керамідів, підвищення рівнів ендогенних протеолітичних ферментів та збільшення трансепідермальної втрати рідини [39].

Хімічний бар'єр шкіри тісно пов'язаний із фізичним. Він включає в себе фактори, що забезпечують стабільну кислотність (рН) шкіри, та сполуки, що забезпечують природний зволожуючий фактор (лактат, сечовина, електроліти, амінокислоти). Зміни цих сполук можуть впливати на зміни рН та ліпідів рогового прошарку, що вказує на взаємозалежність хімічної та фізичної бар'єрних функцій [40]. Додатковий вплив детергентів та мила може також впливати на зміну рН шкіри, збільшуючи активність ендогенних протеаз, що буде підтримувати активність запалення та порушення цілісності бар'єру [41].

Зміни в епідермісі сприяють підвищеній абсорбції алергенів шкірою та її мікробній колонізації. Оскільки епікутанна сенсibiliзація до алергену

призводить до активації алергічних імунних реакцій, шкіра з порушеним шкірним бар'єром може сприяти не тільки загостренню atopічного дерматиту, але і подальшому формуванню респіраторних алергозів у дітей, в тому числі atopічному маршу [42].

Бар'єр – мікробом – це зовнішній шар шкірних бар'єрів. До його складу входять різноманітні групи мікроорганізмів, які мешкають на всіх ділянках поверхні шкіри. До складу цих груп входять бактерії, грибки та віруси, мікро-еукаріоти, і цей мікробний склад є досить стійким. У своїй роботі Probst A. J. із колегами виявили, що приблизно 4 % усіх мікробних генів є археальними генами рРНК [43].

Формування мікробіологічного стану шкіри розпочинається ще до народження дитини. Донедавна вважалося, що внутрішні відділи матки стерильні, а мікроорганізми колонізують шкіру безпосередньо під час пологів. Тим часом, все більше досліджень вказують на те, що порожнина матки, плацента та навколоплідні води є нестерильними, а колонізація шкіри дитини відбувається вже в організмі матері. Слизова пробка шийки матки, якій раніше відводилася роль забезпечення стерильності умов перебування плоду, все ж дозволяє проникнути бактеріям, що населяють піхву. Більше того, колонізація матки може відбуватися і під час різних інвазивних процедур, наприклад, введення внутрішньоматкових пристроїв. Дослідження мікробіологічного складу плаценти виявило переважання непатогенної коменсальної мікробіоти та наявність як грам-позитивних, так і грам-негативних бактерій [44].

Залежно від пологів через родові шляхи або кесаревим розтином, дитина вперше контактує із мікроорганізмами або в статевих шляхах, або вже зі шкірою матері. Мікроорганізми, виділені із різних частин тіла новонароджених, які народились природним пологовим шляхом, включаючи шкіру, належать до материнського роду лактобацил. У свою чергу, для дітей, народжених за допомогою кесаревого розтину, характерною є мікробіота шкіри, що включає стафілококи, коринебактерії та кутібактерії [45].

Дослідниками неодноразово доведено, що спосіб пологів впливає на склад та різноманіття мікробіома шкіри дитини. Проте не тільки цей фактор відіграє значущу роль. Контакт матері та дитини шкіра до шкіри в перші кілька місяців після народження приводить до трансмісії мікробіома між ними. Крім того, контакт дитини з факторами навколишнього середовища також збільшує видове різноманіття мікробіома шкіри.

Численні дослідження генетичного секвестрування мікроорганізмів вказує, що, на відміну від мікробіома кишок, у шкірній мікробіоті переважають актинобактерії з великою кількістю грам-позитивних бактерій, таких як *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium* та *Corynebacterium* [46]. Колонії мікроорганізмів на шкірі становлять «живий бар'єр», який взаємодіє із навколишнім середовищем та передає сигнали до імунної системи шкіри. Разом з імунними клітинами та ороговілими клітинами шкіри, що регенерують кожний місяць, місцеві види бактерій шкіри відповідають за певне функціонування імунного бар'єру шкіри [47]. Існують різноманітні механізми підтримки імунної системи шкіри, пов'язані з діяльністю мікроорганізмів. Одним з них є колонізація поверхні шкіри комменсалами для запобігання розмноження патогенних мікроорганізмів [48]. У кількох дослідженнях було розглянуто, як комменсальні бактерії на шкірі контролюють потенційно патогенні бактерії. Наприклад, серинова протеаза Esp, секретована *Staphylococcus epidermidis*, гальмує колонізацію золотистим стафілококом і блокує утворення біоплівки *Staphylococcus aureus* [49]. У кератиноцитах людини *Staphylococcus epidermidis* індукує експресію антимікробних пептидів та/або білків та активує шляхи, відмінні від *S.aureus*, внаслідок чого *Staphylococcus epidermidis* бере участь в імунній відповіді та запобігає виживанню *Staphylococcus aureus* [50]. Інші штами цього виду можуть виробляти ліпопептид, який підтримує антимікробний захист господаря. *Staphylococcus epidermidis* також може виробляти ліпотейхоєву кислоту, ліганд Толл-подібних рецепторів (ТІР)-2, який відіграє важливу роль у зменшенні шкірного запалення [51].

Імунний бар'єр містить різноманітні резидентні імунні клітини, заселяючі епідерміс і дерму. Клітинна композиція імунного бар'єру містить вроджені антиген-презентуючі клітини, лімфоїдні клітини, ТПР, кератиноцити та клітини пам'яті, які разом підтримують цілісність бар'єру [52]. Ця імунна армада ефективно відчуває сигнали про небезпеку мікробів через молекулярні структури (PAMPs і DAMPs) та ініціює імунну відповідь, запалення та подальше злуцнення кератиноцитів епідермісу.

1.3 Біорізноманіття факторів розвитку atopічного дерматиту

Атопічні захворювання являють собою сукупність поліетіологічних і багатогранних умов, які є результатом дисфункції імунної системи. Поширеність алергічних захворювань досягла масштабів епідемії в багатьох західних країнах, але, незважаючи на інтенсивний пошук, головні фактори, відповідальні за збільшення захворюваності, залишаються невідомими. Західний спосіб життя та урбанізація є одним із предикторів розвитку atopічних захворювань. У свою чергу, сільський традиційний спосіб життя має особливі фактори, відповідальні за захист від atopічних захворювань. До них можна віднести інтенсивний вплив середовища із розповсюдженою рослинністю та великою кількістю сапрофітів у ґрунті [53]. Поширеність АД у всьому світі вища у міських районах порівняно із сільською місцевістю.

Так, ще у 2009 році фінськими вченими було розпочато дослідження, в основі якого лежала «гігієнічна гіпотеза» – «гіпотеза мікробної деривації» – «гіпотеза біорізноманіття». Науковці намагалися дослідити причинно-значущі фактори, які впливали на ризик розвитку atopічних захворювань у дітей. Гіпотеза стверджувала, що ріст населення та урбанізація міст призвели до втрати біорізноманіття навколишнього середовища (збідніння мікробіому), що в свою чергу призвело до імунної дисфункції (місцевої та системної) та, як наслідок, до слабкої толерантності організму до мікроорганізмів та алергенів [54, 55]. Ці зміни призводили до запалення та розвитку клінічних проявів захворювання. Згідно з гіпотезою

біорізноманіття, багате мікроорганізмами навколишнє середовище індукує розвиток біорізноманітного мікробіому шкіри, який є посередником між навколишнім середовищем і людиною та формує процес толерантності, стримує розвиток запалення [56].

Біорізноманіття - це варіабельність живих організмів з усіх джерел, включаючи, серед іншого, наземні, морські та інші водні екосистеми й екологічні комплекси, частиною яких вони є. Це включає в себе різноманітність у рамках виду, між видами і різноманіття екосистем. На практиці ключовими елементами біорізноманіття є генетична різноманітність популяцій і видів; багатство локальних і глобальних видів; просторова протяжність і стан природних середовищ існування, а також екосистеми, які забезпечують різні функції для людства [57].

Значну увагу протягом останніх кількох років було приділено ліпополісахаридам, як основним компонентам клітинної стінки грам-негативних бактерій, які, як потужний імуномодулятор, можуть забезпечувати захист від atopії та atopічних захворювань, хоча кількість бактерій, маршрут потрапляння до організму і час експозиції можуть бути визначальними факторами впливу. Була встановлена ключова роль непатогенних бактерій, зокрема шляхом впливу на Толл-подібні рецептори, у підтримці гомеостазу слизової оболонки та захисті її від пошкодження. У багатих мікробних середовищах постійний вплив продуктів мікроорганізмів через шкіру, дихальні шляхи і кишечник призводять до формування толерантності через взаємодію із клітинами вродженого імунітету [56]. Було висловлено припущення, що сапрофіти, які існували впродовж еволюційної історії ссавців, визнані вродженою імунною системою, при цьому не викликають запальні реакції, але замість цього здатні індукувати толерантність за рахунок швидкої регуляторної Т - клітинної відповіді. У міських умовах такий вплив сапрофітів істотно знижується порівняно із сільськими районами. Це говорить про те, що різноманіття мікробіома є необхідною умовою для збалансованого імунного захисту [57].

Різноманітність та стабільність мікробіоти формується здебільшого у ранньому дитинстві, але не припиняється протягом життя. Вроджений імунітет потребує постійного впливу непатогенної мікрофлори навколишнього середовища, щоб підтримувати толерантність організму. Дослідження переселенців свідчать про те, що вже через 10 років люди із дуже різних регіонів набувають таких самих ризиків для здоров'я, як і корінне населення [58].

Відмінності мікробіома шкіри сільських та міських жителів можуть бути пов'язані з різним ступенем впливу мікроорганізмів із ґрунту, води та біомаси, що використовуються у сільському господарстві чи тваринництві. Навіть короточасний контакт шкіри з ґрунтом та рослинними матеріалами призводить до змін мікробіома рук та збільшення мікробних коменсалів [59]. З іншого боку, мешканці міст працюють переважно у приміщеннях і проводять час усередині будівель. Дослідження Hospodsky D. та колег виявило, що в мікробіомі шкіри рук людей, які працюють на відкритому повітрі та мають постійний контакт із ґрунтом та водою, домінують екологічні види бактерій, а у студентів університету превалює колонізація патогенних мікроорганізмів [60].

Зміни способу життя у розвинених країнах призвели до ряду екологічних факторів, що були пов'язані із розвитком atopічного дерматиту, включаючи надмірне використання мила та миючих засобів, купання у жорсткій воді, вплив кліщів домашнього пилу та алергенів їжі. Існує декілька пролонгованих досліджень, які показують, як змінилися умови житлових будинків за останні 5 десятиліть [56]. Наприклад, спостереження за продажами миючих засобів гігієни виявило, що у Великобританії цей показник значно збільшився з 1981 до 2001 року, однак ріст був непропорційним щодо збільшення кількості населення. Кількість використаної води для особистої гігієни також змінилася за останні 40 років. У 1961 році середній показник використання води був 11 л на людину в день, з ростом до 51 л на людину в день у 1997/98 (Корк і співавт., 2002). У світі

також відбулися зміни в системі покриття та перекриття житлових будинків, вентиляції опалення, ізоляції, за останні чотири десятиліття, що створило комфортні умови для персистування *Dermatophagoides pteronissimus* та *Dermatophagoides farine* (Корк і співавт., 2002). Поширеність АД вища в районах, де використовують жорстку воду, порівняно з м'якою (Макнеллі і співавт., 1998). Це може відбуватися через дію подразників, що знаходяться у великій кількості миючих засобів, необхідних як для особистої гігієни, так і побутових справ. Ці та інші особливості сучасного життя є ризиком розвитку АД за рахунок підвищення шкірної та слизової проникності.

1.4 Особливості мікробіотичного стану шкіри у дітей з atopічним дерматитом

Пацієнти з АД мають схильність до колонізації мікроорганізмами, особливо часто золотистим стафілококом, стрептококом та патогенними грибковими агентами [61]. Наявність вірусних, бактеріальних та грибкових інфекцій у пацієнтів із шкірними ураженнями давно описані в роботах науковців [6]. Деякі дослідники вважають, що саме домінування золотистого стафілококу порушує склад мікробіому шкіри у дітей з АД і підтримує персистування захворювання та при відсутності лікування може викликати розвиток системної інфекції [62]. І навпаки, різноманітність штамів *S.epidermidis* в мікробіомі асоціюється із менш важким перебігом захворювання [63].

Шкірну бактеріальну інфекцію легко розпізнати за появою «плакучих» вогнищ, скоринок медового кольору та гнійників. Однак широка варіабельність клінічної картини бактеріальної інфекції при АД та властиві їй особливості: шкірна еритема та локальне підвищення температури, мокнуття, пов'язане із набряком, та регіонарна лімфаденопатія, ускладнюють диференційну діагностику та постанову правильного діагнозу.

Крім того, характер висипу може бути замаскований через анатомічні особливості ділянок та типу шкіри, а висока частота колонізації *S. aureus* при АД вказує на недостатню діагностичну значущість позитивного мазку шкіри,

адже не всі висипання можуть потребувати лікування антибактеріальними засобами. Механізми хазяїна та фактори мікробної вірулентності, що лежать в основі колонізації та зараження *S. aureus* при АД, не повністю зрозумілі [64].

Філогенетичне профілювання мікробіому шкіри показує, що грибові мікроорганізми є частиною нормальної флори на всіх ділянках тіла і становлять 1 %-22 % філогенетичного складу мікробіому шкіри [10]. Грибкова флора здорової шкіри складається з великої кількості дріжджів роду *Malassezia* spp., які є основним членом еукаріотної мікробної флори шкіри. Дріжджі роду *Malassezia* spp. мають свій патогенетичний вплив при АД, незважаючи на свою роль в якості комменсалів на здоровій людській шкірі. Механізми, за допомогою яких дріжджі роду *Malassezia* spp. можуть мати свій внесок у патогенез АД, до кінця не вивчені. Була встановлена роль непатогенних бактерій та грибів, зокрема шляхом ТПР, у підтримці гомеостазу слизової оболонки та захисті її від пошкодження [12, 13]. У багатих мікробних середовищах постійні експозиції до мікробних компонентів через шкіру, дихальні шляхи і кишечник призводять до толерантності через взаємодію із вродженим імунітетом [14].

Наявні світові дослідження майже не виявили відмінностей у частоті колонізації шкіри *Malassezia* spp. між здоровими та хворими на atopічний дерматит. Проте, виключно у хворих на atopічний дерматит була описана IgE-опосередкована сенсibiliзація до грибів роду *Malassezia*. Основною причиною даної специфічної сенсibiliзації може бути порушений захисний бар'єр шкіри, завдяки чому збільшується проникність алергенів, що сприяє переходу захворювання у хронічну форму, а може, і збоченню реакції імунної системи на наявність антигенів цих грибів [14]. Особливий інтерес відводиться перехресній реактивності з алергенами *M. sympodialis*, що мають високий ступінь ідентичності послідовності білків людини. Було описано показано, як у експерименті, так і в природних умовах, що мітохондріальна супероксиддисмутаза *M. sympodialis* у 50 % має гомологію послідовності з

людським ферментом та може викликати сильну гуморальну і Т-клітинно-опосередковану імунні реакції у хворих на АД.

Найбільш розповсюдженими збудниками грибкових інфекцій шкіри у пацієнтів з АД є дерматофіти і дріжджоподібні гриби роду *Candida*. Вони викликають різні прояви кандидозу, серед яких виділяють поверхневий (інтертригінозний) кандидоз шкіри, кандидоз гладкої шкіри, кутів рота, кандидозні оніхії і пароніхії, кандидозні ураження слизових оболонок (молочниця). Сенсibilізація організму до *Candida* може розвиватися двома шляхами: екзогенним та ендогенним [65]. Екзогенний шлях є наслідком контакту дитини з алергенами грибів навколишнього середовища, при цьому мікогенна сенсibilізація проявляється паралельно із сенсibilізацією до інших причинних факторів АД, індукуючи в тому числі псевдоалергічні прояви. Окрім того, часто сенсibilізація до алергену грибків відбувається ендогенним шляхом при хронічних формах кандидозу або тривалому носінні грибів роду *Candida* в організмі (в тому числі на шкірі).

Отож, ми поставили собі за мету дослідити частоту колонізації уражених ділянок шкіри дітей з АД різними бактеріальними та грибковими агентами, особливу увагу приділити саме грибам роду *Malassezia*, визначити клінічні особливості бактеріальних і грибкових інфекцій при АД та узагальнити сучасне розуміння взаємодії господаря і бактеріальних факторів, що впливають на колонізацію і мікробну вірулентність.

1.5 Роль стану шлунково-кишкового тракту при атопічному дерматиті

Важливим аспектом у патогенезі АД є вісь кишечник – шкіра. Формування поєднаної патології шлунково-кишкового тракту та шкіри пояснюється спільним ембріональним походженням, структурно-функціональними особливостями та схожістю нейрогуморальної, ендокринної регуляції. Порушення бар'єрів кишечника та шкіри мають також схожі етіологічні фактори: генетичні, метаболічні, аутоімунні порушення ліпідного обміну, порушення синтезу простагландинів, посилення

перекисного окислення ліпідів, токсини, лікарські препарати, інфекційні агенти та ін. [66].

Мікробіом є найважливішим регулятором роботи імунної системи. І кишечник, і шкіра містять біорізноманіття бактерій, грибків та вірусів, які підтримують симбіоз із середовищем існування людини. Порушення цього балансу може призводити до порушення бар'єрної функції. Основним завданням мікробіому є підтримка гомеостазу за допомогою двостороннього зв'язку з тканинами та органами. Дисбіоз шкіри або мікробіома кишечника тісно пов'язаний зі зміненою імунною реакцією, що супроводжується шкірними захворюваннями, включаючи atopічний дерматит та харчову алергію [67]. Сильний кореляційний зв'язок між розвитком atopічного дерматиту та харчової алергії вказує на важливість їжі, яка лежить в основі осі кишечник – шкіра. Реакція шкіри на зовнішні фактори, наприклад, ультрафіолетове випромінювання, також впливає на мікробіом кишечника [68]. Харчова алергія може бути наслідком порушення шкірного бар'єру. Так, наприклад, було доведено, що АД збільшує ризик розвитку алергії у дітей на арахіс. Вплив епідермального арахісового білка, що міститься в домашньому пилі, може призводити до опосередкованого імуноглобуліном (Ig) E розширення опасистих клітин у кишечнику та формування алергії [69].

Особливу роль у розвитку і перебігу АД відіграє патологія кишкової мікрофлори - синдром надлишкового бактеріального росту. Симптоми мальабсорбції і мальдигестії часто передують або супроводжують симптоми алергії на шкірі.

Пробіотики, що знаходяться в просвіті шлунково-кишкового тракту, мають особливий вплив на лімфоїдну тканину шляхом стимулювання як системної, так і місцевої відповіді. Біфідобактерії приймають участь у формуванні реактивності імунної системи, впливаючи на синтез імуноглобулінів, лімфоїдний апарат, підвищуючи рівні компонентів комплементу та пропердину. На тлі зменшення кількості біфідобактерій збільшується проникність епітеліального бар'єру кишечника для молекул їжі.

Також може знижуватися рівень секреторного IgA, оскільки лактобактерії кишечника відповідають за стимуляцію утворення IgA, який в свою чергу нейтралізує харчові алергени. Дефіцит останнього сприяє підвищеному ризику atopії. Біфідобактерії можуть секретувати речовини, інгібуючі зростання патогенних бактерій, продукувати ацетат та молочну кислоти, чим створювати кисле середовище в кишечнику. Існує зв'язок між складом мікрофлори і зрілістю імунної відповіді у дітей, оскільки його реалізація обумовлена впливом бактерій на диференціювання В-лімфоцитів в Пейєрових бляшках [70,71]. Біфідобактерії кишечника стимулюють перистальтику, впливають на імунітет організму, виробляють вітаміни, молочну, оцтову, мурашину і бурштинову, нікотинову, пантотенову і фолієву кислоти, амінокислоти та білки, вітаміни В1, В2, К, піридоксин, ціанокобаламін. Виробляючи оцтову та молочну кислоти, пробіотики перешкоджають розмноженню патогенних мікроорганізмів. Біфідобактерії стимулюють лімфоїдний апарат людини і беруть участь у синтезі імуноглобулінів. У клітинній стінці даних бактерій міститься велика кількість мурам-дипептида, який активує проліферацію В- і Т-лімфоцитів і макрофагів [72].

Надмірне розмноження бактерій у тонкій кишці підтримує запалення слизової оболонки, що знижує продукування ферментів і посилює порушення травлення і всмоктування. Неповноцінне переварювання білків призводить до підвищення проникності стінки тонкої кишки, що сприяє всмоктуванню великої кількості харчових алергенів і гістаміну [73]. Розвиток алергічних реакцій при синдромі надлишкового бактеріального росту пов'язують не тільки з пошкодженням біоплівки і прямим контактом алергенів зі слизовою, але і з посиленням розмноженням гістаміногенної флори, яка шляхом декарбоксілювання харчового гістидину підвищує кількість гістаміну, який всмоктується у кров. Особливий вплив має зниження продукції гістамінази ураженої оболонки кишки. Алергенними також можуть бути і продукти метаболізму мікроорганізмів [74].

Таким чином, стає зрозуміло, що синдром надлишкового бактеріального росту у дітей може бути причиною розвитку не тільки істинної алергічної реакції на їжу, але і різних псевдоалергічних реакцій внаслідок надлишкового надходження біологічних амінів.

Водночас, огляд бази даних Cochrane показує, що досі немає єдиної думки щодо необхідності застосування пробіотиків при симптомах алергії на шкірі у дітей. Також відсутня достовірна інформація про ефективність цих препаратів для профілактики подальшого розвитку atopічного маршу [75, 76]. Однак, в літературі можна зустріти дані рандомізованих клінічних досліджень, які доводять превентивний ефект пробіотиків на розвиток екзем та atopічного дерматиту у немовлят з високим ризиком [77]. Ці результати все ж таки суперечливі, оскільки вони показали захисний ефект симбіотиків тільки щодо IgE-асоційованих захворювань і переважно у дітей, народжених за допомогою кесаревого розтину.

Деякі дослідники особливу увагу приділяють порушенню функції підшлункової залози. Так, Лимаренко М.П. виявила, що при ферментопатіях порушується всмоктувальна функція кишечника, та, як наслідок, накопичуються недоокислені продукти метаболізму, які порушують захисний бар'єр кишечника, підвищують його проникність та збільшують антигенне навантаження, тим самим сприяючи сенсibiliзації організму.

Встановлено, що порушення всмоктування та виведення продуктів харчування в свою чергу впливають на патогенез АД, формуючи замкнене коло. Одна із гіпотез стверджує, що запальні зміни в підшлунковій залозі, зміни активності та складу панкреатичного секрету, порушення відтоку в дванадцятипалу кишку змінюють процес ферментативної обробки їжі, що сприяє неповному розщепленню білкових компонентів та зниженню кількості секреторного IgA, що створює оптимальні умови для всмоктування великої кількості антигенних субстанцій. Було показано зниження всмоктування вуглеводів у кишечнику (за результатами ксилозного тесту) і

всмоктування ліпідів (за даними ліпідограми) та доведено, що вираженість порушень наростала з тяжкістю перебігу АД [78].

За останні роки було опубліковано велику кількість досліджень, присвячених осі кишечник - шкіра. Однак патогенетичні механізми вивчені недостатньо і ця тема заслуговує на подальше дослідження.

1.6 Імунопатологічні аспекти atopічного дерматиту у дітей раннього віку

Вроджена імунна система є першочерговою ланкою у негайній реакції проти алергенів, потенційно шкідливих мікроорганізмів, токсинів, хімічних подразників та інших факторів оточуючого середовища.

До вродженого імунітету відноситься епітеліальний бар'єр, гранулоцитарні клітини (макрофаги, моноцити, натуральні кілери, клітини Лангерганса, дендритні клітини), система комплементу, антимікробні пептиди та Толл-подібні рецептори багатьох клітинних структур.

Кератиноцити епідермісу є безпосередньо першими у контакті з потенційними факторами та здатні брати участь у вроджених імунних реакціях шляхом об'єднання імунних та/або прозапальних реакцій шляхом секреції цитокінів і хемокінів, компонентів комплементу та антимікробних пептидів [78]. Так, Chieosilapatham P. та співавтори у своєму дослідженні 2021 року підтверджують, що сигнали небезпеки від порушення бар'єру і мікробної інвазії викликають вироблення кератиноцитами різних цитокінів, таких як ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-23, фактор стимулювання колонії гранулоцит-макрофаг і фактор некрозу пухлини (ФНП)- α , та можуть проявляти протизапальну активність і сприяти активації, диференціації запальних клітин до шкіри при АД.

Важливу роль на ранній стадії АД відводять поєднанню ІЛ-1 β , ІЛ-6 та трансформуючого фактора росту – β , які сприяють активації клітин Th-17. Підвищена експресія ІЛ-17 в свою чергу стимулює клітини Th-2 виробляти ІЛ-4, що, ймовірно, сприяє ініціації запалення АД [79].

Відомо, що механізмом хронічного запального процесу при АД є імунний дисбаланс Th1/Th2 із порушенням у системі цитокінів. Численні дослідження показують, що є ключові цитокіни, які беруть участь у розвитку алергічних захворювань: ІЛ-4, ІЛ-5 та ІЛ-13 [80, 81]. Вони є потужними медіаторами індукційної та ефекторної фаз імунної відповіді Th-2. ІЛ-4 - фактор диференціювання, який поляризує клітини CD4 + до фенотипу Th2, фактор росту для В-клітин, індукує перехід класу ізотопів IgE, а також активує хемотаксису еозинофілів [82].

Ранні дослідження припускали, що патогенез АД також пов'язаний з порушенням функції вроджених лімфоїдних клітин (ВЛК). Вони є групою щойно визначених не-В-клітин, не-Т-лімфоцитів, які швидко реагують на фактори навколишнього середовища для негайного викиду масиву цитокінів. Зокрема, дослідження вказують на залучення 2-ї групи вроджених лімфоїдних клітин (ВЛК2) до патогенезу АД [80, 83]. Ці клітини можуть швидко активуватися епітеліальними цитокінами, такими як ІЛ-33, ІЛ-25 і тимічним стромальним лімфопоетеїном, а також ліпідними медіаторами, включаючи лейкотрієн D4, для отримання високих рівнів цитокінів Th-2 ІЛ-13, ІЛ-5 та, у меншій мірі, ІЛ-4. У порівнянні з CD4 +, ВЛК2 здатні самостійно продукувати цитокіни ІЛ-5 та ІЛ-13 на клітину при алергічному запаленні кліщами домашнього пилу. ІЛ-4, експресований ВЛК2, індукує чутливість опасистих клітин до дегрануляції та інгібує індукцію Т-регуляторних клітин, знижує толерантність, яка може впливати на розвиток харчової алергії (ХА). Одночасно ВЛК2 взаємодіє з клітинами CD4 + Th2, щоб індукувати ХА шляхом продукування ІЛ-13.

Згідно з літературним оглядом, ІЛ-4 виконує ряд функцій у гострому періоді АД. Підвищена експресія ІЛ-4 в епідермісі сприяє активності запалення, що призводить до появи свербіжів та внутрішньошкірного набряку. ІЛ-4 також може викликати пригнічення генів (таких як філагрин, лорикрин), які відповідають за бар'єрну функцію шкіри. Крім того, ІЛ-4 стимулює нормальні кератиноцити, це призводить до посилення активності

серинових протеаз, що сприяє десквамації шкіри та посиленню трансепідермальної втрати рідини. Важлива роль, яку цитокіни Th-2 відіграють при запаленні у шкірі, підтверджується і тим фактом, що у мишей із вродженою надлишковою експресією ІЛ-4 розвиваються запальні шкірні ураження з вираженою сверблячкою, які нагадують АД [84].

ІЛ-4 та ІЛ-13 мають 20-25 % гомології послідовності та ефекторної функції. ІЛ-13 впливає на синтез білків десмосоми, посилює інфільтрацію шкіри запальними клітинами, сприяє десквамації шкіри та підвищує трансепідермальну втрату рідини. При хронічному перебігу АД ІЛ-13 вважається причиною появи свербіжів. На тваринних моделях була виявлена посилена експресія ІЛ-13 в шкірі поряд із появою свербіжів, підвищенням рівня ІgЕ та інфільтрацію еозинофілів [85, 86, 87].

Раніше ІЛ-4 вважали одним з основних цитокінів, що беруть участь у розвитку АД, через його функцію регуляції синтезу ІgЕ. Однак останнім часом вчені припускають, що ІЛ-13 є більш значущим при запаленні Th-2 типу [88]. Дослідники вважають, що саме ІЛ-13 сприяє запаленню на периферії, в той час як ІЛ-4 має центральну дію. Наукові праці останніх років показали достовірні дані щодо підвищення експресії цитокіну ІЛ-13 у пацієнтів з АД (в уражених ділянках шкіри) та його нормального рівня у здорових людей, однак суттєвих змін експресії рівня ІЛ-4 не виявлено. Підвищений рівень ІЛ-13 корелював із ступенем тяжкості АД за шкалою SCORAD [81, 89].

Ці припущення досі обговорюються вченими, оскільки роль ІЛ-4 та ІЛ-13 у розвитку АД підтверджується і досить високою ефективністю моноклональних антитіл (анти-ІЛ-4) у лікуванні цього захворювання. Незважаючи на те, що відсутність лікування на ранніх стадіях розвитку АД може погіршити стан пацієнта у зрілому віці, ранньому початку АД все ще приділяється недостатньо уваги. Дослідження, проведене Хітоказу Есакі та співавторами, показало збачення Th-2-відповіді у пацієнтів із раннім початком АД [90].

Оскільки лікування АД моноклональними ІЛ-13 антитілами не показало значущої ефективності, але при цьому багато досліджень підтверджують, що рівні ІЛ-13 достовірно корелюють із тяжким перебігом АД, вчені займаються пошуком інших механізмів, які впливали б на підвищену експресію даного цитокіну при АД. Варто зазначити, що популяція ВЛК2, виділена у хворих на АД, активується для продукування цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-13 переважно через ІЛ-33 (Salimi et al., 2013). Ці дані свідчать про патогенетичну роль ІЛ-33-чутливих ВЛК2 в розвитку АД. Іншими дослідженнями було показано, що частота базофілів у шкірі корелює з частотою ВЛК2 у пацієнтів з АД (Mashiko et al., 2017).

З літературних джерел відомо, що саме цитокіни Th-2 порядку здатні інгібувати продукцію антимікробних пептидів (АМП), які є важливою ланкою вродженого імунітету. Хоча експресія АМП значно підвищується під час інфекції, запалення шкіри або механічних ушкодженнях, експресія саме LL-37, дефензинів-2, 3 нижча при АД порівняно із псоріатичними ураженнями шкіри, і це зниження регуляції впливає на більшу сприйнятливості до розвитку вторинних інфікувань у хворих на АД [91].

Розпізнавання продуктів життєдіяльності мікробів, таких як ендотоксин, опосередковується вродженою імунною системою, в якій безпосередньо беруть участь ТПР. Відомо, що ТПР функціонують як медіатори між вродженим та адаптивним імунітетом через індукцію дозрівання дендритних клітин та активацію наївних Т-клітин, насамперед зсув адаптаційної імунної відповіді на поляризацію Th-1. Дійсно, ТПР розпізнають різні асоційовані з патогеном молекулярні структури (РАМР) мікроорганізмів, такі як ліпопептиди, ліпополісахариди та РНК, що призводить до запальної реакції шляхом індукування каскаду інтерлейкінів та інших прозапальних цитокінів.

В опублікованих результатах дослідження Thio C. L. та співавтори припустили роль ТПР- 9 у патогенезі розвитку алергічного запалення при АД. Згідно з даними, шляхом активації ТПР-9 інгібується ВЛК2, знижуючи

експресію ІЛ-33, який у свою чергу сприяє зниженню рівнів ІЛ-4 та ІЛ-13. Сигналізація ТПР-9 також призводить до секреції інтерферону (ІФН) І типу, що, в свою чергу, сприяє продукуванню ІФН- γ натуральними кілерами. ІФН- γ діє безпосередньо на ВЛК2, щоб знизити проліферацію клітин та продукцію цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-13 [92].

ТПР-4 функціонує як основний рецептор ліпополісахаридів грам-негативних бактерій. Сонгет та співавтори виявили, що кератиноцити людини експресують функціональні CD14 та ТПР-4. Зв'язування ліпополісахариду з CD14 і ТПР-4 також призводить до секреції прозапальних цитокінів і хемокінів [93].

Основна функція цих ТПР - індукція запалення, дозрівання дендритних клітин та розвиток антибактеріальної оборони шляхом активації клітин Th-1 або Th-17. Було показано, що дефекти сигналів ТПР-4 можуть сприяти реакції Th2 і, як наслідок, викликати розвиток АД.

Нещодавні роботи виявили, що ТПР-2 пов'язані із чутливістю пацієнтів з АД до шкірних бактеріальних та вірусних інфекцій. Однак подібне спостереження не було виявлено щодо ТПР-4. Автори припускають, що дефекти шляхів ТПР, які спостерігаються у пацієнтів з АД, є відповідальними за сприяння Th2-відповіді у цій групі пацієнтів. Більшість даних про ТПР у пацієнтів з АД стосуються ТПР-2, особливо їх ролі у розвитку інфекційних ускладнень, які супроводжують пацієнтів з АД. Генетичні поліморфізми в генах, що кодують ТПР, ймовірно, є одним із факторів, що відповідають за це явище. Отож, індукція та виявлення ТПР залишаються вивченими лише частково та потребують подальших досліджень [94].

Зміни характеристики імунної відповіді у ранньому віці відрізняються від змін дорослих, тож визначення характеру імунологічних порушень у роботі вродженого та набутого імунітету у дітей з АД у ранньому віці становить науковий інтерес.

В роботі Пахольчук О.П. аналіз імунологічних показників у пацієнтів виявив тенденцію до зменшення кількості моноцитів/макрофагів (CD14) та цитотоксичних лімфоцитів (CD3+, 56+) у дітей із проявами ХА [95]. Зміни імунологічної відповіді при шкірній формі алергії підтверджують і інші роботи вітчизняних дослідників. Так, Федорців О.Є. та Мочульська О.М. у дітей 1-18 років виявили зниження абсолютної та відносної кількості Т-лімфоцитів (CD3) та дисбаланс CD4+/CD8+ за рахунок росту CD4+ та зниженню CD8+, що корелювало із тяжкістю перебігу АД [96]. Ці дані підтверджує і робота Левченко Л.Ю.: серед дітей 2-7 років з АД була виявлена тенденція до зниження рівнів експресії молекул CD3+ та CD8+ [97].

