

На правах рукописи



Соболева Виктория Александровна

Роль антимикробных пептидов в прогрессировании атопического дерматита у детей

3.1.21. Педиатрия

3.2.7. Аллергология и иммунология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научные руководители:

доктор медицинских наук, доцент

Кудрявцева Ася Валерьевна

доктор медицинских наук,
член-корреспондент РАН

Свитич Оксана Анатольевна

Официальные оппоненты:

Зайцева Ольга Витальевна – Заслуженный врач России, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра педиатрии, заведующая кафедрой

Ревакина Вера Афанасьевна – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологий и безопасности пищи», отделение аллергологии и диетологии, заведующая отделением

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»

Защита диссертации состоится «16» октября 2023 г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.17 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119435, г. Москва, ул. Большая Пироговская, д.19

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1) и на сайте организации: <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент

Чебышева Светлана Николаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В настоящее время распространенность аллергических заболеваний растет (Mohn C.H. et al., 2018). Начинаясь в раннем детском возрасте с пищевой аллергии и атопического дерматита (АтД), они переходят в дальнейшем в патологию органов дыхания – сезонный аллергический ринит и бронхиальную астму (Ревякина В.А. и соавт., 2014; Балаболкин И.И. и соавт., 2017). Хроническое рецидивирующее течение атопического дерматита снижает качество жизни не только самого пациента, но и всех членов его семьи, нередко влияя на психоэмоциональное состояние человека и значимо меняя его привычный образ жизни (Yosipovitch G. et al, 2019).

Среди факторов риска, ведущих к возникновению АтД, рассматривают генетическую предрасположенность (Petriashvilli M., 2020), сухость кожных покровов с высоким риском чрескожной сенсibilизации к разным аллергенам со склонностью к развитию пиодермий (Заславский Д.В., 2017; Yosipovitch G. et al., 2019), несостоятельность кожного барьера из-за мутации в гене филагтрина (Gupta J., 2020), нарушения липидного состава рогового слоя, представленного церамидами, свободными жирными кислотами и холестеролом (Smeden E., Bouwstra J., 2016), и изменения рН, нарушающие десквамацию рогового слоя (Surber C. и соавт., 2018).

Важное значение в прогрессировании АтД имеет снижение выработки факторов врожденного иммунитета, в норме участвующих в защитной функции кожи. Одно из основных звеньев врожденного иммунитета, предотвращающих развитие воспаления на поверхности кожного покрова благодаря антибактериальным и противовоспалительным свойствам, представлено антимикробными пептидами. Эти молекулы препятствуют дисбиозу микрофлоры и способствуют сохранению целостности кожного покрова (Svitich O. et al., 2021; Кудрявцева А.В., 2017; Clausen M. et al., 2018).

Увеличение распространенности и заболеваемости АтД и склонность к более тяжелому течению заставляет ученых всего мира изучать особенности иммунных нарушений в звеньях патогенеза, находить новые маркеры прогрессирования заболевания для предупреждения развития осложненных форм АтД (Балаболкин И.И. и соавт., 2017; Калюжин О.В., 2017; Ревякина В.А. и соавт., 2019; Chieosilatham P. et al., 2017).

Среди всех факторов иммунной системы с антибактериальными свойствами важное значение имеют дефензины, играющие ведущую роль в обеспечении защиты кожи (Chieosilatham P. et al., 2017). В настоящее время у человека обнаружены α - и β -дефензины. Преимущественно в эпителии кожи обнаружены дефензины β 1– β 3 (β 1-дефензин человека (HBD1), β 2-дефензин человека (HBD2), β 3-дефензин человека (HBD3)); причем HBD1 вырабатываются в организме постоянно, а HBD2 и HBD3 – под воздействием экзогенных факторов (Chieosilatham P. et al.,

2017; Simanski M. et al., 2019; Xu D. et al., 2020). Важное значение в обеспечении защитной функции кожи играют дефензины HBD2 и HBD3; при АтД их экспрессия снижается, вследствие чего повышается риск колонизации кожи представителями *Staphylococcus aureus*, приводящий к более тяжелому течению болезни. Длительное снижение выработки антимикробных пептидов приводит не только к риску инфицирования кожи (Chieosilatham P. et al., 2017), но и к ухудшению течения АтД (Kim J., 2019).

Степень разработанности темы исследования

Несмотря на большое количество исследований, посвященных изучению патогенеза атопического дерматита, в настоящее время нет четкого представления о факторах риска развития тяжелых и прогрессирующих форм АтД у детей и подростков, не выделены особенности активности факторов врожденного иммунитета (антимикробных пептидов) у детей с АтД в очаге воспаления при разной тяжести течения заболевания и разных клинических формах; также не проведен анализ изменения экспрессии генов антимикробных пептидов (β -дефензинов и нейтрофильного пептида) в разных участках кожи пациентов с АтД – в коже с активным воспалительным процессом (очагом) и за его пределами. До сих пор не изучены особенности изменения экспрессии генов дефензинов у детей с тяжелым течением АтД на фоне противовоспалительного гормонального наружного лечения.

Вышеизложенное позволило нам сформулировать цель и задачи настоящего исследования.

Цель исследования

Изучить особенности экспрессии генов антимикробных пептидов в коже и ее изменение у детей и подростков с атопическим дерматитом в зависимости от возраста, клинической формы и тяжести течения заболевания, а также проанализировать динамику экспрессии генов дефензинов на фоне проводимого наружного лечения.

Задачи исследования

1. Оценить влияние возраста, пола, отягощенности семейного анамнеза по аллергическим заболеваниям на риск развития тяжелого течения и лихеноидной формы атопического дерматита.
2. Оценить экспрессию мРНК дефензинов в коже у детей с АтД в разном возрасте и при разных клинических формах болезни.
3. Определить взаимосвязь экспрессии генов антимикробных пептидов в пораженной коже у детей с АтД с тяжестью течения заболевания.
4. Выявить особенности экспрессии мРНК дефензинов в зоне воспаления и визуально не пораженной коже детей и подростков с АтД.
5. Оценить изменение экспрессии генов антимикробных пептидов на фоне противовоспалительного гормонального наружного лечения АтД у детей.

Научная новизна

Впервые оценена экспрессия генов антимикробных пептидов на разных участках кожи, визуально пораженной и без видимых изменений, у детей с определенными клиническими формами АтД при разной тяжести течения болезни. На основании результатов данного исследования получено более детальное представление о состоянии кожного барьера и способности выполнять защитную и барьерную функцию при АтД с оценкой динамики экспрессии генов HBD1, HBD2 и HBD3, а также HNP-1 на фоне противовоспалительного гормонального лечения. Доказано снижение экспрессии генов основных антимикробных пептидов не только в очаге воспаления, но и в коже, визуально не пораженной АтД. Установлено увеличение экспрессии нейтрофильного пептида, особенно при лихеноидных формах АтД, что косвенно указывает на возможную колонизацию пораженной кожи условно-патогенной флорой.

Показано изменение экспрессии генов дефензинов на фоне традиционного лечения местными противовоспалительными препаратами с восстановлением защитных функций кожи в виде увеличения экспрессии гена HBD2 со снижением экспрессии гена HNP1.

Впервые выявлены диагностические маркеры врожденного иммунитета (экспрессия генов дефензинов типа β – HBD2), позволяющие прогнозировать более тяжелое течение АтД с развитием лихеноидных форм заболевания.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные показатели экспрессии генов антимикробных пептидов кожи у детей с АтД значимы для оценки выраженности нарушений кожного барьера, характеризуют активность факторов врожденного иммунитета не только в зоне видимого воспалительного процесса, но и в зоне визуально неповрежденной кожи, что позволяет прогнозировать развитие определенной формы АтД и тяжесть течения болезни.

Выявление факторов риска прогрессирующего течения АтД на фоне нарушений врожденного иммунитета позволяет разрабатывать более эффективные варианты наружного лечения, способствующие предотвращению развития лихеноидных форм и рецидивов болезни вскоре после завершения курса терапии, снижению риска колонизации кожи условно-патогенной микрофлорой, способной провоцировать обострение заболевания и зачастую обуславливать устойчивость к применяемой наружной противовоспалительной гормональной терапии.

Выраженное снижение выработки антимикробных пептидов клетками рогового слоя кожи способствует прогрессированию АтД. Изменение экспрессии генов антимикробных пептидов связано не только с фазой течения АтД, но и с длительностью течения заболевания.

Методология и методы исследования

Для реализации цели и задач в исследование включено 100 детей (от 2 месяцев до 17 лет 10 месяцев), страдающих АтД.

