

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

Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису

**ДЕМ'ЯНИШИНА ВАЛЕРІЯ ВАЛЕРІЇВНА**

УДК: 616.24/.34-053:577.112.3+577.161.2

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**КЛІНІКО-ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ КАТЕЛЦИДИНУ ТА  
25-ГІДРОКСИХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛУ ДЛЯ ОЦІНКИ ТЯЖКОСТІ ТА  
ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ МУКОВІСЦИДОЗУ У ДІТЕЙ**

228 «Педіатрія»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

  
\_\_\_\_\_ В.В. Демянишина

Науковий керівник: Дудник Вероніка Михайлівна, доктор медичних наук,  
професор

Вінниця 2020

## АНОТАЦІЯ

*Демянишина В. В.* Клініко-патогенетичне значення кателіцидину та 25-гідроксихолекальциферолу для оцінки тяжкості та прогнозування перебігу муковісцидозу у дітей. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 228 «Педіатрія». – Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2020.

Метою роботи була оцінка тяжкості та прогнозування перебігу муковісцидозу у дітей на основі нових наукових даних щодо патогенетичного значення вмісту антимікробного пептиду кателіцидину та 25-гідроксихолекальциферолу в сироватці крові.

Муковісцидоз (МВ) – поширене аутосомно-рецесивне захворювання, що зберігає свою високу медико-соціальну значущість та пов'язано з раннім формуванням ускладнень, ранньою інвалідизацією, проблемами своєчасної діагностики, необхідністю постійного спостереження, складнощами лікування.

Моніторинг респіраторної функції протягом усього життя пацієнта дозволяє визначити тяжкість хвороби та своєчасно розпочати терапію для подолання ускладнень. Продовжується дискусія щодо вибору критеріїв тяжкості, які б допомагали завчасно виявляти фактори ризику та спрогнозувати перебіг МВ. Враховуючи можливу участь метаболітів вітаміну Д в патогенезі ураження легень при МВ, та їх здатність впливати на експресію антимікробного пептиду кателіцидину, вивчення цих речовин у якості предикторів тяжкості ураження легень при МВ - актуальне завдання сьогодення.

У дослідженні було обстежено 84 дитини, хворих на МВ, які увійшли до основної групи та 40 практично здорових дітей з групи контролю. Усім було проведено загальноклінічні, інструментальні обстеження та визначення показників 25-гідроксихолекальциферолу (25(ОН)Д) та кателіцидину LL-37 людини в сироватці крові.

Отримані результати визначення 25(ОН)Д оцінено відповідно до

референтних значень, що відповідали наступним критеріям: 30 нг/мл та більше – оптимальний рівень, 20 – 30 нг/мл – субоптимальний рівень та нижче 20 нг/мл – дефіцит. Результати визначення кателіцидину LL-37 були розділені на наступні квартилі: I квартиль (менше 18,90 нг/мл), II квартиль (18,91 – 25,60 нг/мл), III квартиль (25,61 – 31,50 нг/мл) та IV квартиль (більше 31,51 нг/мл).

За даними анамнезу встановлено, що найчастішими первинними скаргами обстежених пацієнтів були скарги на кашель (65,48 %), затяжні, рецидивуючі бронхообструктивні епізоди (72,62 %), поліфекалія (70,24 %), стеаторея (61,90 %) та затримка фізичного розвитку (79,76 %). У 21,43 % дітей діагноз не був встановлений вчасно. На момент обстеження достовірно частіше ( $p < 0,01$ ) зустрічались скарги на малопродуктивний вологий кашель (92,96 %), задишку при фізичних навантаженнях (40,54 %) та затримку фізичного розвитку (61,9 %). Оцінка тяжкості МВ показала, що достовірно частіше ( $p < 0,01$ ) зустрічались діти із середньотяжким та тяжким перебігом, діти віком 6-11 років достовірно частіше мали тяжкі прояви МВ ( $p < 0,05$ ), легкий перебіг частіше зустрічався в групі 12-17 років ( $p < 0,05$ ). Алель F508del зустрічалась у 84,61 % обстежених дітей, з них 45,23 % мали дану алель у гомозиготному стані.

При оцінці бактеріологічного обстеження мокротиння встановлено, що у дітей із тяжким перебігом МВ у мокротинні частіше виявлялись *P. aeruginosa* ( $p < 0,05$ ) та *St. aureus* ( $p < 0,01$ ).

За даними спірометрії діти з тяжким перебігом МВ демонстрували в середньому нижчі значення показників спірометрії, ніж хворі із середньотяжким та легким МВ. При тяжкому перебігу МВ ФЖЄЛ та ОФВ1 були на 15,65 % та 19,16 % нижчими порівняно із показниками дітей легкого перебігу.

Аналіз лабораторних даних показав, що зниження рівня 25(ОН)Д нижче 30 нг/мл спостерігалось у 58,4 % пацієнтів. Найбільший дефіцит 25(ОН)Д мали діти  $7,40 \pm 1,40$  років, а найкраще забезпечені діти віком  $10,34 \pm 0,73$  років. У хворих із тяжким перебігом МВ визначались достовірно нижчі показники 25(ОН)Д ( $p < 0,001$ ) та відмічався позитивний середньої сили зв'язок із перебігом ( $r_{xy} = 0,67$ ;  $p = 0,001$ ).

Найвищі значення кателіцидину LL-37 спостерігались у дітей  $8,38 \pm 0,82$  років ( $p=0,003$ ) та  $8,15 \pm 0,82$  років ( $p=0,0018$ ), найнижчі – у  $11,87 \pm 0,75$  років. Рівень кателіцидину у дітей із тяжким МВ був достовірно вищий ( $p < 0,001$ ) та виявлено зворотній зв'язок середньої сили ( $r_{xy} = -0,60$ ;  $p=0,001$ ) із перебігом хвороби.

У дітей, які мали колонізацію дихальних шляхів *P. aeruginosa*, визначались достовірно нижчі значення 25(ОН)Д порівняно із дітьми, що не були інфіковані вказаною бактерією ( $p=0,007$ ). Рівень антимікробного пептиду кателіцидину був достовірно підвищений у дітей, які були інфіковані *P. aeruginosa* ( $p = 0,004$ ), порівняно із неінфікованими дітьми. Оцінка зв'язку із кількісними показниками окремих мікроорганізмів, висіяних з мокротиння, показала, що існує зворотній зв'язок середньої сили між кількістю КУО *P. aeruginosa* та 25(ОН)Д ( $r_{xy} = -0,35$ ;  $p = 0,049$ ).

У дослідженні встановлено, що діти із ОФВ1 вище 80 % показували вищі значення 25(ОН)Д та найнижчі значення кателіцидину. Із погіршенням показника ОФВ1 спостерігається пропорційне зниження середнього вмісту 25(ОН)Д в 1,21 раза, та підвищення рівня кателіцидину в 1,3 раза (у порівнянні із показниками дітей із ОФВ1 64 % та нижче). Між усіма показниками спірометрії та вмістом 25(ОН)Д встановлено позитивний прямий зв'язок, зокрема для ОФВ1  $r_{xy} = 0,39$  ( $p=0,0004$ ). Між усіма показниками спірометрії та рівнем кателіцидину виявлено обернений зв'язок середньої сили та для показника ОФВ1 встановлено слабкий обернений зв'язок  $r_{xy} = -0,29$  ( $p=0,009$ ).

Діти, які мали субоптимальний рівень 25(ОН)Д в 3,4 рази частіше ( $p = 0,028$ ) асоціювались із ризиком зниження показника ОФВ1 нижче 64 %. Ризик висіву *P. aeruginosa* з мокротиння у дітей із МВ, які мали рівень 25(ОН)Д 20-30 нг/мл підвищувався в 2,89 раза ( $p = 0,028$ ). Субоптимальний рівень 25(ОН)Д асоціювався підвищеним ризиком розвитку тяжких проявів МВ. Вимірювання 25(ОН)Д імуноферментним методом в сироватці крові у якості додаткового маркеру визначення тяжкості МВ показало, що чутливість методу становила 70 %, а специфічність – 88 %.

У дітей, у яких визначався рівень кателіцидину вище 31,51 нг/мл підвищувався ризик зниження ОФВ1 нижче 80 % в 4,4 раза ( $p = 0,041$ ). Вміст кателіцидину вище 31,51 нг/мл також асоціювався із позитивною культурою *St. aureus*, ризик висіву якої збільшувався в 3,2 раза ( $p = 0,041$ ), та *P. aeruginosa*, для якої ризик підвищувався в 3,3 раза ( $p = 0,044$ ). У хворих із вмістом кателіцидину вище 31,51 нг/мл значно зростає ризик тяжкого перебігу МВ ( $p < 0,001$ ). Вимірювання LL-37 імуноферментним методом в сироватці крові у якості додаткового маркера визначення тяжкості МВ показало, що чутливість методу становила 67 %, а специфічність – 82 %.

Між рівнями 25(ОН)Д та кателіцидину в сироватці крові було виявлено обернений зв'язок середньої сили  $r = - 0,48$  ( $p=0,001$ ).

В результаті проведеного комплексного клініко-лабораторного та інструментального обстеження та статистичного аналізу результатів дослідження, нами уточнені фактори ризику тяжкості перебігу МВ.

Вперше отримані дані щодо можливості оцінки тяжкості та прогнозування перебігу МВ у дітей на основі визначення рівня 25(ОН)Д та антимікробного пептиду кателіцидину LL-37, у якості додаткових маркерів.

Вперше показано, що зниження рівня 25(ОН)Д частіше спостерігалось серед дітей із тяжким перебігом МВ та було встановлено позитивний кореляційний зв'язок із тяжкістю. Водночас, при тяжкому перебігу отримано найвищі серед усіх обстежених дітей значення кателіцидину LL-37 та встановлено обернений кореляційний зв'язок.

Доповнено існуючі дані щодо взаємозалежності між рівнями 25(ОН)Д та кателіцидину із колонізацією дихальних шляхів *P. aeruginosa*. У дітей із колонізацією дихальних шляхів *P. aeruginosa* визначались зниження вмісту 25(ОН) та підвищений рівень антимікробного пептиду кателіцидину. Встановлено зворотній кореляційний зв'язок середньої сили між кількістю КУО *P. aeruginosa* та 25(ОН)Д.

Доповнено існуючі дані щодо взаємозалежності між рівнями 25(ОН)Д та кателіцидину із показником функції зовнішнього дихання ОФВ1. Із погіршенням

показника ОФВ1 спостерігалось пропорційне зниження середнього вмісту 25(ОН)Д та підвищення рівня кателіцидину. Між показником спірометрії ОФВ1 та вмістом 25(ОН)Д встановлено прямий кореляційний зв'язок середньої сили. Між показником спірометрії ОФВ1 та рівнем кателіцидину виявлено слабкий обернений зв'язок.

Вперше встановлено вірогідну асоціацію субоптимального рівня 25(ОН)Д із гіршими показниками ОФВ1 та підвищеним ризиком висіву *P. aeruginosa* з мокротиння.

Вперше отримано дані про те, що рівень кателіцидину вище 31,51 нг/мл підвищує ризик зниження ОФВ1, підвищує ризик висіву *St. aureus* та *P. aeruginosa*. У хворих із вмістом кателіцидину вище 31,51 нг/мл значно зростає ризик тяжкого перебігу МВ.

На основі отриманих даних нами була запропонована регресійна модель прогнозування тяжкого перебігу у дітей, хворих на МВ.

Ключові слова: муковісцидоз, діти, 25-гідроксиколекальциферол, кателіцидин, тяжкість перебігу.

## SUMMARY

*Demianyshyna V.V.* Clinical and pathogenetic significance of cathelicidin and 25-hydroxycholecalciferol for assessment of severity and prognosis of cystic fibrosis course in children. Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the specialty 228 Pediatrics - Vinnytsya National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, 2020.

The aim of the study was to assess the severity and prediction of cystic fibrosis in children based on new scientific data on the pathogenetic significance of the antimicrobial peptide cathelicidin and 25-hydroxycholecalciferol in the serum.

Cystic fibrosis (CF) is a common autosomal recessive disease characterized by clinical polymorphism. This disease retains its high medical and social significance, which is associated with low life expectancy, early complications, early disability,

timely diagnosis, the need for constant monitoring, treatment difficulties and high mortality. CF is characterized by a progressive course and frequent pulmonary exacerbations, respiratory failure ranks first among the causes of death.

Monitoring of respiratory function throughout the patient's life allows to determine the severity of the disease and start treatment in a timely manner to overcome complications. The discussion on the selection of severity criteria that would help to identify risk factors in advance and predict the course of CF continues. Given the possible involvement of vitamin D metabolites in the pathogenesis of pulmonary disease in CF, and their ability to modulate the expression of AMP cathelicidin, the investigation of these substances as predictors of the severity of pulmonary lesions in CF is an urgent task today.

To achieve this goal, we comprehensively examined 84 children with CF, who were included in the main group. The study was initiated after informed consent of the patient and his parents to participate in the study in accordance with the provisions of the UN Convention on the Rights of the Child in compliance with basic bioethical standards and the requirements of the Declaration of Helsinki. Patients underwent general clinical examinations and determination of 25-hydroxycholecalciferol (25 (OH) D) and human serum cathelicidin LL-37.

The results were compared with the results of the children in the control group, which included 40 healthy children. The groups were representative in terms of age and gender.

The obtained results of determination of 25 (OH) D were evaluated according to reference values that met the following criteria: 30 ng / ml and more - optimal level, 20 - 30 ng / ml - suboptimal level and below 20 ng / ml - deficiency. The results of the determination of cathelicidin LL-37 were divided into the following quartiles: I quartile (less than 18.90 ng / ml), II quartile (18.91 - 25.60 ng / ml), III quartile (25.61 - 31.50 ng) / ml) and IV quartiles (more than 31.51 ng / ml).

As a result of a comprehensive clinical-laboratory and instrumental examination, a statistical analysis of the results of the study, we have clarified the risk factors for the severity of CF.

It was found that the most common primary complaints of the examined patients were complaints of cough (65.48 %), prolonged, recurrent bronchoobstructive diseases (72.62 %), polyfaeces (70.24 %), steatorrhea (61.90 %) and delayed physical development (79.76 %). In 21.43 % of children the diagnosis was not established in time. At the time of the study, complaints of unproductive wet cough (92.9 %), shortness of breath during exercise (40.5 %) and delayed weight gain (61.9 %) were significantly more common ( $p < 0.01$ ). It was showed that children with moderate and severe course were significantly more often ( $p < 0.01$ ), children aged 6-11 years were significantly more likely to have severe manifestations of CF ( $p < 0.05$ ), mild course was more common in the group of 12-17 years ( $p < 0.05$ ). The F508del allele was found in 84.6% of the examined children, of which 45.2% had this allele in a homozygous state. A decrease in the level of FE-1 below 200  $\mu\text{g} / \text{mg}$  was observed in 93.11% of patients.

When evaluating the bacteriological examination of sputum, it was found that the most common bacteria such as *St.aureus* ( $p < 0,01$ ), *P. aeruginosa* ( $p < 0.01$ ), *Str. pyogenes*, *Str. viridans* ( $p < 0.01$ ), *Str. agalactiae*, *C. albicans* ( $p < 0.01$ ) and *Enterococcus spp.* ( $p < 0.01$ ). Of all these bacteria in severe cases were significantly more often *Ps. aeruginosa* ( $p < 0.05$ ) and *St.aureus* ( $p < 0.01$ ). Children with severe CF showed on average lower values of spirometry than patients with moderate and mild CF. In severe CF FVC and FEV1 were 15.65% and 19.16% lower, compared with children in mild CF.

A decrease in the level of 25 (OH) D below 30 ng / ml had 58.4% of patients. The highest values of cathelicidin LL-37 were observed in children  $8.38 \pm 0.82$  y.o. ( $p = 0.003$ ) and  $8.15 \pm 0.82$  y.o. ( $p = 0.0018$ ), the lowest - in  $11.87 \pm 0.75$  y.o. In patients with severe CF, significantly lower values of 25(OH)D ( $p < 0.001$ ) were correlated with severe course of CF ( $r = 0.67$ ;  $p = 0.001$ ). Cathelicidin levels in children with severe CF were significantly higher ( $r = -0.60$ ;  $p < 0.001$ ).

In children who had airway colonization with *P. aeruginosa*, showed significantly lower values of 25(OH)D ( $p = 0.007$ ) and significantly elevated level of the antimicrobial peptide cathelicidin ( $p = 0.004$ ), compared with children who were not infected. Evaluation of the relationship between level 25 (OH) D and cathelicidin with



quantitative indicators of individual microorganisms showed moderate correlation between CFU *P. aeruginosa* and 25 (OH) D ( $r = -0.35$ ;  $p = 0.049$ ). Children with FEV1 above 80% showed better values of 25 (OH) D and lowest values of cathelicidin. With the deterioration of FEV1, there is a proportional decrease in the average content of 25 (OH) D by 1.21 times, and an increase in cathelicidin levels by 1.3 times (compared with children with FEV1 64% and below). It was established moderate correlation between all spirometry parameters and the content of 25 (OH) D, in particular for FVC  $r = 0.36$  ( $p = 0.001$ ), and for FEV1  $r = 0.38$  ( $p = 0.0004$ ). There was an inverse correlation between all spirometry parameters and cathelicidin levels. For FVC  $r = -0.3187$  ( $p = 0.004$ ), and for FEV1  $r = -0.2916$  ( $p = 0.009$ ).

The optimal level of 25 (OH) D was associated with higher FEV1 ( $p = 0.020$ ), and the suboptimal level was associated with FEV1 less than 64% ( $p = 0.028$ ). The suboptimal level of 25 (OH) D increased the risk of *P. aeruginosa* colonization by 2.8 times ( $p = 0.028$ ), and in the group with sufficient vitamin D supply the risk of *P. aeruginosa* –positive culture was significantly reduced ( $p = 0.037$ ). The suboptimal level of 25 (OH) D was associated with increased risk of severe CF. The sensitivity of the method was 70% and the specificity was 88%.

Level of LL-37 below 18.90 ng / ml was associated with FEV1 above 80%. Patients with cathelicidin levels above 31.51 ng / ml showed increased the risk of FEV1 less than 80% by 4.4 times ( $p = 0.041$ ). The cathelicidin content above 31.51 ng / ml was associated with a positive culture of *St. aureus* ( $p = 0.041$ ) and *Ps. aeruginosa* ( $p = 0.044$ ). Patients with cathelicidin content above 31.51 ng / ml significantly increase the risk of severe CF ( $p < 0.001$ ). The sensitivity of the method was 67% and the specificity was 82%.

An inverse correlation was found between serum 25 (OH) D and cathelicidin levels ( $r = -0.48$ ;  $p = 0.001$ ).

New data showed possibility of assessment of the severity and prediction of CF course in children based on the determination of 25 (OH) D and antimicrobial peptide cathelicidin LL-37 levels in children.

It was found that 58.4% of children with CF had a reduced level of 25 (OH) D

below 30 ng / ml. Decreases in level 25 (OH) D were more common among children with severe CF ( $p < 0.001$ ) and a positive correlation was found ( $p = 0.001$ ).

The study found that in children with severe CF significantly increased serum cathelicidin levels ( $p < 0.001$ ) and an inverse correlation ( $p = 0.001$ ) with the course of the disease.

Significantly lower values of 25 (OH) D were determined in children with airway colonization of *P. aeruginosa* ( $p = 0.007$ ). The level of the antimicrobial peptide cathelicidin was significantly elevated in children who were infected with *P. aeruginosa* ( $p = 0.004$ ). An inverse correlation was found between the amount of *P. aeruginosa* CFU and 25 (OH) D ( $p = 0.049$ ).

The interdependence between the levels of 25 (OH) D and cathelicidin with the indicator of the function of external respiration FEV1 was established. With the deterioration of FEV1, there was a proportional decrease in the average content of 25 (OH) D by 1.21 times, and an increase in the level of cathelicidin by 1.3 times.

It was found that the optimal level of 25 (OH) D above 30 ng / ml is associated with higher FEV1. A suboptimal level below 30 ng / ml increases the risk of reducing FEV1 below 64% by 3.4 times and the risk of positive *P. aeruginosa* in sputum by 2.8 times. The suboptimal level of 25 (OH) D was associated with an increased risk of severe CF. The sensitivity of the method of determination of 25 (OH) D for the assessment of severe CF was 70%, and the specificity was 88%.

The study found that cathelicidin LL-37 below 18.90 ng / ml was associated with FEV1 above 80%. The level of cathelicidin above 31.51 ng / ml increases the risk of reducing FEV1 by 4.37 times, increases the risk of positive *St. aureus* by 3,2 times and *P. aeruginosa* - 3.3 times. Patients with a cathelicidin content above 31.51 ng / ml had significantly increased the risk of severe CF. The sensitivity of the method of determination of cathelicidin LL-37 for the determination of severe CF was 67%, and the specificity was 82%.

Based on the results of the study, a relationship was established between the severity of CF and serum levels of 25 (OH) D and cathelicidin. In order to assess the severity of CF, children with CF should determine the level of 25 (OH) D, because the

study showed that its reduction below 30 ng / ml increases the risk of severe CF, associated with a decrease in FEV1 and *P. aeruginosa* infection .

Determination of the level of cathelicidin LL-37 in serum has proven to be a promising marker of the severity of CF in children, so it can be used in further study of the disease. Levels of LL-37 above 31.51 ng / ml are associated with deterioration of external respiration function, with a positive culture of *St. aureus* and *P. aeruginosa*. Patients with a cathelicidin content above 31.51 ng / ml significantly increase the risk of severe CF.

Key words: cystic fibrosis, children, 25-hydroxycholecalciferol, cathelicidin, severity.

### Список публікацій здобувача

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Дудник В.М., Демянишина В.В. Оцінка вмісту холекальциферолу в сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Перинатологія та педіатрія. – 2018. – № 3 (75). – С. 82 – 87. *(Особистий внесок – здобувач провів збір та обробку матеріалів дослідження, аналіз результатів, написання статті)*

2. Дудник В.М., Демянишина В.В. Рівень антимікробного пептиду кателіцидину у дітей, хворих на муковісцидоз / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Medical sciences: development prospects in countries of Europe at the beginning of the third Millennium: Collective monograph. Riga: Izdevnieciba “Baltija Publishing”. – 2018. – С. 134 – 147. *(Особистий внесок – здобувач провів збір та обробку матеріалів дослідження, аналіз результатів, написання статті)*

3. Дудник В.М., Демянишина В.В. Аналіз зв'язку між рівнем с-кінцевого hCAP-18 антимікробного пептиду кателіцидину LL-37 та показниками тяжкості перебігу муковісцидозу у дітей / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Проблеми клінічної педіатрії. – 2020. – № 1-2 (47-48) . – С. 66-72. *(Особистий внесок – здобувач провів збір та обробку матеріалів дослідження, аналіз результатів, написання статті)*

4. Демянишина В. В. Особливості клінічного перебігу муковісцидозу у дітей. / В.В. Демянишина // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2020. – № 2 (24). – С. 215-219. *(Особистий внесок – здобувач провів збір та обробку матеріалів дослідження, аналіз результатів, написання статті)*

5. Dudnyk V., Demianyshyna V. Assessment of severity of cystic fibrosis in children depending on the vitamin D status/ V. Dudnyk, V. Demianyshyna // Journal of Education, Health and Sport. – 2020. – № 10 (9). – С. 561-568. *(Особистий внесок – здобувач провів збір та обробку матеріалів дослідження, аналіз результатів, написання статті)*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Демянишина В.В. Муковісцидоз у дітей – клінічний випадок / В.В. Демянишина // Збірник тез наукових робіт учасників XIII міжнародної конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2016» (7-8 квітня 2016 р., м. Вінниця). – Вінниця: ВНМУ ім. М.І. Пирогова, 2016. – С. 195. *(Особистий внесок – здобувач провів збір та обробку матеріалів дослідження, аналіз результатів, написання тез)*

7. Демянишина В.В. Клінічні особливості перебігу муковісцидозу у дітей / В.В. Демянишина // Збірник тез наукових робіт учасників XV міжнародної конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2018» (18-20 квітня 2018р., м. Вінниця). – Вінниця: ВНМУ ім. М.І. Пирогова, 2018. – С. 263. *(Особистий внесок – здобувач провів збір та обробку матеріалів дослідження, аналіз результатів, написання тез)*

8. Дудник В.М., Демянишина В.В. Клініко-патогенетичне значення вітаміну Д<sub>3</sub> у дітей, хворих на муковісцидоз / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Збірник тез наукових робіт учасників міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених «Проблеми сьогодення в педіатрії» (29 березня 2018р., м. Харків). – Харків, 2018. – С. 14. *(Особистий внесок – здобувач провів збір та обробку матеріалів дослідження, аналіз результатів, написання тез)*

9. Дудник В.М., Демянишина В.В. Роль дефіциту 25-

гідроксихолекальциферолу у клінічному перебігу муковісцидозу у дітей / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Збірник тез наукових робіт учасників міжнародної науково-практичної конференції «European biomedical young scientist conference NMAPЕ» (19-21 квітня 2018р., м. Київ). – Київ, 2018. – С. 76-77. *(Особистий внесок – здобувач провів збір та обробку матеріалів дослідження, аналіз результатів, написання тез)*

10. Дудник В.М., Демянишина В.В. Оцінка вмісту антимікробного пептиду кателіцидину в сироватці крові у дітей, хворих на муковісцидоз / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Збірник тез наукових робіт учасників науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю присвяченої 95-літньому ювілею Харківської медичної академії післядипломної освіти «Медицина ХХІ століття» (23 листопада 2018р., м. Харків). – Харків, 2018. – С. 68-69. *(Особистий внесок – здобувач провів збір та обробку матеріалів дослідження, аналіз результатів, написання тез)*

11. Дудник В.М., Морозова І.В., Демянишина В.В. Спектр мікроорганізмів респіраторного тракту дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від важкості захворювання / В. М. Дудник, І. В. Морозова, В. В. Демянишина // Матеріали ХІІІ конгресу педіатрів України «Актуальні проблеми педіатрії». – Київ: Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології. – 2018. – № 3 (12). – С. 32. *(Особистий внесок – здобувач провів збір та обробку матеріалів дослідження, аналіз результатів, написання тез)*

12. Дудник В.М., Демянишина В.В. Склад мікроорганізмів, отриманих із посіву мокротиння дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від рівня забезпечення вітаміном Д3 / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Збірник тез наукових робіт учасників науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю Харківської медичної академії післядипломної освіти «Медицина ХХІ століття» (29 листопада 2019р., м. Харків). – Харків, 2019. – С. 32-33. *(Особистий внесок – здобувач провів збір та обробку матеріалів дослідження, аналіз результатів, написання тез)*

13. Демянишина В.В. Стан біоценозу респіраторного тракту у дітей, хворих на

муковіцидоз / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Збірник тез наукових робіт учасників XV міжнародної конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2019» (18-19 квітня 2019р., м. Вінниця) . – Вінниця: ВНМУ ім. М.І. Пирогова, 2019. – С. 433-434. *(Особистий внесок – здобувач провів збір та обробку матеріалів дослідження, аналіз результатів, написання тез)*

14. Дудник В.М., Демянишина В.В. Вміст кателіцидину LL-37 та 25-гідроксихолекальциферолу в сироватці крові залежно від складу мікрофлори дихальних шляхів у дітей, хворих на муковіцидоз / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Збірник тез наукових робіт учасників міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні досягнення медичних наукових досліджень в Україні та країнах ближнього зарубіжжя» (2–3 жовтня 2020 р., м. Київ) . – Київ, 2020. – С. 38-41. *(Особистий внесок – здобувач провів збір та обробку матеріалів дослідження, аналіз результатів, написання тез)*

