

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
імені О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

**Мозирська Олена Вікторівна**



УДК 616.248-053.2-036.1-085:575.113

**АТОПІЧНИЙ ДЕРМАТИТ У ДІТЕЙ З ПОЛІМОРФІЗМАМИ ГЕНІВ  
РЕЦЕПТОРІВ РОЗПІЗНАВАННЯ ПАТЕРНУ: КЛІНІЧНИЙ ПЕРЕБІГ,  
ЛІКУВАННЯ ТА ПРОГНОЗ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ПРОФІЛЮ  
СЕНСИБІЛІЗАЦІЇ**

14.01.10 – Педіатрія

Реферат

дисертації на здобуття наукового ступеня  
доктора медичних наук

**Київ – 2023**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця МОЗ України.

**Офіційні опоненти:**

доктор медичних наук, ст.н.с. **Речкіна Олена Олександрівна**  
(завідувач відділення дитячої пульмонології та алергології ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології імені Ф.Г. Яновського НАМН України»);

доктор медичних наук, професор **Шарікадзе Олена Вікторівна**  
(директор Інституту післядипломної освіти та безперервного професійного розвитку Національного університету охорони здоров'я України ім. П.Л. Шупика, професор кафедри педіатрії, дитячих інфекційних хвороб, імунології та алергології Національного університету охорони здоров'я України ім. П.Л. Шупика);

доктор медичних наук, доцент **Мацюра Оксана Іванівна**  
(доцент кафедри педіатрії №2 Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, м. Львів, Україна)

Захист відбудеться « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2023 року о \_\_\_\_ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради (D 26.003.04) при Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця МОЗ України за адресою: 01601, м. Київ, бульвар Шевченка, 13.

З дисертацією можна ознайомитись у науковій бібліотеці Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України (03057, м. Київ, вул. Зоологічна, 1).

Учений секретар  
спеціалізованої вченої ради  
д.м.н., професор

Гишак Т.В.

## Актуальність проблеми

Атопічний дерматит (АД) – хронічне рецидивуюче запальне захворювання шкіри. За останні 30 років поширеність АД у промислово розвинених країнах збільшилась втричі [Волосовець О, 2021, Chovatiya, R, 2023, Bratu D, 2023] і в даний час вражає до 30 % дітей і 10 % дорослих. Незважаючи на поширеність АД та його вплив на охорону здоров'я, патогенез АД залишається мало вивченим.

Шкірна сенсibilізація алергенами є одним з найважливіших початкових етапів у патогенезі АД [Marini, A, 2023, Angelova-Fischer I, 2014]. Пошкоджений епідермальний бар'єр, у поєднанні із свербіжем та розчухуванням при атопічній екземі, дозволяє проникнути цілим та роздробленим клітинам, що активують вроджений імунітет та сенсibilізують адаптаційний імунітет у цих пацієнтів [Osinka, K, 2018]. Конституційні генетичні дефекти у формуванні шкірного бар'єру можуть посилюватися дією патогенів або коменсальних організмів, таких як *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) або дріжджі *Malassezia* [Gaitanis, G, 2012]. Було показано, що у 30-80 % дорослих пацієнтів і у 5-27 % дітей з АД спостерігається сенсibilізація до *Malassezia* [Johansson, C, 2003]. Потребує вивчення питання щодо механізмів розвитку та значення сенсibilізації до *Malassezia* у дітей, хворих на АД.

Роль рецептора *Дектину-1*, лектинового рецептора С-типу, в розвитку сенсibilізації до кліщів домашнього пилу (КДП) та грибів багато вивчалась і була продемонстрована в дослідженнях [Overton NL, 2017, Joо H, 2018]. В дослідженні Gour N [Gour N, 2018] продемонстровано порушення захисної реакції, опосередкованої *Дектином-1*, пов'язане з генетичним варіантом у гені *Дектину-1*, асоційоване з погіршеною функцією легень. Імовірно, поліморфізми в гені *Дектин-1* можуть відігравати роль в порушеному розпізнаванні антигенів та розвитку сенсibilізації, і їх роль необхідно дослідити.

Ліпопротеїни *S. aureus* служать лігандом для Тол-подібних рецепторів (TLR) TLR2 та індукують запалення [Iwamoto K, 2019]. Деякі автори припускають, що TLR є посередниками взаємодії між клітинами *Malassezia* або їх імуногенними білками та клітинами людини. Було виявлено, що TLR2, зокрема, можуть розпізнавати компоненти дріжджів *Malassezia* [Baker BS, 2006]. Дані Salpietro C [Salpietro C, 2011] говорять про те, що алель гена *TLR2* – 16934 може бути генетичним фактором сприйнятливості до АД. Потребує подальшого дослідження роль даного поліморфізму в порушенні імунної відповіді до *S. aureus* як важливої ланки патогенезу АД.

У попередніх дослідженнях показана ефективність протигрибкової терапії при інфекціях, викликаних *Malassezia* [Galvis-Marín JC, 2016, Park M, 2021, Tao R, 2022], та антибактеріальної терапії при ураженні шкіри *S. aureus* [Gough 2022, Hwang J, 2021]. Також показна ефективність АСІТ терапії препаратами КДП у хворих на бронхіальну астму (БА) [Novak N, 2021]. Але бракує досліджень щодо ефективності такої додаткової терапії та впливу на покращення якості життя у дітей з АД, з оцінкою впливу поліморфізмів генів рецепторів розпізнавання патернів на ефективність даної терапії. Невирішеність висвітлених вище питань послугувала для постановки завдань, визначення дизайну дослідження та його проведення.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами**

Дисертаційна робота є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри педіатрії №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця «Оптимізація діагностики та лікування алергічних захворювань у дітей з коморбідними станами» (№ 0116U002414), «Діагностика та лікування алергічних захворювань у дітей» (№ 0123U101121).

#### **Мета дослідження**

Підвищення ефективності лікування та покращення клінічного перебігу у дітей з АД з урахуванням поліморфізмів в гені Дектин-1 та TLR2 у залежності від профілю сенсibilізації.

#### **Завдання дослідження:**

1. Вивчити клінічні особливості перебігу АД у дітей.
2. Вивчити наявність сенсibilізації до алергенів КДП, алергенів грибів *Malassezia* та харчових алергенів у дітей з АД.
3. Вивчити колонізацію шкіри *S. aureus* та видами *Malassezia* за допомогою ПЛР у дітей з АД.
4. Вивчити поліморфізм в гені Дектин-1 у дітей, хворих на АД і його вплив на перебіг захворювання, профіль сенсibilізації та ефективність лікування АД.
5. Вивчити поліморфізм в гені TLR2 у дітей, хворих на АД і його вплив на перебіг захворювання, профіль сенсibilізації та ефективність лікування АД.
6. Розробити та впровадити алгоритм індивідуальної патогенетичної терапії пацієнтів з АД в залежності від варіантів поліморфізмів в генах Дектин-1 та TLR2 та наявного профілю сенсibilізації.
7. Оцінити якість життя дітей, хворих на АД та визначити шляхи її покращення.

#### **Наукова новизна отриманих результатів**

Вперше досліджено патогенетичні механізми розвитку АД у дітей, що пов'язані з генетичними факторами порушення розпізнавання патогенів, факторами колонізації та сенсibilізації. На основі отриманих даних здійснено теоретичне обґрунтування та запропоновано новий практичний підхід до удосконалення методів діагностики, формування груп ризику, визначення предикторів важкого фенотипу АД і розвитку супутньої респіраторної патології та обґрунтування застосованих схем терапії АД у дітей.

Вперше було вивчено зв'язок наявності сенсibilізації до *Malassezia* та клінічними параметрами захворювання: віком маніфестації, ступенем тяжкості, наявності супутніх алергічних захворювань, локалізації «голова-шия», віком, статтю. Вперше було показано, що сенсibilізація до *Malassezia* частіше спостерігалась у дітей з раннім фенотипом, достовірно пов'язана з АД типу «голова-шия» і може служити маркером більш важкої форми захворювання.

Вперше було вивчено зв'язок наявності сенсibilізації до КДП і клінічними та лабораторними параметрами захворювання: віком маніфестації, ступенем тяжкості, наявності супутніх алергічних захворювань, показниками загального IgE, віком, статтю. Вперше було показано, що сенсibilізація до КДП обумовлює важкий фенотип захворювання, вищі показники загального IgE, більшу тривалість

захворювання і достовірно частіше викликає супутню респіраторну алергію – БА та алергічний риніт (АР).

Вперше було досліджено наявність 6 видів *Malassezia* на шкірі методом ПЛР та зв'язок з наявністю АД, віком, статтю. Була виявлена різниця серед здорових і дітей, хворих на АД, та залежно від статі: виявлено переважання *Malassezia globosa* над *Malassezia restricta* серед дітей з АД, зокрема серед хлопчиків, що обумовлено різною активністю сальних залоз і вмістом жирних кислот в шкірі. Вперше було досліджено вплив колонізації шкіри *S. aureus* на більшу тривалість та тяжчий перебіг захворювання.

Вперше досліджено роль поліморфізму гена Дектин-1 в розвитку та перебігу АД у дітей. Вперше було показано, що генотип GG rs7309123 гена Дектин-1 виявляється частіше у дітей, хворих на АД. Вперше було показано зв'язок поліморфізму rs7309123 гена Дектин-1 і підвищеного загального IgE та специфічного IgE КДП.

Вперше досліджено роль поліморфізму гена TLR2 у розвитку та перебігу АД у дітей. Вперше продемонстровано, що наявність поліморфізму rs4696480 в гені TLR2 сприяє більш тяжкому фенотипу АД, харчовій сенсibiliзації та носійству або інфекції *S. aureus*.

Вперше на основі багатофакторного лінійного регресійного аналізу демографічних, лабораторних, генетичних факторів встановлено, що предикторами важкого перебігу АД є наявність патологічної гомозиготи поліморфізму rs7309123 в гені Дектин-1.

Розроблено алгоритм комплексної терапії АД з урахуванням наявності патологічного гомозиготного генотипу поліморфізмів rs7309123 в гені Дектин-1 та rs4696480 в гені TLR2 і профілю сенсibiliзації. Запропоновано, обґрунтовано і доведено ефективність удосконаленої схеми терапії АД з додаванням до стандартної схеми антимікотичних, антибактеріальних препаратів та алергенспецифічної імунотерапії.

### **Практичне значення отриманих результатів**

Запропоновані нові критерії щодо групи ризику серед дітей з АД щодо розвитку важкого фенотипу, харчової алергії та супутньої респіраторної алергії. Це дозволить провести корекцію лікування в даній групі хворих з метою попередження подальшого прогресування захворювання. Запропоновано дітей з ранньою маніфестацією, обтяженим алергологічним батьківським анамнезом віднести до групи ризику щодо важкого і персистентного захворювання, розвитку харчової алергії та супутньої респіраторної патології.

Запропоновано алгоритм діагностики АД, що базується на оцінці наявності генетичних факторів ризику і обтяжуючих факторів колонізації *Malassezia*, *S. aureus*, та сенсibiliзації до харчових алергенів, *Malassezia* і КДП. На основі цього запропоновано виділяти групи хворих для подальшої корекції терапії з урахуванням даних факторів. З метою підвищення ефективності терапії АД рекомендовано при виявленні сенсibiliзації до дріжджів роду *Malassezia* застосування протигрибкових засобів кетоконазолу 2 % крему та піритіону цинку; у хворих з колонізацією шкіри *S. aureus* рекомендовано застосування антибактеріальної терапії – мупіроцину 2 % крему або тиротрицину гелю. Обґрунтовано та рекомендовано до застосування в

комплекс лікування АД у дітей з сенсibiliзацією до КДП алергенспецифічної імунотерапії з екстрактом пилового кліща. Такий мультифакторіальний вплив дозволить покращити ефективність стандартної терапії, попередити прогресування АД і розвиток БА та АР у дітей.

Зазначений алгоритм забезпечить персоніфікований підхід до терапії з урахуванням індивідуального фенотипу захворювання дитини, виділення груп хворих у залежності від наявних генетичних маркерів поліморфізмів генів рецепторів розпізнавання патернів rs7309123 в гені Дектин-1 та rs4696480 в гені TLR2, які, як доведено, отримують найбільшу користь від додаткових методів лікування.

### **Впровадження результатів дослідження в практику**

Результати дослідження впроваджені в практику роботи КНП «1 Територіального медичного об'єднання м. Львова», ВП «Лікарня святого Миколая», КНП «Чернівецької обласної дитячої клінічної лікарні», КП Полтавської обласної дитячої клінічної лікарні імені М.В. Скліфосовського Полтавської обласної ради, КНП «Запорізької обласної клінічної дитячої лікарні» Запорізької обласної ради», КНП «Обласної дитячої клінічної лікарні» Харківської обласної ради».

Наукові розробки та результати дисертації використовуються в учбовому процесі кафедри педіатрії №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, кафедри педіатрії №2 Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедри педіатрії та дитячих інфекційних хвороб Буковинського державного медичного університету, кафедри госпітальної педіатрії Запорізького державного медичного університету, кафедри педіатрії №2 Полтавського державного медичного університету, кафедри педіатрії №1 та медичної генетики Дніпровського державного медичного університету, кафедри педіатрії №1 та неонатології Харківського національного медичного університету.

### **Особистий внесок здобувача**

Дисертаційна робота є самостійним завершеним науковим дослідженням. Автором проаналізовано спеціальну літературу з обраної теми, проведено експертний аналіз проблеми, визначено об'єкт дослідження. Автором самостійно проведено відбір хворих та сформовано групи, здійснено клінічне спостереження, виконано первинну обробку результатів клінічних, лабораторних, інструментальних методів, особисто проведено лікування всіх хворих дітей з подальшим довгостроковим спостереженням. Дисертантом систематизовано і узагальнено одержані результати дослідження, проведено статистичний аналіз, на підставі чого були підготовлені до друку наукові праці, написані та оформлені всі розділи дисертації, сформульовані висновки, розроблені практичні рекомендації. У наукових роботах за темою дисертації, опублікованих у співавторстві, реалізовані наукові ідеї здобувача, немає конфлікту інтересів, не використані матеріали та висновки захищеної кандидатської дисертації.

### **Апробація результатів дисертації**

Основні положення дисертації доповідались на засіданні кафедри педіатрії №2 НМУ імені О.О. Богомольця, Науково-практичній онлайн-конференції з міжнародною участю «Міждисциплінарні підходи до діагностики та лікування дитячих хвороб» (м. Київ 22-23 квітня 2021 р.), XVIII Всеукраїнській науково-

практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання вищої медичної (фармацевтичної) освіти: виклики сьогодення та перспективи їх вирішення» (м. Тернопіль 20-21 травня 2021 року), науковій конференції «Київські алергологічні дні» (м. Київ, 26-27.03.2021), European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress 2021 digital (10-12 червня 2021 р, м. Краків, Польща, онлайн), XXIII Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання педіатрії» (Сидельниковські читання) (м. Київ, 15–17 вересня 2021 року), I науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні мультидисциплінарні питання перинатології, неонатології та педіатрії: клінічні і правові аспекти (19-20 жовтня 2021 р.), XV Конгресі педіатрів (м. Київ, 12-13 жовтня 2021 р.), науково-практичній конференції з міжнародною участю «ІПП-2022: Інтернаціональна платформа інтегративної педіатрії» (м. Київ, 3-4 березня 2022 р.), BNC PRM 2022 (м. Тарту, Естонія 9-11 червня 2022 р., онлайн), European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress 2022 (м. Прага, Чеська Республіка, 1-3 червня 2022 р.), XXIV Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання педіатрії» (Сидельниковські читання) (м. Київ, 15-16 вересня 2022 року), IV Міжнародному педіатричному конгресі «Здоров'я дитини» (м. Львів, 30 вересня – 1 жовтня 2022 року), науковій конференції «Київські алергологічні дні» (м. Київ, 21-22 жовтня 2022 року), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання інфекційних хвороб у дітей» (м. Київ, 30 березня 2023 р.), науковій конференції «Київські алергологічні дні» (7-8 квітня 2023 р.), науково-практичній конференції «Інтернаціональна платформа інтегративної педіатрії-2023», присвяченої пам'яті академіка В.Г. Майданника (м. Київ, 19-20.04.2023), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання та практичні аспекти дитячої пульмонології та алергології: стандарти медичної допомоги» (м. Київ, 27-28 квітня 2023 р.) European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress 2023 (онлайн, 9-11 червня 2023 р.).

### **Публікації**

За матеріалами дисертації опубліковано 24 наукових праці, з них 12 статей індексованих у наукометричній базі Scopus (6 статей – Q4, 6 статей – Q0), 11 статей у наукових фахових журналах, рекомендованих МОН України, 1 стаття у виданнях, індексованих у міжнародних наукометричних базах.

### **Структура та обсяг дисертації**

Дисертація складається з анотацій українською та англійською мовами, змісту, переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, матеріалу та методів дослідження, 5-ти розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій. Перераховані розділи займають 301 сторінку. Інші сторінки – список літератури (29 вітчизняних та 463 іноземних джерела). Дисертація містить 53 таблиці та 142 рисунки.

## **Основний зміст роботи**

### **Матеріали та методи дослідження**

Для досягнення поставленої мети і вирішення завдань дослідження нами обстежено та проліковано 116 дітей віком від 3 місяців до 18 років з АД. Групу

контролю склали 103 здорових дитини відповідного віку без обтяженого алергологічного анамнезу. Дослідження проводились на основі Гельсінської Декларації Всесвітньої Медичної Асоціації і правил якісної медичної практики, добровільної участі, інформування пацієнтів про характер дослідження.

Усі хворі основної групи перебували на стаціонарному лікуванні або звертались амбулаторно в алергологічному відділенні Київської міської дитячої клінічної лікарні №2 протягом 2020-2022 рр. Основну групу склали 59 хлопчиків, медіана віку 7 [4;10], та 57 дівчат, медіана віку 5 [2,5;8]. У групі контролю було 49 хлопчиків, медіана віку 6 [5;8], та 52 дівчинки, медіана віку 7 [5;11]. Віковий склад основної та контрольної групи статистично достовірно не відрізнявся ( $p > 0,05$ ).

Діагноз АД верифіковано згідно з уніфікованим клінічним протоколом первинної, вторинної (спеціалізованої), третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги «Атопічний дерматит» (УКПМД) (Наказ МОЗ України від 04.07.2016 № 670) та згідно з запропонованими критеріями G.M. Hanifin, G. Rajka, які були доповнені Британською групою спеціалістів та прийняті в 1994 р. як міжнародні клінічні рекомендації [Williams HC, 1994]. Ступінь важкості АД визначався за шкалою SCORAD. Діагноз БА верифіковано згідно з протоколом діагностики та лікування БА у дітей (Наказ МОЗ України від 23.12.21 № 2856) та рекомендаціями глобальної стратегії лікування та профілактики БА GINA (Global Initiative for Asthma, перегляд 2022 року). Діагноз АР верифіковано згідно з протоколом діагностики та лікування АР у дітей (Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги алергічний риніт, 2017).

Включеним у дослідження дітям проведено такі методи обстеження: клініко-анамнестичний, в тому числі з використанням опитувальників за дитячим дерматологічним індексом якості життя (CDLQI), дерматологічним індексом якості життя немовлят (IDQOL), сімейним дерматологічним індексом якості життя (FDLQI), лабораторні (загальний аналіз крові, загальний аналіз сечі, бактеріологічне дослідження шкіри на наявність *S. aureus*, імунологічне дослідження (загальний та специфічний IgE до алергенів *Malassezia* та КДП, харчових алергенів), визначення наявності поліморфізму rs7309123 в гені *Дектин-1*, rs4696480 в гені *TLR2*, ідентифікація видів *Malassezia* на шкірі за допомогою ПЛР, статистичні методи.

Рівень специфічного IgE (sIgE) у сироватці крові визначався в два етапи: когорті з 333 дітей за допомогою мультиплексного тесту ALEX 2 (Allergy Explorer (ALEX®; MacroArray Diagnostics, Wien, Austria) [Heffler, E., 2018, Celakovska, J., 2021]. Далі когорті з 51 дитини було визначено специфічний IgE до *Malassezia* імунохемілюмінесцентним методом на приладі ImmunoCAP 100 (Thermo Fisher Scientific Inc., Phadia, Швеція) із застосуванням відповідних реагентів.

З метою визначення видів *Malassezia* на шкірі проведено генотипування в основній і контрольній групі за допомогою ПЛР в реальному часі. З метою визначення *S. aureus* на шкірі проведено бактеріологічний посів шляхом взяття зішкрябу з ураженої ділянки. Ідентифікація каталазопозитивних колоній виконувалась на бактеріологічному аналізаторі Vitek2compact.

Для визначення поліморфізмів rs7309123 в гені *Дектин-1* та rs4696480 в гені *TLR2* виконано генотипування поліморфізму в основній і контрольній групі за допомогою ПЛР в реальному часі.

З метою оцінки ефективності додавання до стандартної терапії препарату піритіону цинку (ПЦ) пацієнтів випадковим чином було розділено на дві групи: групу, що отримувала лікування кремом 0,2 % ПЦ на уражені ділянки шкіри 2 рази на день 3 тижні та необхідними симптоматичними засобами (основна група, n=31) та контрольну групу (n=31), що отримувала лише симптоматичну терапію.

З метою вивчення ефективності кетоконазолу 2 % крему в лікуванні АД у дітей як додаткової терапії пацієнтів випадковим чином було розділено на дві групи: групу, що отримувала лікування кетоконазолом кремом 2 % на уражені ділянки шкіри 2 рази на день 3 тижні та необхідними симптоматичними засобами (основна група, n=28) і контрольну групу (n=26), що отримувала лише симптоматичну терапію.

Для оцінки ефективності додавання до стандартної терапії препарату 2 % крему мупіроцину пацієнтів випадковим чином було розділено на дві групи: групу, що отримувала лікування кремом 2 % мупіроцину на уражені ділянки шкіри 2 рази на день 10 днів та необхідними симптоматичними засобами (основна група, n=19) і контрольну групу (n=18), що отримувала лише симптоматичну терапію.

