

Stoieva T.V.,*MD, Professor, Head of the Department of Pediatrics No.2, Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine.***Reshetilo O.V.,***assistant of the Department of Pediatrics No.2, Odessa National Medical University, Piwnitschnyj-Gasse, Odessa 65009, Ukraine, o_reshetilo@ukr.net.***Vesilyk N.L.,***PhD, Associate Professor of Pediatrics No.2, Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine.***Bondarenko T.O.,***Deputy chief of Communal Institution "B.Ya. Reznik City Children Hospital" Odessa, Ukraine.*

DIE BESONDERHEITEN DES KLINISCHEN VERLAUFS VON DER ATOPISCHEN DERMATITIS BEI KINDERN BERÜCKSICHTIGEND DIE EIGENSCHAFTEN DER EPIDERMALEN BARRIERE

Resümee. Der Forschungszweck: die Besonderheiten des klinischen Verlaufs von der atopischen Dermatitis bei Kindern berücksichtigend die Eigenschaften der epidermalen Barriere untersuchen.

An der Studie nahmen 111 Kinder im Alter von 3 bis 11 Jahren teil, die an atopischer Dermatitis (AD) krank sind. Außer der allgemeinen klinischen Analyse und Bestimmung der spezifischen IgE, um eine kausale Sensibilisierung zu identifizieren, wurde eine molekulare und genetische Analyse durchgeführt (für Etablierung von Polymorphismus im Filaggrine-Gen (FLG)). Die Hautfeuchtigkeit wurde durch die Corneometrie-Methode gemessen. Die statistische Bearbeitung des Materials wurde mit Hilfe der Software Statistica 6 durchgeführt. Es wurde festgestellt, dass es den Polymorphismus im Filaggrine-Protein-Gen bei 45,9%±6,98 Kindern mit AD gibt. Der Polymorphismus R501X wurde bei 78,4±5,76% der Kinder nachgewiesen, die Mutation 2282del4 traf bei 7,8±3,76% der Patienten, und deren Kombination (R501X und 2282del4) bei 13,7±4,81% der Patienten. Der Einfluss der strukturellen Veränderungen des FLG-Proteins auf den morpho-funktionellen Hautzustand wurde festgestellt, der sich durch eine signifikante Abnahme der Feuchtigkeit von Epidermis ($\chi^2_{0.000001}$), $p < 0,05$ manifestiert. Die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung der Haut bei Patienten unter Bedingungen von FLG-Polymorphismus zeigten die Störungen von Mikrobiözönose wie Reduzierung der Mikroorganismen-Kommensalen ($\chi^2_{21.928}$) $p > 0,05$ und Zunahme der Pilzkontamination ($\chi^2_{6.517}$) $p < 0,05$. Der klinische Verlauf von AD unter FLG-Polymorphismus-Bedingungen ist durch das frühe Debüt (bis zu 3 Monaten), $P < 0,001$, und durch den schwereren Verlauf der Krankheit, $P < 0,001$; durch das hohe Sensibilisierungsniveau für Pilz- und Haushaltsallergene, $P < 0,05$ gekennzeichnet.

Schlüsselwörter: atopische Dermatitis, Kinder, Filaggrine, Sensibilisierung.

Einführung. Atopische Dermatitis ist eine häufige Hauterkrankung, die oft im Säuglingsalter auftritt [1]. Gemäß der statistischen Angaben wird die Inzidenz von AD in den letzten Jahrzehnten in den Industrieländern stetig gestiegen. Zum Beispiel stieg die Inzidenz von AD bei Kindern in den USA im Jahr 2016 um 17,2 % und in Europa um 15,6% [2]. Inzwischen reicht die Rate der Inzidenz von AD von 6,2 % bis 15,5 % in den Regionen Osteuropas und der Russischen Föderation [3].