15. Дудник В.М., Демянишина В.В. Оцінка вмісту антимікробного пептиду кателіцидину LL-37 та гідроксихолекальциферолу в сироватці крові дітей, хворих на муковіцидоз, залежно від функції зовнішнього дихання / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Збірник тез наукових робіт учасників міжнародної науково-практичної конференції “New trends and unresolved issues of preventive and clinical medicine” (25-26 вересня 2020 р., м. Люблін, Польща) . – Люблін, 2020. – С. 79-83. *(Особистий внесок – здобувач провів збір та обробку матеріалів дослідження, аналіз результатів, написання тез)*

## ЗМІСТ

|                                                                                                                                                                                          | Стор.     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| АНОТАЦІЯ.....                                                                                                                                                                            | 2         |
| ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....                                                                                                                                                           | 17        |
| ВСТУП.....                                                                                                                                                                               | 18        |
| <b>РОЗДІЛ 1. КЛІНІКО-ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ АНТИМІКРОБНОГО ПЕПТИДУ КАТЕЛІЦИДИНУ ТА 25-ГІДРОКСИХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛУ ЩОДО РОЗВИТКУ МУКОВІСЦИДОЗУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....</b>                   | <b>26</b> |
| <b>РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....</b>                                                                                                                                     | <b>45</b> |
| 2.1. Методи дослідження та статистичного аналізу.....                                                                                                                                    | 47        |
| 2.2. Клінічна та параклінічна характеристика обстежених хворих.....                                                                                                                      | 52        |
| <b>РОЗДІЛ 3. ОЦІНКА ВМІСТУ АНТИМІКРОБНОГО ПЕПТИДУ КАТЕЛІЦИДИНУ ТА 25-ГІДРОКСИХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ, ЗАЛЕЖНО ВІД ТЯЖКОСТІ ТА ОСОБЛИВОСТЕЙ ЗАХВОРЮВАННЯ... </b>               | <b>68</b> |
| <b>РОЗДІЛ 4. СПІВСТАВЛЕННЯ ВМІСТУ КАТЕЛІЦИДИНУ І 25-ГІДРОКСИХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ З ПОКАЗНИКАМИ ФУНКЦІЇ ЗОВНІШНЬОГО ДИХАННЯ ТА СКЛАДОМ МІКРОФЛОРИ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ.....</b> | <b>82</b> |
| 4.1. Аналіз вмісту кателіцидину сироватки крові дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від рівня 25-гідроксихолекальциферолу.....                                                        | 83        |
| 4.2. Рівень антимікробного пептиду кателіцидину і 25-гідроксихолекальциферолу в сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від показників функції зовнішнього дихання.....   | 86        |
| 4.3. Оцінка взаємозв'язку між рівнем кателіцидину та 25-гідроксихолекальциферолу в сироватці крові та складом мікрофлори дихальних шляхів.....                                           | 88        |

**РОЗДІЛ 5. ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ МУКОВІСЦИДОЗУ У ДІТЕЙ**

ЗАЛЕЖНО ВІД ВМІСТУ КАТЕЛІЦИДИНУ ТА

|                                                    |     |
|----------------------------------------------------|-----|
| 25-ГІДРОКСИХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ..... | 98  |
| АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ..... | 115 |
| ВИСНОВКИ.....                                      | 129 |
| ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....                        | 131 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....                | 132 |
| ДОДАТОК А.....                                     | 160 |
| ДОДАТОК Б.....                                     | 163 |
| ДОДАТОК В.....                                     | 165 |
| ДОДАТОК Г.....                                     | 166 |
| ДОДАТОК Д.....                                     | 167 |



**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

|                         |                                                     |
|-------------------------|-----------------------------------------------------|
| 1,25(OH) <sub>2</sub> D | – 1,25-дигідроксихолекальциферол                    |
| 25(OH)D                 | – 25-гідроксихолекальциферол                        |
| CFFPR                   | - Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry       |
| CFTR                    | - трансмембранний регуляторний білок муковісцидозу  |
| ECFSPR                  | - European Cystic Fibrosis Society Patient Registry |
| LL-37                   | - кателіцидин                                       |
| TLR                     | - toll-подібні рецептори                            |
| VDR                     | – рецептори вітаміну Д                              |
| АЛТ                     | - аланінамінотрансфераза                            |
| АМП                     | – антимікробні пептиди                              |
| АСТ                     | - аспартатамінотрансфераза                          |
| ГГТ                     | – гамма-глутамілтранспептидаза                      |
| ІМТ                     | - індекс маси тіла                                  |
| ІРТ                     | – імунореактивний трипсин                           |
| ЛПС                     | - ліпополісахариди                                  |
| ЛФ                      | – лужна фосфатаза                                   |
| МВ                      | – муковісцидоз                                      |
| МОШ                     | – максимальна об'ємна швидкість                     |
| ОГК                     | – органи грудної клітки                             |
| ОФВ1                    | – форсований об'єм видиху за 1 секунду              |
| ПШВ                     | – пікова швидкість видиху                           |
| ФЕ-1                    | – фекальна еластаза -1                              |
| ФЖЄЛ                    | – форсована життєва ємкість                         |
| ФЗД                     | – функція зовнішнього дихання                       |
| ФПШ                     | – функція підшлункової залози                       |

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Муковісцидоз (МВ) – поширене аутосомно-рецесивне захворювання, що зумовлене мутацією гену CFTR (трансмембранний регуляторний білок муковісцидозу) і характеризується клінічним поліморфізмом. Поширеність хвороби варіює у широких межах, адже у різних регіонах планети мутації гену CFTR зустрічаються із різною частотою. Серед жителів європейських країн МВ зустрічається найчастіше – 1:1300-3500 новонароджених, також значна частота народження таких хворих виявлена у Північній Америці – 1:2500 [145]. В Україні, за розрахунками, частота МВ складає 1:3364 [1, 33].

Захворювання зберігає свою високу медико-соціальну значущість, що пов'язано із низькою тривалістю життя хворих, раннім формуванням ускладнень, ранньою інвалідизацією, проблемами своєчасної діагностики, необхідністю постійного спостереження та складнощами лікування.

Середній вік хворих на МВ значно зріс за останні 50 років з 15 до 47,7 років [138], а отже зросла і кількість ускладнень, які погіршують якість життя хворих. Ці проблеми вимагають нових підходів до моніторингу та прогнозування тяжкості перебігу МВ.

Для МВ характерний прогресуючий перебіг та часті легеневі загострення, зумовлені інфекційними агентами (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cepacia*, *Haemophilus influenzae*) [6, 40, 42] та хронічним запальним процесом. Незважаючи на значні досягнення у лікуванні МВ, які спрямовані на покращення респіраторної функції легень та подовження тривалості життя, проблема прогресуючого ураження легень залишається. Легенева та серцева недостатність посідають перше місце серед причин смерті хворих (80 %) [27]. Серед інших причин в економічно розвинутих країнах виділяють: ускладнення після трансплантації органів, захворювання печінки та печінкова недостатність, травми, суїцид тощо [137].

Прогноз МВ залежить від багатьох факторів, до яких відносять вік

встановлення діагнозу, генотип, тяжкість панкреатичної недостатності, нутритивний статус, вік першого інфікування та тривалість колонізації легень такими бактеріями, як *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. cepacia*, та ряд інших факторів [8], але досі залишається відкритим питання пошуку маркерів щодо прогнозування тяжкості МВ та раннього виявлення розвитку ускладнень.

Вважається, що мутований білок CFTR, окрім базового дефекту транспорту іонів хлору, спричиняє надмірну запальну реакцію у відповідь на бактеріальну інфекцію [11, 40] та навіть сам може бути тригером запалення [40]. Хронічне запалення в легеневій тканині та дихальних шляхах зумовлює ранні та тяжкі форми хронічної хвороби легень, яка характеризується нейтрофільним переважанням [28]. Це ускладнює наявну ситуацію із накопиченням густого секрету та посиленою бактеріальною колонізацією, в результаті яких формується «хибне коло» та ураження легень прогресує. Важливим є пошук факторів, які беруть участь у цих запальних процесах або впливають на них.

Одним із факторів, який може відображати стан хворих на МВ, є забезпеченість вітаміном Д. У літературних джерелах описана його патогенетична роль у перебігу респіраторної патології у дітей [7, 29, 32, 39]. У багатьох дослідженнях було показано, що значна кількість пацієнтів із МВ схильні до зниження рівня 25-гідроксихолекальциферолу (25(ОН)Д), основного метаболіту вітаміну Д, що відображає його рівень в організмі [4, 37]. Виникнення цього стану обумовлене розвитком підшлункової екзокринної недостатності, порушенням всмоктування жиророзчинних вітамінів, зміною метаболізму вітаміну Д, зниженням фізичної активності, тривалою глюкокортикоїдною і антибактеріальною терапією [5]. Зниження рівня вітаміну Д пов'язують із гіршими показниками спірометрії та інфікуванням *P. aeruginosa* [150, 186], які відображають тяжкість МВ.

Доведено, що крім скелетних ефектів, метаболіти вітаміну Д володіють яскравими імуномодулюючими властивостями, а саме здійснюють вплив на механізми неспецифічного захисту респіраторного тракту від інфекційних агентів і систему імунної специфічної відповіді [9, 10, 38]. Вітамін Д служить імунним

регулятором, що впливає як на природжений, так і на адаптивний імунітет. Було виявлено, що декілька клітинних типів адаптивної імунної системи знаходяться під прямим впливом активного метаболіту вітаміну Д 1,25-дигідроксихолекальциферолу ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ), який сигналізує, наприклад, дендритні і Т-клітини через рецептори вітаміну Д (VDR) [2]. Разом з такими важливими ефектами дії вітаміну Д, як індукція диференціювання моноцитів, стимуляція процесу фагоцитозу макрофагів, проявляється також регуляція експресії антимікробних пептидів (АМП), в тому числі кателіцидину людини [2, 41].

АМП є ланкою вродженого імунітету, і їх рівень можна розцінити як маркер системної активації при інфекційних, аутоімунних та запальних захворюваннях. АМП залучаються в запальний процес не лише як ендogenous антибіотики, але і як медіатори запалення, та в людських легенях в основному секретуються епітеліальними і фагоцитарними клітинами [3, 36]. Дослідження показують, що концентрація антимікробних пептидів підвищується в різних рідинах організму під час інфекційного запального процесу, наприклад, при пневмонії чи муковісцидозі, чи іншій гострій та хронічній респіраторній патології [30, 31, 34].

Експресія генів і секреція кателіцидину регулюється на різних рівнях. Експресія збільшується внаслідок контакту клітин з мікробними продуктами або прозапальними медіаторами [50]. Окрім того, на експресію та секрецію кателіцидину впливає і метаболіт вітаміну Д  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ , регулюючи його рівень у біологічних рідинах [44].

Взаємозалежність між вітаміном Д та кателіцидином викликає значний інтерес, адже в перспективі відкриває шлях до опосередкованої регуляції рівня ендogenous АМП. Крім того, вміст цих речовин може відображати об'єктивний стан хворого на МВ, а саме тяжкість ураження легень. Саме тому вивчення 25-гідроксихолекальциферолу та антимікробного пептиду кателіцидину в якості предикторів тяжкості МВ у дітей є доцільним та важливим, адже допоможе краще зрозуміти клініко-патогенетичні механізми ураження легень при МВ, а також може підвищити точність оцінки тяжкості перебігу хвороби.

**Зв'язок роботи з науковими програмами.** Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри педіатрії №2 Вінницького національного медичного університету ім. М.І.Пирогова: №1 «Покращення якості медичної допомоги дітям з мультифакторними хворобами на основі поглибленого вивчення клініко-діагностичних особливостей їх перебігу» (державна реєстрація № 0114U001493) та №2 «Удосконалення діагностики, лікування та визначення прогнозу різних соматичних та орфанних захворювань у дітей» (державна реєстрація № 0119U000327).

**Мета роботи:** оцінка тяжкості та прогнозування перебігу муковісцидозу у дітей на основі нових наукових даних щодо патогенетичного значення вмісту антимікробного пептиду кателіцидину LL-37 та 25-гідроксихолекальциферолу в сироватці крові.

**Завдання дослідження:**

1. Визначити клініко-параклінічні особливості перебігу муковісцидозу у дітей.
2. Проаналізувати показники функції зовнішнього дихання та склад мікрофлори дихальних шляхів залежно від тяжкості перебігу муковісцидозу.
3. Оцінити вміст 25-гідроксихолекальциферолу та кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від тяжкості та клінічних особливостей захворювання.
4. Дослідити зміни вмісту 25-гідроксихолекальциферолу та кателіцидину LL-37 в сироватці крові залежно від складу мікрофлори дихальних шляхів та показників функції зовнішнього дихання дітей, хворих на муковісцидоз.
5. Прогнозування перебігу муковісцидозу у дітей залежно від рівня 25-гідроксихолекальциферолу та кателіцидину LL-37 в сироватці крові.

**Об'єкт дослідження** – клініко-лабораторні особливості тяжкості перебігу муковісцидозу у дітей.

**Предмет дослідження** – клініко-анамнестичні показники, показники функції зовнішнього дихання, склад мікрофлори дихальних шляхів, вміст 25-гідроксихолекальциферолу та кателіцидину LL-37 в сироватці крові.

**Методи дослідження:** клінічного спостереження (збір скарг, анамнезу, фізикальне обстеження); лабораторні: загальні біохімічні обстеження (білірубін загальний, аланінамінотрансфераза (АЛТ), аспартатамінотрансфераза (АСТ), загальний білок крові, загальний холестерин, лужна фосфатаза (ЛФ), електроліти крові Na, K, Cl), імуноферментне обстеження (фекальна еластаза-1, вміст 25-гідроксихолекальциферолу (25(ОН)Д) та антимікробного пептиду кателіцидину LL-37), молекулярно-генетичне обстеження, потовий тест, копрограма (загальні жирні кислоти, тригліцериди), бактеріологічний метод (обстеження мокротиння); інструментальні методи: (рентгенографічне обстеження органів грудної клітки, спірометрія (показники функції зовнішнього дихання); методи статистичної обробки результатів дослідження (варіаційної статистики та кореляційно-регресійного аналізу з визначенням вірогідності безпомилкового прогнозу).

**Наукова новизна дослідження.** Вперше отримані дані щодо можливості оцінки тяжкості та прогнозування перебігу МВ у дітей на основі визначення рівня 25(ОН)Д та антимікробного пептиду кателіцидину LL-37, у якості додаткових маркерів.

Вперше показано, що зниження рівня 25(ОН)Д частіше спостерігалось серед дітей із тяжким перебігом МВ ( $p < 0,001$ ) та було встановлено позитивний кореляційний зв'язок із тяжкістю ( $r = 0,67$ ;  $p = 0,001$ ). Водночас, при тяжкому перебігу отримано найвищі серед усіх обстежених дітей значення кателіцидину LL-37 ( $p < 0,001$ ) та встановлено обернений кореляційний зв'язок ( $r_{xy} = -0,60$ ;  $p = 0,001$ )

Доповнено існуючі дані щодо взаємозалежності між рівнями 25(ОН)Д та кателіцидину із колонізацією дихальних шляхів *P. aeruginosa*. У дітей із колонізацією дихальних шляхів *P. aeruginosa* визначались зниження вмісту 25(ОН) ( $p = 0,007$ ) та підвищений рівень антимікробного пептиду кателіцидину ( $p = 0,004$ ). Встановлено зворотній кореляційний зв'язок середньої сили між кількістю КУО *P. aeruginosa* та 25(ОН)Д ( $r = -0,35$ ;  $p = 0,049$ ).

Доповнено існуючі дані щодо взаємозалежності між рівнями 25(ОН)Д та кателіцидину із показником функції зовнішнього дихання ОФВ1. Із погіршенням

показника ОФВ1 спостерігалось пропорційне зниження середнього вмісту 25(ОН)Д в 1,21 рази, та підвищення рівня кателіцидину в 1,3 рази. Між показником спірометрії ОФВ1 та вмістом 25(ОН)Д встановлено прямий кореляційний зв'язок середньої сили  $r = 0,39$  ( $p=0,0004$ ). Між показником спірометрії ОФВ1 та рівнем кателіцидину виявлено слабкий обернений зв'язок  $r = -0,29$  ( $p=0,009$ ).

Вперше встановлено вірогідну асоціацію субоптимального рівня 25(ОН)Д із гіршими показниками ОФВ1 та підвищеним 2,89 раза ризиком висіву *P. aeruginosa* з мокротиння.

Вперше отримано дані про те, що рівень кателіцидину вище 31,51 нг/мл підвищує ризик зниження ОФВ1 в 4,4 разів, підвищує ризик висіву *St. aureus* в 3,2 рази та *P. aeruginosa* – в 3,3 рази. У хворих із вмістом кателіцидину вище 31,51 нг/мл значно зростає ризик тяжкого перебігу МВ.

**Практичне значення одержаних результатів.** На основі отриманих даних обгрунтовано визначення 25(ОН)Д в сироватці крові у якості додаткового маркеру тяжкості при спостереженні дітей, хворих на муковісцидоз. У дослідженні показано, що його зниження нижче 30 нг/мл підвищує ризик розвитку тяжкого МВ, асоціюється із зниженням рівня ОФВ1 та інфікуванням *P. aeruginosa*.

Визначення рівня LL-37 вище 31,51 нг/мл асоціюється із погіршенням функції зовнішнього дихання, із позитивною культурою *St. aureus* та *P. aeruginosa*.

**Впровадження результатів досліджень у практику.** Окремі результати дослідження впроваджені у практику роботи Київської міської дитячої клінічної лікарні №2, КП «ПОДКЛ Полтавської обласної ради» в педіатричному відділенні №1, КНП «Ужгородська міська дитяча клінічна лікарня Ужгородської міської ради», ДУ «НДІ ПАГ ім. академіка О. М. Лук'янової НАМНУ», КЗ «Дніпропетровська обласна дитяча клінічна лікарня ДМР», КНП «Тернопільська міська дитяча комунальна лікарня».

**Особистий внесок здобувача.** Здобувач самостійно виконав аналіз

зарубіжної та вітчизняної наукової літератури відповідно до теми дисертації, здійснив патентно-інформаційний пошук, сформулював мету і завдання роботи. Автором визначено напрямок наукового дослідження, розроблено методологію дослідження та визначено необхідний перелік біохімічних та інструментальних методів дослідження. Здобувач здійснив набір хворих на тему дослідження та їх об'єктивне обстеження. Автором проведено обстеження хворих на муковісцидоз, виконано клінічні спостереження та проаналізовано результати клініко-лабораторних, біохімічних, інструментальних досліджень, статистичних звітів та медичної документації. Дисертант особисто провів обробку, аналіз та узагальнення отриманих результатів. Автором підготовлено до друку наукові праці і доповіді на тему дослідження, сформульовано висновки та практичні рекомендації, написано всі розділи дисертації.

**Апробація результатів дисертації.** Результати дисертаційної роботи були представлені на науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвячені пам'яті акад. Б.Я. Резніка «Нові медичні технології в педіатрії та сімейній медицині» (Одеса, 2017 р.), XIV міжнародній науковій конференції студентів і молодих вчених «Перший крок в науку – 2017» (Вінниця, 2017 р.), XV міжнародній науковій конференції студентів і молодих вчених «Перший крок в науку – 2018» (Вінниця, 2018 р.), XVI науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку – 2019» (Вінниця, 2019 р.), науково-практичній конференції молодих вчених з міжнародною участю Харківської медичної академії післядипломної освіти «Медицина XXI століття» (м. Харків, 2019 р.), міжнародній науково-практичній конференції “New trends and unresolved issues of preventive and clinical medicine” (м. Люблін, Польща, 2020 р.), міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні досягнення медичних наукових досліджень в Україні та країнах ближнього зарубіжжя» (м. Київ, 2020 р.), XVII науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку – 2020» (Вінниця, 2020 р.).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових робіт, з



яких 3 статті у наукових фахових виданнях, рекомендованих ДАК при МОН України, 2 статті – в іноземних фахових виданнях (Польща); 10 наукових праць було видано в матеріалах міжнародних науково-практичних конференцій (Україна, Польща).

**Об'єм та структура дисертації.** Дисертація викладена на 172 сторінках машинописного тексту. Робота включає анотацію, вступ, огляд літератури, опис матеріалу та методів дослідження, 4 розділи власних спостережень, аналіз та узагальнення отриманих результатів дисертаційної роботи, висновки, практичні рекомендації. Робота ілюстрована 54 таблицями та 6 рисунками. Список використаної літератури містить 213 джерел, з яких 42 – авторів України та країн СНД і 171 – закордонних авторів.

## РОЗДІЛ 1

### КЛІНІКО-ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ АНТИМІКРОБНОГО ПЕПТИДУ КАТЕЛІЦИДИНУ ТА 25-ГІДРОКСИХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛУ ЩОДО РОЗВИТКУ МУКОВІСЦИДОЗУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Муковісцидоз (МВ) є одним із найпоширеніших аутосомно-рецесивних захворювань, що зумовлене мутацією гену CFTR (трансмембранний регуляторний білок муковісцидозу) і характеризується клінічним поліморфізмом із переважним ураженням органів дихання та травлення.

МВ поширений серед усього населення Землі, але найчастіше зустрічається серед білошкірого населення світу. Найбільша захворюваність спостерігається в таких країнах як Ірландія (1:1800), Шотландія (1:1984), Швейцарія (1:2000), Франція (1:2350). Серед населення країн Азії частота МВ складає 1:40000-100000 (Індія), 1:100000-350000 (Японія). В США, згідно з даними останнього щорічного звіту реєстру пацієнтів Американської фундації муковісцидозу (CFFPR) за 2019 рік, проживає 31199 хворих на МВ, серед яких 44,0 % дитячого населення [152]. За даними пацієнтського реєстру Європейської спілки муковісцидозу (ECFSPR) за 2017 рік в 35 європейських країнах зареєстровано 48204 пацієнтів, хворих на МВ, з яких 48,7 % дітей [86].

В Україні точних даних щодо поширеності МВ немає. На сьогоднішній день, за різними джерелами, в нашій країні проживає близько 800 дорослих та дітей, хворих на МВ. Як вказується в офіційних документах [35], неонатальний скринінг, що проводився у 2013–2014 р., показав, що частота муковісцидозу в Україні становить 1:8400, але не можна стверджувати про точність цих даних, адже значна кількість хворих на МВ не виявлена [133].

На сучасному етапі проблема МВ отримала важливе медико-соціальне значення. У розвинених країнах медіана тривалості життя хворих на МВ збільшилась. Згідно з даними Національного Інституту здоров'я США (NIH) за 2018 рік середня тривалість життя пацієнтів, хворих на МВ, становила більше 37

років [84]. Щорічний звіт UK Cystic Fibrosis Registry 2015 року показав, що середній очікуваний вік хворих на МВ в Британії становить 45,1 рік, це означає, що половина зареєстрованих хворих проживуть більше, ніж до вказаного віку, але інша половина може померти, не досягнувши зазначеного показника [187]. Із підвищенням середнього віку виживаності хворих з'являються нові проблеми, з якими раніше не стикались ні лікарі, ні пацієнти, та які стають причиною зниження якості життя та навіть смерті. Тому питання моніторингу та прогнозування перебігу МВ сьогодні виступає на перший план – завчасно помічене погіршення стану пацієнта дає можливість вчасно розпочати корекцію лікування та уникнути незворотніх змін.

Лікування МВ ставить перед пацієнтами та лікарями постійні виклики, адже, незважаючи на великий список можливих лікувальних заходів, не завжди вдається взяти хворобу під контроль. Встановлено, що клінічні прояви та тяжкість хвороби варіюють залежно від багатьох факторів, модифікованих та немодифікованих: виду мутації, віку встановлення діагнозу, тяжкості порушення функції підшлункової залози, нутритивного статусу, віку першого інфікування дихальних шляхів та легень *P. aeruginosa*, якості та ефективності лікування [169]. Триває пошук додаткових факторів, які б вказували на стан пацієнта та на які можна було би вплинути для відповідного контролю над хворобою.

Мультисистемність ураження при МВ зумовлена його патогенезом, який є надзвичайно широким та включає багато ланок як на молекулярному та клітинному рівні, так і на рівні вторинного враження органів. МВ викликається мутацією в гені CFTR [172, 189]. До теперішнього часу в гені CFTR встановлено більше 2000 змін послідовності нуклеотидів, але тільки 360 з них, згідно з базою даних CFTR2 [71] зумовлюють МВ, решта вважаються клінічно незначимими.

CFTR експресується в багатьох органах – епітеліальні клітини дихальних шляхів, бета-клітини та епітеліальні клітини протоки підшлункової залози, імунні клітини нейтрофіли [110], тому клінічні прояви хвороби варіюють у широких межах. Продукт гена CFTR належить до сімейства АТФ-зв'язуючих касетних білків (ATP-binding cassette), він знаходиться на поверхні більшості епітеліальних

клітин та функціонує як цАМФ-залежний хлорний канал [172, 162, 189, 213]. Він взаємодіє з  $\text{Ca}^{2+}$ -залежним  $\text{Cl}^-$  каналом (CaCC) для секреції рідини та іонів хлору, які необхідні для гідратації слизу, та інших молекул, необхідних для формування мукозного шару дихальних шляхів. CFTR сприяє дифузії карбоксил-іону ( $\text{HCO}_3^-$ ), чим регулює рН зовні та всередині клітин [107]. Також CFTR є прямим активатором аніонних транспортерів Slc 26a3 та Slc 26a6, тому деякі мутації в гені CFTR змінюють їх функцію, що призводить до зниження секреції  $\text{HCO}_3^-$  в дихальних шляхах та підшлунковій залозі [72]. Зниження секреції  $\text{HCO}_3^-$  посилює кальцій-опосередковане зв'язування муцину, що веде до згущення секрету залоз [206]. Крім того, показана роль каналу CFTR в регуляції транспорту іонів  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  в тканинах легень та ШКТ [189].

Велику роль у патогенезі захворювання грає порушення секреції рідини залозами підслизової оболонки, що знаходиться під поверхневим епітелієм дихальних шляхів. На апікальних мембранах клітин поверхневого епітелію CFTR здійснює секрецію іонів хлору, що відбувається внаслідок абсорбції натрію через Na-канали (ENaC). Це необхідно для підтримки оптимального об'єму поверхневої рідини дихальних шляхів та для забезпечення циліарного кліренсу від слизу та бактерій [172]. При МВ відбувається порушення балансу між секрецією рідини та абсорбцією іонів, внаслідок чого скорочується об'єм поверхневої рідини, що приводить до збільшення в'язкості секрету і неефективності мукоциліарного кліренсу. Дисфункція епітеліального CFTR призводить до нестійкості між секрецією  $\text{Cl}^-$  і ENaC-опосередкованої абсорбції  $\text{Na}^+$ , що робить поверхню дихальних шляхів уразливою внаслідок виснаження об'єму муцинозного шару [200]. Окрім того, в дихальних шляхах накопичується велика кількість актину та ДНК, яка вивільняється із нейтрофілів після їх загибелі, що також підвищує густину слизу в бронхах [68].

Мукоциліарний кліренс є важливим складником вродженого неспецифічного захисту легеневої системи. Дисфункція війчатого епітелію через зневоднення слизового шару дихальних шляхів є патологічним механізмом, який зв'язує базовий дефект МВ зі зниженим захистом дихальних шляхів і хворобою

легень при МВ, зумовленою, в тому числі, обструкцією слизов дихальних шляхів та зменшенням бактеріального кліренсу [199, 211, 212].

У хворих на МВ питання захисту від бактеріального впливу в респіраторному тракті має вирішальне значення для прогнозу та якості життя хворого. Інфікування *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* та *Pseudomonas aeruginosa* найбільш характерне для таких пацієнтів. Також бактеріальні патогени, наприклад, *Burkholderia cepacia* і *Stenotrophomonas maltophilia*, або грибкова інфекція *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* чи *Scedosporium apiospermum* [156, 157] набувають все більшого значення у перебігу хвороби.

