

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ім. М.І. ПИРОГОВА

ФЕДЧИШЕН ОЛЕКСАНДР ПЕТРОВИЧ

УДК 616.248-053.2:577.161.2-008.64

ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ АНТИМІКРОБНИХ ПЕПТИДІВ ТА
НЕДОСТАТНОСТІ ВІТАМІНУ Д ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ
БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ У ДІТЕЙ

14.01.10 - педіатрія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Вінниця – 2017

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Вінницькому національному медичному університеті імені М. І. Пирогова МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
Дудник Вероніка Михайлівна,
Вінницький Національний медичний університет
імені М. І. Пирогова МОЗ України,
завідувач кафедри педіатрії №2.

Офіційні опоненти:

- доктор медичних наук, професор **Леженко Геннадій Олександрович,**
Запорізький державний медичний університет МОЗ України,
завідувач кафедри госпітальної педіатрії;
- доктор медичних наук, професор **Колоскова Олена Костянтинівна,**
Вищий державний навчальний заклад України,
«Буковинський державний медичний університет»,
завідувач кафедри педіатрії та дитячих інфекційних хвороб.

Захист дисертації відбудеться «05» грудня 2017 р. о 13 годині на засіданні спеціалізованої Вченої ради Д 05.600.04 при Вінницькому національному медичному університеті імені М.І. Пирогова МОЗ України (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова МОЗ України (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

Автореферат розісланий

«02» листопада 2017 року.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
доктор медичних наук, професор

Токарчук Н.І.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Бронхіальна астма - захворювання, основу якого становить хронічне запалення дихальних шляхів, що супроводжується змінами чутливості та реактивності бронхів і проявляється нападами ядухи, нападоподібним кашлем, дистанційними хрипами та задишкою. Характерна зворотня обструкція без легеневих ознак алергії, може супроводжуватись еозинофілією в крові та/або еозинофілією в харкотинні. Таким чином, сучасне визначення бронхіальної астми містить основні положення, які відображають запальну природу захворювання, основний патофізіологічний механізм - гіперреактивність бронхів та основні клінічні прояви - симптоми обструкції дихальних шляхів [Охотнікова О.М., 2014; Колоскова О.К., 2017].

Найбільша поширеність бронхіальної астми спостерігається в індустріалізованих країнах, і нещодавно було припущено, що дефіцит 25-гідроксіхолекальциферола ₃ може частково пояснити механізми розвитку захворювання. Так, встановлено, що дефіцит 25-гідроксіхолекальциферола асоціюється з підвищеним рівнем медіаторів запалення, збільшенням синтезу цитокінів та гамма-інтерферону, що призводить до включення в процес макрофагів [Salvatore Chirumbolo et al., 2017]. Заповнення дефіциту 25-гідроксіхолекальциферола призводить до зниження рівнів цих маркерів, а також має антипроліферативну та мембраностабілізуючу дії [Confino-Cohen R. et al., 2014]. Саме тому наголошується на необхідності проведення додаткових досліджень щодо визначення ефективності прийому 25-гідроксіхолекальциферола як одного із методів запобігання розвитку бронхіальної астми, а також механізму його впливу на хворих з важкою формою захворювання.

На сучасному етапі бронхіальну астму прийнято розглядати як поліетіологічне захворювання, а роль у загостренні приділяється не лише IgE – опосередкованим алергічним реакціям. Важливим є розуміння того, що у патогенезі неатопічного варіанту бронхіальної астми значну роль відіграють інфекційні агенти, що стимулюють продукцію Т-хелперів 17-го типу, які у свою чергу продукують інтерлейкін 17, який спроможний індукувати експресію багатьох медіаторів запалення, в тому числі $\alpha 1$ -антитрипсину, інтерлейкіну 1, 6 та 8 [WillemienThijs et al., 2015]. Саме тому даний варіант бронхіальної астми погано піддається базисній терапії і потребує збільшення дози інгаляційних глюкокортикоїдів, а також використання комбінованих засобів. Діагностика атопічного IgE – опосередкованого варіанту бронхіальної астми полягає у визначенні вмісту еозинофілів у крові та мокротинні, вмісту загального та специфічних IgE, а також проведення шкірних алерго-тестів із різними групами алергенів [Arikoglua T. et al., 2016]. Що стосується підтвердження неатопічної форми бронхіальної астми, то воно полягає у визначенні інфекційного агента шляхом встановлення вмісту IgM, IgG до причино значущого збудника, але найчастіше встановити його одразу майже неможливо [Леженко Г.О., 2017].

Саме тому ми сконцентрували свою увагу на встановленні вмісту протимікробних пептидів, а саме С-кінцевого hCAP18 кателіцидину LL-37 людини, синтез яких активується мікробними частинками шляхом зв'язування з Toll-рецепторами, однак, це не єдиний механізм.

Зв'язок роботи з науковими програмами та темами. Робота виконана на кафедрі педіатрії №2 Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова і була фрагментом науково-дослідної роботи «Покращення якості медичної допомоги дітям з мультифакторними хворобами на основі поглибленого вивчення клініко-діагностичних особливостей їх перебігу» (№ державної реєстрації 0114U001493).

Мета роботи: підвищення ефективності лікування дітей з бронхіальною астмою на підставі нових наукових даних про патогенетичну роль антимікробних пептидів та вітаміну Д.

Завдання дослідження:

1. Визначити клінічні особливості перебігу бронхіальної астми у дітей залежно від віку, статі та форми захворювання, з урахуванням супутньої патології і провокуючих чинників.
2. Оцінити зміни вмісту антимікробного пептиду кателіцидину LL-37 та 25-гідроксіхолекальциферола в сироватці крові дітей, хворих на бронхіальну астму, залежно від ступеня тяжкості, рівня контролю захворювання.
3. Встановити наявність або відсутність взаємозв'язку між рівнем кателіцидину LL-37, 25-гідроксіхолекальциферолу та маркерами активності запального процесу при бронхіальній астмі.
4. Дослідити показники функції зовнішнього дихання та стану імунної системи при бронхіальній астмі у дітей, та їх взаємозв'язки з кателіцидином LL-37 та 25-гідроксіхолекальциферолом.
5. Проаналізувати ефективність лікування дітей, хворих на бронхіальну астму, з урахуванням патогенетичної ролі антимікробних пептидів та 25-гідроксіхолекальциферола.

Об'єкт дослідження - бронхіальна астма у дітей.

Предмет дослідження - клініко-анамнестичні показники, стан імунної системи, показники функції зовнішнього дихання при бронхіальній астмі, показники алергологічного статусу, в тому числі вміст загального та специфічних IgE, біохімічні показники запального процесу, вміст еозинофілів в мокротинні та крові, вміст 25-гідроксіхолекальциферола в сироватці крові, вміст антимікробного пептиду кателіцидину LL-37, можливість відповіді на лікування дітей з бронхіальною астмою.

Методи дослідження: клінічні, біохімічні, імуноферментні, інструментальні, цитоморфологічні, статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів. Доповнено наукові дані щодо особливостей перебігу бронхіальної астми у дітей залежно від форми та рівня контролю захворювання. Вперше встановлено, що дефіцит 25-гідроксіхолекальциферолу достовірно асоціюється із атопічною формою бронхіальної астми (OR=2,032; 95 % CI: 1,381 – 10, 854), а неатопічний варіант захворювання супроводжується найвищими значеннями кателіцидину LL-37 в сироватці крові (OR=10.082; 95 % CI: 2.551-39.850), що безпосередньо залежить від ступеню важкості.

Вперше зроблено співставлення між окремими показниками стану імунної

системи при бронхіальній астмі у дітей та вмістом антимікробних пептидів і 25-гідроксіхолекальциферола. Так, значення імуноглобулінів А, М та G у дітей, хворих на бронхіальну астму, були достовірно ($p \leq 0,05$) вищими у пацієнтів із рівнем кателіцидину LL-37 більше 51,9 нг/мл, аніж у дітей із низьким вмістом даного протимікробного пептиду. CD3 (Т-лімфоцити), CD4 (Т-хелпери) та CD8 (Т-супресори) мали найвищі значення у дітей, хворих на бронхіальну астму із вмістом кателіцидину LL-37 в сироватці крові більше 51,9 нг/мл.