Nach den erhaltenen Ergebnisse der internationalen Studie von Asthma und Allergien bei Kindern (International Study of Asthma and Allergies in Childhood), (2012) wurde bei der Untersuchung von etwa 2 Millionen Kindern aus

100 Ländern der Welt festgestellt: hohe Prävalenz von AD bei Kindern in den europäischen Ländern: in Österreich – 9,7-20 %, in Lettland – 5,4-6,5 %, in Polen – 13,2 %. Der AD-Verlauf hat nicht nur territoriale, sondern auch Altersmerkmale: die Prävalenz von AD für Kinder im Alter von 6-7 Jahren reicht von 0,9 % in Indien bis 22,5 % in Ecuador, für Kinder im Alter von 13-14 Jahren – von 0,2 % in China, bis 24 % in Kolumbien, mit höheren Raten in Afrika und Lateinamerika.

Trotz der durchgeführten Studien zur Untersuchung pathophysiologischer Veränderungen im Körper bei AD bleibe eine Reihe von Fragen endgültig unerforscht. Heute wird aktiv die Rolle der genetisch bedingten Erkrankungen in Immunpathophysiologie von AD

diskutiert, insbesondere die Entwicklung von Überempfindlichkeit auf Allergene und unspezifische Reize, wegen der Verletzung des Status von Hautmikrobiom, wie die Kolonisation von pathogenen Mikroorganismen (*Staphylococcus aureus*, *Malassezia furfur*) [3]. Infolge der Vielfalt von Hautmikrobiom und Charakteristik von Biotopen, die überwiegend Vertreter von *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprofiticus* [4, 5] enthalten, gab es einen bestimmten Einfluss der Mikroflora auf den Zustand der epidermalen Barriere.

Eine wichtige Rolle spielen die Mikroorganismen bei der Bildung des pH-Wertes der Haut. So können einige Bakterien, die ständig auf der Haut leben (vor allem *Staphylococcus epidermidis* und *Lactobacillus*), Säuren produzieren und sich direkt an der Schaffung eines sauren Mantels der Haut beteiligen. Darüber hinaus synthetisiert *Staphylococcus epidermidis* spezifische Verbindungen, die die pathogene Flora unterdrücken können [6]. Die Verletzung der Schutzbarriere führt zu den Abrutschen in der Zusammensetzung des Mikrobioms und in der Entwicklung von Pilzkontamination. So wurde in vielen Studien eine hohe Häufigkeit der Absonderung von Pilzen der Gattung *Malassezia furfur* und *Candida* auf der Haut bei AD nachgewiesen [7].

Aber diese pathogenetischen Mechanismen reichen jedoch nicht aus, um die Besonderheiten der allergischen Hautentzündung vollständig zu verstehen, die mit AD entstehen. Die Unfähigkeiten der Epidermis, eine Barrierefunktion bereitzustellen und die transkutane Penetration von Allergenen, Mikroorganismen und Feuchtigkeitsverlust zu verhindern sind offensichtlich durch die molekulargenetische Störungen verursacht, was die Bildung einer chronischen Hautentzündung bewirkt.

Auf der modernen Etappen ist Filaggrine (FLG) – ein Protein der Epidermis wichtig, was eine schützende Barriere sichert und den Verlust von Feuchtigkeit und das Eindringen von Allergenen und Mikroorganismen durch die Epidermis verhindert [8].

Es sollte angemerkt werden, dass der Polymorphismus im Filaggrine-Gen als ernsthafter genetischer Faktor für die Entwicklung nicht nur

von AD, sondern auch vom atopischen Marsch insgesamt angesehen wird [9]. Es wurden Daten über die Wirkung des Filaggrine-Polymorphismus auf die Bildung des Phänotyps von Asthma bei Kindern mit AD veröffentlicht [10].

Obwohl es mehr als 40 Mutationen bekannt sind, wurden heute nur Mutationen von Filaggrine-Gen 2282del4 und R501X detailliert erforscht, die in der Dritten Ekzone lokalisieren und spezifisch für verschiedene Populationen und Rassen sind [10]. Es ist bewiesen, dass es bei der europäischen Bevölkerung am häufigsten die Hauptmutationen im FLG-Gen R501X, 2282del4, S3247X, 3702delG, R2447X gibt [11].