Внесок ефektorів вродженої імунної системи, таких як натуральні кілери (НК), описаний в роботах європейських авторів. Було встановлено, що відсотковий вміст CD3– CD56+ НК та CD16 + був значно зменшений у дітей з atopічним дерматитом порівняно із відсотком у групі контролю [116].

Патогенетичні механізми змін вродженого та набутого імунітету при АД у дітей раннього віку є актуальними та потребують подальшого вивчення.

1.7 Екологічний вплив на розвиток алергічних захворювань

Незважаючи на нові шляхи в діагностиці та лікуванні, кількість дітей з алергічними захворюваннями у м.Запоріжжя та Запорізькій області неспинно зростає. Найбільш актуальні вони в дитячому віці, оскільки характеризуються більш важким перебігом. Часто алергію називають «хворобою цивілізації», оскільки стрімкий розвиток промисловості і пов'язане із ним забруднення навколишнього середовища обумовлює масивну «хімічну агресію» на організм дитини.

Імунна система є індикатором екологічного неблагополуччя, оскільки вона чуйно реагує на зміну умов навколишнього середовища. Процес взаємодії геному із зовнішнім середовищем зумовлює формування певного фенотипу. Найбільший ризик епігенетичних модифікацій діти мають у перинатальному періоді [Bird A., 2007, Waterland R.A. et al., 2003], коли

відбуваються фетальні модифікації, метилювання ДНК, модифікація гістонів й альтерація хроматину. У постнатальному періоді приєднуються нові чинники впливу на геном.

Промислові підприємства міста Запоріжжя роблять основний внесок у забруднення атмосферного повітря. Промислові викиди складають 60-70 % від загального валового обсягу викиду забруднюючих речовин. Підприємства кольорової та чорної металургії, хімії, теплоенергетики, харчової промисловості, машинобудування складають до 90 % викидів речовин в атмосферне повітря регіону.

Спостереження за показниками забруднюючих речовин в атмосферному повітрі м. Запоріжжя проводяться систематично Запорізьким обласним центром з гідрометеорології. Оцінка стану атмосферного повітря відбувається за середньомісячними концентраціями у кратності перевищень середньодобових гранично-допустимих концентрацій (ГДК) за пріоритетними забруднюючими речовинами.

Так, у 2018 році у деяких районах міста інгредієнти повітря склали: пил –0,07 мг/м³ (в 1,4 раза вище ГДК), фенол –0,029 мг/м³ (у 2,9 раза вище ГДК), сірководень –0,0101 мг/м³ (в 1,3 раза вище ГДК), сірковуглець –0,045 мг/м³, (в 1,5 раза вище ГДК) [117].

Ці особливі умови навколишнього середовища можуть виступати епігенетичними факторами розвитку алергічного захворювання та/або погіршувати перебіг вже персистуючого захворювання.

Таким чином, в Запорізькому регіоні не проаналізовано достатній вплив епігенетичних факторів на розвиток atopічних захворювань у дітей раннього віку, що може бути перспективним напрямом подальших досліджень.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Клінічна характеристика обстежених дітей

Базові заклади, у яких проводилося спостереження та обстеження дітей: кафедра факультетської педіатрії Запорізького державного медичного університету (ректор – д. мед. н., проф. Ю. М. Колесник, завідувач кафедри - д. мед. н., проф. С. М. Недельська), відділення дітей раннього віку, алергологічне відділення і централізована бактеріологічна лабораторія Комунального некомерційного підприємства «Міська дитяча лікарня №5» Запорізької міської ради (головний лікар – к. мед. н. А. Г. Запорожченко, завідувачі відділень – В. О. Сліпко, І. А. Кізілова, В. В. Ахтирський), бактеріологічна лабораторія Запорізької обласної клінічної дитячої лікарні (головний лікар – Ю. В. Борзенко, завідувач – О. М. Петрашина), бактеріологічна лабораторія Міського шкірно-венерологічного диспансеру (в.о.головного лікаря – Д. Г. Балашов, завідувач – О. М. Светашов), лабораторія ТОВ «СІНЕВО» м. Запоріжжя (директор лабораторії - Джерон Герхардус Дріссен), лабораторія ТОВ «ДІАСЕРВІС» м. Запоріжжя (директор лабораторії - М. Г. Нетяга).

Дослідження проводилося в період з 2017 по 2021 рр. Відповідно до задач дослідження, під нашим спостереженням знаходилося 115 дітей віком від 3 міс. до 3 років, які проживали у м. Запоріжжі та Запорізькій області, у 85 із яких був верифікований діагноз atopічного дерматиту. Контрольну групу склали 30 дітей такого ж віку, які проживали у м. Запоріжжі та Запорізькій області.

Розподілення дітей за віком та статтю представлено в табл. 2.1.

Таблиця 2.1- Розподілення дітей за віком та статтю

Вік	Здорові діти		Хворі на АД діти	
	Хлопчики (абс/%)	Дівчата (абс/%)	Хлопчики (абс/%)	Дівчата (абс/%)
3 міс. – 3 роки	17/57	13/43	53/62	32/38

Критерії включення у клінічне дослідження:

- ✓ письмова інформована згода батьків пацієнта на участь у дослідженні;
- ✓ вік 3 місяці – 3 роки;
- ✓ типові прояви висипу з інтенсивною сверблячкою шкіри, ксерозом.

Критерії виключення із дослідження були створені для забезпечення отримання достовірних результатів та включали:

- ✓ відмову батьків від участі в дослідженні з будь-якої причини,
- ✓ відсутність достатнього рівня комплаєнсу (менше 80 %),
- ✓ використання за останні 14 днів топічних стероїдів,
- ✓ «вторинний» шкірний синдром,
- ✓ гострі інфекційні захворювання,
- ✓ злоякісні захворювання,
- ✓ хронічні захворювання в стадії декомпенсації.

Перший етап дослідження передбачав відбір пацієнтів до основної групи. Проводилося інтерв'ю-анкетування 115 дітей, чиї батьки звернулися за допомогою у зв'язку із висипаннями на шкірі, для вивчення поширеності та факторів ризику розвитку atopічного дерматиту. Анкета була розроблена у відповідності з вимогами до епідеміологічних досліджень, містила питання прямого і непрямого порядку, що використовувалися для верифікації помилкових відповідей. Аналізувалися дані історії життя та розвитку дитини, генетична схильність до atopічних захворювань, вплив чинників

навколишнього середовища (а саме: район міста, тип житлового приміщення, вік та стан будівлі, частота прибирання, стан мікроклімату, наявність вологості, грибка, килимів, рослин, хатніх тварин, тарганів) в різні періоди життя. Також були розроблені питання щодо характеру харчування дитини на момент анкетування і в ранньому віці, прийому пробіотиків, вітамінів або інших ліків. Особливу увагу приділяли тютюнопалінню в сім'ї та шкідливим умовам праці матерів.

Об'єктивне дослідження дітей включало огляд шкірних покривів, оцінку еластичності та тургору шкіри, наявність клінічних проявів шкірних форм алергії (почервоніння, висип, екзема згинальних поверхонь, фолікулярний кератоз іхтіоз, ксероз і гіперлінеарність долонь) [1, 90]. Також вивчали наявність інших патологічних змін шкіри (плями, що луцаться, з піднятим краєм або фестончатим, подвійним контуром, чіткої форми, що відмежовані, тріщини з кров'яним виділенням).

Діагноз встановлювався на підставі наявності шкірних висипань у дітей у малюковому віці із подальшою персистенцією шкірного синдрому. Оцінювали наявність у сім'ї дитини родичів, які хворіли на atopічний дерматит, алергічний риніт, бронхіальну астму (БА), медикаментозну або харчову алергію. Із даних перинатального анамнезу та анамнезу життя були проанааступні фактори ризику виникнення atopічного дерматиту: ускладнений перебіг вагітності та пологів, недоношеність, харчування матері під час вагітності та годування, раннього припинення годування грудним молоком (до 4 місяців життя), гігієнічний стан вдома, наявність рослин та хатніх тварин; використання ненатуральних матеріалів, мила, синтетичних миючих засобів; тютюнопаління поряд з малюком. Також зверталася увага на супутні прояви atopії у дітей (алергічний риніт, кон'юнктивіт, бронхіальна астма).

Діагностичними критеріями АД вважали наявність 3 із головних та 3 із додаткових критеріїв за рекомендаціями Hanifin & Rajka (1980 р.). До основних критеріїв віднесено: свербіж, типова морфологія і локалізація

висипань, хронічний і рецидивуючий перебіг, наявність супутньої atopії або наявність спадкової схильності та сімейної atopії. Другорядні критерії включають: ксероз, іхтіоз, долонна гіперлінеарність, фолікулярний кератоз, стафілодермія та інші інфекції шкіри, схильність до дерматитів на шкірі кистей, стійкий білий дермографізм, хейліт, медкаментозна алергія, лінія Деньє—Моргана, кератоконус, перифолікулярні ущільнення шкіри, провокація сипу під впливом емоційних, харчових, кліматичних та інших екзогенних чинників, включаючи інфекційні захворювання, «географічний» язик, високий рівень загального IgE у крові.

Для оцінки тяжкості шкірних проявів atopічного дерматиту використовували шкалу SCORAD (severity scoring of atopic dermatitis – шкала тяжкості atopічного дерматиту), що включала в себе оцінку площі уражень шкіри, об'єктивні симптоми: у бальному вираженні від 0 до 3 реєструвалася вираженість еритеми, набряку або папул, мокнуття або кірок, ексориацій, ліхеніфікацій, сухості. Крім цього, при опитуванні оцінювали 2 суб'єктивних симптоми: свербіж та порушення сну, інтенсивність вимірювалася від 0 до 10 балів.

Діагноз atopічного дерматиту встановлювали відповідно на підставі наказу МОЗ України від 27.12.2005 № 767 «Про затвердження Протоколів діагностики та лікування алергологічних хвороб у дітей» та наказу МОЗ України від 04.07.2016 № 670 «Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої), третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. Atopічний дерматит» [98]. Діагностика та лікування проводилася відповідно до рекомендацій Consensus-based European guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) in adults and children (2018 p.) [99].

Діти, які знаходилися під спостереженням, проте не були включені до основної групи (n = 40) мали верифіковану харчову алергію (n = 25), прояви себореюного дерматиту (n = 9), суху стрептодермію та/або дерматофітію шкіри неясного генезу (n = 6). Після отриманого лікування в процесі

спостереження протягом 3 місяців ці діти не мали скарг на наявність шкірного синдрому.

Основну групу склали 85 осіб, які початково були розділені на 3 групи за тяжкістю перебігу АД за шкалою SCORAD: I група – 23 хворих із легким перебігом, II група – 28 хворих із середньотяжким та III група – 34 хворих із тяжким перебігом захворювання. Для визначення референтних значень показників, що вивчалися як контрольні, використовувалися дані, отримані у 30 умовно здорових дітей без проявів atopії в анамнезі. Між групою здорових дітей і дітей з atopічним дерматитом не була виявлена статистично достовірна різниця ($p > 0,05$) в розподіленні за статтю та віком.

Розподілення дітей за ступенями тяжкості АД у дітей, які увійшли до основної групи, за шкалою SCORAD представлено у табл.2.2.

Таблиця 2.2 - Розподіл досліджуваних дітей за ступенями тяжкості АД за шкалою SCORAD

Шкала SCORAD	Основна група n = 85	
	абсолютна к-ть, n	відносна к-ть, %
Легкий ступінь тяжкості (24 бали)	23	27
Середній ступінь тяжкості (25 – 50 балів)	28	33
Тяжкий перебіг (51 – 103 бали)	34	40

Проведене анкетування дітей основної групи показало, що батьки лише 22,1 % дітей зверталися до лікаря при появі перших шкірних проявів харчової алергії на шкірі. При аналізі даних сімейного анамнезу звернув на себе увагу той факт, що у 47 дітей з АД (55,3 %) - обтяжений сімейний анамнез з боку батьків і найближчих родичів (у 2-х поколіннях), які мали ту

або іншу форму atopії, що достовірно перевищує аналогічні дані у групі здорових дітей (13,3 %, $p < 0.05$). Ці дані слугують підтвердженням високої ролі спадковості у виникненні та розвитку atopічних захворювань.

Оскільки характеру вигодовування має особливе значення на першому році життя, нами було виявлено, що грудне вигодовування отримували 65 дітей (76,5 %) основної групи, серед яких у 32 дітей було розпочато раннє штучне вигодовування, до 4 місяців життя, та лише 33 дитини продовжили отримувати природне вигодовування. Грудне молоко продовжували отримувати протягом першого року життя 63,3 % дітей групи контролю та лише 32,9 % дітей основної групи.

Половина батьків дітей з atopічним дерматитом (52 %) змогли вказати причину появи висипання на тілі. Найчастіше причиною називали вказували харчові продукти (яйця, м'ясо птиці, молоко, риба, цитрусові, банани). Близько 26 % батьків дітей, хворих на atopічний дерматит, відзначали неодноразові епізоди комбінації шкірних та гастроінтестинальних проявів: гіперемія слизової оболонки ротової порожнини, висип навколо губ, сверблячка губ, підборіддя, диспепсичні прояви (нудота, блювання, діарея з прожилками крові). Більшість батьків дітей з гастроінтестинальними симптомами пов'язували їх появу з прийомом харчових продуктів, що, ймовірно, вказує на зв'язок харчової алергії та atopічного дерматиту. Діти з ізольованими гастроінтестинальними симптомами не були включені у дослідження. Гастроінтестинальні прояви (блювання та сверблячка губ) траплялися одноразовими епізодами у 10 % дітей групи контролю.

Під час анкетування було виявлено, що матері дітей з atopічним дерматитом лише у 34,1 % випадків під час вагітності дотримувалися раціонального харчування (переважання домашніх сільськогосподарських продуктів – м'ясо, молоко, овочі, фрукти, домашня випічка), що у 1,5 раза рідше, ніж матері групи контролю. Цей факт підтверджує важливість характеру харчування вагітної як фактора ризику розвитку у дитини в подальшому алергічних реакцій.

Близько 75 % дітей основної групи профілактично отримували протягом перших 3-х місяців життя пре- та пробіотичні препарати, що відповідає частоті їх застосування у групі контролю. Суттєвої різниці у прийомі вітаміну Д між групами не було. При об'єктивному огляді 16,5 % дітей з АД мали ознаки рахіту періоду розпалу, 10,6 % дітей мали ознаки початкового періоду рахіту (підвищена пітливість, збудженість, ділянка облісіння на потилиці). Коморбідної патології у даної когорти дітей діагностовано не було, проте діти, які мали симптоми дефіциту вітаміну Д, у 2,5 раза частіше хворіли на гострі респіраторні вірусні інфекції та частіше потребували використання антибактеріальних засобів через вторинне приєднання патогенної мікрофлори.

Атопічний дерматит мав тяжчий перебіг у дітей, чиї матері мали професійні шкідливості на роботі: 23,5 % матерів дітей з тяжким перебігом проти 13 % матерів дітей з легким перебігом та 11 % - із середньотяжким ($p < 0,05$).

Впливу виключно тютюнопаління членів сім'ї на наявність атопічного дерматиту у ранньому віці виявлено не було, однак кількість сімей - «курців» склала 51,7 % в основній групі проти 46,7 % в групі контролю. Особливу увагу привернуло те, що у дітей з АД частіше палили обидва батьки (28,2 % проти 13,3 % у групі контролю). За результатами опитування, 8,2 % батьків дітей із атопічним дерматитом вказували в анкеті, що палять у приміщенні, де перебуває дитина.

У дітей з досліджуваних груп було вивчено і дані щодо побутових умов проживання. Так, 36,5 % батьків відзначали наявність вогкості у будинку (серед них 1/4 має сенситизацію IgE до побутових грибків), 14,1 % вказували на наявність тарганів у оселі. Було виявлено, що 81,2 % бітьків дітей з атопією проводили вологе прибирання 1-2 рази на тиждень та лише 8 % - щодня.

Частота наявності килимів, акваріумів, кімнатних рослин та домашніх тварин у дітей основної групи відповідала показникам у групі контролю.

Відсоткове співвідношення несприятливих житлових умов було достовірно вдвічі вище у дітей із проявами висипу на шкірі (40 %) у порівнянні із групою контролю (20 %), що може вказувати на вплив алергенів мікроклімату на підтримання шкірного запалення ($p < 0,05$). Варто підкреслити, що саме діти із середньотяжким та тяжким перебігом atopічного дерматиту переважно мали несприятливі побутові умови проживання.

Окрім того, варто зазначити, що у частини дітей з легким і середньотяжким перебігом АД (33,3 %, $n = 17$) при зміні місця проживання (морські курорти, Західна Україна та ін.) стан шкіри покращувався, що може свідчити про вплив епігенетичних факторів м. Запоріжжя на тяжкість перебігу захворювання.

Дані проведеного анкетування батьків представлені у табл.2.3.

Таблиця 2.3 - Фактори ризику розвитку алергопатології у дітей

Запитання анкети	Основна група ($n=85$) $n / \%$	Група контролю ($n=30$) $n / \%$
Сімейний алергоанамнез	47 / 55,3*	4 / 13,3
Куріння батьків	44 / 51,7	14 / 46,7
Раціональне харчування матері під час вагітності	29 / 34,1	11 / 20
Раннє штучне вигодовування (до 4 міс.)	32 / 37,6	11 / 36,7
Грудне вигодовування на першому році життя	28 / 32,9*	19 / 63,3
Неприємні відчуття після їжі	22 / 25,9*	3 / 10

Продовження таблиці 2.3

1	2	3
Прийом пре- та пробіотиків протягом перших 3-х місяців	62/ 72,9	24 / 80
Вогкість у будинку	31 / 36,5*	6 / 20
Таргани в оселі	12/ 14,1*	2/ 6,6
*Примітка. Достовірна різниця показників основної групи та групи контролю (p<0,05)		

Дані рисунку 2.1. відображають частоту вакцинації дітей основної групи та групи контролю. Була виявлена достовірна різниця частоти вакцинації дітей у досліджуваних групах (p<0,05). Були отримані дані, що серед дітей основної групи на момент звернення лише 9,4 % (n=8) були вакциновані за календарем щеплення, 21,2 % (n=18) - за індивідуальним графіком. 2/3 дітей основної групи (n=59) мали медичний відвід від щеплення від педіатра та / або алерголога і не були вакциновані у зв'язку зі шкірними проявами atopії.

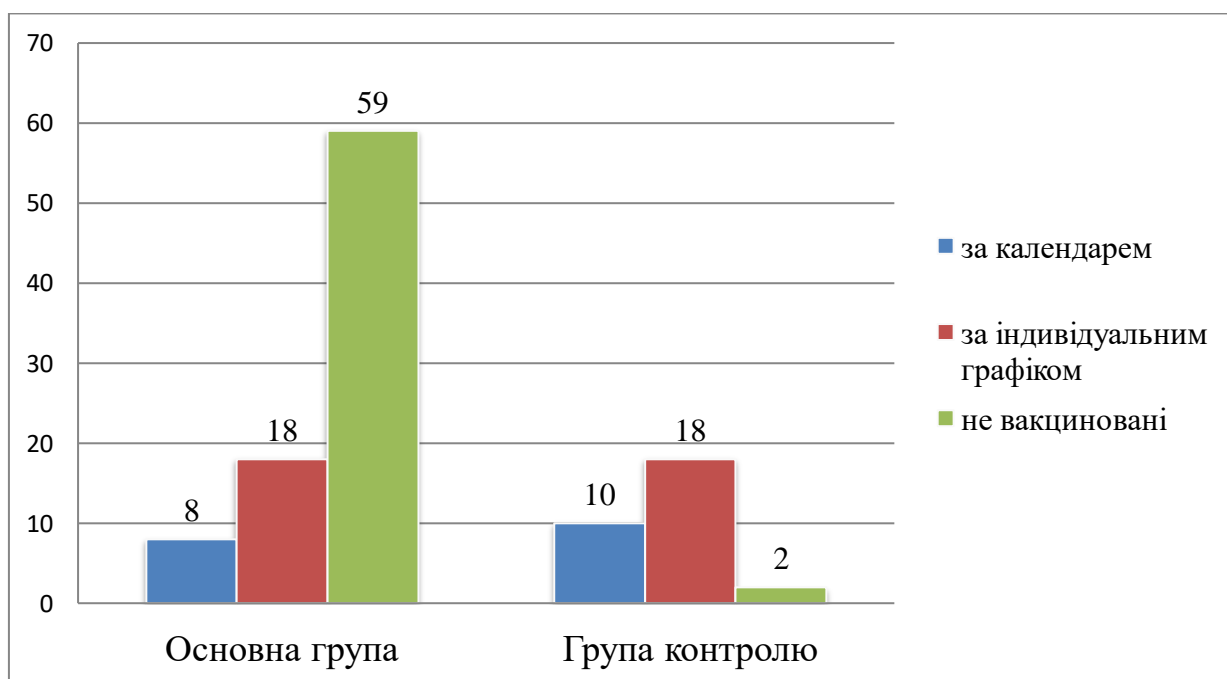


Рисунок 2.1. – Кількість вакцинованих дітей у групах спостереження.

Більшість дітей контрольної групи (93 %, n=28) були вакциновані, 60% з яких - за індивідуальним графіком. Причиною відстроченої вакцинації батьки вказували відмову від безкоштовних вакцин та очікування у мережах аптек платних або прояви гострої респіраторної вірусної інфекції. Двоє дітей групи контролю не були вакциновані через відмову батьків за власними релігійними переконаннями.

2.1.1 Клінічні варіанти перебігу ускладнених форм atopічного дерматиту, асоційовані з активізацією умовно-патогенних видів мікробіоти

Серед 85 обстежених дітей основної групи ми звернули увагу на тих (54,1 %, n = 46), які мали слабкопозитивну динаміку із базисною терапією зволожуючими, atopічного дерматиту згідно з рекомендаціями ICON та EAACI (European Academy of Allergy and Clinical Immunology). Крім того, ці діти мали нетипові для atopічного дерматиту за своєю морфологією та локалізацією висипання. Ці висипання були розцінені як прояви АД, ускладнені активізацією умовно-патогенних (УП) видів мікроорганізмів.

Ми виділили та систематизували їх основні клінічні прояви:

- ✓ Плями, що луцаться, із піднятим або фестончатим краєм, подвійним контуром, чіткої форми, відмежовані (рис.2.2),
- ✓ Зливний сквамо-еритематозний висип з крупно-пластинчастими лусочками на тлі гіперемії, із вираженою сухістю, гіперлінеарністю і тріщинами у місцях фізіологічних згинів (рис. 2.3),
- ✓ Бляшковий псориазоподібний висип, часто на волосистій частині голови та/або дисемійовано по тілу (рис. 2.4),
- ✓ Ділянки вираженої індурації місця висипки округлої форми, діаметром від 1 до 5 см, у поєднанні із везикулами, мокнуттям, мацерацією та вираженою гіперемією (рис. 2.5),
- ✓ Розповсюджена форма із різнотиповими елементами висипу (рис.2.6).



Рисунок 2.2 - Плями, що лущаться, із піднятим або фестончатим краєм, подвійним контуром, чіткої форми, відмежовані.



Рисунок 2.3 - Зливний сквамо-еритематозний висип з крупно-пластинчастими лусочками на тлі гіперемії, із вираженою сухістю, гіперлінеарністю і тріщинами у місцях фізіологічних згинів.



Рисунок 2.4 - Бляшковий псориазоподібний висип, часто на волосистій частині голови та/або дисемійовано по тілу.



Рисунок 2.5 - Ділянки вираженої індурації місця висипки округлої форми, діаметром від 1 до 5 см, у поєднанні із везикулами, мокнуттям, мацерацією та вираженою гіперемією.



Рисунок 2.6 - Розповсюджена форма із різнотиповими елементами висипу.

2.2 Матеріали та методи дослідження

2.2.1 Вивчення трансепідермальної втрати рідини

У комплексному обстеженні пацієнтів, хворих на АД, одним із важливих методів дослідження є вимірювання трансепідермальної втрати рідини (ТЕВР). Однією серед основних властивостей нормального функціонування рогового прошарку є підтримання водного балансу шкіри. Вимірювання трансепідермальної втрати рідини зазвичай використовується при клінічному дослідженні для відображення істинного стану шкіри та вивчення ефективності проведеного лікування [100].

Обстеження дітей проводилося за допомогою апарата для вимірювання трансепідермальної втрати рідини (Queentone, Франція) в першій половині дня, незалежно від прийому їжі. Пацієнт за 12 годин до обстеження обмежував фізичні навантаження, водні процедури. Обов'язковою умовою також була відсутність обробки шкіри специфічними кремами для лікування atopічного дерматиту та топічними протигрибковими, антибактеріальними і гормональними препаратами протягом останніх 12 годин. Перед початком проведення дослідження кожного пацієнта апарат оброблявся дезінфекційним розчином АХД.

Температура у кімнаті підтримувалася між 20 і 22 ° С, відносна вологість повітря - між 40 % і 60 % для зменшення потовиділення у досліджуваних пацієнтів. Щоб уникнути помилок через надмірне потовиділення, перед вимірюванням дитина мала бути знаходитися у приміщенні та бути розслабленою приблизно 20 хвилин при вищезазначеній кімнатній температурі та відносній вологості.

Вимірювання рівнів вологості шкіри проводилося для всіх дітей на однакових ділянках тіла (щоки, згинальні поверхні кистей, ліктів, під колінами, ділянки гомілковоступневих суглобів, грудна клітка, живіт, спина) та специфічних ділянках в залежності від місця висипу у кожної дитини (голова, шия, вуха, пупок, внутрішня поверхня стегон, сідниці та ін.).

Вимірювання вологості шкіри проводилося у день звернення (або госпіталізації), на 4-5-й та 10-14-й день лікування.

Референтні значення показників вологості коригувалися в залежності від сезонності обстеження та відповідали $> 30\%$ в осінньо-зимовий період і $>35\%$ у весняно-літній.

2.2.2 Вивчення рН шкірних покривів

Згідно з літературними даними, зміни рН відіграють важливу роль у патогенезі atopічного дерматиту і можуть бути непрямомо ознакою вторинного грибкового інфікування шкіри [101].

Обстеження дітей проводилося за допомогою апарату для вимірювання рН плоских поверхонь (EZODO 6011A, Тайвань) у першій половині дня, незалежно від прийому їжі. За добу до обстеження дитині обмежувалися фізичні навантаження, водні процедури, зволоження або ужирнення шкіри кремами та використання миючих гігієнічних засобів. Обов'язковою умовою також було первинно дослідити рівень рН до початку використання топічних протигрибкових, антибактеріальних та / або гормональних препаратів. Апарат дезінфікувався розчином АХД, потім дистильованою водою перед початком проведення дослідження кожного наступного пацієнта, а після кожного 5-го пацієнта проводилося калібрування апарату (у буферних розчинах 7.00 рН та 4.00 рН.) згідно з інструкцією виробника.

Перед використанням рН-метр знаходився у статичному положенні не менше 20 хв у тому ж приміщенні, де були проведені вимірювання. Кімнатні умови були тими самими, що і під час вимірювання вологості шкіри.

Плоску вимірювальну поверхню електрода рН змочували деіонізованою водою до нанесення на шкіру (щоб уникнути забруднення). Для досягнення оптимального контакту між вимірювальною поверхнею електрода та поверхнею шкіри електрод утримувався під вертикально до шкіри та здійснювався незначний тиск. Вимірювання рН шкіри проводилося на тих самих ділянках, що і вологість шкіри, у день звернення (або

госпіталізації), на 4-5-й та 10-14-й день лікування. Проводилося 3 послідовних вимірювання в одній анатомічній ділянці, кожне поруч із іншим [102]. Референтними значеннями показників рН вважали 5,5 – 5,8.

2.2.3 Мікробіологічні методи дослідження

У дітей із підозрою на вторинне інфікування шкірних покривів вивчався мікробіологічний стан шкіри.

Під час забору матеріалу використовувалися такі правила:

- біологічний матеріал отримували до початку антимікробної та протигрибкової терапії;
- матеріал забирався безпосередньо із вогнища інфекції;
- матеріал забирався у кімнаті, попередньо обробленій УФО протягом 60 хвилин, дотримуючись правил асептики, уникаючи контамінації біологічного матеріалу сторонньою мікрофлорою;
- для взяття матеріалу із поверхні ураження шкіри скальпелем зішкрібали лусочки, які збиралися стерильним ватним тампоном, що поміщали у спеціалізовані транспортні середовища;
- нативний матеріал доставляли у лабораторію у максимально короткі терміни (до 4 годин);
- під час виявлення різних за виглядом вогнищ ураження матеріал брали з різних ділянок індивідуальним тампоном.

У бактеріологічній лабораторії матеріал засівали на щільне середовище Сабуро, Сабуро з левоміцетином та специфічне середовище для виявлення грибів роду *Malassezia* (CHROMagar malassezia, Франція). Посів проводився дворазово, завжди у 3 точки в центрі чашки, культивувалися чашки Петрі із середовищем Сабуро при температурі +28 °С градусів, час інкубації - 5 діб та чашки Сабуро з левоміцетином при температурі +30-36°С, час інкубації – 1 місяць. Інкубація чашок із середовищем для грибів роду *Malassezia* складала 72 години при температурному режимі 30-37°С.

Одночасно з посівом патологічного матеріалу проводили контрольний посів повітря на мікрофлору у приміщеннях лабораторій та палат, де знаходилися досліджувані діти. Пробу повітря відбирали методом седиментації.

Ідентифікацію збудника проводив лікар-бактеріолог. Результати трактували таким чином: 10^6 - 10^8 колонієутворюючих одиниць – масивний ріст бактерій, 10^3 - 10^5 – помірний, $<10^3$ – бідний. Наявність грибкових агентів оцінювалась категоріально (+/-) із визначенням видової приналежності. Для виділених мікроорганізмів була описана чутливість до різних груп протимікробних засобів для лікування.

2.2.4 Методи специфічної діагностики чутливості до алергенів

Забір крові у пацієнтів проводили з ліктьової вени за допомогою вакутайнерів у спеціальні охолоджені транспортні пробірки. Біозразки крові транспортувалися до лабораторії зі збереженням холодового ланцюга $+2 - +8$ °C. Рівні специфічних IgE у сироватці крові діагностували методом ІФА у лабораторії ТОВ «СІНЕВО» м. Запоріжжя.

Референтним значенням для sIgE було 0,35 kU/L. Мінімальна достовірна кількість sIgE – 0,15 kU/L. Рівні специфічних IgE, вищі референтного, у комбінації із анамнестичними даними підтверджували відповідний вид сенситизації, незалежно від рівня загального. Рівні sIgE, нижчі референтного, при наявності анамнестичних даних вважалися як такі, що свідчать про IgE-незалежну реакцію шкіри або як такі, що на момент дослідження знаходяться переважно у запаленій тканині шкіри, а не у сироватці крові. Висновок про прояв алергій на шкірі робили в залежності від отриманих результатів sIgE in vitro, як наведено у табл. 2.4.

Таблиця 2.4 - Інтерпретація результатів визначення рівнів сироваткових sIgE

Кількість специфічного IgE, kU/L	Клас гіперчутливості	Рівень гіперчутливості
≤ 0,35	0	Відсутній або такий, що не можна виявити
0,35-0,7	1	Низький
0,7-3,5	2	Помірний
3,5-17,5	3	Високий
17,5-50	4	Дуже високий
50-100	5	Вкрай високий
≥ 100	6	Різко позитивний

2.2.5 Методи оцінки показників периферійної крові та показників імунного статусу пацієнтів.

Вивчення імунного статусу у досліджуваних дітей включало в себе аналіз лейкоцитарної формули, ШОЕ загальноприйнятим методом у загальноклінічній лабораторії КНП «МДЛ №5» ЗМР. Типування лімфоцитарної популяції за CD-маркерами (С3, С4-2, CD3+, CD19-, CD4+, CD8-, CD4-, CD8+, CD3-, CD56+, CD3-, CD19+, CD14, CD45), вимірювання рівнів IgA, IgM, IgG, IgE, дослідження компонентів системи комплемента (С3, С4-2), фагоцитарної активності нейтрофілів та проліферативної активності лімфоцитів методом проточної цитофлуометрії проводилося у ТОВ «СІНЕВО» м. Запоріжжя (свідоцтво про атестацію №ПТ - 425/15 від 27.11.2015р.).

2.2.6 Імуноферментний аналіз

Забір крові проводився з ліктьової вени, голкою, самотоком, в поліетиленові пробірки, для отримання сироватки.

Щоб отримати сироватку, пробірки із кров'ю інкубували протягом 30 хвилин при температурі +37 °С. Згусток, що утворився, пастерівською піпеткою відшаровували від стінки, інкубували при +4 °С протягом години для ретракції згустку. Сироватку вливали в скляні пробірки та центрифугували протягом 10 хв при 3000 об/хв, відділяли супернатант і розливали у пробірки «Eppendorf Tubes». Зразки сироватки зберігали при температурі -20 °С (повторне заморожування або розморожування проб не допускалося). Зразки сироватки були прозорими, без ознак хільозу, гемолізу та бактеріємії.

Дослідження вмісту біомаркерів у сироватці крові виконувалося на базі НМЛЦ ЗДМУ (керівник – д.мед.н., професор А. В. Абрамов) на імуноферментному повноплашковому аналізаторі «SIRIO S» (виробник Італія).

Всі пробірки з сироваткою одночасно пасивно розморожувалися при $t=20$ °С протягом 30 хвилин. Після чого за участю дослідника в підготовленому матеріалі спеціалістом лабораторії визначався вміст ІЛ-1 β , ІЛ-4, ІЛ-12, ІЛ-13, ФНП-а за стандартними методиками відповідно до інструкцій виробника. Рівні інтерлейкінів у сироватці крові досліджували за допомогою наборів реактивів виробництва Thermo Fisher Scientific, Austria.

Рівні ТПР-4 та ТПР-9 визначали в моноцитарному концентраті. Забір зразків венозної крові проводили у спеціальні охолоджені транспортні пробірки із ЕДТА за допомогою вакуутайнерів. Для отримання моноцитарного концентрату використовувалася наступна методика. Мононуклеари отримували з венозної крові методом центрифугування в градієнті щільності фіколл-верографіну, що складається із суміші фіколла та урографіну щільністю 1,077. Периферичну венозну кров в кількості 3 мл забирали в стерильну пробірку, що містила ЕДТА 3К. Гепаринизовану кров розводили фізіологічним розчином в рівних обсягах (до 2 см сумарно), акуратно за допомогою піпетки по стінці пробірки нашаровували її на 3 мл фіколл-урографіну. Після відстоювання пробірки впродовж 30 хвилин при

кімнатній температурі, її центрифугували 15 хвилин при температурі приміщення 21°C у центрифuzі з горизонтальним ротором при 1500 об/хв. Після зупинки центрифуги інтерфазний прошарок, лізат моноцитарного концентрату, забирали піпеткою у «Eppendorf Tube», який заморожували при температурі -20°C.. Розрахована чистота моноклеарів у зразках складала 95 %.