Вперше визначено зв'язок між показниками функції зовнішнього дихання та рівнем кателіцидину LL-37 в сироватці крові. Так, ФЖЄЛ та ОФВ₁ на 8,18 % та 7,13 % відповідно вищі при вмісті кателіцидину LL-37 менше 17,55 нг/мл в сироватці крові у порівнянні із пацієнтами, у яких вміст даного протимікробного пептиду визначався вище 51,9 нг/мл. Показник максимальної вентиляції легень достовірно нижчий при вмісті кателіцидину LL-37 в сироватці крові понад 51,9 нг/мл.

Встановлено негативний середньої сили взаємозв'язок між вмістом інтерлейкінів 1 ($r_{xy} = -0,560$ ($p = 0,041$)) та 6 ($r_{xy} = -0,351$ ($p = 0,044$)) і рівнем 25-гідроксіхолекальциферолу у дітей із бронхіальною астмою. Також встановлено взаємозв'язок між вмістом протимікробного пептиду кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на бронхіальну астму, та рівнем сироваткового IgA $r_{xy} = -0,598$ ($p = 0,01$), а також між його вмістом та фагоцитарним ($r_{xy} = 0,469$; ($p = 0,01$)) та імунорегуляторним індексами ($r_{xy} = 0,679$; ($p = 0,01$)).

Практичне значення отриманих результатів. Практичне значення роботи полягає у науковому обґрунтуванні доцільності визначення вмісту 25-гідроксіхолекальциферолу як одного із маркерів атопічної форми бронхіальної астми у дітей та низького рівня контролю захворювання.

Отримано нові дані щодо можливості відповіді на лікування дітей, хворих на бронхіальну астму, із різними формами захворювання із урахуванням патогенетичної ролі антимікробних пептидів та 25-гідроксіхолекальциферолу. Так, використання інгаляційних глюкокортикоїдів та комбінованої терапії інгаляційних глюкокортикоїдів із бета агоністів тривалої дії у пацієнтів із атопічною бронхіальною астмою асоціювався із підвищенням вмісту 25-гідроксіхолекальциферола (OR=2.312; 95 % CI: 1.110 – 2.887 та OR=3.991; 95 % CI: 2.631 – 7.916 відповідно) та зниження кателіцидину LL-37 (OR=2.114; 95 % CI: 1.199 – 2.824 та OR=2.591; 95 % CI: 2.631 – 7.916) в сироватці крові.

Дисертантом науково обґрунтовано та запропоновано спосіб діагностики бронхіальної астми у дітей шляхом визначення вмісту протимікробних пептидів, що дозволяє визначитись із подальшою тактикою базисного протизапального лікування та досягнути адекватного контролю (патент на корисну модель u 2016 12839 від 16.12.2016 «Спосіб діагностики бронхіальної астми у дітей шляхом визначення вмісту протимікробних пептидів»).

Впровадження результатів досліджень в практику. Результати досліджень впроваджені у практику роботи Вінницької обласної дитячої клінічної лікарні, обласних лікарень Чернівецької, Харківської та Київської областей.

Наукові розробки та результати дисертації використовуються в навчальному процесі кафедр педіатрії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

Особистий внесок здобувача. Автор самостійно провів патентно-інформаційний пошук, аналіз вітчизняної та зарубіжної наукової літератури за темою дисертації, визначив напрямок наукового дослідження, сформулював мету і завдання роботи, розробив методологію дослідження, обрав комплекс біохімічних та інструментальних методів дослідження, здійснила набір тематичних хворих та їх об'єктивне обстеження.

Безпосередньо автором виконано клінічні спостереження та лікування хворих на БА, проаналізовано результати клініко-лабораторних, інструментальних досліджень, статистичних звітів та медичної документації.

Дисертантом особисто проведено обробку отриманих результатів, їх аналіз та узагальнення, сформульовано всі положення, висновки та практичні рекомендації, підготовлено до друку наукові праці і доповіді. Власноруч написано всі розділи дисертації.

Апробація результатів дисертації. Основні положення і результати доповідалися та обговорювалися на наукових засіданнях кафедри педіатрії №2 (м. Вінниця, 2015, 2016, 2017 рр.), XVIII та XIX Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання педіатрії», присвячена пам'яті В.М. Сідельникова (м. Львів, 22-23 вересня 2016 р. та м. Полтава, 20 – 22 вересня 2017 р.), XIII та XIV конгреси педіатрів України «Актуальні проблеми педіатрії» (м. Київ, 11-13 жовтня 2016 р. та м. Київ, 10 – 12 жовтня 2017 р.), Міжнародна науково–практична конференція «Медична наука та практика в умовах сучасних трансформаційних процесів» (м. Львів, 21-22 квітня 2017 р.), Міжнародна науково–практична конференція «Медична наука та практика на сучасному історичному етапі» (м. Київ, 5-6 травня 2017 р.) науково-практичних конференціях «Новітні технології в педіатричній науці, практиці та освіті», присвяченій пам'яті академіка НАМН України Б.Я. Резника (м. Одеса, 14-15 квітня 2016 р. та м. Одеса, 6 – 7 квітня 2017 р.), International research and practice conference “Innovative technology in medicine: experience of Poland and Ukraine” (Lublin, Poland 28 – 29 april, 2017).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 10 наукових робіт, з яких 5 статей, в тому числі 3 статті у виданнях, що входять до переліку наукових фахових видань України, 2 статті – в іноземних виданнях; 4 наукових праць надруковано у матеріалах всеукраїнських та міжнародних науково-практичних конференцій. Отримано 1 патент на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 155 сторінках машинописного тексту і складається з вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел (41 кирилицею та 81 латиницею). Робота ілюстрована 77 таблицями та 6 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Для досягнення мети та вирішення поставлених завдань нами було комплексно обстежено 200 дитини, хворих на

бронхіальну астму віком від 6 до 17 років, що знаходились на стаціонарному лікуванні у пульмонологічному відділення ВОДКЛ протягом 2015 – 2017 років та 40 практично здорових дітей. Верифікацію діагнозу БА проводили згідно наказу МОЗ України № 868 від 08.10.13р. по бронхіальній астмі у дітей із урахуванням рекомендацій «Глобальної ініціативи по бронхіальній астмі» (Global Initiative for Asthma, GINA, 2010).

Критерії включення в дослідження: діти, хворі на БА віком від 6 до 17 років; діти із алергічною, неалергічною та змішаною формами БА; діти із БА в період ремісії та в період загострення; наївні пацієнти із БА; діти, хворі на БА, котрі отримують базисну протизапальну терапію; діти, хворі на БА, які отримують алергоспецифічну імунотерапію; діти, хворі на БА, котрі отримують терапію антагоністами лейкотрієнових рецепторів; діти, хворі на БА, котрі отримують комбіновану терапію (ІГК + В₂ – агоністи тривалої дії, ІГК + антагоністи лейкотрієнових рецепторів); здатність розуміння пацієнтами та їх батьками інформації в АСТ – тесті та опитувальниках оцінки якості життя дітей; інформована згода пацієнта на співпрацю з дослідником в рамках дослідження. У дослідження не увійшли хворі із вродженими вадами розвитку бронхолегеневої системи, вродженими вадами серця із збагаченням малого кола кровообігу, психічними, неврологічними та ендокринними захворюваннями, які супроводжуються змінами з боку респіраторного тракту. Критерії виключення: наявність супутньої бронхолегеневої патології, гострої респіраторної вірусної інфекції; гострі гнійно – запальні та септичні захворювання; вік менше 6 років; індивідуальна непереносимість та/чи наявність протипоказів до препаратів, що входять у схему лікування; використання пацієнтами лікарських засобів, які не передбачені протоколом лікування БА.

У загальному аналізі крові відмічали кількість еозинофілів: при рівні еозинофілів 5 – 10 % діагностували незначну еозинофілію, при рівні 10 – 20 % – помірну еозинофілію, при рівні більше 20 % – високу еозинофілію. Вміст СРП у сироватці крові визначали імуноферментним методом (набори фірми ИМТЕК, Росія). Проводили кількісне визначення інтерлейкінів 1 та 6 методом імуноферментного аналізу (ELISA) з використанням стандартних наборів фірми IMMUNOTECH, Франція за загально прийнятою методикою.