In den Arbeiten von Weidinger und Co-Autoren wurde festgestellt, dass die wichtigsten Mutationen, die das Debüt und die Entwicklung von AD beeinflussen, werden R501X und 2282del4 [12] genannt, deren Rolle bei der Bildung anderer allergischer Erkrankungen bei Erwachsenen dargestellt wird [13]. Gleichzeitig wurde die Prävalenz und Vielfalt des FLG-Polymorphismus bei Kindern nicht ausreichend untersucht.

Der Forschungszweck: die Besonderheiten des klinischen Verlaufs der atopischen Dermatitis bei Kindern unter Bedingungen von den Filaggrine-assoziierten Störungen der epidermalen Barriere untersuchen.

Materialien und Methoden der Forschung.

111 Kinder von 3 bis 11 Jahren nahmen an der Studie teil. Vorab haben alle Patienten eine informierte Einwilligung zur Teilnahme an der Studie gegeben. Die Diagnose von AD wurde auf der Grundlage von Beschwerden, anamnestischen Daten, klinischer Untersuchung, Laborbefunden mit der Bestimmung des Niveaus von allgemeinen und spezifischen IgE, in Übereinstimmung mit lokalen und internationalen Protokollen und Leitlinien ausgestellt. Die Schwere von AD wurde nach der SCORAD-Skala bewertet. Das Material für die molekulare und genetische Analyse waren Bukkal epithelzellen.

Für die Bestimmung des morpho-funktionellen Hautzustandes wurde Methode von Corneometrie (portatives Corneometer Monaderm 98000 MONACO) angewendet, das den Grad der Hydratation der Epidermis bestimmen lässt. Entsprechend den

Eigenschaften des Geräts zeigt das Messergebnis von weniger als 30 auf der sehr trockenen Haut, von 30 bis 60 auf der trockenen Haut, über 60 auf der mit unterschiedlicher Stufe befeuchteten Haut an.

Die Einschätzung der Mikrobiozönose der Haut wurde nach den Ergebnissen der mikroskopischen und bakteriologischen Untersuchung des Hautabstriches durchgeführt.

Die Bestimmung des Einflusses von Polymorphismus im Filaggrin-Gen auf den Verlauf von AD wurde vergleichend die klinischen und Laborbefunde bei 51 Kindern mit dem vorhandenen Polymorphismus R501X und 2282del4 durchgeführt – die Hauptgruppe (A) und 60 Patienten ohne Polymorphismus – Vergleichsgruppe (B).

Die statistische Bearbeitung des Materials wurde mit Hilfe der Software Statistica 6 unter Verwendung parametrischer und nicht parametrischer Methoden zur Einschätzung der erhaltenen Ergebnisse durchgeführt. Es wurden die Richtigkeit der Verteilung der Merkmale für jede der erhaltenen Variationsreihen, die Durchschnittswerte jedes Merkmals, die untersucht wurden, Standardfehler und Abweichungen eingeschätzt. Die Zuverlässigkeit der Differenz zwischen den Werten der unabhängigen quantitativen Größen bei der richtigen Verteilung wurde mit Hilfe des Student-Kriteriums für unabhängige Größen bestimmt. Vergleichend die klinischen, Labor- und Instrumentalbefunde wurde die Bedeutung der Unterschiedsanzeichen in den Studiengruppen mit Hilfe des nicht parametrischen Pearson-Kriteriums χ^2 mit Verbesserung auf die Kontinuität. Bei der erwarteten Frequenz von 5 bis 9 wurde die Yates-Korrektur angewendet, bei der erwarteten Frequenz von weniger als 5 wurde das genaue Fisher-Kriterium verwendet. Die Unterschiede wurden bei $p < 0,05$ als statistisch signifikant angesehen.

Ergebnisse. Nach den Ergebnissen der durchgeführten genetischen Untersuchung wurde festgestellt, dass Polymorphismus im Proteingen von Filaggrin bei 51 Kindern (45,9±6,98%) mit AD vorhanden ist. Die Mutation R501X traf bei 40 Kindern (78,4±5,76%), Polymorphismus 2282del4 bei 4 Patienten (7,8±3,76%,) kombinierte Variante R501X und

2282del4 bei 7 (13,7±4,81%) Patienten.