Патогенез ураження легень при МВ включає багато складових та ще не повністю вивчений. Окрім описаного вище ефекту згущення секрету епітеліальних клітин, вважається, що дихальні шляхи хворих на МВ знаходяться у стані хронічного запалення, викликаного надмірною та невідповідною запальною реакцією на бактерії, якими інфікуються хворі [124, 165].

У дослідженнях, що вивчали патогенез ураження легень при МВ, вказано на підвищену активацію запального процесу, а також на неможливість цей запальний процес обмежити та врегулювати. В дихальних шляхах хворих на МВ виявлено підвищену кількість нейтрофілів та концентрацію прозапальних медіаторів, а саме TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-17, IL-33, GM-CSF, G-CSF, та HMGB-1 [148, 163], які посилюють сигналювання запальних клітин у відповідь на стимуляцію.

Існує припущення, що порушення регуляції запальної відповіді при МВ зумовлене мутацією гена CFTR, білок якого експресується на мембрані нейтрофілів, та впливає на їх функціональність, у тому числі на здатність до знищення бактерій та вірусів [99]. У дослідженні Zhou та співавт. показано, що при МВ нейтрофіли не здатні до хлорування бактерій в фаголізосомах через порушення синтезу гіпохлоритної кислоти (HOCl) саме внаслідок некоректної роботи CFTR та транспорту іонів хлору [210].

Окрім фагоцитозу, з нейтрофілами відбувається дегрануляція з вивільненням активних форм кисню та антимікробних гранулярних білків у

позаклітинний простір, до яких відносять мієлопероксидазу, лізоцим, лактоферин, еластазу, дефензини, желатиназу, кателіцидини та катепсини [63], що беруть участь у боротьбі з інфекцією. Крім того, нейтрофіли здатні до особливої форми клітинної смерті – нетозу (NETosis - Neutrophil Extracellular Trap, нейтрофільні позаклітинні пастки) [119].

Нетоз робить важливий внесок у розвиток процесу запалення в легенях та загущення бронхоальвеолярного секрету (БАС) у хворих на МВ. У відповідь на інфекційну стимуляцію нейтрофіли, окрім фагоцитозу, здатні викидати свою ДНК у вигляді сітки, вкритої антимікробними гранулами, в позаклітинний простір. Таким чином БАС насичується позаклітинною ДНК, яка робить густий секрет ще густішим та посилює пошкодження навколишніх тканин [136].

Стимулювати нетоз можуть як інфекційні чинники (бактерії або їх частини, такі як ліпополісахариди), так і неінфекційні. Хоча існує думка про те, що бактерії є основними чинниками надмірного і неконтрольованого нетозу при МВ, було показано, що запальний процес в легенях персистує і до першого інфікування хворих [161, 205]. Не вивчена в повній мірі роль дефекту білка CFTR в цьому процесі, але зрозуміло, що він бере участь у абнормальній активації запальної реакції. Опосередковано на це вказують дослідження Bratcher та співавт., де показано, що на модуляторній терапії препаратом Івакафтор, який виправляє функцію білка CFTR, відмічалось зниження запального профілю нейтрофілів [64].

Надмірна кількість нейтрофілів та їх активація в легенях при МВ перетворює захисний протимікробний механізм на патологічний процес, який не тільки не здатний до супротиву бактеріям, а і створює сприятливі умови для їх колонізації та формування «хибного кола». Враховуючи такий патогенез МВ, стає зрозуміло, що регуляція нейтрофільної активації та контроль над запальними процесами в легенях лежить в основі патогенетичної терапії захворювання.

Вітамін Д – життєвоважливий мікронутрієнт, який не тільки регулює мінеральний обмін кальцію, фосфору та бере участь у процесі ремоделювання кісток [58, 79], а також вважається, що низький рівень 25(ОН)Д асоціюється із підвищеними ризиками таких захворювань, як рак, серцево-судинні [54],

нейродегенеративні захворювання [49], інфекційні хвороби [203], аутоімунні хвороби [83, 146]. Широкий спектр дії вітаміну Д викликає інтерес та обговорення можливих позитивних ефектів від його застосування при численних патологіях.

Основним джерелом вітаміну Д в організмі є його ендогенна продукція у шкірі та екзогенне надходження із їжею. Метаболізм вітаміну Д відбувається в три основні етапи: 25-гідроксилування в печінці, 1 $\alpha$ -гідроксилування в нирках та 24-гідроксилування в мітохондріях клітин, що виконуються групою ферментів суперсімейства цитохрому P450 із змішаними функціями оксидаз (CYP). Ці ферменти розташовані або в ендоплазматичному ретикулумі (наприклад, CYP2R1), або в мітохондріях (наприклад, CYP27A1, CYP27B1 та CYP24A1). Результатом таких перетворень є утворення активних метаболітів вітаміну Д (1,25(OH)<sub>2</sub>D), які здійснюють біологічні ефекти в організмі людини [59].

Геномна дія 1,25(OH)<sub>2</sub>D опосередкована через рецептор вітаміну Д (VDR). VDR є транскрипційним фактором та членом сімейства ядерних рецепторів стероїдних гормонів. В дослідженні Ramagopalan та співавт. на лініях лімфобластоїдних клітин людини, оброблених 1,25(OH)<sub>2</sub>D, було виявлено 2776 місць зв'язування VDR, що змінюють експресію 229 генів. Профіль сайтів зв'язування VDR та активованих генів варіює в залежності від типу клітин, тому він здійснює різноманітні функції в різних органах та системах, а саме, скелетній, ендокринній, імунній та серцево-судинній. Багато досліджень показали участь метаболітів вітаміну Д у патогенезі таких хвороб як ожиріння, метаболічний синдром, цукровий діабет, рак [54].

Незважаючи на додаткове призначення препаратів вітаміну Д, у 85-90% хворих на МВ відмічається його дефіцит. Через екзокринну панкреатичну недостатність відбувається порушення всмоктування жиророзчинних вітамінів, у тому числі й вітаміну Д. Пацієнти з МВ мають порушену абсорбцію вітаміну Д рослинного (D<sub>2</sub>) та тваринного (D<sub>3</sub>) походження, це продемонстрували Lark та співавт. у своєму дослідженні. Спостерігалось зменшення абсорбції дози вітаміну D<sub>2</sub> та зниження рівня сироваткового 25(OH)D у пацієнтів з МВ, незважаючи на замісну терапію панкреатичними ферментами [125].

Окрім порушень всмоктування вітаміну Д, пацієнти мають порушення процесу його гідроксилювання в печінці, що порушує метаболізм синтезованого в організмі та абсорбованого в ШКТ вітаміну. Метаболізм вітаміну Д у хворих на МВ не вивчений достатньо, але непрямі дослідження вказують на прискорене виведення його з організму до етапу гідроксилювання 25-гідроксилазою в печінці.

Зниження накопичення синтезованого та абсорбованого вітаміну Д може відбуватись і через зниження рівня вітамін-Д зв'язуючого білка (VDBP) у хворих на МВ. Більша частина 25(OH)Д та 1,25-дигідроксिवітаміну Д зв'язана з VDBP, а 10-15% зв'язана з альбуміном. Менше 1 % вітаміну Д циркулює у вільному стані [94]. Клінічні дослідження показали, що пацієнти з МВ мають нижчий рівень глобуліну та VDBP, а також знижений рівень 25(OH)Д у порівнянні із здоровими людьми, що, можливо, пов'язано з порушенням нутритивного статусу хворих [116]. Окрім того, VDBP переносить вітамін Д з кишечника в жирову тканину, яка виступає в ролі депо вітаміну. Однак функція DBP ще не вивчена повністю. Висока концентрація вільного VDBP в сироватці крові у здорових людей може функціонувати також як резервуар для 25(OH)Д.

У пацієнтів з МВ також знижений синтез ендogenous вітаміну Д в організмі. У нормальній популяції 90-95 % необхідного вітаміну Д надходить внаслідок сонячного опромінення шкіри. Багато пацієнтів з МВ уникають сонячного світла через фоточутливість внаслідок прийому деяких антибіотиків. Здорові люди накопичують вітамін Д протягом літнього часу та використовують протягом усієї зими, але у пацієнтів з МВ через недостатньо розвинену жирову тканину депонування вітаміну Д дуже обмежене [114], що також є додатковим фактором у патогенезу гіповітамінозу Д.

У багатьох дослідженнях розглянуто значення вітаміну Д у розвитку різних інфекційних захворювань, як вірусних [55, 185], так і бактеріальних [49]. Це відбувається за рахунок прямої та непрямой дії на імунну систему людини [127]. Вітамін Д здійснює вплив на механізми неспецифічного захисту респіраторного тракту від інфекційних агентів і систему імунної специфічної відповіді.

Вважається, що вітамін Д регулює імунну відповідь через супресію



продукції запальних цитокінів та інфільтрації лейкоцитів, чим зменшує запальний процес [115]. Також у дослідженнях Pender було показано, що дефіцит вітаміну Д може знижувати можливості імунної системи до продукції CD8<sup>+</sup> Т-клітин та підвищувати співвідношення CD4/CD8, що знижує противірусний захист організму [153]. Cantorna та співавт. у своєму дослідженні *in vivo* показали інгібуючий вплив активного метаболіту 1,25-дигідроксивітаміну Д на проліферацію Т-клітин, інгібування продукції IFN- $\gamma$ , IL-17 та індукції IL-4 [69].

Вітамін Д та його метаболіти здійснюють імуномодулюючий ефект у дихальних шляхах проти вірусної інфекції. Показано, що епітеліальні клітини респіраторного тракту експресують CYP27B1, фермент цитохрому P450 1 $\alpha$ -гідроксилазу, який бере участь у перетворенні неактивної форми вітаміну 25(OH)Д в активну форму 1,25-дигідроксивітаміну Д та призводить до місцевої активації вітаміну у клітинах легень та підвищення експресії вітамін Д-регульованих генів, що виконують імуномодуляторну функцію [105, 106].

Toll-подібні рецептори (TLR) відіграють ключову роль у розпізнаванні патогенів та запуску запальної відповіді на інфекцію. Метаболіти вітаміну Д пригнічують функцію TLR, таким чином здійснюючи протизапальний ефект та стимулюючи протимікробний захист [185]. Liu та співавт. показали, що TLR активація макрофагів підвищує експресію рецепторів вітаміну Д (VDR) та гену CYP27B1, що призводить до активації антимікробного пептиду кателіцидину та внутрішньоклітинної елімінації *Mycobacterium tuberculosis* [129].

Відомо, що вітамін Д пригнічує запальні цитокіни. У дослідженні Khare та співавт. на епітеліальних клітинах легень людини, заражених вірусом грипу H1N1, показано, що 1,25(OH)<sub>2</sub>Д знижує рівень запальних цитокінів TNF- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IL8, IL6, секрецію яких зумовив вірус [120, 209]. Також вітамін Д може посилювати секрецію прозапальних хемокінів CXCL8 та CXCL10 [66], що може суттєво вплинути на противірусний захист дихальних шляхів.

Така активна участь метаболітів вітаміну Д у регуляції імунної відповіді на інфекційні агенти в дихальних шляхах викликає інтерес до вивчення механізмів дії та клінічного значення цієї речовини для різної респіраторної патології [125,

198]. Наприклад, було показано, що здорові діти із дефіцитом вітаміну Д були більш схильні до тяжчого перебігу респіраторної інфекції верхніх та нижніх дихальних шляхів [96, 142].

Окремий інтерес до вітаміну Д та його позаскелетних ефектів виникає і для пацієнтів із МВ. Дефіцит вітаміну Д досить поширений серед цієї групи хворих. За даними різних зарубіжних досліджень, недостатність вітаміну Д (нижче 30 нг/мл) спостерігається у 23-95 % хворих, навіть не зважаючи на додаткову підтримку препаратами [76, 101, 149].

Виникнення цього стану обумовлене розвитком підшлункової екзокринної недостатності, порушенням всмоктування жиророзчинних вітамінів, виснаженням запасів жирової тканини, порушенням метаболізму вітаміну Д, зниженням фізичної активності, зниженням вмісту вітамін Д-зв'язуючого протеїну [103]. Враховуючи імуномодулюючу дію вітаміну Д та схильність до зниження його вмісту у хворих на МВ, зумовленого патогенезом хвороби, не можна виключити, що цей вітамін може бути залучений до патогенезу ураження легень та зниження їх функції.

У експериментальній тваринній моделі гострого ураження легень, зумовленого дією ліпополісахаридів (ЛПС), які є важливою складовою бактерій, було показано, що  $1\alpha,25$ -дигідроксивітамін Д володіє протизапальною дією та інгібує рекрутинг нейтрофілів у легенях на 40 % [182]. У іншому дослідженні, де на клітинній моделі МВ дихальних шляхів, обробленій ЛПС *Pseudomonas aeruginosa*, вивчався вплив  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  на запальний процес, показано, що лікування  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  асоціювалось із значним скороченням секреції IL-6 та IL-8 [143].

Також цікавим з точки зору патогенезу МВ є вплив метаболітів вітаміну Д на функціонування гену CFTR. DiFranco та співавт. у своєму дослідженні на мишачих моделях показали, що такі метаболіти, як  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  та  $25(\text{OH})\text{D}$  здатні підвищувати експресію мРНК даного гена та синтез його продукту в епітелії дихальних шляхів [88].

Вивчався протизапальний ефект різних форм вітаміну Д і серед пацієнтів із

МВ. У РКД, проведеному Olszowiec-Chlebna та співавт., досліджувався вплив різних форм вітаміну Д серед хворих на МВ із хронічною інфекцією *Pseudomonas aeruginosa* та з'ясовано, що всі аналоги вказаного вітаміну володіють протизапальним ефектом та зменшують вміст ІЛ-17А та ІЛ-23 у дихальних шляхах [150]. Серед МВ пацієнтів із алергічним бронхопультмонарним аспергільозом також було виявлено асоціацію зі зниженим рівнем вітаміну Д, а саме 25(ОН)Д, порівняно із неінфікованою групою пацієнтів [123].

При вивченні вмісту метаболітів вітаміну Д серед групи пацієнтів із МВ залежно від клінічних проявів було показано, що дефіцит цієї речовини пов'язаний із підвищенням легневих загострень, бактеріальної інфекції та запалення.

У кількох дослідженнях була показана значна асоціація між рівнем забезпеченості вітаміном Д та кількістю легневих загострень у хворих на МВ. Так, у пацієнтів із низьким рівнем 25(ОН)Д спостерігалась значно більша кількість річних загострень та госпіталізацій порівняно з дітьми з достатнім забезпеченням 25(ОН)Д [190]. Такі самі висновки були опубліковані і в інших подібних дослідженнях [140, 197].

Проведені дослідження з вивчення зв'язків між рівнем 25(ОН)Д та показниками дихальної функції легень показали, що між ними існує позитивний кореляційний зв'язок. Хворі на МВ із зниженим 25(ОН)Д нижче 20 нг/мл показували значно нижчі рівні ОФВ1 в динаміці протягом року порівняно з тими, хто мав вміст 25(ОН)Д вище 30 нг/мл [130]. У дослідженні Timmers та співавт. були отримані подібні результати та виявлено значний зв'язок між забезпеченням вітаміном Д та показниками спірометрії [186].

У наукових джерелах також наведені дослідження, де вказується асоціація дефіциту вітаміну Д із загрозливою бактеріальною інфекцією, яка пресистує у дихальних шляхах хворих на МВ. Дослідження *in vitro* на клітинній культурі бронхіального епітелію хворих на МВ показали, що вітамін Д підвищує активність АМП кателіцидину проти *Pseudomonas aeruginosa* [61], колонізація якої значно знижує легневу функцію та посилює тяжкість МВ. Така асоціація

вивчалась і серед групи дітей із МВ, та було виявлено, що діти із недостатнім забезпеченням вітаміном Д достовірно частіше мали інфекцію *Pseudomonas aeruginosa* [174].

З огляду на позитивний вплив вітаміну Д на стан респіраторної системи рекомендується як для дорослих, так і для дітей із МВ підтримка рівня 25(ОН)Д в сироватці крові не менше 30 нг/мл шляхом додаткового прийому препаратів вітаміну Д3 у дозі 800-2000 МО щодня [76].

За останнє десятиліття інтерес до вивчення системи захисту дихальних шляхів значно посилюється. Важлива роль у цій системі відводиться епітелію дихальних шляхів, на поверхні якого відбувається взаємодія між зовнішніми агентами та системою захисту організму. Епітеліальний шар дихальних шляхів є першою точкою контакту між внутрішнім середовищем організму та речовинами, що вдихаються з повітрям. Це перший бар'єр, що стоїть на захисті організму [51] між зовнішнім та внутрішнім середовищем та здійснює циліарний кліренс, забезпечує гідратацію поверхневого шару, регулює транспорт іонів та рідини, секрецію слизу залозами [107]. Крім функції неспецифічного імунітету, епітеліальний шар забезпечує захист проти мікроорганізмів, стимулюючи відповідь адаптивного імунітету.

Епітелій дихальних шляхів сприймає бактеріальний вплив і відповідає на нього, активуючи захисні механізми. Ця відповідь полягає у вивільненні в просвіт дихальних шляхів хемокінів і цитокінів, що ініціює запальну реакцію. Запальна реакція включає рекрутинг фагоцитів, що сприяють видаленню мікроорганізмів, які не були видалені війками епітелію механічно, і дендритні клітини та лімфоцити, які допомагають підвищити адаптивну імунну відповідь [51]. Одним із найважливіших механізмів захисту першої лінії проти патогенних агентів, з якими контактує організм, є антимікробні пептиди.

Антимікробні пептиди – ефекторні молекули, частина еволюційно збереженої вродженої імунної системи, які володіють множинними ефектами та здійснюють антимікробний, протигрибковий, протипаразитарний та противірусний захист. АМП залучаються в запальний процес не лише як

ендогенні антибіотики, але і як медіатори запалення [111].

АМП присутні в різних організмах, включаючи бактерії, гриби, рослини, а також у всіх видів ссавців. Вони експресуються специфічними генами та є конститутивними внаслідок дії зовнішніх факторів. АМП складаються із катіонних та гідрофобних амінокислот та мають катіонні (позитивно заряджені) та амфіфільні (як гідрофільні, так і гідрофобні) характеристики. Катіонні АМП, як правило, є позитивно зарядженими спіральними поліпептидами з короткими амінокислотними послідовностями (менше 100 амінокислотних залишків), включаючи велику кількість позитивно заряджених амінокислот лізину та аргініну [52].

Амфіфільні пептидні молекули мають вигляд  $\alpha$ -спіралі з гідрофобними та гідрофільними половинками і демонструють свою амфіфільність під час взаємодії з мембранами бактеріальних клітин. Ці пептиди згортаються в амфіпатичні  $\alpha$ -спіралі з гідрофільною та гідрофобною сторонами при адсорбції двошаровими ліпідними мембранами. Позитивно заряджені АМП взаємодіють з негативно зарядженими клітинними мембранами за допомогою електростатичної взаємодії, адсорбуються мембраною та підлягають конформаційній зміні. Вони зв'язуються з поверхнями мембрани своїми гідрофобними сторонами, закріпленими в гідрофобному ліпідному ядрі двошару [50].

Кількість катіонних зарядів цих пептидів пов'язана з антибактеріальною активністю, і їх гідрофобність визначає їх гемолітичну активність. Існує кілька механізмів, що пояснюють дію АМП, включаючи модель тороїдальних пор, модель «бочок» та «килимову» модель [51].

Більшість АМП діють на бактерії шляхом збільшення проникності цитоплазматичної мембрани. Першим кроком у механізмі мембранної проникності є електростатична взаємодія позитивно заряджених АМП з негативно зарядженими поверхнями мікробних мембран. Подальше пошкодження мембран спричинене утворенням пор у мікробних мембранах та витоком іонів, різних метаболітів та вмісту клітини, що, в підсумку, призводить до загибелі мікробної клітини [56]. Існує механізм руйнування бактеріальної клітини без утворення

перфорацій у мембрані. В такому випадку АМП зв'язуються з поверхнею мембран та викликають загибель клітин, порушуючи нормальні фізіологічні функції, такі як реплікація ДНК, транскрипція РНК або синтез білка.

Також описується внутрішньоклітинний бактерицидний ефект АМП. Деякі з них можуть проникати через мембрани бактеріальних клітин у цитоплазму та впливати на біохімічні процеси клітин і тим самим пригнічувати життєдіяльність бактерії, зв'язуючись та пошкоджуючи її ДНК. Деякі катіонні АМП взаємодіють з мітохондріями бактерій та призводять до витоку АТФ без лізису клітин, блокують мітохондріальне дихання та окислення фосфоліпідів, зумовлюючи пошкодження мембрани мітохондрій та плазматичної мембрани, витікання нуклеотидів та загибель клітин [63]. Такі антимікробні пептиди можуть посилювати протиінфекційний захист організму, хоча безпосередньо не призводять до загибелі бактерій. Окрім прямої протимікробної дії, АМП демонструють протизапальні властивості, хемотактичну активність, стимулюють експресію цитокінів та хемокінів, та модулюють дозрівання дендритних клітин [135].

В наш час відомо кілька тисяч різноманітних АМП природного та синтетичного походження. АМП є важливими компонентами вродженого імунітету. Вони можуть протистояти вторгненню чужорідних мікроорганізмів і мають більш широкий спектр антибактеріальних властивостей порівняно з традиційними антибіотиками [111]. Антибіотики здійснюють прямий антибактеріальний вплив, тривале та часте їх використання може призвести до бактеріальної мутації та стійкості до антибактеріальних препаратів, що значно погіршує ефективність лікування бактеріальних інфекцій.

Катіонні АМП - це тип пептидів, які, на відміну від традиційних антибіотиків, взаємодіють з мембранами бактеріальних клітин нейтралізуючи їх заряд та, проникаючи крізь них, спричинюють загибель бактерій, зменшуючи можливість розвитку резистентності. Окрім того, АМП демонструють широкий спектр дії, а саме, антибактеріальної, протигрибкової та антивірусної активності, тому мають значні переваги перед традиційними антибіотиками [52]. Також, АМП мають низьку бактерицидну концентрацію, ефективні у застосуванні проти

резистентних до традиційних антибіотиків штамів та здійснюють синергічний ефект нейтралізації ендотоксину [51]. АМП безпечні, не мають токсичних побічних ефектів та не викликають резистентність бактерій, тому представляють потенційно новий метод лікування інфекційних захворювань, викликаних стійкими до антибіотиків бактеріями.

Було показано, що АМП можуть широко використовуватись. Наприклад, даптоміцин, один з аніонних АМП, використовується для лікування шкірних інфекцій, спричинених грампозитивними бактеріями. Цей пептид показав інгібуючу дію на резистентні до антибіотиків тифоїдну паличку та золотистий стафілокок [201]. Також в багатьох дослідженнях було продемонстровано, що ракові клітини більш чутливі до АМП, ніж звичайні клітини. Цитоскелет ракових клітин недостатньо розвинений у порівнянні з нормальними клітинами, тому катіонні АМП легше зв'язуються з фосфоліпідами на зовнішніх поверхнях ракових клітин, утворюють іонні канали та руйнують їх [111].

Усі АМП поділяють на дві основні групи, залежно від амінокислотного складу та структури. Одна підгрупа складається з лінійних молекул з  $\alpha$ -спіральною структурою і без цистеїну, а інша – з цистеїнмісних поліпептидів, які утворюють дисульфідні містки. У людини знайдено лише два підвиди АМП – кателіцидини та дефензини, які відрізняються між собою структурою. Сімейство дефензинів є невеликими катіонними пептидами, багатими на цистеїн. Сімейство кателіцидинів має подібні функціональні домени кателіну. Вони є важливим підсімейством АМП ссавців і здійснюють біологічний вплив проти бактерій, вірусів та грибів [156]. Ці пептиди мають великий потенціал при дослідженні та розробці протимікробних лікарських засобів.

У людини виявлений лише один ген кателіцидину – CAMP. CAMP кодує пептид LL-37, який починається з двох залишків лейцину на своєму N-кінці та має довжину 37 залишків з молекулярною масою 18 кДа. Він також відомий як hCAP-18, FALL-39 або CAMP - людський катіонний протимікробний пептид. LL-37 експресується в різних клітинах і тканинах, таких як циркулюючі нейтрофіли та клітини мієлоїдного кісткового мозку, епітеліальні клітини шкіри, а також

експресується в шлунково-кишковому тракті, в придатках яєчок та легенях. Експресія виявлена також у плоскому епітелії рота, язика, стравоходу, а також в епітелії слизової оболонки товстої кишки та бронхів [52].

АМП широко представлені в дихальній системі, адже саме через поверхневий шар легень відбувається масивний контакт організму із зовнішнім середовищем, тому ретельний захист від сторонніх тіл та організмів має важливе значення. У легенях знайдено такі АМП, як нейтрофільні  $\alpha$ -дефензини,  $\beta$ -дефензини та кателіцидин людини hCAP18/LL-37. Експресія цих пептидів в епітеліальних клітинах може індукуватись бактеріями, пошкодженням, цитокінами, факторами росту або мікронутрієнтами [112]. Також нейтрофіли та макрофаги є джерелом АМП, які діють як внутрішньоклітинно в фаголізосомах, так і позаклітинно, вивільняючись із клітин самостійно або у складі нейтрофільної позаклітинної пастки у процесі нетозу [147].

Експресія генів антимікробних пептидів регулюється кількома механізмами. Було показано, що експресія hBD-2, hBD-3, hBD-4, LL-37 збільшується внаслідок контакту клітин з мікробними продуктами або прозапальними медіаторами [50].

У багатьох дослідженнях було продемонстровано здатність кателіцидину до захисту респіраторного тракту від широкого спектру бактерій. Кателіцидини бичачого походження (VMAP-27, VMAP-28) порівнювались із тобраміцином за своєю здатністю *in vitro* інгібувати бактеріальний ріст штамів *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, та *Stenotrophomonas maltophilia*, отриманих від пацієнтів із МВ, та показали ефект, рівний антибіотику, а також здатність до зменшення біоплівки [156]. Така ж протисиньогнійна та антибіоплівкова дія була продемонстрована і в інших дослідженнях [56, 201].

Проведені дослідження на тваринах також показали високу протимікробну ефективність АМП. У дослідженні Vanaschewski та співавт. тваринам, які були попередньо інфіковані кількома штамми бактерій, взятих від хворих на МВ, вводили курячий кателіцидин CATN-2 та оцінювали протимікробну та протизапальну дію. CATN-2 виявив себе як потенційний антимікробний та протизапальний засіб [53]. Також на тваринній моделі гострого запалення легень,



зумовленого *P. aeruginosa*, було показано кателіцидин-опосередкований бактеріальний кліренс та модуляцію запалення в легенях [57].

Такі успіхи у лабораторних дослідженнях спонукали до вивчення властивостей АМП серед пацієнтів із респіраторною патологією. Так, серед дорослих із ХОЗЛ, яким вимірювали рівень кателіцидину та ІЛ-8, ІЛ-6 в мокротинні та сироватці крові, було виявлено значне підвищення кателіцидину порівняно із здоровими людьми, та значне його підвищення при загостренні ХОЗЛ. Також високі рівні кателіцидину асоціювались із підвищенням рівня запальних маркерів та колонізацією *Haemophilus influenzae* [154]. Вивчення рівня дефензинів у хворих на еозинофільну пневмонію також показало значне їх підвищення порівняно із групою здорових людей [46].

Вивчення легеневої функції серед хворих на ХОЗЛ виявило зв'язок між рівнем кателіцидину та зниженою функцією зовнішнього дихання, а саме із ОФВ1, тому авторами було зроблено припущення, що визначення кателіцидину в сироватці крові може виявляти хворих із тяжким перебігом ХОЗЛ [67].