Группу контроля составили дети и подростки, не имеющие АТД и относящиеся к I–IIa группам здоровья, всего 20 человек (от 0 месяцев до 18 лет).

Период наблюдения за участниками исследования с тяжелым течением атопического дерматита составил 10–14 дней, на фоне которого проводилась наружная противовоспалительная терапия (рекомендована Клиническими рекомендациями по атопическому дерматиту, 2020 г.)

Были проведены клинические осмотры детей (соответствие симптомов критериям J.M. Hanifin и G. Rajka), опрос пациентов с АТД и их родителей, детальный сбор анамнеза жизни и заболевания, оценка тяжести течения АТД по шкале SCORAD.

Проводили исследование образцов соскобов кожи в очагах поражения и в визуально непораженной коже у детей основной группы (дети с АТД), а у детей группы контроля – в зонах здоровой кожи для определения показателей экспрессии генов антимикробных пептидов, дефензинов посредством полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Статистическая обработка данных осуществлена с использованием IBM SPSS Statistics 20,0. Показатели клинической характеристики пациентов представлены в виде среднего арифметического значения \pm стандартное отклонение; показатели экспрессии генов – в виде медианы. Статистические расчеты проведены с применением непараметрических критериев: U-критерия Манна-Уитни и ϕ -коэффициента углового преобразования Фишера (для определения значимости различий между несвязанными выборками), T-критерия Вилкоксона (для определения статистической значимости изменений признака между связанными выборками), r_s - коэффициента ранговой корреляции Спирмена (для определения взаимосвязей между половозрастными характеристиками обследуемых и исследуемыми показателями). Полученные результаты рассмотрены как достоверные при уровне вероятности $p \leq 0,05$.

Основные положения, выносимые на защиту

1. У детей и подростков с АТД происходит угнетение экспрессии генов β -дефензинов и усиление экспрессии гена HNP1 в очаге воспалительного процесса при разной степени тяжести и клинических формах АТД, что позволяет рассматривать эти показатели в качестве критериев оценки и прогнозирования тяжести течения АТД.
2. У детей с АТД в пораженной и визуально непораженной коже обнаружено снижение экспрессии генов HBD2 и увеличение HNP1 в периоде обострения, более выраженное в очаге воспалительного процесса при тяжелом течении заболевания и у пациентов с лихеноидными формами АТД.
3. На фоне противовоспалительного гормонального наружного лечения происходит восстановление экспрессии генов антимикробных пептидов как в зоне воспалительного процесса, так и в визуально непораженной коже.

Степень достоверности и апробация результатов

Высокая степень достоверности результатов работы подтверждается репрезентативным объемом выборки, использованием соответствующих методов исследования и применением адекватных методов современной математико-статистической обработки полученных данных.

Основные результаты исследования были доложены на Конгрессах Европейской Академии аллергологии и клинической иммунологии (Краков, Польша, 2021; Прага, Чехия, 2022); VI Научно-практической конференции «Совершенствование педиатрической практики. От простого к сложному» (Москва, 2021); XIV Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского (Москва, 2022); на XVI Общероссийском семинаре «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Сочи, 2022) и IX Общероссийской конференции «FLORES VITAE. Контраверсии неонатальной медицины и педиатрии» (Сочи, 2022); X Общероссийской конференции с международным участием «FLORES VITAE. Поликлиническая педиатрия» (Москва, 2022); на Международном молодежном научном форуме «ЛОМОНОСОВ-2022; на Научно-практической конференции «175 лет со дня рождения профессора Н.Ф. Филатова. Храним традиции, развиваем технологии» (Москва, 2022); на XVII Научно-практической конференции «Совершенствование педиатрической практики. От простого к сложному» (Москва, 2022); XIX Российском Конгрессе «Педиатрия и детская хирургия в Приволжском федеральном округе» (Казань, 2022).

Апробация диссертационной работы проведена на заседании кафедры детских болезней Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол №7 от 31 мая 2023 года).

Внедрение результатов исследования

Основные научные положения, выводы и рекомендации диссертации внедрены в лечебный процесс лечебно-диагностического отделения Клиники детских болезней Сеченовского центра материнства и детства ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), в учебный процесс кафедры детских болезней Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Личный вклад автора

Автором проведен обзор, анализ и обобщение отечественных и зарубежных публикаций, посвященных теме диссертационного исследования, сформулированы цели и задачи исследования. Материалы для исследования, а впоследствии и его результаты, представленные в диссертационной работе Соболевой В.А., получены автором самостоятельно на базе кафедры детских болезней Клинического института детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО

Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова. Автором лично и в полном объеме были выполнены все этапы диссертационного исследования: планирование, организация, подбор пациентов, лабораторная работа (получение образцов соскобов), экспериментальное определение показателей экспрессии генов дефензинов HBD1, 2, 3 и нейтрофильного пептида HNP-1 в образцах соскобов с использованием метода экстракции РНК, проведение реакции обратной транскрипции и проведение техники ПЦР в режиме реального времени) и статистическая обработка данных, обсуждение результатов в научных публикациях и докладах, их внедрение в практику.

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 11 работ, в том числе 1 научная статья в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 2 статьи в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus; 1 патент; 7 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 2 зарубежные конференции).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Тема и научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.1.21. Педиатрия, в частности пунктам 1 и 3, и паспорту научной специальности 3.2.7. Аллергология и иммунология, в частности пунктам 2, 5 и 6. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования данных специальностей.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 143 страницах машинописного текста и состоит из глав: введения, обзора литературы, материалов и методов, главы собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Список литературы включает в себя 153 источника, из них 37 отечественных и 116 зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 23 таблицами и 24 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на кафедре детских болезней КИДЗ имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). В работе представлены результаты клинического наблюдения, обследования и лечения 100 детей и подростков основной группы с эритематосквамозной (ЭрС), эритематосквамозной формой с

лихенизацией (ЭрСЛ) и лихеноидной (Л) формами АтД легкого, среднетяжелого и тяжелого течения и 20 детей контрольной группы, не имеющих кожных, острых инфекционных, аллергических, онкологических и аутоиммунных заболеваний.

Возраст детей составил от 2 месяцев до 17 лет 10 месяцев. Проведен анализ жалоб, анамнеза жизни и анамнеза заболевания пациентов, клинический осмотр с последующей верификацией диагноза АтД и оценкой тяжести течения по индексу SCORAD (по следующим параметрам: А – распространенность кожных поражений (площадь поражения); В – интенсивность клинических проявлений; С – субъективные симптомы).

Расчет площади поражения кожи (А) проводится по правилу «девяток»: голова и шея – по 9%, передняя и задняя поверхность туловища – по 18%, верхние конечности – по 9%, нижние конечности – 18%, область промежностей и половые органы – по 1%. Интенсивность клинических проявлений (В) оценивается с учетом 6 параметров: эритема (гиперемия); отек/папулообразование; мокнутие/корки; эскориации; лихенификация/шелушение; общая сухость кожи.

Выраженность каждого признака оценивается от 0 до 3 баллов: 0 – отсутствие, 1 – слабо выражен, 2 – умеренно выражен, 3 – выражен резко. Оценка субъективных симптомов (С) – интенсивности кожного зуда и степени нарушения сна – проводится по 10-балльной шкале детьми старше 7 лет или родителями. При этом берется усредненный показатель за последние 3 дня и/или ночи. Итоговая величина индекса SCORAD рассчитывается по формуле:

$$\text{индекс SCORAD} = A/5 + 7B/2 + C.$$

Показатели 0–20 соответствовали легкому, от 20–40 среднетяжелому и от 40 и выше – тяжелому обострению заболевания.

Комплекс специальных лабораторных и инструментальных исследований проводился в лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова. В рамках исследования были получены образцы соскобов кожи у 120 детей (возраст от 2 месяцев до 17 лет 2 месяцев).

У 49 пациентов атопический дерматит отмечался в острой форме, у 51 пациента – в хронической. Средний балл по индексу SCORAD составил $41 \pm 8,7$ (от 10 до 96). Участники основной группы были разделены на подгруппы в зависимости от клинической формы АтД: 49 пациентов с (ЭрС); 32 пациентов с ЭрСЛ; 19 с Л формой.

Для оценки активности факторов врожденного иммунитета (дефензинов типа β – HBD1, HBD2 и HBD3 – и нейтрофильного пептида – HNP1 у 100 пациентов с АтД были получены соскобы кожи одновременно с очагов АтД и с участков кожи, не пораженной АтД, до начала местной терапии.

Биоматериал помещали в пробирки типа Эппендорф. Количественное определение показателей экспрессии генов дефензинов HBD1, 2, 3 и нейтрофильного пептида HNP1 в кератиноцитах выполнено в центре коллективного пользования «НИИВС им. И.И. Мечникова».