З метою оцінки ефективності застосування тиротрицину як додаткової терапії в лікуванні АД було проведено 7-денне дослідження з залученням 37 дітей: пацієнтів випадковим чином було розділено на дві групи – групу, що отримувала 2 % тиротрицин у гелі на уражені ділянки шкіри 2 рази на день та необхідними симптоматичними засобами (основна група, n=18) і контрольну групу (n=19), що отримувала лише симптоматичну терапію.

З метою оцінки ефективності застосування АСІТ терапії екстрактом КДП як додаткової терапії в лікуванні АД у дітей з сенсibiliзацією до КДП було проведено 24-місячне дослідження. 26 хворих на АД були включені в дослідження та рандомним шляхом розділені на дві групи – 12 хворих отримувало лікування СЛІТ мікст-алергенами побутовими ТОВ «Імунолог» (Україна) і необхідними симптоматичними засобами, та 14 увійшло до контрольної групи, що отримували лише симптоматичну терапію.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою статистичного пакету IBM SPSS Statistics Base (версія 22) та програмного забезпечення EZR версія 1.32 (графічний інтерфейс середовища R (версія 2.13.0)). Для оцінки кореляційного зв'язку між показниками використовувався коефіцієнт кореляції Пірсона для даних, розподіл яких не відрізняється від нормального, або Спірмена для даних, розподіл яких відрізняється від нормального ( $\rho$ ). Для перевірки розподілу частот генотипів згідно закону розподілу Харді-Вайнберга використовували SNPAnalyzer. Асоціацію кожного з поліморфізмів із ризиком виникнення АД досліджували за допомогою тесту  $\chi^2$  та визначенням відношення шансів (ВШ). Для аналізу можливих факторів, пов'язаних із тяжкістю АД, було проведено багатофакторний аналіз. Використовувався ROC-аналіз із побудовою характеристичної кривої (ROC-curve, receiver operator characteristic curve). Відмінність в ефективності терапії між двома підгрупами до і після лікування визначалась за допомогою критерію Вілкоксона та вважалась статистично значущою на рівні  $p < 0,05$ , вплив параметрів на ефективність лікування визначався за допомогою ВШ.

### Результати дослідження

З метою оцінки поширеності харчової алергії (ХА), та визначення асоціації ХА та анамнестичних і клінічних параметрів АД, було обстежено 116 дітей з АД. Кількість дітей, що мала харчову сенсibilізацію та прояви ХА, склала 23 дитини (19,8 %) (рис. 1).

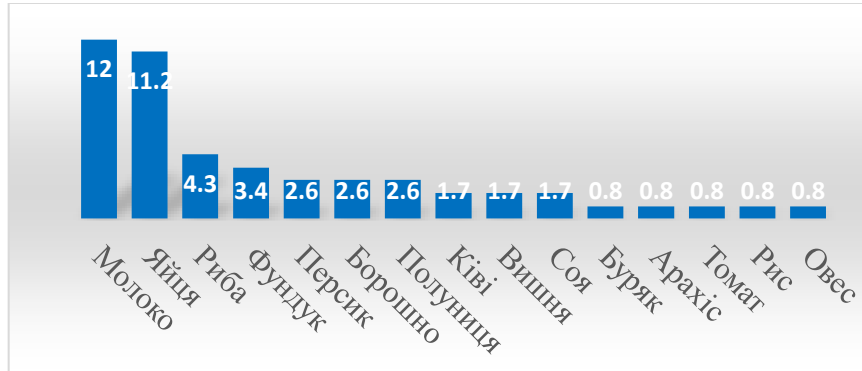


Рис. 1. Поширеність сенсibilізації до харчових алергенів у дітей, хворих на АД (%).

ХА достовірно частіше зустрічалась у дітей з середньотяжким та тяжким АД, ніж у групі хворих з легким АД ( $\chi^2=7,555$ ,  $p<0,05$ ). У групі дітей з ХА відмічався більш ранній початок захворювання на АД ( $p<0,05$ ). Діти з atopічними захворюваннями в анамнезі у батьків достовірно частіше мали супутню ХА ( $\chi^2=12,831$ ,  $p<0,05$ ), що свідчить про важливість обтяженого анамнезу як прогностичного маркера розвитку харчової сенсibilізації.

З метою порівняння показників сенсibilізації до *Malassezia* у дітей з АД та в популяції дітей з сукупністю АЗ, рівень специфічних IgE до *Malassezia* spp. визначали у великій когорті з 333 дітей за допомогою мультиплексного тесту ALEX 2, далі – у 51 дитини основної групи.

Серед дітей з atopією специфічний IgE до Mala s 5 виявлено у 67 дітей (20,1 %), до Mala s 6 – у 215 дітей (64,6 %), до Mala s 11 – у 77 дітей (23,1 %). Ці дані говорять про суттєве поширення сенсibilізації до *Malassezia* у дітей з atopічними захворюваннями. Розподіл класів сенсibilізації представлено на рисунку 2.

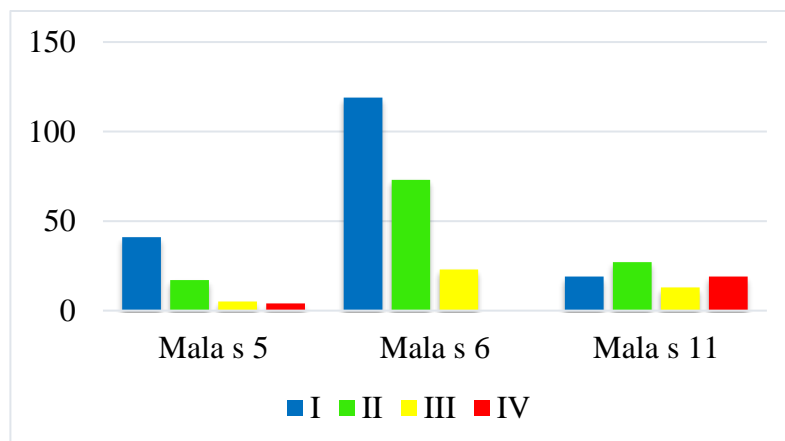


Рис. 2. Розподіл класів сенсibilізації до молекулярних компонентів *Malassezia* серед дітей з atopією.

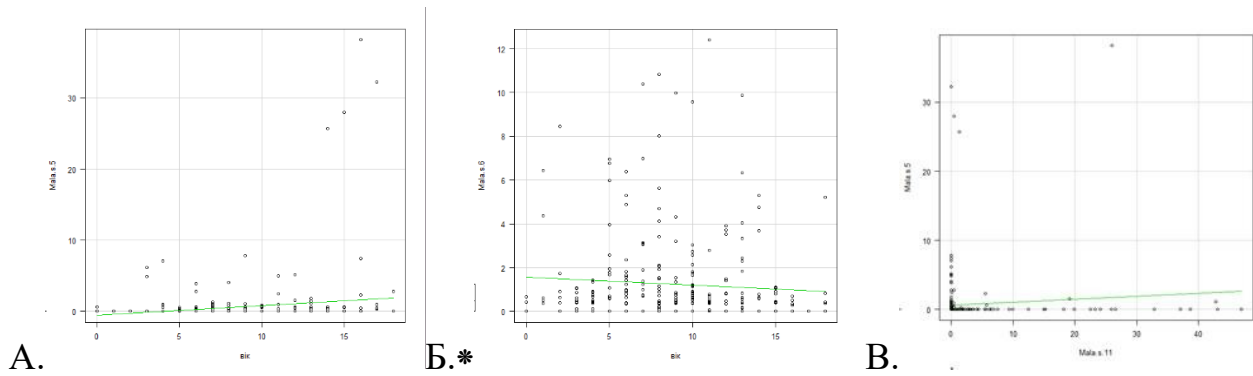


Рис. 3. Кореляція специфічного IgE до молекулярних компонентів та віку: А. для Mala s 5, Б. для Mala s 6, В. для Mala s 11.

Примітка. \* –  $p < 0,05$

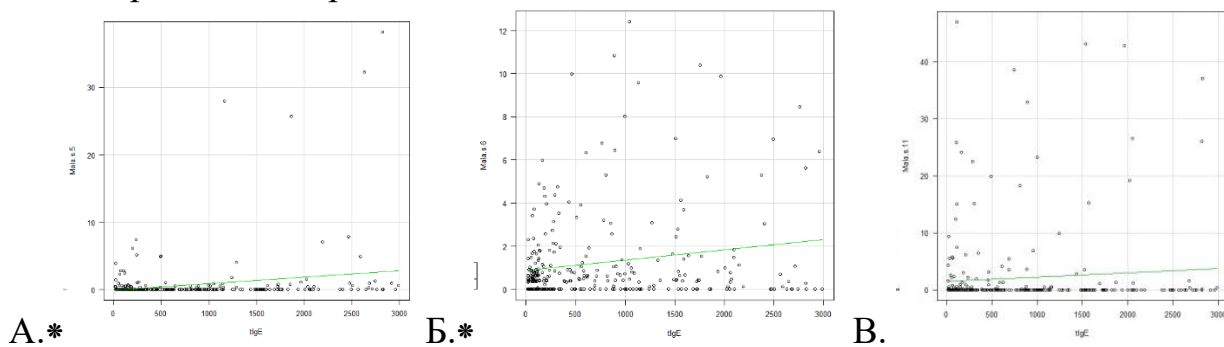


Рис. 4. Кореляція специфічного IgE до молекулярних компонентів та загального сироваткового IgE: А. для Mala s 5, Б. для Mala s 6, В. для Mala s 11.

Примітка. \* –  $p < 0,05$

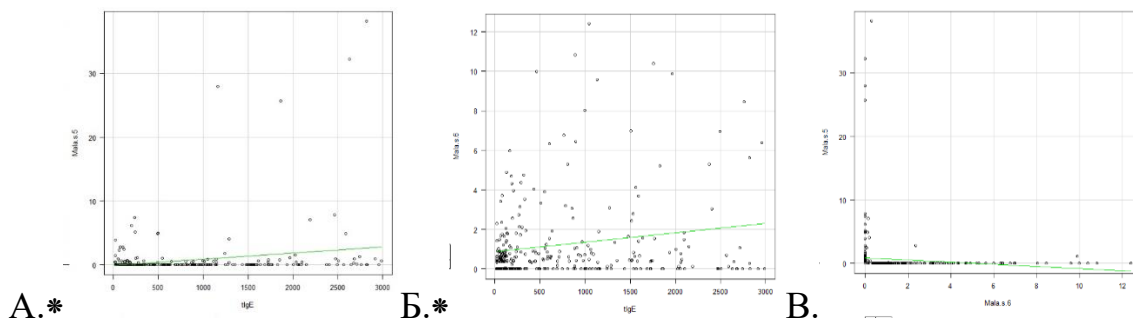


Рис. 5. Кореляція специфічного IgE до молекулярних компонентів: А. для Mala s 5 та Mala s 6, Б. для Mala s 6 та Mala s 11, В. для Mala s 11 та Mala s 5.

Примітка. \* –  $p < 0,05$

Рівень антитіл до Mala s 5 та Mala s 6 корелюють з загальним сироватковим IgE ( $\rho = 0,161$  та  $\rho = 0,112$  відповідно), також виявлено зворотній кореляційний зв'язок між рівнем специфічного IgE до Mala s 11 та до Mala s 6 ( $\rho = -0,351$ ), та Mala s 5 і Mala s 6 ( $\rho = -0,490$ ). Кореляція специфічного IgE та віку була виявлена для молекулярного компоненту Mala s 6 – слабкий зворотній зв'язок ( $\rho = -0,126$ ). Не було виявлено кореляції між віком та загальним IgE в сироватці крові, що свідчить про відсутність кореляції показників сенсibilізації до *Malassezia* та віку при дослідженні методом ALEX2 (рис. 3-5).

Сенсибілізація до Mala s 6 була найбільш поширеною серед дітей. Найвищі значення показника sIgE спостерігалися до Mala s 11 – у 23,9 % пацієнтів. Це може свідчити про те, що білок Mala s 11 має найбільший алергенний потенціал.

У дітей, що мали сенсибілізацію до *Malassezia*, також було виявлено супутню сенсибілізацію до плісняви, пилку, тварин, кліщів домашнього пилу, продуктів харчування тощо. Отже, ця група дітей має суттєву полісенсибілізацію. Графічне зображення супутньої сенсибілізації у дітей, чутливих до *Malassezia*, представлено на рис. 6.

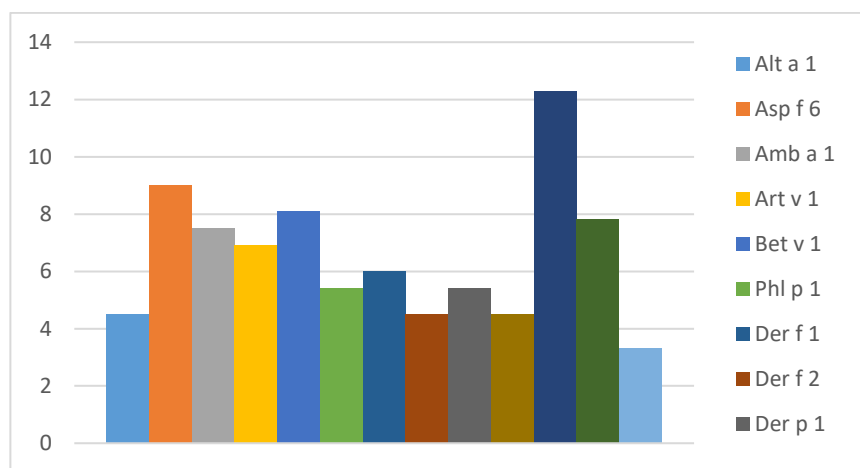


Рис. 6. Поширення супутньої сенсибілізації у дітей, сенсибілізованих до *Malassezia*.

Далі IgE сироватки до *Malassezia* оцінювали в основній групі у 51 дитини методом Immunosar (рис. 7). Отримані дані свідчать про достатньо високу поширеність сенсибілізації до дріжджового гриба у дітей з АД.

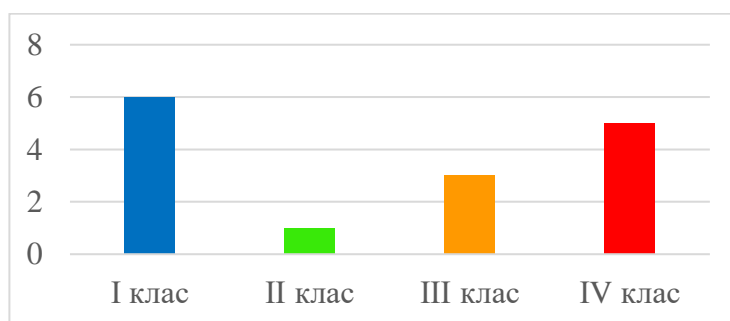


Рис. 7. Розподіл дітей основної групи в залежності від класу сенсибілізації до *Malassezia*.

Вищий рівень IgE до *Malassezia* spp. був маркером більш важкої форми АД у дітей. Вік або стать пацієнта не корелювали з IgE до *Malassezia*. Сенсибілізація до *Malassezia* достовірно частіше спостерігалася у дітей з раннім фенотипом АД (рис. 8). Ми виявили значний зв'язок АД типу «голова-шия» зі специфічним IgE до *Malassezia* (ВШ=7,77, ДІ 1,95-30,95,  $p < 0,05$ ). Таким чином, сенсибілізація до *Malassezia* є достатньо поширеною серед дітей, хворих на АД, і найбільш імовірно, розвивається внаслідок порушеного епідермального бар'єру, та призводить до погіршення тяжкості захворювання.

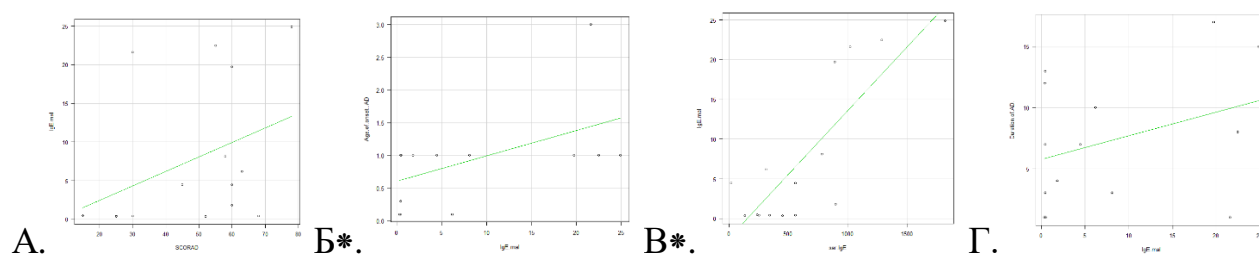


Рис. 8. Кореляція *Malassezia* spp.-специфічного IgE у дітей, хворих АД, та показника SCORAD (А), віку початку АД (Б), рівня загального IgE (В), тривалості АД (Г).

Примітка. \* –  $p < 0,05$

Рівень специфічного IgE до КДП визначали 101 хворому, включеному в дослідження. Сенсibiliзація до КДП була виявлена у 49 (48,5 %) дітей, у 52 (51,5 %) хворих на АД результат був негативний. Діти, чутливі до КДП, мали переважно важкий фенотип захворювання ( $p < 0,001$ ), вищі показники загального IgE ( $p < 0,001$ ) та більшу тривалість захворювання ( $p = 0,013$ ) (рис. 9). Також було продемонстровано, що в групі дітей, чутливих до КДП, достовірно частіше зустрічалась респіраторна алергія – БА та АР (ВШ=7,237, ДІ 1,514-34,598) (рис. 10). Це демонструє, що трансепідермальний шлях сенсibiliзації до пилових кліщів є важливим етапом атопічного маршу та розвитку респіраторної алергії.

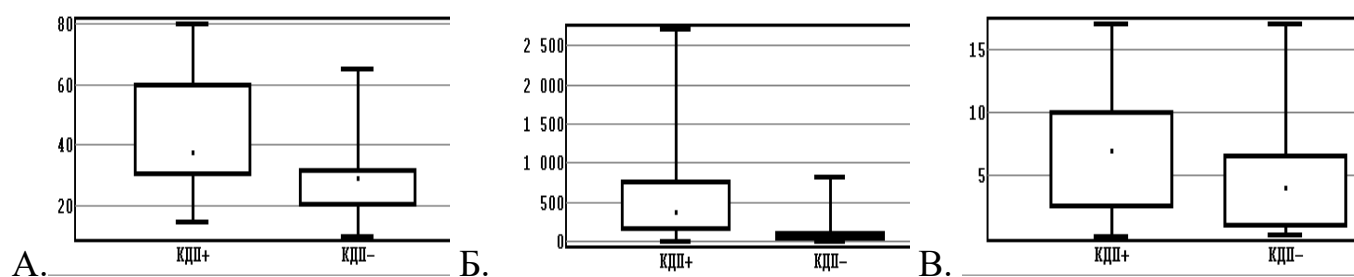


Рис. 9. Порівняння показника SCORAD (А), показника загального IgE (Б), тривалості захворювання (В) в двох групах дітей в залежності від наявності sIgE до КДП,  $p < 0,05$ .

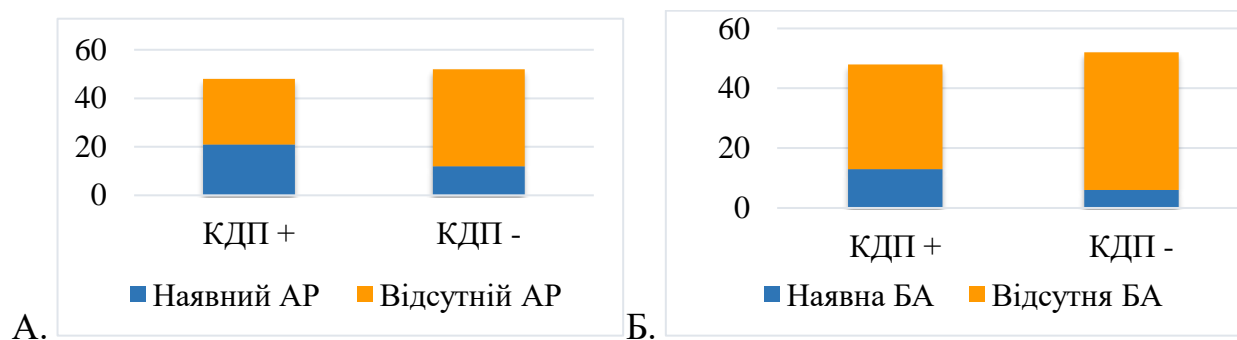


Рис. 10. Розподіл дітей, хворих на АД, в групі з сенсibiliзацією до КДП та без неї в залежності від наявності АР (А) та БА (Б).

Колонізація шкіри *S. aureus* значно переважає у дітей, хворих на АД, ніж у здорових (ВШ=3,974, ДІ 1,861-8,486): серед дітей, хворих на АД, 44 % мали позитивний посів на *S. aureus*, в контрольній групі у 17 % дітей виявлено колонізацію *S. aureus* (рис. 11). Діти з наявною колонізацією *S. aureus* були старші за дітей, у котрих висівалась нормальна мікрофлора ( $p<0,05$ ), та мали більшу тривалість захворювання на АД ( $p<0,05$ ) (рис. 12, А, Б). SCORAD був достовірно вищим у носіїв *S. aureus* ( $p<0,05$ ) (рис. 12, В). Очевидно, більша тривалість захворювання обумовлює більший тягар антигенного навантаження *S. aureus* на кератиноцити та імунні клітини шкіри.

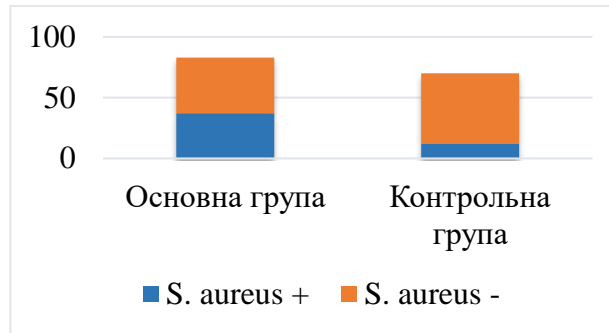


Рис. 11. Результати визначення *S. aureus* в групі хворих на АД та контрольній групі,  $p<0,05$ .