Дані щодо дії АМП у хворих на МВ досить обмежені. Є дослідження, де показано, що миші з видаленим cathelin-подібним антимікробним протеїном-18, щурячий гомолог LL-37, демонстрували більш виражене інфікування після шкірного введення бактерій. З іншого боку, надмірна продукція LL-37 за допомогою вірусного переносу гена призводить до збільшення вродженого захисту організму у бронхіальній ксенотрансплантатній моделі муковісцидозу і у тваринних моделях пневмонії і септичного шоку [52]. Chen та співавт. опублікували працю, де встановили кореляцію між рівнем LL-37 у бронхоальвеолярних змивах хворих на МВ та тяжкістю ураження легень і запальними процесами у бронхах [73].

Як було вказано вище, мутації в гені CFTR спричиняють дисфункцію вродженої захисної системи організму легень. Це призводить до ранніх та тяжких форм хронічної хвороби дихальних шляхів, яка характеризується запальним процесом з нейтрофільним переважанням, в результаті яких прогресує ураження легень із розвитком бронхоектазів та пневмофіброзу [81]. У ряді публікацій було

показано, що кателіцидин бере безпосередню участь у розвитку запальної реакції в легенях та є важливою ефекторною речовиною.

У багатьох дослідженнях зазначається, що кателіцидин може індукуватися вітаміном Д в епітеліальних клітинах бронхів [44, 167]. Це відбувається шляхом сигналювання через рецептори вітаміну Д, які експресуються на багатьох клітинах, в тому числі імунних. Припускається, що метаболіти вітаміну Д через VDR підвищують здатність макрофагів та інших імунних клітин до посилення протимікробного захисту та координації різноманітних біологічних реакцій, включаючи імунну та запальну активність. В результаті через такий шлях можуть активуватись АМП.

VDR були знайдені на моноцитах/макрофагах, які здатні до експресії 1- $\alpha$ -гідроксилази, ферменту, що перетворює неактивний метаболіт вітаміну Д 25(OH)Д на 1,25(OH)<sub>2</sub>Д, який сприяє диференціації моноцитів [59]. 1,25(OH)<sub>2</sub>Д також активує сигнальний шлях, включаючи TLR2/1, TLR8, IL-12 та IL-18. Це активує місцеве сигналювання VDR, яке, в свою чергу, посилює такі автономні механізми захисту, як секреція кателіцидину, аутофагія, продукція IFN- $\gamma$  [207]. Активний метаболіт вітаміну Д 1,25(OH)<sub>2</sub>Д підвищує експресію кателіцидину в різних клітинах, включаючи кератиноцити, епітеліальні клітини, моноцити /макрофаги [179].

У літературних джерелах було показано, що кателіцидин функціонує як регулятор та ефектор вітамін Д-опосередкованої антимікробної відповіді, особливо на мікобактерії. Liu та співат. [129] показали, що TLR2/1 призводить до підвищення експресії генів VDR та 1,25(OH)<sub>2</sub>Д, зумовлює вітамін Д-опосередковану індукцію кателіцидину та знищення внутрішньоклітинної *Mycobacterium tuberculosis*. Недавні дослідження показали, що 1,25(OH)<sub>2</sub>Д безпосередньо активує транскрипцію IL-1 $\beta$ , зменшуючи мікобактеріальне навантаження в макрофагах через епітеліальну продукцію антимікробного пептиду DEFB4 / HBD2, керовану IL-1 $\beta$  [192]. Такі дослідження показують, що АМП, індуквані метаболітами вітаміну Д у відповідь на інфекційні агенти, можуть служити антимікробним імунним ефектором для активації захисту

респіраторного тракту.

Таким чином, взаємодія між метаболітами вітаміну Д та антимікробним пептидом кателіцидином грає важливу роль у протимікробному захисті організму, регуляції аутофагії та модуляції імунної відповіді в багатьох клітинах організму проти різних патогенних інфекцій та бере участь у розвитку запальних захворювань. Вітамін Д-опосередкована активація сигналювання VDR та пов'язана з цим індукція кателіцидину на сьогодні є досить вивченою захисною реакцією.

Кателіцидин бере участь у функціонуванні імунної системи впливаючи на механізми клітинно-автономного захисту та одночасно підтримуючи рівновагу запалення під час інфікування. Комплекс вітамін Д - кателіцидин взаємодіє з іншими ефекторними системами, такими як аутофагія та лізосомальна функція, створюючи баланс та запобігаючи надмірній імунній реакції проти різноманітних патогенів.

Однак, залишається багато відкритих питань, зокрема, які фактори беруть участь у скоординованому контролі вродженого та адаптивного імунітету та впливають на захисні імунні реакції під час інфекційного процесу, а також важливою темою для досліджень є вивчення ролі вітаміну Д та антимікробних пептидів у патогенезі різних захворювань.

В літературних даних описано імуномодулюючий ефект метаболітів вітаміну Д при респіраторній патології у дітей та їх зв'язок із тяжкістю перебігу цих захворювань. Різноманітні ефекти, що здійснюються через взаємодію цих метаболітів із VDR, викликають науковий інтерес та активно вивчаються. В експериментальних моделях показана дія антимікробних пептидів, зокрема кателіцидину, у дихальних шляхах проти таких патогенів як *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*. Також доведено вплив метаболітів вітаміну Д на експресію кателіцидину людини та його протимікробні властивості.

Враховуючи, що у пацієнтів із МВ респіраторна інфекція грає важливу роль у патогенезі та клінічному перебігу хвороби, а також дослідженнями встановлено, що хворі схильні до зниження рівня вітаміну Д, який бере участь у регуляції

синтезу АМП кателіцидину, можна зробити припущення про їх патогенетичний зв'язок. Це припущення потребує подальшого вивчення, особливо серед хворих на МВ.

Таким чином, незважаючи на велику кількість публікацій та цікавість науковців до проблеми, залишаються невирішені питання щодо використання 25(ОН)Д та кателіцидину у якості маркерів визначення тяжкості та прогнозування перебігу МВ у дітей, що зумовлює актуальність дослідження.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Робота була виконана на кафедрі педіатрії №2 Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова впродовж 2017-2020 рр. на базі пульмонологічного відділення Вінницької обласної дитячої клінічної лікарні, Західноукраїнського спеціалізованого дитячого медичного центру м. Львова, у пульмонологічному відділенні Чернігівської обласної дитячої клінічної лікарні, клінічної лабораторії обласної дитячої клінічної лікарні м. Вінниці, науково-дослідної клініко-діагностичної лабораторії кафедри біологічної та загальної хімії ВНМУ ім. М. І. Пирогова (свідоцтво МОЗ України про атестацію № 049/15 від 02.03.2015р.) (завідувач - д.мед.н., професор Заїчко Н. В.).

Усі дослідницькі процедури, передбачені дизайном дослідження, розпочинали після підписання пацієнтом та його законними представниками інформованої згоди та були проведені із дотриманням етичних принципів щодо людей, які виступають суб'єктами дослідження з урахуванням основних положень GCP ICH та Хельсинської декларації Всесвітньої медичної асоціації з біомедичних досліджень, де людина виступає їх об'єктом (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, 2000, 2008), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (2007 р.) і рекомендацій Комітету з біоетики при Президії НАМН України (2002 р.). Отримано позитивний висновок комісії з біоетики Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова (протокол № 9 від 12.10.2020р.).

Дизайн був розроблений відповідно до поставленої мети та завдань дослідження. Для досягнення мети та вирішення поставлених завдань проведено комплексне клінічне та лабораторно-інструментальне обстеження 84 дітей віком від 2 місяців до 18 років, хворих на муковісцидоз, які увійшли до основної групи дослідження.

Верифікацію діагнозу муковісцидоз проводили згідно з сучасними

діагностичними критеріями, розробленими Європейською спілкою муковісцидозу (ECFS) [70] та згідно з рекомендаціями з діагностики МВ Американської Фундації Муковісцидозу (CFF) [92] та наказу МОЗ України № 723 від 15.07.2016 р. “Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги хворим на муковісцидоз”.

Критерії включення до основної групи:

- діти, хворі на муковісцидоз, віком до 18 років;
- діти, хворі на муковісцидоз, в періоді загострення та в періоді ремісії;
- діти із підтвердженим діагнозом муковісцидозу двома позитивними потовими пробами за Гібсоном-Куком;
- діти із підтвердженим діагнозом муковісцидозу шляхом виявлення двох клінічно значимих мутантних алелів гену CFTR;
- згода пацієнта та його законних представників на участь у дослідженні.

Критерії виключення:

- діти з підозрою на муковісцидоз, який на момент обстеження ще не підтверджений двома позитивними потовими пробами та/або виявленими двома мутаціями гену CFTR;
- діти з типовими клінічними проявами, які мають два негативних результати потової проби, та не виявленими двома клінічно значимими мутаціями гену CFTR;
- відмова пацієнта або його законних представників від участі у дослідженні.

Отримані результати лабораторного обстеження основної групи були порівняні із аналогічними обстеженнями групи дітей, які склали групу контролю. До зазначеної групи увійшло 40 практично здорових дітей, у яких в анамнезі та на момент обстеження не було виявлено гострих або хронічних бронхолегеневих захворювань, захворювань серцево-судинної, сечовивідної, травної, кісткової

систем. Діти контрольної групи не отримували препарати вітаміну Д та кальцію. Для всіх обстежених забір крові для визначення 25(ОН)Д відбувався у літні місяці.

### **2.1. Методи дослідження та статистичного аналізу**

Згідно з розробленим дизайном нами застосовано такі методи дослідження: клініко-анамнестичний метод (були зібрані скарги, анамнез життя та захворювання та спадковий анамнез, при об'єктивному обстеженні відзначали наявність та відсутність таких симптомів та синдромів, як дихальна недостатність, задишка, кашель, наявність в'язкого густого мокротиння, ціаноз, затримка фізичного розвитку, втрата маси тіла, деформація пальців у вигляді «барабанних паличок», «годинникових скелець», стеаторея, поліфекалія); лабораторний (визначення загального білірубіну з фракціями, АлТ, АсТ, загальний білок крові, загальний холестерин, лужна фосфатаза, електроліти крові Na, K, Cl); імунохімічні показники (вміст 25-гідроксихолекальциферолу та антимікробного пептиду кателіцидину LL-37); оцінка потового тесту; копрограма (загальні жирні кислоти, тригліцериди, нейтральні жири), оцінка рівня фекальної еластази-1; бактеріологічний метод (посів мокротиння, яке виділяли хворі, для кількісного та якісного визначення колонізуючих мікроорганізмів); оцінка результатів ДНК-діагностики; інструментальні методи (RÖ-обстеження ОГК, спірометрія (визначення показників функції зовнішнього дихання); методи статистичної обробки результатів дослідження (варіаційної статистики та кореляційно-регресійного аналізу з визначенням вірогідності безпомилкового прогнозу).

Загальноклінічні, лабораторні, інструментальні методи дослідження, бактеріологічний аналіз мокротиння проводилися загальновизнаними методами.

Оцінка тяжкості муковісцидозу проводилась за бальною шкалою Швахмана-Кульчицького. Інтерпретація відбувалась за сумою балів, яку діти отримували при оцінці загальної активності, клінічних ознак, таких як кашель, задишка, деформація грудної клітки, аускультативних даних, наявність «барабанних паличок» та «годинникових скелець», оцінці фізичного стану, тобто маси тіла та зросту, характеру випорожнень, стану печінки та селезінки, та оцінці

рентгенологічних змін легень (додаток В). Суми балів 100 – 86, 85 – 71 та 70 – 56 інтерпретувались як відмінний, хороший та задовільний стан і були об'єднані у групу легкого перебігу, у дітей із сумою балів 41 – 55 стан розцінювався як середньої тяжкості, та тяжкий – 40 балів і менше.

Оцінка фізичного розвитку проводилась на основі антропометричних показників згідно із клінічними настановами із ведення хворих на МВ [35, 70]: маси тіла та зросту, а також проведеного розрахунку індексу маси тіла (ІМТ). Вимірювання антропометричних показників проводилось згідно з загальноприйнятими правилами. Розрахунок ІМТ проводився за наступною формулою:  $ІМТ = \text{маса тіла (кг)} / \text{зріст (м}^2\text{)}$ . Оцінка отриманих значень проводилась за графіками розвитку дітей «маса тіла до віку», «зріст до віку» та «ІМТ до віку», затвердженими ВООЗ.

У хворих при госпіталізації проводили забір 5 мл венозної крові та, шляхом центрифугування протягом 15 хв зі швидкістю 2000 обертів на хвилину отримували плазму, яку заморожували при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  у мікропробірках Еппендорф до проведення дослідження. Гемолізовані, ліпемічні зразки сироватки крові та зразки зі згортками не досліджувались. Забір крові для досліджень проводився кваліфікованими спеціалістами в клінічних умовах із дотриманням усіх правил медичної асептики та антисептики.

Вміст 25-гідроксихолекальциферолу (25(OH)D) в сироватці крові визначали імуноферментним методом за набором “25-OH-Vitamin D-ELISA” (BioVendor, Німеччина) у відповідності до інструкції фірми-виробника. В лунки планшетів, на стінках яких адсорбовані антитіла до 25-OH-Vitamin D, додавали по 200 мкл стандартних розчинів (з концентраціями 25-OH-Vitamin D - 0; 4; 10; 25; 60; 120 нг/мл), 200 мкл контрольних розчинів 1 та 2, 200 мкл проб сироватки крові (попередньо розведених 1:26 біотиноловим буфером), герметизували адгезивною плівкою, інкубували 120 хвилин при  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Далі лунки 3 рази промивали буферним розчином, вносили 100 мкл ензимного кон'югату (стрептавідин-пероксидази), перемішували, закривали лунки адгезивною плівкою. Інкубували 30 хв. при  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  для утворення на твердій фазі комплексу АТ-АГ-АТ-ензим. Лунки



відмивали від надлишку незв'язаних реагентів, вносили в них по 100 мкл хромогенного субстрату. Перемішували, інкубували 15 хв. при 25 °С, реакцію зупиняли 100 мкл стоп-розчину і фотометрували при 450 нм (диференційний фільтр 630 нм) на автоматичному аналізаторі STAT FAX 303/PLUS. Чутливість набору – 1,6 нг/мл, коефіцієнт варіації < 8 %.

Отримані результати визначення 25(ОН)Д оцінено відповідно до референтних значень, встановлених Американською Фундацією Муковісцидозу (CFF) [183], що відповідали наступним критеріям: 30 нг/мл та більше – оптимальний рівень, 20 – 30 нг/мл – субоптимальний рівень та нижче 20 нг/мл – дефіцит.

Вміст антимікробного пептиду LL-37 в сироватці крові визначали імуноферментним методом за набором “Human LL-37 ELISA kit” (Hycult Biotech, Нідерланди) у відповідності до інструкції фірми-виробника. LL-37 є антимікробним С-кінцевим пептидом катіонного антимікробного протеїну людини hCAP-18 із родини кателіцидинів. В лунки планшетів, на стінках яких адсорбовані антитіла до LL-37, додавали по 100 мкл стандартних розчинів (з концентраціями LL-37 - 0; 0,1; 0,4; 1,2; 3,7; 11; 33 та 100 нг/мл), 100 мкл проб (1:10), герметизували адгезивною плівкою, інкубували 60 хвилин при 25 °С. Далі лунки 4 рази промивали буферним розчином, вносили 100 мкл біотинолових антитіл, інкубували 60 хвилин при 25 °С. Далі лунки 4 рази промивали буферним розчином, вносили 100 мкл ензимного кон'югату (стрептавідин-пероксидази), перемішували, закривали лунки адгезивною плівкою. Інкубували 60 хв. при 25 °С для утворення на твердій фазі комплексу АТ-АГ-АТ-ензим. Лунки відмивали від надлишку незв'язаних реагентів, вносили в них по 100 мкл хромогенного субстрату. Перемішували, інкубували 15 хв. при 25 °С, реакцію зупиняли 100 мкл стоп-розчину і фотометрували при 450 нм (диференційний фільтр 630 нм) на автоматичному аналізаторі STAT FAX 303/PLUS. Чутливість набору < 0,1 нг/мл, коефіцієнт варіації < 10 %.

Отримані результати визначення кателіцидину LL-37 за відсутності референтних значень були розділені на наступні квартилі: I квартиль (менше

18,90 нг/мл), II кuartиль (18,91 – 25,60 нг/мл), III кuartиль (25,61 – 31,50 нг/мл) та IV кuartиль (більше 31,51 нг/мл).

Лабораторне визначення 25(OH)Д та кателіцидину LL-37 було виконане на кафедрі біологічної та загальної хімії НДКДЛ ВНМУ ім. М.І. Пирогова (свідоцтво МОЗ України про атестацію №049/15 від 02.03.2015 р.).

Проведення спірометрії було обов'язковим для визначення функції зовнішнього дихання усім дітям, хворим на МВ, які досягли 5-річного віку та могли виконувати інструкції дослідника. Оцінювались наступні параметри: ФЖЄЛ (форсована життєва ємність легень), ПШВ (пікова швидкість видиху), індекс Тіффно, МОШ 25%, МОШ 50%, МОШ 75% (максимальна об'ємна швидкість повітря на рівні видиху 25, 50 та 75% ФЖЄЛ) та ОФВ<sub>1</sub> (об'єм форсованого видиху за першу секунду). Основним параметром тяжкості легеневих проявів був обраний показник ОФВ<sub>1</sub> як найбільш чутливий параметр [108], та інтерпретувався як «норма» при значеннях 80 % та вище, 65 – 79 % - «помірне порушення», 64 % та нижче – як «тяжке порушення».

Спірометрію проводили в першій половині дня, через кілька годин після сніданку. Безпосередньо перед процедурою пацієнт повинен був відпочивати не менше 15 хв. в сидячому положенні. За добу до проведення спірометрії пацієнтам необхідно було відмінити усі препарати, що впливають на функцію зовнішнього дихання. На ніс дитині одягали затиск, щоб запобігти витоку повітря, за допомогою загубника з'єднували досліджуваного зі спірографом. Протягом 5 хвилин дитина дихала спокійно і розмірено. Потім робила максимально глибокий видих, за ним – такий же за глибиною вдих і знову – видих, і знову – вдих. Для отримання достовірних результатів описані вище цикли проводились 3 рази.

Рентгенографія органів грудної клітки (ОГК) виконувалась в прямій та правій боковій проекції та оцінювалась за наступними критеріями: конфігурація грудної клітки, лінійні бронхіальні тіні, точкові, кільцеві тіні.

При госпіталізації усім дітям проводилось бактеріологічне обстеження мокротиння, яке відкашлювали хворі, а також здійснювався забір досліджуваного матеріалу із задньої стінки глотки. Відбір досліджуваного матеріалу проводили у

стерильні ємкості, зранку натще. Культивуація та бактеріоскопія зразків проводились у бактеріологічних лабораторіях лікарень, де були госпіталізовані обстежувані.

Для порівняльного аналізу даних основної групи нами були обстежені практично здорові діти контрольної групи, яким було виконано лабораторні обстеження (визначення 25(ОН)Д, кателіцидину LL-37, АЛТ, АСТ, загальний білірубін, загальний холестерин, лужна фосфатаза, електроліти Na, K, Cl) та інструментальні (спірометрія).

Отримані дані обстежень реєструвались у індивідуальних картах обстежених хворих, розроблених для дослідження.

Результати дослідження статистично оброблені за допомогою статистичної системи «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.

Нормальність розподілу вибірки проводили за допомогою статистичних критеріїв Шапіро-Уїлка для вибірок менше 50 спостережень та Колмогорова-Смірнова для великих вибірок, де при критичному рівні значущості  $p < 0,05$  відкидалась нульова гіпотеза про подібність розподілу досліджуваної вибірки.

Отримані дані представлені за допомогою методів описової статистики у вигляді середньої арифметичної (M), стандартної помилки середнього (m), якісні дані пердставлені у вигляді частоти прояву ознаки (%).

Для порівняння середніх значень вибірок із нормальним розподілом застосовували t-критерій Стьюдента із врахуванням величини ймовірності  $p < 0,05$ , що вказує на достовірну різницю між вибірками. Вірогідність відмінності між відносними величинами проводилася методом кутового перетворення Фішера. Між незалежними вибірками достовірність різниці визначали за допомогою U-критерію Мана-Уїтні.

Для визначення залежності між досліджуваними параметрами застосовували лінійний коефіцієнт кореляції (r). При оцінці кореляції враховували

напрямок та силу зв'язку. Слабкою вважали силу зв'язку при  $r$  від 0 до  $\pm 0,299$ , середньою -  $\pm 0,3$  до  $\pm 0,699$ , сильною -  $\pm 0,7$  до  $\pm 1$ . Кореляція вважалася значимою при  $p < 0,05$ .

Оцінку ступеня впливу факторних ознак проводили за показником відношення шансів (OR) із довірчим інтервалом 95 %. Для перевірки нульової гіпотези використовували  $\chi^2$ -кватдрат ( $\chi^2$ ) для вибірок, де  $n > 5$ ,  $\chi^2$  з поправкою Йейтса для вибірок  $n < 5$ , із визначенням достовірності при  $p < 0,05$ .

При встановленні діагностичної цінності тестів визначали їх чутливість (Se) та специфічність (Sp). З метою вивчення прогностичної цінності діагностичного методу для оцінки тяжкості МВ, ми використовували ROC-аналіз. Результати представляли у вигляді ROC-кривої із зазначенням площі під кривою (AUC), 95 % довірчого інтервалу та  $p$ -значенням.

Для розробки прогностичної моделі тяжкості перебігу МВ нами було використане рівняння логістичної регресії з двома предикторами. Для оцінки діагностичної цінності моделі було визначено чутливість і специфічність, також проведено зміщення порогу відсічення для збалансування даних параметрів. Точність моделі визначалась коефіцієнтом  $R^2$ , який має перевищувати 0,5 (50 %), щоб модель могла бути використана на практиці. Найдійність побудованої моделі визначалась  $p$ -значенням.

## **2.2. Клінічна та параклінічна характеристика обстежених хворих**

Серед обстежених дітей основної групи ( $n = 84$ ) за статтю переважали хлопчики та був наступний розподіл: 47 хлопчиків (55,95 %) та 37 дівчаток (44,05 %). Середній вік основної групи обстежених пацієнтів з МВ склав  $9,96 \pm 0,44$  роки (рис. 2.1).

Усі діти основної групи були розподілені за віком: 0-5 років ( $n = 10$ ), 6-11 років ( $n = 41$ ) та 12-17 років ( $n = 33$ ). Серед усіх вікових груп хлопчики та дівчатка зустрічались із рівномірною частотою та лише в групі дітей віком 0 – 5 років дівчатка достовірно переважали ( $p < 0,05$ ) (табл. 2.1).

В якості контрольної групи обстежено 40 практично здорових дітей віком від 2 до 18 років (середній вік  $10,9 \pm 0,67$  років), серед яких було 23 хлопчики

(57,50 %) та 17 дівчаток (42,50 %). До контрольної групи включали практично здорових дітей за умов відсутності скарг та об'єктивних ознак спадкових і хронічних захворювань, без відхилень показників при клініко-лабораторних, інструментальних дослідженнях, із відсутністю гострих інфекційних захворювань.

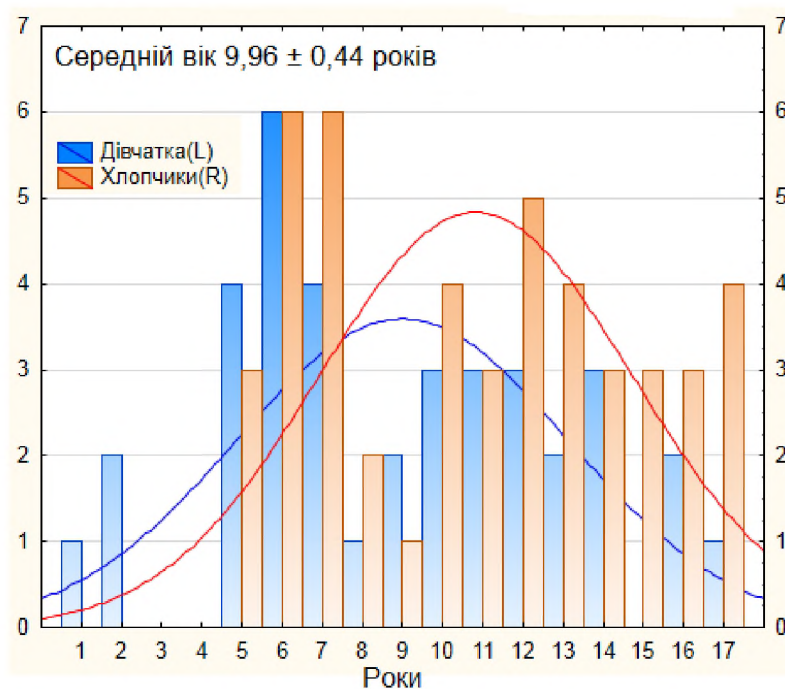


Рисунок 2.1 - Розподіл основної групи за віком та статтю.

Таблиця 2.1 - Розподіл обстежених дітей за віком та статтю

| Вік обстежених      | Основна група, n = 84 |       |          |        | Практично здорові діти, n = 40 |       |          |       |
|---------------------|-----------------------|-------|----------|--------|--------------------------------|-------|----------|-------|
|                     | Хлопчики              |       | Дівчатка |        | Хлопчики                       |       | Дівчатка |       |
|                     | n                     | %     | n        | %      | n                              | %     | n        | %     |
| 0-5 років, n = 10   | 3                     | 6,38  | 7        | 18,32* | 3                              | 13,04 | 2        | 11,76 |
| 6 -11 років, n = 41 | 22                    | 46,81 | 19       | 51,35  | 8                              | 34,78 | 6        | 35,29 |
| 12-17 років, n = 33 | 22                    | 46,81 | 11       | 29,73  | 12                             | 52,18 | 9        | 52,95 |
| Всього, n = 84      | 47                    | 55,95 | 37       | 44,05  | 23                             | 57,50 | 17       | 42,50 |

Примітка.\* -  $p < 0,05$  - різниця достовірна відносно групи хлопчиків 0 - 5 років.

Встановлено, що серед обстежених дітей, хворих на МВ, достовірно переважала форма із панкреатичною недостатністю як серед хлопчиків (46 - 97,87 %; 1 - 2,13 %;  $p < 0,001$ ) так і серед дівчаток (36 - 97,30 %; 1-2,70 %;  $p < 0,001$ ) (табл. 2.2).

Таблиця 2.2 - Розподіл дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від статі та форми захворювання

| Форма МВ                        | Стать               |        |                     |        | Всього,<br>n = 84 |        |
|---------------------------------|---------------------|--------|---------------------|--------|-------------------|--------|
|                                 | Хлопчики,<br>n = 47 |        | Дівчатка,<br>n = 37 |        |                   |        |
|                                 | n                   | %      | n                   | %      | n                 | %      |
| З панкреатичною недостатністю   | 46                  | 97,87* | 36                  | 97,30* | 82                | 97,62* |
| Без панкреатичної недостатності | 1                   | 2,13   | 1                   | 2,70   | 2                 | 2,38   |

Примітка. \* -  $p < 0,001$  - різниця достовірна відносно групи показників дітей без панкреатичної недостатності.

Для кожної дитини була проведена оцінка тяжкості перебігу МВ за шкалою Швахмана-Кульчицького. Слід зазначити, що серед хлопчиків та дівчаток однаково часто зустрічались легкий, середньотяжкий та тяжкий перебіг. При порівнні груп перебігу МВ за частотою з'ясовано, що діти із середньотяжким та тяжким перебігом зустрічались достовірно частіше, ніж із легким перебігом ( $n = 39 - 46,43$  %;  $n = 34 - 40,48$  % відповідно;  $p < 0,01$ ) (табл. 2.3).