ТПР-4 та ТПР-9 у моноцитарному концентраті виявляли за допомогою набору ELISA Kit for ТПР-4,9, виробник Cloud-Clone Corp., США.

2.2.7 Методика генетичного аналізу

Забір крові проводився з ліктьової вени за допомогою голки у транспортні вакуумні пробірки із 3К ЕДТА, після чого їх переміщали до морозильної камери у середовище -20°C. При транспортуванні матеріалу у пробірках зберігався холододовий ланцюг. ДНК екстрували відповідно до наявного уніфікованого протоколу на базі НМЛЦ ЗДМУ (керівник – д.мед.н., професор А. В. Абрамов).

Методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) проводили ампліфікацію послідовностей ДНК *in vitro* на апараті CFX96TM («Bio-Rad Laboratories, Inc.»), США) у режимі реального часу з наборів ThermoFisher, USA. Визначення поліморфізму гена Claudin-1 (rs17501010, rs893051, rs9290927, rs9290929) проводили за нижченаведеним алгоритмом. Пробірки розморожували при температурі 20-22 °С, кров перемішували до однорідності. У суху пробірку вносили 0,5 мл розмороженої крові, куди додавали 0,5 мл реактиву «ДНК-ЭКСПРЕСС-КРОВЬ-ПЛЮС». Вміст пробірки ретельно перемішували на вортексі та поміщали у центрифугу на 2 хв. при 2000 об/хв. Після чого пробірку поміщали в сухоповітряний термостат на 15 хв. при температурі 99 °С. Далі зразки центрифугували у високошвидкісній центрифuzі при 20-22 °С. Отриманий супернатант вважали досліджуваним зразком ДНК та переміщали піпеткою у сухі чисті пробірки місткістю 0,5 мл для подальшого використання. Усі маніпуляції проводили з

дотриманням правил асептики. Для роботи з ДНК використовували одноразові стерильні пластикові матеріали. Знезараження використаного пластикового посуду (пробірок, накінецьників) проводили в окремому контейнері з дезінфікуючим розчином. Молекулярно-генетичне дослідження проводилось методом ПЦР у режимі реального часу за інструкцією виробника. Генотип визначався на ампліфікаторі CFX96TMRReal-Time PCR Detection Systems. По закінченню реакції ампліфікації підраховували одержані результати згідно з рекомендаціями виробника приладу.

2.2.8 Методи математичного аналізу і статистичної обробки даних

Аналіз результатів дослідження в нашій роботі проводився на персональному комп'ютері ІМ типу Pentium 3 в операційному середовищі Windows XP за допомогою програми «STATISTICA for Windows 13» (StatSoftInc., No JPZ804I382130ARCN10-J). Результати опитувань, об'єктивного обстеження, лабораторних та інструментальних даних заносились в електронну базу даних Microsoft Office Excel 2007.

Для обробки кількісних ознак використовувалися методи описової статистики. За ненормального розподілу ознаки описову статистику подавали у вигляді середнього арифметичного та стандартного відхилення - $M \pm SD$ або $Me (Q_{25}; Q_{75})$ (медіана, 25 і 75 перцентиль), залежно від виду розподілу. Для обробки якісних даних проводили підрахунок абсолютних та відносних частот ознак. Для порівняння двох незалежних груп використовувався U-критерій Манна-Уїтні, для порівняння показників множинних незалежних груп використовувався h-критерій Краскела-Уолліса. Для дослідження динаміки змін показників використовувався критерій Вілкоксона.

Для вивчення взаємозв'язку двох якісних даних використовувався кореляційний аналіз. Для з'ясування характеру та сили зв'язку між досліджуваними параметрами використовували рангову кореляцію за Спірманом. Розраховані коефіцієнти кореляції (r) вважалися достовірними при $p < 0,05$. Для створення прогностичних моделей використовувалися

методи логістичної регресії та ROC-аналіз. Аналіз номінальних даних проводився шляхом вивчення критерію χ^2 -квадрат.

РОЗДІЛ 3
ОСОБЛИВОСТІ ФІЗИЧНОГО, ХІМІЧНОГО ТА
МІКРОБІОЛОГІЧНОГО БАР'ЄРУ ШКІРИ У ДІТЕЙ РАНЬОГО ВІКУ
З РІЗНОЮ ТЯЖКІСТЮ АД

3.1 Оцінка тяжкості перебігу АД у досліджуваних дітей за даними шкали SCORAD та рівнем трансепідермальної втрати рідини

На момент включення у дослідження 27 % дітей (n = 23) мали легкий перебіг АД, 32,9 % (n= 28) – середньотяжкий та 40 % (n= 34) – тяжкий перебіг АД (табл.3.1).

Таблиця 3.1 - Показники важкості симптомів АД за шкалою SCORAD, Me (Q25; Q75)

Важкість перебігу	На момент звернення
I ступінь, сума балів	15,5 (11; 17.8)
II ступінь, сума балів	34 (29; 37,9)
III ступінь, сума балів	62,6 (52.5; 72.8)

Таблиця 3.2 - Порівняльна характеристика показників шкали SCORAD у дітей з тяжким перебігом АД, Me (Q25; Q75)

Показники шкали SCORAD	Група 1	Група 2	Група 3
Площа ураження шкіри, %	15,5 (8,5; 27,5)*	20 (15,5; 42,5)	26,5 (17,5; 46)
Об'єктивні симптоми, сума балів	2 (1; 4)*	4 (3; 7)	8 (5; 10)
Свербіж, бали	2 (0; 4)*	3 (2; 6)	5 (3; 8)
Порушення сну, бали	1 (0; 2)*	2 (0; 4)	5 (3; 7)
*Примітка. Достовірна різниця між досліджуваними групами (p<0,05)			

Тяжкість перебігу АД у дітей була обумовлена не стільки площею ураження шкіри, скільки інтенсивністю об'єктивних симптомів та вираженістю сверблячки і порушення сну (табл. 3.2).

Для вивчення ступеня ураження та сухості шкіри ми вимірювали рівні трансепідермальної втрати рідини. Було виявлено, що зниження вологості шкіри було більш виражене у зимові місяці, що, на нашу думку, можна пов'язати зі змінами факторів оточуючого середовища. Так, знижена температура повітря на вулиці, вітер, збільшення кількості одягу та можливе підвищене потовиділення, сухість повітря у домі, як наслідок увімкненого опалення, можуть впливати на погіршення стану шкірного бар'єру дитини.

Показники медіани трансепідермальної втрати рідини у пацієнтів із різною тяжкістю АД представлені на рис. 3.1.

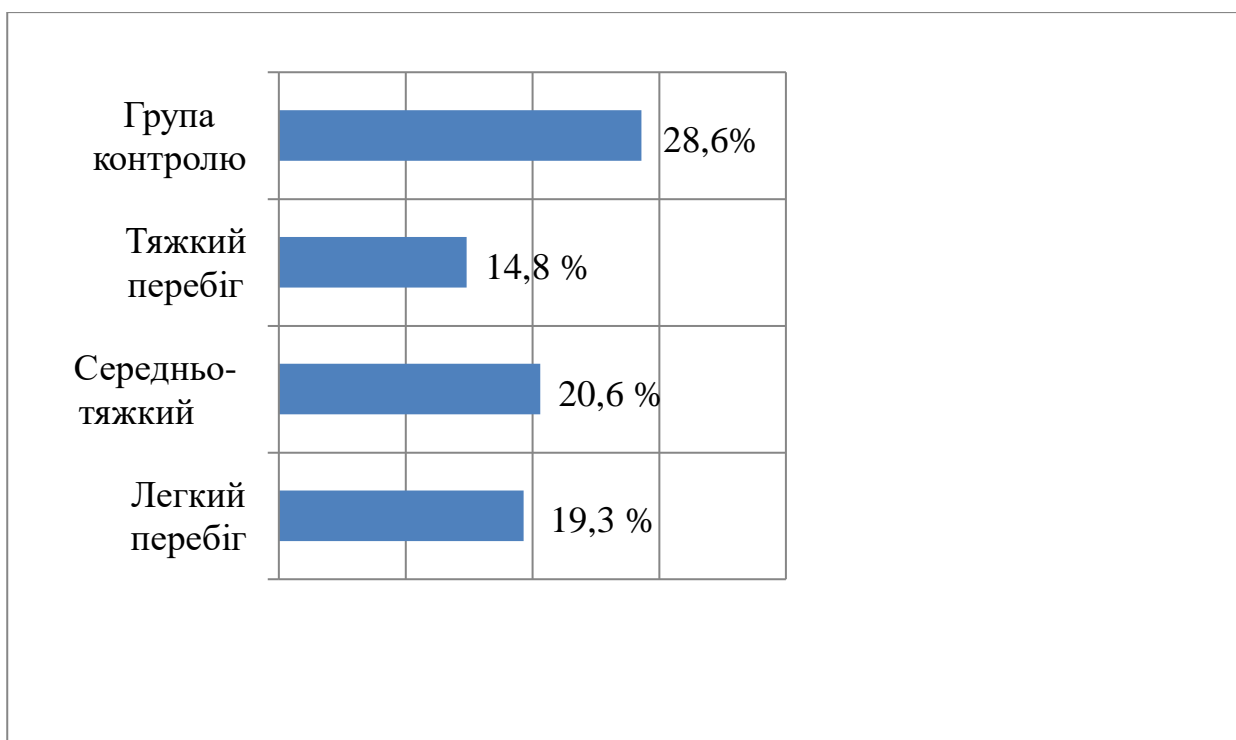


Рисунок 3.1 - Показники вологості шкіри у дітей з різною тяжкістю АД.

Як видно з наведеного рисунку 3.1, найбільш виражена сухість шкіри була виявлена у дітей з тяжким перебігом АД, середній показник та міжквартильний розмах яких склав 14,8 (13,6; 19,9) % у порівнянні з

вологістю у дітей з легким перебігом – 19,3 (14,3; 25,1) % та середньотяжким перебігом – 20,6 (16,1; 23,2) % ($p < 0,05$ за критерієм Краскела-Уолліса).

Група контролю без проявів atopії також частково мала знижену вологість, особливо в зимовий період – 28,6 (26,9; 38,4) % ($p < 0,05$ у порівнянні з основною групою за критерієм Манна-Уїтні). Динамічні зміни тяжкості симптомів АД та вологості шкіри представлені у розділі 5.

3.2 Роль поліморфізму гена Claudin-1 у порушенні цілісності шкірного бар'єру

Важливу роль в патогенезі пошкодження шкірного бар'єру при АД відіграють мутації генів, які відповідають за щільність міжклітинних контактів, а саме – ген білка Claudin-1. Згідно з даними наукових джерел, експресія білка Claudin-1 пригнічується в ураженій шкірі пацієнтів з АД, що підтримує активність запалення [18, 19].

Щоб встановити роль варіантів Claudin-1 у пацієнтів нашого регіону, які страждають на АД, ми проаналізували дані чотирьох SNPs (rs17501010, rs893051, rs9290927, rs9290929). Вивчення поліморфізмів проводилося у 66 дітей основної групи та 27 дітей групи контролю.

Частота алельних варіантів гена Claudin-1 серед дітей основної групи та групи контролю представлені у таблиці 3.3.

Аналіз частоти алельних варіантів гена Claudin-1 довів, що генотип GG варіанту rs17501010 був виявлений у 90,9 % ($n=60$) хворих на АД та у 85,2 % ($n=23$) здорових дітей. Крім того, генотипування показало і превалювання гетерозиготи варіантів rs893051 (CG) та rs9290929 (AG) як у дітей основної групи (75,8 % та 68,2 %), так і у дітей групи контролю (66,7 % та 63 % відповідно).

Таблиця 3.3 - Частота алельних варіантів гена Claudin-1 у дітей з АД

SNPs	Група	Генотип AA		Генотип Aa		Генотип aa		χ^2	p^*
		n	%	n	%	n	%		
rs17501010	1	60	90,9	5	7,6	1	1,5	1,52	0,47
	2	23	85,2	4	14,8	0	0		
rs893051	1	10	15,15	50	75,75	6	9,1	3,03	0,22
	2	8	29,6	18	66,7	1	3,7		
rs9290927	1	53	80,3	10	15,2	3	4,5	6,26	0,04*
	2	17	63	10	37	0	0		
rs9290929	1	15	22,7	45	68,2	6	9,1	0,51	0,77
	2	8	29,6	17	63	2	7,4		

Примітки:

1. Основна група - 1 (n=66), контрольна група - 2 (n=27).

2. rs17501010: мажорна алель G, мінорна алель T; rs893051: мажорна алель C, мінорна алель G; rs9290927: мажорна алель A, мінорна алель T; rs9290929: мажорна алель A, мінорна алель G.

Було знайдено статистично значущі відмінності у розподілі генотипів rs9290927 гена Claudin-1 серед дітей основної та контрольної груп ($\chi^2 = 6,26$, $p < 0,05$). Так, у дітей основної групи превалював генотип AA (80,3 %), розподілення ж генотипів у групі контролю було таке: генотип AA виявлявся у 63 % дітей, генотип AT у 37 % дітей.

З метою визначення зв'язку поліморфізмів гена Claudin-1 зі ступенем тяжкості АД дітей основної групи було поділено на дві підгрупи. До 1а підгрупи увійшли 45 дітей (31,8 %), які мали тяжкий перебіг АД. Дані зв'язку представлені у табл. 3.4.

В результаті дослідження було встановлено, що поліморфізм гена Claudin-1 rs9290927 не впливав на тяжкість перебігу АД у дітей ($p > 0,05$). Так,

АА-генотип переважав у 75,6 % дітей з легким та середньотяжким перебігом АД та у 88 % дітей з тяжким перебігом.

Таблиця 3.4 - Частота алельного варіанту rs9290927 гена Claudin-1 залежно від тяжкості atopічного дерматиту

SNPs	Група	Генотип АА		Генотип АТ		Генотип ТТ		χ^2	p^*
		n	%	n	%	n	%		
rs9290927	1a	31	75,6	9	22,0	1	2,4	4,66	0,10
	1b	22	88,0	1	4,0	2	8,0		

Примітки:
Група дітей 1a - з легким та середньотяжким перебігом АД (n=45), група 1b - з тяжким перебігом АД (n=21).

Проведений аналіз взаємозв'язку поліморфізму гена Claudin-1 rs9290927 з наявністю сенсibiliзації за результатами IgE також не показав достовірного зв'язку ($p > 0,05$).

Таким чином, особливості експресії білка щільних міжклітинних контактів Claudin-1, необхідного для підтримання оптимального рівня вологості шкіри, можуть свідчити про його роль у структурному порушенні шкірного бар'єру та можливий вплив на проникнення через шкіру факторів агресії та алергенів навколишнього середовища.

3.3 Оцінка порушення хімічного бар'єру шкіри у дітей з atopічним дерматитом

Згідно з літературними даними, зміни рН шкіри відіграють важливу роль у патогенезі atopічного дерматиту та можуть бути як причиною вторинного грибкового та/або бактеріального інфікування шкіри, так і наслідком. Крім того, рН впливає на активність імунних клітин та основних ферментів шкіри, а також утворення ліпідного прошарку, що вказує на його роль у поєднанні хімічного, фізичного, імунного та бар'єру-мікробіому.

Дітям групи контролю попередньо було проведено вимірювання кислотності шкіри на різних ділянках тіла (щоки, кисті, передпліччя, стегно,

живіт або спина). Середній показник Me (Q25; Q75) кислотності шкіри дітей без проявів atopії склав 5,65 (5,58; 5,72), що відповідає референтним показникам рН шкіри згідно з літературними даними.

При дослідженні рН шкіри у пацієнтів з неklasичним характером висипу у 90 % дітей (n=41) були верифіковані зміни (рН <5,5 або рН > 5,8), які достовірно відрізнялися від середніх значень рН шкіри без проявів atopії (p<0,05).

За результатами, отриманими при вимірюванні кислотності шкіри, всі діти були розділені на 2 підгрупи за рівнем рН (за середнім показником нормальної кислотності шкіри - менше або більше 5,65). Для кожної підгрупи була побудована модель логістичної регресії, на основі якої було встановлено cut of point.

Для дітей з рівнем рН <5,65 такою cut of point було виведено значення 5,52. Таким чином, рівень рН <5,52 вказував на наявність високого ризику активації грибкової та/або бактеріальної інфекції на уражених ділянках шкіри (рис. 3.2, 3.3). Чутливість цього прогностичного методу склала 81,3 %, а специфічність - 85,7 %.

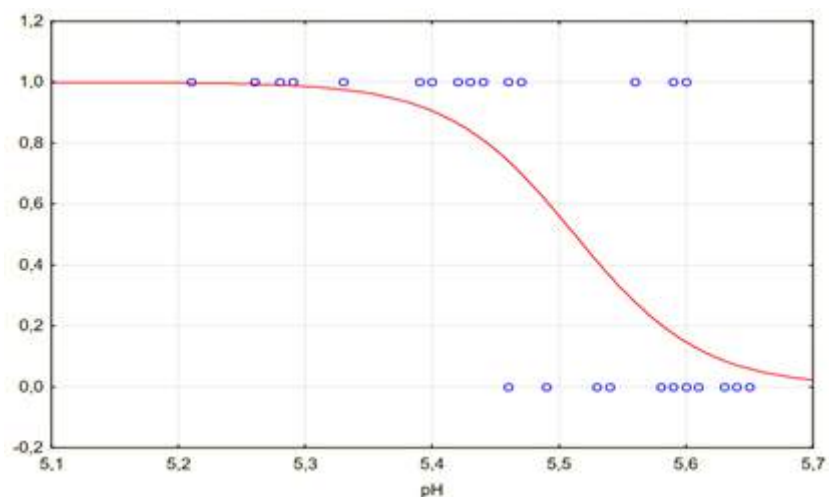


Рисунок 3.2 - Модель логістичної регресії визначення ймовірності наявності активації УП грибкової та/або бактеріальної флори у групі дітей зі зниженим рівнем рН.

Для дітей другої підгрупи був встановлений показник cut of point рН > 5,87. Діти з рівнем >5,87 входили до групи з високим ризиком наявності активації умовно-патогенної грибкової та/або бактеріальної флори. Чутливість методу склала 91,3 %, а специфічність – 86,4 %.

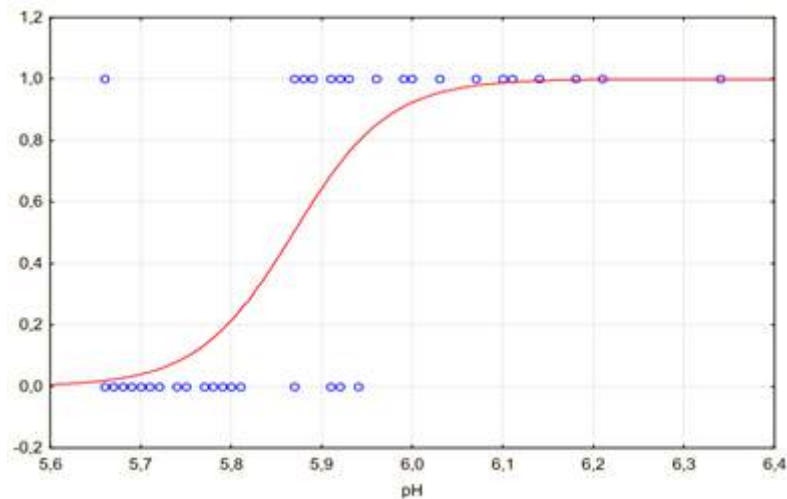


Рисунок 3.3 - Модель логістичної регресії визначення ймовірності наявності активації УП грибкової та/або бактеріальної флори у групі дітей з підвищеним рівнем рН.

Поєднавши результати цих двох моделей, підвели підсумок, що рівні кислотності шкіри <5,52 та >5,87 і наявність представлених у цьому розділі клінічних варіантів ускладненого перебігу АД є маркером активації УП грибкової та/або бактеріальної флори, яка може потребувати призначення додаткового топічного протигрибкового та/або антибактеріального лікування ($p < 0,001$).

Далі була побудована модель бінарної логістичної регресії для прогнозування наявності активованої УП грибкової та/або бактеріальної флори у дітей раннього віку з АД, яка має наступний вигляд.

Формули 3.1, 3.2 моделей ймовірності мікотичної та/або бактеріальної контамінації у дітей раннього віку з АД.

- для $pH < 5,52$: $y = \frac{1}{1+e^{-x}}$, де $x = (+110,82 - 20,10 * pH)$ (3.1);
- для $pH > 5,87$: $y = \frac{1}{1+e^{-x}}$, де $x = (-111,49 + 19,00 * pH)$ (3.2).

Слід відмітити той факт, що рівні чутливості та специфічності даного методу дозволяють використовувати цей спосіб в якості уточнюючого методу діагностики, оскільки метод секвенування геному мікробіоти недоступний для рутинної практики лікаря через відсутність матеріально-технічного забезпечення, а бактеріологічний метод дослідження малочутливий у діагностиці ускладнених грибковою контамінацією форм atopічного дерматиту.

Для інтерпретації фінальних значень ймовірності виникнення мікробної контамінації, згідно розрахунку остаточного значення функції (y) запропонованих прогностичних моделей логістичної регресії на підставі ключового критерію - рівня pH шкіри, запропонована наступна система оцінки отриманого прогнозу:

- ✓ ймовірність менше 30 % вказує на невеликий ризик формування обсіменіння мікробною флорою і може не вимагати стартово певних лікувально-профілактичних заходів;
- ✓ ймовірність у діапазоні 30-60 % свідчить про підвищений ризик розвитку ознак активації УП флори шкірних покривів і регрес толерантності до мікотичної контамінації, як предиктор ускладненого atopічного дерматиту, що констатує доцільність призначення відповідного подальшого дообстеження і профілактичного лікування в рамках протимікробної стратегії;
- ✓ ймовірність більше 60 % дозволяє встановити високу ймовірність наявності бактеріальної інфекції шкіри. Це диктує необхідність негайного проведення додаткових діагностичних процедур, що

дозволить своєчасно розробити і персоніфікувати антимікотичну та антибактеріальну терапію у пацієнта, що в цілому, знизить ризик хронізації запалення на шкірі.

Таким чином, на підставі отриманих даних розроблено спосіб диференційованої оцінки ймовірності наявності активації УП флори, який дозволить не тільки адекватно і достовірно оцінити вираженість патологічних змін шкірних покривів, але і визначити рівень ризику виникнення ускладнень і вірогідність хронізації захворювання, що дозволить своєчасно провести необхідні лікувальні заходи щодо корекції з індивідуальним призначенням патогенетично обґрунтованої терапії та запобігти появі патологічних змін в організмі потенційних хворих з atopічним дерматитом, пов'язаних з прогресуванням запалення.

Отже, вивчення сукупності факторів, а саме: клінічних проявів, зміни рН і результатів посівів, дозволило встановити діагноз та розпочати терапію *ex juvantibus*. Динаміка змін показників кислотності шкіри протягом періоду лікування представлена у розділі 5.

3.4 Особливості бар'єру-мікробіома шкіри у дітей з atopічним дерматитом

За результатами проведених посівів з уражених ділянок шкіри дітей із середньотяжким та тяжким перебігом, які мали некласичні симптоми АД, лише у 12 дітей із 56-ти була виявлена мікробіологічна контамінація різними грибками: *Candida albicans* (n = 6), *Candida nonalbicans* (n = 3), *Normodendrum compactum* (n = 2), *Aspergillus nidulans* (n=1). Дані представлені на рис. 3.4. Чутливість мікробіологічного методу виявлення мікотичної контамінації склала 21,4 %.

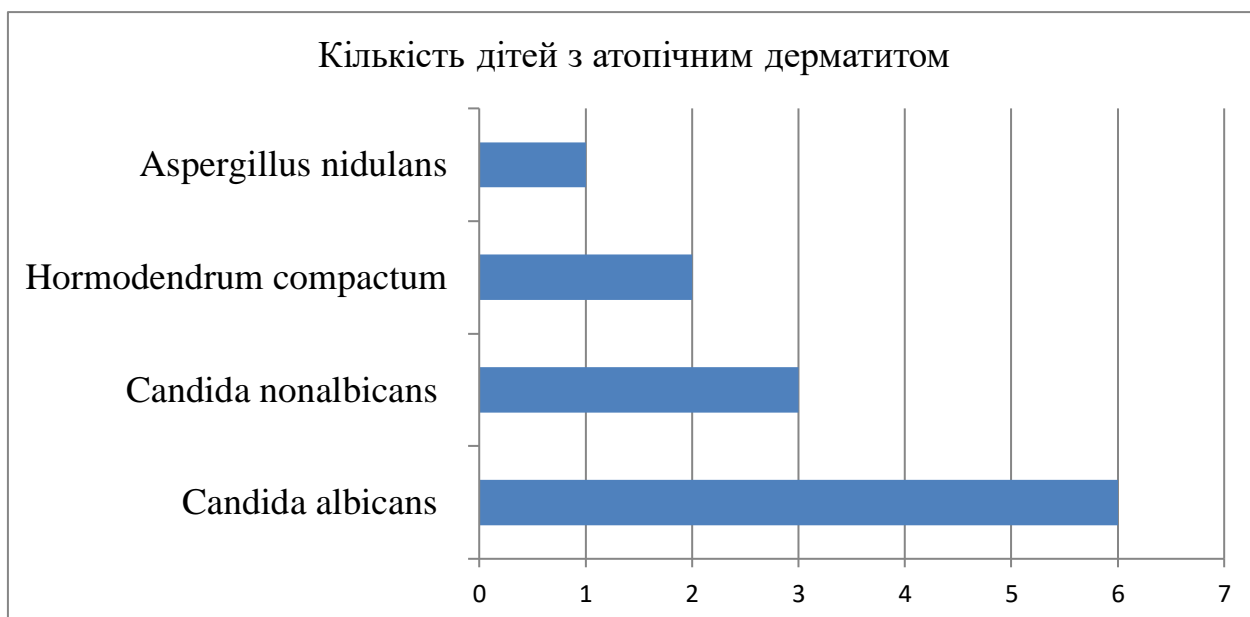


Рисунок 3.4 - Частота колонізації шкіри грибковими мікроорганізмами за результатами мікробіологічного дослідження.

Проведення посівів на специфічне середовище для виявлення грибів роду *Malassezia* (Chromagar *Malassezia*, Франція) не дало позитивних результатів. Отримані результати суперечать даним європейських авторів, які довели провідну роль грибів роду *Malassezia* у розвитку вторинного інфікування і вторинної сенсibiliзації при АД у когорті підлітків і дорослих. Негативні результати у наших пацієнтів можуть бути пов'язані саме з віком, адже комфортним середовищем для росту грибів роду *Malassezia* є шкірний себум, який у дітей найчастіше виявляється на волосистій частині голови, проте рідко потребує специфічного лікування. Сальні залози дітей ранніх років, ймовірно, виробляють недостатню кількість себуму для підтримання життєдіяльності грибів *Malassezia*.

Вивчення бактеріального складу ураженої шкіри дітей підтвердило дані інших дослідників: найбільш поширеним збудником був *Staphylococcus aureus* (у 10 дітей (11,8 %) спостерігався помірний або масивний ріст); у 7 дітей (8,2 %) був виявлений помірний або масивний ріст *Streptococcus haemolyticus*; у 2 (2,4 %) – помірний ріст *Chryseobacterium species*; ще у 2 дітей (2,4 %) – масивний ріст *Enterococcus faecalis*. Мікробіологічний аналіз

шкіри дітей групи контролю не виявив бактеріальної або грибової контамінації.

Беручи до уваги отримані результати, можна припустити, що дотримання процедури проведення посівів зі шкіри не гарантує отримання позитивного результату навіть за наявності грибової контамінації через відсутність специфічних середовищ для посівів, використання пацієнтом топічних протигрибкових та/або антибактеріальних засобів напередодні проведення дослідження.

Матеріали розділу представлені у наукових працях: [141, 143- 148].

РОЗДІЛ 4

ОЦІНКА ІМУННОГО СТАТУСУ У ДІТЕЙ З АТОПІЧНИМ ДЕРМАТИТОМ

4.1 Особливості імунної відповіді у дітей із середньотяжким та тяжким перебігом atopічного дерматиту

На наступному етапі роботи нашою метою було визначити показники імунного статусу у дітей з АД. Враховуючи наявність неоднорідності клінічних проявів та той факт, що значна частина дітей основної групи із середньотяжким і тяжким перебігом АД мала тривалу персистенцію шкірного запалення та ускладнений перебіг через активізацію умовно-патогенної мікрофлори шкіри, ми продовжили діагностичний пошук і вивчили особливості імунного статусу дітей з АД в залежності від тяжкості захворювання.

Аналіз показників імунного статусу дітей ми розпочали із загальноклінічного аналізу крові, в якому не було виявлено відхилень рівнів загальної кількості лейкоцитів, лімфоцитів та нейтрофілів. Дітям як основної групи, так і групи контролю був властивий лімфоцитоз, який відповідав референтним значенням дітей цієї вікової групи і не виходив за межі фізіологічної норми для дітей до 5 років.

Оцінка кількості еозинофілів у периферійній крові виявила підвищену їх кількість у 60 % дітей з легким і середньотяжким перебігом (Me у групах I,II – 4,8 [3,1; 7,1]) та у 56 % дітей з тяжким перебігом (Me у групах IIIa, IIIb – 6,18 [3,4; 9,2]). Наявність еозинофілії можна вважати класичною ознакою при алергічному запаленні, хоча вона не є основним діагностичним критерієм atopічного дерматиту [12].

Виявлені зміни лейкоцитарної формули в основній групі, а саме збільшення кількості еозинофілів, які є ефektorними клітинами пізньої фази алергічного запалення, підтверджуються і літературними даними. Показники

ШОЕ у дітей всіх груп коливалися від 2 до 6 мм, незважаючи на тяжкість та ускладнення, які мали пацієнти з АД (табл.4.1).

Таблиця 4.1 - Показники периферійної крові у дітей залежно від тяжкості перебігу atopічного дерматиту, Me (25; 75)

Показники крові	Відносно здорові діти (n=30)	Діти з легким і середньо-тяжким перебігом АД (n=51)	Діти з тяжким перебігом АД (n=34)	р-значення за Н-критерієм Краскела-Уолліса
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	6,5 (5,0; 7,1)	6,3 (4,9; 7,3)	6,7 (5,2; 8,0)	p>0,05
Еозинофіли, %	2 (0; 2)*	4,8 (3,1; 7,1)	6,18 (3,4; 9,2) *, #	p<0,05
Нейтрофіли, %	23,5 (12,4; 30,2)	18,9 (14,9; 23,8)	21,0 (18,6; 28,2)	p>0,05
Лімфоцити, %	71,3 (62,1; 74,1)	68,5 (57,2; 69,7)	64,7 (58,3 ;68,4)	p>0,05
Моноцити, %	3 (2; 4)	5 (3 ;6)	4 (3 ; 5)	p>0,05
ШОЕ, мм	4 (2; 5)	4 (2 ; 6)	5 (4 ; 6)	p>0,05
Примітка. * - при порівнянні зі здоровими дітьми; # - при порівнянні з групами з легким і середньотяжким перебігом АД				

Наступним кроком нашої роботи було дослідження змін показників імунного статусу у дітей із середньотяжким і тяжким перебігом АД. Серед пацієнтів із тяжким перебігом atopічного дерматиту були діти, яким і з проведеним лікуванням не вдавалося досягти клінічної ремісії впродовж часу нашого спостереження (6-12 місяців). Після курсу отриманого лікування

через короткий час відбувалося тяжке загострення захворювання. Отже, під час вивчення показників імунного статусу ми взяли за мету встановити наявність особливих змін параметрів у цій групі дітей окремо, тобто розділили групу III на 2 підгрупи (IIIa та IIIb).

При вивченні показників вродженої ланки імунітету не виявлено достовірних відмінностей від референтних значень у дітей із середньо-тяжким і тяжким перебігом АД. Проте виявлено статистично достовірну різницю індукованої фагоцитарної активності у досліджуваних групах за Н-критерієм Краскела-Уолліса ($p < 0,05$). Подальше порівняння незалежних груп за критерієм Манна-Уїтні виявило достовірну різницю показників групи II у порівнянні з групами IIIa і IIIb (табл. 4.2).

Таблиця 4.2 - Показники фагоцитарної активності нейтрофілів НСТ-тест у досліджуваних дітей з atopічним дерматитом, Me (Q25-Q75)

Показники вродженого імунітету	Група дослідження, Me (Q25-Q75)			Референтні значення, оптичні одиниці	р-значення за Н-критерієм Краскела-Уолліса
	II n=18	IIIa n=19	IIIb n=15		
НСТ-тест, спонтанна активність	115,0 (104,0; 118,0)	112,5 (109; 116,5)	109,0 (107,0 117,0)	80,0 – 125,0	$p > 0,05$
НСТ-тест, Індукована активність	211,0* (182,0; 235,0)	255,0 (236,0; 281,0)	250,0 (223,0; 258,0)	150,0 – 380,0	$p < 0,05$
фагоцитарний індекс	2,0 (1,9; 2,2)	2,2 (2,2; 2,6)	2,3 (2,0; 2,4)	1,5 – 3,0	$p > 0,05$
РБТЛ	1,58 (1,52; 1,69)	1,44 (1,3; 1,59)	1,57 (1,43; 1,74)	1,2 – 1,68	$p > 0,05$

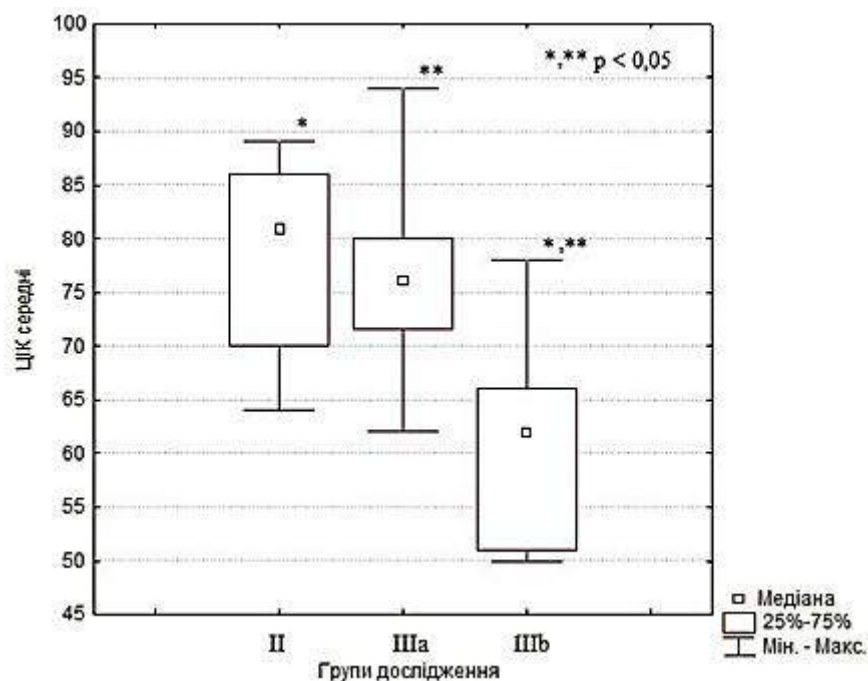
Аналіз показників рівнів циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) виявив, що пацієнти Шб групи мали нижчу за референтні значення кількість середніх ЦІК (медіана та міжквартильний розмах становили 65,0 (54,0; 66,0) при референтних значеннях 60,0 – 90,0) та достовірно нижчі за рівні ЦІК у групах II та IIIa ($p < 0,05$ згідно з критерієм Манна-Уїтні) (табл.4.3.). Дрібні ЦІК достовірно відрізнялися у групі Шб у порівнянні з групами II і IIIa, проте показники у групі Шб відповідали референтним значенням. Показники у групах II і IIIa були достовірно вищими у порівнянні з групою контролю ($p < 0,05$).