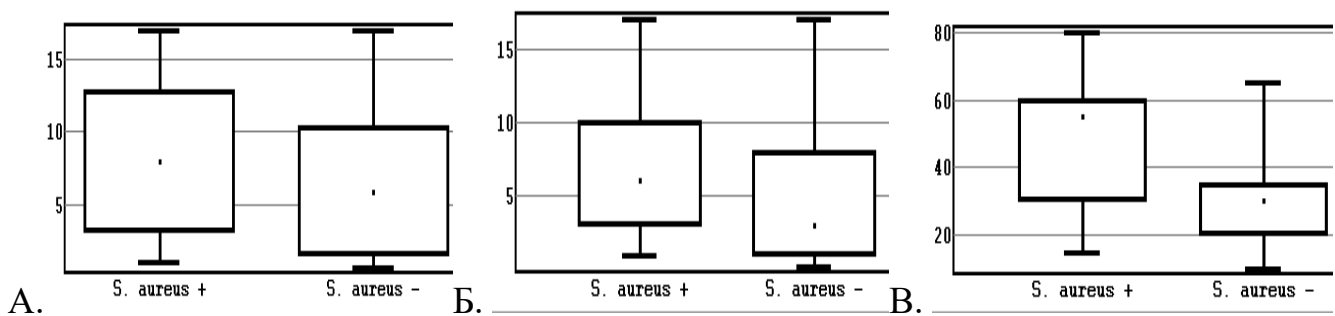


Рис. 12. Порівняння за віком (А), тривалістю захворювання (Б), показником SCORAD (В) груп дітей – носіїв та неносіїв *S. aureus*,  $p<0,05$ .

При проведенні ПЛР мазків шкіри для визначення видів *Malassezia* виявлено значне переважання *M. globosa* над *M. restricta*, особливо серед хлопчиків. *M. pachydermatis* та *M. slooffiae* виявлено у десяти пацієнтів та одного з групи контролю, імовірно, ці види антигенним чи метаблічним шляхом можуть погіршувати АД (рис. 13). Серед здорових контрольних осіб співвідношення *M. globosa* і *M. restricta* було на користь *M. globosa* (рис. 14), але не таке значуще, як у пацієнтів, і, так само, більш помітне серед хлопчиків (рис. 15). Таким чином, було виявлено, що розподіл *Malassezia* за видами різний серед хворих і дітей контрольної групи, і, ймовірно, буде залежати від статі: значне переважання *M. globosa* над *M. restricta* було більш помітним серед дітей з АД, зокрема серед хлопчиків, що може бути обумовлено різним ліпідним складом себуму. Порушене співвідношення видів імовірно відіграє роль в патогенезі АД, можливо, шляхом видозалежного утворення продуктів обміну та прозапальних речовин.

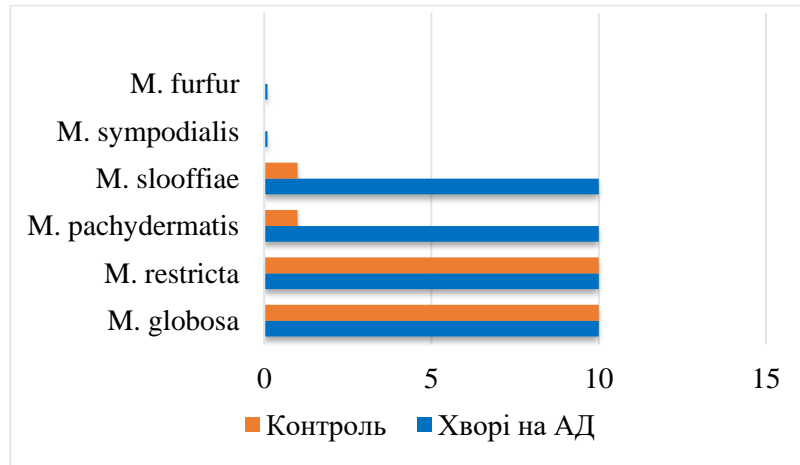


Рис. 13. Результати визначення 6 видів *Malassezia* у хворих на АД та у дітей контрольної групи.

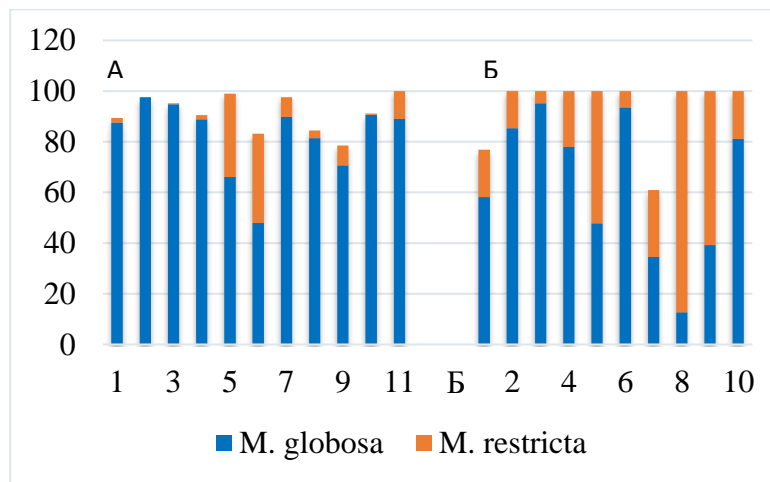


Рис. 14. Розподіл видів *M. globosa* та *M. restricta* на шкірі у дітей, хворих на АД (А) та у здорових дітей (Б).

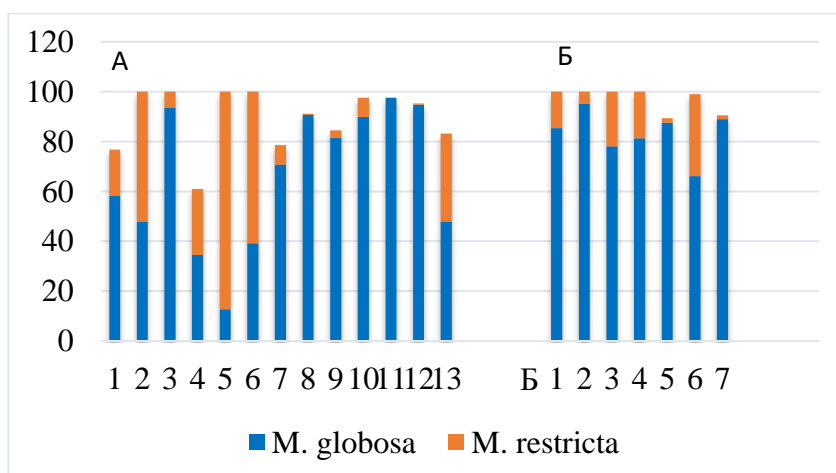


Рис. 15. Розподіл видів *Malassezia* на шкірі у дітей в залежності від статі: А – дівчата, Б – хлопчики.

Було виявлено, що поліморфізм rs7309123 гена *Дектин-1* є предиктором розвитку АД у дітей: варіанти з генотипом GG rs7309123 в гені *Дектин-1* виявляються частіше в основній групі, ніж в контрольній (ВШ=2,35, ДІ 1,03-5,108,

$p=0,02$ ,  $\chi^2=7,514$ ) (рис. 16). Окрім того, продемонстровано зв'язок поліморфізму rs7309123 гена *Дектин-1* та підвищеного загального IgE (ВШ=2,3193, ДІ 1,00-5,37) та специфічного IgE до пилових кліщів (ВШ=4,26, ДІ 1,43-12,72) (рис. 17), що є свідченням того, що наявність варіанту GG певним чином призводить до розпізнавання алергенів, зокрема пилових кліщів, та схиляє до розвитку сенсibiliзації дітей з АД.

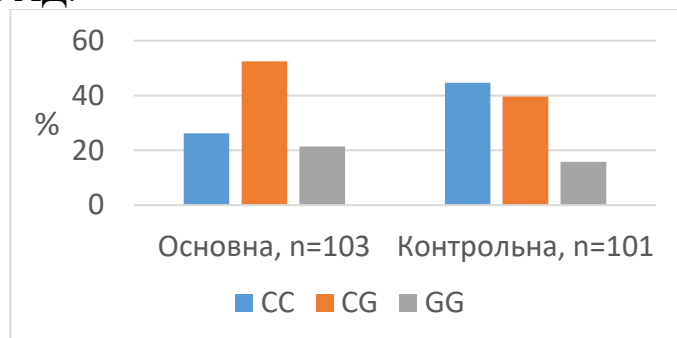


Рис. 16. Розподіл генотипів поліморфізму rs7309123 *Дектин-1* у дітей основної та контрольної груп,  $p < 0,05$ .

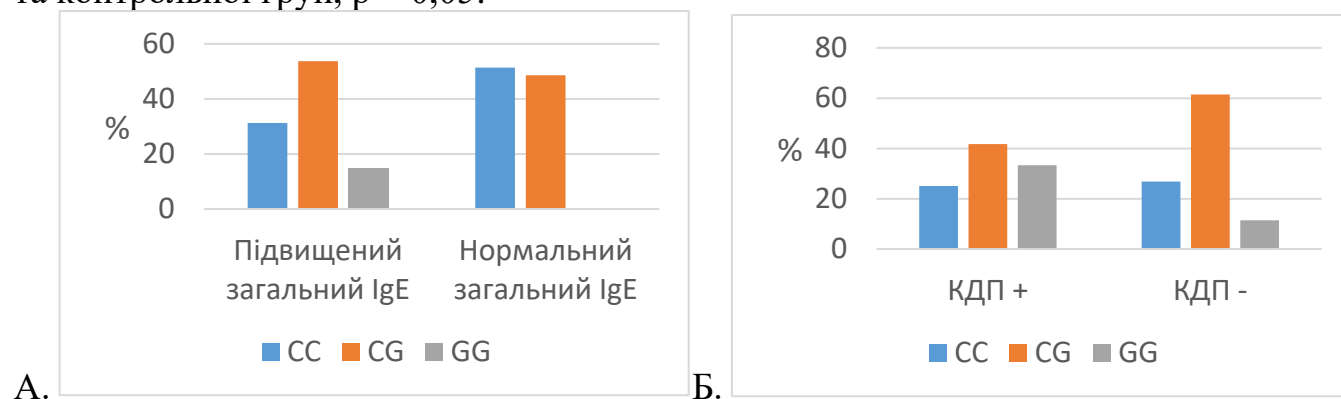


Рис. 17. Розподіл генотипів поліморфізму rs7309123 *Дектин-1* у залежності від підвищеного рівня сироваткового загального IgE (А)  $p < 0,05$ , та наявності підвищеного рівня сироваткового IgE до КДП (Б) у дітей основної групи,  $p < 0,05$ .

В таблиці 1 представлені результати регресійного аналізу у вигляді ВШ виникнення АД (експонента коефіцієнтів логістичної регресії), їх 95 % довірчі інтервали, а також р-значення. Референсними категоріями були вибрані генотип CC для генотипу Дектину-1 та вік менше 2 років для категорій віку.

Таблиця 1

Результати регресійного аналізу у вигляді відношення шансів виникнення АД

	ВШ	2,5 %	97,5 %	p-value
Dectin-1, CG	2,11	1,1	4,08	0,0257
Dectin-1, GG	1,98	0,87	4,49	0,1039
Вік 2-10 років	0,10	0,01	0,79	0,0293
Вік 11-17 років	0,08	0,01	0,65	0,0185

Аналізуючи зв'язок генотипу Дектину-1 з виникненням АД можна побачити, що в порівнянні індивідуумів з генотипом CC, генотип CG підвищує шанси мати АД

на 111 % (ВШ=2,11, 95 % ДІ 1,1-4,08) з статистичною значимістю на рівні  $p=0,0257$ . При цьому не було виявлено статистично значимого зв'язку для GG, що може бути зумовлено малою кількістю пацієнтів у цій групі, адже 95 % довірчий інтервал для ВШ тільки перетинає 1 (ВШ=1,98, 95 % ДІ 0,87-4,49), а значення  $p$  трохи вище порогового ( $p=0,104$ , отже є 10,4 % ймовірність отримати ці результати в популяції, якщо нульова гіпотеза правдива, що є досить низькою ймовірністю). Зважаючи на статистично значимий результат для CG та пороговий результат для GG, можна зробити висновок що є ймовірність протективного значення генотипу CC при виникненні АД.

Результати нашого дослідження не виявили прямого впливу поліморфізму rs4696480 в гені *TLR2* на ризик розвитку АД (рис. 19.А), але було виявлено, що наявність цього поліморфізму сприяє більш тяжкому фенотипу АД (ВШ=6,39, ДІ 1,24-32,99) для AA та TT,  $\chi^2=5,66$   $p=0,06$ ) (рис. 19.Б), харчової сенсibilізації (ВШ=2,88, ДІ 1,03-8,08) (рис. 20.А) та інфекції ураженої шкіри *S. aureus* (ВШ=7,00, ДІ 1,85-26,46 для TT) (рис. 20.Б). Імовірно, *TLR2* відіграють опосередковане значення в тяжкості АД: розпізнавання та презентація молекул їжі та антигенів *S. aureus* ДК шкіри та кишківника призводить до сенсibilізації схильної до алергії дитини.

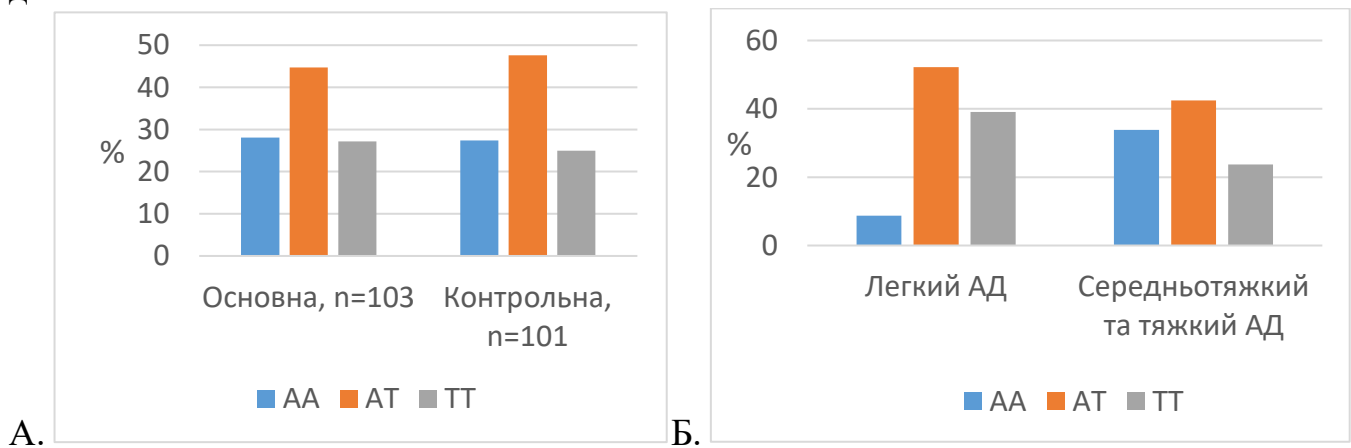


Рис. 19. Розподіл генотипів поліморфізму rs4696480 в *TLR2* у дітей основної та контрольної груп,  $p>0,05$ .

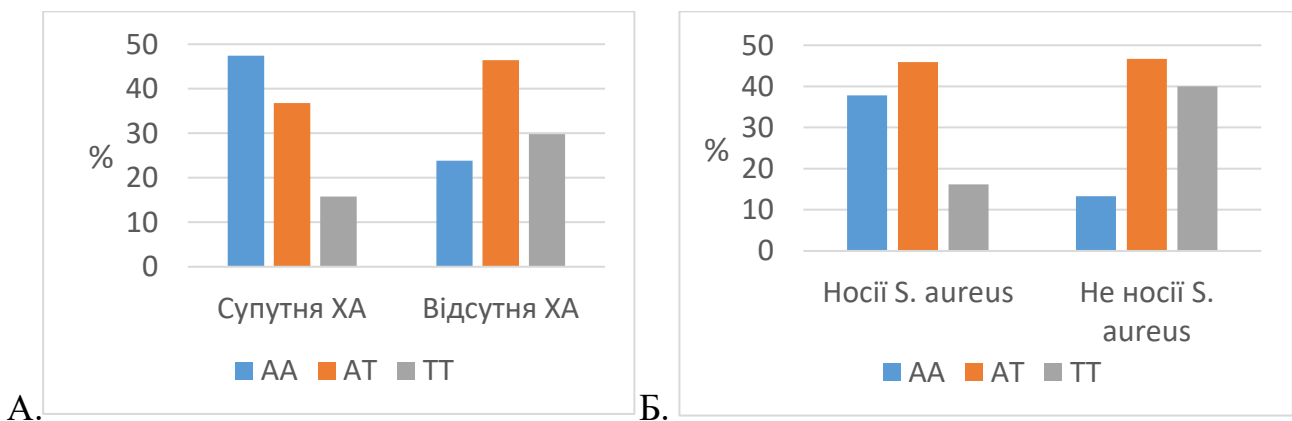


Рис. 20. Розподіл генотипів поліморфізму rs4696480 в *TLR2* у залежності від наявності харчової алергії (А) та колонізації *S. aureus* (Б) у дітей основної групи,  $p<0,05$ .

Проведене дослідження продемонструвало, що діти з важким фенотипом АД мають підвищений ризик супутніх алергічних захворювань (ВШ=5,60, ДІ 1,86-16,86). Окрім того, діти з раннім фенотипом АД мають важчу форму АД (ВШ=6,75, ДІ 1,50-30,37) та підвищений ризик розвитку респіраторної алергії (ВШ=7,59, ДІ 2,45-23,58). Також діти з обтяженим сімейним анамнезом мають високий ризик розвитку важкого фенотипу АД (ВШ=9,25, ДІ 3,44-24,90) та супутніх алергічних захворювань (ВШ=3,92, ДІ 1,76-8,75).

У даному дослідженні не виявлено протективної ролі застосування засобів по догляду за шкірою для профілактики АД – АД частіше зустрічався в групі інтервенції: ВШ для групи зволожуючого крему, відносно групи, що не отримувала ніяких заходів, склало 68,6, ДІ 3,9-1201,5,  $p=0,004$  (рис. 21). Це може бути обумовлено тим, що застосування зволожуючих кремів з метою лікування вже наявного АД могло вплинути на дані, але не можна виключати шлях черезшкірної сенсibiliзації, коли алергени можуть потрапляти в крем, під час нанесення емолієнта на шкіру. Також не виявлено значення для розвитку ХА застосування емолієнтів (ВШ=1,4, ДІ 0,4-4,9,  $p=0,56$ ). Не виявлено в даній групі протективної ролі більшої тривалості грудного вигодовування (більше 3-х місяців) для попередження розвитку АД (ВШ=0,1, ДІ 0,01-2,6,  $p=0,19$ ), або ХА (ВШ=1,3, ДІ 0,3-6,9,  $p=0,74$ ). Раннє введення прикорму не впливало на розвиток АД (ВШ = 0,9, ДІ 0,3-2,7,  $p=0,8$ ), та ХА (ВШ=0,8, ДІ 0,2-2,9,  $p=0,76$ ).

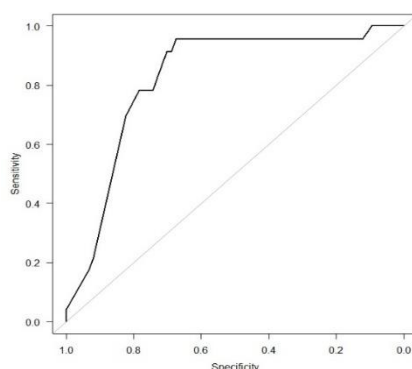


Рис. 21. ROC-крива шестифакторної логістичної моделі регресії прогнозування ризику АД.

Результати анкетування за опитувальниками якості життя CDLQI, IDQOL та якості життя членів родини хворої дитини, FDLQI, корелювали з показниками тяжкості АД. Кількість хворих, у котрих прояви АД мали малий ефект на якість життя, склала 25,4 %, помірний ефект – 40,8 %, дуже великий ефект – у 19,7 % хворих, у 12,7 % хворих АД спричиняв надзвичайно великий ефект на якість життя. Таким чином, 98,6 % хворих вказали на те, що АД впливає на якість життя.

Дане дослідження продемонструвало ефективність застосування 3-тижневого курсу ПЦ в лікуванні АД як додаткової терапії: діти, хворі на АД, що приймали ПЦ місцево, мали статистично достовірно кращу динаміку показника SCORAD, ніж діти контрольної групи ( $W=782,5$ ,  $p=0,006$ ) та балу CDLQI ( $W=635,0$ ,  $p<0,001$ ) (рис. 22). Ефективність лікування залежала від наявності мінорної гомозиготи поліморфізму rs7309123 в гені Дектин-1:  $\Delta$ SCORAD в підгрупі дітей з генотипами CC та CG був

достовірно більший, ніж в підгрупі дітей з генотипом GG ( $20,0 \pm 10,9$  та  $12,9 \pm 4,7$  відповідно,  $T=2,55$ ,  $p=0,016$ ) (рис. 23). Отже, носії генотипів CC та CG можуть отримати найбільшу користь від антимікотичної терапії.

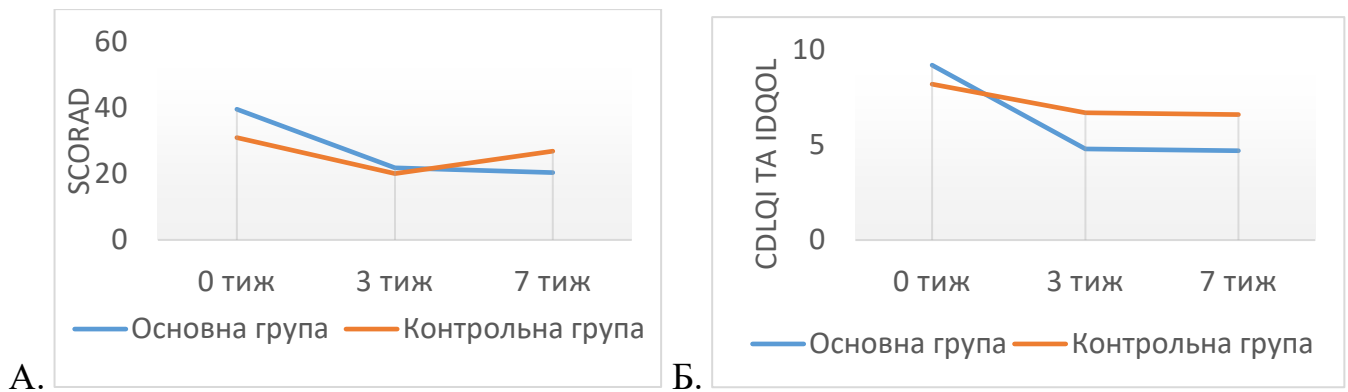


Рис. 22. Динаміка показника SCORAD (А) та показників CDLQI та IDQOL (Б) в групах на 3-й та 7-й тиждень від початку лікування,  $p < 0,001$ .