Для исследования экспрессии генов антимикробных пептидов применяли методологический подход ОТ-ПЦР-РВ. Для выделения РНК из образцов соскоба методом сорбции на силикагеле применяли набор «Рибо-Сорб» («AmpliSens RIBOsorb», InterLabService®, РФ). Процесс выделения проведен согласно инструкции производителя. Для получения кДНК исследуемых генов на выделенной РНК, как на матрице, проведена реакция обратной транскрипции («ОТ-1», Sintol®, РФ) с красителем «SYBR Green I RT-PCR». Подбор праймеров для реакции обратной транскрипции осуществлен согласно нуклеотидным последовательностям мРНК исследуемых генов и синтезированных Sintol®, РФ. При несоответствии критериям включения в исследование результаты определенного участника были исключены. Показатели экспрессии генов β -дефензинов и HNP1 получены у 89 детей основной группы и 20 детей контрольной группы. У 10 детей с тяжелым течением АтД был проведен анализ динамики показателей экспрессии генов HBD1, HBD2, HBD3 и HNP1 в зоне активного воспалительного процесса и за ее пределами до начала противовоспалительного гормонального наружного лечения и после 10–14 дней применения.

Для статистической обработки результаты, полученные при проведении полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, были стандартизованы на основании показателей экспрессии гена β -актина. В исследуемых образцах получали логарифм числа копий HNP-1, HBD1, HBD2 и HBD3 и числа копий гена β -актина. Для стандартизации результатов использовали число копий β -актина. Таким образом, производился пересчет количества копий изучаемого гена относительно 1000 копий гена β -актина, являющегося геном «домашнего хозяйства» и экспрессирующегося на постоянном уровне во всех клетках организма. Показатели клинической характеристики пациентов представлены в виде среднего арифметического значения \pm стандартное отклонение; показатели экспрессии генов – в виде медианы. Полученные результаты рассмотрены с применением непараметрических критериев (U-критерия Манна-Уитни и ϕ -коэффициента углового преобразования Фишера, T-критерия Вилкоксона, r_s - коэффициента ранговой корреляции Спирмена) как достоверные при уровне вероятности $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящем исследовании изучено изменение активности факторов врожденного иммунитета при определенной клинической форме и степени тяжести АтД, при прогрессировании заболевания.

В работе проанализированы особенности течения АтД у детей и подростков; оценена экспрессия генов β -дефензинов и нейтрофильного пептида в пораженной и не пораженной АтД коже пациентов, характеризующая состояние кожного барьера, его способность осуществлять защитную, барьерную функцию; изучена динамика показателей экспрессии генов дефензинов в пораженной и в визуально не пораженной АтД коже на фоне противовоспалительного гормонального наружного лечения.

На **первом этапе** исследования проведен анализ клиничко-анамнестических данных пациентов основной группы, сравнение демографических показателей участников основной и контрольной группы. Установлено, что средний возраст пациентов составил $5,57 \pm 0,74$ лет. Среди больных с АтД преобладали мальчики ($n=62$ (62%) против $n=38$ (38%), $p < 0,001$). Средний возраст дебюта заболевания был $0,99 \pm 0,36$ лет. Статистически значимой разницы в дебюте у девочек и мальчиков не определено. Дети с ЭрС формой были младше пациентов с ЭрСЛ и Л (ЭрС форма против Л формы: $3,29 \pm 0,4$ против $9,12 \pm 1,91$; $p=0,01$). При ЭрС форме преобладали больные с легким течением АтД, при ЭрСЛ – со среднетяжелым и при Л – с тяжелым (Таблица 1).

При среднетяжелом течении мальчики были младше девочек ($p=0,05$). При тяжелом течении дебют заболевания у мальчиков возникал в более раннем возрасте, чем у девочек ($p=0,05$) и в более раннем возрасте по сравнению с легкими проявлениями болезни ($p=0,03$).

При среднетяжелом течении ЭрС клинической формы девочки, по сравнению с мальчиками, заболевали АтД значительно раньше ($0,13 \pm 0,06$ и $0,42 \pm 0,19$ соответственно; $p=0,01$). У мальчиков по мере усиления тяжести ЭрСЛ формы дебют АтД возникал в более раннем возрасте (легкое и среднетяжелое течение: $5,56 \pm 1,12$ и $1,56 \pm 1,03$; $p \leq 0,001$). При Л клинической форме тяжелое течение вне зависимости от половой принадлежности встречалось у пациентов значительно чаще, чем при ЭрС и ЭрСЛ клинических формах ($n=13$ (68,4%) против $n=0$ (0%) и $n=4$ (12,5%) соответственно, $p < 0,001$). Первые симптомы дерматита при тяжелом течении болезни у девочек с Л клинической формой возникали в более старшем возрасте, чем у мальчиков ($1,52 \pm 1,0$ и $0,43 \pm 0,1$; $p=0,04$).

Был проанализирован вклад семейного анамнеза по аллергическим заболеваниям в риск развития клинических форм и степени тяжести АтД.

Как при наследственной отягощенности, так и без нее АтД чаще развивался у мальчиков: 60,9% ($n=53$) против 69,2% ($n=9$). При отсутствии семейного анамнеза по аллергическим заболеваниям дебют заболевания у девочек возникал в более старшем возрасте (мальчики и девочки: $1,17 \pm 1,07$ и $4,95 \pm 3,65$; $p=0,05$).

Число пациентов с легким течением АтД при отягощенном и неотягощенном семейном анамнезе встречалось практически в равном количестве (55,2% и 46,1% соответственно) (Рисунок 1).

Таблица 1 – Распределение пациентов с АтД по клиническим формам и степени тяжести заболевания

Параметр	I ЭрС n=49 (49%)	II ЭрСЛ n=32 (32%)	III Л n=19 (19%)	p
Средний возраст, M±m, лет	3,29±0,4	6,84±1,3	9,12±1,91	p ₁₋₂ =0,1 p ₂₋₃ =0,06 p ₁₋₃ =0,01
Возраст дебюта, M±m, лет	0,67±0,2	1,41±0,92	1,17±0,93	p ₁₋₂ =0,13 p ₂₋₃ =0,72 p ₁₋₃ =0,31
Тяжесть течения заболевания (p≤0,001)				
Легкое (n = 44, 100%)	n=32 (72,7%)	n=12 (27,3%)	n=0	-
Среднетяжелое (n= 39, 100%)	n=17 (43,6%)	n=16 (41,0%)	n=6 (15,4%)	-
Тяжелое (n=17, 100%)	n=0	n=4 (23,5%)	n=13 (76,5%)	-

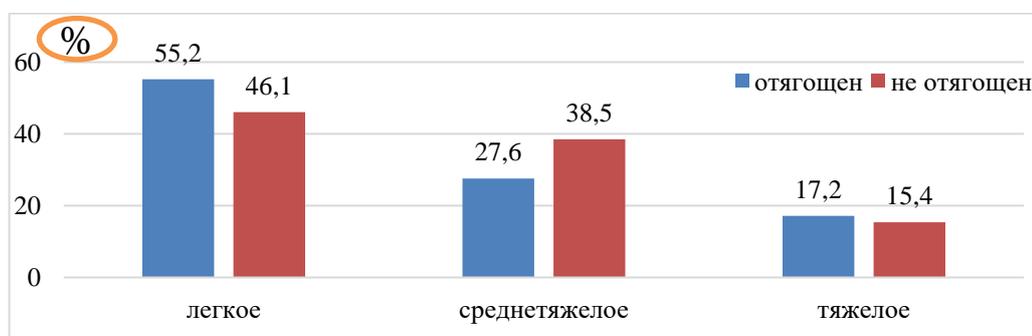


Рисунок 1 – Распределение пациентов с АтД разной степени тяжести в зависимости от варианта наследственной отягощенности.

Примечание: По оси абсцисс – наследственная отягощенность (%), по оси ординат – тяжесть течения АтД

При анализе варианта наследственной отягощенности у детей с АтД разной степени тяжести установлено, что при отягощенном семейном анамнезе по линии матери тяжелое течение отмечалось чаще (11,5%), $\chi^2=21,3$, $p<0,01$ (Таблица 2).