Визначення в сироватці крові вмісту загального імуноглобуліну класу E (МО/мл) проводили за допомогою двосайтового імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням імуноферментної тест-системи IMMUNOTECH, Франція. Оцінку шкірної чутливості негайного типу до небактеріальних алергенів, що визначали методом тесту уколом (прік-тест). Для дослідження використовували харчові, побутові, епідермальні та пилкові алергени виробництва ТОВ „Імунолог” (Україна) із вмістом 10000 PNU в 1 мл.

Вміст 25-ОН-вітаміну D в сироватці крові визначали імуноферментним методом за набором “25-ОН-VitaminD-ELISA” (BioVendor, Німеччина) у відповідності до інструкції фірми-виробника. Відповідно до численних проведених досліджень, а зокрема Pitzetal., 2011, вміст 25-ОН-вітаміну D був розподілений на оптимальний (30 – 50 нг/мл), субоптимальний (20 – 30 нг/мл), недостатність (10 – 20 нг/мл) та дефіцит (менше 10 нг/мл) вітаміну. Вміст антимікробного пептиду LL-

37 в сироватці крові визначали імуноферментним методом за набором “HumanLL-37 ELISAKit” (HycultBiotech, Нідерланди) у відповідності до інструкції фірми-виробника. Розподіл рівнів каталіцидину LL-37 здійснювали за допомогою статистичного методу поділу варіаційних рядів на квартилі: I квартиль (менше 17,55 нг/мл), II квартиль (17,56 – 33,70 нг/мл), III квартиль (33,71 – 51,87 нг/мл) та IV квартиль (більше 51,9 нг/мл).

Для визначення функції зовнішнього дихання проводилась спірометрія із використанням комп'ютерного спірографа Spirolab III ® MIR (Італія). З метою визначення стану дихальної мускулатури проводився тест на визначення максимальної вентиляції легень (МВЛ) за допомогою проведення форсованого дихання протягом 15 секунд. Норма розраховувалась за формулою: $МВЛ = ОФВ_1 * 35$.

Статистична обробка отриманих результатів була проведена за допомогою програми IBM SPSS Statistics, версія 12 (20) (ліцензійний № 9593869, належить кафедрі інфекційних хвороб Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова МОЗ України) із застосуванням параметричних і непараметричних методів оцінки отриманих результатів. Розраховувалась середня арифметична величина (M) та стандартна помилка показників (m). У разі якісних ознак розраховували частоту прояву (%) та її стандартну помилку (m%). Перевірку розподілу на відповідність закону Гаусса виконували за допомогою критерію Шапіро-Вілка. Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами при правильному розподілі визначали за допомогою критерію Стюдента для незалежних величин, для даних, що представлені у відсотках, – точний метод Фішера, а в інших випадках – за допомогою U-критерія Мана-Уїтні. Достовірними вважали значення $P < 0,05$. Для визначення сили та напрямку зв'язку між показниками в досліджуваних групах застосовували кореляційний аналіз (при параметричному розподілі даних – парну кореляцію Пірсона, а при непараметричному розподілі ознак – рангову кореляцію Спірмена). З метою визначення чутливості та специфічності визначення 25 – гідроксихолекальциферолу та каталіцидину LL – 37 було застосовано статистичний метод побудови ROC – кривих. Для кількісної оцінки подій розраховували показник відношення ризиків та його 95% довірчий інтервал. Оцінку ступеня впливу факторних ознак проводили за показником відношення шансів (OR) із довірчим інтервалом 95 %.

Результати досліджень та їх обговорення. Серед 200 обстежених дітей, хворих на БА, пацієнтів віком від 6 до 11 років було у 2,39 разів більше, ніж дітей, хворих на БА віком від 12 до 17 років. Встановлено, що кількість хлопчиків, хворих на БА, майже втричі переважала кількість дівчат. Середній вік обстежених хворих склав $(10,38 \pm 2,85)$ років.

Пацієнти були розділені на три репрезентативні групи відповідно до форми БА: алергічну, яка була розділена на IgE-залежну ($29,50 \pm 2,99$ %) та IgE-незалежну ($21,50 \pm 3,28$ %), та змішану ($38,50 \pm 3,44$ %). Рівнозначно часто вони зустрічались як у хлопчиків, так і у дівчаток. Встановлено, що в групі дітей 6-11 років змішаний варіант зустрічався у двічі частіше, ніж інші форми, а у групі пацієнтів 12-17 років також у двічі переважав атопічний варіант алергічної форми БА.

Встановлено, що важкий персистуючий перебіг БА зустрічався лише у хлопчиків, а контрольований перебіг – лише у пацієнтів 6 – 11 років. Персистуючий перебіг легкого та середнього ступеня важкості відмічався у 2,5 рази частіше, ніж інтермітуючий та персистуючий важкий перебіг БА. Відмічено, що при контрольованому перебігу загострення мали легку та середню ступінь важкості.

Найчастішими супутніми захворюваннями у обстежених дітей, хворих на БА, були ті, які мали алергічну етіологію (алергічний риніт, атопічний дерматит, інсектна та медикаментозна алергія), що відмічались утричі частіше в хлопчиків та удвічі частіше у дівчаток, аніж інші патології.

Враховуючи те, що 73 % пацієнтів були обстежені вперше у період загострення, тому були вивчені фактори, які викликали дане загострення. Встановлено, що у пацієнтів із атопічним варіантом БА у загостренні брали участь групи різних алергенів в тричі частіше, ніж інші фактори, а при неатопічному – інфекційні агенти вдвічі частіше. Важкі загострення вдвічі частіше зустрічались у пацієнтів із БА змішаної етіології, а легкі - у хворих із неатопічним варіантом БА. Неконтрольовані форми захворювання відмічались в 1,5 – 2 рази частіше при неатопічній формі БА, ніж при інших її варіантах.

Встановлено, що у дітей, хворих на БА, недостатність 25(OH)D₃ залежала від форми захворювання. При неатопічній формі її виразність на 8,75 % більша у порівнянні із атопічною, що пов'язано із здатністю інгібувати антиген-специфічну активацію Т-клітин, сприяти індукції регуляторних Т-клітин та експресією інтерлейкінів 1, 8 та 10. Відмічено, що існує зворотній взаємозв'язок між маркерами запальної відповіді, а саме вмістом інтерлейкінів 1,6 та вмістом 25(OH)D₃ в сироватці крові (відповідно, $r_{xy} = -0,560$ ($p = 0,041$), $r_{xy} = -0,351$ ($p = 0,044$)).

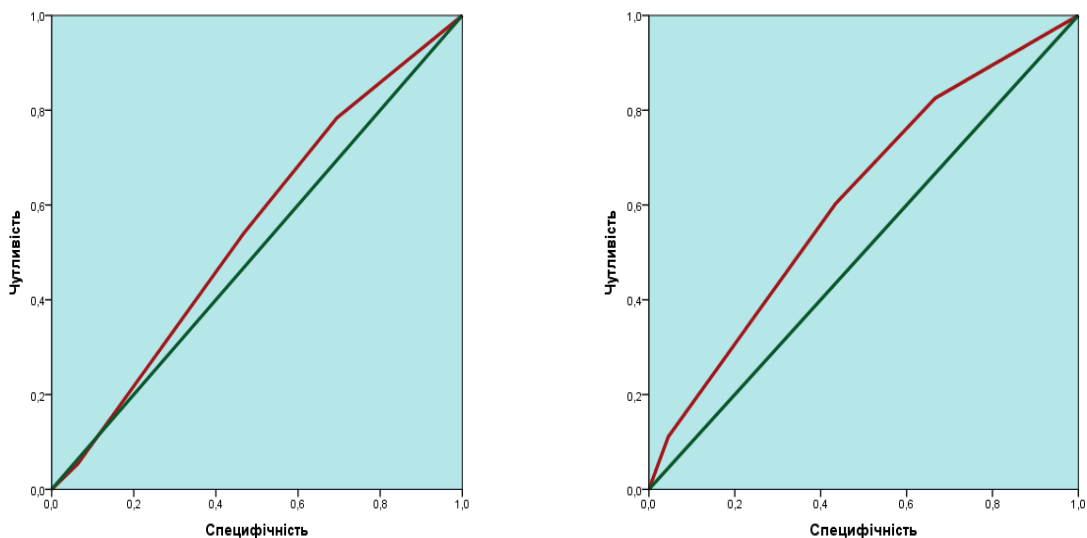


Рисунок – 1. Визначення чутливості та специфічності вмісту 25-гідроксіхолекальциферола в сироватці крові при атопічній та неатопічній бронхіальній астмі у дітей (ROC – крива).