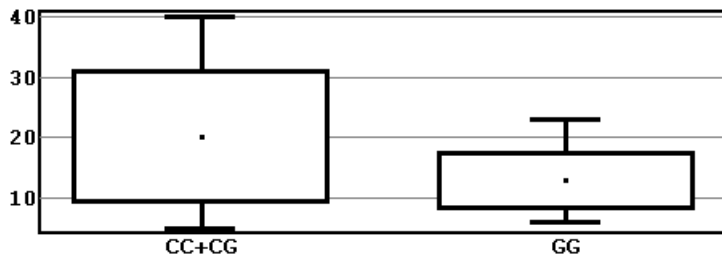


Рис. 23. Порівняння показника покращення АД –  $\Delta$ SCORAD в залежності від генотипу поліморфізму rs7309123 в гені *Дектин-1* в основній групі ( $20,0 \pm 10,9$  та  $12,9 \pm 4,7$  відповідно,  $T=2,55$ ,  $p=0,016$ ).

Було показано ефективність застосування 3-тижневого курсу кетоконазолу 2 % крему в лікуванні АД як додаткової терапії. Діти, що отримували кетоконазол, мали достовірно кращу динаміку показника регресу: різниці в показниках  $\Delta$ SCORAD та  $\Delta$ CDLQI між групами були статистично значимі ( $W=465,0$ ,  $p < 0,001$  та  $W=429,5$ ,  $p < 0,001$  відповідно) (рис. 24).

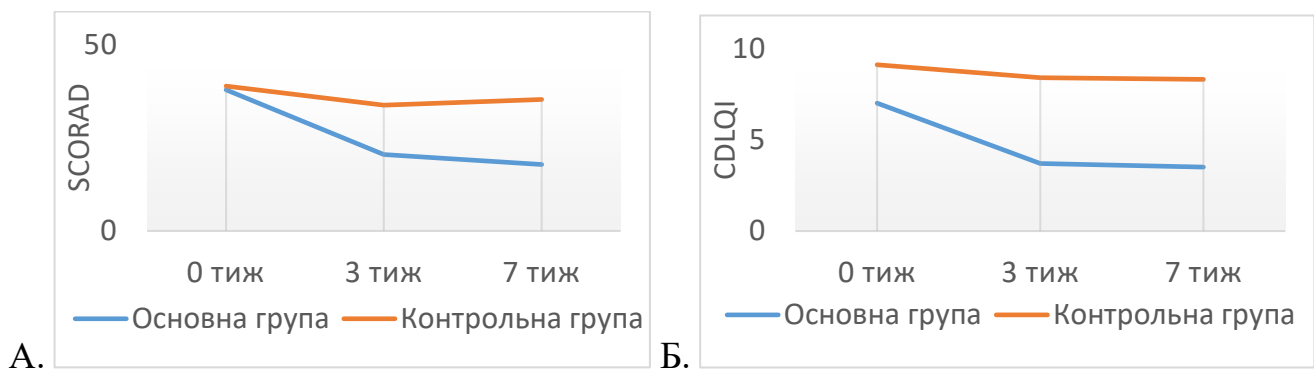


Рис. 24. Динаміка показника SCORAD (А) та CDLQI (Б) в групах на 3-й та 7-й тиждень від початку лікування,  $p < 0,001$ .

Ефективність лікування залежала від наявності мінорної гомозиготи поліморфізму rs7309123 в гені *Дектин-1*:  $\Delta$ SCORAD в підгрупі дітей з генотипами

CC та CG був достовірно більший, ніж в підгрупі дітей з генотипом GG ( $20,2 \pm 11,5$  та  $13 \pm 6,5$  відповідно,  $T=2,12$ ,  $p=0,044$ ) (рис. 25). Це може бути обумовлено тим, що діти, які є носіями патологічного генотипу гена рецептора Дектин-1, мають змінену презентацію грибкових алергенів і є особливо чутливими до впливу *Malassezia* на тяжкість захворювання. Діти з генотипом CC та CG можуть отримати найбільшу користь від антимікотичної терапії.

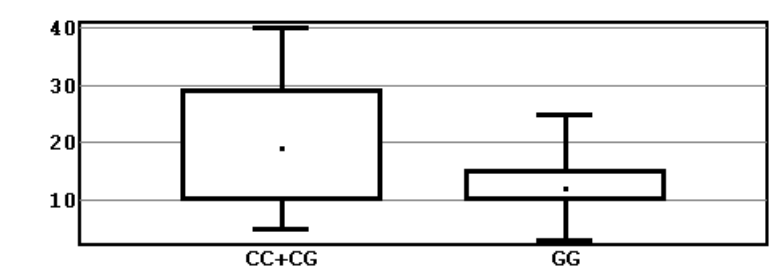


Рис. 25. Порівняння показника покращення АД –  $\Delta$ SCORAD у залежності від генотипу поліморфізму rs7309123 в гені *Дектин-1* в основній групі ( $20,2 \pm 11,5$  та  $13 \pm 6,5$  відповідно,  $T=2,12$ ,  $p=0,044$ ).

Результати дослідження демонструють ефективність застосування мупіроцину в лікуванні АД як додаткової терапії: хворі на АД, що отримували мупіроцин крем 2 % місцево, мали достовірно кращу динаміку показника SCORAD і якості життя CDLQI та IDQOL, ніж діти, які отримували тільки традиційну терапію ( $T=2,70$ ,  $p=0,011$  та  $T-W=190,0$ ,  $p<0,001$  відповідно) (рис. 26).

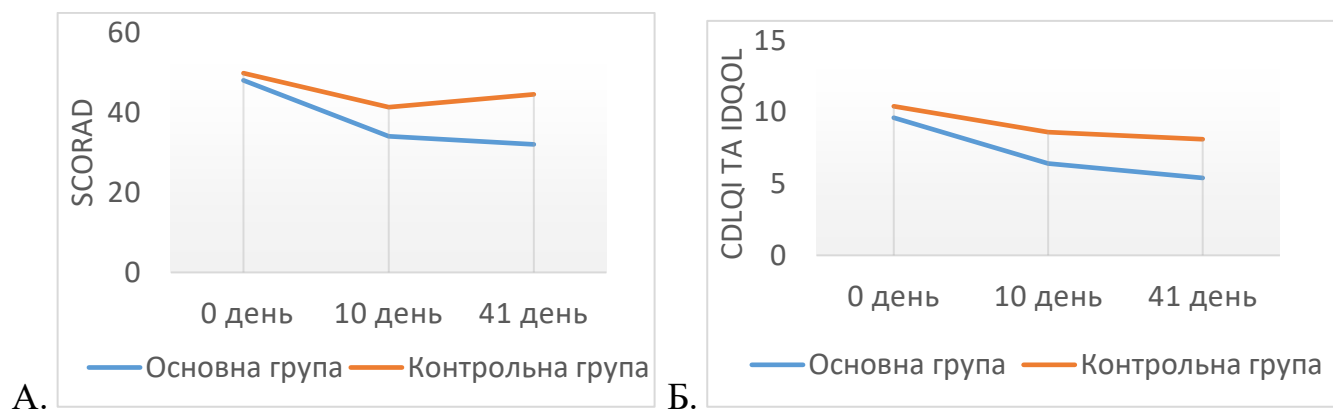


Рис. 26. Динаміка показника SCORAD (А) та CDLQI (та IDQOL) (Б) в групах на 10-й день та через місяць по завершенню лікування,  $p<0,001$ .

Дане дослідження показало, що додавання тиротрицину до стандартної терапії АД у дітей з інфікуванням *S. aureus* може забезпечити значну клінічну ефективність за показниками SCORAD і балу за опитувальниками якості життя CDLQI та IDQOL ( $T=4,06$ ,  $p=0,011$  та  $W=275,5$ ,  $p=0,004$  відповідно) (рис. 27).

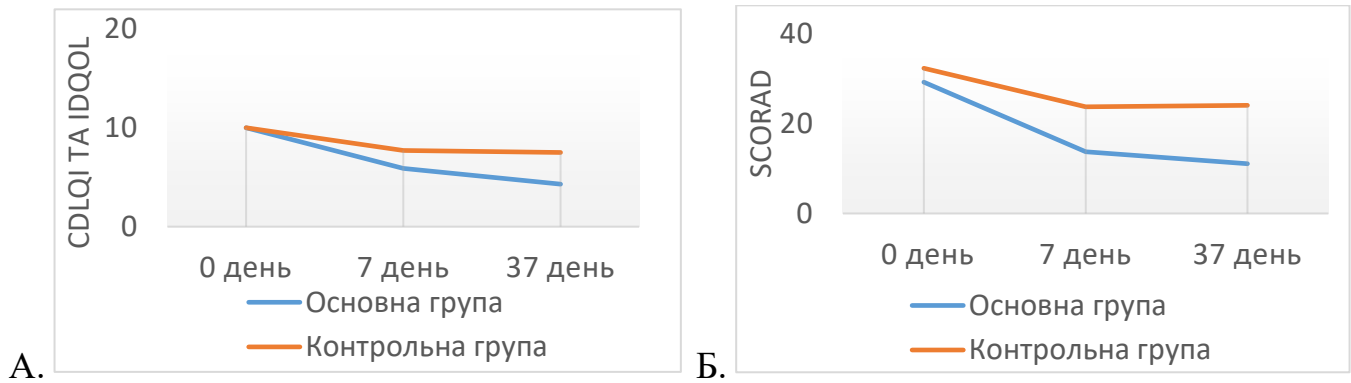


Рис. 27. Динаміка показника SCORAD (А) та CDLQI та IDQOL (Б) в групах на 7-й день та через місяць по завершенню лікування,  $p < 0,001$ .

Рандомізоване 2-х річне дослідження показало, що СЛІТ екстрактом КДП може забезпечити значну клінічну ефективність за показниками SCORAD та опитувальника CDLQI у дітей, хворих на АД: зниження показника SCORAD склало 52,1 % у групі КДП СЛІТ та 20,2 % у контрольній групі ( $T-W=78,0$ ,  $p < 0,001$  в групі СЛІТ), зниження показника CDLQI становило 40,7 % в групі СЛІТ ( $T-W=66,0$ ,  $p < 0,001$ ) (рис. 28).

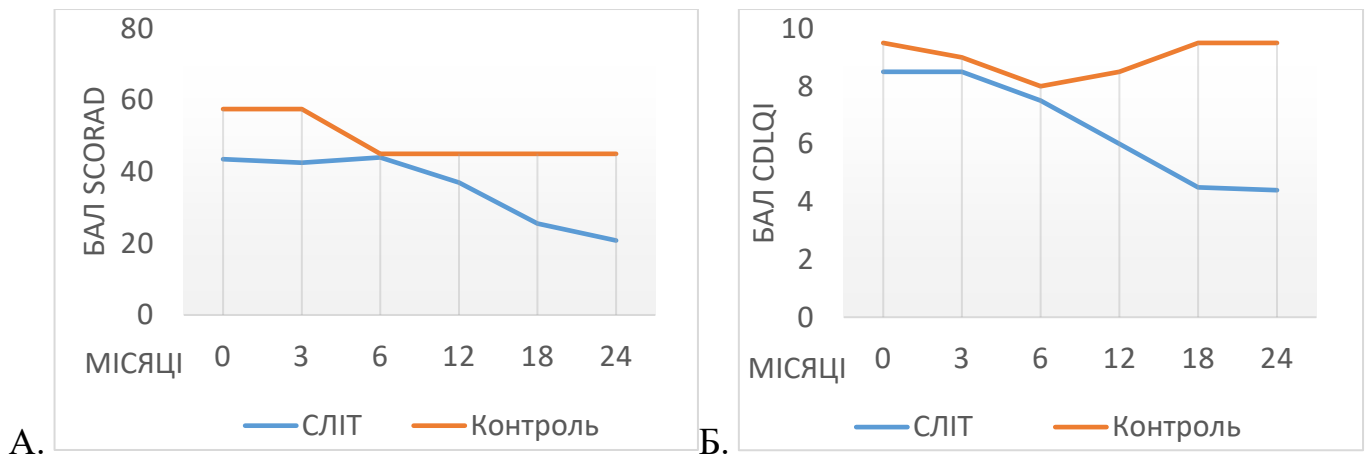


Рис. 28. Порівняння показника покращення АД –  $\Delta$ SCORAD (А) та балу за опитувальником CDLQI (Б) в залежності від ступеня тяжкості, в групі СЛІТ і контрольній групі.

Отже, проведене дослідження дає підстави щодо доцільності додавання антимікотичної та антибактеріальної терапії, а також АСІТ, в залежності від профілю сенсibiliзації, інфікування та генетичних факторів, до стандартного лікування АД у дітей.

## Висновки

На основі отриманих даних з вивчення ролі у розвитку atopічного дерматиту поліморфізмів рецепторів розпізнавання патернів, колонізації шкіри *Malassezia* та *S. aureus*, сенсibiliзації шкіри до *Malassezia*, кліщів домашнього пилу та харчових алергенів у дітей, здійснено теоретичне обґрунтування і запропоновано новий алгоритм діагностики та терапії atopічного дерматиту з виявленням груп ризику

щодо розвитку важкого фенотипу і супутніх респіраторних алергічних захворювань та обґрунтування застосованих схем терапії.

1. Виявлені відмінності клінічних проявів перебігу atopічного дерматиту у залежності від віку маніфестації захворювання та обтяженого алергологічного анамнезу. Діти з ранньою маніфестацією, обтяженим алергологічним анамнезом з боку батьків являють собою групу ризику щодо важкого та персистентного захворювання (ВШ=6,75, ДІ 1,50-30,37 та ВШ=9,252, ДІ 3,44-24,90 відповідно), розвитку харчової алергії ( $\chi^2=7,56$ ,  $p<0,05$ ) та супутньої респіраторної патології (ВШ=7,59, ДІ 2,45-23,58 ВШ=3,919, ДІ 1,756-8,747). Харчова сенсibilізація та прояви харчової алергії виявлено у 19,8 % дітей з atopічним дерматитом.

2. Сенсibilізація до дріжджових грибів *Malassezia* є досить поширеною і спостерігається у 29,4 % дітей з atopічним дерматитом. Сенсibilізація до *Malassezia* частіше спостерігалась у дітей з раннім фенотипом ( $p=0,541$ ,  $p=0,0372$ ), достовірно пов'язана з atopічним дерматитом типу «голова-шия» (ВШ=7,77, ДІ 1,95-30,95,  $p<0,05$ ) та може служити маркером більш важкої форми захворювання. Найбільш імовірно, сенсibilізація розвивається внаслідок порушеного епідермального бар'єру, та призводить до погіршення тяжкості захворювання.

3. При визначенні видів *Malassezia* виявляється різниця серед здорових і дітей, хворих на atopічний дерматит, та залежно від статі: виявлено переважання *Malassezia globosa* над *Malassezia restricta* серед дітей з atopічним дерматитом, зокрема серед хлопчиків, що обумовлено різною активністю сальних залоз і вмістом жирних кислот в шкірі. *M. pachydermatis* та *M. slooffiae* виявлялися практично лише в групі хворих, імовірно вони можуть мати тісний зв'язок з atopічним дерматитом.

4. Сенсibilізація до кліщів домашнього пилу спостерігалась у 48 % дітей з atopічним дерматитом, що обумовлювало більш важкий фенотип захворювання ( $p<0,001$ ), вищі показники загального IgE ( $p<0,001$ ), більшу тривалість захворювання ( $p=0,013$ ) і достовірно частіше викликає супутню респіраторну алергію – бронхіальну астму та алергічний риніт як етапи atopічного маршу і розвитку респіраторної алергії (ВШ=7,237, ДІ 1,514-34,598,  $p<0,001$ ).

5. У дітей, хворих на atopічний дерматит, значно частіше, ніж у здорових виявлялась колонізація шкіри *S. aureus* – у 44 % випадків проти 17 % (ВШ=3,974, ДІ 1,861-8,486). Це обумовлювало у них більшу тривалість та тяжчий перебіг захворювання ( $p<0,05$ ).

6. Поліморфізм rs7309123 гена *Дектин-1* є важливим предиктором розвитку atopічного дерматиту у дітей: варіанти з генотипом GG rs7309123 *Дектин-1* виявляються частіше в основній групі, ніж в контрольній (ВШ=2,35, ДІ 1,03-5,108). Існує зв'язок поліморфізму rs7309123 гена *Дектин-1* та підвищеного загального IgE (ВШ=57,86, ДІ 3,27-1025,03) та специфічного IgE до кліщів домашнього пилу (ВШ=4,26, ДІ 1,432-12,716). Це є свідченням того, що наявність поліморфізму rs7309123 гена *Дектин-1* призводить до розпізнавання алергенів, зокрема кліщів домашнього пилу, обумовлює розвиток сенсibilізації дітей з atopічним дерматитом, прогресування важкого захворювання і розвиток супутньої алергічної респіраторної патології – алергічного риніту та бронхіальної астми.

7. Наявність поліморфізму rs4696480 в гені *TLR2* сприяє більш тяжкому фенотипу atopічного дерматиту (ВШ=6,395, ДІ 1,24-32,99), харчовій сенсibilізації

(ВШ=2,88, ДІ 1,027-8,076) та носійству або інфекції *S. aureus* (ВШ=7,00, ДІ 1,85-26,46): розпізнавання і презентація молекул їжі та антигенів *S. aureus* дендритними клітинами шкіри та кишківника призводить до сенсibilізації схильної до алергії дитини.

8. У комплексній терапії atopічного дерматиту при наявності патологічного гомозиготного генотипу поліморфізмів rs7309123 в гені *Дектин-1* та rs4696480 в гені *TLR2* було доцільним визначення профілю сенсibilізації з подальшим індивідуальним підходом до терапії з урахуванням значимого алергену. При виявленні сенсibilізації до дріжджів роду *Malassezia* продемонстрована ефективність застосування протигрибкових засобів: кетоконазол 2 % крем знижував показники тяжкості проявів на 46 %; піритіон цинку покращував симптоми atopічного дерматиту в середньому на 45 %. У хворих з колонізацією шкіри *S. aureus* була показана ефективність застосування антибактеріальної терапії: додавання до стандартної терапії мупіроцину 2 % крему приводило до покращення симптомів на 25 %; додавання тиротрицину гелю знижувало тяжкість atopічного дерматиту на 32,4 %. У хворих з сенсibilізацією до пилового кліща проведення алергенспецифічної імунотерапії з екстрактом пилового кліща сприяло зниженню тяжкості основних клінічних симптомів на 52,1 %.

### **Практичні рекомендації**

1. З метою підвищення ефективності ранньої діагностики та лікування atopічного дерматиту усім хворим незалежно від віку, статі та тривалості захворювання, рекомендовано проводити комплексне обстеження, що включає оцінку базисних клініко-лабораторних показників і наявність сенсibilізації, колонізації шкіри патогенними та умовно патогенними організмами, генетичні фактори, для подальшого формування групи ризику щодо важкого фенотипу захворювання та розвитку супутньої респіраторної алергологічної патології.

2. У дітей з групи ризику доцільно визначити поліморфізми rs7309123 в гені *Дектин-1*, rs4696480 в гені *TLR2*, наявність колонізації *S. aureus* та видами *Malassezia* на уражених ділянках шкіри, наявність сенсibilізації до харчових алергенів, *Malassezia* та кліщів домашнього пилу.

3. В комплексній терапії atopічного дерматиту при наявності патологічного гомозиготного генотипу поліморфізму rs7309123 гена *Дектин-1* рекомендовано визначення профілю сенсibilізації з подальшим індивідуальним підходом до терапії з урахуванням значимого алергену.

4. В комплексній терапії atopічного дерматиту при наявності патологічного гомозиготного генотипу поліморфізму rs4696480 в гені *TLR2* рекомендовано визначення харчової сенсibilізації та наявності колонізації шкіри *S. aureus* з подальшим індивідуальним підходом до терапії з урахуванням значимого алергену та патогену.

5. При виявленні сенсibilізації до дріжджів роду *Malassezia* у дітей, хворих на atopічний дерматит, рекомендовано застосування протигрибкових засобів: кетоконазолу 2 % крему 2 рази на день або піритіону цинку 2 рази на день протягом 3 тижнів.

6. При виявленні колонізації *S. aureus* рекомендовано застосування антибактеріальної терапії у вигляді мупіроцину 2 % крему 2 рази на добу протягом 2 тижнів або тиротрицину гелю 2 рази на добу протягом 1 тижня.

7. При виявленні сенсibilізації до кліщів домашнього пилу рекомендовано застосування АСІТ з екстрактом пилового кліща, що, в свою чергу, може покращити перебіг atopічного дерматиту та зменшити ризик розвитку бронхіальної астми та алергічного риніту у дітей з сенсibilізацією до кліщів домашнього пилу.

### **Список опублікованих праць за темою дисертації Публікації у виданнях, індексованих у Scopus**

1. Мозирська, О.В. (2022). Значення колонізації шкіри *Staphylococcus aureus* та дріжджовим грибом *Malassezia* у дітей в розвитку atopічного дерматиту. Сучасна педіатрія. Україна. 2(122), 39-43. doi 10.15574/SP.2022.122.39.

2. Мозирська, О.В. (2022). Значення поліморфізму тол-подібного рецептора-2 в розвитку сенсibilізації до кліщів домашнього пилу в дітей із atopічним дерматитом. Сучасна педіатрія. Україна. 4(124): 60-64. doi 10.15574/SP.2022.124.60.