Таблиця 4.3 - Показники рівнів ЦІК у досліджуваних дітей з АД, Ме (Q25-Q75)

Показник імунограми	Група дослідження, Ме (Q25-Q75)			Референтні значення, оптичні одиниці
	II n=18	IIIa n=19	IIIb n=15	
ЦІК, великі	6,0 (4,0; 9,0)	7,0 (4,5; 8,0)	4,0 (3,0; 5,0)	До 20,0
ЦІК, середні	83,0 (70,0; 88,0)	74,0 (65,5; 78,0)	65,0 (54,0; 66,0)*	60,0 – 90,0
ЦІК, дрібні	169,0 (168,0; 174,0)	167,5 (152,0; 172,0)	152,0 (151,0; 158,0]	130,0 – 160,0
Примітка.* - достовірні відмінності ($p < 0,05$), згідно з критерієм Манна-Уїтні при порівнянні з групами II і IIIa				

Графічне зображення функціональної активності середніх циркулюючих імунних комплексів у групах порівняння представлено на рис.

4.1



Примітка.* - при порівнянні з групою II, ** - при порівнянні з групою IIIa.

Рисунок 4.1 - Порівняльна характеристика рівнів середніх ЦІК у дітей з atopічним дерматитом.

Результати дослідження показників компонентів комплементу у дітей II, IIIa та IIIb груп наведені у табл. 4.4.

Таблиця 4.4 - Показники компонентів комплементу у досліджуваних дітей з atopічним дерматитом, Me (Q25-Q75)

Показник імунограми	Група дослідження, Me (Q25-Q75)			Референтні значення, оптичні одиниці	р-значення за Н-критерієм Краскела-Уолліса
	II n=18	IIIa n=19	IIIb n=15		
C3	1,07 (1,05; 1,50)	1,19 (0,99; 1,30)	0,90 (0,80; 1,00)	0,9 – 1,8	p<0,05
C4-2	0,18 (0,1; 0,27)	0,24 (0,19; 0,28)	0,17 (0,16; 0,20)	0,1 – 0,4	p>0,05

Як видно із наведених даних, була виявлена достовірна різниця показників компонента комплементу С3 у групах ІІ, ІІІа та ІІІб ($p < 0,05$ за критерієм Краскела-Уолліса). Порівняння попарне груп за критерієм Манна-Уїтні виявило, що компонент комплементу С3 був достовірно нижчий у дітей ІІІб групи у порівнянні з групами ІІ та ІІІа ($p < 0,05$), що може свідчити про можливу неадекватну активацію комплементарних механізмів та їх роль у запаленні при важких формах АД у дітей. Показники компонента комплементу С4-2 у всіх групах знаходилися в межах референтних значень і достовірно не відрізнялися у групах за критерієм Краскела-Уолліса ($p > 0,05$).

Нами було проведено дослідження прогностичної цінності фракції компонента комплементу С3 як маркера затяжного характеру перебігу ускладнених форм АД у дітей. Проведено ROC-аналіз, отримані наступні результати: $AUC = 0,870$, ДІ $[0,689; 0,966]$, $p < 0,0001$; при cut of value $< 1,0$ чутливість $Se = 75\%$ і специфічність $Sp = 75\%$. Таким чином, за результатами проведеного ROC-аналізу, у хворих на atopічний дерматит зростає ризик неконтрольованого перебігу та хронізації процесу при рівні компонента С3 $< 1,0$. Результати представлені на рис. 4.2.

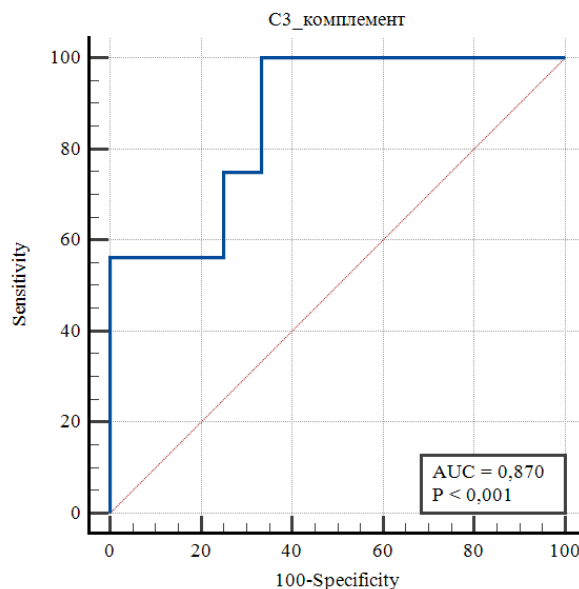


Рисунок 4.2 – Прогностична цінність компонента комплементу С3 у хворих на АД щодо наявності затяжного неконтрольованого перебігу за результатами ROC-аналізу.

При дослідженні рівнів ТПР-9 не було виявлено достовірної різниці між показниками основної групи і групи контролю. Проте було встановлено, що рівні ТПР-4 достовірно відрізнялися в основній групі від групи контролю ($p < 0,05$ за критерієм Манна-Уїтні). При аналізі ТПР-4 у групах дітей з atopічним дерматитом було виявлено достовірну різницю ($p < 0,05$ за критерієм Краскела-Уолліса), а проведене подальше порівняння за критерієм Манна-Уїтні виявило достовірну різницю показників у групі Шб, яка мала найвищі показники у порівнянні з групами I, II та IIIa ($p < 0,05$). Дані представлені у табл. 4.5.

Таблиця 4.5 – Розподілення показників ТПР-4 та ТПР-9 у досліджуваних групах, Me (Q25-Q75)

Показник, одиниці	Підгрупи дітей, хворих на АД (n=85)				
	I (n=23)	II (n=28)	IIIa (n=19)	IIIb (n=15)	група контролю (n = 20)
ТПР-4, pg/mL	0,15 (0,11; 0,27)	0,15 (0,12; 0,24)	0,21 (0,14; 0,32)	0,27* (0,25; 0,41)	0,15 (0,13; 0,21)
ТПР-9, pg/mL	0,14 (0,08; 0,24)	0,16 (0,12; 0,27)	0,16 (0,1; 0,22)	0,2 (0,11; 0,25)	0,16 (0,13; 0,26)

Примітка. * - достовірність ($p < 0,05$) при порівнянні з групами I, II, IIIa.

У табл. 4.6 наведені результати визначення відносної та абсолютної кількості субпопуляцій лімфоцитів у дітей з АД. У всіх дітей з atopічним дерматитом рівні відносної кількості лімфоцитів (CD3+, CD19-) відповідали референтним значенням, однак групі дітей IIIb був властивий приріст CD4+, CD8- з одночасним зниженням рівнів CD4-, CD8+. Через дисбаланс показники імунорегуляторного індексу (CD4+,CD8-/CD4-,CD8+) були достовірно вищі у дітей IIIb групи у порівнянні з групою IIIa ($p < 0,05$).

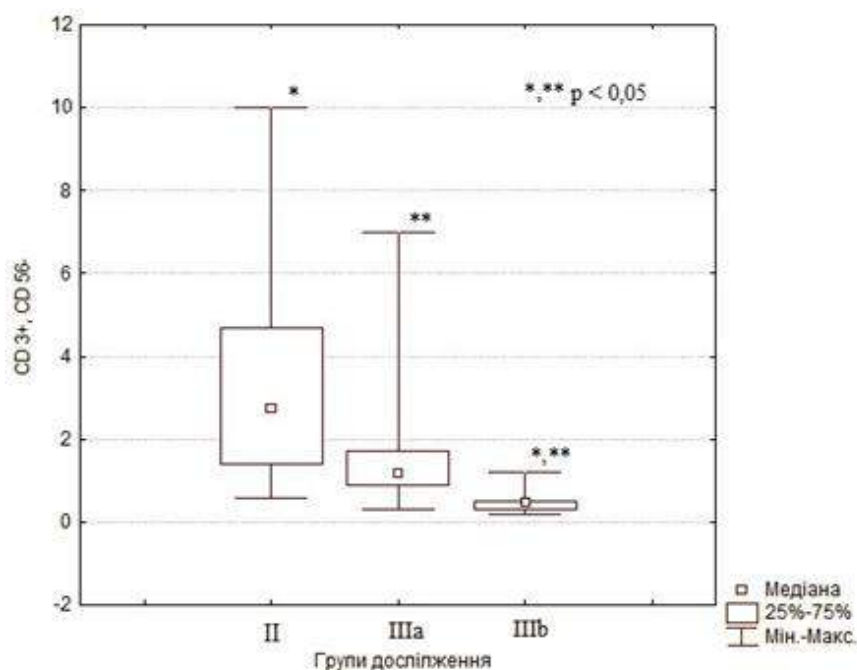
Таблиця 4.6 - Показники відносної та абсолютної кількості субпопуляцій лімфоцитів у досліджуваних дітей з АД, Ме (Q25-Q75)

Субпопуляції лімфоцитів	Група дослідження, Ме [Q25-Q75]			Референтні значення, %	р-значення за Н-критерієм Краскела-Уолліса
	II n=18	IIIa n=19	IIIb n=15		
CD3+, CD 19-	69,8 (57,5; 73,0)	62,8 (58,6; 69,5)	66,6 (64,5; 72,7)	47 – 77	p>0,05
CD4+, CD8-	39,9 (31,0; 47,5)	41,0 (36,3; 51,2)	40,9 (36,7; 46,7)	29 – 58	p>0,05
CD4-, CD8+	21,3 (16,5; 32,0)	21,6 (20,0; 25,0)	18,0 (16,4; 20,3)	11 – 35	p>0,05
CD4+, CD8-/ CD4-, CD8+	1,8 (1,5; 2,0)	1,90 (1,60; 2,37)	2,30 (1,8; 2,8) *	0,95 – 2,25	p<0,05
CD3+, CD56+	2,5 (1,4; 3,4)	1,5 (0,9; 2,0)	0,5 (0,3; 0,5) #	3 – 8	p<0,05
CD3-, CD56+	6,3 (4,6; 22,0)	11,1 (10,5; 12,6)	9,95 (4,75; 14,9)	2 – 17	p>0,05
CD3-, CD19+	21,1 (14,2; 24,6)	18,0 (14,3; 22,7)	18,8 (14,8; 23,4)	13 – 41	p>0,05

Продовження таблиці 4.6

CD14	6,9 (6,6; 8,1)	9,35 (7,9; 12,0)	8,5 (5,7; 11,2)	6 – 13	$p > 0,05$
ЗЛА, CD45	99,6 (99,3; 99,7)	99,25 (98,55; 99,55)	99,3 (98,8; 99,6)	95 – 100	$p > 0,05$
Примітка. *, # - $p < 0,05$ згідно з U-критерієм Манна-Уїтні при порівнянні з групами II та IIIа.					

Як видно з таблиці 4.6, спостерігалась достовірна різниця рівнів CD3+, CD56+ у групах дослідження: найменші показники мали діти IIIб групи у порівнянні із групами II та IIIа ($p < 0,05$). Достовірної різниці між кількістю натуральних кілерів виявлено не було ($p = 0,09$, тест Краскела- Уолліса).



Примітка. * - при порівнянні з групою II, ** - при порівнянні з групою IIIа.

Рисунок 4.3 - Порівняльна характеристика рівнів CD3+, CD56+ у дітей з atopічним дерматитом.

Для оцінки прогностичної цінності CD3+, CD56+ щодо затяжного характеру перебігу ускладнених форм АД у дітей було проведено ROC-аналіз та отримані такі результати: AUC = 0,935, ДІ [0,749; 0,965], $p < 0,0001$; при cut of value $< 0,6$ чутливість Se = 80 % та специфічність Sp = 84,62 %. Таким чином, за результатами проведеного ROC-аналізу, у хворих на atopічний дерматит зростає ризик неконтрольованого перебігу та хронізації процесу при рівні CD3+, CD56+ $< 0,6$ (рис. 4.4).

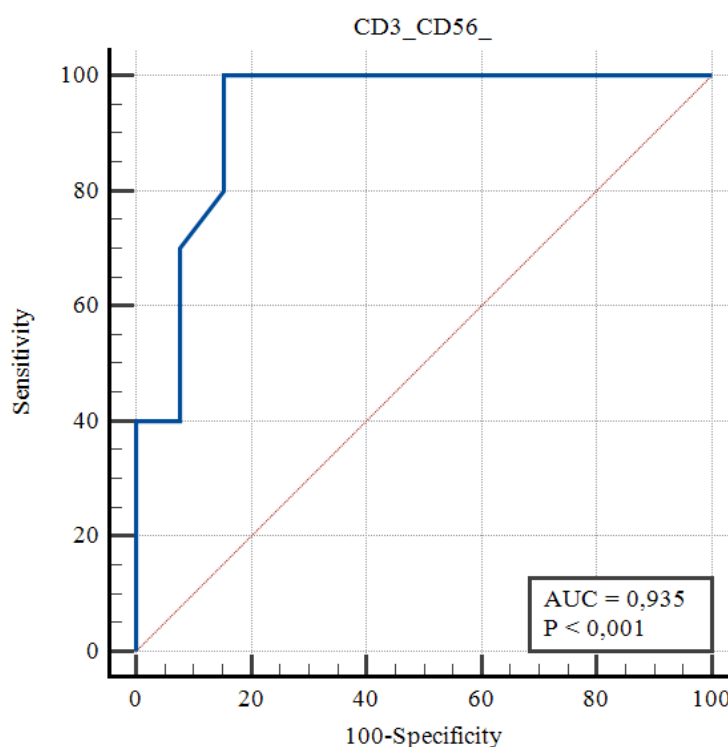


Рисунок 4.4 – Прогностична цінність CD3+, CD56+ щодо розвитку затяжного неконтрольованого перебігу АД у дітей за результатами ROC-аналізу.

Вивчення вмісту основних сироваткових імуноглобулінів показало, що у 100 % дітей II та IIIа груп вони знаходилися у межах референтних значень (табл.4.7).

У групі IIIб пацієнти мали знижений сумарний рівень IgA, IgM, IgG (Me 5,57 (3,78; 5,75)) (середній вміст IgA 0,5 (0,5; 0,5) г/л; IgM 0,67 (0,41; 0,75) г/л та IgG 4,4 (3,1; 4,56), відповідно). Ці зміни можуть свідчити про дисімуноглобулінемію, яка може впливати на тяжкість перебігу АД.

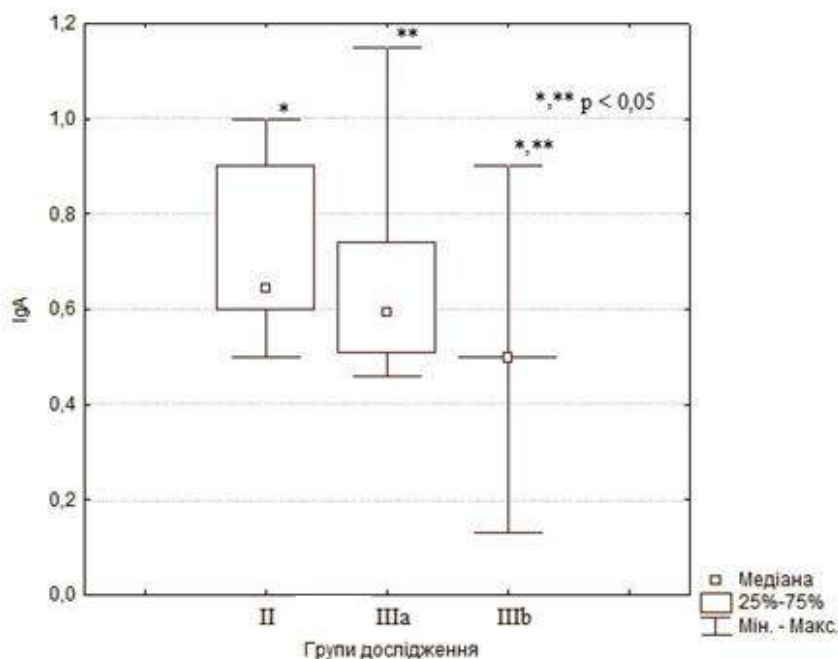
Була виявлена достовірна різниця сумарної кількості імуноглобулінів у пацієнтів Шб групи у порівнянні з групами II та IIIa ($p < 0,05$) (табл.4.7).

Таблиця 4.7 - Показники рівня основних імуноглобулінів у сироватці крові в дітей з АД різного ступеня тяжкості, Ме (Q25-Q75)

Клас Ig, г/л	Група дослідження, Ме (Q25-Q75)			Референтні значення, г/л
	II n=18	IIIa n=19	IIIb n=15	
IgA	0,64 (0,55; 0,90)	0,60 (0,59; 0,90)	0,5* (0,5; 0,5)	0,20-1,0
IgM	0,83 (0,70; 1,18)	0,74 (0,64; 1,05)	0,67* (0,41; 0,75)	0,19-1,46
IgG	6,92 (6,31; 11,69)	7,21 (5,32; 7,85)	4,4* (3,1; 4,56)	2,32 – 14,11
сумарні IgA, IgM, IgG	7,96 (7,69; 13,81)	8,66 (6,64; 9,63)	5,57 * (3,78; 5,75)	> 6,0
IgE	15,50 ^{\$} (5,91; 40,60)	315,1 [#] (24,6; 1188,0)	53,3 (8,97; 242,4)	до 60,0

Примітка. * - $p < 0,05$ згідно з U-критерієм Манна-Уїтні у порівнянні з групами II та IIIa; # - у порівнянні з групами II та IIIb; \$ - $p < 0,05$ згідно з U-критерієм Манна-Уїтні у порівнянні з групою IIIb

Рівні IgA IgM, IgG окремо не виходили за межі діагностичної дискримінантної області, однак були достовірно нижчі у групах дітей з тяжким перебігом АД ($p < 0,05$) (табл. 4.7, рис. 4.5).



Примітка.* - при порівнянні з групою II, ** - при порівнянні з групою IIIa.

Рисунок 4.5 - Порівняльна характеристика рівнів IgA у дітей з АД.

Рівень загального IgE був достовірно вищий у дітей IIIa групи у порівнянні з референтними значеннями та показниками у дітей з atopічним дерматитом інших груп ($p < 0,05$). Підвищення загального IgE було виявлено лише у половини пацієнтів. Частота підвищених рівнів специфічних IgE до різних класів алергенів представлена у табл. 4.8.

Сенситизація до харчових продуктів була визначена лише у 35,3 % дітей загальної вибірки ($n = 30$). Проте близько 1/3 дітей з підвищеними значеннями рівнів специфічних IgE мали показники загального сироваткового IgE, що відповідають референтним значенням.

Як видно із таблиці 4.8, провідну роль у структурі сенситизації відігравали харчові алергени: коров'яче молоко та його компоненти (28,2 %), білок яйця (23,5 %) і жовток яйця (11,8 %), що підтверджується як вітчизняними, так і європейськими дослідниками. Рідше виявляли специфічні антитіла IgE до різних сортів борошна, горіхів, картоплі, м'яса. 77,3 % дітей мала полісенсibiliзацію до харчових алергенів, серед них 5 дітей мали також підвищені рівні IgE до пилоквих (11,0 %), побутових (2,4 %) та тваринних

(8,2 %) алергенів. Цікавим є те, що лише у 4 дітей з 10, які мали підвищені рівні IgE до пилоквих алергенів, зазначалося погіршення стану у період цвітіння. В інших дітей ми спостерігали доклінічну сенситизацію, яку враховували при складанні дієтичного раціону малюка.

Таблиця 4.8 - Структура сенситизації різних груп алергенів у дітей раннього віку з АД

Група алергенів, sIgE	Частота, %, n
Коров'яче молоко та його компоненти (казеїн, альфа-лактоальбумін, бета-лактоглобулін, бичий сироватковий альбумін)	28,2 (n = 24)
Білок яйця	23,5 (n = 20)
Жовток яйця	11,8 (n = 10)
Борошно (пшеничне, житнє, ячмінне, гречане)	11,8 (n = 10)
Соя	5,5 (n = 4)
Горіхи (арахіс, мигдаль, лісний горіх)	11,0 (n = 8)
Овочі (картопля)	11,0 (n = 8)
М'ясо (курятина, яловичина, баранина)	11,0 (n = 8)
Морепродукти	7,1 (n = 6)
Грибки (<i>Cladosporium herbarum</i>)	2,4 (n = 2)
Кліщі домашнього пилу (<i>Dermatophagoides pteronissimus</i> , <i>Dermatophagoides farine</i>)	2,4 (n = 2)
Епідерміс тварин (кішки, собаки, коня)	8,2 (n = 78)
Пилкові алергени (амброзія, тимофіївка, береза, полин, вільха, ліщина)	11,8 (n = 10)

Сенситизація до харчових продуктів була визначена лише у 35,3 % дітей загальної вибірки (n = 30). Проте близько 1/3 дітей з підвищеними

значеннями рівнів специфічних IgE мали показники загального сироваткового IgE, що відповідають референтним значенням.

Як видно із таблиці 4.8, провідну роль у структурі сенситизації відігравали харчові алергени: коров'яче молоко та його компоненти (28,2 %), білок яйця (23,5 %) і жовток яйця (11,8 %), що підтверджується як вітчизняними, так і європейськими дослідниками. Рідше виявляли специфічні антитіла IgE до різних сортів борошна, горіхів, картоплі, м'яса. 77,3 % дітей мала полісенсібілізацію до харчових алергенів, серед них 5 дітей мали також підвищені рівні IgE до пилкових (11,0 %), побутових (2,4 %) та тваринних (8,2 %) алергенів. Цікавим є те, що лише у 4 дітей з 10, які мали підвищені рівні IgE до пилкових алергенів, зазначалося погіршення стану у період цвітіння. В інших дітей ми спостерігали доклінічну сенситизацію, яку враховували при складанні дієтичного раціону малюка.

Серед дітей із підвищеними рівнями специфічних антитіл IgE лише 22,7 % мали моносенситизацію до одного харчового алергену (молоко і його компоненти чи яйце). Інші діти мали полівалентну алергію. Всім дітям із підвищеними рівнями sIgE до харчових продуктів та наявністю зв'язку клінічних симптомів із вживанням цих продуктів призначалася дієта з виключенням причинно-значущого алергену.

Таким чином, встановлено, що діти саме з тяжким перебігом atopічного дерматиту мали знижений рівень компоненту комплементу C3. Дослідження європейських авторів вказують на те, що кератиноцити є потенційним джерелом C3, Кератиноцити можуть продукувати деякі білки комплементу, в тому числі і компоненти комплементу C3, C4. Синтез саме ці цих компонентів може регулюватися і маркерами запалення TNF- α , INF- γ та IL1- α . [103]. Таким чином, знижений рівень компоненту комплементу C3 у дітей із тяжким неконтрольованим перебігом atopічного дерматиту, ймовірно, асоційований з саме зі зниженою функціональною здатністю кератиноцитів та структурними змінами бар'єру шкіри.

Відомо, що система комплементу відіграє приймає участь у модулюванні запалення як локального, так і системного [104]. Великий спектр клітин може здійснювати синтез місцевого комплементу (макрофаги, дендритні клітини та неїмунні) [105]. Фрагменти C3a та C5a, які утворюються під час протеолітичного каскаду, активують імунні клітини, які в свою чергу можуть сприяти знищенню патогенів та в той же час спричинити пошкодження тканин [104]. Саме тому каскади імунологічних реакцій у дітей з atopічним дерматитом потребують більш детального вивчення для розуміння етапності виникнення симптомів та попередження розвитку ускладнених форм atopічного дерматиту. Системний огляд наукової бази підтверджує, що система комплементу є провідною у захисті від мікроорганізмів.

Таким чином, особливістю показників імунного статусу у дітей з тяжким перебігом АД є наявність низького рівня C3-комплемента, CD3+, CD56+ Т-лімфоцитів та зниженого рівня сумарних Ig (IgA, IgM, IgG). Ці зміни не є патогномонічними для АД, проте описуються іншими дослідниками і можуть свідчити про наявність порушення вроджених та адаптивних імунних реакцій [106].

4.2 Оцінка біологічних маркерів запалення у дітей з різною тяжкістю atopічного дерматиту

На третьому етапі роботи ми продовжили діагностичний пошук і визначили кількість прозапальних цитокінів у сироватці крові дітей раннього віку з АД.

Згідно з діагностичними кроками, усім дітям основної вибірки і групи контролю проводилося вимірювання вмісту маркерів запалення Th-2-порядку у сироватці крові, а саме IL-4 та IL-13, які, за літературним даними, є ключовими цитокінами алергічного запалення, що можуть регулювати продукцію IgE, сприяти інфільтрації шкіри чинниками, які підтримують

запалення, десквамацію, втрату трансепідермальної рідини, та посилювати свербіж на уражених ділянках.

Аналіз рівня цитокіну ІЛ-13 встановив, що у дітей із середньотяжким перебігом АД (група II) були достовірно вищі показники, ніж у дітей з легким перебігом (група I) ($p < 0,05$).

Концентрація ІЛ-13 у сироватці крові зростала залежно від вираженості проявів АД. Пацієнти з тяжким перебігом АД мали найвищі рівні ІЛ-13 у сироватці крові - 74,36 [29,84; 148,28] pg/mL. Проте частина пацієнтів з тяжкими проявами АД звертала на себе увагу, оскільки у періоді загострення мала рівень експресії ІЛ-13 - 1,24 [0,42; 20,02] pg/mL, нижчий ніж показники у групі контролю (4,77 [1,58; 15,87] pg/mL). Саме ці діти представляли групу IIIb з тяжким перебігом АД, які мали низькі рівні CD3+, CD56+ Т-лімфоцитів і знижений рівень сумарних Іg (ІgА, ІgМ, ІgG).

Отримані результати свідчили про достовірну різницю між показниками дітей I, II, IIIa груп та групою контролю (табл.4.9).

Таблиця 4.9 - Рівень цитокіну ІЛ-13 у досліджуваних групах, Ме (Q25; Q75)

Показник, одиниці	Групи пацієнтів	
	I, II, IIIa (n=70)	контроль (n=21)
ІЛ-13, pg/mL	19,95* (10,58; 35,64)	4,77 (1,58; 15,87)
Примітка.* - достовірність ($p < 0,001$) за критерієм Манна-Уїтні		

Показники рівня прозапального маркера Th-2-порядку ІЛ-4 представлені у табл. 4.10. Як і слід було очікувати, рівень ІЛ-4 у сироватці крові був значно вищим у дітей з АД (у групах I, II, IIIa) порівняно з контрольною групою (табл. 4.10).

Таблиця 4.10 - Рівні цитокінів ІЛ-4 в досліджуваних групах, Ме [Q25; Q75]

Показник, одиниці	Групи пацієнтів	
	I, II, IIIa (n=70)	Контроль (n=21)
ІЛ-4, pg/mL	0,3 (0,08; 0,5)*	0,1 (0,02; 0,38)
Примітка. * - достовірність (p < 0,05) за критерієм Манна-Уїтні		

Результати показали, що рівні ІЛ-4 суттєво відрізнялися у дітей із різним ступенем тяжкості atopічного дерматиту. Проте пацієнти з важкими формами АД мали рівень ІЛ-4, відповідний контрольній групі (табл. 4.11).

Таблиця 4.11 - Рівень цитокіну ІЛ-4 залежно від тяжкості atopічного дерматиту, Ме [Q25; Q75]

Показник, одиниці	Підгрупи дітей, хворих на АД (n=85)				р-значення за Н-критерієм Краскела-Уолліса
	I (n=23)	II (n=28)	IIIa (n=19)	IIIb (n=15)	
ІЛ-4, pg/mL, до лікування	0,26 [0,04; 0,42]	0,42 [0,12; 0,56]	0,14 [0,08; 0,49]	0,12 [0,04; 0,48]	p < 0,05

Також нами був досліджений можливий кореляційний зв'язок прозапальних цитокінів (ІЛ-4, ІЛ-13) Th-2 порядку з тяжкістю перебігу АД та наявністю ознак активації умовно-патогенної мікрофлори. Дані про взаємозв'язок наведені у табл. 4.12.

Таблиця 4.12 - Коефіцієнти кореляції тяжкості АД у групах I, II, III та маркерами запалення Th-2 порядку

Маркер	Тяжкість перебігу АД за шкалою SCORAD
ІЛ-4	+ 0,04
ІЛ-13	+ 0,73*
Примітка. * – статистично значущий кореляційний зв'язок ($p < 0,05$).	

Як видно з табл. 4.12, проведений аналіз кореляції виявив сильний позитивний зв'язок між тяжкістю АД за шкалою SCORAD у групах I, II, III з рівнями ІЛ-13 ($r = + 0,73$; $p < 0,05$). Проте не виявлено достовірного зв'язку з рівнем ІЛ-4 у цих групах.

Додатково було проаналізовано зв'язок рівнів цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-13 з ознаками активації УПФ на шкірі. Отож, діти з АД були поділені на 2 групи за наявністю клінічних ознак вторинного інфікування шкіри, проте проведена кореляція не виявила достовірного зв'язку ($p > 0,05$).

Таким чином, значуща роль маркерів Th-2-порядку у розвитку АД була доведена, проте, оскільки в основній групі були діти з тяжким перебігом АД, які мали ознаки активації бактеріальної та грибкової УПФ, транзиторну гіпогаммаглобулінемію, зниження рівнів С3-комplementу та низькі показники роботи клітинної ланки імунітету, CD3+, CD56+, ми продовжили дослідження, вивчаючи роль маркерів запалення Th-1-порядку, а саме ІЛ-1 β , ІЛ-12 та ФНП-а.

Порівняння показників рівнів ІЛ-1 β , ІЛ-12 і ФНП-а в основній і контрольній групах представлені на табл.4.13.

Була виявлена достовірна різниця рівнів ІЛ-1 β та ІЛ-12 у досліджуваних групах за критерієм Манна-Уїтні ($p < 0,05$), проте достовірної різниці показника ФНП-а не виявлено.

Таблиця 4.13 - Рівні цитокінів ІЛ-1 β , ІЛ-12 і ФНП- α а в досліджуваних групах, Ме [Q25; Q75]

Показник, одиниці	Групи пацієнтів	
	Основна група (n=85)	Контроль (n=30)
ІЛ-1 β , pg/mL	0,91 [0,71; 1,26]*	0,28 [0,21; 0,36]
ІЛ-12, pg/mL	2,13 [0,39; 9,39]#	0,28 [0,06; 2,1]
ФНП- α , pg/mL	0,78 [0,70; 0,93]	0,74 [0,70; 0,85]
Примітка.*, # - достовірна різниця у порівнянні з групою контролю (p <0,05) за критерієм Манна-Уїтні		

Наступним кроком було проведено порівняння досліджуваних маркерів у дітей за тяжкістю АД (табл.4.14).

Таблиця 4.14 - Вміст маркерів ІЛ-1 β , ІЛ-12 та ФНП- α залежно від тяжкості АД за шкалою SCORAD, Ме [Q25; Q75]

Показник, одиниці	Підгрупи дітей, хворих на АД (n=85)			р-значення за Н-критерієм Краскела-Уолліса
	I (n=23)	II (n=28)	III (n=34)	
ІЛ-1 β , pg/mL	0,68 [0,54 ; 1,12]	0,83 [0,69 ; 0,97]	1,26 [0,98 ; 1,41]	p<0,05
ІЛ-12, pg/mL	1,29 [0,08; 5,16]	1,96 [0,68; 8,52]	3,98 [0,7; 17,34]	p<0,05
ФНП- α , pg/mL	0,90 [0,80; 1,2]	0,77 [0,70; 0,88]	0,75 [0,67 ; 0,9]	p<0,05

Отримані дані показали, що концентрація ІЛ-1 β збільшувалася з тяжкістю АД. Так, діти з тяжким перебігом (група III) мали найвищі показники - 1,26 [0,98 ; 1,41] pg/mL. Порівняльний аналіз вмісту прозапального цитокіну ІЛ-1 β у групах IIIa та IIIb не виявив достовірної різниці. Отже, достовірне зростання сироваткового рівня ІЛ-1 β у пацієнтів

основної групи, ймовірно, свідчить про активність запалення і може вказувати на патогенетичне значення цього інтерлейкіну у прогресуванні та хронізації захворювання.

Варто звернути увагу на той факт, що рівень ФНП- α був достовірно нижчим у дітей із середньотяжким і тяжким перебігом АД ($p < 0,05$). Найвищі показники мали діти з легким перебігом - 0,90 [0,80; 0,12] pg/mL. На рис. 4.6. графічно представлена достовірна різниця показників ФНП- α групи I у порівнянні з групою контролю ($p < 0,05$) та групами II і III ($p < 0,05$). Достовірної різниці між показниками групи контролю, II та III не виявлено.