Визначення вмісту 25(OH)D₃ при атопічній БА: чутливість методу **складає** 78,4 %, а специфічність – 69,5 %. Площина під кривою – 0,544 (95 % CI: 0,447 –

0,641) ($p=0,051$). Визначення вмісту $25(\text{OH})\text{D}_3$ при неатопічній БА: чутливість методу **складає** 82,5 %, а специфічність – 66,7 %. Площина під кривою – 0,611; 95 % CI: 0,532 – 0,691 ($p=0,009$) (рис. 1).

Встановлено, що дефіцит $25(\text{OH})\text{D}_3$ достовірно асоціюється із атопічною формою БА (OR=2,032; 95 % CI: 1,381 – 10,854), а неатопічний варіант захворювання супроводжується субоптимальним вмістом вітаміну D_3 (OR=1,740; 95 % CI: 1,637 – 4,806). Що стосується змішаної форми БА відмічений зв'язок із недостатністю $25(\text{OH})\text{D}_3$ (OR=1,348; 95 % CI: 1,072 – 2,482).

Дефіцит $25(\text{OH})\text{D}_3$ у пацієнтів із БА асоціювався із персистуючим важким (OR=1,167; 95 % CI 1,129 – 10,525) та середньоважким перебігом (OR=1,149; 95 % CI 1,056 – 8,457) захворювання. Субоптимальний рівень $25(\text{OH})\text{D}_3$ відзначався у дітей із персистуючим перебігом усіх ступенів важкості.

При недостатності та дефіциті $25(\text{OH})\text{D}_3$ контрольованість захворювання досягається лише у 12,32 % пацієнтів із атопічною БА та у 3,24 % у дітей, хворих на неатопічну форму БА, що у 3,80 разів вище. Оптимальний та субоптимальний вміст $25(\text{OH})\text{D}_3$ в сироватці крові дітей, хворих на БА, дозволяє значно покращити рівень контролю захворювання.

Чутливість методу визначення вмісту кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на БА, а саме при неатопічній її формі, становила 98,4 %, а специфічність склала 64,2 %. Що стосується діагностичного значення визначення вмісту кателіцидину в сироватці крові дітей, хворих саме на атопічну БА, то даний метод не може бути застосований з цією метою, адже його чутливість надзвичайно низька (0,5 %) у пацієнтів даної категорії (рис. 2).

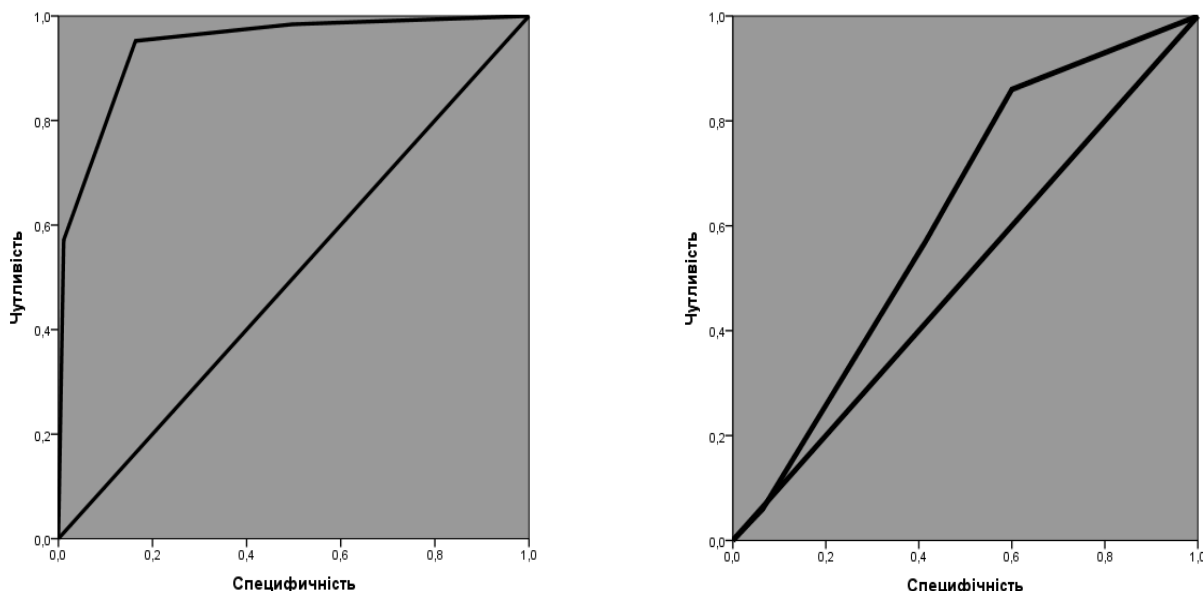


Рисунок 2. Визначення чутливості та специфічності вмісту кателіцидину LL-37 в сироватці крові при неатопічній бронхіальній астмі та 25-гідроксіхолекальциферола при змішаній бронхіальній астмі у дітей (ROC – крива)

Достовірної різниці між різними видами контролюваності захворювання та вмістом прозапальних цитокінів інтерлейкіну 1 та 6 встановлено не було, в усіх випадках їх значення відрізнялись від групи здорових дітей. Це підкреслює необхідність постійного та тривалого контролю захворювання, враховуючи те, що навіть при контрольованому перебігу зберігається активність прозапальних цитокінів, а отже підтримується хронічний запальний процес.

При розвитку БА у дітей, а особливо неатопічної чи змішаної її форми відбувається підвищення вмісту протимікробного поліпептиду кателіцидину LL-37 та зниження 25(OH)D₃ у порівнянні із здоровими дітьми, а також пацієнтами із атопічною формою захворювання (табл. 1). відмічено негативний слабкої сили зв'язок між вмістом 25(OH)D₃ та рівнем протимікробного пептиду кателіцидину LL-37 в сироватці крові ($r_{xy} = -0,243$ ($p = 0,028$)).

Таблиця 1

Вміст протимікробного пептиду кателіцидину LL-37 та 25-гідроксіхолекальциферола в сироватці крові дітей, хворих на бронхіальну астму залежно від форми захворювання (M ± m)

Форма бронхіальної астми		Вміст кателіцидину LL-37, нг/мл	Вміст 25-гідроксіхолекальциферола, нг/мл
Алергічна	Атопічна, n = 60	6,64 ± 0,47**	21,12 ± 0,51**
	Неатопічна, n = 63	55,73 ± 0,54*	19,42 ± 0,37*
Змішана, n = 77		29,71 ± 0,33*	20,15 ± 0,29*
Здорові діти		7,74±0,27	34,22 ± 0,29

Примітка:

1 – * - $p \leq 0,001$ - статистично значима різниця відносно показників здорових дітей;

2 – ** - $p \leq 0,05$ - статистично значима різниця вірогідна відносно показників пацієнтів із неатопічною бронхіальною астмою

Встановлено, що вже при інтермітуючому перебігу БА існує ризик підвищення вмісту протимікробного пептиду (OR=1,667; 95 % CI 1,085 – 3,409). Відмічено, що чим вищі значення кателіцидину LL-37 в сироватці крові, тим важчий перебіг захворювання: персистуючий середньо важкий перебіг – OR=1,143; 95 % CI 1,079 – 16,625 та персистуючий важкий перебіг – OR=2,308; 95 % CI 1,362 – 14, 717.

У дітей із атопічною формою БА вміст кателіцидину LL-37 знаходився на рівні II квартилю (17,56 – 33,70 нг/мл) достовірно частіше (OR=4,333; 95 % CI: 1,755 – 24,872). Найвищі значення кателіцидину LL-37 асоціювались із неатопічною та змішаною формами БА відповідно.