Signifikante Altersunterschiede in den Vergleichsgruppen wurden nicht festgestellt, jedoch war das Durchschnittsalter in Gruppe A mit $7,2 \pm 2,1$ etwas größer als in Gruppe B mit $6,5 \pm 2,1$ ($P < 0,05$). Nach Geschlechtersmerkmalen waren die Gruppen vergleichbar: in der Gruppe A waren es 26 Jungen und 25 Mädchen, in der Gruppe B 28 Jungen und 32 Mädchen. In der Gruppe A wurde ein leichter Verlauf von AD bei 7 Kindern (13,7±4,81%), mittlerer Schwere - bei 16 (31,3±6,49%), schwerer - bei 28 (54,9±6,97%) Patienten diagnostiziert. In der Gruppe B waren die Ergebnisse signifikant unterschiedlich: so wurde der leichte Verlauf bei 20 Patienten (33,3±6,08%), der mittelschwere Verlauf bei 29 (48,3±6,45%) und der schwere Verlauf bei 11 (18,3±4,99%) Patienten festgestellt. Also, in der Gruppe B gibt es eine Tendenz, Patienten mit schwerem AD-Verlauf durch einen Anstieg des Prozentsatzes von Kindern mit leichtem Krankheitsverlauf zu reduzieren (Tabelle 1).

Bei der Einschätzung der Schwere von AD-Verlauf wurde festgestellt, dass in der Gruppe A der durchschnittliche Wert von SCORAD-Index $52,8 \pm 7,5$ Punkte und in der Gruppe B - $33,0 \pm 4,0$ ($P < 0,05$); die Fläche der Läsion - $52,1 \pm 13,2$ %; und $19,5 \pm 10,2$ % ($P < 0,001$) – dementsprechend. Die Schwere der objektiven klinischen Merkmale in der Gruppe A war $10,2 \pm 1,7$ Punkte, in Gruppe B - $7,2 \pm 1,3$ Punkte ($P > 0,05$); die Intensität des Juckens in der Gruppe A - $3,5 \pm 0,5$ Punkte, in der Gruppe B - $2,3 \pm 1,1$ Punkte ($P > 0,05$); Schlafstörungen in der Gruppe A - $3,2 \pm 0,6$ Punkte und in der Gruppe B - $1,8 \pm 0,6$ Punkte ($P > 0,05$).

Bei der Untersuchung der Familiengeschichte in der Gruppe A ergab eine erbliche Belastung von $60,8 \pm 6,84$ % der Kinder, in der Gruppe B – bei $50 \pm 6,45$ % der Patienten ($p > 0,05$). AD bei Angehörigen der ersten Verwandtschaftslinie in der Gruppe A wurde in $72,6 \pm 6,25$ % identifiziert, wobei AD mindestens bei einem Elternteil in $62,7 \pm 6,77$ % der Fälle und BA in $41,2 \pm 6,89$ % aufgezeichnet wurde. Wie aus der vorgestellten Tabelle hervorgeht, steht in der Gruppe A das frühe Debüt von AD an. Nämlich bei 42 Kindern (82,4±5,33%) erschienen die ersten Symptome von AD bis 3 Monaten, und in der Gruppe B – nur bei 17 (28,3±5,82%). Bei den meisten Patienten der Gruppe A kam die Manifestation von AD für

Tabelle 1.

Vergleichende Charakteristik des AD-Verlaufs berücksichtigend von Filaggrine-Polymorphismus.