3. Мозирська, О.В. (2022). Роль топічної антимікотичної терапії в лікуванні atopічного дерматиту в дітей. Здоров'я дитини. 17(4), 173-177. doi: <http://dx.doi.org/10.22141/2224-0551.17.4.2022.1513>

4. Mozyrska, O.V., Volosovets, O.P., Kryvopustov, S.P., Goncharov, S.V., Kupkina, A.V., Iemets, O.V., & Dosenko, V.E. (2022). Single nucleotide polymorphism rs4696480 of *tlr2* gene associates with severity of atopіc dermatitis in children, but not with IgE sensitization to *Malassezia*. *Wiadomosci lekarskie* (Warsaw, Poland : 1960), 75 (5 pt 1), 1070–1076. <https://doi.org/10.36740/WLek202205104>

5. Мозирська, О.В. (2022). Аналіз ефективності двохрічного курсу алерген-специфічної імунотерапії у дітей з atopічним дерматитом та сенсibilізацією до кліщів домашнього пилу. Сучасна педіатрія. Україна. №7(127), 59-63. doi 10.15574/SP.2022.127.59

6. Мозирська, О.В. (2022). Клінічний досвід застосування дитячого опитувальника дерматологічного індексу якості життя (CDLQI) у дітей з atopічним дерматитом. Здоров'я дитини. 17(7), 38-43. <https://doi.org/10.22141/2224-0551.17.7.2022.1538>

7. Mozyrska, O.V. (2022). The association of rs4696480 polymorphism in *TLR2* gene and *Staphylococcus aureus* skin colonization in children with atopіc dermatitis. *Ukrainian Journal of Perinatology and Pediatrics*. 4(92): 28-32. doi 10.15574/P.2022.92.28.

8. Mozyrska, O. (2023). Study of the impact of atopіc dermatitis in children on the quality of life of families. *CHILD`S HEALTH*, 18(1), 18–22. <https://doi.org/10.22141/2224-0551.18.1.2023.1554>

9. Mozyrska, O., Boianovskiy, S., Rudnieva, K. (2023). Selection of the isolate of *Staphylococcus hominis* for bacteriotherapy in patients with atopіc dermatitis. *Polish Annals of Medicine*, 30(1), 44-49. <https://doi.org/10.29089/paom/157118>

10. Volosovets, T., Dikova, I., Mozyrska, O., & Slyusar, N. (2023). Prevalence of dental caries in pediatric patients with atopic dermatitis. *CHILD`S HEALTH*, 18(3), 185–188. <https://doi.org/10.22141/2224-0551.18.3.2023.1583>

11. Mozyrska, O.V. (2023). Detection and treatment of skin infection with *Staphylococcus aureus* in children with atopic dermatitis. *Modern Pediatrics. Ukraine*. 2(130): 74-78. doi 10.15574/SP.2023.130.74.

12. Mozyrska, O.V. (2022). The role of antibacterial therapy in the treatment of atopic dermatitis in children. *Neonatal. hir. perinat. med. T. XII, No 4(46)*, 73-78. DOI: 10.24061/2413-4260.XII.4.46.2022.11

### **Публікації у виданнях, індексованих у Web of Science**

13. Mozyrska, O. (2022). House dust mite sensitivity in atopic children with Dectin-1 rs7309123 polymorphism. *Alergologia Polska – Polish Journal of Allergology*, 9(3), 191–195. DOI: <https://doi.org/10.5114/pja.2022.119232>

### **Публікації у фахових виданнях МОН України**

14. Волосовець, О.П., Кривопустов, С.П., Мозирська, О.В. (2021). Роль мікробіому шкіри в розвитку атопічного дерматиту у дітей. *Здоров'я дитини*, 16(3), 251-256. doi.org/10.22141/2224-0551.16.3.2021.233911

15. Волосовець, О.П., Кривопустов, С.П., Мозирська, О.В. (2021). Атопічний дерматит у дітей: клінічні фенотипи, персистенція й коморбідність. *Здоров'я дитини*, 16(4), 265-269. doi: 10.22141/2224-0551.16.4.2021.236903

16. Волосовець, О.П., Кривопустов, С.П., Мозирська, О.В., Слюсар, Н.А. (2021). Значення харчової алергії при атопічному дерматиті у дітей. *Здоров'я дитини*, 16(7), 455-460. doi: 10.22141/2224-0551.16.7.2021.

17. Мозирська, О.В., Слюсар, Н.А. (2022). Значення поліморфізму Toll-подібного рецептора-2 rs4696480 у розвитку харчової алергії у дітей з атопічним дерматитом. *“Медична наука України”*, 18(3), 15-21. <https://doi.org/10.32345/2664-4738.3.2022.02>

18. Мозирська, О.В. (2022). Сенсibilізація до молекулярних компонентів алергенів *Malassezia* у дітей з атопією. *Клінічна та профілактична медицина*, 2(20), 36-41. doi.org/10.31612/2616-4868.2(20).2022.04

19. Мозирська, О.В. (2022). Ефективність алерген-специфічної імунотерапії у дітей з атопічним дерматитом, сенсibilізованих до кліщів домашнього пилу. *Здоров'я дитини*. 17(2), 85–90. <https://doi.org/10.22141/2224-0551.17.2.2022.1499>

20. Мозирська, О., Слюсар, Н. (2022). Роль засобів по догляду за шкірою та раннього прикорму для профілактики атопічного дерматиту у немовлят. *Клінічна та профілактична медицина*, 4(22), 57-64. [https://doi.org/10.31612/2616-4868.4\(22\).2022.09](https://doi.org/10.31612/2616-4868.4(22).2022.09)

21. Мозирська, О.В. (2022). Роль антимікотичної терапії в лікуванні атопічного дерматиту у дітей. *“Медична наука України”*, 18(4), 43-50. DOI: <https://doi.org/10.32345/2664-4738.4.2022.07>

22. Kupkina A.V., Mozyrska, O.V. (2023). Skin care interventions and early complementary food introduction for the prevention of atopic dermatitis in infants.

Ukrainian Scientific Medical Youth Journal. 136. 104-110.  
10.32345/USMYJ.1(136).2023.104-110.

23. Mozyrska, O. (2023). Prevalence of sensitization to airborne allergens in patients with allergic rhinitis and asthma in Ukraine. *Medical Science of Ukraine (MSU)*, 19(1), 12-17. <https://doi.org/10.32345/2664-4738.1.2023.02>

**Публікації у виданнях, індексованих у міжнародних наукометричних базах:**

24. Volosovets, O., Kryvopustov, S., Mozyrska, O., Goncharov, S., Kupkina, A., Iemets, O., & Dosenko, V. (2022). Single Nucleotide Polymorphism of Dectin-1 Gene Associates with Atopic Dermatitis in Children. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 10(A), 1295–1299. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2022.10513>

**Ключові слова:** атопічний дерматит, діти, *Malassezia*, кліщі домашнього пилу, *S. aureus*, Дектин-1, Толл-подібні рецептори, антибактеріальна терапія, протигрибкова терапія, АСІТ.

MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE  
BOGOMOLETS NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

**Mozyrska Olena Viktorivna**



UDK 616.248-053.2-036.1-085:575.113

**ATOPIC DERMATITIS IN CHILDREN WITH PATTERN RECOGNITION  
RECEPTOR GENE POLYMORPHISMS: CLINICAL COURSE, TREATMENT,  
AND PROGNOSIS DEPENDING ON SENSITIZATION PROFILE**

14.01.10 – Pediatrics

Abstract

thesis for obtaining a scientific degree  
Doctor of Medical Sciences

**Kyiv – 2023**

The dissertation is a manuscript.

The work was performed at the Bogomolets National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine

Official opponents:

Doctor of Medical Sciences, s.r.f. Rechkina Olena Oleksandrivna  
(Head of the department of pediatric pulmonology and allergology GA «National institute of phthysiology and pulmonology named after F.G. Yanovsky NAMS of Ukraine», Kyiv, Ukraine);

Doctor of Medical Sciences, Professor Sharikadze Olena Viktorivna  
(Director of P.L. Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine);

Doctor of Medical Sciences, associate Professor Matsyura Oksana Ivanivna  
(associate professor of the Department of Pediatrics No. 2 of Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Kyiv, Ukraine).

The defense will take place on "\_\_th\_\_" \_\_ \_\_ 2023 at \_11.00\_ at a meeting of the specialized academic council (D 26.003.04) at the Bogomolets National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine at the address: 01601, Kyiv, Shevchenko Boulevard 13.

The dissertation can be obtained in the scientific library of the Bogomolets National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine (03057, Kyiv, Zoologichna Street, 1).

Scientific secretary  
of the specialized scientific council  
Doctor of medical sciences, Professor

Gyschak T.V.

## **The significance of the problem**

Atopic dermatitis (AD) is a chronic relapsing inflammatory skin disease. Over the past 30 years, the prevalence of AD in industrialized countries has tripled [Volosovets O., 2021, Chovatiya R., 2023, Bratu D., 2023] and currently affects up to 30% of children and 10% of adults. Despite the prevalence of AD and its impact on health care, the pathogenesis of AD remains poorly understood.

Skin sensitization by allergens is one of the most important initial stages in AD pathogenesis [Marini A., 2023, Angelova-Fischer I., 2014]. A damaged epidermal barrier, combined with itching and scratching in atopic eczema, allows the penetration of whole and fragmented cells that activate innate immunity and sensitize adaptive immunity in these patients [Osinka K., 2018]. Constitutional genetic defects in the formation of the skin barrier can be aggravated by the action of pathogens or commensal organisms, such as *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) or the yeast *Malassezia* [Gaitanis G., 2012]. It was shown that 30-80% of adult patients and 5-27% of children with AD have sensitization to *Malassezia* [Johansson C., 2003]. The question of the mechanisms of development and the importance of sensitization to *Malassezia* in children with AD needs to be studied.

The role of the Dectin-1 receptor, a C-type lectin receptor, in the development of sensitization to house dust mites (HDM) and fungi has been extensively studied and demonstrated in research [Overton N.L., 2017, Joo H., 2018]. A study by Gour N. [Gour N., 2018] demonstrated a violation of the protective response mediated by Dectin-1, associated with a genetic variant in the Dectin-1 gene, associated with impaired lung function. Presumably, polymorphisms in the Dectin-1 gene may play a role in impaired antigen recognition and the development of sensitization, and their role needs to be investigated.

Lipoproteins of *S. aureus* serve as a ligand for Toll-like receptors (TLR) TLR2 and induce inflammation [Iwamoto K., 2019]. Some authors have suggested that TLRs mediate interactions between *Malassezia* cells or their immunogenic proteins and human cells. It was found that TLR2, in particular, can recognize components of *Malassezia* yeast [Baker B.S., 2006]. The data of Salpietro C. [Salpietro C., 2011] indicate that the allele of the TLR2 gene – 16934 can be a genetic factor of susceptibility to AD. The role of this polymorphism in disrupting the immune response to *S. aureus* as an important link in the pathogenesis of AD requires further investigation.

Previous studies have shown the effectiveness of antifungal therapy for *Malassezia* infections [Galvis-Marín J.C., 2016, Park M., 2021, Tao R., 2022] and antibacterial therapy for *S. aureus* skin lesions [Gough 2022, Hwang J., 2021]. The effectiveness of ASIT therapy with HDM drugs in patients with asthma is also demonstrable [Novak N., 2021]. But there is a lack of research on the effectiveness of such additional therapy and the impact on improving the quality of life in children with AD, with an assessment of the impact of pattern recognition receptor gene polymorphisms on the effectiveness of this therapy. Unresolved issues highlighted above served to set tasks, determine research design and conduct it.

## **Connection of work with scientific programs, plans, topics**

The dissertation is a fragment of the planned research work of the Department of Pediatrics No. 2 of the Bogomolets National Medical University "Optimization of diagnosis and treatment of allergic diseases in children with comorbid conditions" (No. 0116U002414), "Diagnosis and treatment of allergic diseases in children" (No. 0123U101121).

**The aim of the study:**

To increase the effectiveness of treatment and to improve the clinical course in children with AD, taking into account polymorphisms in the Dectin-1 and TLR2 genes, depending on the sensitization profile.

**Objectives of the study:**

1. To study the clinical features of the course of AD in children.
2. To study the presence of sensitization to HDM allergens, Malassezia yeasts allergens, and food allergens in children with AD.
3. To study skin colonization by *S. aureus* and Malassezia species using PCR in children with AD.
4. To study the polymorphism in the Dectin-1 gene in children with AD and its influence on the course of the disease, the profile of sensitization and the effectiveness of AD treatment.
5. To study the polymorphism in the TLR2 gene in children with AD and its influence on the course of the disease, the profile of sensitization and the effectiveness of AD treatment.
6. To develop and implement an algorithm of individual pathogenetic therapy of patients with AD depending on variants of polymorphisms in the Dectin-1 and TLR2 genes and the existing sensitization profile.
7. To assess the quality of life of children with AD and determine ways to improve it.

**Scientific novelty of the obtained results**

For the first time, the pathogenetic mechanisms of the development of AD in children related to genetic factors of impaired recognition of pathogens, factors of colonization and sensitization were investigated. Based on the obtained data, a theoretical justification was made and a new practical approach to improving diagnostic methods, formation of risk groups, determination of predictors of severe AD phenotype and the development of accompanying respiratory pathology, and substantiation of applied AD therapy schemes in children was proposed.

For the first time, a comparative study of sensitization to Malassezia yeasts was conducted using the ALEX and Immunocap methods. For the first time, the relationship between the presence of sensitization to Malassezia and clinical parameters of the disease was studied: age of manifestation, degree of severity, presence of concomitant allergic diseases, "head-neck" localization, age, sex. For the first time, it was shown that sensitization to Malassezia was more often observed in children with an early phenotype, is reliably associated with AD of the "head and neck" type and can serve as a marker of a more severe form of the disease.

For the first time, sensitization to HDM in children with AD was studied and the relationship between the presence of sensitization to HDM and clinical and laboratory parameters of the disease: age of manifestation, degree of severity, presence of concomitant allergic diseases, indicators of total IgE, age, sex. For the first time, it was

shown that sensitization to HDM causes a severe disease phenotype, higher total IgE values, longer disease duration and significantly more often causes concomitant respiratory allergies – asthma and AR.

For the first time, the presence of 6 species of *Malassezia* on the skin was investigated by the PCR method and its relationship with the presence of AD, age, and sex was studied. A difference was found between healthy children and children with AD, and depending on gender: a predominance of *Malassezia globosa* over *Malassezia restricta* was found among children with AD, and in particular among boys, which is due to different activity of sebaceous glands and the content of fatty acids in the skin. For the first time, the effect of *S. aureus* skin colonization on the longer duration and more severe course of the disease was investigated.

For the first time, the role of Dectin-1 gene polymorphism in the development and course of AD in children was investigated. For the first time, it was shown that the GG genotype rs7309123 of the Dectin-1 gene is more common in children with AD. For the first time, the relationship between the rs7309123 polymorphism of the Dectin-1 gene and increased total IgE and specific IgE of HDM was shown.

For the first time, the role of TLR2 gene polymorphism in the development and course of AD in children was investigated. For the first time, the presence of the rs4696480 polymorphism in the TLR2 gene has been shown to contribute to a more severe AD phenotype, food sensitization, and *S. aureus* carriage or infection.

For the first time, on the basis of a multivariate linear regression analysis of demographic, laboratory, and genetic factors, it was established that the presence of a pathological homozygous polymorphism of rs7309123 in the Dectin-1 gene is a predictor of severe AD.

An algorithm for the complex therapy of AD was developed taking into account the presence of the pathological homozygous genotype of polymorphisms rs7309123 in the Dectin-1 gene and rs4696480 in the TLR2 gene and the sensitization profile. The effectiveness of the improved regimen of AD therapy with the addition of antimycotic, antibacterial drugs and allergen-specific immunotherapy to the standard regimen was proposed, substantiated, and proven.

### **Practical significance of the obtained results**

New criteria for the risk group among children with AD regarding the development of a severe phenotype, food allergy, and concomitant respiratory allergy are proposed. This will allow correction of treatment in this group of patients in order to prevent further progression of the disease. It is suggested that children with an early manifestation, burdened with an allergological parental history, be included in the risk group for severe and persistent disease, development of food allergy and accompanying respiratory pathology.

An algorithm for the diagnosis of AD is proposed, based on the assessment of the presence of genetic risk factors and aggravating factors of colonization by *Malassezia*, *S. aureus*, and sensitization to food allergens, *Malassezia* and HDM. Based on this, it is proposed to select groups of patients for further correction of therapy taking into account these factors. In order to increase the effectiveness of AD therapy, the use of antifungal agents ketoconazole 2% cream and zinc pyrithione (PZ) is recommended when sensitization to *Malassezia* yeast is detected; in patients with skin colonization by

S. aureus, the use of antibacterial therapy is recommended – mupirocin 2% cream or thyrothricin gel. Allergen-specific immunotherapy with dust mite extract is substantiated and recommended for use in complex treatment of AD in children with sensitization to HDM. Such a multifactorial influence will improve the effectiveness of standard therapy, prevent the progression of AD and the development of asthma and AR in children.

The specified algorithm will provide a personalized approach to therapy taking into account the individual phenotype of the child's disease, the selection of groups of patients depending on the available genetic markers of pattern recognition receptor gene polymorphisms rs7309123 in the Dectin-1 gene and rs4696480 in the TLR2 gene, who have been proven to benefit the most from additional methods of treatment.

### **Implementation of research results into practice**

The results of the study have been implemented in the work practice of the CNE "1 Territorial Medical Association of Lviv", SS "Hospital of St. Nicholas", CNE "Chernivetsk Regional Children's Clinical Hospital", CE Poltava Regional Children's Clinical Hospital named after M.V. Sklifosovsky Poltava Regional Council, CNE "Zaporizhzhia Regional Clinical Children's Hospital" of Zaporizhzhia Regional Council", CNE "Regional Children's Clinical Hospital" of Kharkiv Regional Council".

Scientific developments and results of the dissertation are used in the educational process of the Department of Pediatrics No. 2 of the Bogomolets National Medical University, Department of Pediatrics No. 2 of Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Department of Pediatrics and Pediatric Infectious Diseases of Bukovyna State Medical University, Department of Hospital Pediatrics of Zaporizhzhia State Medical University, Department of Pediatrics No. 2 of Poltava State Medical University, Department of Pediatrics No. 1 and Medical Genetics of Dnipro State Medical University, Department of Pediatrics No. 1 and Neonatology of the Kharkiv National Medical University.

### **Personal contribution of the acquirer**

The dissertation is an independent completed scientific study. The author analyzed special literature on the chosen topic, conducted an expert analysis of the problem, and determined the object of the research. The author independently selected patients and formed groups, carried out clinical observation, performed initial processing of the results of clinical, laboratory, and instrumental methods, personally conducted treatment of all sick children with further long-term observation. The author systematized and summarized the obtained research results, conducted a statistical analysis, on the basis of which scientific works were prepared for publication, all sections of the dissertation were written and designed, conclusions were formulated, and practical recommendations were developed. Scientific works on the subject of the dissertation, published in co-authorship, implement scientific ideas of the applicant, there is no conflict of interests, materials and conclusions of the protected candidate's dissertation are not used.

### **Approbation of the results of the dissertation**

The main provisions of the dissertation were presented at the meeting of the Department of Pediatrics No. 2 of the Bogomolets National Medical University, Scientific and practical online conference with international participation "Interdisciplinary approaches to the diagnosis and treatment of children's diseases" (Kyiv, April 22-23, 2021), XVIII All-Ukrainian scientific and practical conference with international

participation "Current issues of higher medical (pharmaceutical) education: today's challenges and prospects for their solution" (Ternopil, May 20-21, 2021), scientific conference "Kyiv Allergology Days" (Kyiv, March 26-27, 2021), European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress 2021 digital (June 10-12, 2021, Kraków, Poland, online), the XXIII All-Ukrainian Scientific and Practical Conference "Current Issues in Pediatrics" (Sydelnikov Readings) (Kyiv, September 15-17, 2021), the First Scientific and Practical Conference with international participation "Actual multidisciplinary issues of perinatology, neonatology and pediatrics: clinical and legal aspects (October 19-20, 2021), XV Congress of Pediatricians (Kyiv, October 12-13, 2021), scientific and practical conference with international participation" IPIP-2022: International platform of integrative pediatrics" (Kyiv, March 3-4, 2022), BNC PRM 2022 (Tartu, Estonia, June 9-11, 2022, online), European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress 2022 (Prague, Czech Republic, June 1-3, 2022), XXIV All-Ukrainian Scientific and Practical Conference "Current Issues in Pediatrics" (Sydelnikov Readings) (Kyiv, September 15-16, 2022), IV International Pediatric Congress "Child's Health" (Lviv, September 30-1 October 2022), Kyiv Allergology Days (Kyiv, October 21-22, 2022), All-Ukrainian Scientific and Practical Conference "Current Issues of Infectious Diseases in Children" (Kyiv, March 30, 2023), Scientific Conference "Kyiv allergy days" (April 7-8, 2023), scientific and practical conference "International Platform of Integrative Pediatrics-2023" dedicated to the memory of Academician V.G. Maidanyk (Kyiv, April 19-20, 2023), scientific and practical conference with international participation "Actual issues and practical aspects of children's pulmonology and allergology: standards of medical care" (Kyiv, April 27-28, 2023) European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress 2023 (online, June 9-11, 2023).

### **Publications**

Based on the dissertation materials, 24 scientific works were published, including 12 articles indexed in the Scopus scientometric database (6 articles – Q4, 6 articles – Q0), 11 articles in scientific journals recommended by the Ministry of Education and Culture of Ukraine, 1 article in publications indexed in international scientometric databases.

### **The structure and scope of the dissertation**

The dissertation consists of an abstract in Ukrainian and English, a table of contents, a list of conventional abbreviations, an introduction, a literature review, material and research methods, 5 sections of own research, analysis and generalization of research results, conclusions, and practical recommendations. The listed sections occupy 301 pages. Other pages are a list of references (29 Ukrainian and 463 foreign sources). The thesis contains 53 tables and 142 figures.