Зростання вмісту протимікробного пептиду достовірно асоціюється із важкістю перебігу: при персистуючій важкій БА вміст кателіцидину LL-37 вищий на 39,58 % та 10,87 %, ніж при інтермітуючому та легкому персистуючому перебігу відповідно.

Проведене дослідження встановило, що вміст кателіцидину LL-37, у дітей, хворих на БА зростає при неатопічному її варіанті (в 1,87 рази вищий, ніж при атопічній формі) і залежить від важкості та контролю захворювання: при персистуючій важкій БА вміст кателіцидину LL-37 вищий на 39,58 % та 10,87 %, ніж при інтермітуючому та легкому персистуючому перебігу відповідно, а при неконтрольованій БА його вміст був вищий у 3,76 рази, ніж при контрольованому перебігу захворювання.

Рівень кателіцидину LL-37 залежав від можливості досягнення адекватного контролю: при неконтрольованій БА його вміст був вищий у 3,76 рази, ніж при контрольованому перебігу захворювання (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст 25-гідроксіхолекальциферола та кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на бронхіальну астму залежно від рівня контролю захворювання (M ± m)

Рівень контролю бронхіальної астми	Вміст 25-гідроксіхолекальциферола, нг/мл	Вміст кателіцидину LL-37, нг/мл
Контрольована, n = 6	23,98±3,86	9,46 ± 3,11
Частково-контрольована, n = 50	20,22±1,04*	33,15 ± 3,01*
Неконтрольована, n = 73	18,73±1,08**	35,66 ± 2,66*
Вперше встановлена, n = 71	20,60±3,01*	33,98 ± 2,85*
Здорові діти	34,22±0,29	7,74 ± 0,27

Примітка:

1 – * - $p \leq 0,01$ - статистично значима різниця відносно показників здорових дітей;

2 – ** - $p \leq 0,05$ - статистично значима різниця відносно показників пацієнтів із контрольованою бронхіальною астмою

При дослідженні вмісту інтерлейкінів 1 та 6 як основних маркерів ранньої та пізньої фази запалення, встановлено, що їх вміст на пряму корелює із значеннями кателіцидину LL-37 (при зростанні вмісту інтерлейкіну 1 та 6, зростає вміст протимікробного пептиду), а при неалергічній формі захворювання має місце обернений взаємозв'язок із значеннями прозапальних цитокінів (для інтерлейкіну 1: $r_{xy} = -0,013$ ($p = 0,921$) та для інтерлейкіну 6: $r_{xy} = -0,120$ ($p = 0,053$)).

Встановлено, що вміст кателіцидину LL-37 у пацієнтів із недостатністю 25(OH)D₃ вищий на 69,15 %, ніж у пацієнтів із оптимальним його рівнем, що пов'язано із тим, що 25(OH)D₃ сприяє індукції регуляторних Т-клітин, які потенційно інгібують продукцію прозапальних інтерлейкінів (табл.3).

Таблиця 3

Рівень 25-гідроксіхолекальциферола в сироватці крові дітей, хворих на бронхіальну астму залежно від рівня протимікробного пептиду кателіцидину LL-37(M ± m)

Рівень 25-гідроксіхолекальциферола	Рівень кателіцидину LL-37, нг/мл
Оптимальний (30 – 50 нг/мл), n=33	21,43 ± 4,61*
Субоптимальний (20 – 30 нг/мл), n=52	33,82 ± 4,79*
Недостатність (10 – 20 нг/мл), n=100	36,20 ± 4,55**
Дефіцит (менше 10 нг/мл), n=15	37,08 ± 4,75**
Здорові діти	7,74 ± 0,27

Примітка:

1 – * - $p \leq 0,001$ - статистично значима різниця відносно показників здорових дітей;

2 – ** - $p \leq 0,05$ - статистично значима різниця відносно показників пацієнтів із оптимальним вмістом 25-гідроксіхолекальциферола

Встановлено, що неконтрольовані форми захворювання відмічались на 42,37 та 39,22 % частіше при неатопічній та змішаній формі БА відповідно, ніж при атопічному її варіанті. Контроль при застосуванні стандартної базисної протизапальної терапії БА досягався краще на 31,04 % при атопічній формі захворювання, ніж при неатопічному її варіанті.

Ризик розвитку обструкції дихальних шляхів напряму залежав від вмісту кателіцидину LL-37 в сироватці крові: чим вищі значення протимікробного пептиду в сироватці крові дітей, хворих на БА, тим важча обструкція. Так, при II та III ступенях обструкції ризик підвищення вмісту кателіцидину LL-37 становив OR= 1.219; 95 % CI: 1.073-1.884 та OR=2.198; 95 % CI: 1.603-4.825 відповідно (табл. 4).

Таблиця 4

Вміст 25-гідроксіхолекальциферола та протимікробного пептиду кателіцидину LL-37 в сироватці крові у дітей, хворих на бронхіальну астму залежно від ступеня обструкції (M ± m)

Показник ОФВ₁	Вміст 25-гідроксіхолекальциферола, нг/мл	Вміст протимікробного пептиду кателіцидину LL-37, нг/мл
Більше 80%	20,74 ± 10,28	22,16 ± 4,76*
65 – 80 %	20,66 ± 4,98	33,63 ± 4,75
50 – 65 %	19,87 ± 8,55	34,24 ± 4,66
Менше 50 %	19,86 ± 8,25	38,80 ± 4,89

Примітка:

1 – * - $p \leq 0,05$ - статистично значима різниця відносно показників пацієнтів із показниками ОФВ₁ менше 80%

Встановлено, що у пацієнтів із дефіцитом та недостатністю 25(OH)D₃ в сироватці крові значення МВЛ були достовірно нижчими, ніж у дітей із оптимальним вмістом наведеної речовини, що свідчить про його вплив на розвиток змішаної вентиляційної недостатності (табл. 5).

Вміст 25-гідроксіхолекальциферола в сироватці крові у дітей, хворих на бронхіальну астму залежно від максимальної вентиляції легень($M \pm m$)

Вміст 25-гідроксіхолекальциферола в сироватці крові	Показник МВЛ, л
Оптимальний (30 – 50 нг/мл), n=33	65,92 ± 0,29*
Субоптимальний(20 – 30 нг/мл), n=52	54,25 ± 0,14**
Недостатність (10 – 20 нг/мл), n=100	44,06 ± 0,19**
Дефіцит (менше 10 нг/мл), n=15	33,07 ± 0,52**
Здорові діти	85,80 ± 0,53

Примітки:

1 – * - $p \leq 0,001$ - статистично значима різниця відносно показників здорових дітей;
2 – ** - $p \leq 0,05$ - статистично значима різниця відносно оптимального вмісту 25-гідроксіхолекальциферола в сироватці крові дітей, хворих на бронхіальну астму.

Що стосується вмісту кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на БА, та показником МВЛ, встановлено, що при його рівні понад 51,9 нг/мл значення МВЛ достовірно нижчі, ніж при нормальних значеннях наведеного протимікробного пептиду (табл. 6).

Таблиця 6

Вміст кателіцидину LL-37 в сироватці крові у дітей, хворих на бронхіальну астму залежно від максимальної вентиляції легень($M \pm m$)

Вміст кателіцидину LL-37 в сироватці крові	Показник МВЛ, л
I кuartиль (менше 17,55 нг/мл)	52,34 ± 0,49*
II кuartиль (17,56 – 33,70 нг/мл)	52,3 ± 0,46*
III кuartиль (33,71 – 51,87 нг/мл)	52,20 ± 0,44*
IV кuartиль (більше 51,9 нг/мл)	48,52 ± 0,45**
Здорові діти	85,80 ± 0,53

Примітки:

1 – * - $p \leq 0,001$ - статистично значима різниця відносно показників здорових дітей;
2 – ** - $p \leq 0,001$ - статистично значима різниця відносно вмісту кателіцидину LL-37 менше 17,55 нг/мл в сироватці крові дітей, хворих на бронхіальну астму.