Таблица 2 – Распределение пациентов по тяжести течения и клиническим формам АтД в зависимости от варианта наследственной отягощенности, * p=0,001 ** p=0,043

Параметр	Отягощенный семейный анамнез (n=87, 100%)		
	по линии матери (n=39, 44,8%)	по линии отца (n=6, 6,9%)	по обеим линиям (n=42, 48,3%)
Легкое течение (n=48)	22 (25,3%)	1 (1,2%)	25 (28,7%)
Среднетяжелое течение (n=24)	7 (8,0%)	2 (2,3%)	15 (17,2%)*
Тяжелое течение (n=15)	10 (11,5%)*	3 (3,5%)	2 (2,3%)
Клиническая форма			
ЭрС форма (n=44)	21 (24,1%)	0	23 (26,4%)
ЭрСЛ форма (n=26)	8 (9,2%)	4 (4,6%)	14 (16,1%)**
Л форма (n=17)	10 (11,5%)**	2 (2,3%)	5 (5,8%)

АтД у детей чаще развивался в семьях, где аллергическими заболеваниями страдали родственники по линии матери ($p < 0,001$). АтД тяжелого течения чаще встречался в семьях с отягощенным анамнезом исключительно по линии матери или по линии матери в сочетании с АтД у самой матери ($p = 0,001$). АтД среднетяжелого течения встречался у детей, в семьях которых были аллергические заболевания по обеим линиям ($p = 0,001$). Риск прогрессирующего тяжелого течения АтД с развитием лихеноидных изменений на коже был выше в семьях с отягощенностью по линии матери в сочетании с АтД у матери или без него ($p = 0,043$).

Также в исследовании оценили спектр сопутствующей патологии, которая встречалась в 83% случаев. При АтД часто встречался САР ($n = 28$; 33,7%) или сочетание САР и БА ($n = 35$; 42,67%). Наиболее ранний дебют АтД отмечен у детей, у которых впоследствии присоединился САР ($0,6 \pm 0,46$ лет, $p \leq 0,05$). АтД тяжелого течения чаще развивался у детей или при изолированном АтД, или при сочетании АтД с САР и БА ($p = 0,05$).

На **втором этапе** проведен анализ профиля экспрессии генов дефензинов HBD1, HBD2, HBD3 и HNP1 в образцах соскобов кожи в 2 участках (участок кожи с активным воспалительным процессом и участок за пределами активного воспалительного процесса). Экспрессионный профиль генов дефензинов HBD 1, 2, 3 и HNP-1 был оценен у 89 детей с АтД. Средний показатель SCORAD был $41 \pm 8,7$. По тяжести АтД больные были разделены на 3 группы, где *легкое течение* оценивалось при SCORAD 0-20 – 51,7% ($n = 46$), *среднетяжелое* при SCORAD 20-40 – 31,5% ($n = 28$) и *тяжелое* при SCORAD 40 и выше – 16,8% ($n = 15$). Среди них больных с ЭрС формой было 49,4% ($n = 44$); с ЭрСЛ – 31,5% ($n = 28$); с Л – 19,1% ($n = 17$). Средний возраст пациентов составил $4,54 \pm 0,56$ лет. Среди больных с АтД несколько преобладали мальчики ($n = 46$ (51,7%); $p < 0,01$).

Пациенты были распределены в 4 группы: 1 группа – до 1 года, 2 группа – 1–3 года; 3 группа – 3–7 лет и 4 – старше 7 лет.

Выраженное снижение экспрессии генов β -дефензинов выявлено в очаге воспалительного процесса у детей всех возрастных групп (наиболее интенсивное снижение экспрессии гена HBD2, в меньшей степени – генов HBD3 и HBD1). Отмечено наиболее выраженное угнетение экспрессии гена HBD2 у детей в возрасте 3–7 лет, имеющих АтД ($p \leq 0,01$), у детей старше 7 лет – HBD1 и HBD3 ($p \leq 0,01$). При этом экспрессия нейтрофильного пептида всегда была выше и отличалась у детей разного возраста, достигая максимальных показателей экспрессии в возрастной группе 1–3 лет ($p \leq 0,01$) (Рисунок 2; Таблица 3).

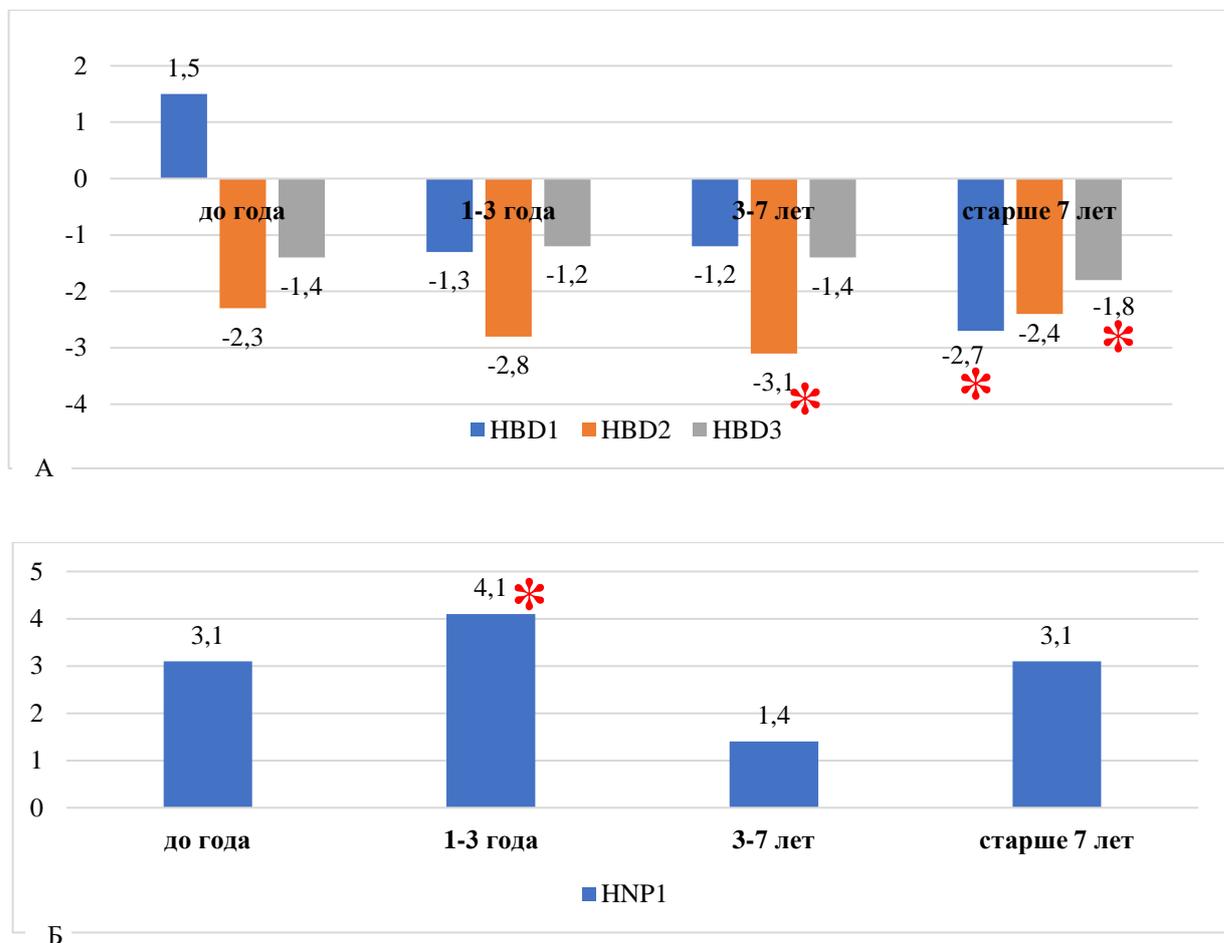
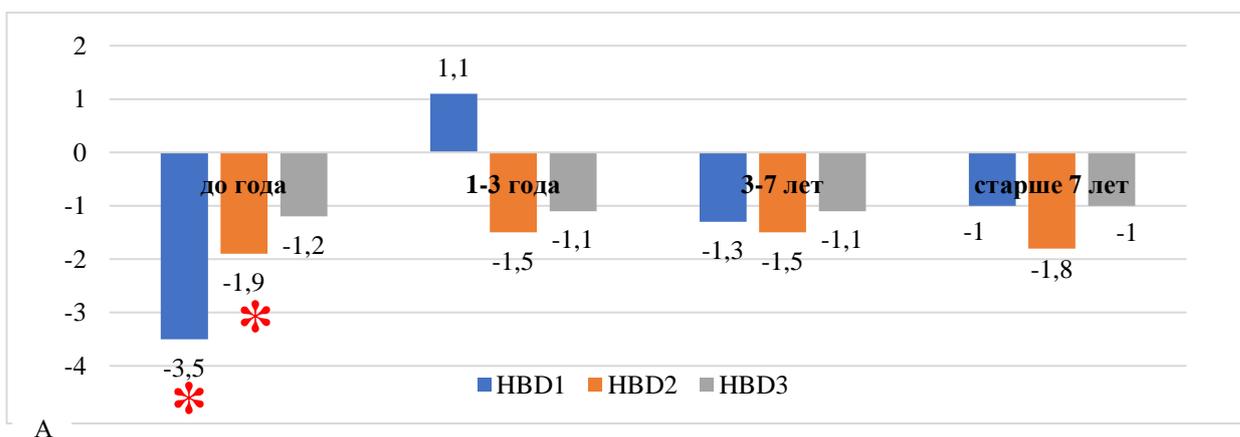


Рисунок 2 – Показатели экспрессии дефензинов в очаге АтД у детей разного возраста (А – HBD Б – HNP1) (* $p \leq 0,01$)

Примечание: По оси абсцисс – возраст детей, по оси ординат – степень увеличения экспрессии генов дефензинов типа β (А), нейтрофильного пептида (Б)(* $p \leq 0,01$). На оси абсцисс изображены возрастные группы пациентов. На оси ординат - коэффициент изменения (К) значения по отношению к контрольной группе. Для наглядности графика используется следующее преобразование. Если коэффициент больше 1 - принимаем исходное значение, если коэффициент меньше 1 - умножаем исходное значение на -1.