Нами було оцінено частоту перебігу різної тяжкості МВ у кожній досліджуваній віковій групі (табл. 2.4). Так, діти віком 0-5 років із однаковою частотою мали як легкий, так і середньотяжкий та тяжкий перебіг хвороби. Серед групи дітей 6-11 років тяжкий перебіг зустрічався достовірно частіше (21 дитина - 61,77 %;  $p < 0,05$ ). У групі пацієнтів віком 12-17 років достовірно частіше зустрічались діти, що мали легкий перебіг МВ (7 дітей - 63,64 %;  $p < 0,05$ ).

Таблиця 2.3 - Розподіл дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від статі та ступеня тяжкості хвороби

| Тяжкість перебігу | Стать               |        |                     |         | Всього,<br>n = 84 |        |
|-------------------|---------------------|--------|---------------------|---------|-------------------|--------|
|                   | Хлопчики,<br>n = 47 |        | Дівчатка,<br>n = 37 |         |                   |        |
|                   | n                   | %      | n                   | %       | n                 | %      |
| Легкий            | 5                   | 10,64  | 6                   | 16,22   | 11                | 13,10  |
| Середньотяжкий    | 21                  | 44,68* | 18                  | 44,65*  | 39                | 46,43* |
| Тяжкий            | 21                  | 44,68* | 13                  | 35,14** | 34                | 40,48* |

Примітка 1. \* -  $p < 0,01$  - різниця достовірна між групами показників дітей із легким ступенем тяжкості.

Примітка 2. \*\* -  $p < 0,05$  - різниця достовірна між групами показників дітей із із легким ступенем тяжкості.

Таблиця 2.4 - Розподіл дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від віку та тяжкості хвороби

| Тяжкість перебігу | Вік        |       |              |        |               |        |
|-------------------|------------|-------|--------------|--------|---------------|--------|
|                   | 0 - 5 роки |       | 6 - 11 років |        | 12 - 17 років |        |
|                   | n          | %     | n            | %      | n             | %      |
| Легкий            | 1          | 9,09  | 3            | 27,27  | 7             | 63,64* |
| Середньотяжкий    | 5          | 12,84 | 17           | 43,58  | 17            | 43,58  |
| Тяжкий            | 4          | 11,76 | 21           | 61,77* | 9             | 26,47  |
| Всього            | 10         | 11,91 | 41           | 48,81  | 33            | 39,28  |

Примітка. \* -  $p < 0,05$  - різниця достовірна між групами показників дітей 0-5 років.

Було вивчено та проаналізовано анамнез обстежуваних дітей, визначено вік прояву перших симптомів МВ та співставлено із віком, коли захворювання було встановлене та підтверджене. З'ясовувалась наявність таких симптомів: кашель, поліфекалія, стеаторея, меконіальний ілеус, випадіння прямої кишки, затримка

фізичного розвитку.

Отримані дані показали, що МВ достовірно частіше діагностували у віці 0-3 роки ( $n = 60 - 71,43\%$ ;  $p < 0,01$ ). З усіх дітей  $92,86\%$  мали перші прояви МВ до 3 років, з них у 60 дітей ( $76,92\%$ ) діагноз було встановлено у тому ж віці. Серед решти дітей із ранніми проявами хвороби ( $n = 18$ ),  $17,95\%$  (14 хворих) МВ був діагностований у 4 - 6 років, 4 дитини ( $5,13\%$ ) – після семи років (табл. 2.5). У 6 хворих ( $7,14\%$ ) перші симптоми хвороби з'явилися після 4 років та встановлено діагноз МВ у тому ж віці.

Таблиця 2.5 - Співвідношення віку встановлення діагнозу до віку появи перших симптомів у дітей, хворих на муковісцидоз

| Вік встановлення діагнозу | Вік появи перших симптомів |        |           |      |            |       | Всього |        |
|---------------------------|----------------------------|--------|-----------|------|------------|-------|--------|--------|
|                           | 0-3 роки                   |        | 4-6 років |      | 7-14 років |       |        |        |
|                           | n                          | %      | n         | %    | n          | %     | n      | %      |
| 0-3 роки                  | 60                         | 76,92* | 0         | 0,00 | 0          | 0,00  | 60     | 71,43* |
| 4-6 років                 | 14                         | 17,95* | 1         | 50,0 | 0          | 0,00  | 15     | 17,86  |
| 7-14 років                | 4                          | 5,13   | 1         | 50,0 | 4          | 100,0 | 9      | 10,71  |
| Всього                    | 78                         | 92,86  | 2         | 2,38 | 4          | 4,76  | 84     | 100,0  |

Примітка. \* -  $p < 0,01$  - різниця достовірна між групами показників дітей із встановленим діагнозом в 7 – 14 років.

У 81 дитини ( $96,4\%$ ) діагноз МВ був підтверджений наявністю мутації гену CFTR у гомозиготному стані або у компаунд-гетерозиготному стані, у 3 дітей мутацій виявлено не було, але діагноз підтверджений двома позитивними потовими пробами та типовими клінічними проявами, що відповідає сучасним критеріям діагностики МВ.

Аналізуючи результати ДНК обстеження дітей, хворих на МВ, було виявлено 16 різних варіантів генотипу, що наведені у таблиці 2.6. Як серед дівчаток, так і серед хлопчиків за частотою достовірно переважав генотип F508del/F508del ( $n = 38 - 45,2\%$ ;  $p < 0,01$ ). У  $39,4\%$  хворих виявлена мутація F508del у компаунд-



гетерозиготі з іншими мутаціями, 15,4 % дітей мали інші мутації.

Таблиця 2.6 - Розподіл мутацій гену CFTR серед групи обстежених дітей

| Мутація                             | Хлопчики |       | Дівчатка |        | Всього |       |
|-------------------------------------|----------|-------|----------|--------|--------|-------|
|                                     | n        | %     | n        | %      | n      | %     |
| F508del/F508del                     | 21       | 44,7* | 17       | 45,9*  | 38     | 45,2* |
| F508del/2184insA                    | 3        | 6,4   | 7        | 18,9** | 10     | 11,9  |
| F508del/N1303K                      | 2        | 4,3   | 2        | 5,4    | 4      | 4,8   |
| F508del/W1282X                      | 2        | 4,3   | 0        | 0      | 2      | 2,4   |
| F508del/185+1G→T                    | 2        | 4,3   | 0        | 0      | 2      | 2,4   |
| F508del/6542X                       | 0        | 0     | 2        | 5,4    | 2      | 2,4   |
| F508del/CFTR 2,3                    | 2        | 4,3   | 1        | 2,7    | 3      | 3,6   |
| F508del/R347H                       | 2        | 4,3   | 0        | 0      | 2      | 2,4   |
| F508del/1898+1G-A                   | 2        | 4,3   | 0        | 0      | 2      | 2,4   |
| F508del/ невідома мутація           | 3        | 6,4   | 3        | 8,1    | 6      | 7,1   |
| 2184insA/2184insA                   | 2        | 4,3   | 0        | 0      | 2      | 2,4   |
| 2184insA/3849+10kb C/T              | 1        | 2,1   | 1        | 2,7    | 2      | 2,4   |
| 2184insA/N1303K                     | 1        | 2,1   | 1        | 2,7    | 2      | 2,4   |
| 2184insA/невідома мутація           | 1        | 2,1   | 1        | 2,7    | 2      | 2,4   |
| N1308K/ невідома мутація            | 1        | 2,1   | 0        | 0      | 1      | 1,2   |
| G551D/ невідома мутація             | 1        | 2,1   | 0        | 0      | 1      | 1,2   |
| невідома мутація / невідома мутація | 1        | 2,1   | 2        | 5,4    | 3      | 3,6   |

Примітка 1. \* -  $p < 0,01$  - різниця достовірна відносно гетерозиготного генотипу.

Примітка 2. \*\* -  $p < 0,05$  - різниця достовірна відносно групи хлопчиків.

Визначення хлоридів у наважці поту проводилось 63 пацієнтам (75,00 %). У 52 дітей (82,54 %) результат проби був розцінений як позитивний ( $p < 0,01$ ),

4,76 % дітей мали негативний результат проби та 12,70 % обстежених - сумнівний (табл. 2.7). Аналіз результатів потової проби відносно тяжкості показав, що хворі із тяжким та середньотяжким перебігом МВ під час підтверджуючої діагностики достовірно частіше мали позитивний результат ( $n = 23 - 44,23$ ;  $n = 21 - 40,38$ ;  $p < 0,01$ ).

Таблиця 2.7 - Розподіл результатів потової проби дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від тяжкості перебігу захворювання

| Потова проба | Перебіг          |       |                           |        |                   |        | Всього,<br>n = 63 |        |
|--------------|------------------|-------|---------------------------|--------|-------------------|--------|-------------------|--------|
|              | Легкий,<br>n = 9 |       | Середньотяжкий,<br>n = 25 |        | Тяжкий,<br>n = 28 |        |                   |        |
|              | n                | %     | n                         | %      | n                 | %      | n                 | %      |
| Позитивна    | 8                | 15,38 | 21                        | 40,38* | 23                | 44,23* | 52                | 82,54* |
| Негативна    | 1                | 33,33 | 2                         | 66,67  | 0                 | 0,00   | 3                 | 4,76   |
| Сумнівна     | 0                | -     | 3                         | 37,50  | 5                 | 62,50  | 8                 | 12,70  |

Примітка. \* -  $p < 0,01$  - різниця достовірна між групами показників дітей легкого перебігу.

Нами було ретельно зібрано та проаналізовано анамнез хвороби дітей, хворих на МВ, зокрема скарги, з якими пацієнти звернулись до лікаря та було встановлено хворобу. Отримані скарги були згруповані та представлені в таблиці 2.8. Проведена оцінка первинних скарг відносно тяжкості МВ мала на меті встановити можливий зв'язок між клінічними проявами в дебюті хвороби та тяжкістю перебігу МВ у майбутньому. Так, серед усіх дітей достовірно частіше ( $p < 0,01$ ) зустрічались скарги на кашель (65,48 %), затяжні, рецидивуючі бронхообструктивні епізоди (72,62 %), поліфекалія (70,24 %), стеаторея (61,90 %) та затримка фізичного розвитку (79,76 %).

Оцінка за тяжкістю перебігу МВ показала, що діти із тяжким та середньотяжким МВ достовірно частіше страждали на стеаторею (23 дитини - 67,65 %; 21 дитина - 66,67 % відповідно;  $p < 0,01$ ). Серед інших скарг статистично

значимої відмінності не виявлено.

Таблиця 2.8 - Клінічна характеристика первинних скарг дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від тяжкості перебігу захворювання

| Скарги                                                     | Перебіг           |       |                                |        |                   |        | Всього,<br>n = 84 |         |
|------------------------------------------------------------|-------------------|-------|--------------------------------|--------|-------------------|--------|-------------------|---------|
|                                                            | Легкий,<br>n = 11 |       | Середньо-<br>тяжкий,<br>n = 39 |        | Тяжкий,<br>n = 34 |        |                   |         |
|                                                            | n                 | %     | n                              | %      | n                 | %      | n                 | %       |
| Кашель                                                     | 8                 | 72,73 | 26                             | 66,67  | 21                | 61,76  | 55                | 65,48** |
| Затяжні, рецидивуючі<br>бронхообструктивні<br>захворювання | 7                 | 63,64 | 30                             | 76,92  | 24                | 70,59  | 61                | 72,62** |
| Пневмонії                                                  | 4                 | 36,36 | 13                             | 33,33  | 13                | 38,24  | 30                | 35,71   |
| Задишка, ціаноз                                            | 0                 | 0,00  | 2                              | 5,13   | 6                 | 17,65  | 8                 | 9,52    |
| Поліфекалія                                                | 6                 | 54,55 | 28                             | 71,79  | 25                | 73,53  | 59                | 70,24** |
| Стеаторея                                                  | 3                 | 27,27 | 26                             | 66,67* | 23                | 67,65* | 52                | 61,90** |
| Затримка фізичного<br>розвитку                             | 9                 | 81,82 | 26                             | 66,67  | 32                | 94,12  | 67                | 79,76** |

Примітка 1. \* -  $p < 0,01$  - різниця достовірна між групами показників дітей легкого перебігу.

Примітка 2. \*\* -  $p < 0,01$  - різниця достовірна відносно інших скарг.

Слід додати, що 3 дитини (3,57 %) до встановлення діагнозу МВ помилково лікувалися від туберкульозу та двоє – від бронхіальної астми, у 2 дітей діагностували коагулопатію у зв'язку із тривалими кровотечами. У 5 дітей (5,95 %) з раннього віку спостерігалось випадіння слизової прямої кишки та 1 дитина прооперована з приводу меконіального ілеусу.

Також ми проаналізували фізичний розвиток обстежених дітей, який оцінювався шляхом розрахунку ІМТ [35]. Так, в основній групі середнє значення ІМТ складало  $15,36 \pm 0,24$  кг/м<sup>2</sup>. Оцінка ІМТ за статтю показала, що хлопчики мали дещо кращі показники фізичного розвитку та ІМТ складала  $15,72 \pm 0,35$  кг/м<sup>2</sup>, а серед дівчаток середнє значення складало  $14,90 \pm 0,31$  кг/м<sup>2</sup>

( $p=0,08$ ). Оцінка відносно тяжкості МВ виявила, що діти із тяжким перебігом мали нижчі значення ІМТ ( $14,41 \pm 0,27 \text{ кг/м}^2$ ), порівняно із середньотяжким ( $16,10 \pm 0,38 \text{ кг/м}^2$ ;  $p=0,0008$ ) та легким перебігом ( $15,68 \pm 0,70 \text{ кг/м}^2$ ;  $p=0,05$ ).

Усім дітям основної групи було проведено фізикальний огляд та збір скарг на момент обстеження. Основні скарги пацієнтів, хворих на МВ, та їх частота представлені в таблиці 2.9.

Таблиця 2.9 - Розподіл скарг дітей, хворих на муковісцидоз, на момент обстеження, залежно від тяжкості перебігу захворювання

| Скарги                             | Перебіг           |       |                                |       |                   |         | Всього,<br>n = 84 |          |
|------------------------------------|-------------------|-------|--------------------------------|-------|-------------------|---------|-------------------|----------|
|                                    | Легкий,<br>n = 11 |       | Середньо-<br>тяжкий,<br>n = 39 |       | Тяжкий,<br>n = 34 |         |                   |          |
|                                    | n                 | %     | n                              | %     | n                 | %       | n                 | %        |
| Малопродуктивний вологий кашель    | 9                 | 81,82 | 35                             | 89,74 | 34                | 100,00* | 78                | 92,86*** |
| Гнійне мокротиння                  | 0                 | 0     | 3                              | 7,69  | 11                | 32,35*  | 14                | 16,67    |
| Задишка в спокої                   | 0                 | 0     | 7                              | 17,95 | 15                | 44,12*  | 22                | 26,19    |
| Задишка при фізичних навантаженнях | 4                 | 36,36 | 15                             | 38,46 | 15                | 44,12   | 34                | 40,48*** |
| Утруднене носове дихання           | 6                 | 54,55 | 12                             | 30,77 | 13                | 38,24   | 31                | 36,90    |
| Підвищення температури тіла        | 0                 | 0     | 4                              | 10,26 | 5                 | 14,71   | 9                 | 10,71    |
| Затримка ФР                        | 6                 | 54,55 | 23                             | 59,97 | 23                | 67,65   | 52                | 61,90*** |
| Втрата МТ                          | 1                 | 9,09  | 1                              | 2,56  | 7                 | 20,59   | 9                 | 10,71    |
| Стеаторея                          | 1                 | 9,09  | 8                              | 20,51 | 13                | 38,24** | 22                | 26,19    |
| Ціаноз                             | 1                 | 9,09  | 4                              | 10,26 | 16                | 47,06*  | 23                | 27,38    |

Примітка 1. \* -  $p < 0,01$  - різниця достовірна між групами показників дітей легкого перебігу.

Примітка 2. \*\* -  $p < 0,05$  - різниця достовірна між групами показників дітей легкого перебігу.

Примітка 3. \*\*\* -  $p < 0,01$  - різниця достовірна між різними клінічними проявами.

Серед досліджуваної групи достовірно частіше ( $p < 0,01$ ) зустрічались скарги на малопродуктивний вологий кашель (92,86 %), задишку при фізичних навантаженнях (40,48 %) та затримку фізичного розвитку (61,90 %). Аналіз отриманих даних щодо тяжкості перебігу хвороби показав, що діти із тяжким перебігом частіше, порівняно із іншими ступенями тяжкості, мали скарги на малопродуктивний вологий кашель ( $n = 34 - 100,00 \%$ ;  $p < 0,01$ ), виділення гнійного мокротиння ( $n = 11 - 32,35 \%$ ;  $p < 0,01$ ), задишку в спокої ( $n = 15 - 44,12 \%$ ;  $p < 0,01$ ), ціаноз ( $n = 16 - 47,06\%$ ;  $p < 0,01$ ) та стеаторею ( $n = 13 - 38,24 \%$ ;  $p < 0,05$ ).

При фізикальному обстеженні оцінювались стан грудної клітки, наявність деформації пальців у вигляді «барабанних паличок» та «годинникових скелець», наявність поліпів носа, дані перкусії та аускультатії грудної клітки, пальпації живота, пальпаторна оцінка стану паренхіматозних органів.

Оцінка респіраторної системи проводилась на основі огляду грудної клітки, даних перкусії та аускультатій, вимірювання частоти дихання та сатурації кисню.

Були оцінені сатурація кисню в крові та частота дихання на момент обстеження пацієнтів. Нами було з'ясовано, що у пацієнтів всіх вікових груп ЧД перевищувала допустимі вікові значення. Середнє значення сатурації кисню в крові складало  $95,07 \pm 0,37 \%$ .

У 71 хворого (84,52 %) було виявлено деформацію пальців у вигляді «барабанних паличок» та «годинникових скелець». Серед дітей із тяжким перебігом кількість дітей із деформацією складала 91,18 %, із середньотяжким – 82,05 %, та з легким – 72,73 %.

Проведений огляд грудної клітки дітей із МВ показав, що 80,95 % хворих ( $n = 68$ ) мали емфізематозну грудну клітку, у 7,14 % хворих виявлена деформація різного ступеня вираженості та у 19,05 % хворих змін не виявлено. Серед дітей із тяжким перебігом захворювання емфізематозна грудна клітка зустрічалась достовірно частіше порівняно із іншими ступенями тяжкості ( $n = 31 - 91,18 \%$ ;  $p < 0,05$ ), а серед дітей з легким перебігом змін частіше не відбувалося (4 хворих – 36,36 %;  $p < 0,05$ ) (табл. 2.10).

Таблиця 2.10 - Оцінка грудної клітки дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від тяжкості перебігу

| Огляд грудної клітки | Перебіг           |         |                                |       |                   |        | Всього,<br>n = 84 |       |
|----------------------|-------------------|---------|--------------------------------|-------|-------------------|--------|-------------------|-------|
|                      | Легкий,<br>n = 11 |         | Середньо-<br>тяжкий,<br>n = 39 |       | Тяжкий,<br>n = 34 |        |                   |       |
|                      | n                 | %       | n                              | %     | n                 | %      | n                 | %     |
| Емфізематозна        | 7                 | 63,64   | 30                             | 76,92 | 31                | 91,18* | 68                | 80,95 |
| Не змінена           | 4                 | 36,36** | 9                              | 23,08 | 3                 | 8,82   | 16                | 19,05 |
| Деформована          | 0                 | 0,00    | 3                              | 7,69  | 3                 | 8,82   | 6                 | 7,14  |

Примітка. \* -  $p < 0,05$  - різниця достовірна відносно легкого перебігу.

Примітка 2. \*\* -  $p < 0,05$  - різниця достовірна відносно важкого перебігу

Аналіз результатів аускультативної легень показав, що у дітей, які мають важкий перебіг МВ, достовірно частіше вислуховуються вологі хрипи (79,41 %;  $p < 0,01$ ) та ослаблене дихання (17,65 %;  $p < 0,05$ ), порівняно із дітьми середньотяжкого та легкого перебігу. Жорстке дихання вислуховувалось у хворих із різною тяжкістю практично з однаковою частотою, а везикулярне дихання переважало у дітей із легким перебігом (27,27 %;  $p < 0,05$ ) (табл. 2.11).

Збільшення розмірів живота спостерігалось в 44,05 % випадків за рахунок здуття. При пальпації живота у 10 хворих (11,90 %) виявлялось значне збільшення печінки та у 4 дітей (4,76 %) відмічалась гепатоспленомегалія.

Біохімічний аналіз крові із визначенням показників функції печінки та обміну жовчних кислот, ліпідного та електролітного обміну був проведений в основній досліджуваній групі та в групі практично здорових дітей. Так, у хворих на МВ дітей із важким перебігом статистично значимо підвищувався рівень АЛТ ( $51,70 \pm 9,20$  Од/л;  $p < 0,01$ ) та лужної фосфатази ( $603,85 \pm 28,78$  Од/л;  $p < 0,005$ ). Також, у в цій групі значимо знижувався рівень холестерину ( $2,7 \pm 0,10$  ммоль/л;  $p < 0,01$ ) (табл. 2.12).

Таблиця 2.11 - Характеристика аускультативних даних у дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від тяжкості перебігу

| Аускультативні дані | Перебіг           |         |                           |       |                   |         |
|---------------------|-------------------|---------|---------------------------|-------|-------------------|---------|
|                     | Легкий,<br>n = 11 |         | Середньотяжкий,<br>n = 39 |       | Тяжкий,<br>n = 34 |         |
|                     | n                 | %       | n                         | n     | %                 | n       |
| Жорстке дихання     | 8                 | 72,73   | 32                        | 82,05 | 28                | 82,35   |
| Вологі хрипи        | 4                 | 36,36   | 25                        | 64,10 | 27                | 79,41*  |
| Сухі хрипи          | 0                 | 0,00    | 4                         | 10,26 | 3                 | 8,82    |
| Ослаблене дихання   | 0                 | 0,00    | 2                         | 5,13  | 6                 | 17,65** |
| Везикулярне дихання | 3                 | 27,27** | 2                         | 5,13  | 0                 | 0,00    |

Примітка 1. \* -  $p < 0,01$  - різниця достовірна відносно групи дітей легкого ступеня тяжкості

Примітка 2. \*\* -  $p < 0,05$  - різниця достовірна відносно групи дітей середньотяжкого перебігу

Таблиця 2.12 - Показники біохімічного аналізу крові дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від тяжкості перебігу хвороби

|                                       | Перебіг                      |                                      |                              | Практично здорові діти,<br>n = 40<br>(M ± m) |
|---------------------------------------|------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|----------------------------------------------|
|                                       | Легкий,<br>n = 11<br>(M ± m) | Середньотяжкий,<br>n = 39<br>(M ± m) | Тяжкий,<br>n = 34<br>(M ± m) |                                              |
| 1                                     | 2                            | 3                                    | 4                            | 5                                            |
| АЛТ, Од/л                             | 30,65 ± 3,63                 | 30,01 ± 2,01                         | 51,70 ± 9,20*                | 18,29 ± 0,62                                 |
| АСТ, Од/л                             | 34,42 ± 2,93                 | 33,78 ± 2,09                         | 44,34 ± 6,72                 | 16,77 ± 0,47                                 |
| Білірубін<br>(загальний),<br>мкмоль/л | 8,11 ± 1,49                  | 8,92 ± 0,99                          | 11,18 ± 1,62                 | 11,61 ± 0,41                                 |
| Загальний<br>білок, г/л               | 72,44 ± 2,46                 | 73,17 ± 0,90                         | 73,74 ± 1,47                 | 74,80 ± 0,48                                 |

Продовження таблиці 2.12

| 1                      | 2              | 3              | 4                | 5             |
|------------------------|----------------|----------------|------------------|---------------|
| Холестерин,<br>ммоль/л | 3,37 ± 0,28    | 3,04 ± 0,08    | 2,7 ± 0,10*      | 4,35 ± 0,06   |
| ЛФ, Од/л               | 441,82 ± 36,82 | 542,38 ± 19,23 | 603,85 ± 28,78** | 243,12 ± 2,77 |
| Натрій,<br>мкмоль/л    | 138,00 ± 1,60  | 140,77 ± 0,95  | 139,44 ± 0,87    | 138,60 ± 0,35 |
| Калій,<br>мкмоль/л     | 4,16 ± 0,12    | 4,12 ± 0,08    | 4,19 ± 0,06      | 3,95 ± 0,04   |
| Хлор,<br>мкмоль/л      | 101,85 ± 1,11  | 102,13 ± 0,65  | 101,85 ± 0,83    | 101,00 ± 0,52 |

Примітка 1.\* -  $p < 0,01$  – різниця достовірна відносно групи дітей легкого ступеня тяжкості

Примітка 2. \*\* -  $p < 0,005$  – різниця достовірна відносно групи дітей легкого ступеня тяжкості

Для оцінки функції підшлункової залози нами проаналізовано вміст фекальної еластази-1 (ФЕ-1) в калі. Визначення ФЕ-1 проводилось 29 дітям, середнє значення склало  $77,16 \pm 15,84$  мкг/г. З них у 2 (6,89 %) ФЕ-1 була в межах норми ( $>200$  мкг/г), 8 дітей (27,59 %) мали помірне порушення (200-100 мкг/г) та 19 (65,52 %) – тяжке порушення функції (менше 100 мкг/г). Оцінка рівня ФЕ-1 за ступенями тяжкості не показала значимих відмінностей у групах.

Аналіз результатів бактеріологічного обстеження мокротиння, яке виділяли діти з МВ, показало, що найбільш часто висівались культури *St.aureus* (54 %;  $p < 0,01$ ), *P. aeruginosa* (38,10 %;  $p < 0,01$ ), *Str. pyogenes* (33,33 %), *Str. viridans* (45,24 %;  $p < 0,01$ ), *Str. agalactiae* (19,05 %), *C. albicans* (55,98 %;  $p < 0,01$ ) та *Enterococcus spp.* (41,67 %;  $p < 0,01$ ) (табл. 2.13).

Діти із тяжким перебігом достовірно частіше виділяли з мокротинням *P. aeruginosa* (52,94%;  $p < 0,05$ ) та *St.aureus* (67,65;  $p < 0,01$ ), ніж діти з легким та середньотяжким перебігом МВ.



Таблиця 2.13 - Розподіл висіяної мікрофлори у дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від тяжкості перебігу хвороби

| Висіяна культура         | Перебіг           |         |                                |         |                   |       | Всього,<br>n = 84 |          |
|--------------------------|-------------------|---------|--------------------------------|---------|-------------------|-------|-------------------|----------|
|                          | Тяжкий,<br>n = 34 |         | Середньо-<br>тяжкий,<br>n = 39 |         | Легкий,<br>n = 11 |       |                   |          |
|                          | n                 | %       | n                              | %       | n                 | %     | n                 | %        |
| <i>St.aureus</i>         | 23                | 67,65*  | 17                             | 43,59   | 6                 | 54,55 | 46                | 54,76*** |
| <i>Ps. aeruginosa</i>    | 18                | 52,94** | 13                             | 33,33   | 1                 | 9,09  | 32                | 38,10*** |
| <i>Str. pyogenes</i>     | 12                | 35,29   | 12                             | 30,77   | 4                 | 36,36 | 28                | 33,33    |
| <i>Str. viridans</i>     | 11                | 32,34   | 21                             | 53,85** | 6                 | 54,55 | 38                | 45,24*** |
| <i>Str. agalactiae</i>   | 7                 | 20,59   | 7                              | 17,95   | 2                 | 18,18 | 16                | 19,05    |
| <i>St. pneumoniae</i>    | 4                 | 11,76   | 5                              | 12,82   | 0                 | 0,00  | 9                 | 10,71    |
| <i>C. albicans</i>       | 18                | 52,94   | 24                             | 61,54   | 5                 | 45,45 | 47                | 55,95*** |
| <i>Enterococcus spp.</i> | 15                | 44,12   | 17                             | 43,59   | 3                 | 27,27 | 35                | 41,67*** |

Примітка 1. \* -  $p < 0,01$  – різниця достовірна відносно групи дітей легкого ступеня тяжкості

Примітка 2. \*\* -  $p < 0,05$  – різниця достовірна відносно групи дітей легкого ступеня тяжкості

Примітка 3. \*\*\* -  $p < 0,01$  – різниця достовірна між різними групами бактерій.