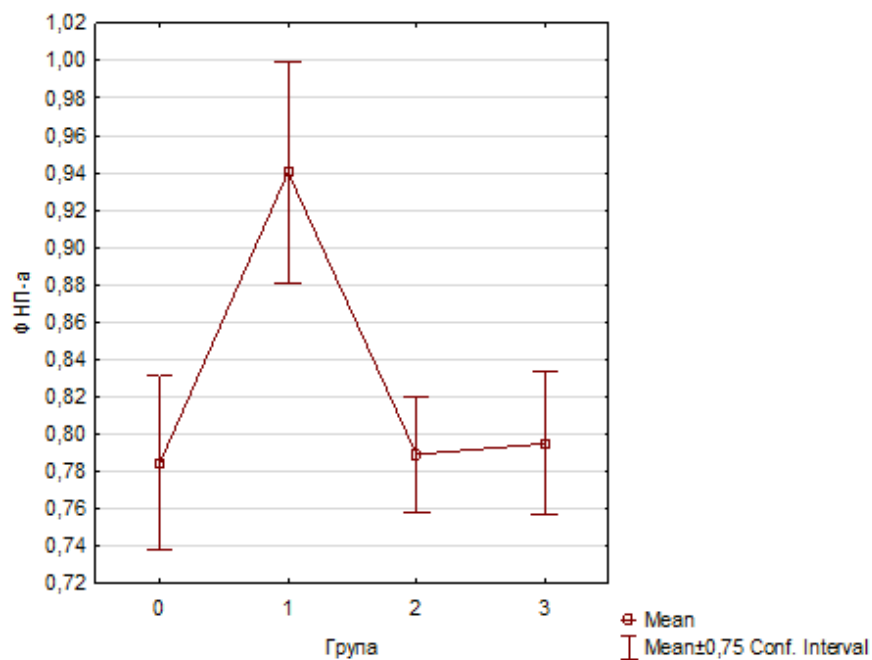


Рисунок 4.6 - Оцінка співвідношення рівня цитокіну ФНП- α у досліджуваних групах.

При вивченні рівня ІЛ-12 була виявлена достовірна різниця між показниками дітей, хворих на АД, та групою контролю. При більш детальному дослідженні ми вивчили зміни концентрації, вищі показники мали діти з тяжким перебігом АД - 3,98 [0,7; 17,34] pg/mL. Цікавим є той факт, що високі показники у групах IIIa та IIIb також достовірно відрізнялися ($p < 0,05$). Результати представлені на рисунку 4.7.

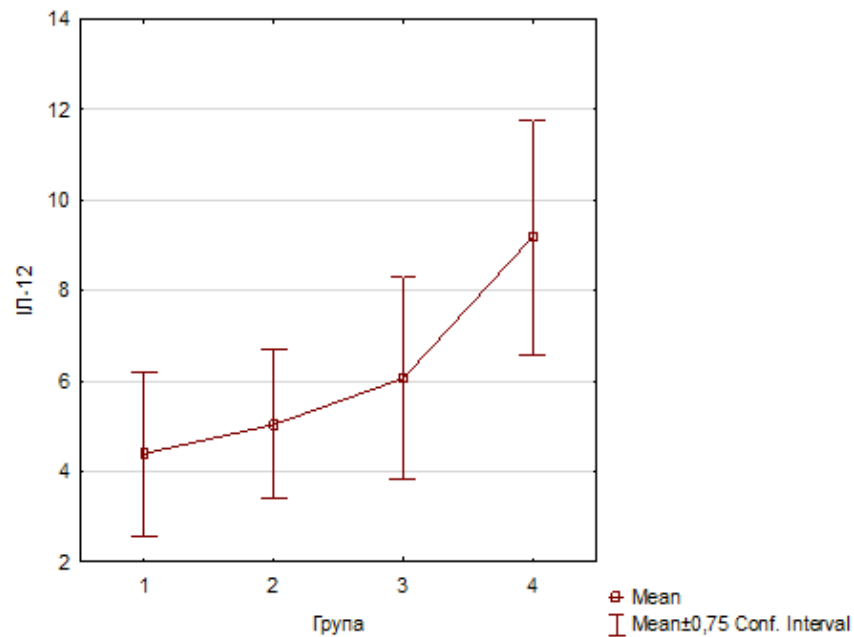


Рисунок 4.7 - Оцінка співвідношення рівня цитокіну ІЛ-12 у групах І, ІІ, ІІІ, ІІІв.

Кореляційний аналіз рівнів ІЛ-12 з показниками ТПР-4 у пацієнтів ІІІв групи виявив прямий кореляційний зв'язок слабкої сили ($r = +0,29$, $p < 0,05$).

Для виявлення наявних зв'язків рівнів прозапальних біомаркерів Th-1 порядку з тяжкістю АД та ознаками активації умовно-патогенних мікроорганізмів на шкірі був проведений кореляційний аналіз. Дані про взаємозв'язок представлені в табл. 4.15.

Таблиця 4.15 - Коефіцієнти кореляції тяжкості АД у групах І, ІІ, ІІІ з маркерами запалення Th-1 порядку, r

Параметр Маркер	Тяжкість перебігу АД за шкалою SCORAD	Наявність ознак вторинної активації УПФ
ІЛ-1 β	+ 0,67*	+0,28*
ІЛ-12	+ 0,88*	+0,45*
ФНП-а	-0,33*	+0,14
Примітка. * – статистично вірогідний кореляційний зв'язок ($p < 0,05$).		

При проведенні кореляційного аналізу тяжкості перебігу АД за шкалою SCORAD у дітей (групи I, II, IIIa та IIIb) раннього віку з маркерами запалення Th-1-порядку у сироватці крові виявлено достовірний прямий зв'язок середньої сили між рівнем ІЛ-1 β і тяжкістю АД ($r=+0,67$, $p<0,05$) та зворотній зв'язок середньої сили концентрації ФНП- α зі ступенем тяжкості АД ($r = -0,33$, $p<0,05$). Привертає до себе увагу виявлений прямий сильний зв'язок тяжкості АД з рівнями ІЛ-12 ($r = + 0,88$, $p<0,05$).

Реєструвався достовірний зв'язок рівнів ІЛ-1 β з наявністю ознак контамінації УПФ (прямий, слабкої сили, $r= +0,28$, $p<0,05$) та рівня ІЛ-12 з ознаками інфікування (прямий, середньої сили, $r=+0,45$, $p<0,05$). Достовірного зв'язку рівня ФНП- α з наявністю ознак активації УПФ не встановлено ($r = +0,14$, $p>0,05$).

Окрім того, нами був виявлений негативний зв'язок слабкої сили між рівнями ІЛ-1 β та ФНП- α у групах дітей з АД ($r = -0,28$; $p = 0,02$). Дані представлені на рис. 4.8.

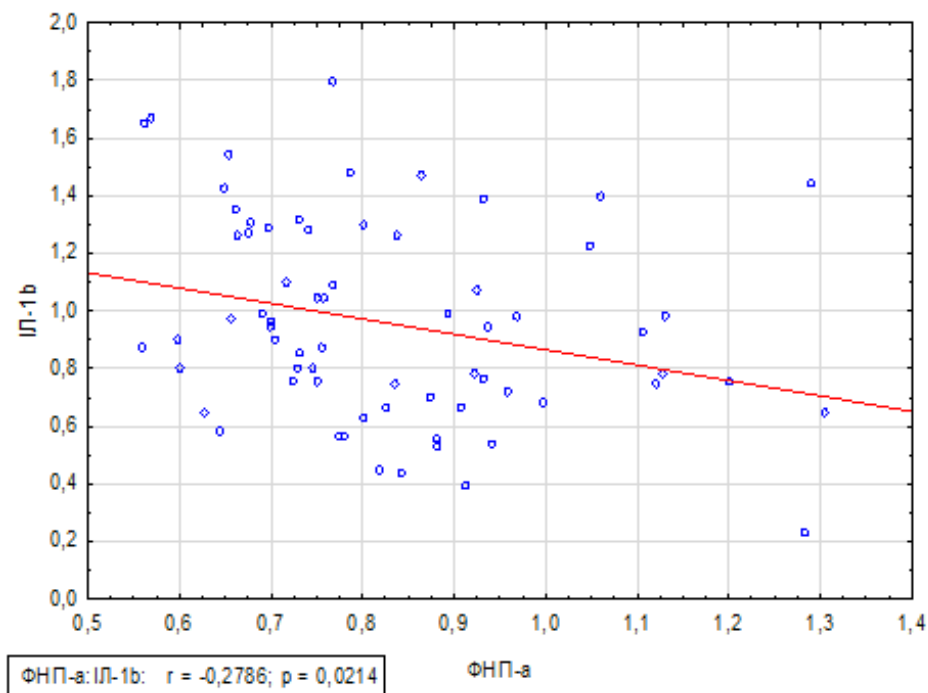


Рисунок 4.8 - Оцінка рівнів ФНП- α та ІЛ-1 β у дітей з atopічним дерматитом.

Подальший аналіз включав в себе вивчення кореляційних зв'язків між показниками SCORAD у групах дослідження дітей з АД з маркерами запалення. Результати наведені у табл. 4.16.

Таблиця 4.16 – Показники кореляційних зв'язків між маркерами запалення у хворих на atopічний дерматит залежно від показників SCORAD

Параметр Маркер	Легкий перебіг АД (SCORAD 0-20)	Середньотяжкий перебіг АД (SCORAD 20-40)	Тяжкий перебіг АД (SCORAD 40-103)
ІЛ-1 β	$r = + 0,26$	$r = + 0,68^*$	$r = + 0,55^*$
ІЛ-12	$r = - 0,08$	$r = - 0,02$	$r = - 0,09$
ФНП-а	$r = - 0,09$	$r = + 0,01$	$r = + 0,03$
Примітка. * – статистично значущий кореляційний зв'язок ($p < 0,05$).			

Було виявлено, що тяжкість перебігу АД за шкалою SCORAD у групі II (SCORAD 20-40) мала достовірний прямий зв'язок середньої сили з рівнем ІЛ-1 β ($r = +0,68$, $p < 0,05$), проте не корелювала з рівнями ІЛ-12 та ФНП-а.

Діти з тяжким перебігом АД також мали достовірний прямий зв'язок середньої сили з рівнем ІЛ-1 β ($r = +0,55$, $p < 0,05$), а кореляції з рівнями ІЛ-12 та ФНП-а не виявлено.

Група пацієнтів з легким перебігом АД не мала достовірної кореляції показників SCORAD з рівнями прозапальних цитокінів Th-1 порядку.

Підвищення показників ІЛ-1 β у дітей залежно від тяжкості АД може свідчити про важливість корекції стану шкірного бар'єру вже при першому епізоді захворювання, адже підтримання запалення у шкірі може призводити до системних змін та хронізації процесу, а постійна експозиція антигенів, в т.ч. алергенів, через уражену шкіру – ризик формування сенсibiliзації і прогресування захворювання.

Окрім того, нами був визначений зв'язок рівнів досліджуваних маркерів ураження шкіри з наявністю мутацій гену щільних міжклітинних контактів Claudin-1 (табл. 4.17).

Таблиця 4.17 – Дані аналізу зв'язку генотипу Claudin-1 та маркерів запалення шкіри

Генетичний фактор SNPs Claudin-1	ІЛ-1b	ІЛ-12	ФНП-а
rs17501010	+0,25	+ 0,18	+ 0,04
rs893051	+0,12	+0,09	- 0,21
rs9290927	+ 0,38*	+0,11	- 0,12
rs9290929	+0,14	+0,16	-0,06
Примітка. *– статистично вірогідний кореляційний зв'язок ($p < 0,05$).			

Як видно з таблиці 4.17, був виявлений слабкий зв'язок рівнів ІЛ-1b з наявністю мутацій SNPs rs9290927 гена Claudin-1 (+0,38, $\gamma < 0,05$), проте не виявлено зв'язок між вмістом ІЛ-1 β , ІЛ-12, ФНП- α та іншими SNPs гена Claudin -1, а саме rs17501010 ($r = +0,25$, $\gamma > 0,05$), rs893051 ($r = +0,12$, $\gamma > 0,05$) та rs9290929 ($r = +0,14$, $\gamma > 0,05$).

У ході дослідження достовірних зв'язків мутацій гена щільних міжклітинних контактів Claudin-1 з прозапальними цитокінами ІЛ-12 та ФНП- α не виявлено, що може бути пов'язано з хронізацією процесу, коли клінічні прояви обумовлені мінімальною активністю запалення.

Літературні джерела останніх років описують особливу роль кератиноцитів як ланки вродженого імунітету, що може потенціювати і підтримувати запалення у шкірі. Особливості виявлених нами змін, а саме поляризації набутого імунітету в бік Th-1-відповіді залежно від тяжкості АД у дітей, можна розглядати як формування фенотипу «неалергічного atopічного дерматиту», де ключова роль відводиться саме структурному порушенню та зниженню функції шкірного бар'єру.

Виявлений зв'язок рівня ІЛ-1 β та генотипу rs9290929 Claudin-1 підтверджує гіпотезу про особливості будови шкірного бар'єру при АД та схильність до ураження шкіри як первинної ланки у патогенезі розвитку захворювання. Отже, отримані дані вказують на важливість підтримання балансу шкірного бар'єру за показниками вологості, кислотності, мікробіологічного стану шкіри шляхом використання емолієнтів за потребою, відповідно до ступеня ураження шкіри та сухості, протимікробних засобів та місцевих кортикостероїдів згідно з віковим дозуванням.

Отже, діти з тяжким перебігом АД з ознаками активації шкірної інфекції, який важко піддається терапії, низькими рівнями сумарних сироваткових імуноглобулінів (IgA, IgM, IgG < 6,0), зниженою кількістю С3+ та CD56+ та зниженими показниками компонента комплементу С3, маркера ІЛ-4 адаптивної Th-2-іmunної відповіді мали найбільші рівні ІЛ-1 β . Виявлений зв'язок рівнів ІЛ-12 з наявністю клінічних ознак активації умовно-патогенної флори може вказувати на можливу поляризацію Th-1-іmunної відповіді. Ці зміни потребують більш детального вивчення, в подальшому - виділення гіпотези «неалергічного фенотипу» АД та продовження пошуку лікувальної тактики цих дітей.

Матеріали розділу представлені у наукових працях: [142, 149 - 151].

РОЗДІЛ 5

ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОВЕДЕНОЇ ТЕРАПІЇ АТОПІЧНОГО ДЕРМАТИТУ У ДІТЕЙ РАНЬОГО ВІКУ

5.1 Динаміка змін показників фізичного та хімічного бар'єру шкіри у дітей після проведеного лікування

На момент включення у дослідження 27 % дітей мали легкий перебіг АД, 33 % – середньотяжкий, 40 % – тяжкий перебіг АД. Всім дітям незалежно від тяжкості АД стартово призначалася зволожуюча терапія емолієнтами 6-8 разів на добу протягом 10-14 днів. Додатково дітям з тяжким перебігом призначалися топічні кортикостероїди курсом від 7 до 14 діб для зниження активності запалення, що відповідає міжнародним протоколам лікування АД. При наявності свербіжу використовувалися антигістамінні препарати (левоцетиризину або дезлоротадину), що показують високу ефективність при різних алергічних захворюваннях [107]. Динаміка тяжкості симптомів АД представлена на табл. 5.1.

Таблиця 5.1 - Динаміка тяжкості симптомів АД за шкалою SCORAD, Me (Q25; Q75)

Важкість перебігу	На момент звернення	4-5 доба від початку лікування	10-14 доба від початку лікування
I ступінь, сума балів	15,5 (11; 17,8)	7,1 (5; 10)*, #	5,2 (4,4; 6,2)
II ступінь, сума балів	34 (29; 37,9)	21,3 (18,9; 24)*, #	8,4 (5,8; 11,8)
III ступінь, сума балів	62,6 (52,5; 72,8)	40 (34,9; 49,8)*, #	22,4 (18,2; 31,3)
Примітка.* - статистично достовірна різниця у порівнянні з показниками на момент звернення ($p < 0,05$); # - статистично достовірна різниця у порівнянні з показниками на 10-14 добу лікування ($p < 0,05$)			

За результатами статистичного розрахунку за критерієм Вілкоксона було виявлено достовірне зниження суми балів за шкалою SCORAD вже на 5 добу лікування у пацієнтів всіх груп ($p < 0,05$). Через 10-14 діб 82,6 % дітей ($n=19$) з легким перебігом АД вже не мали клінічних симптомів, 64,3 % дітей ($n= 18$) із середньотяжким перебігом мали залишкові елементи висипу та легкий перебіг захворювання. У дітей з тяжким перебігом АД також знижувалася тяжкість симптомів за рахунок зменшення площі висипу та інтенсивності об'єктивних симптомів, однак зберігався помірний свербіж і порушення сну. Динаміка контролю фізичного стану шкіри фіксувалася на 4-5-ту та 10-14-ту добу лікування шляхом вимірювання вологості шкіри (таблиця 5.2).

Таблиця 5.2 - Порівняльна характеристика показників шкали SCORAD у дітей з тяжким перебігом АД, Me (Q25; Q75)

Показники шкали SCORAD	На момент звернення	4-5 доба від початку лікування	10-14 доба від початку лікування
Площа ураження шкіри, %	26,5 (17,5; 46)	20 (15,5; 42,5)*,#	15,5 (8,5; 27,5)
Суб'єктивні симптоми, сума балів	8 (5; 10)	4 (3; 7)*,#	2 (1; 4)
Свербіж, бали	5 (3; 8)	3 (2; 6)*,#	2 (0; 4)
Порушення сну, бали	1 (0; 5)	0 (0; 2)*,#	0 (0; 0)
Примітка. * - статистично достовірна різниця у порівнянні з показниками на момент звернення ($p < 0,05$), # - статистично достовірна різниця у порівнянні з показниками на 10-14 добу лікування ($p < 0,05$)			

На першому етапі ефективність стандартного лікування зволожуючими засобами в комбінації з топічними кортикостероїдами у дітей з тяжким перебігом, яке було призначено усім дітям з АД, оцінювали за динамікою клінічної симптоматики та відновлення шкірного бар'єру, а саме – вологості шкіри.

Було виявлено, що зниження вологості шкіри більш виражене у зимові місяці, що, на нашу думку, можна пов'язати зі змінами чинників оточуючого середовища. Так, знижена температура повітря на вулиці, вітер, збільшення кількості одягу та можливе підвищене потовиділення, сухість повітря у приміщенні, як наслідок увімкненого опалення, можуть впливати на погіршення стану шкірного бар'єру дитини.

Динамічні показники медіани та міжквартильного розмаху трансепідермальної втрати рідини у пацієнтів з різною тяжкістю АД представлені у табл. 5.3.

Таблиця 5.3 - Динаміка змін вологості шкіри (%), Me (Q25; Q75)

Важкість перебігу	На момент звернення	4-5 доба від початку лікування	10-14 доба від початку лікування
Легкий перебіг n= 26	19,3 (14,3; 25,1)	33,4 (27,3; 36,9) *,#	39,4 (29,8; 46,5)
Середньотяжкий перебіг n= 30	20,6 (16,1; 23,2)	26,9 (23,8; 30,4) *,#	33,3 (28,6; 40,9)
Тяжкий перебіг n= 42	14,8 (13,6; 19,9)	19,3 (18,3; 24,9) *,#	28,9 (24,8;31,9)
Примітка.* - статистично достовірна різниця у порівнянні з показниками на момент звернення (p<0,05), # - статистично достовірна різниця у порівнянні з показниками на 10-14 добу лікування (p<0,05)			

Як видно, вологість шкіри збільшувалася вже на 5 день терапії та повністю відновлювалася до 10-14 доби лікування у дітей з легким перебігом

АД. У дітей із середньотяжким та тяжким перебігом відмічалась достовірна помірно-позитивна динаміка, однак повноцінне відновлення вологості шкіри мали не всі діти. Пацієнти цих груп потребували тривалішого використання зволожуючих засобів.

Отже, тривалість лікування зволожуючими засобами залежить від важкості клінічних проявів та від ступеня трансепідермальної втрати рідини. Вікном можливостей є використання зволожуючих засобів при перших проявах АД, що ефективно впливає на тривалість та тяжкість запалення. Одже, в якості профілактичних мір розвитку та підтримання активності запалення при atopічному дерматиті, навіть за наявності незначної сухості шкіри та підвищення рівнів трансепідермальної втрати рідини, доцільно розпочинати часте використання протягом дня зволожуючих засобів, а саме емолієнтів.

Призначення додаткової протигрибкової та/або антибактеріальної терапії *ex juvantibus* у дітей з ознаками активації умовно-патогенної мікрофлори показало позитивний результат цієї терапії, який підтверджувався клінічними змінами і нормалізацією показників рН шкіри. Динаміка змін показників кислотності шкіри протягом періоду лікування представлена на рис. 5.1 та у табл.5.4.

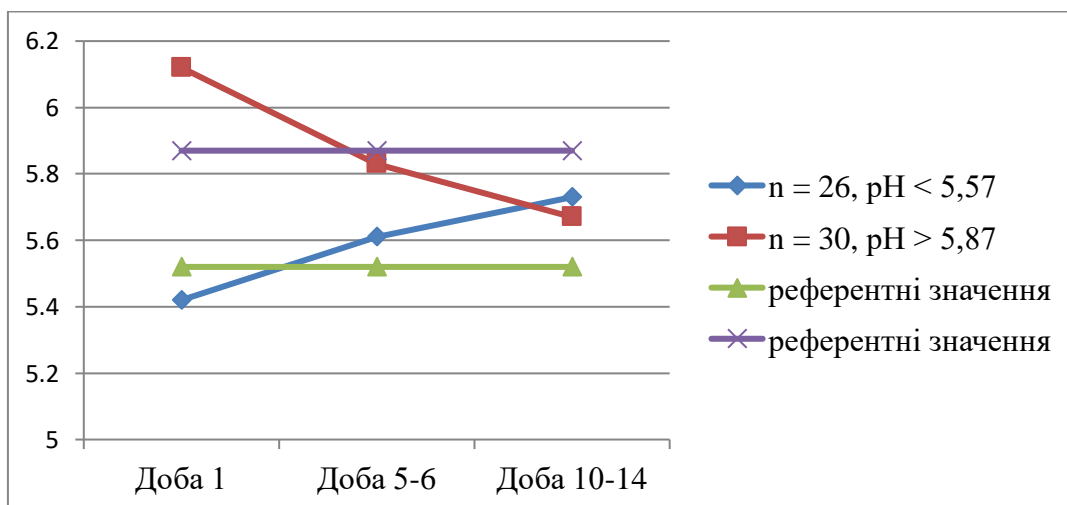


Рисунок 5.1 - Динаміка змін рН шкіри у дітей з АД в залежності від періоду лікування.

Кислотність шкіри статистично достовірно змінювалася вже на 4-5-у добу лікування порівняно з результатами оцінки на момент включення у дослідження, та у 100 % дітей досягала референтних значень тільки на 10-14 добу лікування у порівнянні з вихідним періодом ($p < 0,001$ за критерієм Вілкоксона).

Таблиця 5.4 - Динаміка змін рН шкіри , Me (Q25; Q75)

рН	1 доба	5-6 доба	10-14 доба
< 5,57	5,42	5,61	5,73
n= 26	(5,23; 5,48)	(5,48; 5,63) *,#	(5,60; 5,78)
> 5,87	6,12	5,83	5,67
n= 30	(5,87; 6,24)	(5,67; 5,91) *,#	(5, 58; 5,64)
Примітка. * - статистично достовірна різниця у порівнянні з показниками на момент звернення ($p < 0,05$), # - статистично достовірна різниця у порівнянні з показниками на 10-14 добу лікування ($p < 0,05$)			

Отримані дані свідчили про високу ефективність застосованого лікування *ex juvantibus* топічними протигрибковими та/або антибактеріальними засобами у дітей з ознаками активації умовно-патогенної флори.

5.2 Динаміка змін імунологічних показників у дітей з атопічним дерматитом після проведеного лікування

Динаміка змін показників прозапального цитокіну ІЛ-13 після лікування представлена на табл. 5.5. Як видно, лікування АД приводило до значного зниження рівня ІЛ-13 у сироватці крові у всіх групах пацієнтів, окрім групи Шб.

Таблиця 5.5 - Рівні цитокінів ІЛ-13 залежно від тяжкості АД, Ме [Q25; Q75]

Показник, одиниці	Підгрупи дітей, хворих на АД (n=85)			
	I (n=23)	II (n=28)	IIIa (n=19)	IIIb (n=15)
ІЛ-13, pg/mL, до лікування	8,58 [5,29; 12,66]*	20,60 [13,88; 26,56]#	74,36 [29,84; 148,28]\$	1,1 [0,42; 1,96]&
ІЛ-13, pg/mL, після лікування	5,74 [3,42; 10,52]	13,76 [8,58; 18,88]	23,75 [14,08; 35,34]	4,62 [2,20; 6,50]
Примітка. *,#,\$,& - достовірно статистична різниця у порівнянні з показниками після лікування (p <0,001)				

Було виявлено достовірне зниження показників ІЛ-13 в динаміці у групах I, II, IIIa за критерієм Вілкоксона (p<0,001). Дані представлені графічно на рис.5.2.

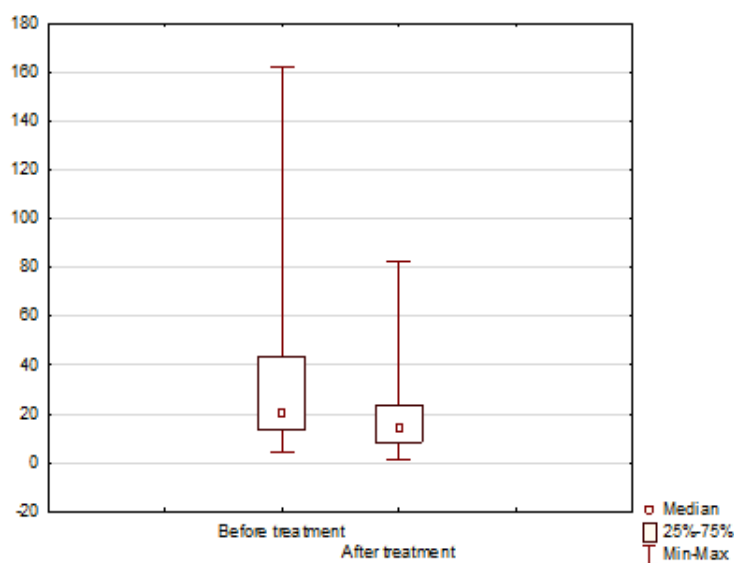


Рисунок 5.2 - Оцінка співвідношення рівнів цитокіну ІЛ-13 до та після лікування в групах I, II, IIIa.

Як показали результати, у дітей групи IIIb спостерігалось значне підвищення рівня ІЛ-13 після лікування. Варто зазначити, що показники залишалися все ще нижчі за рівні ІЛ-13 в інших групах пацієнтів з АД і

майже відповідали тим, що мали діти у групі контролю ($p < 0,05$ за критерієм Вілкоксона) (рис. 5.3).

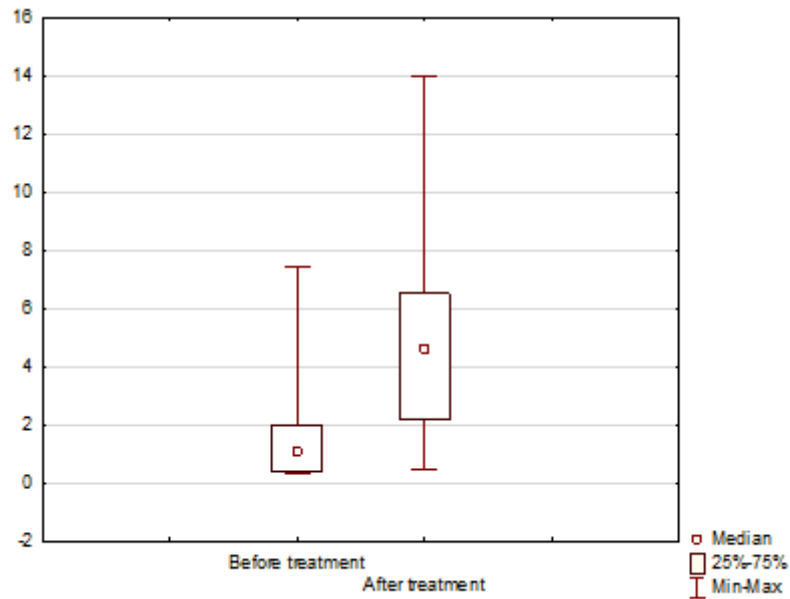


Рисунок 5.3 - Оцінка співвідношення рівнів цитокінів ІЛ-13 до та після лікування у групі ІІб.

На рис. 5.4 представлені динамічні зміни рівня ІЛ-4 після лікування. Рівні ІЛ-4 значно знизилися у групах І, ІІ, ІІа ($p < 0,001$ за критерієм Вілкоксона).

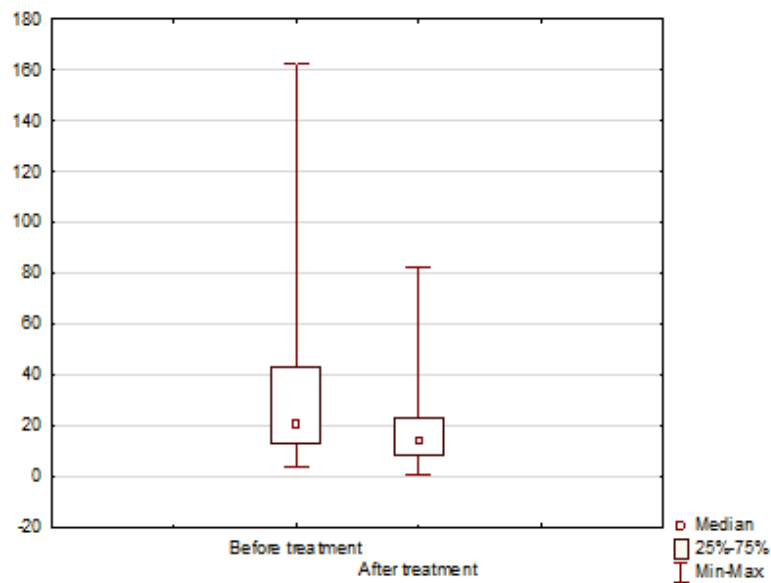


Рисунок 5.4 - Оцінка співвідношення рівнів цитокінів ІЛ-4 до та після лікування в групах І, ІІ, ІІа.

Цікаво, що групі Шб був властивий ріст показників ІЛ-4 після отриманого курсу лікування ($p < 0,05$) (табл. 5.6).

Таблиця 5.6 - Рівні цитокінів ІЛ-4 залежно від тяжкості atopічного дерматиту, Me [Q25; Q75]

Показник, одиниці	Підгрупи дітей, хворих на АД (n=85)			
	I (n=23)	II (n=28)	IIIa (n=19)	IIIb (n=15)
ІЛ-4, pg/mL, до лікування	0,26 [0,04; 0,42]*	0,42 [0,12; 0,56]#	0,14 [0,08;0,49]\$	0,12 [0,04;0,048]&
ІЛ-4, pg/mL, після лікування	0,08 [0,02;0,34]	0,12 [0,02;0,32]	0,08 [0,04;0,1]	0,42 [0,1;0,46]
Примітка. *,#,\$,& - достовірно статистична різниця у порівнянні з показниками після лікування ($p < 0,001$)				

5.3 Алгоритм ведення пацієнтів з різною тяжкістю АД та ускладненим перебігом

При поєднанні клінічних симптомів зі значеннями рН шкіри та результатами посівів вдається досягти найоптимальнішої комбінації прогностичних цінностей ускладнення АД умовно-патогенною бактеріальною та/або грибовою флорою.

Нами був розрахований відносний ризик наявності активації умовно-патогенної мікрофлори у дітей з АД.

Відносний ризик наявності УПФ в залежності від типу висипу 4,23ДІ [2,17; 8,25] $p < 0,05$, що означає, що у дітей з морфологічно зміненим висипом наявність УПФ зустрічається у 4,23 рази частіше, ніж у дітей з типовим висипом. Крім цього, між морфологічними змінами та наявністю активації УПФ існує статистично значущий зв'язок ($\phi = 0,52$).

Таблиця 5.7 - Відносний ризик наявності активації умовно-патогенної мікрофлори у дітей з АД за наявністю нетипових морфологічних змін

Група	Діти з активацією грибкової УПФ, n	Діти без активації грибкової УПФ, n
Нетиповий за морфологією висип	49	4
Типовий за морфологією висип	7	25

Між змінами рН та наявністю активації УПФ був виявлений статистично значущий зв'язок ($\phi = 0,48$). Відносний ризик наявності УПФ в залежності від рівнів рН шкіри - 4,02 ДІ [2,06; 7,83] $p < 0,05$, це означає, що у дітей із рН $< 5,52$ та $> 5,87$ наявність УПФ зустрічається у 4,02 раза частіше, ніж у дітей з типовим висипом.

Таблиця 5.8 - Відносний ризик наявності активації умовно-патогенної мікрофлори у дітей з АД за змінами рН шкіри

Група	Діти з активацією грибкової УПФ, n	Діти без активації грибкової УПФ, n
рН шкіри $< 5,52$ та $> 5,87$	49	5
рН шкіри $5,52 - 5,87$	7	24

Отже, для підвищення точності діагностики пропонується використовувати два критерії (наявність нетипового морфологічного висипу у дітей та зміни рН шкіри) у комбінації, що дає змогу при наявності і першого, і другого діагностичного критерію з чутливістю 95 % стверджувати про наявність активації УПФ, а за відсутності обох критеріїв з імовірністю 95 % стверджувати, що активації УПФ немає.

Враховуючи отримані результати, ми запропонували алгоритм ведення пацієнтів з різною тяжкістю atopічного дерматиту та можливими вторинними бактеріальними та/або грибковими ускладненнями. Схематичне зображення алгоритму представлено на рис. 5.5.