В визуально не пораженной АтД коже у детей всех возрастных категорий отмечено значительное уменьшение экспрессии генов HBD1, HBD2 в меньшей степени – гена HBD3; $p \leq 0,01$. Экспрессия гена HNP1 повышалась, при этом степень увеличения экспрессии у детей в указанные возрастные интервалы практически идентична, за исключением группы детей старше 7 лет (Рисунок 3; Таблица 3).



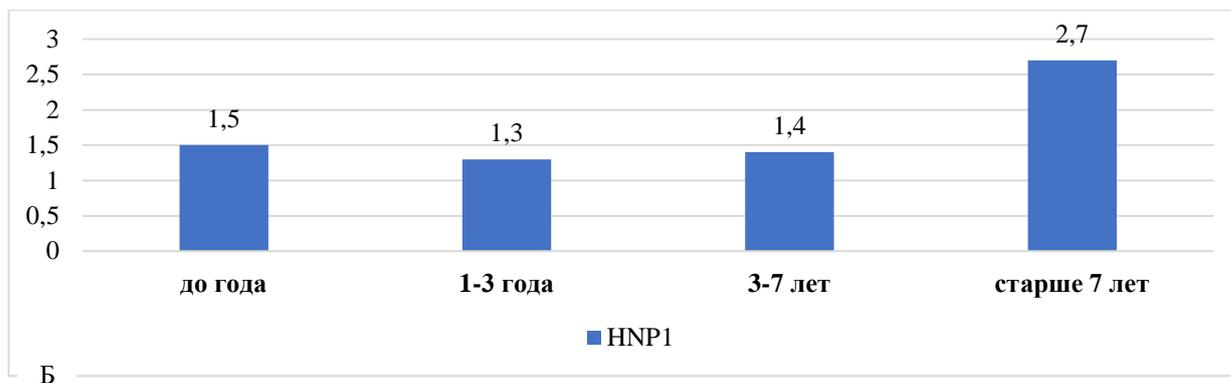


Рисунок 3 – Показатели экспрессии дефензинов в визуально не пораженной АтД коже у детей разного возраста (А - HBD, Б – HNP1) (* $p \leq 0,01$)

Примечание: По оси абсцисс – возраст детей, по оси ординат – степень увеличения экспрессии генов дефензинов типа β (А), нейтрофильного пептида (Б) (* $p \leq 0,01$). На оси абсцисс изображены возрастные группы пациентов. На оси ординат - коэффициент изменения (К) значения по отношению к контрольной группе. Для наглядности графика используется следующее преобразование. Если коэффициент больше 1 - принимаем исходное значение, если коэффициент меньше 1 - умножаем исходное значение на -1.

При анализе статистической значимости между показателями экспрессии генов антимикробных пептидов (АМП) в очаге воспаления и за его пределами у детей с АтД в разные возрастные периоды получены статистически значимые отличия ($p \leq 0,01$).

Далее проведена оценка профиля экспрессии генов дефензинов у детей с разной степенью тяжести болезни и разными клиническими формами АтД.

Экспрессия генов АМП меняется в очаге воспаления: отмечается снижение экспрессии генов дефензинов HBD2, HBD3 и HBD3 (при легком и среднетяжелом течении), что коррелирует со степенью тяжести заболевания ($p \leq 0,05$). Наиболее выраженное снижение экспрессии отмечено у гена HBD2 в очаге при среднетяжелом течении и в случае экспрессии гена конститутивного HBD1 при легком течении ($p \leq 0,01$); HBD3 – при тяжелом течении ($p = 0,03$) (Рисунок 4, Таблица 4).

При изучении экспрессии генов дефензинов в коже без видимых изменений при разной степени тяжести течения заболевания получены статистически значимые отличия с более низкими показателями в очаге воспалительного процесса ($p \leq 0,01$). По мере прогрессирования заболевания вне очага воспаления происходит угнетение экспрессии генов HBD1 и HBD2, с максимально низкими показателями экспрессии при тяжелом течении АтД ($p < 0,01$) при этом разница между показателями экспрессии генов в очаге и за его пределами нарастает за счет более интенсивного угнетения экспрессии в очаге воспаления. ($p \leq 0,01$) (Таблица 4).

Таблица 3 – Показатели экспрессии генов АМП в пораженной и не пораженной АтД кожи у детей в разные возрастные периоды. Данные представлены в ОЕ (относительных единицах от числа копий / 10^6 β-актина, Ме [25%; 75%]), * $p \leq 0,01$ (по сравнению с контролем и между подгруппами)

Параметр	Кожа, пораженная АтД				Контроль
	до года	1–3 года	3–7 лет	старше 7 лет	
HBD1	363,4 230,5; 861,4	179,0 85,9; 445,1	198,0 123,1; 647,9	88,1* 68,4; 388,3	236,5 135,0; 503,3
HBD2	2386,6 606,7; 6470,8	1980,8 418,2; 5487,6	1823,0* 416,0; 3634,2	2283,6 309,1; 6503,8	5595,1 649,0; 7993,0
HBD3	481,4 270,9; 890,8	542,7 320,6; 1242,5	470,3 433,3; 794,0	363,4* 221,9; 1452,3	671,7 355,3; 1106,5
HNP1	17,4 13,9; 36,5	23,3* 5,85; 42,3	7,8 4,8; 27,1	17,4 4,3; 34,4	5,7 2,3; 26,0
Визуально непораженная кожа при АтД					
HBD1	68,4* 55,9; 88,1	261,6 106,1; 704,9	188,2 79,6; 345,5	230,5 90,4; 492,4	236,5 135,0; 503,3
HBD2	2879,5* 501,9; 4563,9	3687,8 2216,9; 6784,5	3708,5 733,6; 5908,1	3082,4 1012,5; 7303,8	5595,1 649,0; 7993,0
HBD3	539,3 366,5; 654,3	580,6 425,3; 844,9	583,2 509,9; 1044,6	634,9 458,3; 1445,6	671,7 355,3; 1106,5
HNP1	8,7 3,7; 9,7	7,4 3,9; 14,3	8,0 3,2; 17,5	15,6 6,63; 83,23	5,7 2,3; 26,0

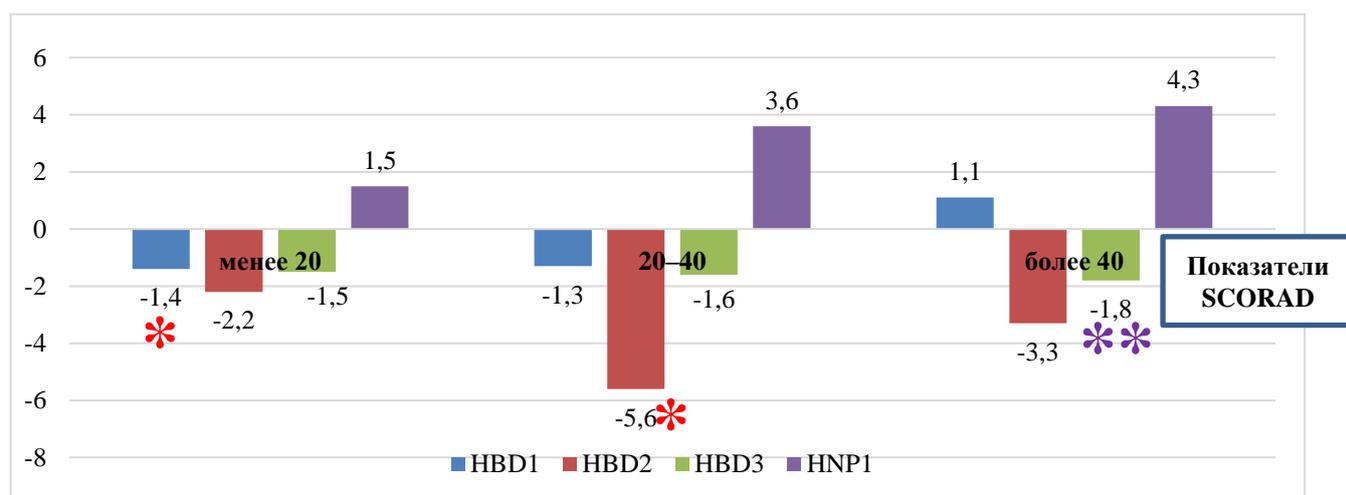


Рисунок 4 – Показатели экспрессии генов АМП у детей в очаге АтД разной степени тяжести в сравнении с контрольной группой [норма принята за «1»] (* $p \leq 0,01$; ** $p \leq 0,05$)