Спірометрія, у зв'язку із віковими обмеженнями, була проведена серед 80 хворих на МВ та серед дітей із групи контролю. Встановлено, що діти із тяжким перебігом демонструють в середньому нижчі показники спірометрії, ніж хворі із середньотяжким та легким МВ. Так, при тяжкому перебігу ФЖЄЛ та ОФВ1 були достовірно нижчими порівняно із показниками дітей легкого перебігу та становили  $78,25 \pm 2,27$  % та  $72,34 \pm 2,70$  % проти  $93,90 \pm 2,77$  % та  $91,50 \pm 4,08$  % відповідно. Співставлення цих параметрів зі значеннями дітей із середньотяжким перебігом показало, що ФЖЄЛ при тяжкому перебігу на 10,56 % нижчий, а ОФВ1 на 13,82 % нижчий. Значення решти параметрів, що були виміряні серед обстежених дітей, наведені в таблиці 2.14.

Таблиця 2.14 - Показники спірометрії дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від тяжкості перебігу хвороби

|               | Перебіг         |                         |                 | Практично здорові діти | p <sub>1</sub> | p <sub>2</sub> |
|---------------|-----------------|-------------------------|-----------------|------------------------|----------------|----------------|
|               | Тяжкий (M±m, %) | Середньотяжкий (M±m, %) | Легкий (M±m, %) |                        |                |                |
| ФЖЄЛ          | 78,25 ± 2,27    | 83,34 ± 2,79            | 93,90 ± 2,77    | 99,36 ± 1,44           | <b>0,16</b>    | <b>0,00009</b> |
| ОФВ1          | 72,34 ± 2,70    | 77,68 ± 2,91            | 91,50 ± 4,08    | 95,64 ± 1,16           | <b>0,18</b>    | <b>0,00035</b> |
| Індекс Тіффно | 87,69 ± 1,63    | 90,47 ± 1,36            | 94,70 ± 2,03    | 99,05 ± 1,42           | <b>0,19</b>    | <b>0,01039</b> |
| ПШВ           | 79,94 ± 2,69    | 83,60 ± 3,37            | 94,10 ± 4,13    | 93,11 ± 1,76           | <b>0,39</b>    | <b>0,00655</b> |
| МОШ75         | 48,50 ± 4,26    | 62,00 ± 3,90            | 76,10 ± 6,17    | 94,38 ± 1,54           | <b>0,02</b>    | <b>0,00070</b> |
| МОШ50         | 50,28 ± 4,23    | 62,71 ± 3,74            | 77,70 ± 6,32    | 88,75 ± 1,24           | <b>0,03</b>    | <b>0,00087</b> |
| МОШ25         | 50,68 ± 4,45    | 62,21 ± 4,21            | 77,50 ± 6,66    | 88,94 ± 2,20           | <b>0,06</b>    | <b>0,00181</b> |
| МОШ 25/75     | 54,25 ± 4,11    | 67,82 ± ,15             | 81,40 ± 7,64    | 94,17 ± 1,59           | <b>0,03</b>    | <b>0,00431</b> |

Примітка 1. p<sub>1</sub> - різниця вірогідна відносно важкого та середнього ступеня тяжкості.

Примітка 2. p<sub>2</sub> - різниця вірогідна відносно важкого та легкого ступеня тяжкості.

## Резюме

У розділі показано, що серед 84 обстежених дітей, хворих на МВ, за статтю незначно переважали хлопчики. Середній вік основної групи обстежених пацієнтів з МВ склав 9,96 ± 0,44 роки. Встановлено, що як серед хлопчиків, так і серед дівчаток переважала форма із панкреатичною недостатністю, яка за частотою склала 97,62 %. Оцінка тяжкості показала, що достовірно частіше (p < 0,01) зустрічались діти із середньотяжким та тяжким перебігом. За віком виявлено, що діти віком 6-11 років достовірно частіше мали тяжкі прояви МВ (p < 0,05), легкий перебіг частіше зустрічався в групі 12-17 років (p < 0,05). За

даними анамнезу з'ясовано, що діагноз встановлений в перші 3 роки життя у 76,92 % хворих, у решти дітей встановлення діагнозу було із запізненням.

В анамнезі найчастішими первинними скаргами обстежених пацієнтів були скарги на кашель (65,48 %), затяжні, рецидивуючі бронхообструктивні захворювання (72,62 %), поліфекалія (70,24 %), стеаторея (61,90 %) та затримка фізичного розвитку (79,76 %), а аналіз первинних скарг відносно тяжкості перебігу, яку мали діти на момент дослідження, показав, що достовірно частіше у дітей із тяжким перебігом зустрічались скарги на стеаторею ( $p < 0,01$ ).

На момент обстеження показано, що серед групи хворих на тяжкий МВ частіше зустрічались скарги на малопродуктивний вологий кашель із виділенням гнійного мокротиння, задишку в спокої та стеаторею ( $p < 0,01$ ).

Вивчення екзокринної функції підшлункової залози шляхом оцінки рівня ФЕ-1 показало, що у 6,89 % дітей функція підшлункової була збережена, у 27,59 % було помірне порушення, а в 65,52 % - тяжке порушення екзокринної функції підшлункової.

При оцінці бактеріологічного обстеження мокротиння виявлено, що найчастіше зустрічались такі бактерії, як *St.aureus* ( $p < 0,01$ ), *P. aeruginosa* ( $p < 0,01$ ), *Str. pyogenes* (33,33 %), *Str. viridans* ( $p < 0,01$ ), *Str. agalactiae* (19,05 %), *C. albicans* ( $p < 0,01$ ) та *Enterococcus spp.* ( $p < 0,01$ ). З усіх наведених бактерій при тяжкому перебігу достовірно частіше висівались *P. aeruginosa* ( $p < 0,05$ ) та *St.aureus* ( $p < 0,01$ ).

Визначення функції зовнішнього дихання та його оцінка виявили, що у хворих із тяжким перебігом показники спірометрії нижчі за показники дітей із середньотяжким та легким перебігом.

**Основні результати розділу опубліковано у таких працях: [12, 13, 15]**

### РОЗДІЛ 3

## ОЦІНКА ВМІСТУ АНТИМІКРОБНОГО ПЕПТИДУ КАТЕЛІЦИДИНУ ТА 25-ГІДРОКСИХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ, ЗАЛЕЖНО ВІД ТЯЖКОСТІ ТА ОСОБЛИВОСТЕЙ ЗАХВОРЮВАННЯ

Серед хворих на муковісцидоз дефіцит вітаміну Д є поширеним явищем [103]. За результатами останніх досліджень, у 90 % хворих на МВ відмічається дефіцит вітаміну Д (менше 30 нг/мл) [93, 94]. Причина такого поширеного дефіциту багатофакторна. Недостатність функції підшлункової залози – найпоширеніша причина дефіциту вітаміну Д, крім того, до причин також відносять зменшену експозицію на сонці, зменшення підшкірної жирової клітковини (як депо вітаміну Д) та вітамін Д-зв'язуючого протеїну, зниження гідроксилування вітаміну Д в печінці [183]. Як і в загальній популяції, для оцінки статусу вітаміну Д використовують визначення сироваткового 25-гідроксिवітаміну Д (25(ОН)Д). The Cystic Fibrosis Foundation рекомендує щорічно визначати концентрацію 25(ОН)Д наприкінці зими, яка має бути не менше 30 нг/мл [114, 171].

Вітамін Д грає значну роль у збереженні функції легень при МВ. Згідно з Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III), виявлено позитивну кореляцію між рівнем сироваткового 25(ОН)Д та легеневою функцією, яка оцінювалась показниками спірометрії (ОФВ1 та ФЖЄЛ). В дослідженнях було показано, що вищі показники рівня вітаміну Д асоціювались із вищими показниками функції легень та нижчим рівнем легневих ускладнень у хворих на бронхіальну астму та ХОЗЛ [60].

Sexauer та співавт. у своїх дослідженнях виявили значну кореляцію між рівнем сироваткового 25(ОН)Д та легеневою функцією хворих на МВ. Так, кореляція була сильніша для показників ОФВ1 та ФЖЄЛ для пацієнтів, які мали мутацію delF508 в гомозиготному стані та для осіб чоловічої статі [171].

Пацієнти з МВ мають підвищений ризик виникнення хронічної легеневої інфекції, яка часто вимагає лікування в умовах лікарні внутрішньовенними антибіотиками. Вітамін Д підвищує функцію вродженого імунітету шляхом стимуляції синтезу антимікробних пептидів, таких як кателіцидин людини (hCAP18, або LL-37) [97]. Мікроорганізми, що потрапляють у дихальні шляхи, зв'язуються з toll-like рецепторами, які знаходяться на альвеолярних макрофагах, та підвищують регуляцію  $1\alpha$ -гідроксилази, що призводить до збільшення продукції  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  та рецептору вітаміну Д. Локальна продукція  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  може індукувати синтез кателіцидину макрофагами та моноцитами, який елімінує патогенних збудників, таких як *Pseudomonas aeruginosa* та *Bordetella bronchiseptica* [76]. Вітамін Д також зменшує рівень прозапальних цитокінів та може знижувати запальний процес в бронхолегеневій системі хворих на МВ. Рівень таких запальних маркерів, як фактор некрозу пухлини- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) та інтерлейкін-6 (IL-6), значно знижується високими дозами вітаміну Д [168].

Високі дози вітаміну Д<sub>3</sub>, призначені протягом періоду загострення інфекційного запалення в легенях, покращують ефективність лікування у дорослих, хворих на МВ. У рандомізованому контрольованому подвійному сліпому дослідженні з участю 30 дорослих хворих на МВ, які мали загострення легеневих проявів хвороби, досліджувані отримували разову дозу 250 000 МО холекальциферолу або плацебо. У групі, яка отримувала холекальциферол, спостерігались менша необхідність у лікуванні антибактеріальними препаратами та менша необхідність у госпіталізації [174].

Наведені дані свідчать про участь метаболітів вітаміну Д в розвитку та перебігу інфекційних запальних захворюваннях легень, в тому числі за рахунок модулюючої дії на продукцію АМП кателіцидину. Тому цілком доречним є вивчення вмісту  $25(\text{OH})\text{D}$  та кателіцидину відносно тяжкості та клінічного перебігу МВ.

У 84 пацієнтів, хворих на МВ, визначався рівень  $25$ -гідроксихолекальциферолу та антимікробного пептиду кателіцидину (LL-37) у сироватці крові.

Встановлено, що загальний вміст 25(ОН)Д в сироватці крові дітей, хворих на МВ, достовірно відрізняється від значень у здорових дітей та характеризується зменшенням його рівня. Вміст катіонного протимікробного пептиду кателіцидину LL-37 у пацієнтів, хворих на МВ, також відрізнявся в порівнянні із групою здорових дітей, та його значення достовірно вищі (табл. 3.1).

Таблиця 3.1 - Вміст 25(ОН)Д та протимікробного пептиду кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на МВ, та в групі практично здорових дітей

| Вміст в сироватці крові  | Діти, хворі на муковісцидоз | Практично здорові діти | p <sub>1</sub> |
|--------------------------|-----------------------------|------------------------|----------------|
| 25(ОН)Д, нг/мл           | 28,98 ± 0,78                | 34,22 ± 0,40           | < 0,001        |
| Кателіцидин LL-37, нг/мл | 24,01 ± 0,89                | 7,74 ± 0,24            | < 0,001        |

Серед обстежених дітей 35 (41,7 %) мали оптимальний рівень 25(ОН)Д, 44 дитини (52,4 %) мали знижений рівень та у 5 хворих (6,0 %) визначалась недостатність вітаміну. Розподіл отриманих значень за статтю не показав значимих відмінностей між хлопчиками та дівчатками (табл. 3.2). Середній рівень вітаміну серед дівчаток складав 29,08 ± 1,27 нг/мл, а серед хлопчиків 28,90 ± 0,97 нг/мл.

Таблиця 3.2 – Розподіл результатів визначення вмісту 25(ОН)Д в сироватці крові дітей, хворих на МВ, залежно від статі

| Рівень 25(ОН)Д                 | Стать    |      |          |      | Всього |      |
|--------------------------------|----------|------|----------|------|--------|------|
|                                | Хлопчики |      | Дівчатка |      | n      | %    |
|                                | n        | %    | n        | %    |        |      |
| Оптимальний (30 – 50 нг/мл)    | 21       | 44,7 | 14       | 37,8 | 35     | 41,7 |
| Субоптимальний (20 – 30 нг/мл) | 23       | 48,9 | 21       | 56,8 | 44     | 52,4 |
| Недостатність (20 – 10 нг/мл)  | 3        | 6,4  | 2        | 5,4  | 5      | 6,0  |

Визначення середнього віку в групах із різним рівнем забезпечення вітаміну Д показало, що у дітей, які мали оптимальний рівень 25(ОН)Д, середній вік

складав  $10,34 \pm 0,73$  років, субоптимальний –  $9,95 \pm 0,59$  років, недостатній рівень –  $7,40 \pm 1,40$  років (рис. 3.1).

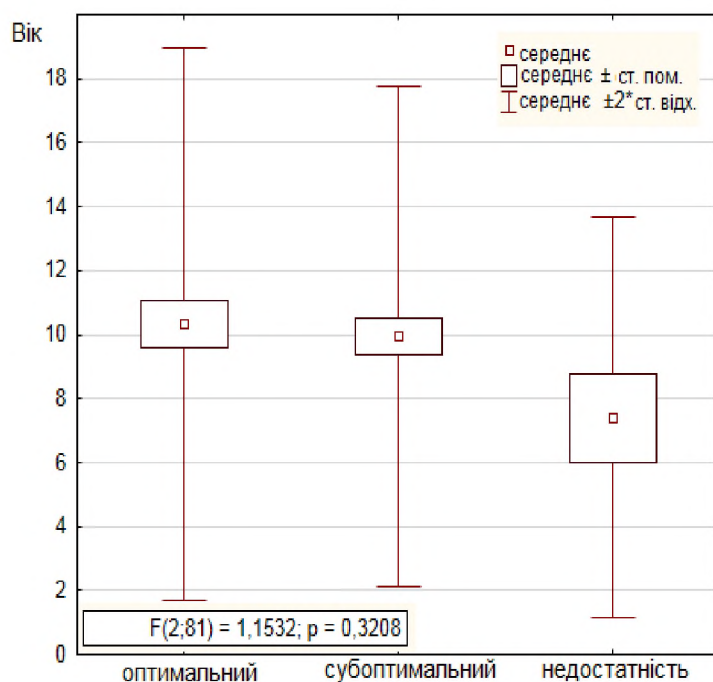


Рисунок 3.1 - Середній вік дітей, хворих на МВ, залежно від рівня 25(ОН)Д.

Враховуючи, що сьогодні не існує референтних значень для антимікробного пептиду кателіцидину LL-37, результати визначення його в сироватці крові дітей, хворих на МВ, було розподілено на 4 квартилі. У I квартиль потрапили значення LL-37 нижче 18,90 нг/мл, що склало 28,6 % від усіх спостережень, II квартиль – 18,91 - 25,60 нг/мл (22,6 % спостережень), до III квартилю ввійшли показники 25,61 - 31,50 нг/мл (25,0 %) та до IV квартилю віднесено значення вище 31,51 нг/мл (23,8 %). Розподіл отриманих значень за статтю був рівномірним та переваги в жодній з груп не спостерігалось (табл. 3.3). Середній рівень кателіцидину LL-37 серед дівчаток складав  $24,53 \pm 1,38$  нг/мл, серед хлопчиків –  $25,38 \pm 1,18$  нг/мл.

Аналіз отриманих значень кателіцидину LL-37 за віком показав, що діти III та IV квартилю були меншого віку, їх вік становив  $8,38 \pm 0,82$  роки ( $p=0,003$ ) та  $8,15 \pm 0,82$  роки ( $p=0,0018$ ) відповідно, порівняно із групою хворих I квартилю середній вік яких склав  $11,87 \pm 0,75$  років (рис. 3.2).

Таблиця 3.3 – Розподіл результатів визначення вмісту кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на МВ, залежно від статі

| Рівень кателіцидину LL-37             | Стать    |      |          |      | Всього |      |
|---------------------------------------|----------|------|----------|------|--------|------|
|                                       | Хлопчики |      | Дівчатка |      |        |      |
|                                       | п        | %    | п        | %    | п      | %    |
| I кuartиль<br>(менше 18,90 нг/мл)     | 13       | 27,7 | 11       | 29,7 | 24     | 28,6 |
| II кuartиль<br>(18,91 – 25,60 нг/мл)  | 13       | 27,7 | 6        | 16,2 | 19     | 22,6 |
| III кuartиль<br>(25,61 – 31,50 нг/мл) | 10       | 21,3 | 11       | 29,7 | 21     | 25,0 |
| IV кuartиль<br>(більше 31,51 нг/мл)   | 11       | 23,4 | 9        | 24,3 | 20     | 23,8 |

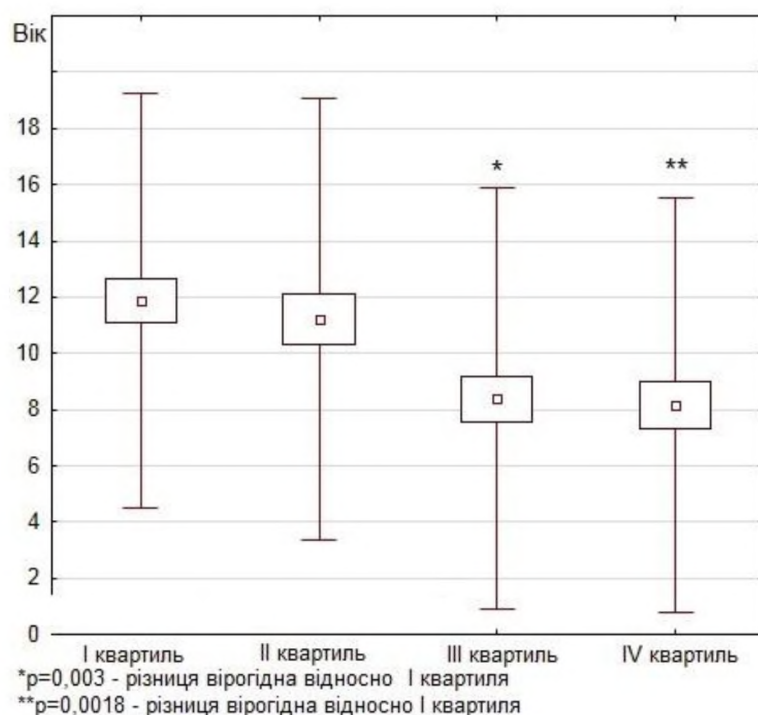


Рисунок 3.2 - Середній вік дітей, хворих на МВ, залежно від рівня кателіцидину LL-37

Порівняння вмісту 25-гідроксиколекальциферолу та кателіцидину LL-37 в групах дітей із різними ступенями тяжкості показало, що рівень обох речовин у дітей із тяжким перебігом достовірно відрізнявся від показників дітей



середньотяжкого та легкого МВ. Так, 25(ОН)Д у дітей з тяжким перебігом складав  $24,23 \pm 0,81$  нг/мл, що значно менше порівняно із середньотяжким та легким перебігом ( $p < 0,001$ ), а середній вміст кателіцидину в цій групі хворих дорівнював  $30,22 \pm 1,17$  нг/мл, що значимо вище, ніж у дітей із середньотяжким та легким перебігом ( $p < 0,001$ ) (табл. 3.4).

Таблиця 3.4 - Вміст 25(ОН)Д та кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на МВ, залежно від тяжкості захворювання

|                | Перебіг МВ         |                       |                  | Практично здорові діти, n=40 |
|----------------|--------------------|-----------------------|------------------|------------------------------|
|                | Легкий, n=11       | Середньотяжкий, n= 39 | Тяжкий, n= 34    |                              |
|                | М ± m              | М ± m                 | М ± m            |                              |
| 25(ОН)Д, нг/мл | $38,92 \pm 2,18^*$ | $30,32 \pm 0,83^*$    | $24,23 \pm 0,81$ | $34,22 \pm 0,40$             |
| LL-37, нг/мл   | $14,08 \pm 1,91^*$ | $23,55 \pm 0,94^*$    | $30,22 \pm 1,17$ | $7,74 \pm 0,24$              |

Примітка. \* -  $p < 0,001$  - різниця вірогідна відносно показників дітей із тяжким перебігом.

Проаналізувавши дані залежно від форми МВ, ми отримали такі показники. У дітей із панкреатичною недостатністю відмічався нижчий рівень 25-гідроксихолекальциферолу, який складав  $28,97 \pm 0,78$  нг/мл, а кателіцидин складав  $24,77 \pm 0,89$  нг/мл. У хворих зі збереженою функцією підшлункової залози вміст 25(ОН)Д та кателіцидину LL-37 був вищий –  $29,35 \pm 7,25$  нг/мл та  $34,60 \pm 1,00$  нг/мл відповідно.

Нами було проведене порівняння досліджуваних речовин серед дітей, яким визначали рівень фекальної еластази-1 (ФЕ-1, n = 27), та з'ясовано, що у дітей із тяжким порушенням екзокринної функції підшлункової залози (ФЕ-1 менше 100 мкг/г) в середньому 25-гідроксихолекальциферол складав  $27,31 \pm 1,46$  нг/мл, що достовірно нижче в порівнянні з помірним порушенням (100-200 мкг/г)  $34,18 \pm 2,28$  нг/мл ( $p=0,018$ ).

Рівень кателіцидину LL-37 залежно від рівня ФЕ-1 достовірно відрізнявся та

складав  $28,16 \pm 1,99$  нг/мл при помірному порушенні та  $24,79 \pm 1,97$  нг/мл ( $p=0,018$ ) при тяжкому порушенні функції підшлункової залози (табл. 3.5).

Таблиця 3.5 - Вміст 25(OH)Д та кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на МВ, залежно від рівня фекальної еластази-1

|                | Фекальна еластаза-1                   |            |                                  |             |
|----------------|---------------------------------------|------------|----------------------------------|-------------|
|                | 200-100 мкг/г,<br>(помірне порушення) |            | <100 мкг/г,<br>(тяжке порушення) |             |
|                | n                                     | M ± m      | n                                | M ± m       |
| 25(OH)Д, нг/мл | 8                                     | 34,18±2,28 | 19                               | 27,31±1,46* |
| LL-37, нг/мл   | 8                                     | 24,79±1,97 | 19                               | 28,16±1,99* |

Примітка. \* -  $p=0,018$  - різниця вірогідна відносно показників дітей з помірним порушенням функції підшлункової залози.

У пацієнтів, хворих на МВ, з віком підвищується частота ураження гепато-біліарного тракту, що пов'язано зі зміною фізико-хімічних властивостей жовчі внаслідок порушення функції білка CFTR. Ураження печінки у хворих на МВ пацієнтів відноситься до генетично детермінованих холангіопатій. Внаслідок недостатності хлорного каналу розвивається гепатоцелюлярний та каналікулярний холестаза, який призводить до затримки гепатотоксичних жовчних кислот, продукції медіаторів запалення, цитокінів та вільних радикалів, пошкодження клітинних мембран. Ураження характеризується хронічною запальною клітинною інфільтрацією, жовчно-протоковою проліферацією [65]. Запальний процес може тривати довгий час безсимптомно та виявляється лише за допомогою біохімічних маркерів ураження печінки, таких як АЛТ, АСТ, ГГТ та лужна фосфатаза.

Проведений аналіз між показниками загальних біохімічних обстежень та рівнем 25-гідроксихолекальциферолу показав, що у дітей із недостатнім та субоптимальним рівнем 25(OH)Д відмічались зниження рівня загального холестерину ( $2,74 \pm 0,25$  ммоль/л та  $2,89 \pm 0,08$  ммоль/л), а також значне підвищення вмісту лужної фосфатази (табл. 3.6).

Таблиця 3.6 - Показники біохімічного обстеження дітей, хворих на МВ, залежно від рівня 25(ОН)Д у сироватці крові

|                                       | 25(ОН)Д                                |                                           |                                         | Практично здорові діти |
|---------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------|
|                                       | Оптимальний<br>(30 – 50 нг/мл)<br>n=34 | Субоптимальний<br>(20 – 30 нг/мл)<br>n=44 | Недостатність<br>(10 – 20 нг/мл)<br>n=5 |                        |
| АЛТ, Од/л                             | 38,75 ± 5,70                           | 37,77 ± 6,21                              | 36,02 ± 8,88                            | 18,29 ± 0,62           |
| АСТ, Од/л                             | 41,94 ± 5,75                           | 36,02 ± 3,18                              | 30,18 ± 5,72                            | 16,77 ± 0,47           |
| Білірубін<br>(загальний),<br>мкмоль/л | 8,09 ± 0,67                            | 11,24 ± 1,15                              | 7,94 ± 1,65                             | 11,61 ± 0,41           |
| Загальний<br>білок, г/л               | 72,34 ± 1,09                           | 73,41 ± 1,16                              | 79,20 ± 2,62                            | 74,80 ± 0,48           |
| Холестерин,<br>ммоль/л                | 3,07 ± 0,12                            | 2,89 ± 0,08                               | 2,74 ± 0,25                             | 4,35 ± 0,06*           |
| ЛФ, Од/л                              | 536,63 ± 23,36                         | 607,11 ± 26,79                            | 529,80 ± 112,03                         | 243,12 ± 2,77*         |
| Натрій,<br>мкмоль/л                   | 139,80 ± 0,75                          | 140,16 ± 0,97                             | 137,80 ± 2,06                           | 138,60 ± 0,35          |
| Калій,<br>мкмоль/л                    | 4,13 ± 0,07                            | 4,18 ± 0,06                               | 4,20 ± 0,04                             | 3,95 ± 0,04            |
| Хлор,<br>мкмоль/л                     | 102,04 ± 0,76                          | 102,01 ± 0,65                             | 101,30 ± 1,73                           | 101,00 ± 0,52          |

Примітка. \* -  $p < 0,001$  - різниця вірогідна відносно показників пацієнтів з субоптимальним та недостатнім рівнем 25(ОН)Д.

Оцінка отриманих біохімічних показників відносно рівня кателіцидину показала, що значення АЛТ, АСТ збільшуються зі збільшенням рівня пептиду, хоча достовірної різниці між квантилями немає. Помічено, що значення загального білірубину у дітей II квантиля достовірно менші ( $6,81 \pm 0,81$  мкмоль/л), порівняно із групою дітей IV квантиля ( $11,01 \pm 1,80$  мкмоль/л;  $p=0,05$ ). Рівень холестерину у дітей I квантиля найвищий серед усіх та поступово знижується із підвищенням вмісту кателіцидину. Також відмічаються достовірно нижчі показники лужної фосфатази серед дітей I квантиля ( $511,50 \pm 30,44$  Од/л) порівняно із IV квантилем ( $609,45 \pm 38,15$  Од/л;  $p=0,05$ ). Показники електролітів натрію, калію та хлору варіювали в межах норми та не відрізнялись за рівнем кателіцидину (табл. 3.7).