### **The main content of the work**

#### **Research materials and methods**

To achieve the set goal and solve the research tasks, we examined and treated 116 children aged 3 months to 18 years with AD. The control group consisted of 103 healthy children of the appropriate age without a burdensome allergic history. The research was conducted on the basis of the Helsinki Declaration of the World Medical Association and the rules of quality medical practice, voluntary participation, informing patients about the nature of the research.

All patients of the main group were receiving inpatient treatment or were referred as outpatients in the allergology department of the Kyiv City Children's Clinical Hospital No. 2 during 2020–2022. The main group consisted of 59 boys, median age 7 [4; 10], and 57 girls, median age 5 [2.5; 8]. There were 49 boys in the control group, median age 6 [5; 8], and 52 girls, median age 7 [5; 11]. The age distribution of the main and control groups did not differ statistically significantly ( $p > 0.05$ ).

The diagnosis of AD was verified according to the unified clinical protocol of primary, secondary (specialized), tertiary (highly specialized) medical care "Atopic dermatitis" (UCPMC) (Order of the Ministry of Health of Ukraine dated 04.07.2016 No. 670) and according to the proposed criteria of G.M. Hanifin, G. Rajka, which were supplemented by the British group of specialists and adopted in 1994 as international clinical guidelines [Williams HC, 1994]. The severity of AD was determined according to the SCORAD scale. The diagnosis of asthma was verified in accordance with the protocol for the diagnosis and treatment of asthma in children (Order of the Ministry of Health of Ukraine dated 23.12.21 № 2856) and the recommendations of the global strategy for the treatment and prevention of asthma GINA (Global Initiative for Asthma, revised in 2022). The diagnosis of AR was verified according to the protocol for the diagnosis and treatment of AR in children (Unified clinical protocol of primary, secondary (specialized) and tertiary (highly specialized) medical care for allergic rhinitis, 2017).

Children included in the study underwent the following examination methods: clinical and anamnestic, including using questionnaires based on the Children's Dermatological Quality of Life Index (CDLQI), the Infant Dermatological Quality of Life Index (IDQOL), the Family Dermatological Quality of Life Index (FDLQI), laboratory (general blood test, general urinalysis, bacteriological examination of the skin for the presence of *S. aureus*, immunological examination (general and specific IgE to allergens *Malassezia* and HDM, food allergens), determination of the presence of polymorphism rs7309123 in the Dectin-1 gene, rs4696480 in the TLR2 gene, identification of species of *Malassezia* on the skin using PCR, statistical methods.

The level of specific IgE (sIgE) in blood serum was determined in two stages: a cohort of 333 children using the ALEX 2 multiplex test (Allergy Explorer (ALEX®; MacroArray Diagnostics, Wien, Austria)) [Heffler, E., 2018, Celakovska, J., 2021]. In a cohort of 51 children, specific IgE to *Malassezia* was determined by the immunochemiluminescence method on the ImmunoCAP 100 (Thermo Fisher Scientific Inc., Phadia, Sweden) using the appropriate reagents.

In order to determine the species of *Malassezia* on the skin, genotyping was performed in the main and control groups using real-time PCR. In order to determine *S. aureus* on the skin, bacteriological culture was carried out by taking a scraping from the affected area. Identification of catalase-positive colonies was performed on a Vitek2compact bacteriological analyzer.

To determine the polymorphisms rs7309123 in the Dectin-1 gene and rs4696480 in the TLR2 gene, polymorphism genotyping was performed in the main and control groups using real-time PCR.

In order to evaluate the effectiveness of adding PZ to standard therapy, patients were randomly divided into two groups: the group that received treatment with 0.2% PZ cream on the affected skin areas 2 times per day 3 weeks and the necessary symptomatic

treatment (the main group, n=31) and the control group (n=31), who received only symptomatic therapy.

In order to study the effectiveness of ketoconazole 2% cream in the treatment of AD in children as an additional therapy, patients were randomly divided into two groups: the group that received treatment with ketoconazole cream 2% on the affected skin areas 2 times a day for 3 weeks and the necessary symptomatic therapy (the main group, n=28) and a control group (n=26), who received only symptomatic therapy.

To evaluate the effectiveness of adding 2% mupirocin cream to the standard therapy, patients were randomly divided into two groups: the group that received treatment with 2% mupirocin cream on the affected skin areas 2 times a day for 10 days and the necessary symptomatic therapy (the main group, n=19) and a control group (n=18) that received only symptomatic therapy.

In order to evaluate the effectiveness of the use of thyrothricin as an additional therapy in the treatment of AD, a 7-day study was conducted with the participation of 37 children: the patients were randomly divided into two groups – the group that received 2% thyrothricin in gel on the affected skin areas 2 times a day and necessary symptomatic therapy (the main group, n=18) and the control group (n=19), who received only symptomatic therapy.

A 24-month study was conducted in order to evaluate the effectiveness of ASIT therapy with HDM extract as an additional therapy in the treatment of AD in children with sensitization to HDM. 26 patients with AD were included in the study and randomly divided into two groups – 12 patients were treated with SLIT mixed HDM allergens "Imunolog" (Ukraine) and the necessary symptomatic therapy, and 14 were included in the control group, who received only symptomatic therapy.

Statistical processing of the obtained data was carried out using the statistical package IBM SPSS Statistics Base (version 22) and the software EZR version 1.32 (graphical interface of the R environment (version 2.13.0)). To assess the correlation between indicators, the Pearson correlation coefficient was used for the data, which does not differ from normal distribution, or Spearman for data whose distribution differs from normal ( $\rho$ ). SNPAnalyzer was used to test the distribution of genotype frequencies according to the Hardy-Weinberg distribution law. The association of each polymorphism with the risk of AD was investigated using the  $\chi^2$  test and determining odds ratio. Multivariate analysis was performed to analyze possible factors associated with AD severity. ROC analysis with receiver operator characteristic curve (ROC-curve) was used. Difference in therapy efficacy between two subgroups before and after treatment was determined using the Wilcoxon test and was considered statistically significant at the level of  $p < 0.05$ . The influence of parameters on the effectiveness of treatment was determined by odds ratio (OR).

### **Research results**

In order to assess the prevalence of AD and to determine the association of food allergy (FA) and anamnestic and clinical parameters of AD, 116 children with AD were examined. The number of children with food sensitization and manifestations of FA was 23 children (19.8%) (Fig. 1).

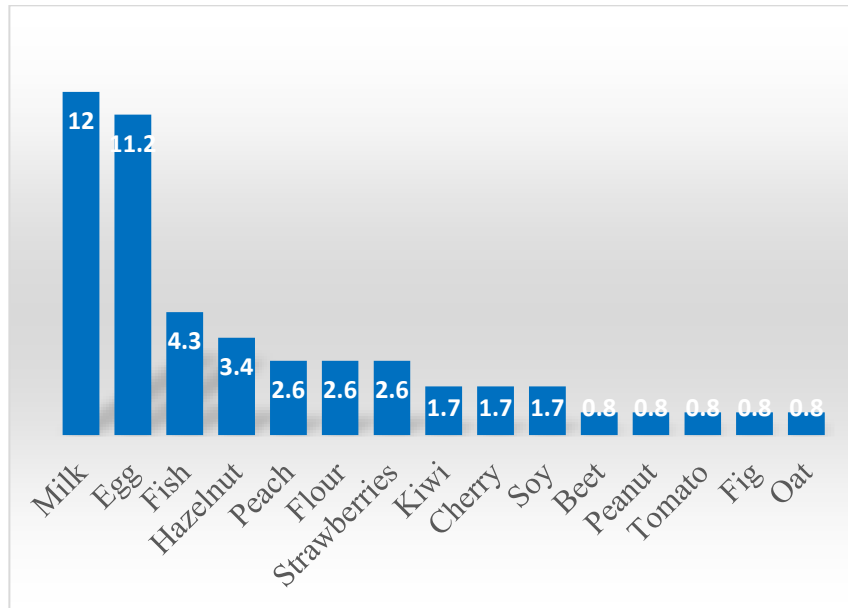


Fig. 1. Prevalence of sensitization to food allergens in children with AD (%).

FA was significantly more common in children with moderate and severe AD than in the group of patients with mild AD ( $\chi^2=7.555$ ,  $p<0.05$ ). In the group of children with FA, an earlier onset of AD was noted ( $p<0.05$ ). Children whose parents had a history of atopic diseases were significantly more likely to have concomitant FA ( $\chi^2=12.831$ ,  $p<0.05$ ), which indicates the importance of a parental allergic anamnesis as a prognostic marker for the development of food sensitization.

In order to compare the indicators of sensitization to *Malassezia* in children with AD and in the population of children with a combination of allergic diseases, the level of specific IgE to *Malassezia* spp. was determined in a large cohort of 333 children using the ALEX2 multiplex test, then in 51 children of the main group.

Among children with atopy, specific IgE to Mala s 5 was detected in 67 children (20.1%), to Mala s 6 – in 215 children (64.6%), to Mala s 11 – in 77 children (23.1%). These data indicate a significant prevalence of sensitization to *Malassezia* in children with atopic diseases. The distribution of sensitization classes is presented in Fig. 2.

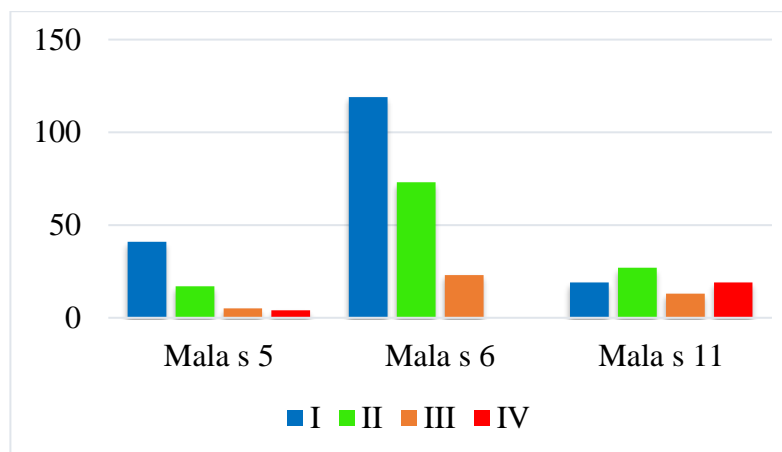


Fig. 2. Distribution of classes of sensitization to molecular components of *Malassezia* among children with atopy.

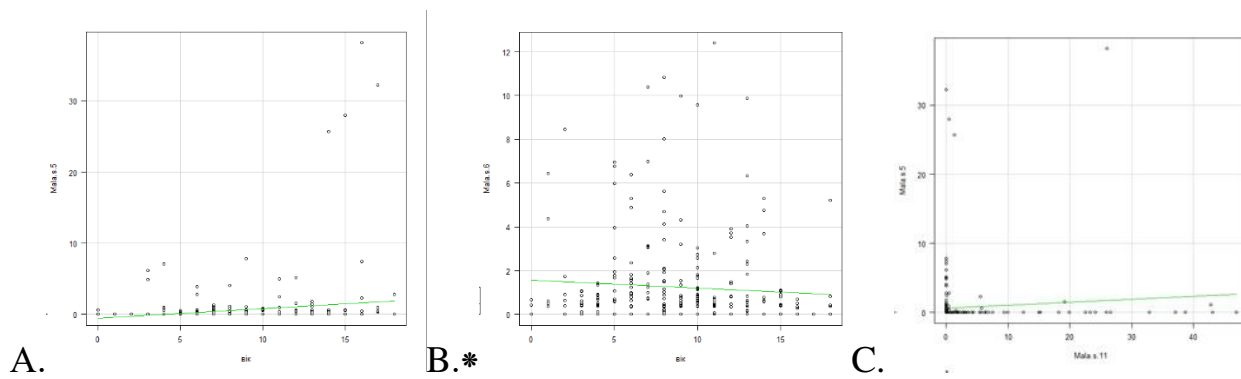


Fig. 3. Correlation of specific IgE to molecular components and age: A. for Mala s 5, B. for Mala s 6, C. for Mala s 11.

Note. \* –  $p < 0.05$

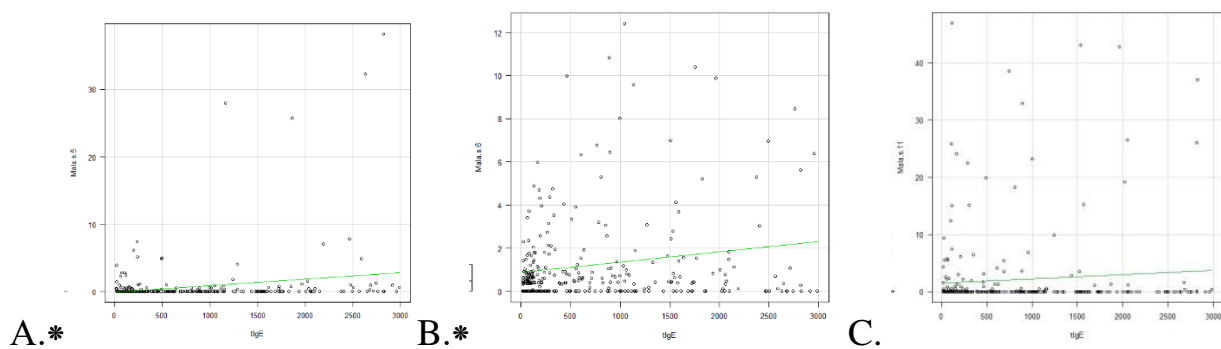


Fig. 4. Correlation of specific IgE to molecular components and total serum IgE: A. for Mala s 5, B. for Mala s 6, C. for Mala s 11.

Note. \* –  $p < 0.05$

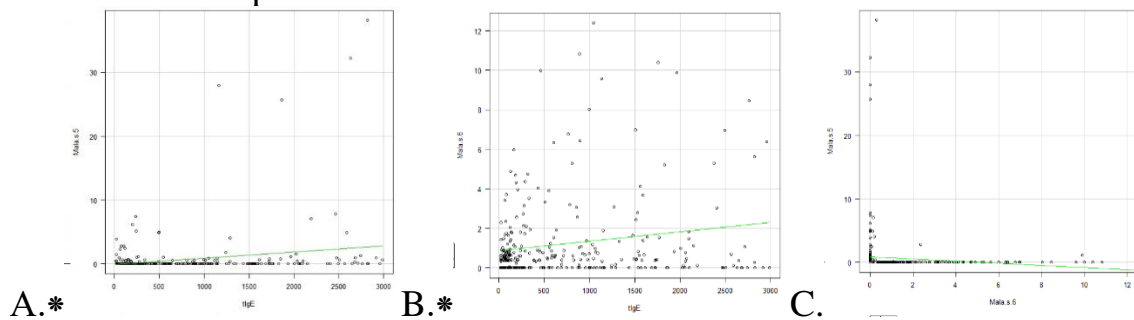


Fig. 5. Correlation of specific IgE to molecular components: A. for Mala s 5 and Mala s 6, B. for Mala s 6 and Mala s 11, C. for Mala s 11 and Mala s 5.

Note. \* –  $p < 0.05$

The level of antibodies to Mala s 5 and Mala s 6 are correlated with total serum IgE ( $\rho=0.161$  and  $\rho=0.112$ , respectively), an inverse correlation was also found between the level of specific IgE to Mala s 11 and to Mala s 6 ( $\rho=-0.351$ ), Mala s 5 and Mala s 6 ( $\rho=-0.490$ ). Correlation of specific IgE and age was found for the molecular component Mala s 6 – weak inverse correlation ( $\rho=-0.126$ ). No correlation was found between age and total IgE in blood serum, which indicates the absence of correlation between the indicators of sensitization to Malassezia and age in the study by the ALEX2 method (Figs. 3-5).

Sensitization to Mala s 6 was most common among children. The highest values of the sIgE index were observed for Mala s 11 – in 23.9% of patients. This may indicate that the Mala s 11 protein has the greatest allergenic potential.

Children sensitized to *Malassezia* have also been found to have concomitant sensitization to mold, pollen, animals, HDM, foods, etc. Therefore, this group of children has significant polysensitization. A graphic representation of accompanying sensitization in children sensitive to *Malassezia* is presented in Fig. 6.

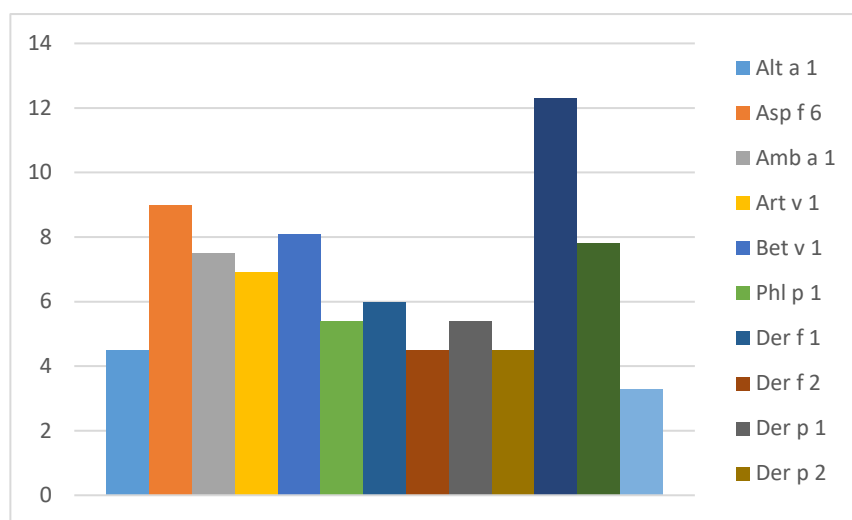


Fig. 6. Prevalence of concomitant sensitization in children sensitized to *Malassezia*.

Next, serum IgE to *Malassezia* was evaluated in the main group of 51 children using the Immunocap method (Fig. 7). The obtained data indicate a sufficiently high prevalence of sensitization to yeast fungus in children with AD.

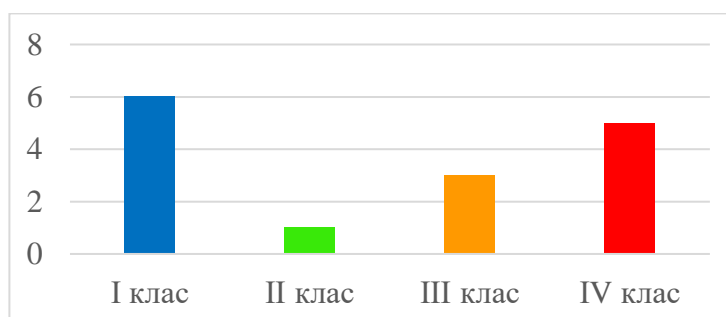


Fig. 7. Distribution of children of the main group depending on the class of sensitization to *Malassezia*.

A higher level of IgE to *Malassezia* spp. was a marker of a more severe form of AD in children. Patient age or gender did not correlate with IgE to *Malassezia*. Sensitization to *Malassezia* was significantly more often observed in children with an early AD phenotype (Fig. 8). We found a significant association of AD "head-neck" type with specific IgE to *Malassezia* (OR=7.77, CI 1.95-30.95,  $p < 0.05$ ). Thus, sensitization to *Malassezia* is quite common among children with AD, and most likely develops as a result of a disrupted epidermal barrier, and leads to worsening of the severity of the disease.

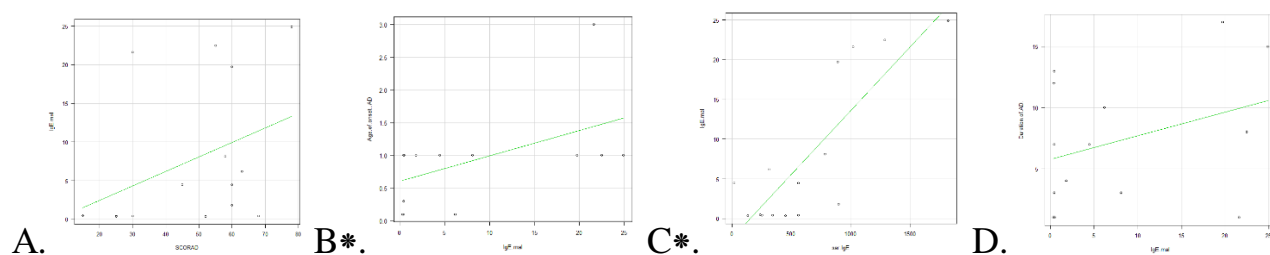


Fig. 8. Correlation of *Malassezia*-specific IgE in children with AD and the SCORAD index (A), age of onset of AD (B), level of total IgE (C), duration of AD (D).

Note. \* –  $p < 0.05$

The level of specific IgE to HDM was determined in 101 patients included in the study. Sensitization to HDM was found in 49 (48.5%) children, in 52 (51.5%) AD patients the result was negative. Children sensitized to HDM had predominantly severe disease phenotype ( $p < 0.001$ ), higher total IgE ( $p < 0.001$ ) and longer disease duration ( $p = 0.013$ ) (Fig. 9). It was also demonstrated that in the group of children sensitive to HDM, respiratory allergy – asthma and AR were significantly more common (OR=7.237, CI 1.514-34.598) (Fig. 10). This demonstrates that the transepidermal route of sensitization to dust mites is an important step in the atopic march and development of respiratory allergy.

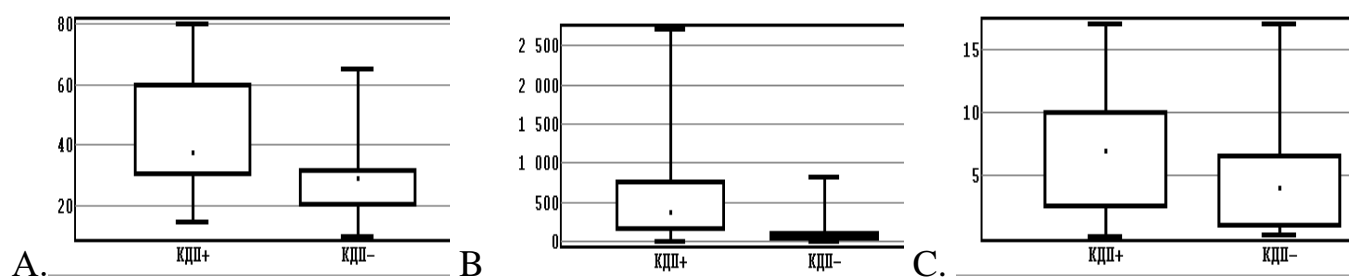


Fig. 9. Comparison of the SCORAD indicator (A), the total IgE indicator (B), the duration of the disease (C) in two groups of children depending on the presence of sIgE to HDM,  $p < 0.05$ .