По оси абсцисс – группы пациентов с разными проявлениями АтД (показатель SCORAD), по оси ординат – коэффициент изменения (k) показателя экспрессии по отношению к контрольной группе. Для наглядности используется следующее преобразование: если k больше 1, принимается исходное значение; если k меньше 1, исходное значение умножается на "-1"

Таблица 4 – Профиль экспрессии генов АМП у пациентов с АтД в очаге воспаления и в визуально не пораженной АтД коже. Данные представлены в ОЕ (относительных единицах от числа копий / 10^6 β -актина, Ме [25%; 75%]); * $p \leq 0,01$ ** $p \leq 0,05$

Параметр	АтД			Контроль
	менее 20	20–40	более 40	
HBD1	165,0* 88,3; 273,4	188,5 93,0; 646,3	264,2 74,0; 407,8	236,5 135,0; 503,3
HBD2	2486,6 452,8; 3844,1	1000* 298,6; 3414,1	1674,7 429,8; 6183,1	5595,1 649,0; 7993,0
HBD3	456,9 379,9; 918,2	417,3 224,8; 766,2	363,4** 224,9; 846,9	671,7 355,3; 1106,5
HNP1	8,4 3,9; 21,5	19,1 6,2; 36,1	24,5 7,6; 55,3	5,7 2,3; 26,0
Кожа с АтД без видимых изменений				
HBD1	418,9 176,7; 603,5	196,1 63,9; 322,9	109,1* 89,2; 261,8	236,5 135,0; 503,3
HBD2	3627,8 2282,8; 5184,4	2976,6 605,6; 5212,9	2796,1* 573,9; 6610,9	5595,1 649,0; 7993,0
HBD3	588,4 509,7; 802,4	544,9 375,3; 667,1	643,8 423,0; 1106,5	671,7 355,3; 1106,5
HNP1	5,3 2,3; 10,9	8,5 4,2; 13,6	13,1 4,7; 19,8	5,7 2,3; 26,0

При анализе активности факторов врожденного иммунитета при разных клинических формах АтД отмечено угнетение экспрессии генов β -дефензинов при ЭрС, ЭрСЛ и Л формах АтД. Наиболее выраженное угнетение экспрессии гена HBD1 ($p \leq 0,01$); HBD2 ($p \leq 0,01$) и HBD3 ($p \leq 0,05$) выявлено при ЭрСЛ клинической форме АтД. Отмечена тенденция к усилению экспрессии гена HNP1 по мере прогрессирования заболевания и перехода от ЭрС клинической формы АтД к Л (Рисунок 5).

При разных клинических формах АтД экспрессия генов АМП в визуально непораженной коже также меняется и варьирует в зависимости от преобладающих морфологических элементов. В участках кожи без видимых изменений происходит менее выраженное угнетение экспрессии генов дефензинов ($p \leq 0,01$).

Показатели экспрессии генов HBD1 и HBD3 варьируют от снижения по сравнению с контролем, до превышения показателей контрольной группы. Наиболее выраженное снижение экспрессии гена HBD1 отмечено при ЭрСЛ форме ($p \leq 0,01$); HBD3 – при ЭрСЛ форме ($p \leq 0,01$). Экспрессия гена HBD2 вне очага воспалительного процесса снижается и коррелирует с прогрессированием заболевания и переходом в ЭрС в Л клиническую форму АтД ($p \leq 0,01$) (Таблица 5).

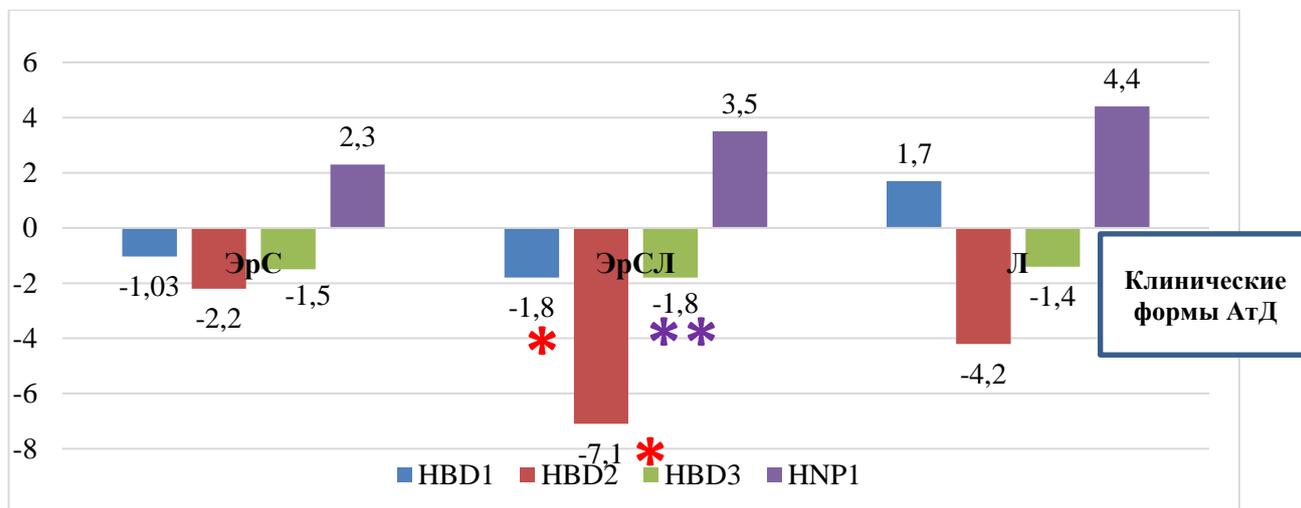


Рисунок 5 – Показатели экспрессии АМП в очаге воспаления у детей с разными клиническими формами АД и у детей контрольной группы, [норма принята за «1»] (* $p \leq 0,01$; ** $p \leq 0,05$)

Таблица 5 – Экспрессия генов АМП в коже пациентов при разных клинических формах АД в очаге воспаления и на территории визуально непораженной кожи. Данные представлены в ОЕ (относительных единицах от числа копий / 10^6 β -актина, Ме [25%; 75%]; * $p \leq 0,01$ ** $p \leq 0,05$)

Параметр	АтД			Контроль
	ЭрС	ЭрСЛ	Л	
HBD1	230,5 97,5; 544,8	132,1* 74,0; 242,9	407,8 148,4; 751,1	236,5 135,0; 503,3
HBD2	2486,6 406,6; 4316,5	783,9* 452,9; 2437,8	1339,5 373,8; 10389,3	5595,1 649,0; 7993,0
HBD3	453,6 260,2; 1135,9	363,4 ** 287,4; 612,0	463,6 253,4; 1331,8	671,7 355,3; 1106,5
HNP1	12,9 4,0; 36,2	20,2 7,2; 34,1	25,1 5,9; 128,8	5,7 2,3; 26,0
Кожа с АтД без видимых изменений				
HBD1	345,5 242,7; 566,5	92,7* 76,8; 150,1	188,2 86,1; 573,0	236,5 135,0; 503,3
HBD2	3654,8 1897,5; 5184,4	3123,5 549,7; 4651,0	2386,6* 733,6; 10802,5	5595,1 649,0; 7993,0
HBD3	551,2 414,9; 955,5	537,1* 333,6; 667,2	853,0 649,4; 1488,8	671,7 355,3; 1106,5
HNP1	8,0 4,5; 11,9	9,3 3,9; 13,1	16,6 7,0; 22,1	5,7 2,3; 26,0

На третьем этапе был проведен анализ динамики показателей экспрессии генов β -дефензинов (HBD1, HBD2, HBD3) и нейтрофильного пептида (HNP1) в образцах соскобов, полученных в участке кожи с активным воспалительным процессом и за его пределами. Повторно образцы соскобов в тех же зонах были получены после курса противовоспалительного гормонального наружного лечения (метилпреднизолон ацепонат в лекарственной форме, соответствующей морфологическим элементами).