Показано, що стан гуморального та клітинного імунітету у пацієнтів із БА різнився в залежності від форми захворювання, а саме вміст сироваткового IgA був на 24,68 % вищим при неатопічній БА в порівнянні із атопічною її формою. Фагоцитарний індекс у дітей із неатопічною БА у 2,92 рази вищий, ніж при атопічній БА, що свідчить про наявність інфекційного чинника.

Відмічено зміни у клітинному та гуморальному ланках імунітету залежно від вмісту 25(OH)D₃ та кателіцидину LL-37. Так, значення IgA були в 1,75 рази вищими у пацієнтів із оптимальним вмістом 25(OH)D₃ в сироватці крові, на відміну від показників у дітей із недостатністю та дефіцитом даного вітаміну (табл.5).

Таблиця 5

Значення показників гуморальної ланки імунітету залежно від рівня 25-гідроксіхолекальциферола та протимікробного пептиду каталіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на бронхіальну астму (M ± m)

Вміст речовини	Показники гуморальної ланки імунітету		
	IgA	IgM	IgG
Вміст 25-гідроксіхолекальциферола, нг/мл			
Оптимальний (30 – 50 нг/мл), n=33	2,84 ± 0,29	0,46 ± 0,02	4,48 ± 0,39
Субоптимальний (20 – 30 нг/мл), n=52	2,57 ± 0,22	0,43 ± 0,02	4,34 ± 0,33
Недостатність (10 – 20 нг/мл), n=100	2,58 ± 0,15*	0,45 ± 0,01*	4,79 ± 0,19*
Дефіцит (менше 10 нг/мл), n=15	2,26 ± 0,13	0,45 ± 0,03	5,52 ± 0,46
Вміст протимікробного пептиду кателіцидину LL-37			
I квартиль (менше 17,55 нг/мл)	2,52 ± 0,09*	0,53 ± 0,02*	6,19 ± 0,22*
II квартиль (17,56 – 33,70 нг/мл)	2,59 ± 0,49*	0,35 ± 0,02*	3,46 ± 0,25*
III квартиль (33,71 – 51,87 нг/мл)	2,53 ± 0,13*	0,45 ± 0,02*	4,15 ± 0,29*
IV квартиль (більше 51,9 нг/мл)	2,97±0,09**	0,49±0,01**	5,34 ± 0,24**
Здорові діти	1,98 ± 0,09	1,15±0,09	12,15 ± 0,27

Примітка:

1 – * - $p \leq 0,05$ - статистично значима різниця відносно показників здорових дітей; $p \leq 0,05$ – статистично значима різниця відносно показників I квартилю.

Встановлено, що у дітей, хворих на БА із вмістом кателіцидину LL-37 в сироватці крові понад 51,9 нг/мл фагоцитарний індекс на 44,74 % більший, у порівнянні із пацієнтами в сироватці крові яких вміст кателіцидину LL-37 був менше 17,55 нг/мл.

Вміст кателіцидину LL-37 понад 33,71 нг/мл перешкоджає досягненню адекватного контролю БА у порівнянні із пацієнтами, які мали вміст кателіцидину LL-37 в сироватці крові менше 17,55 нг/мл. Контроль БА досягався на 29,77 % краще у дітей, хворих на БА, із низькими рівнями кателіцидину LL-37 на відміну від пацієнтів, які мали високі значення наведеного протимікробного пептиду.

Проаналізувавши кількість дітей в залежності від виду терапії та форми захворювання встановлено, що пацієнти із атопічною БА достовірно частіше отримували у якості базисної протизапальної терапії антилейкотрієнові засоби та інгаляційні глюкокортикоїди. Що стосується дітей із неатопічною формою БА – достовірно частіше використовувались засоби комбінованої терапії.

У пацієнтів із БА застосування ІГК у якості базисної протизапальної терапії достовірно частіше асоціювалось із наявністю атопічної форми БА (OR=3.126; 95 % CI: 1.596 – 5.656), а використання комбінованої терапії - із неатопічною формою БА (OR=2.301; 95 % CI: 1.458 – 3.117).

Визначивши вміст 25(OH)D₃ та кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на БА, до початку лікування та після 3 місячного періоду встановлено достовірне зниження вмісту 25(OH)D₃ у пацієнтів, які отримували ІГК та

ІГК+БАТД. Що стосується вмісту кателіцидину LL-37 після проведеного лікування БА, відмічено зниження його показників при всіх видах протизапальної терапії. Проаналізувавши показники рівня 25(OH)D₃ в сироватці крові до та після проведеного лікування захворювання протягом 3 місяців, встановлено, що шанси на підвищення рівня 25(OH)D₃ у пацієнтів із atopічною БА вищі при застосуванні ІГК (OR=2.312; 95 % CI: 1.110 – 2.887) та комбінованій терапії ІГК із БАТД (OR=3.991; 95 % CI: 2.631 – 7.916).

У дітей із неатопічною формою захворювання підвищення вмісту 25(OH)D₃ асоціювалось із застосуванням комбінованої терапії (OR=3,153; 95 % CI: 2.966 – 5.038). При atopічній БА зниження вмісту кателіцидину LL-37 асоціювалось із застосуванням комбінованої терапії у більшій мірі (OR=2.591; 95 % CI: 2.631 – 7.916), але при інших видах базисної терапії також відзначалось достовірне зниження протимікробного пептиду (OR=1.985; 95 % CI: 1.050 – 2.371 та OR=2.114; 95 % CI: 1.199 – 2.824).

ВИСНОВКИ

1. З сучасних позицій бронхіальна астма розглядається як гетерогенне захворювання з різними клініко-патогенетичними особливостями, які обумовлюють відповідь та віддалені результати лікування. На розвиток та функціонування дихальної і імунної системи при бронхіальній астмі має вплив вміст в сироватці крові 25-гідроксіхолекальциферолу та молекул антимікробного пептиду кателіцидину LL-37. З огляду на новітні наукові погляди щодо патогенетичних механізмів розвитку захворювання, в дисертації наведено теоретичне узагальнення і запропоновано нове вирішення актуального наукового завдання – підвищення ефективності лікування дітей з бронхіальною астмою на підставі нових наукових даних про патогенетичну роль кателіцидину та 25-гідроксіхолекальциферолу.
2. Середній вік обстежених дітей, хворих на бронхіальну астму, становив $10,38 \pm 2,85$ років, серед них atopічна форма була у $(21,0 \pm 6,28)$ % , неатопічна – у $(31,50 \pm 5,85)$ % та змішана - у $(47,50 \pm 5,12)$ % пацієнтів. Встановлено, що в групі дітей 6-11 років змішаний варіант зустрічався вдвічі частіше, ніж інші форми, а у групі пацієнтів 12-17 років переважав atopічний варіант алергічної форми бронхіальної астми. Найчастішими супутніми захворюваннями у обстежених дітей, хворих на бронхіальну астму, були алергічний риніт (83,00 %), atopічний дерматит (14,5 %), інсектна та медикаментозна алергія (12,6 % та 6,0 % відповідно).
3. При розвитку бронхіальної астми у дітей відбувається підвищення вмісту протимікробного поліпептиду кателіцидину LL-37 у порівнянні із здоровими дітьми, що достовірно асоціюється із важкістю перебігу бронхіальної астми (при персистуючій важкій формі рівень кателіцидину LL-37 вищий на 39,58 % та 10,87 % , ніж при інтермітуючому та легкому персистуючому перебігу, відповідно). Крім того, відбувається зростання LL-37 в 1,87 рази при

неалергічному та неконтрольованому варіанті на відміну від алергічної форми.