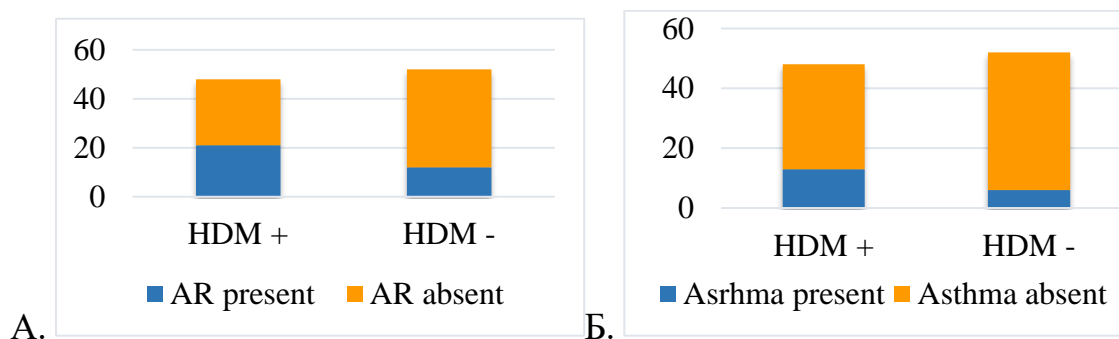


Fig. 10. Distribution of children with AD in the group with and without sensitization to HDM depending on the presence of AR (A) and asthma (B).

Colonization of the skin by *S. aureus* is significantly more common in children with AD than in healthy children (OR=3.974, CI 1.861-8.486): among children with AD, 44%

had a positive culture for *S. aureus*, in the control group, *S. aureus* colonization was detected in 17% of children (Fig. 11). Children with *S. aureus* colonization were older than children with normal microflora ( $p<0.05$ ) and had a longer duration of AD disease ( $p<0.05$ ) (Fig. 12). SCORAD was significantly higher in *S. aureus* carriers ( $p<0.05$ ) (Fig. 12). Obviously, the longer duration of the disease determines the greater burden of antigenic load of *S. aureus* on keratinocytes and immune cells of the skin.

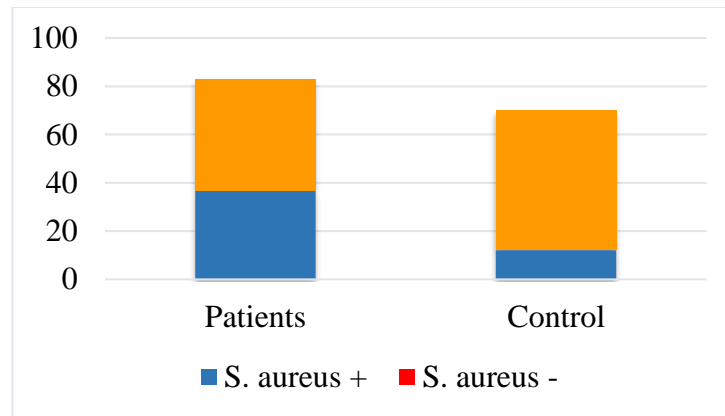


Fig. 11. The results of determination of *S. aureus* in the group of patients with AD and the control group,  $p<0.05$ .

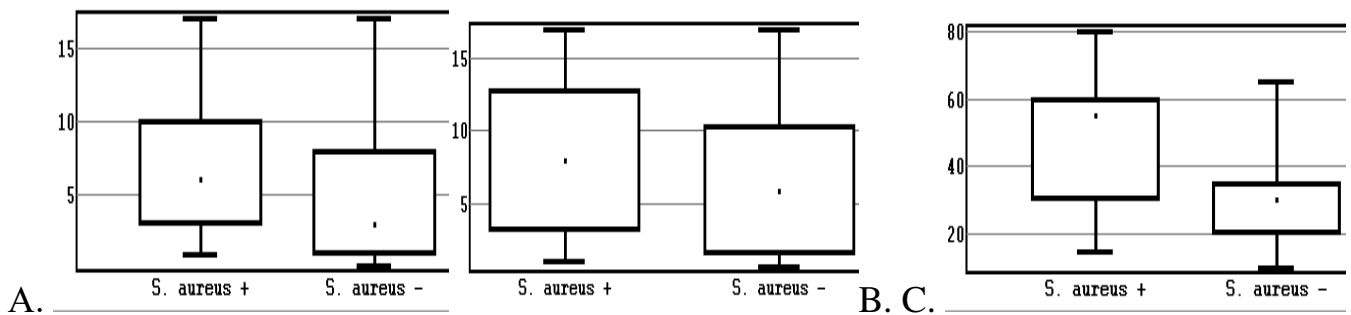


Fig. 12. Comparison by age (A), disease duration (B), SCORAD index (B) of groups of children – carriers and non-carriers of *S. aureus*,  $p<0.05$ .

PCR of skin smears to determine *Malassezia* species revealed a significant predominance of *M. globosa* over *M. restricta*, especially among boys. *M. pachydermatis* and *M. slooffiae* were detected in ten patients and one control, presumably, these species can worsen AD by antigenic or metabolic means (Fig. 13). Among healthy controls, the ratio of *M. globosa* to *M. restricta* was in favor of *M. globosa* (Fig. 14), but not as significant as in patients, and also more prominent among boys (Fig. 15). Thus, it was found that the distribution of *Malassezia* by species is different between patients and control children, and is likely to depend on gender: a significant predominance of *M. globosa* over *M. restricta* was more noticeable among children with AD, and particularly among boys, which may be due to the different lipid composition of sebum. A disturbed ratio of species probably plays a role in the pathogenesis of AD, possibly through the species-dependent formation of metabolic products and pro-inflammatory substances.

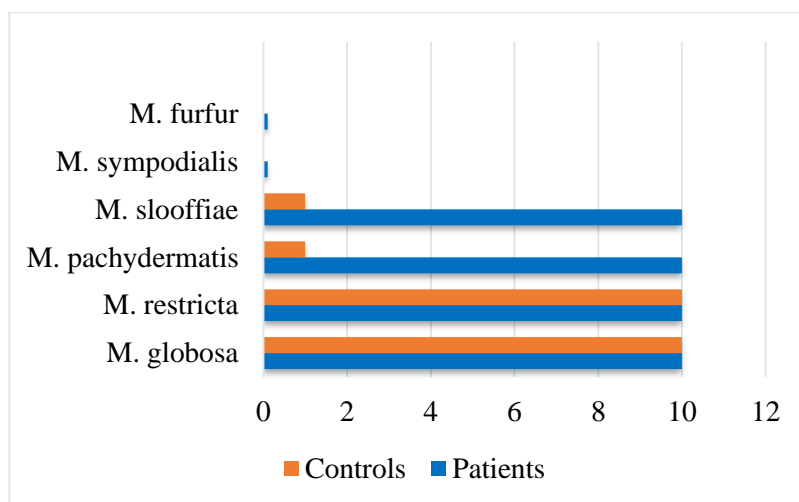


Fig. 13. Results of determination of six species of *Malassezia* in patients with AD and in children of the control group.

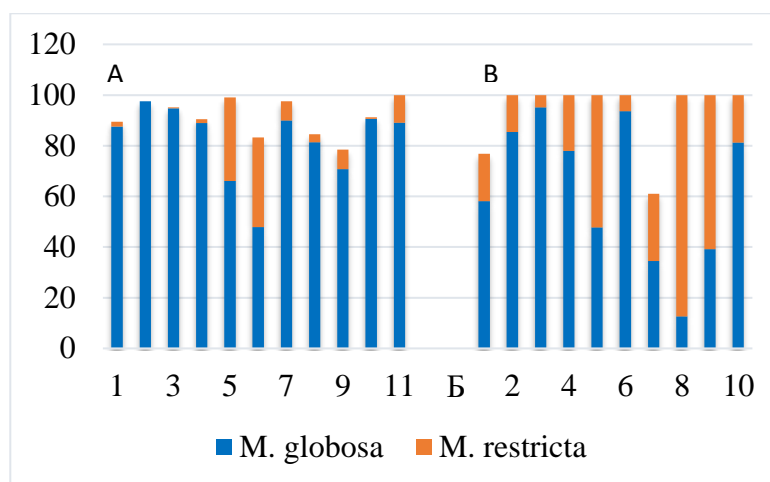


Fig. 14. Distribution of *M. globosa* and *M. restricta* species on the skin of children with AD (A) and healthy children (B).

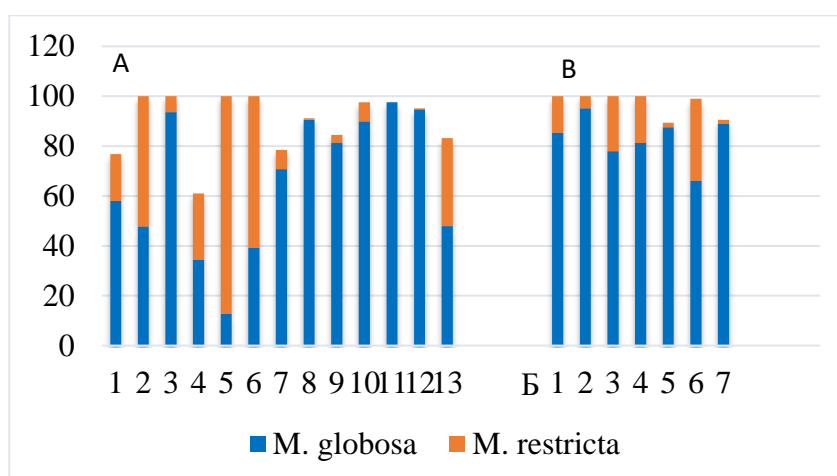


Fig. 15. Distribution of *Malassezia* species on the skin of children depending on gender: A – girls, B – boys.

It was found that the rs7309123 polymorphism of the Dectin-1 gene is a predictor of the development of AD in children: variants with the GG rs7309123 genotype in the Dectin-1 gene are found more often in the main group than in the control group (OR = 2.35, CI 1.03-5.108,  $p=0.02$ ,  $\chi^2=7.514$ ) (Fig. 16). In addition, the relationship between the rs7309123 polymorphism of the Dectin-1 gene and increased total IgE (OR=2,3193, CI 1,00-5,37) and specific IgE to dust mites (OR=4.26, CI 1.432-12.72) was demonstrated (Fig. 17). It's serves as an evidence that the presence of the GG variant in a certain way leads to the recognition of allergens, in particular dust mites, and predisposes to the development of sensitization in children with AD.

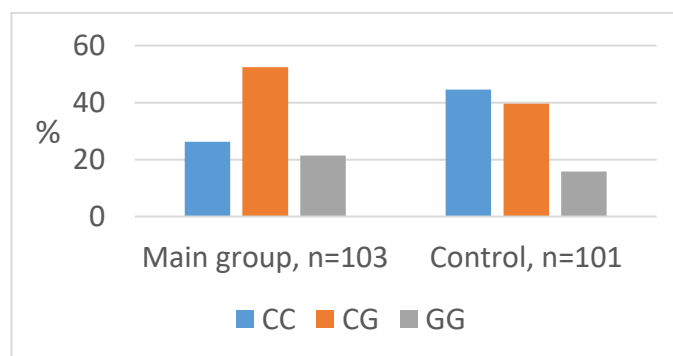


Fig. 16. Genotype distribution of rs7309123 Dectin-1 polymorphism in children of the main and control groups,  $p < 0.05$ .

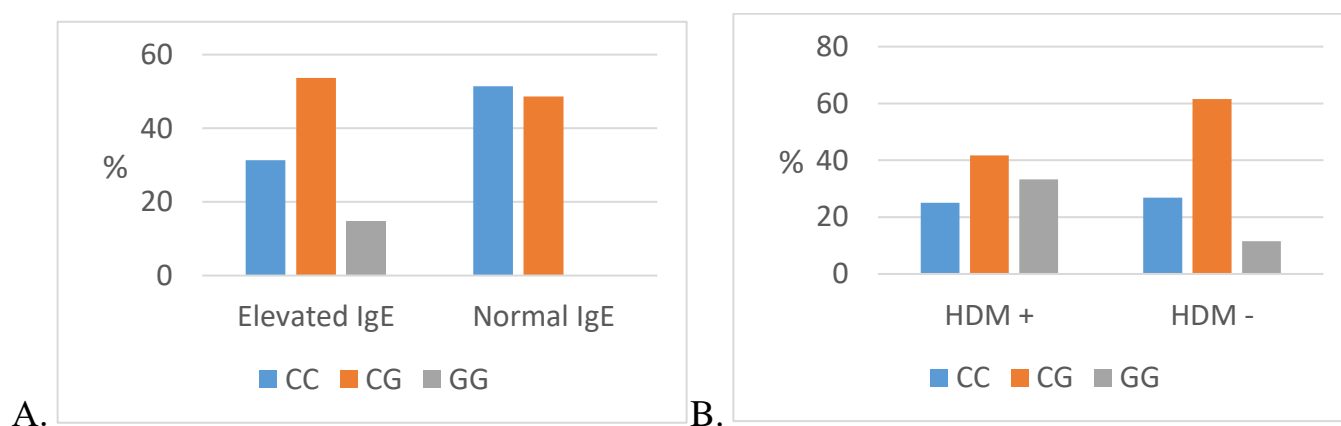


Fig. 17. Genotype distribution of the rs7309123 Dectin-1 polymorphism depending on the increased level of serum total IgE (A)  $p < 0.05$ , and the presence of an increased level of serum IgE to HDM (B) in children of the main group,  $p < 0.05$ .

Table 1 presents the results of the regression analysis in the form of the incidence rate of AD (the exponent of the logistic regression coefficients), their 95% confidence intervals, and p-values. CC genotype for Dectin-1 genotype and age less than 2 years for age categories were selected as reference categories.

Table 1

The results of the regression analysis in the form of the odds ratio of the occurrence of AD

	OR	2,5%	97,5%	p-value
Dectin-1, CG	2,11	1,1	4,08	0,0257
Dectin-1, GG	1,98	0,87	4,49	0,1039
Age 2-10 years	0,10	0,01	0,79	0,0293
Age 11-17 years	0,08	0,01	0,65	0,0185

Analyzing the relationship between the Dectin-1 genotype and the occurrence of AD, it can be seen that in comparison of individuals with the CC genotype, the CG genotype increases the chances of having AD by 111% (OR=2.11, 95% CI 1.1-4.08) with statistical significance at the level of  $p=0.0257$ . At the same time, a statistically significant relationship was not found for GG, which may be due to the small number of patients in this group, because the 95% confidence interval for OR only crosses 1 (OR=1.98, 95% CI 0.87-4.49), and the p-value is slightly above the threshold ( $p=0.104$ , so there is a 10.4% chance of obtaining these results in the population if the null hypothesis is true, which is a fairly low probability). Taking into account the statistically significant result for CG and the threshold result for GG, it can be concluded that there is a probability of the protective value of the CC genotype in the occurrence of AD.

The results of our study did not reveal a direct effect of the rs4696480 polymorphism in the TLR2 gene on the risk of developing AD (Fig. 19.A), but it was found that the presence of this polymorphism contributes to a more severe AD phenotype (OR=6.39, CI 1.24-32.99) for AA and TT,  $\chi^2=5.66$   $p=0.06$ ) (Fig. 19.B), food sensitization (OR=2.88, CI 1.027-8.08) (Fig. 20.A) and *S. aureus* infection of the affected skin (OR=7,00, CI 1,85-26,46 for TT) (Fig. 20.B). TLR2 is likely to mediate the severity of AD: recognition and presentation of food molecules and *S. aureus* antigens by skin and gut DCs leads to sensitization of the allergy-prone child

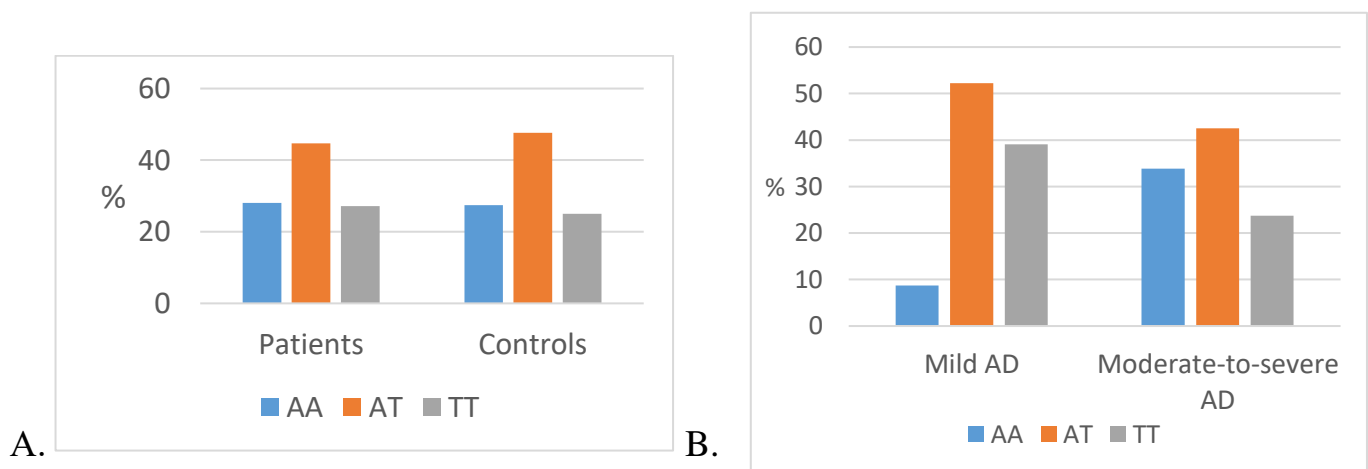


Fig. 19. Genotype distribution of rs4696480 polymorphism in TLR2 in children of the main and control groups,  $p>0.05$ .

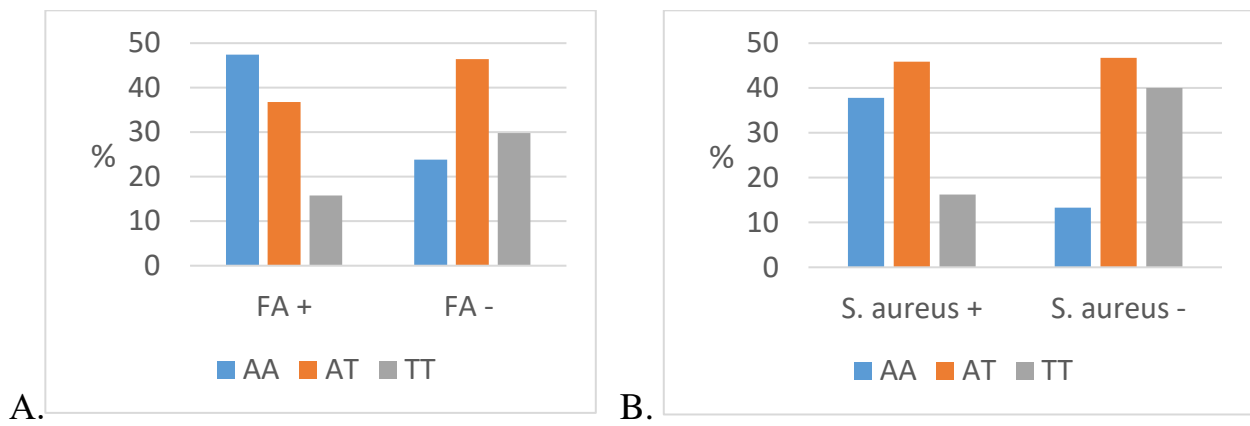


Fig. 20. Genotype distribution of the rs4696480 polymorphism in TLR2 depending on the presence of food allergy (A) and *S. aureus* colonization (B) in children of the main group,  $p < 0.05$ .

The conducted study demonstrated that children with a severe AD phenotype have an increased risk of concomitant allergic diseases (OR=5.60, CI 1.86-16.86). In addition, children with an early AD phenotype have a more severe form of AD (OR=6.75, CI 1.50-30.37) and an increased risk of developing respiratory allergies (OR=7.59, CI 2.45-23.58). Also, children with a family history of atopy have a high risk of developing severe AD phenotype (OR=9.25, CI 3.44-24.90) and concomitant allergic diseases (OR=3.92, CI 1.76-8.75).

In this study, no protective role of the use of skin care products for the prevention of AD was found – AD was more common in the intervention group: the OR for the moisturizing cream group, relative to the group that did not receive any measures, was 68.6, CI 3.9-1201.5,  $p = 0.004$  (Fig. 21). This may be due to the fact that the use of moisturizing creams for the treatment of already existing AD could have affected the data, but the route of percutaneous sensitization, when allergens can enter the cream during the application of an emollient to the skin, cannot be excluded. The use of emollients was also not significant for the development of FA (OR=1.4, CI 0.4-4.9),  $p = 0.56$ . We have not found the protective role of a longer duration of breastfeeding (more than 3 months) for preventing the development of AD (OR=0.1, CI 0.01-2.6,  $p = 0.19$ ), or FA (OR=1.3, CI 0.3-6.9,  $p = 0.74$ ). Early introduction of supplementary food did not affect the development of AD (OR=0.9, CI 0.3-2.7,  $p = 0.8$ ), and FA (OR=0.8, CI 0.2-2.9,  $p = 0.76$ ).

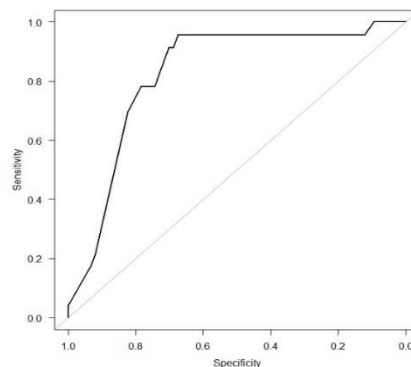


Fig. 21. ROC curve of the six-factor logistic regression model for AD risk prediction.