В данной группе преобладали мальчики: мальчики против девочек – 60% (n=6) против 40% (n=4). Средний возраст детей без разделения по половой принадлежности составил $4,43 \pm 2,10$. Средний возраст мальчиков $4,03 \pm 2,18$; средний возраст девочек $6,25 \pm 1,67$, $p < 0,001$.

В зоне активного воспалительного процесса показатели экспрессии генов некоторых β -дефензинов (HBD2, HBD3) были значительно ниже в очаге по сравнению с показателями экспрессии, полученными в соскобах визуально не пораженной АтД кожи. В зоне воспаления показатель экспрессии гена HNP1 превышал аналогичный показатель вне очага.

Экспрессия генов β -дефензинов в очаге всегда была значительно ниже до лечения и повышалась на фоне противовоспалительного лечения ($p \leq 0,01$ по Т-критерию Вилкоксона). Интенсивность усиления экспрессии отличалась, наиболее выраженное усиление экспрессии отмечено у гена дефензина HBD1, несколько менее интенсивная у HBD2 и HBD3.

Одновременно с усилением экспрессии генов β -дефензинов в очаге воспалительного процесса отмечают уменьшение экспрессии гена HNP1. На фоне противовоспалительного лечения в течение 10–14 дней восстанавливается экспрессия некоторых β -дефензинов (показатели экспрессии гена HBD2 повышались; показатели экспрессии гена HBD3 практически не менялись); отмечена тенденция к снижению экспрессии гена HNP1 (Таблица 6, Таблица 7).

Таблица 6 – Показатели экспрессии генов АМП в очаге воспалительного процесса у пациентов с АтД до начала наружной противовоспалительной терапии и после 10–14 дней применения, Ме [25%; 75%], $p \leq 0,01$

Параметр	очаг до лечения, Ме [25%;75%]	очаг после лечения Ме [25%;75%]
HBD1	231,1 [100,8;312,4]	838,1 [613,2;1063,0]*
HBD2	1265,4 [642,9;9615,9]	2386,6 [547,3;3139,7]*
HBD3	305,8 [296,2;776,4]	470,1 [281,3;783,8]*
HNP1	51,2 [20,3;55,2]	17,9 [14,8;36,5]

Таблица 7 – Показатели экспрессии генов АМП за пределами воспалительного процесса у пациентов с АтД до начала курса наружной противовоспалительной терапии и после 10–14 дней применения, Ме [25%; 75%]

Параметр	вне очага до лечения; Ме [25%;75%]	вне очага после курса лечения Ме [25%;75%]
HBD1	138,1 [88,1;2254,5]	69,7 [64,7;74,6]
HBD2	2879,5 [2386,6;6717,7]	3073,8 [501,9;3708,5]
HBD3	556,7 [667,1;2486,6]	548,1 [455,4;699,3]
HNP1	16,0 [5,8;34,7]	8,5 [4,5;13,5]

Таким образом, на фоне наружной противовоспалительной терапии восстанавливается активность факторов врожденного иммунитета с усилением экспрессии β -дефензинов и

одновременным снижением экспрессии гена нейтрофильного пептида, что может свидетельствовать о нормализации защитной функции кожи на фоне наружного лечения с нормализацией состояния кожи, отмеченной при визуальном осмотре детей с АтД.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем научном исследовании проведена оценка экспрессии генов дефензинов у детей с атопическим дерматитом как на участках кожи с видимым воспалительным процессом, так и за его пределами, изучены особенности изменения экспрессии генов дефензинов у детей с разными клиническими формами и степенью тяжести заболевания, а также в разные возрастные периоды. В работе отражено положительное влияние противовоспалительной гормональной наружной терапии на восстановление экспрессии генов данных антимикробных пептидов с восстановлением защитной и барьерной функции кожного покрова.

Результаты проведенного диссертационного исследования соответствуют современным представлениям о роли факторов врожденного иммунитета в патогенезе атопического дерматита. Снижение экспрессии генов дефензинов сопровождается более тяжелое, прогрессирующее течение заболевания с появлением на коже лихеноидных изменений. Полученные в исследовании данные помогут в поиске новых маркеров поражения кожного барьера при атопическом дерматите и алгоритмов лечения болезни.

ВЫВОДЫ

1. У мальчиков риск тяжелого течения атопического дерматита и лихеноидной клинической формы заболевания выше при раннем дебюте заболевания и отягощенном аллергологическом анамнезе по линии матери.
2. При эритематосквамозной форме атопического дерматита преобладало легкое течение (65,3%, n=32), при эритематосквамозной форме с лихенизацией – среднетяжелое течение (50%, n=16), при лихеноидной форме – тяжелое течение (68,4%, n=13).
3. Наличие/отсутствие сезонного аллергического ринита и/или бронхиальной астмы не влияли на риск развития тяжелого течения атопического дерматита.
4. По сравнению с кожей здоровых детей экспрессия генов дефензинов у детей и подростков в визуально пораженной атопическим дерматитом коже у пациентов всех возрастных категорий отмечены низкие показатели экспрессии генов β -дефензинов: наиболее интенсивно снижена экспрессия гена HBD2, в меньшей степени – HBD3 и HBD1. Экспрессия мРНК HBD2 была снижена у детей до года в 2,3 раза; у детей 1–3 лет – в 2,8 раза; у детей старше 7 лет – в 2,4 раза; наиболее низкие показатели экспрессии гена HBD2 (в 3,1 раз меньше, чем у здоровых детей) отмечены у детей 3–7 лет. Экспрессия гена HBD1 у детей до года была выше в 1,5 раза, а гена HBD3 – ниже в 1,4 раза, чем у здоровых детей. Экспрессия генов HBD1 и HBD3 у детей 1–3 лет

была ниже в 1,3 и 1,2 раза соответственно; у детей 3–7 лет – в 1,2 и 1,4 раза соответственно ниже. Максимально низкие показатели экспрессии гена HBD1 (в 2,7 раз) и HBD3 (в 1,8 раз) отмечены у детей старше 7 лет.

5. По сравнению с кожей здоровых детей в коже, пораженной атопическим дерматитом, экспрессия гена HBD1 снижена в 1,4 раза при легком течении, имеет тенденцию к снижению (в 1,3 раза) при среднетяжелом течении и повышена (в 1,1 раза) при тяжелом течении. Вне зависимости от степени тяжести атопического дерматита в очаге воспаления экспрессия гена HBD2 была снижена: при легком течении отмечена тенденция к снижению (в 2,2 раза), при тяжелом течении более выраженное снижение (в 3,3 раза), при среднетяжелом течении – наиболее низкий показатель (в 5,6 раза ниже). Степень снижения экспрессии гена HBD3 увеличивалась по мере усиления тяжести течения заболевания (легкое течение – в 1,5 раза; среднетяжелое – в 1,6 раз; тяжелое течение – в 1,8 раз).

6. При сравнении с кожей здоровых детей в коже, пораженной атопическим дерматитом, при эритематосквамозной форме атопического дерматита отмечали умеренное снижение показателей экспрессии генов β -дефензинов (HBD1 – в 1,0 раз HBD2 – в 2,2 раза; HBD3 – в 1,5 раза соответственно). При лихеноидной форме отмечено более выраженное снижение экспрессии мРНК дефензинов HBD2 – в 4,2 раза; HBD3 – в 1,4 раза соответственно и повышение экспрессии гена HBD1 в 1,3 раза. При эритематосквамозной форме с лихенизацией отмечены наиболее интенсивное снижение экспрессии генов β -дефензинов (HBD1 – в 1,8 раз, HBD2 – в 7,1 раза; HBD3 – в 1,8 раза).

7. У пациентов с атопическим дерматитом экспрессия генов β -дефензинов в очаге воспаления была ниже, чем в коже без видимых изменений, вне зависимости от возрастной категории. Вне очага воспалительного процесса экспрессия мРНК HBD1 в детей 1–3 лет была выше в 1,1 раза, чем очаге; у детей до года, 3–7 лет и старше 7 лет была снижена в 3,5 раза, 1,3 раза и 1,0 раз соответственно. Экспрессия гена HBD2 и HBD3 была снижена у детей до года в 1,9 и 1,2 раз соответственно; у детей 1–3 лет – в 1,5 и 1,1 раза соответственно; у детей 3–7 лет – в 1,5 и 1,1 раза соответственно, у детей старше 7 лет – в 1,8 и 1,0 раз соответственно.