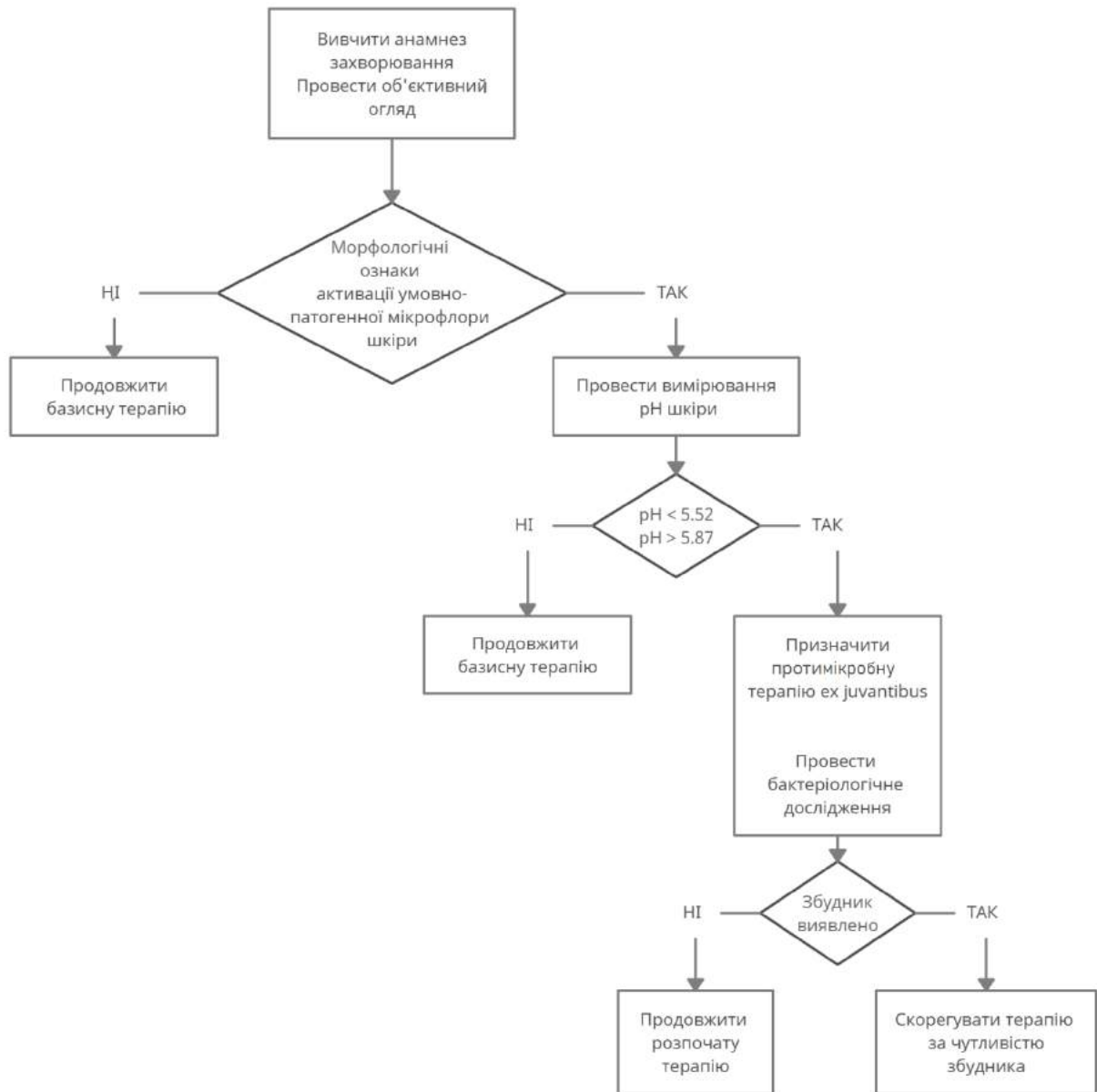


Рисунок 5.5 - Алгоритм ведення пацієнтів з різною тяжкістю АД.

При первинному огляді дитини з вірогідним діагнозом АД важливо зібрати анамнез та виявити можливу причину гострого стану (алерген, використання синтетичного одягу, миючі засоби для шкіри та частота їх

застосування тощо). Наступний етап - об'єктивний огляд стану шкірних покривів і встановлення ступеня тяжкості АД за шкалою SCORAD. Для оцінки порушення фізичного бар'єру шкіри варто використовувати вимірювання рівнів трансепідермальної втрати рідини.

За наявності ознак морфологічно зміненого висипу у дітей із середньо-тяжким або тяжким перебігом АД, що може вказувати на активацію УПФ шкіри, рекомендовано вимірювання рН уражених та неуражених ділянок шкіри і проведення бактеріологічного дослідження (посів на середовище Сабуро та Сабуро з левоміцетином). При відсутності змін рН шкіри рекомендовано призначати базову терапію зволожуючими і протизапальними засобами (топічними кортикостероїдами). При рівні кислотності шкіри $<5,52$ та $>5,87$ рекомендується додати у лікування топічні протигрибкові та/або антибактеріальні засоби чи комбіновані засоби, до складу яких входять топічний кортикостероїд, антибіотик та протигрибковий засіб. При отриманні позитивних результатів посівів терапія може бути скорегована залежно від чутливості збудника до антибіотиків та протигрибкових препаратів.

5.4 Клінічний випадок пацієнта нашого дослідження з АД

До клініки звернулася мати хлопчика 2 років зі скаргами на висип у дитини, що персистує протягом 7 місяців без періодів ремісії. Об'єктивно: шкіра тіла суха, на розгинальних поверхнях кистей та гомілковостопневих суглобів, під колінами - елементи гіперемії з превалюванням сухості, екскориацій, висип має чіткий контур, лущення та підритий край. Свербіж помірно виражений. Дитина консультувалася у в алерголога та дерматолога, проводилися посіви зішкрібів зі шкіри на мікрофлору; результат негативний. Дитина отримувала терапію за рекомендаціями, що включали в себе гіпоалергенну дієту, емолієнти 2 рази на день та періодично місцеві гормональні мазі. Позитивного стійкого ефекту від лікування не було. Нами був встановлений попередній діагноз: «Атопічний дерматит, малюкова

сквамо-еритематозна форма, тяжкий перебіг, гострий період. Вторинна дерматофітія, стафілодермія?». У стаціонарі повторно були проведені посіви шкіри та вимірювання кислотності шкіри. На пошкоджених ділянках шкіри рН була 6,09 - 6,21. Результати посівів отримані через 5 діб, результат негативний, інкубація посівів на середовище Сабуро з левоміцетином були залишені до 30 діб, результат через 30 діб негативний. Підвищений рівень рН свідчив про порушення ліпідного шару, ризик наявності активації умовно-патогенних мікроорганізмів. Дане обстеження дозволило скорегувати тактику лікування, призначивши емолієнти 6-8 разів на добу і включивши у терапію місцеві комбіновані засоби, та отримати позитивний результат від лікування через 14 діб.

Приклад демонструє, що оцінка рівнів рН поряд з наявними клінічними варіантами інфікування дозволяє вчасно діагностувати ускладнений умовно-патогенною флорою перебіг АД, призначити ефективну терапію *ex juvantibus*. Метод рН-метрії шкіри може використовуватися при оцінці клінічного перебігу захворювання, тривалості загострення АД та у розробці тактики лікування.

Таким чином, формування стійкості до впливу специфічних антигенів за рахунок відновлення епідермального бар'єру можливе шляхом використання емолієнтів і топічних кортикостероїдів у лікуванні. Використання специфічної терапії приводить до нормалізації рН і мікробіоти, за рахунок чого зменшується ступінь запалення, пришвидшується одужання та знижується ризик хронізації захворювання.

Матеріали розділу представлені у наукових працях: [143, 147].

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Існує чимало суперечливих даних серед світових досліджень щодо патогенетичних аспектів розвитку АД у дітей раннього віку. Частота зустрічальності тяжких форм atopічного дерматиту, затяжного перебігу з ускладненим вторинним інфікуванням, що важко піддається терапії, спонукали нас до поглибленого дослідження тематики. Нами була поставлена мета оптимізувати шляхи діагностики, лікування та профілактики розвитку ускладнених форм АД у дітей раннього віку за рахунок вивчення поширеності АД у популяції дітей, патогенетичних ланок розвитку atopічного дерматиту, ролі шкірного бар'єру та бактеріальних і грибкових антигенів шкіри, Толл-подібних рецепторів, Th-1, Th-2, Th-17 маркерів запалення.

На першому етапі роботи був проведений аналіз літературних даних та обрана група досліджуваних дітей. Було обстежено 128 дітей віком від 3 міс. до 3 років (середній вік - 1,1 року) зі скаргами на наявність висипу, які проживали у Запоріжжі та Запорізькій області. У 85 дітей був верифікований діагноз АД (за критеріями Hanifin & Rajka). Контрольну групу склали 30 дітей, репрезентативні за віком (середній вік 1,3 року).

Критерії включення до основної групи: письмова інформована згода батьків пацієнта на участь у дослідженні; вік 3 міс. – 3 роки; типові прояви з інтенсивною сверблячкою шкіри, ксерозом, достатній рівень комплаєнсу, відсутність супутньої хронічної патології та психіатричних захворювань.

Всім пацієнтам дослідження проводилося інтерв'ю-анкетування для вивчення поширеності та факторів ризику розвитку АД. Враховувалися дані історії життя та розвитку дитини, генетична схильність, вплив чинників зовнішнього середовища (район міста, тип житлового приміщення, вік і стан будівлі, частота прибирання, стан мікроклімату, наявність вогкості, грибка, килимів, рослин, хатніх тварин, тарганів) в різні періоди життя. Також були включені питання щодо особливостей харчування на момент проведення

дослідження. Вивчалися і перинатальні фактори ризику виникнення АД [12]: ускладнений перебіг вагітності і пологів, недоношеність, характер харчування матері під час вагітності [31], раннє припинення годування грудним молоком (до 4 місяців життя) [33], гігієнічний стан вдома [37], наявність рослин та домашніх тварин; використання ненатуральних матеріалів, мила, синтетичних миючих засобів [67]; куріння поряд з малюком [85].

За результатами аналізу даних анкетування було відзначено: лише 22,1 % зверталися до лікаря при появі перших шкірних проявів харчової алергії. У 47 дітей (55,3 %) з АД проти 4 (13,3 %) дітей групи контролю відзначається обтяжений сімейний анамнез з боку батьків та найближчих родичів (у 2-х поколіннях), які мали ту або іншу форму atopії, що слугує підтвердженням високої ролі спадковості у розвитку atopічних захворювань.

У 32 дітей (49 %) з АД було розпочато раннє штучне вигодовування, до 4 місяців життя, і лише половина (48,2 %) продовжили отримувати грудне молоко на відміну від групи контролю, де 63,3 % дітей отримували грудне молоко на першому році життя. Літературні джерела вказують на те, що виключно грудне вигодовування протягом 6 місяців знижує ризик розвитку atopічних захворювань, в тому числі atopічного дерматиту у ранньому віці. [118]. Половина батьків дітей з АД змогли вказати причину появи висипу на тілі. Найчастішою причиною були харчові продукти (яйця, молоко, м'ясо птиці, риба, цитрусові, банани). Ці дані відображають середні показники поширеності харчової алергії у дитячій популяції [119]. Близько чверті батьків дітей з АД відзначали наявність не тільки шкірних, а і гастроінтестинальних симптомів після прийому причинних продуктів: висип навколо губ, сверблячка губ, підборіддя, диспепсичні прояви (нудота, блювання, діарея з кров'янистим відділенням). Батьки 10 % дітей групи контролю зазначали одноразову появу висипу навколо губ, чіткого зв'язку з прийомом їжі не було.

Було виявлено, що матері дітей з АД лише у 34,1 % випадків під час вагітності дотримувалися раціонального харчування (переважання домашніх сільськогосподарських продуктів – м'ясо, молоко, овочі, фрукти, домашня випічка), що є в 1,5 раза нижче, ніж у групі контролю. Цей факт підтвердив вплив характеру харчування вагітної на ризик розвитку у дитини в подальшому алергічних реакцій. Літературні джерела підтверджують факт зниження ризиків розвитку atopії при раціональному харчуванні матері під час вагітності [120]. Близько $\frac{3}{4}$ дітей з atopічним дерматитом приймали від народження до трьохмісячного віку пребіотики та пробіотики, що відповідало частоті їх застосування у групі контролю.

Суттєвої статистичної різниці у прийомі вітаміну Д між групами не було ($p > 0,05$). Проте при об'єктивному огляді 23 дитини основної групи з atopічним дерматитом мали ознаки дефіциту вітаміну Д (сплющена потилиця, ділянка облісіння на потилиці, краніотабес, порушення сну, підвищена пітливість та збудженість). Літературні дані останніх років підтверджують протективну роль вітаміну Д в розвитку atopічних захворювань. Так, Chalmers J. D. із колегами у своєму дослідженні виявили прямий кореляційний зв'язок між хронічним перебігом atopічного дерматиту та зниженим рівнем 25-гідроксівітаміну Д3 в сироватці крові.

Більш тяжкий перебіг АД мали діти, робота матерів яких була пов'язана з професійними шкідливостями. Курці серед членів сім'ї були у кожній другій сім'ї як в основній групі, так і в групі контролю. У дітей з АД було вивчено дані про побутові умови проживання: 36,5 % вказали на присутність вогкості у будинку (близько $\frac{1}{4}$ дітей мала підвищені рівні IgE до побутових грибків) і 14,1 % вказували на наявність тарганів у оселі. Несприятливі житлові умови реєструвалися достовірно частіше ($p < 0,05$) у дітей із висипом (40 %) у порівнянні з групою здорових дітей (20 %) та переважали у дітей із середньотяжким і тяжким перебігом АД. Це може вказувати на зв'язок алергенів мікроклімату, санітарно-гігієнічних заходів та підтримання запалення шкіри, що знаходить підтвердження у роботах інших

дослідників [108]. Так, дослідженням Mahboobeh Mahdavinia та колег було підтверджено, що склад домашнього пилу є фактором ризику розвитку atopічної хвороби та фактором, що підтримує активність запалення у шкірі [121].

Серед дітей основної групи на момент звернення лише 9,4 % (n=8) були вакциновані за календарем щеплення, 21,2 % (n=18) - за індивідуальним графіком. 2/3 дітей основної групи (n=59) мали медичний відвід від щеплення від педіатра та/або алерголога і не були вакциновані у зв'язку з шкірними проявами atopії.

Розуміння того, що АД є хронічним запальним захворюванням шкіри, спонукало нас більш детально дослідити механізми вродженої та адаптивної ланки імунітету. Фізичний бар'єр шкіри є першою ланкою адаптивної імунної відповіді. У відповідь на ураження шкіри або вторгнення мікроорганізмів кератиноцити реагують шляхом експресії ТІПР і вироблення прозапальних цитокінів та антимікробних пептидів [122].

Тож наступним етапом роботи було вивчення стану шкірного бар'єру у дітей з АД та клінічних варіантів його перебігу.

Для оцінки тяжкості АД використовувалася шкала SCORAD. На момент включення у дослідження 27 % дітей (n = 23) мали легкий перебіг АД, 33 % (n= 28) – середньотяжкий, 40 % (n=34) – тяжкий перебіг АД. Діти були розділені на 3 групи відповідно до тяжкості симптомів (I, II, III).

Вимірювання трансепідермальної втрати рідини показало, що на момент звернення всі діти з АД мали знижені рівні вологості. Рівні вологості шкіри були досторівно нижчі у дітей III групи у порівнянні з показниками у групах I, II (p<0,05). Контрольна група мала середній показник Me (41,3[32,6; 51,4]) вологості шкіри, достовірно вищий від основної групи (p<0,05).

При об'єктивному дослідженні відмічалися особливості клінічного перебігу АД. Поряд з висипом з класичною морфологією і локалізацією частина дітей (n=56) мали некласичний висип та слабку динаміку змін від

лікування (за рекомендаціями ICON). Нами були систематизовані їх основні клінічні варіанти:

- 1) плями, що лущаться, з піднятим або фестончатим краєм, подвійним контуром, чіткої форми, відмежовані;
- 2) зливний сквамо-еритематозний висип з крупно-пластинчастими лусочками на тлі гіперемії, з вираженою сухістю, гіперлінеарністю і тріщинами у місцях фізіологічних згинів;
- 3) бляшковий псориазоподібний висип, часто на волосистій частині голови та/або дисемійовано по тілу;
- 4) ділянки вираженої індурації місця висипки округлої форми, діаметром від 1 до 5 см, у поєднанні з везикулами, мокнуттям, мацерацією і вираженою гіперемією;
- 5) розповсюджена форма з різнотиповими елементами висипу.

Виділені «некласичні» висипання були розцінені як прояви АД, ускладнені активацією УП мікрофлорою. Тож, наступним кроком було проведення мікробіологічного дослідження зішкрібів з уражених ділянок шкіри дітей з нетиповим висипом на середовище Сабуро, Сабуро з левоміцетином та специфічне середовище для виявлення грибів Chromagar *Malassezia*.

Були отримані очікувані результати: лише у 12 дітей з 56-ти була мікробіологічно підтверджена контамінація різними грибами: *Candida albicans* (n = 6), *Candida nonalbicans* (n = 3), *Normodendrum compactum* (n = 2), *Aspergillus nidulans* (n=1). Чутливість мікробіологічного методу виявлення мікотичної контамінації склала 21,4 %.

Проведення посівів на специфічне середовище для виявлення грибів роду *Malassezia* не дало позитивних результатів, що суперечить даним європейських дослідників, які довели важливу роль грибів роду *Malassezia* у розвитку вторинного інфікування і вторинної сенсibiliзації при АД у когорті підлітків та дорослих. Отримані нами результати можуть бути пов'язані з тим, що росту ліпофільних дріжджів роду *Malassezia* сприяє «доброзичливе

середовище», а саме – збільшення вмісту сальних ліпідів. Більшість дослідників вказують на переважання даної мікрофлори у дітей пубертатного періоду та у дітей раннього віку з проявами себорейного дерматиту [109].

Отримані дані бактеріальної контамінації шкіри підтверджували дані інших науковців: *Staphylococcus aureus* реєструвався на ураженій шкірі дітей із середньотяжким та тяжким перебігом АД - 10 дітей мали його помірний або масивний ріст, 7 дітей - помірний або масивний ріст *Streptococcus haemolyticus*, 2 дитини – помірний ріст *Chryseobacterium species* та 2 дитини – масивний ріст *Enterococcus faecalis*. Слід зазначити, що 5 дітей мали комбіновано суперінфекцію шкіри. Xin Tian та співавтори у своєму дослідженні описують роль золотистого стафілокока в аномальній активації вроджених та адаптивних імунних реакціях в кератиноцитах, що призводить до формування порочного кола між інфекцією та активністю шкірного запалення [123]. Ці дані підкреслюють роль мікробного складу шкіри у патогенезі АД та свідчать про необхідність вчасного лікування суперінфекції шкіри.

Маючи клінічні дані «нетипового» висипу у дітей, слабку динаміку при лікуванні atopічного дерматиту за світовими рекомендаціями та гіпотезу про грибкове ураження шкіри, ми продовжили діагностичний пошук чутливих методів діагностик, оскільки літературні дані вказували на низьку чутливість мікробіологічного методу [124], що і було підтверджено нашим дослідженням.

Згідно з даними європейських дослідників, вимірювання рН шкіри може бути більш чутливим методом у діагностиці грибкового та/або бактеріального інфікування шкіри, оскільки зміна рН може як створювати комфортні умови для активації УПФ, так і бути наслідком уже активної інфекції шкіри [125]. Наприклад, дослідження, проведене за участю 1601 немовляти виявило, що шкіра, уражена грибками, особливо в пелюшковій зоні, має більш високе значення рН (5,9), ніж шкіра без ознак пошкодження (рН 5,5). При цьому підвищений рН може збільшити активність

протеолітичних ферментів, які здатні погіршити позаклітинний матрикс шкіри і спричиняти запалення епідермісу [126]. Інші дослідники вказують надлишковий ріст грибкової мікрофлори при підвищеній кислотності шкіри, тобто рН близько 5,0 та нижче [127]. В той же час в літературних джерелах описується зміна кислотності шкіри в сторону лужної, яка сприяє розмноженню бактеріальної мікрофлори [128].

Тож ми провели вимірювання рН шкіри (EZODO 6011A, Тайвань) дітям з АД з типовим, нетиповим висипом та групі контролю на різних ділянках тіла. Середній показник Me (Q25; Q75) кислотності шкіри дітей без шкірного синдрому склав 5,65 (5,58; 5,72), що відповідав референтним значенням рН шкіри. Показники дітей, які позитивно реагували на базисну терапію емолієнтами та топічними кортикостероїдами, достовірно не відрізнялися від показників групи контролю ($p > 0,05$).

Серед дітей з неklasичним характером висипу у 89 % дітей ($n=50$) реєструвалися зміни ($pH < 5,5$ або $pH > 5,8$), які достовірно відрізнялися від середніх значень показників рН здорової шкіри ($p < 0,05$).

За результатами вимірювання кислотності шкіри діти були розділені на 2 підгрупи за рівнем рН (за середнім показником нормальної кислотності шкіри - менше або більше 6,65). Для кожної підгрупи була побудована модель логістичної регресії, на основі якої встановлено cut of point. Для дітей із рівнем рН $< 5,65$ такою cut of point виведено значення 5,52. Для дітей другої підгрупи встановлений показник cut of point $pH > 5,87$. Таким чином, рівні рН $< 5,52$ та $> 5,87$ були виділені як ті, що вказують на наявність високого ризику активації грибкової та/або бактеріальної інфекції на уражених ділянках шкіри. Чутливість цього прогностичного методу склала 81,3 % і специфічність 85,7 % для рівня рН $< 5,52$ та 91,3 % і 86,4 % - для рН $> 5,87$.

Далі методом бінарної логістичної регресії була створена математична модель для прогнозування наявності активованої УП грибкової та/або бактеріальної флори у дітей раннього віку з АД. Модель ймовірності представлена у формулах 3.1, 3.2.

Для інтерпретації фінальних значень ймовірності виникнення мікробної контамінації, згідно розрахунку остаточного значення функції (у) запропонованих прогностичних моделей логістичної регресії на підставі ключового критерію - рівня рН шкіри, запропонована наступна система оцінки отриманого прогнозу:

- ✓ ймовірність менше 30 % вказує на невеликий ризик формування обсіменіння мікробною флорою і може не вимагати стартово певних лікувально-профілактичних заходів;
- ✓ ймовірність у діапазоні 30-60 % свідчить про підвищений ризик розвитку ознак активації УП флори шкірних покривів і регрес толерантності до микотичної контамінації, як предиктор ускладненого atopічного дерматиту, що констатує доцільність призначення відповідного подальшого дообстеження і профілактичного лікування в рамках протимікробної стратегії;
- ✓ ймовірність більше 60 % дозволяє встановити високу ймовірність наявності бактеріальної інфекції шкіри. Це диктує необхідність негайного проведення додаткових діагностичних процедур, що дозволить своєчасно розробити і персоніфікувати антимікотичну та антибактеріальну терапію у пацієнта, що в цілому, знизить ризик хронізації запалення на шкірі.

Таким чином, на підставі отриманих даних розроблено спосіб диференційованої оцінки ймовірності наявності активації УП флори, який дозволить не тільки адекватно і достовірно оцінити вираженість патологічних змін шкірних покривів, але і визначити рівень ризику виникнення ускладнень і вірогідність хронізації захворювання, що дозволить своєчасно провести необхідні лікувальні заходи щодо корекції з індивідуальним призначенням патогенетично обґрунтованої терапії та запобігти появі патологічних змін в організмі потенційних хворих з atopічним дерматитом, пов'язаних з прогресуванням запалення.

Також нами був проаналізовано взаємозв'язок симптомів дефіциту вітаміну Д у дітей з АД із наявністю клінічних ознак вторинного грибкового та/або бактеріальної інфікування та позитивних мікробіологічних результатів. Було виявлено, що діти з тяжким перебігом АД, підвищеною кислотністю шкіри ($\text{pH} < 5,52$) та бактеріальною контамінацією шкіри частіше за інших дітей з АД мали клінічні ознаки дефіциту вітаміну Д, що вказує на вплив вітаміну Д на перебіг АД ($p < 0,05$).

Одним із найважливіших індукторів антимікробного пептиду кателіцидину LL-37, який є частиною вродженої ланки імунітету, є вітамін Д. Шляхом Толл-подібних рецепторів активуються рецептор вітаміну Д та гени вітамін-Д-1-гідроксилази, які індуюють експресію LL-37, який в свою чергу посилює місцеву протимікробну дію проти колонізації УПФ [129]. Таким чином, можна припустити, що недостатність вітаміну Д створює комфортні умови для розмноження УПФ шкіри шляхом не тільки зміни кислотності шкіри, а й зниження рівнів антимікробних пептидів, що може сприяти більш тяжкому перебігу захворювання і хронізації запалення шкіри. Отримані спостереження знаходять підтвердження у багатьох літературних посиланнях, які пов'язують дефіцит вітаміну Д і розвиток бактеріального інфікування при різних запальних захворюваннях [110].

Хоча запалений епітелій є особливо багатим джерелом антимікробних пептидів, молекулярні події, що призводять до збільшення експресії різних антимікробних пептидів в епітелії у відповідь на інфекцію і запалення, не зовсім зрозумілі.

Оскільки і досі науковцями ведуться дослідження патогенезу розвитку atopічного дерматиту у дітей і дорослих, існують дані про те, що ключовими детермінантами формування незрілої Th-клітини у зрілу Th-1 або Th-2 виступають цитокіни ІЛ-4 та ІЛ-12, які діють через трансдуктор сигналу та активатори транскрипції [111].

Більшість наукових робіт вказують на превалювання Th-2-типу імунної відповіді при АД, а саме підвищену експресію ІЛ-13 та ІЛ-4 в гострий період

захворювання, які опосередковують переключення ізотопу імуноглобуліну на продукування IgE та стимулюють експресію молекул адгезії на ендотеліальних клітинах [130]. Саме ці маркери запалення ми дослідили в першу чергу.

Нами було встановлено, що рівні ІЛ-13 у дітей із середньотяжким перебігом АД були достовірно вищі у порівнянні з дітьми з легким перебігом ($p < 0,05$). Концентрація ІЛ-13 достовірно зростала з вираженістю проявів АД. У групі III ($n=19$) діти мали найвищі показники ІЛ-13 - 74,36 [29,84; 148,28] pg/mL. Проте несподіваним стало те, що у частини дітей III ($n=15$) групи рівні ІЛ-13 були достовірно нижчі від показників рівня контролю - 1,24 [0,42; 20,02] pg/mL ($p < 0,05$). Тож група III була розділена на 2 підгрупи (IIIa, IIIb) за рівнем сироваткового ІЛ-13. Було встановлено, що рівень ІЛ-13 корелював зі ступенем тяжкості АД за шкалою SCORAD у групах I, II та IIIa ($r = + 0,73$; $p < 0,05$). Показники рівнів ІЛ-13 у дітей I, II, IIIa груп достовірно відрізнялися від показників групи контролю ($p < 0,001$). Після отриманого лікування було виявлено достовірне зниження показників ІЛ-13 в динаміці у групах I, II, IIIa ($p < 0,001$) та підвищення - у дітей групи IIIb ($p < 0,05$), за критерієм Вілкоксона.

При дослідженні рівнів ІЛ-4 було виявлено, що рівень ІЛ-4 у групах I, II був значно вищим порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$). Проте діти з тяжким перебігом мали рівні, які відповідали контрольній групі. Після отриманого лікування рівні ІЛ-4 значно знизилися в групах I, II, IIIa ($p < 0,001$ за критерієм Вілкоксона). Цікавим є той факт, що групі IIIb був властивий ріст показників ІЛ-4 в динаміці ($p < 0,05$).

Кілька всесвітніх досліджень показали, що в результаті опосередкованої цитокинами Th-2 імунної відповіді синтез антимікробних пептидів знижується, що може призводити до колонізації шкіри бактеріями, грибковими збудниками та вірусами. Згідно з цими даними, діти IIIb групи повинні мати достатні рівні антимікробних пептидів для боротьби з УПФ і патогенною мікрофлорою.

Проте при аналізі особливостей перебігу АД у дітей IIIb групи (n = 15) була помічена певна тенденція: персистенція захворювання тривала протягом 3- 9 місяців, клінічні варіанти висипу мали ознаки активації грибкової УПФ у всіх дітей, 8 дітей мали підтверджену мікробіологічно бактеріальну та 4 – грибкову суперінфекцію шкіри, лише у 4 дітей був підтверджений зв'язок погіршення стану з контактом з алергеном.

В літературних джерелах можна зустріти дані про роль Th-17 в імунопатогенезі АД. Ці клітини виробляють прозапальні цитокіни ІЛ-22 та ІЛ-26, які можуть пригнічувати диференціювання кератиноцитів з подальшими гіперплазією епідермісу та посиленням експресії прозапальних генів в цих клітинах. Однією з основних фізіологічних функцій Th-17- клітин є посилення захисту від грибів, найпростіших, вірусів і різних позаклітинних бактерій (шляхом продукування ІЛ-17). Окрім того, превалювання Th-17 науковці все більше пов'язують з розвитком запальних захворювань, в т.ч. бронхіальної астми, алергічного контактного дерматиту, псоріазу [131, 132].

Враховуючи фенотипову гетерогенність АД в людських популяціях, дослідження Noda S, Suarez-Farinas M та колег показало різні імунні фенотипи у різних расових та етнічних популяцій. Азіатський фенотип АД характеризувався активацією саме осі Th-17, збільшенням профілів цитокінів Th22 та помітною епідермальною гіперплазією з частими паракератозами, які мають багато перехресних ознак із псоріазом. Більш низькі рівні цитокінів Th-1 також спостерігались в уражених ділянках у цієї раси порівняно з американцями, тоді як превалювання Th-2 спостерігалось в обох групах [112, 133].

Під час аналізу наукових публікацій ми знайшли інформацію, що активація Th-17 імунної відповіді може відбуватися під час цитодиференціювання наївних CD4+-лімфоцитів в дермі під впливом цитокінів ІЛ-1 β та сімейства ІЛ-12. Підвищені рівні ІЛ-4 в свою чергу блокують перемикання імунної відповіді на Th-17 [134, 135]. Таким чином, можна висловити гіпотезу, що діти IIIb групи нашого дослідження мали

схильність до формування неалергічного фенотипу за Th-1- або Th-17-типом.

Для підтвердження цієї гіпотези наступним кроком ми вивчили особливості експресії маркерів запалення Th-1-порядку, а саме ІЛ-1б, ІЛ-12 та ФНО-а.

За результатами дослідження виявлено, що рівні ІЛ-1б та ІЛ-12 достовірно відрізнялися в основній та групі контролю ($p < 0,05$), однак різниця показників ФНП-а була недостовірною у цих групах ($p < 0,05$). Було виявлено достовірне підвищення рівнів ІЛ-1 β та ІЛ-12 зі збільшенням тяжкості АД. Показники ІЛ-1б достовірно корелювали з тяжкістю АД за шкалою SCORAD у групах I, II, III. Порівняння рівнів ІЛ-1 β та ІЛ-12 між групами IIIa та IIIb не дало позитивних результатів. При оцінці співвідношення рівнів ФНП-а у групах I, II, III було виявлено достовірне зниження показників у дітей зі збільшенням тяжкості захворювання.

Кореляційний зв'язок показав такі результати: виявлений зв'язок тяжкості перебігу АД з рівнями ІЛ-1 β (прямий середньої сили, $r = +0,67$, $p < 0,05$), з рівнями ІЛ-12 (прямий сильний, $r = +0,88$, $p < 0,05$), з рівнями ФНП-а (зворотній слабкий зв'язок, $r = -0,33$, $p < 0,05$).

Зв'язок наявності ознак контамінації шкіри УПФ з маркерами запалення Th-1 також був встановлений. Так, виявлений достовірний прямий зв'язок слабкої сили з рівнями ІЛ-1 β ($r = +0,28$, $p < 0,05$) та прямий середньої сили - з ІЛ-12 ($r = +0,45$, $p < 0,05$).

Літературні посилання містять дані щодо можливих причин підвищеної експресії прозапальних цитокінів ІЛ-1б та ФНО-а при АД. По-перше, в літературних джерелах описана особлива роль кератиноцитів у посиленні сигналів запалення в епідермісі, а саме індукції в кератиноцитах цих прозапальних цитокінів. Розпізнаючи патогенні мікроорганізми шляхом ТПР, кератиноцити можуть бути першою ланкою реакцій з боку вродженого імунітету шкіри. Наші спостереження збігаються з результатами й інших

дослідників, які виявили прямий кореляційних зв'язок між тяжкістю АД, за SCORAD, та рівнями ІЛ-16 і ФНО-а [136, 137].

Інший шлях підвищення рівнів цих маркерів запалення - Т-клітини CD4+, які можуть активувати макрофаги і моноцити для синтезу ФНО-а, ІЛ-16 та ІЛ-12 через взаємодію глікопротеїну CD40 на поверхні В-клітин, моноцитів, дендритних клітин з його лігандом CD40L. А взаємодія CD40 та CD40L під час активації Т-клітин антиген-презентуючими клітинами може стимулювати викид ІЛ-12. Активація ж CD4+ та CD8+ клітин в свою чергу відбувається після контакту із внутрішньоклітинним або позаклітинним антигеном [138,].

Отож, підвищення вмісту даних маркерів Th-1-типу запалення у сироватці крові дітей основної групи з тяжким перебігом АД, імовірно, може бути пов'язано 1) зі ступенем порушення шкірного бар'єру, 2) з активацією і надмірним ростом умовно-патогенної мікрофлори шкіри, 3) з хронізацією АД, а саме затяжною персистенцією запалення шкіри без належного лікування.

Наша гіпотеза про роль Th-1 та Th-17-типів запалення у дітей з тяжким перебігом АД знаходить підтвердження даними інших досліджень, які виявили, що при АД елементи висипу в період загострення можуть містити не тільки Th-2-клітини, але і клітини Th-17-порядку, а при хронізації процесу може превалювати Th-1-тип запалення.

Водночас, особлива роль відводиться антимікробним пептидам, які є ланкою вродженої імунної відповіді. Дефензини є зв'язуючою ланкою вродженої та адаптивної імунної відповіді, оскільки вони можуть регулювати функції дендритних клітин шляхом Толл-подібних рецепторів. Дефензини можуть індукувати дозрівання дендритних клітин через ТІР та запускати механізми антигенспецифічного гуморального і клітинного імунітету [113].

З літературних джерел відомо, що основними індукторами експресії антимікробних пептидів РНКаз-7, b-дефензину-2 та кателіцидину LL-37 є ІЛ-16 та ІЛ-12. РНКаз-7 синтезується в роговому прошарку шкіри і має

антимікробний спектр проти *S.aureus* та *C.albicans*. Стимуляція експресії РНК β -дефензину-3 відбувається шляхом контакту кератиноцитів з бактеріями і прозапальним цитокіном ФНО. β -дефензин-3 є основним дефензином, що має протимікробну дію проти грампозитивного *S.aureus*.

Враховуючи дані підвищених рівнів маркерів Th-1-порядку у дітей з тяжким перебігом АД, варто було б очікувати достатню протимікробну активність антимікробних пептидів та відсутність вторинного бактеріального та/або грибкового інфікування шкіри при АД у цих дітей. Однак цієї закономірності у дітей нашого дослідження з тяжким перебігом АД (група Шб) ми не спостерігали.

При аналізі наукових ресурсів ми звернули увагу і на інші важливі вроджені захисні механізми, які також виступають першою ланкою на зустрічі з патогенами, що долають епідермальний бар'єр, а саме систему комплементу. Альтернативний шлях комплементу спонтанно активується поверхнею бактеріальних клітин при відсутності специфічних антитіл та швидко реагує протиінфекційною активністю. Тож ми взяли за мету продовжити діагностичний пошук і дослідити особливості імунного статусу дітей із середньотяжким і тяжким перебігом АД (групи II та III).