Таблиця 3.7 - Показники біохімічного обстеження дітей, хворих на МВ, залежно від рівня кателіцидину LL-37 у сироватці крові

|                                       |                                      |                                         |                                          |                                        | Практично здорові діти |
|---------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------|------------------------|
|                                       | I<br>квартиль (менше<br>18,90 нг/мл) | II<br>квартиль (18,91 –<br>25,60 нг/мл) | III<br>квартиль (25,61 –<br>31,50 нг/мл) | IV<br>квартиль (більше<br>31,51 нг/мл) |                        |
| АЛТ, Од/л                             | 30,63 ± 2,31                         | 34,16 ± 7,47                            | 35,09 ± 5,67                             | 53,83 ± 13,66                          | 18,29 ± 0,62           |
| АСТ, Од/л                             | 31,85 ± 1,99                         | 35,96 ± 4,81                            | 35,54 ± 2,94                             | 50,48 ± 10,54                          | 16,77 ± 0,47           |
| Білірубін<br>(загальний),<br>мкмоль/л | 9,16 ± 1,52                          | 6,81 ± 0,81*                            | 11,82 ± 2,03                             | 11,01 ± 1,80                           | 11,61 ± 0,41           |
| Загальний білок,<br>г/л               | 73,51 ± 1,52                         | 73,96 ± 1,71                            | 71,56 ± 1,22                             | 74,27 ± 1,86                           | 74,80 ± 0,48           |
| Холестерин,<br>ммоль/л                | 3,12 ± 0,15                          | 2,92 ± 0,13                             | 2,85 ± 0,14                              | 2,88 ± 0,11                            | 4,35 ± 0,06            |
| ЛФ, Од/л                              | 511,50 ± 30,44*                      | 584,63 ± 50,11                          | 565,29 ± 26,02                           | 609,45 ± 38,15                         | 243,12 ± 2,77          |
| Натрій, мкмоль/л                      | 140,96 ± 1,53                        | 139,16 ± 0,90                           | 140,19 ± 0,90                            | 138,90 ± 1,23                          | 138,60 ± 0,35          |
| Калій, мкмоль/л                       | 4,21 ± 0,07                          | 4,16 ± 0,08                             | 4,07 ± 0,10                              | 4,18 ± 0,10                            | 3,95 ± 0,04            |
| Хлор, мкмоль/л                        | 102,39 ± 0,73                        | 100,21 ± 1,00                           | 103,42 ± 0,77                            | 101,67 ± 1,19                          | 101,00 ± 0,52          |

Примітка. \* - p=0,05 - різниця вірогідна відносно показників пацієнтів IV квартилю.

Для визначення залежності між рівнем 25-гідроксихолекальциферолу в сироватці крові та функцією легень у хворих на МВ було порівняно дані спірометрії (ФЖЄЛ, ОФВ1, індекс Тіффно, ПОШВ, МОШ75, МОШ50, МОШ 25) з показниками рівня 25(ОН)Д. Слід зазначити, що між всіма показниками у групах «оптимального – субоптимального» та «оптимального – недостатнього» рівня 25(ОН)Д існує статистично значима різниця (табл. 3.8).

Таблиця 3.8 - Показники функції зовнішнього дихання у дітей, хворих на МВ, залежно від рівня 25(ОН)Д у сироватці крові

|                     | Рівень 25(ОН)Д                 |                                   |                                  | p <sub>1</sub> | p <sub>2</sub> |
|---------------------|--------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|----------------|----------------|
|                     | Оптимальний<br>(30 – 50 нг/мл) | Субоптимальний<br>(20 – 30 нг/мл) | Недостатність<br>(10 – 20 нг/мл) |                |                |
| ФЖЄЛ, %             | 87,91 ± 2,39                   | 79,29 ± 2,49                      | 73,00 ± 4,94                     | 0,014          | 0,01           |
| ОФВ1, %             | 83,67 ± 2,79                   | 72,98 ± 2,63                      | 67,40 ± 7,06                     | 0,0067         | 0,039          |
| Індекс<br>Тіффно, % | 92,55 ± 1,34                   | 87,90 ± 1,43                      | 87,80 ± 4,22                     | 0,02           | 0,29           |
| ПОШВ, %             | 90,45 ± 3,02                   | 77,90 ± 2,81                      | 78,80 ± 3,99                     | 0,0032         | 0,026          |
| МОШ 75,<br>%        | 71,67 ± 4,02                   | 49,59 ± 3,57                      | 44,60 ± 8,84                     | 0,0001         | 0,008          |
| МОШ 50,<br>%        | 72,06 ± 3,77                   | 50,85 ± 3,64                      | 50,00 ± 10,03                    | 0,0001         | 0,047          |
| МОШ 25,<br>%        | 70,76 ± 4,16                   | 52,39 ± 3,98                      | 43,60 ± 12,06                    | 0,002          | 0,04           |

Примітка 1. p<sub>1</sub> – різниця вірогідна відносно показників дітей з оптимальним та субоптимальним рівнями 25(ОН)Д.

Примітка 2. p<sub>2</sub> - різниця вірогідна відносно показників дітей з оптимальним та недостатнім рівнями 25(ОН)Д.

Оцінка показників функції зовнішнього дихання (ФЖЄЛ, ОФВ1, індекс Тіффно, ПОШВ, МОШ75, МОШ50, МОШ 25) відносно рівня протимікробного пептиду кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на МВ, показала, що всі показники спірометрії дітей I та II квантилів достовірно вищі, ніж у дітей IV квантиля (табл. 3.9).

Таблиця 3.9 - Показники функції зовнішнього дихання у дітей, хворих на МВ, залежно від вмісту антимікробного пептиду кателіцидину LL-37 в сироватці крові

| Квартилі LL-37                   | ОФВ1, %      | ФЖЄЛ, %      | Індекс Тіффно, % | ПОШВ, %      | МОШ 75, %    | МОШ 50, %    | МОШ 25, %    |
|----------------------------------|--------------|--------------|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| I квартиль (менше 18,90 нг/мл)   | 83,30 ± 3,78 | 87,65 ± 3,30 | 90,83 ± 1,81     | 87,26 ± 4,09 | 70,30 ± 4,91 | 71,09 ± 5,00 | 70,61±5,12   |
| II квартиль (18,91-25,60 нг/мл)  | 78,58 ± 4,30 | 85,05 ± 3,47 | 89,95 ± 2,22     | 87,37±4,11   | 58,84±6,48   | 58,74±5,99   | 60,32 ± 6,19 |
| III квартиль (25,61-31,50 нг/мл) | 77,20 ± 3,54 | 81,70 ± 3,56 | 92,60 ± 15,44    | 83,55 ± 3,96 | 57,30 ± 5,45 | 60,45 ± 5,39 | 60,10 ± 6,20 |
| IV квартиль (більше 31,51 нг/мл) | 68,28 ± 3,03 | 74,67 ± 2,78 | 85,56 ± 2,13     | 74,33 ± 3,56 | 43,78 ± 3,88 | 44,94 ± 3,87 | 43,83 ± 4,59 |
| p <sub>1</sub>                   | 0,0036       | 0,0046       | 0,067            | 0,022        | 0,0001       | 0,0001       | 0,0003       |
| p <sub>2</sub>                   | 0,058        | 0,025        | 0,16             | 0,022        | 0,054        | 0,061        | 0,039        |
| Здорові діти                     | 99,36 ± 1,44 | 95,64 ± 1,16 | 99,05 ± 1,42     | 93,11 ± 1,76 | 94,38 ± 1,54 | 88,75 ± 1,24 | 88,94 ± 2,20 |

Примітка 1. p<sub>1</sub> – різниця вірогідна відносно показників дітей з I та IV квартилями кателіцидину LL-37.

Примітка 2. p<sub>2</sub> - різниця вірогідна відносно показників дітей з II та IV квартилями кателіцидину LL-37

Для аналізу вмісту 25(ОН)Д та кателіцидину LL-37 відносно отриманих в результаті бактеріологічного обстеження мокротиння бактерій виявлено наступні патогени – *St.aureus*, *P. aeruginosa*, *Str. pyogenes*, *Str. viridans*, *Str. agalactiae*, *St. pneumoniae*, *C. albicans* та *Enterococcus spp.* Було порівняно між собою значення 25(ОН)Д та кателіцидину LL-37 у двох групах: із позитивним результатом та з негативним результатом для кожної бактерії.

Встановлено, що у дітей, які мали колонізацію дихальних шляхів *P. aeruginosa*, визначались достовірно нижчі значення 25(ОН)Д, які склали  $26,22 \pm 1,06$  нг/мл, порівняно із дітьми, що не були інфіковані вказаною бактерією ( $30,51 \pm 1,00$  нг/мл;  $p=0,007$ ). Така ж тенденція спостерігалась і для *St. aureus*, *Str. pyogenes*, *Str. agalactiae*, *St. pneumoniae* та *Enterococcus spp.*, але не була статистично значимою (табл. 3.10).

Таблиця 3.10 - Вміст 25(ОН)Д в сироватці крові дітей, хворих на МВ, залежно від результатів посіву мокротиння

| Висіянний мікроорганізм  | Рівень 25(ОН)Д, нг/мл |                    |            |                  |
|--------------------------|-----------------------|--------------------|------------|------------------|
|                          | Бактерія висіяна      |                    | Не висіяна |                  |
|                          | n                     | M ± m              | n          | M ± m            |
| <i>St. aureus</i>        | 46                    | $27,97 \pm 1,09$   | 38         | $30,21 \pm 1,07$ |
| <i>P. aeruginosa</i>     | 30                    | $26,22 \pm 1,06^*$ | 54         | $30,51 \pm 1,00$ |
| <i>Str. pyogenes</i>     | 28                    | $28,03 \pm 1,09$   | 56         | $29,46 \pm 1,03$ |
| <i>Str. viridans</i>     | 38                    | $29,73 \pm 1,25$   | 46         | $28,36 \pm 0,98$ |
| <i>Str. agalactiae</i>   | 16                    | $28,81 \pm 1,19$   | 68         | $29,02 \pm 0,92$ |
| <i>St. pneumoniae</i>    | 9                     | $28,33 \pm 1,70$   | 75         | $29,06 \pm 0,85$ |
| <i>C. albicans</i>       | 47                    | $29,35 \pm 1,03$   | 37         | $28,50 \pm 1,19$ |
| <i>Enterococcus spp.</i> | 35                    | $28,45 \pm 1,22$   | 49         | $29,36 \pm 1,01$ |

Примітка. \* -  $p = 0,007$  - різниця вірогідна відносно показників групи дітей, що не мають даної бактерії.

Рівень антимікробного пептиду кателіцидину був достовірно підвищений у дітей, які були інфіковані *P. aeruginosa* ( $28,73 \pm 1,46$  нг/мл;  $p = 0,004$ ), порівняно

із дітьми, які не були інфіковані ( $22,94 \pm 1,03$  нг/мл). Також достовірна різниця була виявлена в групі *Str. viridans*, але вищі значення пептиду спостерігались у дітей, які не мали в мокротинні вказаної бактерії ( $p = 0,02$ ) (табл. 3.11).

Таблиця 3.11 - Вміст антимікробного пептиду кателіцидину в сироватці крові дітей, хворих на МВ, залежно від результатів посіву мокротиння

| Висіяний мікроорганізм   | Значення LL-37, нг/мл |                |            |              |
|--------------------------|-----------------------|----------------|------------|--------------|
|                          | Бактерія висіяна      |                | Не висіяна |              |
|                          | n                     | M ± m          | n          | M ± m        |
| <i>St. aureus</i>        | 46                    | 26,53 ± 1,29   | 38         | 23,17 ± 1,16 |
| <i>P. aeruginosa</i>     | 30                    | 28,73 ± 1,46*  | 54         | 22,94 ± 1,03 |
| <i>Str. pyogenes</i>     | 28                    | 26,11 ± 1,72   | 56         | 24,46 ± 1,03 |
| <i>Str. viridans</i>     | 38                    | 22,76 ± 1,36** | 46         | 26,86 ± 1,25 |
| <i>Str. agalactiae</i>   | 16                    | 24,79 ± 3,19   | 68         | 25,06 ± 0,98 |
| <i>St. pneumoniae</i>    | 9                     | 27,52 ± 2,59   | 75         | 24,71 ± 0,95 |
| <i>C. albicans</i>       | 47                    | 25,28 ± 1,61   | 37         | 24,72 ± 1,41 |
| <i>Enterococcus spp.</i> | 35                    | 26,68 ± 1,38   | 49         | 23,82 ± 1,15 |

Примітка 1. \* -  $p = 0,004$  - різниця вірогідна відносно показників групи дітей, що не мають даної бактерії.

Примітка 2. \*\* -  $p = 0,02$  - різниця вірогідна відносно показників групи дітей, що не мають даної бактерії.

## Резюме

У розділі проведено аналіз отриманих результатів визначення вмісту 25-гідроксихолекальциферолу та антимікробного пептиду кателіцидину в сироватці крові дітей, хворих на МВ, відносно особливостей захворювання та порівняно із контрольною групою практично здорових дітей.

Показано, що отримані значення в основній та контрольній групі достовірно відрізняються між собою, в групі хворих дітей вміст 25(ОН)Д в 1,2 раза нижчий, а кателіцидин в 3,2 раза вищий ( $p < 0,001$ ), ніж в групі практично здорових дітей.



Серед обстежених дітей, хворих на МВ, 49 пацієнтів (58,4 %) мали недостатнє забезпечення вітаміном Д, який був нижчим за 30 нг/мл. Встановлено, що найбільший дефіцит вітаміну мали діти віком  $7,40 \pm 1,40$  років, а найкраще забезпечені вітаміном діти  $10,34 \pm 0,73$  років.

Аналіз за віком показав, що діти із найвищим вмістом кателіцидину, які належали до III та IV кuartилів, були молодші за дітей, які мали нижчі значення та відповідали I кuartилу ( $p=0,003$  та  $p=0,0018$  відповідно).

В групі дітей, хворих на МВ із тяжким перебігом рівень 25(ОН)Д складав  $24,23 \pm 0,81$  нг/мл, що в 1,25 раза нижче за показники групи середньотяжкого перебігу та в 1,6 раза нижче, ніж легкого ( $p < 0,001$ ). Рівень кателіцидину LL-37 у дітей з тяжким перебігом складав  $30,22 \pm 1,17$  нг/мл, що в 1,3 та 3,15 раза вище, відповідно із середньотяжким та легким перебігом ( $p < 0,001$ ).

У хворих із тяжким порушенням екзокринної функції підшлункової залози (ФЕ-1 менше 100 мкг/г) вміст 25-гідроксихолекальциферолу був в 1,25 раза нижчий, ніж у дітей із помірним порушенням, а вміст кателіцидину був нижчим у 1,14 раза ( $p=0,018$ ).

Між такими параметрами спірометрії, як ФЖЄЛ, ОФВ1, індекс Тіффно, ПОШВ, МОШ 75, МОШ 50, МОШ 25 та рівнями забезпеченості 25(ОН)Д існує статистично значима різниця – у дітей із оптимальним рівнем 25(ОН)Д показники вищі, порівняно із групами субоптимального та недостатнього рівня вітаміну. Усі вищевказані показники спірометрії дітей I та II кuartилів кателіцидину достовірно вищі, ніж у дітей IV кuartиля.

Діти, хворі на МВ, чиї дихальні шляхи та легені інфіковані *P. aeruginosa*, мали достовірно нижчі значення 25(ОН)Д ( $p=0,007$ ) та достовірно підвищений рівень антимікробного пептиду кателіцидину ( $p=0,004$ ) в сироватці крові порівняно із дітьми, які не були інфіковані вказаною бактерією.

**Основні результати розділу опубліковано у таких працях: [14, 18, 19, 20, 21]**

## РОЗДІЛ 4

### СПІВСТАВЛЕННЯ ВМІСТУ КАТЕЛІЦИДИНУ І 25-ГІДРОКСИХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ З ПОКАЗНИКАМИ ФУНКЦІЇ ЗОВНІШНЬОГО ДИХАННЯ ТА СКЛАДОМ МІКРОФЛОРИ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ

Прогресуюче ураження легень є провідним клінічним проявом МВ, яке призводить до втрати дихальної функції та, як результат, до летального закінчення. За ступенем порушення функціональної здатності легень визначається тяжкість захворювання, його прогресування та ефективність лікування [181].

Підтримка респіраторної функції та відтермінування незворотніх змін легеневої тканини лежить в основі базисної терапії захворювання. Методи клінічної оцінки та моніторингу функції легень грають надзвичайно важливу роль у менеджменті пацієнтів з МВ. До таких тестів належить проведення спірометрії, яка показала свою ефективність як інструмент моніторингу прогресування хвороби. [175].

ОФВ1 вважається показником для віддаленого прогнозу стану легень, інші показники функції легень, а саме форсована життєва ємкість легень (ФЖЄЛ) та максимальна об'ємна швидкість середини видиху (МОШ<sub>25-75</sub> %), можуть бути прогностичними залежно від тяжкості ураження легень пацієнтів. Визначення цих показників в динаміці більш доречно, ніж одномоментне визначення [193].

Показник ОФВ1 вважається найбільш інформативним параметром спірометрії для оцінки функції легень та предиктором прогнозу життя пацієнтів із середньотяжким-тяжким перебігом хвороби [159]. Визначення ступеня зниження ОФВ1 протягом всього періоду розвитку захворювання дозволяє краще розуміти розвиток легневих уражень, а також дозволяє ідентифікувати фактори, які можуть сповільнити або пришвидшити перебіг [108].

Серед факторів ризику, що сприяють зниженню легеневої функції, виділяють немодифіковані, на які вплинути неможливо (стать, генотип, недостатність функції підшлункової), та модифіковані, до яких відносять колонізацію бактеріями легень,

нутритивний статус, кількість легневих загострень [108] Показано, що хронічна колонізація легень *P. aeruginosa* асоціюється із нижчими значеннями ОФВ1 порівняно із неінфікованими хворими [118].

Встановлено, що більшість пацієнтів із МВ страждають на дефіцит вітаміну Д, та в дослідженнях показано зв'язок рівня 25(ОН)Д із кількістю загострень [141, 190], порушенням легеневої функції та бактеріальною колонізацією *P. aeruginosa* [197] у хворих на МВ. Визначення вмісту 25(ОН)Д може стати предиктором для комплексної оцінки тяжкості перебігу МВ.

Сьогодні не в повній мірі відома роль антимікробних пептидів у патогенезі МВ та їх вплив на клінічні прояви хвороби. Majewski та співавт. показали, що кателіцидин відіграє значну роль у протибактеріальному захисті легень та його вміст в сироватці значно підвищувався у пацієнтів з бактеріальними легневими захворюваннями [132], також у роботі Persson та співавт. продемонстровано зв'язок LL-37 із запальним процесами в дихальних шляхах та загостренням ХОЗЛ [154]. Дані щодо дії антимікробних пептидів у пацієнтів з МВ досить обмежені та потребують уточнення та проведення досліджень. Серед пацієнтів з МВ також не визначений зв'язок кателіцидину із функцією легень.

Враховуючи, що вітамін Д регулює експресію антимікробного пептиду кателіцидину через рецептори вітаміну Д (VDR), вивчення зв'язків між цими речовинами та найбільш значимими показниками тяжкості ураження легень є обґрунтованим.

#### **4.1. Аналіз вмісту кателіцидину сироватки крові дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від рівня 25-гідроксиколекальциферолу.**

Нами було проведене порівняння між рівнем 25(ОН)Д та протимікробного пептиду кателіцидину LL-37 у сироватці крові дітей, хворих на МВ, та визначення взаємозв'язків між цими речовинами. Була виявлена така закономірність: чим краще хворі були забезпечені 25(ОН)Д, тим нижчі значення кателіцидину LL-37 вони демонстрували. Так, у пацієнтів, які мали оптимальний рівень 25-гідроксиколекальциферолу у крові, відмічався найнижчий рівень кателіцидину,

який становив  $22,06 \pm 1,36$  нг/мл, що достовірно відрізнялось від показників групи хворих, в крові яких визначались субоптимальний рівень та недостатність 25(ОН)Д, де рівень кателіцидину достовірно вищий ( $26,73 \pm 1,18$  нг/мл;  $p = 0,01$  та  $30,42 \pm 2,68$  нг/мл;  $p = 0,03$ ) (табл. 4.1).

Таблиця 4.1 - Вміст кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на МВ, залежно від рівня 25(ОН)Д в сироватці крові

| Рівень 25(ОН)Д                 | Вміст протимікробного пептиду кателіцидину LL-37, нг/мл | p     |
|--------------------------------|---------------------------------------------------------|-------|
| Оптимальний (30 – 50 нг/мл)    | $22,06 \pm 1,36$                                        | -     |
| Субоптимальний (20 – 30 нг/мл) | $26,73 \pm 1,18$                                        | 0,01  |
| Недостатність (10 – 20 нг/мл)  | $30,42 \pm 2,68$                                        | 0,03  |
| Здорові діти                   | $7,74 \pm 0,24$                                         | 0,001 |

Примітка. p - різниця вірогідна відносно показників пацієнтів з оптимальним рівнем 25(ОН)Д.

Порівняння вмісту 25(ОН)Д серед груп дітей різних квантилів кателіцидину показало, що у дітей із рівнем пептиду нижче 18,90 нг/мл (I квантиль), відзначався найвищий вміст 25(ОН)Д ( $33,26 \pm 1,63$  нг/мл). Слід зазначити, що із зростанням квантиля рівня LL-37 середні значення 25(ОН)Д в цих групах знижувались, і в III та IV квантилі дорівнювали  $28,62 \pm 1,26$  нг/мл ( $p=0,03$ ) та  $24,20 \pm 1,21$  нг/мл ( $p=0,0001$ ) відповідно (табл. 4.2).

Таблиця 4.2 - Вміст гідроксиколекальциферолу в сироватці крові дітей, хворих на МВ, залежно від рівня кателіцидину LL-37 в сироватці крові

| Рівень протимікробного пептиду кателіцидину LL-37 | Вміст 25(ОН)Д, нг/мл | p      |
|---------------------------------------------------|----------------------|--------|
| I квантиль (менше 18,90 нг/мл)                    | $33,26 \pm 1,63$     | -      |
| II квантиль (18,91 – 25,60 нг/мл)                 | $29,01 \pm 1,32$     | 0,06   |
| III квантиль (25,61 – 31,50 нг/мл)                | $28,62 \pm 1,26$     | 0,03   |
| IV квантиль (більше 31,51 нг/мл)                  | $24,20 \pm 1,21$     | 0,0001 |
| Здорові діти                                      | $34,22 \pm 0,40$     | -      |

Примітка. p - різниця вірогідна відносно показників пацієнтів з I квантилю.

Проведений аналіз взаємозв'язку між вмістом антимікробного пептиду кателіцидину та 25-гідроксиколекальциферолом показав, що існує зворотній зв'язок середньої сили між цими речовинами  $r = -0,48$  ( $p=0,001$ ).

Оцінка досліджуваних речовин відносно тяжкості перебігу МВ продемонструвала, що серед дітей, які мали тяжкий перебіг захворювання, закономірно відзначалось підвищення антимікробного пептиду кателіцидину, який складав  $30,22 \pm 1,17$  нг/мл, що у 2,14 рази вище, порівняно із групою хворих із легким перебігом ( $p=0,001$ ). Оцінка рівня 25(ОН)Д показала зворотню тенденцію, а саме зменшення рівня вітаміну у сироватці крові із погіршенням стану пацієнтів. Так, діти, що мали легкий перебіг хвороби, мали вищий рівень 25(ОН)Д –  $38,92 \pm 2,18$  нг/мл, що у 1,6 разів вище, порівняно із дітьми із тяжким перебігом ( $p=0,001$ ) (табл.4.3).

Таблиця 4.3 - Рівні протимікробного пептиду кателіцидину LL-37 та 25(ОН)Д в сироватці крові дітей, хворих на МВ, залежно від тяжкості перебігу

| Перебіг              | Рівень кателіцидину LL-37, нг/мл | Рівень 25(ОН)Д, нг/мл |
|----------------------|----------------------------------|-----------------------|
| Тяжкий, n=34         | $30,22 \pm 1,17^*$               | $24,23 \pm 0,81^*$    |
| Середньотяжкий, n=39 | $23,55 \pm 0,94^*$               | $30,32 \pm 0,83^*$    |
| Легкий, n=11         | $14,08 \pm 1,91$                 | $38,92 \pm 2,18$      |

Примітка. \*  $p \leq 0,001$  - різниця вірогідна відносно показників дітей із легким перебігом захворювання.

Також нами було проаналізовано зв'язок між тяжкістю перебігу МВ у дітей та вмістом досліджуваних речовин 25(ОН)Д та кателіцидину LL-37 у сироватці крові. Аналіз показав, що між рівнем 25(ОН)Д та тяжкістю МВ існує позитивний середньої сили зв'язок ( $r_{xy} = 0,67$ ;  $p=0,001$ ), а між рівнем кателіцидину LL-37 та тяжкістю МВ встановлено зворотній середньої сили зв'язок ( $r_{xy} = -0,60$ ;  $p=0,001$ ).

#### 4.2. Рівень антимікробного пептиду кателіцидину LL-37 та 25-гідроксихолекальциферолу в сироватці крові дітей залежно від показників функції зовнішнього дихання

При оцінці функції зовнішнього дихання встановлено достовірну ( $p < 0,001$ ) різницю у значеннях основних показників (ФЖЄЛ, ОФВ1, Індекс Тіффно, ПОШВ) між групою дітей, хворих на МВ та здоровими дітьми (табл. 4.4).

Таблиця 4.4 - Показники спірометрії дітей, хворих на МВ ( $M \pm m$ )

| Показники                       | Діти, хворі на МВ,<br>n = 80 | Здорові діти,<br>n = 40 |
|---------------------------------|------------------------------|-------------------------|
| ФЖЄЛ, ( $M \pm m$ ), %          | 82,63 $\pm$ 1,72*            | 99,36 $\pm$ 1,44        |
| ОФВ1, ( $M \pm m$ ), %          | 77,28 $\pm$ 1,93*            | 95,64 $\pm$ 1,16        |
| Індекс Тіффно, ( $M \pm m$ ), % | 89,89 $\pm$ 0,98*            | 99,05 $\pm$ 1,42        |
| ПОШВ, ( $M \pm m$ ), %          | 83,45 $\pm$ 2,04*            | 93,11 $\pm$ 1,76        |

Примітка. \*  $p < 0,001$  - різниця вірогідна відносно показників групи здорових дітей.

ОФВ1 вважається найбільш чутливим параметром для моніторингу тяжкості МВ та використовується для оцінки та прогнозу легеневих уражень при цьому захворюванні. Усі діти, яким виконали спірометрію (n=80), були поділені на групи за ступенем зниження ОФВ1 та було оцінено вміст 25(ОН)Д та протимікробного пептиду кателіцидину LL-37 в сироватці крові відносно цих груп.

Таким чином було встановлено, що діти із вищими показниками ОФВ1 мали вищі значення 25(ОН)Д – 31,27  $\pm$  1,16 нг/мл у групі дітей із ОФВ1 вище 80 %, проти 25,90  $\pm$  1,25 нг/мл серед дітей із зниженням даного параметру нижче 64 % ( $p=0,002$ ). Рівень кателіцидину, навпаки, підвищувався при зниженні показника ОФВ1 та складав 21,96  $\pm$  1,02 нг/мл (група дітей із ОФВ1 більше 80 %) та 28,48  $\pm$  1,49 нг/мл (ОФВ1 нижче 64 %) (табл. 4.5).

Між показниками спірометрії та вмістом протимікробного пептиду кателіцидину в сироватці крові дітей, хворих на МВ, встановлено зворотній зв'язок. Спостерігався достовірний зворотній зв'язок середньої сили між такими

показниками функції зовнішнього дихання, як ФЖЄЛ ( $r = -0,3187$ ;  $p=0,004$ ), МОШ 75 % ( $r_{xy} = -0,3601$ ;  $p=0,001$ ), МОШ 50 % ( $r_{xy} = -0,3722$ ;  $p=0,0007$ ), МОШ 25 % ( $r_{xy} = -0,3658$ ;  $p=0,0008$ ) (табл. 4.6). Для параметру ОФВ1 встановлено слабкий зворотній зв'язок  $r = -0,2916$  ( $p=0,009$ ) (табл. 4.6).