8. При атопическом дерматите экспрессия HBD1 в визуально непораженной коже повышена при эритематосквамозной клинической форме (в 1,5 раза), снижена при лихеноидной клинической форме (в 1,3 раза), наиболее интенсивное снижение отмечено при эритематосквамозной форме с лихенизацией (в 2,5 раза). Экспрессия мРНК HBD2 интенсивно снижается по мере прогрессирования заболевания (снижена при эритематосквамозной, эритематосквамозной с лихенизацией и лихеноидной формах в 1,5; 1,8 и 2,3 раз соответственно). Экспрессия гена HBD3 была снижена при эритематосквамозной и эритематосквамозной форме с

лихенизацией в 1,2 и 1,3 раза соответственно, при лихеноидной форме – была повышена в 1,3 раза.

9. У детей с атопическим дерматитом в коже вне очага воспаления экспрессия гена HBD1 была повышена при легком течении (в 1,8 раза), при среднетяжелом и тяжелом течении интенсивно снижалась (в 1,2 и 2,2 раз соответственно). По мере усиления тяжести течения заболевания экспрессия мРНК HBD2 и HBD3 снижалась: при легком течении – в 1,5 и 1,1 раза соответственно; при среднетяжелом течении – в 1,9 и 1,2 раз соответственно; при тяжелом течении – в 2,0 и 1,0 раз соответственно).

10. Экспрессия гена нейтрофильного пептида у детей с атопическим дерматитом была в большей степени повышена в очаге атопического дерматита у детей всех возрастных категорий (очаг vs вне очага: у детей до года – в 3,1 и 1,5 раз соответственно; в 1–3 года – в 4,1 и 1,3 раза соответственно; в 3–7 лет – в 1,4 и 1,4 раза соответственно; и у детей старше 7 лет – в 3,1 и 2,7 раза соответственно).

11. Экспрессия гена нейтрофильного пептида при легком течении атопического дерматита в очаге воспаления была выше (в 1,5 раза), чем у здоровых детей, а в коже без видимых изменений была ниже (1,1 раза), чем у здоровых детей. По мере усиления тяжести течения заболевания экспрессия повышалась как в очаге воспаления, так и за его пределами (очаг vs вне очага при среднетяжелом течении: в 3,6 и 1,5 раза соответственно; при тяжелом течении: 4,3 и 2,3 раза соответственно).

12. Вне зависимости от клинической формы в очаге атопического дерматита экспрессия гена нейтрофильного пептида была более высокой, чем вне очага: при эритематосквамозной форме – в 2,3 и 1,4 раза соответственно; при эритематосквамозной форме с лихенизацией – в 3,5 и 1,6 раза соответственно; наиболее интенсивное усиление экспрессии отмечено при лихеноидной клинической форме – в 4,4 и 2,9 раза соответственно.

13. На фоне противовоспалительной гормональной наружной терапии отмечается тенденция к нормализации экспрессии генов антимикробных пептидов с усилением экспрессии генов дефензинов типа β и снижением экспрессии гена нейтрофильного пептида в коже пациентов с АтД, как в зоне воспалительного процесса, так и в визуально не пораженной атопическим дерматитом коже.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для предупреждения развития тяжелых форм атопического дерматита необходимо выделять детей с высоким риском прогрессирующего течения болезни, обращая внимание на отягощенность семейного анамнеза по аллергическим заболеваниям по линии матери, сопутствующий АтД у матери, ранний возраст дебюта атопического дерматита и мужской пол.

Выделение группы риска детей необходимо для их диспансерного наблюдения с назначением надлежащего наружного лечения для восстановления барьерной функции кожи.

2. Показатели экспрессии АМП β -дефензина-2 человека (HBD2) и нейтрофильного пептида (HNP1), характеризующие степень несостоятельности защитной функции кожного барьера, можно рассматривать в качестве диагностических маркеров прогрессирующего течения АтД с формированием тяжелых и лихеноидных форм.

3. Для анализа эффективности проводимой терапии и определения прогноза течения АтД возможно оценивать в динамике показатель экспрессии генов индуцибельного HBD2 и HNP1.

4. При атопическом дерматите нарушение состоятельности кожного барьера прослеживается на всем протяжении кожи, что может обосновывать более широкое нанесение наружной терапии, выходящее за пределы визуально пораженной кожи. При соблюдении данных рекомендаций возможно предупреждение рецидивов и прогрессирования атопического дерматита.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Soboleva, V.A.** HBD2 genes expression in children with atopic dermatitis / **V.A. Soboleva, A.V. Kudryavtseva, N.D. Abramova, Y.A. Bunina, O.A. Svitich** // Allergy. – 2021. – Vol. 76. – № S110. – P. 155–156.
2. **Соболева, В.А.** Изменение экспрессии генов дефензинов типа $\beta 2$ и $\beta 3$ у детей в период обострения атопического дерматита / В.А. Соболева // Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2022». – Москва, 2022. – С. 1–2.
3. **Соболева, В.А.** Экспрессия генов HBD2 у детей, страдающих атопическим дерматитом / **В.А. Соболева** // Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2022». – Москва, 2022. – С.1–2.
4. **Соболева, В.А.** Динамика экспрессии генов HNP1 и HBD2 у детей с тяжёлым течением АтД на фоне наружной терапии / **В.А. Соболева** // Тезисы X Общероссийской конференции с международным участием «FLORES VITAE. Поликлиническая педиатрия». – Москва, 2022. – С. 19.
5. **Соболева, В.А.** Роль антимикробных пептидов в развитии хронических форм атопического дерматита у детей / **В.А. Соболева, А.В. Кудрявцева, Н.Д. Абрамова, О.А. Свитич** // Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы: Сборник трудов XIV Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского. – Москва, 2022. – С. 151.
6. **Соболева, В.А.** Изменение экспрессии генов дефензинов у детей в период обострения атопического дерматита и на фоне наружного лечения / **В.А. Соболева** // Тезисы XVI

- Общероссийского семинара «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» и IX Общероссийской конференции «FLORES VITAE. Контраверсии неонатальной медицины и педиатрии». – Сочи, 2022. – С. 130.
7. Кудрявцева, А.В. Исследование концентрации антимикробных пептидов в грудном молоке матерей детей с атопическим дерматитом / А.В. Кудрявцева, О.А. Свитич, **В.А. Соболева**, Е.П. Быстрицкая // **Вопросы практической педиатрии**. – 2022. – Т. 17. – № 6. – С. 106–111. [Scopus]
8. **Соболева, В.А.** Факторы риска развития прогрессирующего течения атопического дерматита у детей и подростков / **В.А. Соболева**, А.В. Кудрявцева, О.А. Свитич, Н.А. Геппе // **Доктор. Ру**. – 2022. – Т. 21. – № 7. – С. 41–44.
9. Свитич, О.А. Экспрессия гена HNP1 у детей с атопическим дерматитом / О.А. Свитич, **В.А. Соболева**, Н.Д. Абрамова, К.А. Гележе, А.В. Кудрявцева // **Вопросы практической педиатрии**. – 2022. – Т. 17. – № 6. – С. 31–36. [Scopus]
10. **Soboleva, V.A.** Altered HBD2 gene expression in progressing local inflammation in pediatric atopic dermatitis / **V.A. Soboleva**, A.V. Kudryavtseva, N.D. Abramova, Y.A. Bunina, O.A. Svitich // *Allergy*. – 2023. – Vol. 78. – № S111. – P. 353.
- 11. Патент на изобретение № 2794207 С1**, Российская Федерация, МПК А61В 10/00, А61К 35/747, А61Р 17/00. Способ уменьшения клинических проявлений атопического дерматита у детей, находящихся на грудном вскармливании / Бунина Ю.А., Варданян А.А., Гзоян П.Д., Кудрявцева А.В., Свитич О.А., **Соболева В.А.**; патентообладатели: Бунина Ю.А., Варданян А.А., Гзоян П.Д., Кудрявцева А.В., Свитич О.А., Соболева В.А. – 2022112430, заявл. 06.05.2022, опубл. 12.04.2023, Бюл. № 11

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- НВД– β-дефензины человека
 HNP1 – нейтрофильный пептид 1
 АМП – антимикробные пептиды
 АтД – атопический дерматит
 Л – лихеноидная форма АтД
 ПЦР- полимеразная цепная реакция
 РНК – рибонуклеиновая кислота
 ЭрС – эритематосквамозная форма АтД
 ЭрСЛ – эритематосквамозная форма АтД с лихенизацией