The results of the CDLQI, IDQOL, and FDLQI quality of life questionnaires were correlated with AD severity indicators. The number of patients in whom the

manifestations of AD had a small effect on the quality of life was 25.4%, a moderate effect – 40.8%, a very large effect – in 19.7% of patients, in 12.7% of patients AD caused an extremely large effect on the quality of life. Thus, 98.6% of patients indicated that AD affects the quality of life.

This study demonstrated the effectiveness of using a 3-week course of PZ in the treatment of AD as an additional therapy: children with AD who received topical PZ had statistically significantly better dynamics of the SCORAD indicator than children of the control group ( $W=782.5$ ,  $p=0.006$ ) and the CDLQI score ( $W=635.0$ ,  $p<0.001$ ) (Fig. 22). The effectiveness of treatment depended on the presence of a minor homozygous polymorphism rs7309123 in the Dectin-1 gene:  $\Delta$ SCORAD in the subgroup of children with the CC and CG genotypes was significantly higher than in the subgroup of children with the GG genotype ( $20.0\pm 10.9$  and  $12.9\pm 4.7$ , respectively,  $T=2.55$ ,  $p=0.016$ ) (Fig. 23).

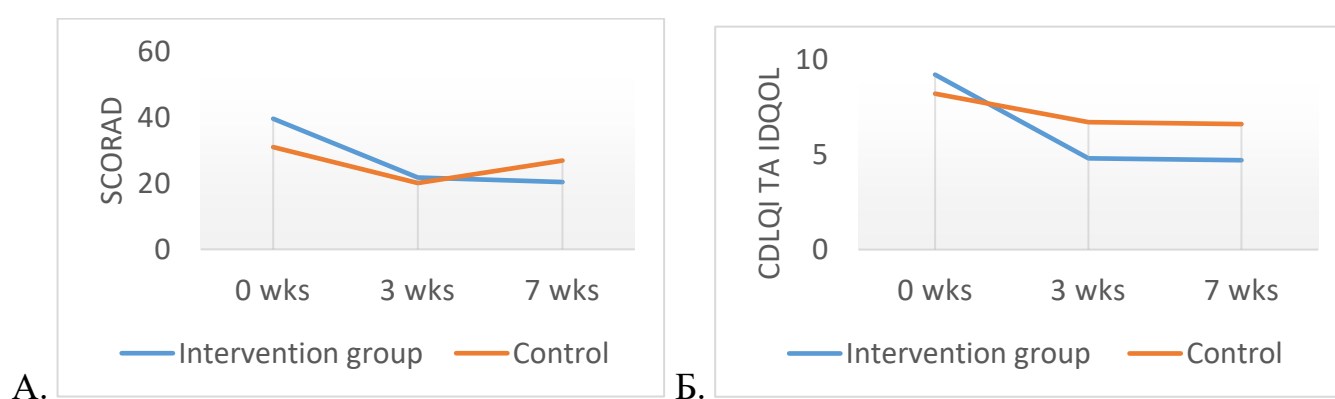


Fig. 22. Dynamics of the SCORAD indicator (A) and the CDLQI and IDQOL indicators (B) in the groups on the 3rd and 7th week after the start of treatment,  $p<0.001$ .

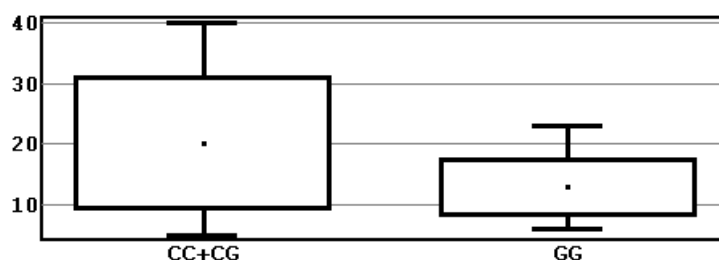


Fig. 23. Comparison of the index of AD improvement –  $\Delta$ SCORAD depending on the genotype of the rs7309123 polymorphism in the Dectin-1 gene in the main group ( $20.0\pm 10.9$  and  $12.9\pm 4.7$ , respectively,  $T=2.55$ ,  $p=0.016$ ).

The effectiveness of using a 3-week course of ketoconazole 2% cream in the treatment of AD as an additional therapy was shown. Children treated with ketoconazole had significantly better dynamics of the regression index: the differences in  $\Delta$ SCORAD and  $\Delta$ CDLQI between groups were statistically significant ( $W=465.0$ ,  $p<0.001$  and  $W=429.5$ ,  $p<0.001$ , respectively) (Fig. 24).

The effectiveness of the treatment depended on the presence of a minor homozygous polymorphism rs7309123 in the Dectin-1 gene:  $\Delta$ SCORAD in the subgroup of children with the CC and CG genotypes was significantly higher than in the subgroup of children with the GG genotype ( $20.2\pm 11.5$  and  $13\pm 6.5$ , respectively,  $T=2.12$ ,  $p=0.044$ ) (Fig. 25). This may be due to the fact that children who are carriers of the pathological

genotype of the Dectin-1 receptor gene have an altered presentation of fungal allergens, and are particularly sensitive to the influence of *Malassezia* on the severity of the disease. And that's why such children can benefit the most from antifungal therapy.

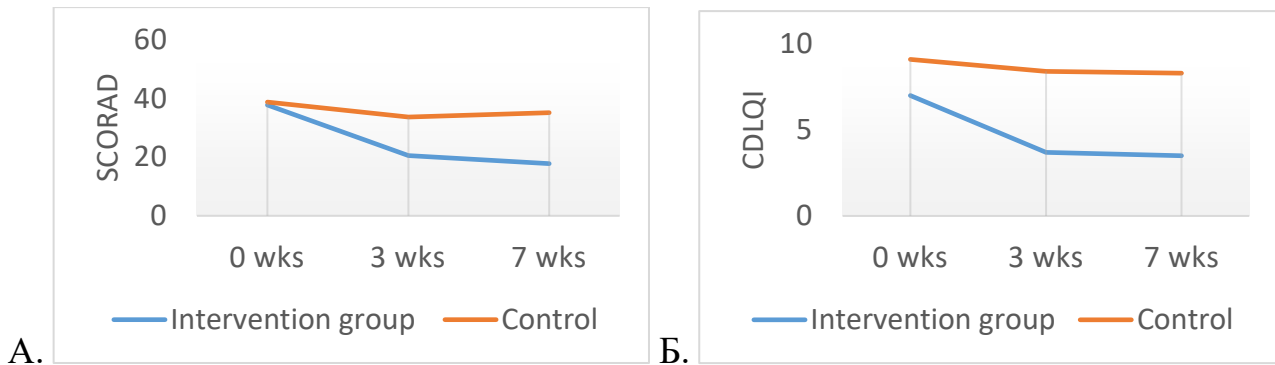


Fig. 24. Dynamics of the SCORAD indicator (A) and CDLQI (B) in the groups on the 3rd and 7th week after the start of treatment,  $p < 0.001$ .

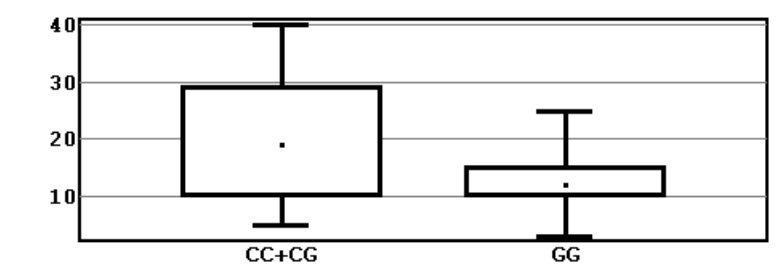


Fig. 25. Comparison of the index of AD improvement –  $\Delta$ SCORAD depending on the genotype of the rs7309123 polymorphism in the Dectin-1 gene in the main group ( $20.2 \pm 11.5$  and  $13 \pm 6.5$ , respectively,  $T = 2.12$ ,  $p = 0.044$ ).

The results of the study demonstrate the effectiveness of the use of mupirocin in the treatment of AD as an additional therapy: patients with AD who received mupirocin cream 2% topically had significantly better dynamics of the SCORAD index and CDLQI and IDQOL quality of life score than children who received only traditional therapy ( $T = 2.70$ ,  $p = 0.011$  and  $T - W = 190.0$ ,  $p < 0.001$  respectively) (Fig. 26).

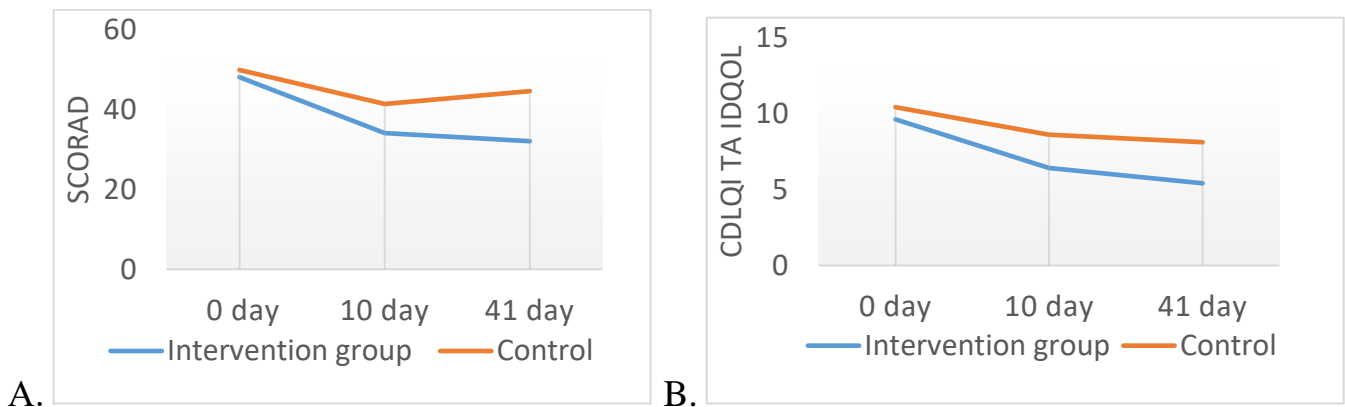


Fig. 26. Dynamics of the SCORAD indicator (A) and CDLQI (and IDQOL) (B) in groups on the 10th day and one month after the end of treatment,  $p < 0.001$ .

This study showed that the addition of thyrothricin to standard AD therapy in children with *S. aureus* infection can provide significant clinical efficacy in terms of SCORAD and CDLQI and IDQOL quality of life scores ( $T=4.06$ ,  $p=0.011$  and  $W=275,5$ ,  $p=0.004$  respectively) (Fig. 27).

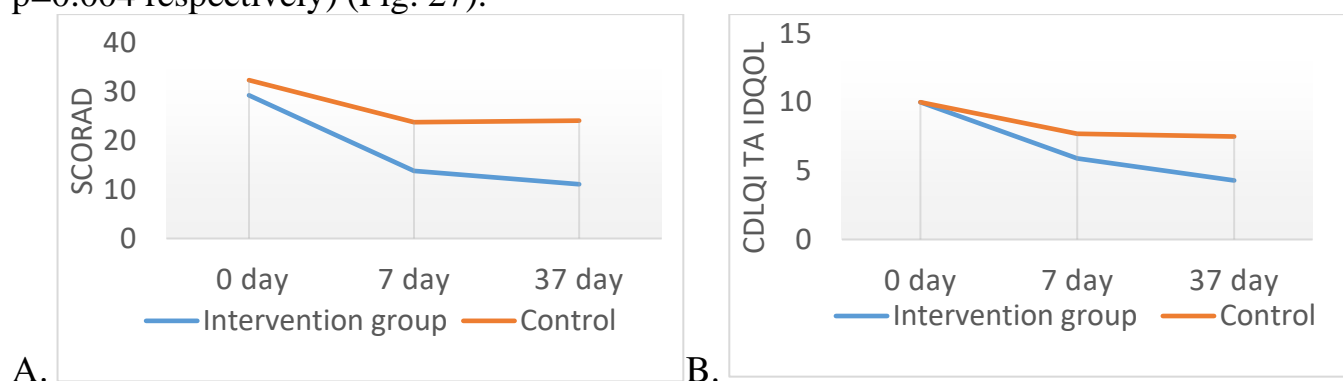


Fig. 27. Dynamics of the SCORAD indicator (A) and CDLQI and IDQOL (B) in groups on the 7th day and one month after the end of treatment,  $p<0.001$ .

A randomized 2-year study showed that SLIT with HDM extract can provide significant clinical effectiveness according to SCORAD and CDLQI questionnaire indicators in children with AD: the decrease in SCORAD was 52.1% in the HDM SLIT group and 20.2% in the control group ( $T-W=78.0$ ,  $p<0.001$  in the SLIT group), the decrease in CDLQI was 40.7% in the SLIT group ( $T-W=66.0$ ,  $p<0.001$ ) (Fig. 28).

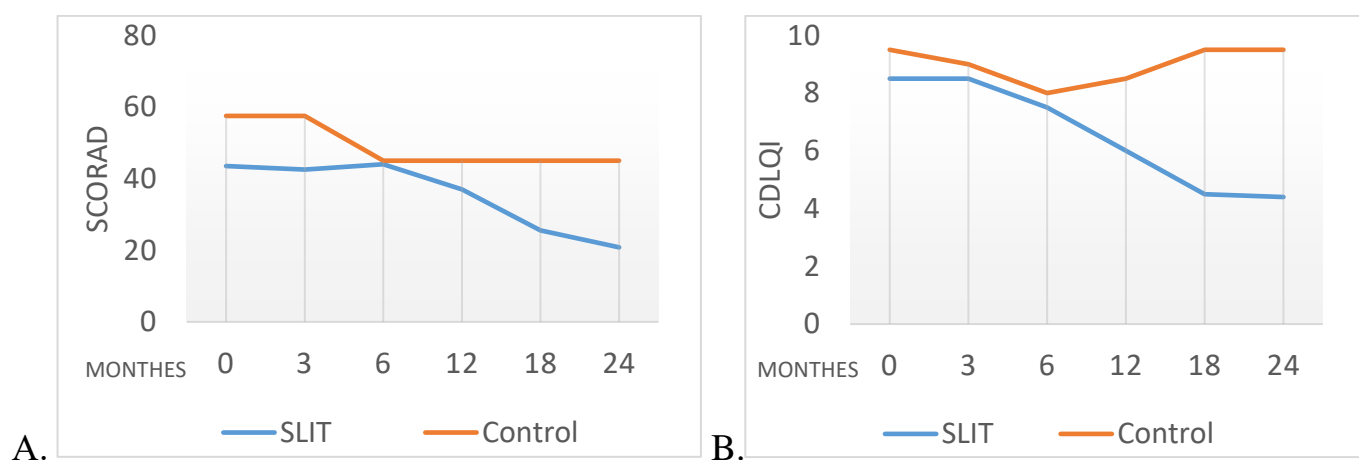


Fig. 28. Comparison of the AD improvement rate –  $\Delta$ SCORAD (A) and the CDLQI questionnaire score (B) depending on the degree of severity, in the SLIT group and the control group.

Therefore, the conducted study provides reasons for the feasibility of adding antimycotic and antibacterial therapy, as well as ASIT, depending on the profile of sensitization, infection and genetic factors, to the standard treatment of AD in children.

## Conclusions

Based on the data obtained from the study of the role of pattern recognition receptor polymorphisms in the development of atopic dermatitis, skin colonization by *Malassezia* and *S. aureus*, skin sensitization to *Malassezia*, HDM and food allergens in children, a

theoretical justification was made and a new algorithm for the diagnosis and therapy of atopic dermatitis with the detection of risk groups regarding the development of a severe phenotype and associated respiratory allergic diseases and justification of the applied therapy schemes.

1. Differences in the clinical manifestations of the course of atopic dermatitis have been revealed, depending on the age of disease manifestation and burdened allergic anamnesis. Children with an early manifestation, burdened by an allergic parental anamnesis are a risk group for severe and persistent disease (OR=6.75, CI 1.50-30.37 and OR=9.25, CI 3.44-24.90, respectively), the development of food allergy ( $\chi^2=7.56$ ,  $p<0.05$ ) and accompanying respiratory pathology (OR=7.59, CI 2.45-23.58 OR=3.919, CI 1.756-8.747). Food sensitization and manifestations of food allergy were found in 19.8% of children with atopic dermatitis.

2. Sensitization to *Malassezia* yeast is quite common and is observed in 29.4% of children with atopic dermatitis. Sensitization to *Malassezia* was more often observed in children with an early phenotype ( $\rho=0.541$ ,  $p=0.0372$ ), significantly associated with atopic dermatitis of the "head and neck" type (OR=7.77, CI 1.95-30.95,  $p<0.05$ ) and can serve as a marker of a more severe form of the disease. Most likely, sensitization develops as a result of a broken epidermal barrier, and leads to worsening of the severity of the disease.

3. When determining the species of *Malassezia*, there is a difference between healthy and children with atopic dermatitis, and depending on gender: the predominance of *Malassezia globosa* over *Malassezia restricta* among children with atopic dermatitis, and in particular among boys, is revealed, which is due to the different activity of the sebaceous glands and the content of fatty acids in the skin. *M. pachydermatis* and *M. slooffiae* were detected only in the group of patients, probably they may have a close connection with atopic dermatitis.

4. Sensitization to house dust mites was observed in 48% of children with atopic dermatitis, which caused a more severe phenotype of the disease ( $p<0.001$ ), higher total IgE values ( $p<0.001$ ), a longer duration of the disease ( $p=0.013$ ) and significantly more often causes accompanying respiratory allergy – asthma and allergic rhinitis as stages of atopic march and development of respiratory allergy (OR=7.237, CI 1.514-34.598,  $p<0.001$ ).

5. In children with atopic dermatitis, skin colonization by *S. aureus* was detected much more often than in healthy children – in 44% of cases against 17% (OR=3.974, CI 1.861-8.486). This caused them to have a longer duration and a more severe course of the disease ( $p<0.05$ ).

6. The rs7309123 polymorphism of the Dectin-1 gene is an important predictor of the development of atopic dermatitis in children: variants with the GG rs7309123 Dectin-1 genotype are found more often in the main group than in the control group (OR=2.35, CI 1.03–5.108). There is an association between the rs7309123 polymorphism of the Dectin-1 gene and elevated total IgE (OR=57.86, CI 3.27-1025.03) and specific IgE to house dust mites (OR=4.26, CI 1.432-12.716). This is evidence that the presence of the rs7309123 polymorphism of the Dectin-1 gene leads to the recognition of allergens, in particular house dust mites, causes the development of sensitization in children with atopic dermatitis, the progression of a severe disease and the development of concomitant allergic respiratory pathology – allergic rhinitis and asthma.

7. The presence of the rs4696480 polymorphism in the TLR2 gene contributes to a more severe phenotype of atopic dermatitis (OR=6.395, CI 1.24-32.99), food sensitization (OR=2.88, CI 1.027-8.076) and carriage or infection of *S. aureus* (OR=7.00, CI 1.85-26.46): recognition and presentation of food molecules and *S. aureus* antigens by dendritic cells of the skin and gut leads to sensitization of the allergy-prone child.

8. In the complex therapy of atopic dermatitis, in the presence of a pathological homozygous genotype of the polymorphisms rs7309123 in the Dectin-1 gene and rs4696480 in the TLR2 gene, it was appropriate to determine the sensitization profile followed by an individual approach to therapy, taking into account the relevant allergen. When sensitization to *Malassezia* yeast was detected, the effectiveness of antifungal agents was demonstrated: ketoconazole 2% cream reduced the severity of symptoms by 46%; zinc pyrithione improved symptoms of atopic dermatitis by an average of 45%. Antibacterial therapy was shown to be effective in patients with *S. aureus* skin colonization: adding mupirocin 2% cream to standard therapy led to a 25% improvement in symptoms; addition of thyrothricin gel reduced the severity of atopic dermatitis by 32.4%. In patients with dust mite sensitization, allergen-specific immunotherapy with dust mite extract reduced the severity of the main clinical symptoms by 52.1%.

### **Practical recommendations**

1. In order to improve the effectiveness of early diagnosis and treatment of atopic dermatitis for all patients, regardless of age, gender and duration of the disease, it is recommended to carry out a comprehensive examination, which includes the assessment of basic clinical and laboratory parameters and the presence of sensitization, colonization of the skin by pathogenic and conditionally pathogenic organisms, genetic factors, for the further formation of the risk group regarding the severe phenotype of the disease and the development of concomitant respiratory allergic pathology.

2. In children from the risk group, it is advisable to determine the polymorphisms rs7309123 in the Dectin-1 gene, rs4696480 in the TLR2 gene, the presence of *S. aureus* and *Malassezia* species colonization on the affected skin areas, the presence of sensitization to food allergens, *Malassezia* and house dust mites.

3. In the complex therapy of atopic dermatitis in the presence of a pathological homozygous genotype of the rs7309123 polymorphism of the Dectin-1 gene, it is recommended to determine the profile of sensitization followed by an individual approach to therapy, taking into account the relevant allergen.

4. In the complex therapy of atopic dermatitis in the presence of a pathological homozygous genotype of the rs4696480 polymorphism in the TLR2 gene, it is recommended to determine food sensitization and the presence of skin colonization by *S. aureus*, followed by an individual approach to therapy, taking into account the significant allergen and pathogen.

5. If sensitization to *Malassezia* yeast is detected in children with atopic dermatitis, it is recommended to use antifungal agents: ketoconazole 2% cream 2 times a day or zinc pyrithione 2 times a day for 3 weeks.

6. When *S. aureus* colonization is detected, it is recommended to use antibacterial therapy in the form of mupirocin 2% cream 2 times a day for 2 weeks or thyrothricin gel 2 times a day for 1 week.

7. When sensitization to house dust mites is detected, the use of ASIT with dust mite extract is recommended, which, in turn, can improve the course of atopic dermatitis and reduce the risk of developing asthma and allergic rhinitis in children with sensitization to house dust mites.

**Key words:** atopic dermatitis, children, *Malassezia*, house dust mites, *S. aureus*, Dectin-1, Toll-like receptors, antibacterial therapy, antimicrobial therapy, ASIT