Anzeichen	Gruppe A n/%	Gruppe B n/%	Wert χ^2
Debüt von AD bis zu 3 Monaten	42 (82,4% \pm 5,33)	17 (28,3 \pm 5,8)	33.235 p<0,001
Schwerer Verlauf von AD	28 (54,9 \pm 7,0)	11 (18,4 \pm 5,0)	16.176 p<0,001
Erhöhung des Niveaus von Gesamt-IgE	37 (72,5 \pm 6,3)	45 (75,2 \pm 5,6)	0.5523 p>0,05
Erhöhung des Eosinophilen-Niveaus	37 (72,5 \pm 6,3)	37 (61,8 \pm 6,3)	1.469 p>0,05
Sensibilisierung für Pilzallergenen	46 (90,2 \pm 4,2)	21 (35,1 \pm 6,2)	0.690 p>0,05
Sensibilisierung für <i>D. farinae</i>	37 (72,5 \pm 6,3)	20 (33,4 \pm 6,1)	16.971 p<0,05
Sensibilisierung für <i>D. pteronisin.</i>	37 (72,5 \pm 6,3)	6 (10,0 \pm 3,9)	45.447 p<0,05
Sensibilisierung für Hausstaub	33 (64,7 \pm 6,7)	12 (20,0 \pm 5,2)	13.891 p<0,05
Sensibilisierung für Pollenallergen	19 (37,2 \pm 6,8)	19 (31,7 \pm 6,0)	0.144 p>0,05
Sensibilisierung für bis 2 oder mehr Nahrungsmittelallergen	7 (13,7 \pm 4,8)	30 (50,1 \pm 6,5)	16.324 p<0,001
Verringerung der Hautfeuchtigkeit \leq 45 Grade	51 (99,96 \pm 0,44)	18 (30,1 \pm 5,9)	0.000001 p<0,05
Reduzierung von Mikroorganismen- Kommensalen	37 72,6 \pm 6,25	36 59,9 \pm 6,33	1.928 p>0,05
Erhöhung der Pilzkontamination	16 31,4% \pm 6,5	7 (11,7% \pm 4,1)	6.517 p<0,05

einen Zeitraum von 3 bis 6 Monaten – 31 Kinder (51,6 \pm 6,45%), älter als 6 Monate – bei 12 (20 \pm 5,16%) Patienten. Diese Daten zeigen, dass die Altersbesonderheiten des klinischen AD-Verlaufs auf bestimmte Weise mit den morphofunktionellen Hautbesonderheiten verbunden sind, die für verschiedene Altersgruppen von Kindern charakteristisch sind. Beim Vergleich dieser Laborbefunde: Blut-Eosinophilie und Hyperglobulinämie E wurde keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt (p>0,05).

Bei Corneometrie mit dem Untersuchungsziel von den morpho-funktionellen Hauteigenschaften wurde festgestellt, dass der durchschnittliche Feuchtigkeitswert der Epidermis in der Gruppe A signifikant niedriger als in Gruppe B (P<0,05) war, was eindeutig die schützenden Eigenschaften der Haut beeinflusste

(Tab. 1). Die inverse Beziehung zwischen Dimorphismus von Filaggrine und einer Verletzung des morph-funktionellen Hautzustands ($r = -0.893$) wurde gefunden.

Die Verletzung der Barrierefunktion in Form von Veränderungen in der Mikrobiozönose der Haut durch die Verringerung der Mikroorganismen-Kommensalen und erhöhte Pilzkontamination bei der Untersuchung des Hautabstriches festgestellt: das Vorhandensein von Staphylokokken in der Gruppe A. Epidermidis wurde bei 14 Kindern (27,4 \pm 6,2%), gleichzeitig in der Gruppe B - bei 24 Kindern (40,1 \pm 6,3%) festgestellt. Die Pilz-Flora in auf Abstrichen wurde in der Gruppe A bei 16 Kindern (31,4 \pm 6,5%) und in der Gruppe B - bei 7 Kindern (11,7 \pm 4,1%) identifiziert.

Der genetisch deterministische Defekt der Hautbarriere als strukturelle Störungen von

Filaggrine, verantwortlich für die endgültige Differenzierung von Keratinozyten, führt zu einer Verletzung des Hautmikrobioms, und eine Verringerung der Mikroorganismen-Komensaen, zu denen *Staphylococcus epidermidis* gehört, was wiederum die Kolonisierung der Haut durch pathogene Mikroorganismen, insbesondere Pilze fördert.