4. У дітей, хворих на бронхіальну астму, має місце недостатність 25-гідроксіхолекальциферолу), в більшій мірі при неатопічній формі (на 8,75 % більша у порівнянні із atopічною), зареєстрований зворотній взаємозв'язок між маркерами запальної відповіді, а саме вмістом інтерлейкінів 1,6 та рівнем 25-гідроксіхолекальциферолу в сироватці крові (відповідно, $r_{xy} = -0,560$ ($p = 0,041$), $r_{xy} = -0,351$ ($p = 0,044$)).
5. При недостатності та дефіциті 25-гідроксіхолекальциферолу об'єм форсованого видиху за 1 секунду знижувався в 1,25 раз у порівнянні із дітьми з оптимальним його вмістом в сироватці крові. Рівень кателіцидину LL-37 у дітей, хворих на бронхіальну астму, при обструкції II-III ступеня важкості був у 1,55 разів вищим, ніж у пацієнтів із легкою обструктивною вентиляційною недостатністю. У дітей, хворих на бронхіальну астму, із вмістом кателіцидину LL-37 в сироватці крові понад 51,9 нг/мл фагоцитарний індекс на 44,74 % більший, у порівнянні із пацієнтами при вмісті кателіцидину LL-37 на рівні квартилю.
6. Наявність atopічної форми бронхіальної астми достовірно частіше асоціюється із застосуванням інгаляційних глюкокортикоїдів (OR=3.126; 95 % CI: 1.596 – 5.656), а неатопічна форма бронхіальної астми - із використання комбінованої терапії інгаляційних глюкокортикоїдів із бета-агоністами тривалої дії. (OR=2.301; 95 % CI: 1.458 – 3.117).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. В практичній діяльності лікаря-педіатра та дитячого алерголога слід враховувати, що дефіцит 25-гідроксіхолекальциферолу в сироватці крові дітей, хворих на БА, є одним з маркерів atopічної форми та низького рівня контролю захворювання.
2. Встановлення форми БА дозволяє визначитись із подальшою тактикою базисного протизапального лікування та досягнути адекватного контролю (патент на корисну модель u 2016 12839 від 16.12.2016 «Спосіб діагностики бронхіальної астми у дітей шляхом визначення вмісту протимікробних пептидів»). Задля діагностики форми БА рекомендовано визначення вмісту в сироватці крові протимікробного пептиду кателіцидину LL-37:
 - при його рівні понад 33,71 нг/мл діагностують наявність неатопічного варіанту (OR = 6.000; 95 % CI: 1.463-77.750);
 - при значенні вище 17,55 нг/мл – змішаний варіант БА (OR =1.364; 95 % CI:1.032-2.771).
3. У дітей із встановленою неатопічною формою бронхіальної астми при неконтрольованому перебігу у якості базисної протизапальної терапії рекомендовано замінити підвищення дози інгаляційних глюкокортикоїдів на комбіноване використання інгаляційних глюкокортикоїдів із бета-агоністами тривалої дії.

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Дудник В.М., Хромих К.В., Федчишен О.П. Особливості клінічного перебігу різних форм бронхіальної астми у дітей *Буковинський медичний вісник*. 2016. Т. 20, № 4 (80). с. 74 – 78. *(Дисертантом здійснено аналіз літературних джерел, збір матеріалу та його статистичну обробку)*.
2. Дудник В.М., Заїчко Н.В., Федчишен О.П. Активність антимікробних пептидів та 25-гідроксихолекальциферолу у дітей, хворих на бронхіальну астму. *Перинатологія та педіатрія*. 2017. № 1 (69). С. 121–125. *(Дисертантом здійснено аналіз літературних джерел, збір матеріалу та його статистичну обробку, підготовку публікації до друку)*.
3. Федчишен О.П. Вміст 25-гідроксихолекальциферолу у дітей, хворих на різні форми бронхіальної астми. *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2017. Т.21, №1. С. 88–92. *(Дисертантом проведено аналіз джерел літератури, аналіз отриманих даних та їх статистичну обробку, підготовку публікації до друку)*.
4. Dudnyk V.M., Khromykh K.V., Fedchushen O.P. Changes in the lung function depending on the 25- hydroxycholecalciferol and cathelictidin II-37 serum level in children with asthma. *Fundamentalis scientiam*. 2017. № 4 (5). P. 97–100. *(Дисертантом проведено аналіз джерел літератури, здійснено набір матеріалу)*.
5. Dudnyk V.M., Khromykh K.V., Fedchushen O.P. Cellular and humoral immunity in children with asthma. *Journal of Education, Health and Sport*. 2015. 7 (2). P. 296-304. *(Дисертантом проведено аналіз джерел літератури, здійснено набір, підготовку публікації до друку)*.
6. Пат. № 12839, Україна, МПК G01N33/48 Спосіб діагностики бронхіальної астми у дітей шляхом визначення вмісту протимікробних пептидів/ В. М. Дудник, К. В. Хромих, О.П. Федчишен; заявник і патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова і автори. - № u201612839; заявл.16.12.2016. *(Дисертантом проведено аналіз джерел літератури, здійснено набір, аналіз, статистичну обробку матеріалу)*.
7. Дудник В. М., Хромих К.В., Федчишен О.П. Вміст 25-гідроксихолекальциферолу у дітей, хворих на неалергічну бронхіальну астму. *Медична наука та практика в умовах сучасних трансформаційних процесів: Міжнародна наук.-практ. конф., 21–22 квітня 2017р.: тези доп. – Львів, 2017. С. 65–68. (Дисертантом проведено аналіз джерел літератури, статистичну обробку матеріалу, підготовку публікації до друку)*.
8. Федчишен О.П. Значення вмісту 25-гідроксихолекальциферолу у дітей, хворих на бронхіальну астму. *Медична наука та практика на сучасному історичному етапі: Міжнародна наук.-практ. конф., 5–6 травня 2017р.: тези доп. – Київ, 2017. С. 89–92. (Дисертантом проведено аналіз джерел літератури, аналіз отриманих даних та їх статистичну обробку, підготовку публікації до друку)*.

9. Dudnyk V.M. Diagnostic value of the content of antimicrobial peptide c-terminal hcap18 cathelicidin ll-37 in children with asthma/ V.M. Dudnyk, K.V. Khromykh, Fedchushen O.P. // Інфекційні хвороби у парктиці лікаря – інтерніста: сучасні аспекти. – матеріали Всеукраїнської наук.-практ. конф. Присвяченої 20-річчю кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією СумДУ, 25 – 26 травня: тези доп., м. Суми, 2017. с. 105 – 108 (*Дисертантом проведено аналіз джерел літератури, здійснено набір, аналіз, статистичну обробку матеріалу*).
10. Дудник В.М., Хромих К.В., Федчишен О.П. Діагностичне значення вмісту протимікробних пептидів у дітей, хворих на неалергічну бронхіальну астму. International researche and practice conference “Innovative technology in medicine: experience of Poland and Ukraine”. 28 – 29 april, Lublin, Poland, 2017, p. 45 – 48 (*Дисертантом проведено аналіз джерел літератури, здійснено набір, підготовку публікації до друку*).

АНОТАЦІЯ

Федчишен О.П. Патогенетичне значення антимікробних пептидів та недостатності вітаміну Д для діагностики та лікування бронхіальної астми у дітей. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.01.10 «Педіатрія» (22 – Охорона здоров'я). – Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, Вінниця, 2017.

Дисертаційна робота присвячена вивченню підвищення ефективності лікування дітей з бронхіальною астмою на підставі нових наукових даних про патогенетичну роль антимікробних пептидів та вітаміну Д. За допомогою комплексного обстеження дітей хворих на бронхіальну астму встановлена роль антимікробного пептиду кателіцидину LL-37 та 25-гідроксіхолекальциферолу в розвитку захворювання та визначений зв'язок із тривалістю та важкістю бронхіальної астми. Отримано дані про вплив антимікробного пептиду та 25-гідроксіхолекальциферолу на розвиток, ступінь тяжкості та рівень контролю бронхіальної астми у дітей. На основі отриманих результатів встановлений характер змін наведених речовин в залежності від клінічної форми, періоду, ступеня важкості та рівня контролю бронхіальної астми у дітей та їх вплив на перебіг захворювання. Встановлений взаємозв'язок між рівнем антимікробного пептиду кателіцидину LL-37, 25-гідроксіхолекальциферолу та маркерами активності запального процесу при бронхіальній астмі у дітей. В результаті проведеного дослідження встановлено діагностичне значення окремих антимікробних пептидів, зокрема кателіцидину LL-37, у прогресуванні перебігу бронхіальної астми у дітей та їх вплив на інші ланки імунної системи та функцію зовнішнього дихання.