Вважається, що локально синтезовані компоненти комплементу відіграють важливу роль у захисті та підтриманні запалення шкіри. Нами була виявлена така тенденція змін роботи системи комплементу: компонент C3 був достовірно нижчий у дітей Шб-групи у порівнянні з іншими групами дітей з АД. Ці зміни у Шб-групі можуть бути пов'язані саме з бактеріальною суперінфекцією *S.aureus*, адже він здатен секретувати протеїни, які втручаються в активацію компоненту комплементу C3 та знижують його активність, інгібуючи C3a і C5a. Піогенні шкірні інфекції пов'язані з нестачею C2, а також з дефіцитом фактора I. Фактор I є інактиватором рідинної фази C3b і C4b, впливаючи таким чином на альтернативні та класичні шляхи активації комплементу. Дефіцит вторинно призводить до дефіциту C3 і фактора B. Водночас, знижений синтез C3 може сприяти

розвитку бактеріального і грибкового інфікування, чим створюється замкнуте коло [114]. Численні дослідження вказують на те, що кератиноцити є потенційним джерелом СЗ. Знижений рівень СЗ у дітей нашого дослідження може бути пов'язаний саме зі змінами шкірного бар'єру і функціональної здатності кератиноцитів. Однак отримані нами зміни не є патогномонічними для АД та можуть свідчити про порушення вроджених або адаптивних імунних реакцій.

Показники компоненту комплементу С4-2 у всіх дітей були у межах референтних значень. Діти Шб-групи мали рівні функціональної активності середніх ЦК, нижчі за середні референтні значення та достовірно нижчі - за рівні ЦК у групах II і IIIa ($p < 0,05$).

Відносна кількість лімфоцитів (CD3+, CD19-) у всіх пацієнтів з atopічним дерматитом відповідала референтним значенням, однак групі Шб був властивий приріст CD4+, CD8- з одночасним зниженням рівнів CD4-, CD8+. Внаслідок дисбалансу показники імунорегуляторного індексу (CD4+,CD8-/CD4-,CD8+) були достовірно вищі у дітей Шб-групи у порівнянні з групою IIIa. Спостерігалась достовірна різниця рівнів CD3+, CD56+ у групах дослідження: найменші показники мали діти з низькими рівнями прозапального цитокіну ІЛ-13 ($p < 0,05$). Достовірної різниці між рівнями CD3-, CD56+ не виявлено. Madison R. Mack та співавтори у своєму дослідженні демонструють, що у пацієнтів з АД спостерігається не лише глобальне зниження популяції НК-клітин у крові, але й зміна їх субпопуляцій, що відображає втрату зрілих ефекторних клітин CD56. Крім того, дослідниками доведено, що популяції НК-клітин можуть регулювати ІЛС2 при ураженнях шкіри, а отже, системна втрата популяцій НК-клітин може не тільки погіршити противірусний імунітет у пацієнтів, але й сприяти запальному ураженню шкіри [115].

Дослідження гуморальної ланки імунітету виявило, що рівні сироваткових антитіл ІgА, ІgМ, ІgG у 100 % дітей II та IIIa груп знаходилися у межах референтних значень. Рівні ІgА також відповідали діагностичній

дискримінантній області (0,20-1,0 г/л), проте були достовірно нижчі у групах дітей з тяжким неконтрольованим перебігом atopічного дерматиту ($p < 0,05$), що може вказувати на наявність ураження бар'єрів шкіри і слизових оболонок. Постійна антигенна експозиція через порушення функціонування бар'єрів шкіри, слизових оболонок, шлунково-кишкового тракту та дихальних шляхів може впливати на сенситизацією до певного алергену, чим і можна пояснити важкий перебіг АД. Ця гіпотеза знаходить підтвердження у низки авторів про взаємозв'язок алергічного фенотипу запалення і дефіциту IgA у дітей.

У пацієнтів Шб-групи була виявлена знижена сумарна кількість IgA, IgM, IgG (Me 5,57 (3,78; 5,75)) (середня кількість IgA 0,5 (0,5; 0,5) г/л; IgM 0,67 (0,41; 0,75) г/л та IgG 4,4 (3,1; 4,56), відповідно). Дефіцити імуноглобулінів можуть вказувати на дисімуноглобулінемію, яка характерна для тяжкого перебігу atopічного дерматиту.

Була виявлена достовірна різниця рівнів сумарних імуноглобулінів у пацієнтів Ша- та Шб-груп. Рівні загального IgE були достовірно вищі у дітей Ша-групи у порівнянні із значеннями у здорових дітей і показниками у дітей інших груп з atopією, що підтверджує гіпотезу про превалювання алергічного типу запалення саме у дітей цієї групи.

Враховуючи отримані результати, ми запропонували алгоритм ведення пацієнтів з різною тяжкістю АД і можливими вторинними бактеріальними та/або грибковими ускладненнями.

При первинному огляді дитини з вірогідним діагнозом АД важливо зібрати анамнез та виявити можливу причину гострого стану (алерген, використання синтетичного одягу, миючі засоби для шкіри і частота їх застосування тощо). Наступний етап - об'єктивний огляд стану шкірних покривів і встановлення ступеня тяжкості АД за шкалою SCORAD. Для оцінки порушення фізичного бар'єру шкіри варто використовувати вимірювання рівнів трансепідермальної втрати рідини. За наявності ознак морфологічно зміненого висипу у дітей із середньотяжким або тяжким

перебігом АД, що може вказувати на активацію УПФ шкіри, рекомендовано вимірювання рН уражених і неуражених ділянок шкіри та проведення бактеріологічного дослідження (посів на середовище Сабуро та Сабуро з левоміцетином). При відсутності змін рН шкіри рекомендовано призначити базову терапію зволожуючими і протизапальними засобами (топічними кортикостероїдами). При рівні кислотності шкіри $<5,52$ та $>5,87$ рекомендується додати у лікування топічні протигрибкові та/або антибактеріальні засоби чи комбіновані засоби, до складу яких входять топічний кортикостероїд, антибіотик і протигрибковий засіб. При отриманні позитивних результатів посівів терапія може бути скорегована залежно від чутливості збудника до антибіотиків і протигрибкових препаратів. Динамічне вимірювання рівня вологості та кислотності шкіри під час лікування сприяє контролю стану шкірного бар'єру, а нормалізація цих показників знижує ризики подальшої персистенції запалення, появи загострень та приєднання бактеріальної та грибової інфекції [140].

ВИСНОВКИ

Атопічний дерматит – хронічне запальне захворювання шкіри, яке уражає від 12 до 37 % дитячого населення. На ранньому етапі діагностики та лікування знижується ризик розвитку ускладнених форм атопічного дерматиту, який важко піддається лікуванню і призводить до розвитку атопічного маршу у майбутньому. У дисертаційній роботі представлено розв'язання актуальної задачі – розробки діагностичних методів виявлення активації умовно-патогенної флори на шкірі та створення алгоритму ведення пацієнтів з ускладненим перебігом атопічного дерматиту.

1. Серед клінічних варіантів перебігу атопічного дерматиту були виділені і систематизовані такі, що важко піддавалися терапії та мали ознаки активізації умовно-патогенної мікрофлори, а саме: плями, що луцаться, з піднятим або фестончатим краєм, подвійним контуром, чіткої форми, відмежовані; зливний сквамозно-еритематозний висип з крупно-пластинчастими лусочками на тлі гіперемії, з тріщинами у місцях фізіологічних згинів; бляшковий псориазоподібний висип, часто на волосистій частині голови та/або диссемійовано по тілу; ділянки вираженої індурації місця висипки округлої форми у поєднанні із везикулами, мокнуттям, мацерацією та вираженою гіперемією.

2. Тяжкість атопічного дерматиту достовірно корелювала з рівнем трансепідермальної втрати рідини ($p < 0,05$). Зміна кислотності ($< 5,52$ і $> 5,87$), наявність клінічних варіантів ускладненого перебігу атопічного дерматиту та позитивне мікробіологічне дослідження є маркером активації умовно-патогенної флори і потребує корекції терапії ($p < 0,001$). Найбільш поширеними умовно-патогенними мікроорганізмами були *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus haemolyticus*, *Candida albicans* та *Candida nonalbicans*.

3. Виявлено, що чим тяжчий перебіг атопічного дерматиту спостерігався у дітей раннього віку, тим більші рівні сироваткових ІЛ-13 та нижчі ІЛ-12 вони мали. Для 20 % дітей з тяжким перебігом атопічного дерматиту

властива поляризація Th-1-іmunної відповіді, а саме: достовірне зниження рівнів IL-4 та IL-13($p < 0,05$), збільшення рівнів IL-12 та IL-1 β ($p < 0,05$) у порівнянні з іншими групами дітей, хворих на atopічний дерматит. Рівні IL-1 β корелювали з рівнями трансепідермальної втрати рідини у всіх дітей з atopічним дерматитом. Прогностичним критерієм розвитку ускладненого неконтрольованого перебігу atopічного дерматиту виступають рівні компонента комплементу C3 $< 1,0$, рівні CD3+, CD56+ $< 0,6$ та знижений рівень сумарних імуноглобулінів (IgA, IgM, IgG $< 6,0$)($p < 0,05$).

4. Встановлено статистично значущі відмінності у розподілі генотипів rs9290927 гена Claudin-1 серед хворих на atopічний дерматит ($\chi^2 = 6,26$, $p < 0,05$). У дітей цієї групи превалював генотип AA (80,3 %), генотип AT – у 15,2 %. У групі контролю розподіл генотипів був такий: генотип AA виявлявся у 63 % дітей, генотип AT - у 37 % дітей. Не було виявлено взаємозв'язку поліморфізмів гена Claudin-1 (rs17501010, rs893051, rs9290927, rs9290929) з тяжкістю перебігу atopічного дерматиту, наявністю ознак активації умовно-патогенної флори, сенсibiliзацією ($p > 0,05$).

5. Алгоритм ведення пацієнтів з ускладненим перебігом atopічного дерматиту включає об'єктивний огляд, виявлення морфологічних змін активації умовно-патогенної мікрофлори шкіри, проведення рН-метрії шкіри та бактеріологічного дослідження. Використання емолієнтів при перших ознаках atopії на шкірі є ефективним методом профілактики прогресування захворювання, який допомагає достовірно відновити вологість шкіри на 4-5 добу при легких проявах atopії та на 10-14 добу - у дітей із середньотяжким і тяжким перебігом atopічного дерматиту ($p < 0,05$). Призначення терапії ex juvantibus протигрибковими засобами у дітей з ознаками активації умовно-патогенної флори та змінами рН шкіри є ефективним та дозволяє відновити кислотність шкіри на 10-14 день лікування ($p < 0,001$).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. У дітей раннього віку, хворих на atopічний дерматит, при перших проявах сухості шкіри, висипу слід використовувати зволоження емолієнтами для швидкого відновлення фізичного бар'єру шкіри, профілактики розвитку ускладнених форм та хронізації процесу.

2. З метою оптимізації ранньої діагностики тяжкості перебігу atopічного дерматиту, своєчасного виявлення ускладнень та підвищення ефективності лікування до переліку обстежень включати: рН-метрію шкіри, вимірювання рівня трансепідермальної втрати рідини.

3. Для додаткової діагностики вторинного інфікування шкіри та підбору місцевої терапії у дітей з atopічним дерматитом рекомендується включати мікробіологічне дослідження.

4. Активація умовно-патогенної мікрофлори шкіри при atopічному дерматиті вимагає специфічної топічної протигрибкової та/або антибактеріальної терапії з обов'язковим зволоженням шкіри не менше 14 днів.

5. У дітей з тяжким перебігом atopічного дерматиту, який важко піддається терапії, слід вивчати показники вродженого та адаптивного імунітету для прогнозування тяжкості atopії у майбутньому.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. McKenzie, C., & Silverberg, J. I. The prevalence and persistence of atopic dermatitis in urban United States children. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2019. DOI : 10.1016/j.anai.2019.05.014
2. Abuabara, K., Yu, A. M., Okhovat, J.-P., Allen, I. E., & Langan, S. M. The prevalence of atopic dermatitis beyond childhood: A systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Allergy*. 2017. 73(3). Pp. 696–704. DOI : 10.1111/all.13320.
3. Ong, P. Y., & Leung, D. Y. M. Bacterial and Viral Infections in Atopic Dermatitis: a Comprehensive Review. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. 2016. 51(3). Pp. 329–337. DOI : 10.1007/s12016-016-8548-5.
4. Williams, H., Stewart, A., von Mutius, E., Cookson, W., & Anderson, H. R. Is eczema really on the increase worldwide. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2018. 121(4). Pp. 947–954.e15. DOI : 10.1016/j.jaci.2007.11.004.
5. Grice, E. A., & Segre, J. A. The skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*. 2011. 9(4). Pp. 244–253. DOI : 10.1038/nrmicro2537.
6. Ong, P. Y., & Leung, D. Y. M. Bacterial and Viral Infections in Atopic Dermatitis: a Comprehensive Review. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. 2016. 51(3). Pp. 329–337. DOI : 10.1007/s12016-016-8548-5.
7. Беш Л.В. Алергічний марш: перспективи профілактики і прогнозу. Львів: Каменяр. 2010. С. 68.
8. Nakai, K., Kubota, Y., Soma, G.-I., & Konchi, C. The Effect of Lipopolysaccharide-containing Moisturizing Cream on Skin Care in Patients With Mild Atopic Dermatitis. 2018. 33(1). Pp. 109–114. DOI : 10.21873/invivo.11446.
9. Simpson, A., & Martinez, F. D. The role of lipopolysaccharide in the development of atopy in humans. *Clinical & Experimental Allergy*. 2010. 40(2). Pp. 209–223. DOI : 10.1111/j.1365-2222.2009.03391.x
10. Kong, H. H., & Segre, J. A. Skin Microbiome: Looking Back to Move Forward. *Journal of Investigative Dermatology*. 2012. 132(3). Pp. 933–939. DOI : 10.1038/jid.2011.417.

11. Saunte, D. M. L., Gaitanis, G., & Hay, R. J. Malassezia-Associated Skin Diseases, the Use of Diagnostics and Treatment. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10. 2020. DOI : 10.3389/fcimb.2020.00112.
12. Glatz, M., Bosshard, P., Hoetzenecker, W., & Schmid-Grendelmeier, P. The Role of Malassezia spp. in Atopic Dermatitis. *Journal of Clinical Medicine*. 2015. 4(6). Pp. 1217–1228. DOI : 10.3390/jcm4061217.
13. Danuta Nowicka, Urszula Nawrot. Contribution of Malassezia spp. to the development of atopic dermatitis. *Mycoses*. 2019. 62(7). Pp. 588-596. DOI : 10.1111/myc.12913.
14. Mittermann, I., Wikberg, G., Johansson, C., Lupinek, C., Lundeberg, L., Cramer, R., Scheynius, A. IgE Sensitization Profiles Differ between Adult Patients with Severe and Moderate Atopic Dermatitis. *PLOS ONE*. 2016. 11(5):e0156077. DOI : 10.1371/journal.pone.0156077.
15. Brodská, P., Panzner, P., Pizinger, K., & Schmid-Grendelmeier, P. IgE-Mediated Sensitization to Malassezia in Atopic Dermatitis. *Dermatitis*. 2014. 25(3). Pp. 120–126. DOI : 10.1097/der.0000000000000040.
16. Cramer, R., Garbani, M., Rhyner, C., & Huitema, C. Fungi: the neglected allergenic sources. *Allergy*. 2013. 69(2). Pp. 176–185. DOI : 10.1111/all.12325.
17. Egawa, G., & Kabashima, K. (2016). Multifactorial skin barrier deficiency and atopic dermatitis: Essential topics to prevent the atopic march. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2016. 138(2). Pp. 350–358.e1. DOI : 10.1016/j.jaci.2016.06.002.
18. Bergmann, S., von Buenau, B., Vidal-y-Sy, S., Haftek, M., Wladykowski, E., Houdek, P., Brandner, J. M. Claudin-1 decrease impacts epidermal barrier function in atopic dermatitis lesions dose-dependently. *Scientific Reports*. 2020. 10(1). DOI : 10.1038/s41598-020-58718-9.
19. Sugawara, T., Iwamoto, N., Akashi, M., Kojima, T., Hisatsune, J., Sugai, M., & Furuse, M. Tight junction dysfunction in the stratum granulosum leads to aberrant stratum corneum barrier function in claudin-1-deficient mice. *Journal of*

- Dermatological Science. 2013. 70(1). Pp. 12–18. DOI : 10.1016/j.jdermsci.2013.01.002.
20. Asad, S., Winge, M. C. G., Wahlgren, C.-F., Bilcha, K. D., Nordenskjöld, M., Taylan, F., & Bradley, M. The tight junction gene Claudin-1 is associated with atopic dermatitis among Ethiopians. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2016. Doi : 10.1111/jdv.13806.
 21. Langan, S. M., Irvine, A. D., & Weidinger, S. Atopic dermatitis. *The Lancet*. 2020. 396(10247). P. 345–360. DOI : 10.1016/s0140-6736(20)31286-1.
 22. Saisindhu Narala and Tissa R. Hata Adult Atopic Dermatitis with Comorbid Atopic Disease is Associated with Increased Risk of Infections: A Population-Based Cross-Sectional Study *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2017. Mar; 7(1). Pp. 111–121. DOI : 10.1007/s13555-017-0172-7.
 23. Stukus, D. R. (Ed.). *Allergies and Adolescents*. 2018. DOI : 10.1007/978-3-319-77485-5.
 24. О. М. Охотнікова, Л. В. Дуда. Сучасні особливості поширеності atopічного дерматиту у дітей Київського регіону за результатами епідеміологічного дослідження за програмою ISAAC. *Астма та алергія*. 2020. С. 47- 53.
 25. Беш, Л. В., Мацюра, О. І., Якимович, Х.О., Пукаляк, Р. М., Луговський, С. В. Труднощі диференціальної діагностики atopічного дерматиту в дітей. *Здоров'я дитини*. 2018. Т. 13. № 6. С. 570-575.
 26. Narla, S., & Silverberg, J. I. The Role of Environmental Exposures in Atopic Dermatitis. *Current Allergy and Asthma Reports*. 2020. 20(12). DOI : 10.1007/s11882-020-00971-z.
 27. Martin, M. J., Estravís, M., García-Sánchez, A., Dávila, I., Isidoro-García, M., & Sanz, C. Genetics and Epigenetics of Atopic Dermatitis: An Updated Systematic Review. *Genes*. 2020. 11(4). P. 442. DOI : 10.3390/genes11040442.
 28. Eyerich, K., Eyerich, S., & Biedermann, T. The Multi-Modal Immune Pathogenesis of Atopic Eczema. *Trends in Immunology*. 2015. 36(12). Pp. 788–801. DOI : 10.1016/j.it.2015.10.006.

29. Norma Olivia de la O-Escamilla, Robert Sidbury Atopic Dermatitis: Update on Pathogenesis and Therapy *Pediatr Ann.* 2020. 49(3):e140-e146. DOI : 10.3928/19382359-20200217-01.
30. Jacquelyn Levin, DO, Sheila Fallon Friedlander, MD, and James Q. Del Rosso, DO. Atopic Dermatitis and the Stratum Corneum: Part 2: Other Structural and Functional Characteristics of the Stratum Corneum Barrier in Atopic Skin/ *J Clin Aesthet Dermatol.* 2013. 6(11). Pp. 49–54.
31. Donald YM Leung¹. New Insights into Atopic Dermatitis: Role of Skin Barrier and Immune Dysregulation. *Allergology International.* 2013. №62. Pp. 151-161.
32. Fluhr JW, Kao J, Jain M, et al: Generation of free fatty acids from phospholipids regulates stratum corneum acidification and integrity. *J Invest Dermatol.* 2001. № 117. Pp. 44–51.
33. Jacquelyn Levin, DO, Sheila Fallon Friedlander, MD, and James Q. Del Rosso, DO Atopic Dermatitis and the Stratum Corneum: Part 1: The Role of Filaggrin in the Stratum Corneum Barrier and Atopic Skin/ *J Clin Aesthet Dermatol.* 2013. 6(10). Pp. 16–22.
34. Yuki, T., Tobiishi, M., Kusaka-Kikushima, A., Ota, Y., & Tokura, Y. Impaired Tight Junctions in Atopic Dermatitis Skin and in a Skin-Equivalent Model Treated with Interleukin-17. *PLOS ONE.* 2016. 11(9). e0161759. DOI : 10.1371/journal.pone.0161759.
35. Gruber, R., Börnchen, C., Rose, K., Daubmann, A., Volksdorf, T., Wladykowski, E., Brandner, J. M. Diverse Regulation of Claudin-1 and Claudin-4 in Atopic Dermatitis. *The American Journal of Pathology.* 2015. 185(10). Pp. 2777–2789. DOI : 10.1016/j.ajpath.2015.06.021.
36. Furuse, M., Hata, M., Furuse, K., Yoshida, Y., Haratake, A., Sugitani, Y., Tsukita, S. Claudin-based tight junctions are crucial for the mammalian epidermal barrier. *The Journal of Cell Biology.* 2002. 156(6). Pp. 1099–1111. DOI : 10.1083/jcb.200110122.
37. Hadj-Rabia, S., Baala, L., Vabres, P., Hamel-Teillac, D., Jacquemin, E., Fabre, M., Smahi, A. Claudin-1 gene mutations in neonatal sclerosing cholangitis associated

- with ichthyosis: A tight junction disease. *Gastroenterology*. 2004. 127(5). Pp. 1386–1390. DOI : 10.1053/j.gastro.2004.07.022.
38. Manoj Gopal Madakshira, Bishan Dass Radotra, Uma Nahar Saikia Loss of expression of claudin-1 in psoriasis is associated with proliferative state of keratinocytes. *Indian journal of Dermatopathology and Diagnostic Dermatology*. 2020. Vol. 7. Issue 2. Pp.70-73.
39. O'Regan, G. M., Sandilands, A., McLean, W. H. I., & Irvine, A. D. Filaggrin in atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2008. 122(4). Pp. 689–693. DOI : 10.1016/j.jaci.2008.08.002.
40. Danby, S. G., & Cork, M. J. pH in Atopic Dermatitis. *Current Problems in Dermatology*. 2018. Pp. 95–107. DOI : 10.1159/000489523.
41. Panther, D., & Jacob, S. The Importance of Acidification in Atopic Eczema: An Underexplored Avenue for Treatment. *Journal of Clinical Medicine*. 2015. 4(5). Pp. 970–978. DOI : 10.3390/jcm405097lipo0.
42. Egawa, G., & Kabashima, K. Barrier dysfunction in the skin allergy. *Allergology International*. 2018. 67(1). Pp. 3–11. DOI : 10.1016/j.alit.2017.10.002.
43. Probst, A. J., Auerbach, A. K., & Moissl-Eichinger, C. Archaea on Human Skin. *PLOS ONE*. 2013. 8(6). e65388. DOI : 10.1371/journal.pone.0065388.
44. Dunn, A. B., Jordan, S., Baker, B. J., & Carlson, N. S. The Maternal Infant Microbiome. *MCN, The American Journal of Maternal. Child Nursing*. 2017. 1. DOI : 10.1097/nmc.0000000000000373.
45. Stamatas, G.N. Infant Skin Microbiome. In *Skin Microbiome Handbook: From Basic Research to Product Development*, 1st ed.;Dayan, N., Ed.; Scrivener Publishing LLC: Beverly, MA, USA, 2020. Pp. 131–142.
46. Cogen, A. L., Nizet, V., & Gallo, R. L. Skin microbiota: a source of disease or defence. *British Journal of Dermatology*. 2008. 158(3). P. 442–455. DOI : 10.1111/j.1365-2133.2008.08437.x.
47. Cundell, A.M. Microbial Ecology of the Human Skin. *Microb. Ecol*. 2018. P. 76, 113–120.

48. Skrown, K., Bauza-Kaszewska, J., Kraszewska, Z., Wiktorczyk-Kapischke, N., Grudlewska-Pirog, J., ... Gospodarek-Komkowska, E. Human Skin Microbiome: Impact of Intrinsic and Extrinsic Factors on Skin Microbiota. *Microorganisms*. 2021. 9(3). P. 543.
49. Prescott, S.L.; Larcombe, D.L.; Logan, A.C.; West, C.; Burks, W.; et al. The skin microbiome: Impact of modern environments on skin ecology, barrier integrity, and systemic immune programming. *World Allergy Organ*. 2017. P. 10, 29.
50. Iwase, T., Uehara, Y., Shinji, H., Tajima, A., Seo, H., Takada, K., Mizunoe, Y. *Staphylococcus epidermidis* Esp inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and nasal colonization. *Nature*. 2010. 465(7296). Pp. 346–349. DOI : 10.1038/nature09074.
51. Lai, Y., Cogen, A. L., Radek, K. A., Park, H. J., MacLeod, D. T., Leichtle, A., Gallo, R. L. Activation of TLR2 by a Small Molecule Produced by *Staphylococcus epidermidis* Increases Antimicrobial Defense against Bacterial Skin Infections. *Journal of Investigative Dermatology*. 2010. 130(9). Pp. 2211–2221. DOI : 10.1038/jid.2010.123.
52. Wollenberg, A., R awer, H.-C., & Schaubert. Innate Immunity in Atopic Dermatitis. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. 2010. 41(3). Pp. 272–281. DOI : 10.1007/s12016-010-8227-x.
53. Okada H, Kuhn C, Feillet H, Bach JF. The ‘hygiene hypothesis’ for autoimmune and allergic disease: an update. *Clin Exp Immunol*. 2010. №160. Pp. 1–9.
54. 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. №162(5). Pp. 964–973.
55. Bloomfield, S. F., Stanwell-Smith, R., Crevel, R. W. R., & Pickup, J. Too clean, or not too clean: the Hygiene Hypothesis and home hygiene. *Clinical Experimental Allergy*. 2006. 36(4). Pp. 402–425. DOI : 10.1111/j.1365-2222.2006.02463.x.
56. Callewaert, C.; Ravard Helffer, K.; Lebaron, P. Skin Microbiome and its Interplay with the Environment. *Am. J. Clin. Dermatol*. 2020. Pp. 4–11.

57. Pfefferle PI, Keber CU, Cohen RM and Garn H. The Hygiene Hypothesis – Learning From but Not Living in the Past. *Front. Immunol.* 2021. 12:635935. DOI : 10.3389/fimmu.2021.635935.
58. Haahtela, T. A biodiversity hypothesis *Allergy.* 2019. Vol. 74. Issue 8. Pp. 1445-1456.
59. Grunroos, M.; Parajuli, A.; Laitinen, O.H.; Roslund, M.I.; Vari, H.K.; et al. Short-term directcontact with soil and plant materials leads to an immediate increase in diversity of skin microbiota. *MicrobiologyOpen.* 2019. P. 8. e00645.
60. Hospodsky, D.; Pickering, A.J.; Julian, T.R.; Miller, D.; Gorthala, S.; et al. Hand bacterial communities vary across two different human populations. *Microbiology.* 2014. Pp. 160, 1144–1152.
61. Grice, E. A., & Segre, J. A. (2011). The skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology.* 2011. 9(4). Pp. 244–253. DOI : 10.1038/nrmicro2537.
62. Gonzalez, T., Kyzy, A. B., Kroner, J., He, H., Martin, L., Haslam, D., Herr, A. Skin *Staphylococcus aureus* Colonization is Associated with Persistent Moderate-to-severe Atopic Dermatitis in Children. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2020. 145(2). P. 195. DOI : 10.1016/j.jaci.2019.12.281.
63. Byrd, A. L., Deming, C., Cassidy, S. K. B., Harrison, O. J., Ng, W.-I., Conlan, S. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* strain diversity underlying pediatric atopic dermatitis. *Science Translational Medicine.* 2017. 9(397). eaal4651. DOI : 10.1126/scitranslmed.aal4651.
64. Alexander, H., Paller, A. S., Traidl-Hoffmann, C., Beck, L. A., De Benedetto, A., Dhar, S., Flohr, C. The role of bacterial skin infections in atopic dermatitis: expert statement and review from the International Eczema Council Skin Infection Group. *British Journal of Dermatology.* 2019. DOI : 10.1111/bjd.18643.
65. Arsa Thammahong MD, PhD, Chanisa Kiatsurayanon MD, PhD, Steven W. Edwards PhD, Pawinee Rerknimitr MD, MSc, Direkrit Chiewchengchol MD, PhD The clinical significance of fungi in atopic dermatitis. *International Journal of Dermatology.* Volume 59, Issue 8. Pp. 926-935.

66. Ардатова И. Г. Коморбидность атопического дерматита и функциональных изменений поджелудочной железы. 2018.
67. De Pessemier, B.; Grine, L.; Debaere, M.; Maes, A.; Paetzold, B.; Callewaert, C. Gut–Skin Axis: Current Knowledge of the Interrelationship between Microbial Dysbiosis and Skin Conditions. *Microorganisms*. 2021. Pp. 9, 353.
68. 1 Bosman, E.S.; Albert, A.Y.; Lui, H.; DUTZ, J.P.; Vallance, B.A. Skin exposure to Narrow Band Ultraviolet (UVB) light modulates the human intestinal microbiome. *Front. Microbiol.* 2019. 10. 2410.
69. Brough, H.A.; Liu, A.H.; Sicherer, S.; Makinson, K.; Douiri, A.; et al. Atopic dermatitis increases the effect of exposure to peanut antigen in dust on peanut sensitization and likely peanut allergy. *J.Allergy Clin. Immunol.* 2015. Pp. 135, 164–170
70. LosRycharska, E., Sterkowicz, A., Romanczuk, B., Czerwionka-Szaflarska, M. Comparison of results and clinical value of skin prick tests with synthetic and native food allergens in patients at the age of up to 3 years. *Postepy Dermatol Alergol.* 2016. Vol. 33(6). P. 485–487.
71. Jessadapakorn W., Sangsupawanich P., Wootipoom N. Component-resolved diagnostics in Thai children with cow's milk and egg allergy. et al. *Asian Pac. J. Allergy Immunol.* 2017. Vol. 35(4). Pp. 179-185. DOI : 10.12932/AP0820.
72. N. Segata, N., Haake, S. K., Mannon, P. Composition of the adult digestive tract bacterial microbiome based on seven mouth surfaces, tonsils, throat and stool samples. *Genome Biol.* 2012. Vol. 13. P. 42.
73. Petersen, T.H., Mortz, C. G., Binslev-Jensen, C., Eller, E. Cow's milk allergic children – Can component resolved diagnostics predict duration and severity?. *Pediatr Allergy Immunol.* 2018. Vol. 29 (2). Pp. 194-199. 156.
74. Curry J. L., Qin J.-Z., Qin J.-Z. Innateimmune-related receptors in normal and psoriatic skin. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2003. Vol. 127. N 2. Pp. 178–186.
75. Cuturi M. C., Anegon I (eds.) *Suppression and Regulation of Immune Responses: Methods and Protocols, Vol. II: Methods in Molecular Biology, Vol. 1371.*

76. N.Y.: Springer Science+Business Media, 2016. DOI : 10.1007/978-1- 4939-3139-2_14.
77. De Benedetto A., Yoshida, T., Fridy, S., Park, J.-E. S., Kuo, I.-H., Beck, L. Histamine and Skin Barrier: Are Histamine Antagonists Useful for the Prevention or Treatment of Atopic Dermatitis?. *Journal of Clinical Medicine*. 2015. Pp. 741-755.
78. P Chieosilapatham, C Kiatsurayanon, Y Umehara, J V Trujillo-Paez , G Peng , H Yue, L T H Nguyen, F. Niyonsaba Keratinocytes: innate immune cells in atopic dermatitis *Clin Exp Immunol*. 2021. 204(3):296-309. DOI : 10.1111/cei.13575.
79. Nakajima S, Kitoh A, Egawa G *et al*. IL-17A as an inducer for Th2 immune responses in murine atopic dermatitis models. *J Invest Dermatol*. 2014. 134:2122–30.
80. Bieber, T. Interleukin-13: Targeting an underestimated cytokine in atopic dermatitis. *Allergy*. 2019. Pp. 1–9.
81. Szegedi, K., Lutter, R., Res, P. C., Bos, J. D., Luiten, R. M., Kezic, S., Middelkamp-Hup, M. A. Cytokine profiles in interstitial fluid from chronic atopic dermatitis skin. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2015. 29(11). Pp. 2136–2144.
82. Bao K, Reinhardt RL. The differential expression of IL-4 and IL-13 and its impact on type-2 immunity. *Cytokine*. 2015. 75. Pp. 25-37.
83. Stier MT, Peebles RS Jr. Innate lymphoid cells and allergic disease. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2017. 119(6). Pp. 480–488.
84. Dubin, C., Del Duca, E., & Guttman-Yassky, E. The IL-4, IL-13 and IL-31 pathways in atopic dermatitis. *Expert Review of Clinical Immunology*. 2021.
85. Brocker, C., Thompson, D., Matsumoto, Evolutionary divergence and functions of the human interleukin (IL) gene family. *Human Genomics*. 2010. 5(1). P. 30.
86. Koppes SA, Brans R, Ljubojevic Hadzavdic S, Frings, Dresen MH, Rustemeyer T, Kezic S. Stratum corneum tape stripping: monitoring of inflammatory mediators in

- atopic dermatitis patients using topical therapy. *International Archives of Allergy Immunol.* 2016. 170. Pp. 187-193.
87. Wong L.S., Wu T., Lee C.H. Inflammatory and Noninflammatory Itch: Implications in Pathophysiology-Directed Treatments. *The International Journal of Molecular Sciences.* 2017. 18(7).
88. Lee E, Lee SH, Kwon JW et al. Atopic dermatitis phenotype with early onset and high serum IL-13 is linked to the new development of bronchial hyperresponsiveness in school children. *Allergy.* 2016. 71(5). Pp. 692-700.
89. Gandhi N.A., Pirozzi G., Graham N.M.H. Commonality of the IL-4/IL-13 pathway in atopic diseases. *Expert Review of Clinical Immunology.* 2017. 13(5). Pp. 425–437.
90. Hitokazu Esaki, Patrick M Brunner, Yael Renert-Yuval, Tali Czarnowicki, Thy Huynh, Gary Tran Early-onset pediatric atopic dermatitis is T_H2 but also T_H17 polarized in skin. *Allergy Clin Immunol.* 2016. 138(6). Pp. 1639-1651. DOI : 10.1016/j.jaci.2016.07.013. Epub 2016 Sep 23.
91. Chieosilapatham P, Ogawa H, Niyonsaba F. Current insights into the role of human beta-defensins in atopic dermatitis. *Clin Exp Immunol.* 2017. 190:155–66.
92. Li-Ping Thio, C., Chuan-Ying Lai, A., Chi, P.-Y., Webster, G., & Chang, Y.-J. TLR9-dependent interferon production prevents group 2 innate lymphoid cell-driven airway hyperreactivity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2019. DOI : 10.1016/j.jaci.2019.03.008.
93. Salpietro, C., Rigoli, L., Del Giudice, M. M., Cuppari, C., Di Bella, C., Salpietro, A., Ciprandi, G. TLR2 and TLR4 Gene Polymorphisms and Atopic Dermatitis in Italian Children: A Multicenter Study. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology.* 2011. 24(4). Pp. 33–40. DOI : 10.1177/03946320110240s408.
94. Lesiak, A., Smolewski, P., Sobolewska-Sztychny, D., Sysa-Jedrzejowska, A., & Narbutt, J. The Role of T-Regulatory Cells and Toll-Like Receptors 2 and 4 In Atopic Dermatitis. *Scandinavian Journal of Immunology.* 2012. 76(4). Pp. 405–410. DOI : 10.1111/j.1365-30.