Schlussfolgerungen:

1. Polymorphismus von Filaggrine-Protein wird bei $45,9\% \pm 6,98$ Kindern mit AD festgestellt. Die Mutation R 501X wurde bei 78,4% der Kinder festgestellt, Polymorphismus 2282del4 bei 7,8% der Patienten, deren Kombination (R501X und 2282del4) bei 13,7% der Patienten.

2. Die Verletzung der funktionellen Eigenschaften der Epidermis unter FLG-Polymorphismus-Bedingungen manifestiert sich durch eine Abnahme der Höhe von Hautbefeuchtung ($\chi^2_{0.000001}$), die Verletzung der Mikrobiözönose in Form einer Erhöhung der Pilzkontamination ($\chi^2_{6.517}$).

3. Die Verletzung der Barriereigenschaften der Epidermis bei Kindern mit AD, die ein frühes Debüt mit sich bringt und den Verlauf der Krankheit belastet, trägt zur Erweiterung des Spektrums von Sensibilisierungsfeld bei.

Perspektiven für weitere Forschung. Die erhaltenen Ergebnisse demonstrieren die Wirkung des Dismorphysmus von FLG-Protein auf den klinischen Verlauf von AD bei Kindern und die Entwicklungsnotwendigkeit der therapeutischen Taktik unter Berücksichtigung des Zustands der Barriereigenschaften von Epidermis.

Anmerkung. In der Zahl ist die absolute Anzahl der Patienten angegeben. Im Nenner ist die relative Menge ($M \pm m$) abgebildet.

Literatur:

1. Dinulos JG, Trickett A, Crudele C. *New science and treatment paradigms for atopic dermatitis. Curr Opin Pediatr.* 2018;30(1):161-8.

2. Egawa G, Kabashima K. *Barrier dysfunction in the skin allergy. Allergol Int.* 2018;67(1):3-8.

3. Petrova IV, Omarov NN, Sargsyan MS, et al. *Supportive pharmacotherapy of atopic dermatitis.*

Reviews of clinical pharmacology and drug therapy. 2018;16(1):60-3.

4. Porshina OV. *Microbial biocenosis of the skin and its role in the course of pyoderma in children. Summary of the Candidate of Medicine Thesis. Orenburg.* 2006;1-149. [Russian].

5. Kong H.H., Oh J., Deming C. et al. *Temporal shifts in the skin microbiome associated with disease flares and treatment in children with atopic dermatitis. Genome Res.* 2012; 22: 850–9.

6. Grice E.A., Segre J.A. *The skin microbiome. Nat. Rev. Microbiol.* 2011;9(4):244–9.

7. Smirnova G. I. *Modern approaches to treatment and rehabilitation of atopic dermatitis, complicated by secondary infection. Allergologiya i immunologiya v pediatrii.* 2004;1:34–5. [Russian].

8. Akan A, Azkur D, Ginis T, et al. *Vitamin D level in children is correlated with severity of atopic dermatitis but only in patients with allergic sensitizations. Pediatric Dermatology.* 2013;30(3):359-63.

9. Dyatytkovskii V.O. *Atopic March in Pediatrics: The Genotype-Associated Mechanisms. Child Health.* 2017;12(4):498-4. [Ukrainian].

10. E. G. Komova, et al. *A new set of reagents of the Realbest-Genetic series in assessment of prevalence of mutations of Filaggrin gene among residents of Novosibirsk and children with atopic dermatitis. News of «Vector-Best».* 2014;4:2-5.

11. Zuyeva M.I., Parfyonov D.O., Atramentov L.A. *Odnonukleotidny and insertional a polymorphism of a gene of FLG of the person at dermal diseases. Factors of experimental evolution of organisms.* 2013;13: 303-4.

12. Papa I. *Analysis of mutations in the filagargin gene in patients with atopic dermatitis, genetically obstructed. Zb sciences works of P.L. Shupyk NMAPO employers .* 2013;22 (3):101-6. [Ukrainian]

13. Seon-Young Kim, Sung Wan Yang et al. *Association between P478S polymorphism of the filaggrin gene & atopic dermatitis. Indian. J. Med. Res.* 2013;138(6):922-6.