Вивчено можливість відповіді на лікування дітей, хворих на бронхіальну астму, із різними формами захворювання із урахуванням патогенетичної ролі антимікробного пептиду кателіцидину LL-37 та 25-гідроксіхолекальциферолу. Запропоновано спосіб діагностики бронхіальної астми у дітей шляхом визначення

вмісту протимікробних пептидів, що дозволяє визначитись із подальшою тактикою базисного протизапального лікування та досягнути адекватного контролю

Ключові слова: бронхіальна астма, діти, кателицидин LL-37, 25-гідроксихолекальциферол, лікування

АННОТАЦІЯ

Федчишен А.П. Патогенетическое значение антимикробных пептидов и недостаточности витамина Д для диагностики и лечения бронхиальной астмы у детей. - Квалификационный научный труд на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук (доктора философии) по специальности 14.01.10 «Педиатрия» (22 – здравоохранение). - Винницкий национальный медицинский университет им. М.И. Пирогова, Винница, 2017.

Диссертационная работа посвящена изучению повышения эффективности лечения детей с бронхиальной астмой на основании новых научных данных о патогенетической роли антимикробных пептидов и витамина Д. С помощью комплексного обследования детей больных бронхиальной астмой установлена роль антимикробного пептида кателицидина LL-37 и 25-гидроксихолекальциферола в развитии заболевания и определенная связь с продолжительностью и тяжестью бронхиальной астмы. Получены данные о влиянии антимикробного пептида кателицидина LL-37 и 25-гидроксихолекальциферола на развитие, степень тяжести и уровень контроля бронхиальной астмы у детей. На основе полученных результатов установлен характер изменений указанных веществ в зависимости от клинической формы, периода, степени тяжести и уровня контроля бронхиальной астмы у детей и их влияние на течение заболевания. Установлена взаимосвязь между уровнем антимикробного пептида кателицидина LL-37, 25-гидроксихолекальциферола и маркерами активности воспалительного процесса при бронхиальной астме у детей. В результате проведенного исследования установлено диагностическое значение отдельных антимикробных пептидов, в частности кателицидина LL-37, в прогрессировании течения бронхиальной астмы у детей и их связь с отдельными показателями иммунной системы и функцию внешнего дыхания.

Изучена возможность ответа на лечение детей, больных бронхиальной астмой, с различными формами заболевания с учетом патогенетической роли антимикробного пептида кателицидина LL-37 и 25-гидроксихолекальциферола. Предложен способ диагностики бронхиальной астмы у детей путем определения содержания противомикробного пептида кателицидина LL-37, позволяет определиться с дальнейшей тактикой базисного противовоспалительного лечения и достичь адекватного контроля

Ключевые слова: бронхиальная астма, дети, кателицидин LL-37, 25-гидроксихолекальциферол, лечение

SUMMARY

Fedchishen A.P. Pathogenic importance of antimicrobial peptides and vitamin D deficiency for diagnosis and treatment of asthma in children. – Qualification scientific work on the rights of manuscripts.

Dissertation for a Candidate Degree of Medicine (Philosophy Doctor), specialty 14.01.10 "Pediatrics" (22 – Public Health) – Vinnitsa National Pirogov Memorial Medical University, Vinnitsa, 2017.

The aim of the study was to improve the treatment of children with asthma based on new scientific data on the pathogenic role of antimicrobial peptides and vitamin D.

To achieve the goal and to solve the problems, we have comprehensively examined 200 children, patients with asthma aged 6 to 17 years old, who were inpatient treatment at the pulmonology department of Vinnitsa Regional Children's hospital during 2015-2017 and 40 practically healthy children.

The research has established the role of antimicrobial peptide cathelicidin LL-37 and 25-hydroxycholecalciferol in the development of the disease and a definite link with the duration and severity of asthma. Established that in our children with asthma, there is insufficiency 25 (OH) D₃, depending on the form of asthma, namely, observed in the non-atopic form, and its expression is 8.75% higher in comparison with the atopic one. Patients diagnosed with asthma for the first time and who have not yet received baseline therapy show a lack of vitamin D₃ at the level with those who fail to achieve the required control (partially controlled and uncontrolled course). Controlled version of the asthma is the only one that does not indicate a significant difference with a group of healthy children, which emphasizes the need for adequate control in all patients with asthma.

Data on the influence of antimicrobial peptide cathelicidin LL-37 and 25-hydroxycholecalciferol on development, degree of severity and level of control of asthma in children obtained. On the basis of the obtained results, the nature of the changes of these substances, depending on the clinical form, period, degree of severity and the level of control of asthma in children, and their effect on the course of the disease, have been established.

The relationship between the level of antimicrobial peptide cathelicidin LL-37, 25-hydroxycholecalciferol and markers of the activity of the inflammatory process in children with asthma is established. There is a reciprocal relationship between the markers of the inflammatory response, namely, the content of interleukins 1, 6 and the content of 25-hydroxycholecalciferol in serum (respectively, $r_{xy}=-0.560$ ($p=0.041$), $r_{xy}=-0.351$ ($p=0.044$)). It has been established that the content of interleukins 1 and 6 correlates directly with the values of cathelicidin LL-37 (with the increase in their content, the content of the antimicrobial peptide increases), and in the non-allergic form of the disease there is an inverse relationship with the values of proinflammatory cytokines (for interleukin 1: $r_{xy}=0.013$ ($p=0.921$) and for interleukin 6: $r_{xy}=-0.120$ ($p=0.053$)).

As a result of this study, the diagnostic value of certain antimicrobial peptides, in particular cathelicidin LL-37, in the progression of asthma in children and their effect on the state of the immune system and the function of external respiration, was established. Thus, the risk of respiratory airway obstruction depended directly on the content of cathelicidin LL-37 in serum. At II and III degrees of obstruction, the risk of increasing

the content of cathelicidin LL-37 was OR = 1.219; 95% CI: 1.073-1.884 and OR = 2.198; 95% CI: 1.603-4.825, respectively.

The possibility of responding to the treatment of children with asthma, with various forms of the disease taking into account the pathogenic role of antimicrobial peptide cathelicidin LL-37 and 25-hydroxycholecalciferol is studied. Thus, in patients with asthma, the use of IGC as a baseline anti-inflammatory therapy was significantly associated with the presence of atopic asthma (OR = 3.126; 95% CI: 1.596-5.665), and the use of combination therapy with non-atopic form of asthma (OR = 2.301; 95 % CI: 1.458 - 3.117). The use of inhale glucocorticoids and combined therapy of inhale glucocorticoids and LABA in patients with atopic asthma was associated with an increase in the 25-hydroxycholecalciferol (OR = 2.312; 95% CI: 1.110 - 2.887 and OR = 3.991; 95% CI: 2.631 - 7.916, respectively) and a decrease in the serum cathelicidin LL-37 (OR = 2.114; 95% CI: 1.199 - 2.824 and OR = 2.591; 95% CI: 2.631 - 7.916).

A method of diagnosis of asthma in children suggested by determining the content of antimicrobial peptide cathelicidin LL-37, which allows to be determined with the subsequent tactics of basic anti-inflammatory treatment and to achieve adequate control.

Key words: asthma, children, cathelicidin LL-37, 25-hydroxycholecalciferol, treatment.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

25(OH)D ₃	– 25-гідроксиколекальциферол
БА	– бронхіальна астма
ІГК	– інгаляційні глюкокортикоїди
МВЛ	– максимальна вентиляція легень
ОФВ ₁	– об'єм форсованого видиху за одну хвилину
ПОШВ	– пікова об'ємна швидкість видиху
СРП	– С – реактивний протеїн
ФЖЄЛ	– форсована життєва ємність легень
CD3	– Т-лімфоцити
CD4	– Т-хелпери
CD8	– Т-супресори
CD22	– В-лімфоцити
CD16	– НК-клітини
IgA	– імуноглобулін А
IgE	– імуноглобулін Е
IgG	– імуноглобулін G
IgM	– імуноглобулін М
OR	– відношення шансів

Підписано до друку 01.11.2017 р. Замовл. №172.
Формат 60x90 1/16 Ум. друк. арк. 0,8 Друк офсетний.
Наклад 100 примірників.

Вінниця. Друкарня ВНМУ імені М.І. Пирогова, вул. Пирогова, 56.