95. Пахольчук О.П. Способы коррекции врожденного иммунитета у детей с кожными проявлениями пищевой аллергии. *Journal of theoretical and clinical medicine*. 2014. №3. Т. 1. С. 142-144.
96. Федорцов О.Е., Мочульская О.Н. Новые подходы к диагностике атопического дерматита у детей. *Рос вестн перинатол и педиатр*. 2017. 62(3). С. 99–104. DOI : 10.21508/1027–4065–2017–62–3–99–104.
97. Л.Ю. Левченко, М.В. Микитюк, Н.Л. Куценко, И.П. Кайдашев. Особенности состояния клеточного и гуморального иммунитета у больных атопическим дерматитом. *Український журнал дерматології, венерології, косметології*. № 4 (39). 2010. С. 14-20.
98. «Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої), третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. Атопічний дерматит.»
99. Consensus-based European guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) in adults and children. 2018.
100. Eberlein-König B, Schäfer T, Huss-Marp J, et al: Skin surface pH, stratum corneum hydration, trans-epidermal water loss and skin roughness related to atopic eczema and skin dryness in a population of primary school children. *Acta Derm Venereol (Stockh)*. 2000. №80. Pp. 188–191.
101. Korting HC, Kober M, Müller M, et al: Influence of repeated washings with soap and synthetic detergents on pH and resident flora of the skin of forehead and forearm. Results of a cross-over trial in health probationers. *Acta Derm Venereol (Stockh)*. 1987. №67. Pp. 41–47.
102. Du Plessis, J. L., Stefaniak, A. B., & Wilhelm, K.-P. Measurement of Skin Surface pH. *Current Problems in Dermatology*. 2018. Pp. 19–25. DOI : 10.1159/000489514.
103. Jenny Giang, Marc A. J. Seelen, Martijn B. A. van Doorn et al. Complement Activation in Inflammatory Skin Diseases. *Front Immunol*. 2018. 9: 639. DOI : 10.3389/fimmu.2018.00639.

104. Maciej M Markiewski, John D Lambris The role of complement in inflammatory diseases from behind the scenes into the spotlight. *Am J Pathol.* 2007. 171(3). Pp. 715-727. DOI : 10.2353/ajpath.2007.070166.
105. Chiara Giacomassi, Norzawani Buang, Guang Sheng Ling et al. Complement C3 Exacerbates Imiquimod-Induced Skin Inflammation and Psoriasiform Dermatitis. *J Invest Dermatol.* 2017. Mar; 137(3). Pp. 760–763. DOI : 10.1016/j.jid.2016.11.011.
106. Purwar, R., Bäumer, W., Niebuhr, M., Tschernig, T., Kietzmann, M., & Werfel, T. A protective role of complement component 3 in T cell-mediated skin inflammation. *Experimental Dermatology.* 2011. 20(9). Pp. 709–714. DOI : 10.1111/j.1600-0625.2011.01295.x.
107. Леженко, Г.О., Пашкова, О.Є., Досвід застосування левоцетиризину в терапії алергічного риніту в дітей. *Здоровье ребенка.* 2017. Т. 12. № 4. С. 441-444.
108. Shanthi Narla, Jonathan I. Silverberg The Role of Environmental Exposures in Atopic Dermatitis, *Current Allergy and Asthma Reports* volume 20, Article number: 74. 2020.
109. James Q. Del Rosso, DO, FAOCD; Grace K. Kim, DO Seborrheic Dermatitis and *Malassezia* species: How Are They Related? *J Clin Aesthet Dermatol.* 2009. Nov; 2(11). Pp. 14–17.
110. Леженко Г. О., Пашкова О.Є., Крайня Г.В. Прогнозування розвитку гострого бактеріального бронхіту в дітей раннього віку. *Здоров'я дитини.* 2018, Т. 13. № 4. С. 372-381.
111. Голдсмит, Л.А., Кац, С. И. *Дерматология Фицпатрика.* 2020. Т. 1. С. 125.
112. Noda S, Suarez-Farinas M, Ungar B et al. The asian atopic dermatitis phenotype combines features of atopic dermatitis and psoriasis with increased Th17 polarization. *J Allergy Clin Immunol.* 2015. 136. Pp. 1254–1264.
113. В.И. Мамчур, А.Э. Левых. Дефензины – эндогенные пептиды с антиинфекционными и противоопухолевыми свойствами. *Таврический медико-биологический вестник.* 2012. Т. 15. № 2,ч.3 (58), С. 315- 321.

114. Palianus, J., & Meri, S. Complement System in Dermatological Diseases Fire Under the Skin. *Frontiers in Medicine*, 2. 2015. DOI : 10.3389/fmed.2015.00003.
115. Mack, M. R., Brestoff, J. R., Berrien-Elliott, M. M., Trier, A. M., Yang, T.-L. B., McCullen, M., Kim, B. S. Blood natural killer cell deficiency reveals an immunotherapy strategy for atopic dermatitis. *Science Translational Medicine*. 2020. 12(532). eaay1005. DOI : 10.1126/scitranslmed.aay1005.
116. Deniz G, Aktas Cetin E, Akdeniz N, Baris S, Kosker M, Camcioglu Y and Barlan I. Analysis of NK cell subsets in children with atopic dermatitis. *Front. Immunol. Conference Abstract: 15th International Congress of Immunology (ICI)*. 2013. DOI : 10.3389/conf.fimmu.2013.02.00420.
117. https://www.zoda.gov.ua/files/WP_Article_File/original/000087/87281.pdf
118. Tina Y. Lien and Ran D. Goldman Breastfeeding and maternal diet in atopic dermatitis. *Can Fam Physician*. 2011. 12. 57 (12) : 1403-1405.
119. Mastrorilli, C., Caffarelli, C., & Hoffmann-Sommergruber, K. Food allergy and atopic dermatitis: Prediction, progression, and prevention. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2017. 28(8). Pp. 831–840. DOI : 10.1111/pai.12831.
120. Gelic, V., Beken, B., Yazicioglu, M., Ozdemir, P. G., & Sut, N. Do traditional fermented foods protect against infantile atopic dermatitis. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2019.
121. Mahdavinia, M., Greenfield, L. R., Moore, D., Botha, M., Engen, P., Gray, C., Levin, M. E. House dust microbiota and atopic dermatitis; effect of urbanization. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2021.
122. Iwamoto, K., Stroisch, T.J., Koch, S., Herrmann, N., Leib, N., & Bieber, T. Langerhans and inflammatory dendritic epidermal cells in atopic dermatitis are tolerized towards TLR2 activation. *Allergy*. 2018.
123. Tian, X., Huang, Q., Liang, J., Wang, Z., Yang, Y., Ye, Q., Liu, Y. A review of the mechanisms of keratinocytes damage caused by *Staphylococcus aureus* infection in patients with atopic dermatitis. 2021. DOI : 10.1002/JLB.3MR0921-030RRR.
124. Singh, A. K. Fungal Rhinosinusitis: Microbiological and Histopathological Perspective. *Journal of clinical and diagnostic research*. 2017.

125. Surber C, Abels C, Maibach H (eds): pH of the Skin: Issues and Challenges. *Curr Probl Dermatol*. Basel, Karger. 2018. Vol. 54. Pp. 87-94.
126. Kuo, S.-H., Shen, C. -J., Shen, C.-F., & Cheng, C.-M. Role of pH Value in Clinically Relevant Diagnosis. *Diagnosics*. 2020. 10(2). P. 107.
127. Cornet, M., & Gaillardin, C. pH Signaling in Human Fungal Pathogens: a New Target for Antifungal Strategies. *Eukaryotic Cell*. 2014. 13 (3). Pp. 342-352.
128. Leveen H.H., Falk G., Borek B., Diaz C., Lynfield Y., Wynkoop B.J., Mabunda G.A., Rubricius J.L., Christoudias G.C. Chemical Acidification of Wounds. An Adjuvant to Healing and the Unfavorable Action of Alkalinity and Ammonia. *Ann. Surg.* 1973.178: Pp. 745–753. DOI : 10.1097/00000658-197312000-00011.
129. Reinholz, M., Ruzicka, T., & Schaubert, J. Cathelicin LL-37: An Antimicrobial Peptide with a Role in Inflammatory Skin Disease. *Annals of Dermatology*. 2012. 24(2). P. 126.
130. Bao, K., & Reinhardt, R. L. The differential expression of IL-4 and IL-13 and its impact on type-2 immunity. *Cytokine*. 2015. 75(1). Pp. 25–37. DOI : 10.1016/j.cyto.2015.05.008.
131. Surgaya, M. The Role of Th17-Related Cytokines in Atopic Dermatitis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. 21(4). P. 1314.
132. Esaki, H., Brunner, P.M., Renert-Yuval, Y., Czarnowicki, T., Huynh, T., Tran, G., Guttman-Yassky, E. Early-onset pediatric atopic dermatitis is TH 2 but also TH 17 polarized in skin. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2016. 138(6). Pp. 1639-1651.
133. Guttman-Yassky, E., & Krueger, J.G. IL-17C: A Unique Epithelial Cytokine with Potential for Targeting across the Spectrum of Atopic Dermatitis and Psoriasis. *Journal of Investigative Dermatology*. 2018. 138 (7). Pp. 1467-1469.
134. Koga, C., Kabashima, K., Shiraishi, N., Kobayashi, M., & Tokura, Y. Possible Pathogenetic Role of Th17 Cells for Atopic Dermatitis. *Journal of Investigative Dermatology*. 2008. 128 (11). Pp. 2625-2630.

135. Liu, T., Li, S., Ying, S., Tang, S., Ding, Y., Li, Y., Fang, H. The Il-23/Il-17 Pathway in Inflammatory Skin Diseases: From Bench to Bedside. *Frontiers in Immunology*. 2020. 11.
136. Vakirlis, E., Lazaridou, E., Tzellos, T., Gerou. S., Chatzidimitriou, D., & Ioannides, D. Investigation of cytokine levels and their association with SCORAD index in adults with acute atopic dermatitis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venerology*. 2011. 25 (4). Pp.409-416.
137. McAleer, M.A., Jakasa, I., Hurault, G., Sarvari, P., McLean, W. H. I., Tanaka, R. J., Irvine, A. D. Systematic and stratum corneum biomarkers of severity in infant AD include markers of innate and Th-related immunity and angiogenesis. *British Journal of Dermatology*. 2018.
138. Wesa, A.K., & Galy, A. Il-16 induces dendritic cells to produce Il-12. *International Immunology*. 2001. 13(8). Pp. 10053-1061.
139. Kaneko, N., Kurata, M., Yamamoto, T., Morikawa, S., & Masumoto, J. (2019). The role of interleukin-1 in general pathology. *Inflammation and Regeneration*, 39(1). doi:10.1186/s41232-019-0101-5
140. Cornet, M., & Gaillardin, C. pH Signaling in Human Fungal Pathogens: a New Target for Antifungal Strategies. *Eukaryotic Cell*. 2014. 13(3). Pp. 342–352.
141. Недельська С.М., Вакула Д.О., Пахольчук О.П. Роль умовно-патогенних грибкових штамів у перебігу atopічного дерматиту у дітей. *Вісник проблем біології і медицини*. Вип.3 (157). 2020. С. 287 – 293.
142. Недельська С.М., Вакула Д.О. Особливості імунного статусу дітей із різною тяжкістю atopічного дерматиту. *Здоров'я дитини*. Т. 16, N. 1. 2021. С. 20- 26.
143. Вакула Д.О. Діагностична значимість рН-метрії шкіри у дітей з atopічним дерматитом. *Всеукраїнська науково-практична «Актуальні питання сучасної медицини і фармації» (до 50- річчя заснування Запорізького державного медичного університету МОЗ України)*. Тези доповідей. 18-30 квітня, 2018. м. Запоріжжя. С. 90.

144. Вакула Д.О. Умови формування та фактори ризику розвитку atopічного дерматиту у дітей раннього віку в Запорізькій області. Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. №2 (115). 2019. С. 67-68.
145. Вакула Д.О. Особливості імунітету у дітей раннього віку з ускладненими формами atopічного дерматиту. XXIII міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених 15- 17 квітня, 2019. м. Тернопіль. С. 163.
146. Вакула Д.О., Недельська С.М. Клінічні варіанти шкірних проявів atopічного дерматиту із вторинним грибковим інфікуванням у дітей раннього віку. Збірник тез доповідей науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019» 13 – 17 травня, 2019. С. 84-85.
147. Вакула Д.О. Роль порушення шкірного бар'єру у дітей раннього віку з atopічним дерматитом. Збірник тез доповідей IV Всеукраїнського З'їзду алергологів України «Актуальні питання виявлення і лікування алергічних захворювань» 23-25 травня 2019. С.21.
148. Vakula D., Pakholchuk O. Features of the clinical course of atopic dermatitis related to the types of breeds of microorganisms in young children. EAACI Congress 2019, 1-5 June 2019, Lisbon, P.766.
149. С. М. Недельська, Д. О. Вакула. Імунний статус у дітей з різною тяжкістю atopічного дерматиту. Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. 2020. N 2. С. 69-70.
150. Вакула Д.О., Йожикова Д.О. Роль інтерлейкіну -4 та інтерлейкіну -13 в залежності від важкості форми atopічного дерматиту у дітей. Збірник тез доповідей «Наукової конференції студентів ЗДМУ – 2021», 5 лютого 2021. С.3.
151. Вакула Д.О., Йожикова Д.О. Роль маркерів запалення ІЛ-1 β та ТНФ- α у дітей раннього віку з atopічним дерматитом. Збірник тез доповідей науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини та фармації – 2021», 15-16 квітня 2021. С. 71.

ДОДАТОК А1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор з науково-педагогічної роботи
 Запорізького державного медичного
 університету
 д.мед.н., професор В.А.Візір
 12 2020 року

АКТ

впровадження у навчальний процес

1. **Назва впровадження:** «Спосіб діагностики та прогнозування розвитку ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей раннього віку».
2. **Установа-розробник, автори:** Запорізький державний медичний університет, 69035 м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26; Недельська С.М., Вакула Д.О.
3. **Джерело інформації:** Роль умовно-патогенних грибкових штамів у перебігу atopічного дерматиту у дітей// Вісник проблем біології і медицини. – 2020. – Вип. 3 (157). – с. 287-293.
4. **Базова установа, що проводить впровадження:** Запорізький державний медичний університет
5. **Термін впровадження:** 2020 н.р.
 В педагогічний процес кафедри факультетської педіатрії ЗДМУ при викладанні лекційного матеріалу та проведенні практичних занять для студентів 4 курсу медичних факультетів за темою «Атопічний дерматит. Харчова алергія.»
6. **Ефективність впровадження:** Впровадження у навчальний процес запропонованої інформації покращило рівні теоретичних та практичних знань щодо сучасних методів діагностики ускладнених форм atopічного дерматиту.
7. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри факультетської педіатрії ЗДМУ

д.мед.н., професор

12 2020 р.

Недельська С.М.

ДОДАТОК А2

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор

КНП «Міська дитяча лікарня №5» ЗМП

Запорожченко А.Г.

«16» 12 2020

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва впровадження: «Спосіб діагностики та прогнозування розвитку ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей раннього віку».
2. Установа-розробник, автори: Запорізький державний медичний університет, 69035 м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26; Недельська С.М., Вакула Д.О.
3. Джерела інформації: Роль умовно-патогенних грибкових штамів у перебігу atopічного дерматиту у дітей// Вісник проблем біології і медицини. – 2020. – Вип. 3 (137). – с. 287-293.
4. Де і коли впроваджено: денного стаціонару соматичного профілю поліклінічного відділення №1
5. Дата початку впровадження: 09.10.20
6. Загальна кількість спостережень: 17
7. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними в джерелі інформації: раннє виявлення та лікування активації мікрофлори шкіри, профілактика ускладнень, зниження ризику хронізації запалення.

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Ефективний результат	85,29%	<u>14/17</u>

8. Зауваження, додатки: немає.

16 12 2020 р.

Відповідальний за впровадження

Завідувач відділення, д.мед.н.

Пахольчук О.П.

ДОДАТОК АЗ



ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор

КНП «Міська дитяча лікарня №5» ЗМР

Запорожченко А.Г.

«16» 12 2020

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Назва впровадження:** «Спосіб діагностики та прогнозування розвитку ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей раннього віку».
- Установа-розробник, автори:** Запорізький державний медичний університет, 69035 м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26; Недельська С.М., Вакула Д.О.
- Джерела інформації:** Роль умовно-патогенних грибкових штамів у перебігу atopічного дерматиту у дітей// Вісник проблем біології і медицини. – 2020. – Вип. 3 (157). – с. 287-293.
- Де і коли впроваджено:** інфекційно-боксіване відділення дітей раннього віку
- Дата початку впровадження:** вересень 2020
- Загальна кількість спостережень:** 17
- Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними в джерелі інформації:** раннє виявлення активізації умовно-патогенної флори, зменшення кількості ускладнень, контроль перебігу atopічного дерматиту.

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Позитивний результат	85,29%	<u>12/17</u>

8. Зауваження, додатки: немає.

16 12 2020 р.

Відповідальний за впровадження

Завідувач відділення

Сліпко В.О.

ДОДАТОК А4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Перший проректор СумДУ
 В.Д. Каріуша
 « 20 » _____ 20____ року



АКТ

впровадження у навчальний процес

1. **Назва впровадження:** «Спосіб діагностики та прогнозування розвитку ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей раннього віку».
2. **Установа-розробник, автори:** Запорізький державний медичний університет, 69035 м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26; Недельська С.М., Вакула Д.О.
3. **Джерело інформації:** Роль умовно-патогенних грибкових штамів у перебігу atopічного дерматиту у дітей// Вісник проблем біології і медицини. – 2020. – Вип. 3 (157). – с. 287-293.
4. **Базова установа, що проводить впровадження:** Медичний інститут Сумського державного університету
5. **Термін впровадження:** 2020
 В педагогічний процес кафедри педіатрії Медичного інституту Сумського державного університету – в учбовий процес при викладанні лекційного матеріалу та проведенні практичних занять.
6. **Ефективність впровадження:** Впровадження у навчальний процес запропонованого методу діагностики ускладнених форм atopічного дерматиту дозволило покращити практичну складову навчання.
7. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Відповідальний за впровадження:
 Зав. каф. педіатрії
 д.мед.н., професор



О.І. Сміян

ДОДАТОК А5



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва впровадження:** «Спосіб діагностики та прогнозування розвитку ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей раннього віку».
2. **Установа-розробник, автори:** Запорізький державний медичний університет, 69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26; Недельська С.М., Вакула Д.О.
3. **Джерела інформації:** Роль умовно-патогенних грибкових штамів у перебігу atopічного дерматиту у дітей// Вісник проблем біології і медицини. – 2020. – Вип. 3 (157). – с. 287-293.
4. **Де і коли впроваджено:** Комунальне некомерційне підприємство дитяча клінічна лікарня Святої Зінаїди Сумської міської ради
5. **Дата початку впровадження:** 09.2020
6. **Загальна кількість спостережень:** 21
7. **Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними в джерелі інформації:** раннє виявлення активізації умовно-патогенної грибової флори, зменшення кількості ускладнень, контроль перебігу atopічного дерматиту.

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Позитивний результат	85,29%	80,9

8. Зауваження, додатки: немає.

«29» 12 2020 р.

Відповідальний за впровадження

Лес (Світлана І.І.)

ДОДАТОК А6

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор Національної
медичної академії післядипломної
освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України
Член-кореспондент НАМН України
професор **Вдовиченко Ю. П.**



12 2020 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ
у навчальний процес

1. **Назва впровадження:** «Спосіб діагностики і прогнозування розвитку ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей раннього віку».
2. **Установа-розробник, автори:** Запорізький державний медичний університет, 69035 м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26; Недельська С.М., Вакула Д.О.
3. **Джерело інформації:** Роль умовно-патогенних грибкових штамів у перебігу atopічного дерматиту у дітей// Вісник проблем біології і медицини. – 2020. – Вип.3 (157). – с. 287-293.
4. **Базова установа, що проводить впровадження:** НМАПО імені П. Л. Шупика
5. **Термін впровадження:** впродовж 2020 року
У навчальний процес кафедри педіатрії №1 НМАПО імені П. Л. Шупика на циклах інтернатури з педіатрії, спеціалізації з дитячої алергології, ТУ «Питання дитячої алергології у педіатрії» при викладанні лекційного матеріалу і проведенні практичних занять за темами: «Харчова алергія. Алергічні ураження органів травлення у дітей» і «Атопічний дерматит у дітей».
6. **Ефективність впровадження:** Впровадження у навчальний процес запропонованої інформації покращило рівні теоретичних та практичних знань щодо сучасних методів діагностики ускладнених форм atopічного дерматиту.
7. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Відповідальний за впровадження:
Завідувачка кафедри педіатрії №1
д.мед.н. професор

Охотнікова О. М.

12 2020 р.

ДОДАТОК А7

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва впровадження: «Спосіб діагностики і прогнозування розвитку ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей раннього віку».
2. Установа-розробник, автори: Запорізький державний медичний університет, 69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26; Недельська С.М., Вакула Д.О.
3. Джерела інформації: Роль умовно-патогенних грибкових штамів у перебігу atopічного дерматиту у дітей // Вісник проблем біології і медицини. – 2020. – Вип.3 (157). – с. 287-293.
4. Де і коли впроваджено: інфекційно-боксоване відділення для дітей молодшого віку НДСЛ «ОХМАТДИТ» 2020 р. _____
5. Дата початку впровадження: 09.2020 р. _____
6. Загальна кількість спостережень: 26 дітей віком від 4 місяців до 3 років _____
7. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними в джерелі інформації: раннє виявлення активізації умовно-патогенної грибової флори, зменшення кількості ускладнень, контроль перебігу atopічного дерматиту.

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Позитивний результат	85,29%	84,3 %

8. Зауваження, додатки: немає.

«25» 12 2020 р.

Відповідальні за впровадження:

Завідувач кафедри педіатрії № 1 НМАПО імені П.Л. Шупика
 Професор

О. М. Охотнікова

Завідувач інфекційно-боксованого відділення
 для дітей молодшого віку

О. Ф. Зарудня

ДОДАТОК А8

ЗАТВЕРДЖУЮ
 Директору КНП
 «Міська дитяча лікарня м. Львова»
 Квіт Д.І.
 « 12 » 12 2020



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ
у лікувальний процес

1. **Назва впровадження:** «Спосіб діагностики та прогнозування розвитку ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей раннього віку»
2. **Установа-розробник, автори:** Запорізький державний медичний університет, 69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26; Недельська С.М., Вакула Д.О.
3. **Джерела інформації:** Роль умовно-патогенних грибкових штамів у перебігу atopічного дерматиту у дітей// Вісник проблем біології і медицини. – 2020. – Вип. 3 (157). – с. 287-293.
4. **Де і коли впроваджено:** КНП «Міська дитяча лікарня м. Львова», алергологічне відділення
5. **Дата початку впровадження:** 09.2020
6. **Загальна кількість спостережень:** 46
7. **Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними в джерелі інформації:** раннє виявлення активізації умовно-патогенної грибкової флори, зменшення кількості ускладнень, контроль перебігу atopічного дерматиту.

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Позитивний результат	85,29%	82,61%

8. Зауваження, додатки: немає.

Відповідальний за впровадження:

Керівник Львівського міського дитячого алергологічного центру, завідувачка кафедри педіатрії №2 Львівського національного медичного університету ім.Д. Галицького д.мед.н., професор Беш Л.В.

БЕШ Леся Василівна
 професор
 керівниця Львівського дитячого алергологічного центру



« 12 » 12 2020 р.

ДОДАТОК А9

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор з науково-педагогічної
роботи
Львівського національного
медичного університету
ім. Данила Галицького
д.мед.н., професор

Гжегоцький М.Р.

«22» 12 2020 року

АКТ

впровадження у навчальний процес

Назва впровадження: «Спосіб діагностики та прогнозування розвитку ускладнених форм атопічного дерматиту у дітей раннього віку»

1. **Установа-розробник, автори:** Запорізький державний медичний університет, 69035 м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26; Недельська С.М., Вакула Д.О.

2. **Джерело інформації:** Роль умовно-патогенних грибкових штамів у перебігу атопічного дерматиту у дітей// Вісник проблем біології і медицини. – 2020. – Вип. 3 (157). – с. 287-293.

3. **Базова установа, що проводить впровадження:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

4. **Термін впровадження:** 09.2020. – 12.2020.

В педагогічний процес кафедри педіатрії №2 Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького при викладанні кафедрою педіатрії №2 лекційного матеріалу та проведенні практичних занять для студентів педіатричного та лікувального факультетів 4-го курсу за темою «Атопічний дерматит та кропив'янка у дітей. Алергічний риніт у дітей. Атопічний марш» та 6-го курсу за темами: «Диференційна діагностика шкірних алергозів у дітей» та «Диференційна діагностика харчової та медикаментозної алергій у дітей».

5. **Ефективність впровадження:** Впровадження у навчальний процес запропонованої інформації дозволило підвищити рівень підготовки студентів, покращило практичну складову навчання.

6. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри педіатрії №2 Львівського національного медичного

університету ім. Д. Галицького д.мед.н., професор Беш Л.В. «22» 12 2020р.

ДОДАТОК А10

ЗАТВЕРДЖУЮ

Григорук М.В. Директор
 «МДП «23» ХМПР
 Григорук В.В. *М.В.*
 «28» 12 2020

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва впровадження: «Спосіб діагностики та прогнозування розвитку ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей раннього віку».
2. Установа-розробник, автори: Запорізький державний медичний університет, 69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26; Недельська С.М., Вакула Д.О.
3. Джерела інформації: Роль умовно-патогенних грибкових штамів у перебігу atopічного дерматиту у дітей// Вісник проблем біології і медицини. – 2020. – Вип. 3 (157). – с. 287-293.
4. Де і коли впроваджено: ХМПР «МДП «23» ХМПР
5. Дата початку впровадження: 21.12.2020
6. Загальна кількість спостережень: 26
7. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними в джерелі інформації: раннє виявлення активізації умовно-патогенної грибової флори, зменшення кількості ускладнень, контроль перебігу atopічного дерматиту.

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Позитивний результат	85,29%	80%

8. Зауваження, додатки: немає.

«28» 12 2020 р.

Відповідальний за впровадження

Григорук М.В.
 зав. кафедри процедурного лікування дітей
 ХМПР, проф. *М.В. Григорук*

ДОДАТОК А11

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

 Проректор з наукової роботи
 Харківського національного
 медичного університету
 проф. В. В. М'ясоєдов
 «19» 05 2021 р.

АКТ впровадження

1. **Найменування пропозиції:**
«Спосіб діагностики та прогнозування розвитку ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей раннього віку».
2. **Ким і коли запропонований:**
Запорізький державний медичний університет, 69035 м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26; Недельська С.М., Вакула Д.О.
3. **Джерело інформації:**
Роль умовно-патогенних грибкових штамів у перебігу atopічного дерматиту у дітей// Вісник проблем біології і медицини. – 2020. – Вип. 3 (157). – с. 287-293.
4. **Де і коли впроваджено:**
Отримані результати впроваджені в педагогічний процес кафедри пропедевтики педіатрії Харківського національного медичного університету – в учбовий процес при викладанні лекційного матеріалу, проведенні практичних занять дисципліни «Пропедевтика педіатрії» для студентів 3 курсу медичних факультетів за темою «Анатомо-фізіологічні особливості, методика дослідження та семіотика захворювань шкіри, підшкірної основи та кістково-м'язової системи у дітей» та в наукову роботу кафедри
5. **Результати застосування методу:** 2020/21 навчальний рік
6. **Ефективність впровадження:**
Впровадження у навчальний процес запропонованого методу діагностики дало змогу покращити рівень підготовки студентів та удосконалити практичну складову навчання.
7. **Зауваження, додатки:**
Рекомендувати впровадження інформації щодо способу діагностики та прогнозування розвитку ускладнених форм atopічного дерматиту у дітей раннього віку в учбовий процес інших навчальних закладів та в наукову роботу.

Відповідальний за впровадження:

Зав. каф. пропедевтики педіатрії №2
 професор



В.А. Клименко

ДОДАТОК Б
СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ
ДИСЕРТАЦІЇ

1. Nedelska S. M., Vakula D. O., Pakholchuk O. P. Cytokines profile (IL-4, IL-13) of children with severe forms of atopic dermatitis versus their grades of severity. *Biological markers in fundamental and clinical medicine*. 2019. Vol. 3, N 2. P. 29–33. (Дисертанткою проведено літературний пошук, статистична обробка результатів та підготовка до друку).
2. Недельська С. М., Вакула Д. О., Пахольчук О. П. Роль умовно-патогенних грибкових штамів у перебігу atopічного дерматиту у дітей. *Вісник проблем біології і медицини*. 2020. Вип. 3. С. 287–293. (Дисертанткою проведено набір хворих, клінічне спостереження, діагностика, лікування, літературний пошук, підготовлено статтю до друку).
3. Недельська С. М., Вакула Д. О. Особливості імунного статусу дітей із різною тяжкістю atopічного дерматиту. *Здоров'я дитини*. 2021. Т. 16, № 1. С. 20–26. (Дисертанткою проведено огляд хворих, літературний пошук, аналіз та статистична обробка даних, підготовлено статтю до друку).
4. Вакула Д. О. Діагностична значимість рН-метрії шкіри у дітей з atopічним дерматитом. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації* (до 50-річчя заснування Запорізького державного медичного університету МОЗ України : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф., -30 квіт. 2018 р. Запоріжжя, 2018. С. 90.
5. Вакула Д. О. Умови формування та фактори ризику розвитку atopічного дерматиту у дітей раннього віку в Запорізькій області. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія*. 2019. № 2 (115). С. 67–68.
6. Вакула Д. О. Особливості імунітету у дітей раннього віку з ускладненими формами atopічного дерматиту. *XXIII міжнародний*

- медичний конгрес студентів та молодих вчених, 15-17 квіт. 2019 р. Тернопіль, 2019. С. 163.*
7. Вакула Д. О., Недельська С. М. Клінічні варіанти шкірних проявів atopічного дерматиту із вторинним грибковим інфікуванням у дітей раннього віку. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019* : зб. тез доп. наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів, 13-17 трав. 2019 р. Запоріжжя, 2019. С. 84–85. *(Дисертанткою проведено набір пацієнтів, клінічне спостереження, діагностика та лікування хворих, літературний огляд та підготовлено тези до друку).*
 8. Вакула Д. О. Роль порушення шкірного бар'єру у дітей раннього віку з atopічним дерматитом. *Актуальні питання виявлення і лікування алергічних захворювань* : зб. тез доп. IV Всеукр. з'їзду алергологів України, 23-25 трав. 2019 р. К., 2019. С. 21.
 9. Vakula D., Pakholchuk O. Features of the clinical course of atopic dermatitis related to the types of breeds of microorganisms in young children. *EAACI Congress 2019, 1-5 June 2019. Lisbon, 2019. P. 766.* *(Дисертанткою проведено обстеження хворих, літературний пошук, статистична обробка та аналіз даних, підготовлено тези до друку).*
 10. Недельська С. М., Вакула Д. О. Імунний статус у дітей з різною тяжкістю atopічного дерматиту. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. 2020. № 2. С. 69–70.* *(Дисертанткою проведено огляд хворих, проведено дослідження, літературний пошук, статистична обробка та аналіз даних, підготовлено тези до друку).*
 11. Вакула Д. О., Йожикова Д. О. Роль інтерлейкіну - 4 та інтерлейкіну- 13 в залежності від важкості форми atopічного дерматиту у дітей. *Наукова конференція студентів ЗДМУ - 2021* : зб. тез доп. в рамках I туру «Всеукраїнського конкурсу студентських наукових робіт з галузей звань і спеціальностей у 2020-2021 н.р.», м. Запоріжжя, 05 лют. 2021 р. Запоріжжя, 2021. С. 31. *(Дисертанткою проведено огляд хворих,*

проведено дослідження, літературний пошук, статистична обробка та аналіз даних, підготовлено тези до друк).

12. Вакула Д. О., Йожикова Д. О. Роль маркерів запалення ІЛ-1 β та ТНФ- α у дітей раннього віку з атопічним дерматитом. *Актуальні питання сучасної медицини та фармації - 2021* : зб. тез доп. наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів, 15-16 квіт. 2021 р. Запоріжжя, 2021. С. 71. *(Дисертанткою проведено огляд хворих, проведено дослідження, літературний пошук, статистична обробка та аналіз даних, підготовлено тези до друку).*

ДОДАТОК В

ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання сучасної медицини і фармації» (до 50- річчя заснування Запорізького державного медичного університету МОЗ України), м. Запоріжжя (2018),
2. Традиційна науково-практична конференція алергологів України у м. Вінниці «Актуальні питання виявлення і лікування алергічних захворювань» (Вінниця, 2018),
3. XX Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання педіатрії» (Сидельниковські читання) (Харків, 2018),
4. XXIII міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2019),
5. Науково-практична конференція з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019» (Запоріжжя, 2019),
6. IV Всеукраїнський з'їзд алергологів України «Актуальні питання виявлення і лікування алергічних захворювань» (Вінниця, 2019),
7. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання та практичні аспекти дитячої пульмонології та алергології: стандарти медичної допомоги» (Київ, 2019),
8. VII Всеукраїнська науково-практична конференція алергологів Слобожанщини «Актуальні питання виявлення та лікування алергічних захворювань» (Харків, 2019),
9. European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress 2019 (Lisbon, 2019),
10. «Наукова конференція студентів ЗДМУ – 2021» (Запоріжжя, 2021), Науково-практичній конференції з міжнародною участю молодих

вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини та фармації – 2021» (Запоріжжя, 2021).