Таблиця 4.5 - Вміст 25(ОН)Д та протимікробного пептиду кателіцидину LL-37 в сироватці крові у дітей, хворих на МВ, залежно від показника ОФВ1

| Показник ОФВ <sub>1</sub> | Вміст 25(ОН)Д,<br>нг/мл | Вміст протимікробного пептиду<br>кателіцидину LL-37, нг/мл |
|---------------------------|-------------------------|------------------------------------------------------------|
| Більше 80 %               | 31,27±1,16              | 21,96±1,02                                                 |
| 65 – 79 %                 | 27,84±1,66              | 27,79±2,48                                                 |
| Менше 64 %                | 25,90±1,25              | 28,48±1,49                                                 |
| p                         | 0,002                   | 0,0006                                                     |

Примітка. p - різниця вірогідна відносно груп пацієнтів із показниками ОФВ1 більше 80 % та менше 64 %.

Таблиця 4.6 - Взаємозв'язок між показниками функції зовнішнього дихання та вмістом протимікробного пептиду кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на МВ

| Показники ФЗД | Кателіцидин LL-37  | p      |
|---------------|--------------------|--------|
| ФЖЄЛ          | $r_{xy} = -0,3187$ | 0,004  |
| ОФВ1          | $r_{xy} = -0,2916$ | 0,009  |
| Індекс Тіффно | $r_{xy} = -0,2005$ | 0,07   |
| ПОШВ          | $r_{xy} = -0,2427$ | 0,03   |
| МОШ 75%       | $r_{xy} = -0,3601$ | 0,001  |
| МОШ 50%       | $r_{xy} = -0,3722$ | 0,0007 |
| МОШ 25%       | $r_{xy} = -0,3658$ | 0,0008 |

Аналіз кореляцій між параметрами ФЗД та рівнем 25-гідроксиколекальциферолу в сироватці крові дітей з МВ виявив достовірний

позитивний зв'язок середньої сили. Так, виявлено позитивний зв'язок для показників ФЖЄЛ ( $r_{xy} = 0,3602$ ;  $p=0,001$ ), ОФВ1 ( $r_{xy} = 0,3885$ ;  $p=0,0004$ ), індексу Тіффно ( $r_{xy} = 0,3263$ ;  $p=0,003$ ), МОШ 75 % ( $r_{xy} = 0,4189$ ;  $p=0,0001$ ), МОШ 50 % ( $r_{xy} = 0,4305$ ;  $p=0,0007$ ), МОШ 25 % ( $r_{xy} = 0,4305$ ;  $p=0,0004$ ) (табл. 4.7).

Таблиця 4.7 - Взаємозв'язок між показниками функції зовнішнього дихання та вмістом гідроксихолекальциферолу 25(ОН)Д в сироватці крові дітей, хворих на МВ

| Показники ФЗД | Рівень 25(ОН)Д    | p      |
|---------------|-------------------|--------|
| ФЖЄЛ          | $r_{xy} = 0,3602$ | 0,001  |
| ОФВ1          | $r_{xy} = 0,3885$ | 0,0004 |
| Індекс Тіффно | $r_{xy} = 0,3263$ | 0,003  |
| ПОШВ          | $r_{xy} = 0,3617$ | 0,001  |
| МОШ 75%       | $r_{xy} = 0,4189$ | 0,0001 |
| МОШ 50%       | $r_{xy} = 0,4305$ | 0,0007 |
| МОШ 25%       | $r_{xy} = 0,3836$ | 0,0004 |

#### **4.3. Оцінка взаємозв'язку між рівнем кателіцидину LL-37 та 25-гідроксихолекальциферолу в сироватці крові та складом мікрофлори дихальних шляхів**

У хворих на МВ тяжкість перебігу захворювання залежить від мікроорганізмів, які колонізують дихальні шляхи. Чим агресивніший мікроорганізм, тим більше його життєдіяльність порушує функцію легень. Виявлення у бронхо-альвеолярних змивах *P. aeruginosa* або *St. aureus* асоціюється із нижчими показниками ФЖЄЛ та зниженням ОФВ1 у дітей з МВ дошкільного та шкільного віку [159].

У дослідженні ми провели аналіз щодо кількісного та якісного складу патогенних мікроорганізмів, висіяних з мокротиння, та вмісту кателіцидину LL-37



та 25(ОН)Д в сироватці крові. Кількісна оцінка бактерій проведена шляхом визначення десяткового логарифму КУО/г кожного виду мікроорганізму.

Дослідження кількісного складу основних мікроорганізмів, виділених із мокротиння дітей, хворих на МВ, виявило достовірне збільшення кількості *St. aureus* у дітей із тяжким перебігом захворювання порівняно із дітьми, що мають легкий перебіг ( $p=0,0036$ ), а також порівняно з дітьми із середньотяжким перебігом ( $p=0,007$ ). *Str. pyogenes* висівався достовірно частіше у пацієнтів із середньотяжким перебігом ( $p=0,05$ ), ніж у дітей, що мали легкі прояви хвороби. Патогенні мікроорганізми групи *Enterococcus spp.* менше висівались у дітей із легким перебігом, порівняно із дітьми із середньотяжким та тяжким перебігом МВ (табл. 4.8).

Таблиця 4.8 – Кількісний склад патогенних мікроорганізмів, висіяних із мокротиння дітей, хворих на МВ, залежно від тяжкості захворювання

| log КУО/г                | Перебіг МВ |                |           | p <sub>1</sub> | p <sub>2</sub> |
|--------------------------|------------|----------------|-----------|----------------|----------------|
|                          | Легкий     | Середньотяжкий | Тяжкий    |                |                |
| <i>St.aureus</i>         | 4,40 ±0,32 | 5,48±0,21      | 5,67±0,26 | <b>0,0036</b>  | <b>0,007</b>   |
| <i>P. aeruginosa</i>     | -          | 5,96±0,27      | 5,93±0,25 | -              | -              |
| <i>Str. pyogenes</i>     | 5,17±0,17  | 5,74±0,23      | 5,62±0,20 | 0,093          | <b>0,05</b>    |
| <i>Str. viridans</i>     | 6,02±0,34  | 5,94±0,17      | 6,04±0,23 | 0,96           | 0,83           |
| <i>Str. agalactiae</i>   | 5,85±0,85  | 5,45±0,21      | 6,11±0,30 | 0,77           | 0,65           |
| <i>St. pneumoniae</i>    | -          | 5,07±0,13      | 5,67±0,58 | -              | -              |
| <i>C. albicans</i>       | 4,74±0,53  | 5,36±0,20      | 5,07±0,12 | 0,54           | 0,28           |
| <i>Enterococcus spp.</i> | 5,00       | 6,01±0,27      | 5,89±0,17 | -              | -              |

Примітка 1. p<sub>1</sub> - різниця вірогідна відносно показників дітей із легким та тяжким перебігом.

Примітка 2. p<sub>2</sub> - різниця вірогідна відносно показників дітей із легким та середньотяжким перебігом.

Проведена оцінка рівня 25-гідроксихолекальциферолу в сироватці крові дітей, хворих на МВ, залежно від тяжкості захворювання та висіяних патогенних мікроорганізмів виявила таку закономірність: усі пацієнти із легким перебігом,

незалежно від виду мікроорганізму, мали достовірно вищі показники 25(ОН)Д та тримались у межах оптимального рівня (більше 30 нг/мл). У дітей із тяжким перебігом МВ відмічалась недостатність 25(ОН)Д у групі висіяних мікроорганізмів *St. aureus*, *Str. pyogenes*, *Str. viridans*, *Str. agalactiae*, *C. albicans*, *Enterococcus spp.*, яка достовірно відрізнялась від показників дітей середньотяжкого і легкого перебігу. *Str. agalactiae* та *Enterococcus spp.* не показали достовірної різниці між показниками легкого та середньотяжкого перебігу. У групі дітей із позитивною культурою *P. aeruginosa* діти із тяжким МВ мали достовірно нижчі значення 25(ОН)Д ( $p < 0,01$ ), порівняно із середньотяжким перебігом.

Проведено порівняння вмісту 25(ОН)Д в групах дітей із позитивною культурою кожного мікроорганізму із дітьми, у яких згадані бактерії не висівались. З'ясовано, що хворі із тяжким та середньотяжким перебігом із позитивним результатом посіву мокротиння на *St. aureus*, *P. aeruginosa*, *Str. agalactiae*, *St. pneumoniae* в середньому мали нижчі значення 25(ОН)Д, порівняно із дітьми такої ж тяжкості, але без висіву вказаних бактерій. Достовірно вищим був вміст 25(ОН)Д у пацієнтів тяжкого перебігу із групи негативного посіву на *St. aureus* -  $26,60 \pm 1,65$  нг/мл порівняно із дітьми, у яких дана бактерія була висіяна ( $23,09 \pm 0,82$  нг/мл;  $p = 0,042$ ) (табл. 4.9).

Кількісний аналіз патогенної мікрофлори дихальних шляхів дітей, хворих на МВ, було проведено з урахуванням рівня 25(ОН)Д, в результаті були отримані показники, наведені в таблиці 4.10. У дітей із субоптимальним рівнем 25(ОН)Д мікроорганізми висівались у більшій кількості. Виявлено достовірне збільшення кількості *P. aeruginosa* у посівах мокротиння дітей із недостатнім рівнем 25-гідроксихолекальциферолу порівняно з пацієнтами, які не мали дефіциту зазначеного вітаміну ( $p < 0,05$ ). Серед інших мікроорганізмів достовірної різниці виявлено не було.

Таблиця 4.9 – Вміст 25(ОН)Д в сироватці крові дітей, хворих на МВ, залежно від наявності або відсутності мікроорганізму в мокротинні хворих та тяжкості захворювання

|                          | Перебіг МВ            |                     |                  |                     |                  |                     |
|--------------------------|-----------------------|---------------------|------------------|---------------------|------------------|---------------------|
|                          | Легкий                |                     | Середньотяжкий   |                     | Тяжкий           |                     |
|                          | Бактерія висіяна      | Бактерія не висіяна | Бактерія висіяна | Бактерія не висіяна | Бактерія висіяна | Бактерія не висіяна |
|                          | Рівень 25(ОН)Д, нг/мл |                     |                  |                     |                  |                     |
| <i>St. aureus</i>        | 39,68 ± 3,20          | 38,00 ± 3,21        | 30,42 ± 1,16     | 30,24 ± 1,19        | 23,09 ± 0,82     | 26,60 ± 1,65*       |
| <i>P. aeruginosa</i>     | -                     | 38,56 ± 2,37        | 28,95 ± 1,35     | 31,01 ± 1,03        | 23,60 ± 0,82     | 24,93 ± 1,46        |
| <i>Str. pyogenes</i>     | 35,32 ± 1,68          | 40,97 ± 3,11        | 30,67 ± 1,26     | 30,17 ± 1,07        | 22,94 ± 0,59     | 24,93 ± 1,20        |
| <i>Str. viridans</i>     | 42,10 ± 2,96          | 35,10 ± 2,48        | 29,07 ± 1,21     | 31,79 ± 1,05        | 24,28 ± 0,78     | 24,20 ± 1,15        |
| <i>Str. agalactiae</i>   | 34,00 ± 1,60          | 40,01 ± 2,52        | 30,84 ± 1,40     | 30,21 ± 0,97        | 23,96 ± 0,96     | 25,28 ± 1,41        |
| <i>St. pneumoniae</i>    | -                     | 38,92 ± 2,18        | 30,18 ± 1,85     | 30,34 ± 0,92        | 23,99 ± 0,85     | 26,03 ± 2,90        |
| <i>C. albicans</i>       | 40,08 ± 4,52          | 37,95 ± 1,83        | 29,36 ± 1,48     | 30,92 ± 0,99        | 24,30 ± 0,93     | 24,15 ± 1,41        |
| <i>Enterococcus spp.</i> | 41,03 ± 6,26          | 38,13 ± 2,19        | 29,78 ± 1,44     | 30,74 ± 0,98        | 24,42 ± 1,05     | 24,07 ± 1,22        |

Примітка. \* p=0,042 – різниця вірогідна відносно показників дітей із позитивною культурою бактерії.

Таблиця 4.10 – Кількісний склад патогенних мікроорганізмів, отриманих із посіву мокротиння дітей, хворих на МВ, залежно від рівня забезпечення 25(ОН)Д

| log КУО/г                | Рівень 25(ОН)Д                 |                                   |                                  |
|--------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
|                          | Оптимальний<br>(30 – 50 нг/мл) | Субоптимальний<br>(20 – 30 нг/мл) | Недостатність<br>(10 – 20 нг/мл) |
| <i>St.aureus</i>         | 5,20±0,27                      | 5,64±0,22                         | 5,25±0,75                        |
| <i>P. aeruginosa</i>     | 5,27±0,40                      | 5,98±0,21                         | 8,00 ± 0,62*                     |
| <i>Str. pyogenes</i>     | 5,28±0,19                      | 5,80±0,20                         | -                                |
| <i>Str. viridans</i>     | 6,11±0,21                      | 5,92±0,15                         | -                                |
| <i>Str. agalactiae</i>   | 5,96±0,19                      | 6,06±0,24                         | -                                |
| <i>St. pneumoniae</i>    | 5,42±0,42                      | 5,40±0,40                         | -                                |
| <i>C. albicans</i>       | 5,10±0,18                      | 4,88±0,08                         | 5,70                             |
| <i>Enterococcus spp.</i> | 5,75±0,23                      | 5,97±0,15                         | 6,00                             |

Примітка 1. \* -  $p < 0,05$  - різниця вірогідна відносно показників дітей із оптимальним та субоптимальним рівнями 25(ОН)Д.

Оцінка вмісту кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на МВ, залежно від результатів бактеріологічного обстеження мокротиння та перебігу МВ показала, що діти із легким перебігом хвороби мали достовірно нижчі значення пептиду порівняно із середньотяжким та тяжким перебігом у кожній групі висіяних бактерій, окрім *Str. pyogenes*, де значення між легким та середньотяжким перебігом достовірно не відрізнялись.

При порівнянні між собою груп із позитивним та негативним результатом бактеріологічного обстеження щодо кожної бактерії з'ясовано, що діти з тяжким перебігом МВ, в мокротинні яких виявляли *St. aureus* та *P. aeruginosa*, мали достовірно вищі значення кателіцидину порівняно з групою дітей, у яких вказані бактерії не були виявлені:  $31,94 \pm 1,40$  нг/мл ( $p = 0,031$ ) та  $32,44 \pm 1,50$  нг/мл ( $p = 0,042$ ) відповідно (табл. 4.11).

Таблиця 4.11 – Вміст кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на МВ, залежно від наявності або відсутності мікроорганізму, висіяного з мокротиння, та тяжкості захворювання

|                          | Перебіг МВ                       |                     |                  |                     |                  |                     |
|--------------------------|----------------------------------|---------------------|------------------|---------------------|------------------|---------------------|
|                          | Легкий                           |                     | Середньотяжкий   |                     | Тяжкий           |                     |
|                          | Бактерія висіяна                 | Бактерія не висіяна | Бактерія висіяна | Бактерія не висіяна | Бактерія висіяна | Бактерія не висіяна |
|                          | Рівень кателіцидину LL-37, нг/мл |                     |                  |                     |                  |                     |
| <i>St. aureus</i>        | 15,21 ± 2,81                     | 12,72 ± 2,71        | 23,20 ± 1,44     | 23,82 ± 1,26        | 31,94 ± 1,40*    | 26,60 ± 1,76        |
| <i>P. aeruginosa</i>     | -                                | 14,63 ± 2,02        | 23,82 ± 1,51     | 23,41 ± 1,21        | 32,44 ± 1,50**   | 27,71 ± 1,67        |
| <i>Str. pyogenes</i>     | 15,71 ± 4,37                     | 13,15 ± 1,92        | 23,96 ± 1,20     | 22,64 ± 1,46        | 33,05 ± 2,07     | 28,67 ± 1,34        |
| <i>Str. viridans</i>     | 10,66 ± 1,54                     | 18,18 ± 2,97**      | 22,21 ± 1,17     | 25,16 ± 1,46        | 30,44 ± 1,97     | 30,11 ± 1,49        |
| <i>Str. agalactiae</i>   | 10,19 ± 3,41                     | 14,94 ± 2,18        | 25,33 ± 2,94     | 23,16 ± 0,96        | 30,68 ± 1,34     | 28,43 ± 2,46        |
| <i>St. pneumoniae</i>    | -                                | 14,08 ± 1,91        | 25,84 ± 3,10     | 23,22 ± 0,98        | 29,62 ± 4,63     | 30,29 ± 1,22        |
| <i>C. albicans</i>       | 15,98 ± 1,65                     | 12,49 ± 3,23        | 22,89 ± 1,26     | 24,59 ± 1,38        | 30,92 ± 1,66     | 29,41 ± 1,69        |
| <i>Enterococcus spp.</i> | 14,63 ± 0,64                     | 13,87 ± 2,66        | 24,02 ± 1,41     | 23,19 ± 1,28        | 32,10 ± 1,87     | 28,73 ± 1,44        |

Примітка 1. \* -  $p=0,031$  – різниця вірогідна відносно показників дітей із позитивною культурою бактерії.

Примітка 2. \*\* -  $p=0,042$  – різниця вірогідна відносно показників дітей із позитивною культурою бактерії.

Аналіз кількісного складу бактерій відносно розподілу кателіцидину за квантилями не виявив суттєвих закономірностей, значення наведені в таблиці 4.12. Показано, що *St. aureus* виявлявся у більшій кількості у дітей IV квантиля, порівняно із групою II квантиля пептиду.

Таблиця 4.12 – Кількісний склад патогенних мікроорганізмів, отриманих із посіву мокротиння дітей, хворих на МВ, залежно від рівня кателіцидину

| log КУО/г                | Рівень кателіцидину LL-37               |                                            |                                             |                                           |
|--------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------------------------|
|                          | I<br>квантиль<br>(менше 18,90<br>нг/мл) | II<br>квантиль<br>(18,91 – 25,60<br>нг/мл) | III<br>квантиль<br>(25,61 – 31,50<br>нг/мл) | IV<br>квантиль<br>(більше<br>31,51 нг/мл) |
| <i>St. aureus</i>        | 5,25±0,33                               | 5,00±0,33*                                 | 5,32±0,35                                   | 5,92±0,29                                 |
| <i>P. aeruginosa</i>     | 6,22±0,58                               | 5,77±0,61                                  | 6,01±0,19                                   | 5,62±0,33                                 |
| <i>Str. pyogenes</i>     | 5,10±0,35                               | 5,67±0,21                                  | 5,87±0,27                                   | 5,67±0,27                                 |
| <i>Str. viridans</i>     | 6,01±0,20                               | 5,74±0,20                                  | 6,28±0,24                                   | 5,60±0,40                                 |
| <i>Str. agalactiae</i>   | 5,88±0,27                               | 6,35±0,35                                  | 6,35±0,20                                   | 5,74±0,33                                 |
| <i>St. pneumoniae</i>    | 5,85±0,85                               | 5,50±0,50                                  | 5,50±0,50                                   | 5,00±0,58                                 |
| <i>C. albicans</i>       | 4,93±0,21                               | 4,88±0,20                                  | 4,95±0,13                                   | 5,11±0,13                                 |
| <i>Enterococcus spp.</i> | 5,79±0,28                               | 6,07±0,26                                  | 6,10±0,24                                   | 5,52±0,19                                 |

Примітка. \* -  $p \leq 0,05$  - різниця вірогідна відносно показників II та IV квантилів.

Оцінка зв'язку між рівнем 25(ОН)Д та кількісними показниками окремих мікроорганізмів, висіяних з мокротиння, показала, що існує зворотній зв'язок слабкої сили між кількістю КУО та 25(ОН)Д. Виявлено достовірний зворотній зв'язок середньої сили у групі дітей із позитивною *P. aeruginosa* ( $p=0,049$ ). Серед інших груп бактерій статистично значимих зв'язків не виявлено (табл. 4.13).

Таблиця 4.13 – Взаємозв'язок між видом мікроорганізму, висіяного з мокротиння хворих, та вмістом 25(ОН)Д в сироватці крові дітей, хворих на МВ

| Бактерія              | 25(ОН)Д            | p            |
|-----------------------|--------------------|--------------|
| <i>St.aureus</i>      | $r_{xy} = -0,1744$ | 0,246        |
| <i>P. aeruginosa</i>  | $r_{xy} = -0,3507$ | <b>0,049</b> |
| <i>Str. pyogenes</i>  | $r_{xy} = -0,3325$ | 0,084        |
| <i>Str. viridans</i>  | $r_{xy} = -0,0697$ | 0,678        |
| <i>St. pneumoniae</i> | $r_{xy} = -0,446$  | 0,9          |
| <i>C. albicans</i>    | $r_{xy} = -0,0174$ | 0,9          |

Між вмістом кателіцидину та кількісними показниками бактерій виявлено позитивний зв'язок, але статистично значимих серед них не було (табл. 4.14).

Таблиця 4.14 – Взаємозв'язок між видом мікроорганізму, висіяного з мокротиння хворих, та вмістом протимікробного пептиду кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на МВ

| Бактерія              | Кателіцидин LL-37  | p     |
|-----------------------|--------------------|-------|
| <i>St.aureus</i>      | $r_{xy} = 0,2227$  | 0,137 |
| <i>P. aeruginosa</i>  | $r_{xy} = 0,1403$  | 0,45  |
| <i>Str. pyogenes</i>  | $r_{xy} = 0,2910$  | 0,133 |
| <i>Str. viridans</i>  | $r_{xy} = 0,0120$  | 0,943 |
| <i>St. pneumoniae</i> | $r_{xy} = -0,3597$ | 0,342 |
| <i>C. albicans</i>    | $r_{xy} = 0,1317$  | 0,378 |

### Резюме

У розділі показано залежність між вмістом 25-гідроксихолекальциферолу, кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на МВ, та показниками спірометрії і результатами бактеріологічного обстеження мокротиння, що виділяли хворі. Також проведено аналіз щодо взаємозалежностей між ними.

Порівняння вмісту кателіцидину LL-37 за рівнем 25(OH)Д у сироватці крові дітей, показало, що у хворих із оптимальними значеннями 25(OH)Д відмічались найнижчі показники кателіцидину LL-37 ( $22,06 \pm 1,36$  нг/мл), та навпаки, в групі із недостатнім рівнем 25(OH)Д рівень пептиду збільшувався в 1,37 разів ( $p = 0,03$ ). Також показано, що у дітей I квартиля кателіцидину достовірно частіше було визначено достатній рівень 25(OH)Д, який в середньому складав  $33,26 \pm 1,63$  нг/мл, а в групі IV квартилю цей показник знижувався в 1,3 рази ( $p=0,0001$ ). Оцінка кореляції між досліджуваними речовинами виявила зворотній зв'язок середньої сили  $r_{xy} = - 0,48$  ( $p=0,001$ ).

Відносно тяжкості перебігу МВ аналіз показав, що у дітей із тяжким перебігом вміст кателіцидину був у 2,14 разів вищим ( $p=0,001$ ), а вміст 25(OH)Д в групі важкого перебігу у 1,6 разів нижчий ( $p=0,001$ ) порівняно із групою легкого перебігу.

Оцінка кореляції між вмістом 25(OH)Д та кателіцидину LL-37 у сироватці крові та тяжкістю перебігу виявила позитивний середньої сили зв'язок для 25(OH)Д ( $r_{xy} = 0,67$ ;  $p=0,001$ ). Між рівнем кателіцидину LL-37 та перебігом МВ існує зворотній зв'язок середньої сили ( $r_{xy} = -0,60$ ;  $p=0,001$ ).

Також при оцінці рівня кателіцидину LL-37 залежно від показника ОФВ1 визначено, що вищі значення пептиду реєструвались у дітей зі зниженою дихальною функцією, а саме зниженим ОФВ1 (нижче 64 %), та були у 1,3 рази вище ( $p=0,0006$ ) порівняно із групою хворих із збереженими вище 80 % показниками ОФВ1.

Вивчення взаємозв'язку між показниками спірометрії та вмістом протимікробного пептиду кателіцидину в сироватці крові показало достовірний зворотній зв'язок середньої сили між рівнем пептиду та ФЖЄЛ, МОШ 75 %, МОШ 50 % ( $p=0,0007$ ), МОШ 25 % ( $p=0,0008$ ), та ОФВ1 – слабкий зв'язок ( $p=0,009$ ).

Була встановлена наявність достовірного взаємозв'язку середньої сили між вмістом 25(OH)Д в сироватці крові, у хворих на МВ, та показниками спірометрії, а саме: ФЖЄЛ ( $p=0,001$ ), ОФВ1 ( $p=0,0004$ ), індексу Тіффно ( $p=0,003$ ), МОШ 75 %



( $p=0,0001$ ), МОШ 50 % ( $p=0,0007$ ), МОШ 25 % ( $p=0,0004$ ).

З'ясовано, що серед дітей із тяжким перебігом МВ, у яких висівалась *St. aureus*, вміст 25(ОН)Д був достовірно нижчим ( $p=0,042$ ) порівняно з дітьми, у яких в мокротинні ця бактерія не була виявлена. Також у дітей із тяжким перебігом, легені яких колонізовані *St. aureus* та *P. aeruginosa*, відмічалось достовірне підвищення кателіцидину LL-37 ( $p=0,031$  та  $p=0,042$  відповідно) порівняно з групою дітей, у яких вказані бактерії не були виявлені.

**Основні результати розділу опубліковано у наступних працях: [25, 26]**

## РОЗДІЛ 5

### ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ МУКОВІСЦИДОЗУ У ДІТЕЙ ЗАЛЕЖНО ВІД ВМІСТУ КАТЕЛІЦИДИНУ ТА 25-ГІДРОКСИХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ

Епітеліальні клітини дихальних шляхів синтезують ряд білків, що захищають прямо або опосередковано від проникнення у клітини таких патологічних агентів, як бактерії та віруси. До них належать лізоцим, лактоферрин, дефензини, інтерферони, хемокіни та цитокіни, а також кателіцидин людини LL-37 (людський катіонний АМП 18 (hCAP-18)), який найбільш активний в дихальних шляхах [168]. Білок-попередник кателіцидину LL-37 був виявлений у нейтрофілах, епітелії легень та альвеолярних макрофагах. Після перетворення він діє як багатофункціональний імуномодулятор, що володіє хемотактичною активністю щодо нейтрофілів, моноцитів, Т-клітин, мастоцитів та стимулює фагоцитоз, синтез лейкотрієну В<sub>4</sub>, дегрануляцію мастоцитів [166].

У багатьох дослідженнях була показана антимікробна активність кателіцидину людини LL-37 проти цілого ряду грам-позитивних, грам-негативних бактерій, вірусів та грибів. Цей пептид, наприклад, здійснює елімінацію внутрішньоклітинних мікобактерій та регулює процеси їх фагоцитозу [78]. Beaumont та співавт. виявили позитивний ефект від введення синтетичного кателіцидину людини в легені мишей, інфікованих *P. aeruginosa*. Кателіцидин LL-37 виявив захисну прозапальну реакцію на інфекцію, стимулюючи ранню нейтрофільну відповідь, що сприяло бактеріальному кліренсу легень [57].

Вивчення вмісту кателіцидину людини LL-37 у зразках мокротиння пацієнтів із МВ показало, що у бронхо-альвеолярних змивах та мокротинні, яке виділяли хворі, рівень пептиду був значно вищим, ніж у здорових людей. Основним джерелом LL-37 у мокротинні виявились нейтрофіли, які були виявлені у великій кількості та були насичені гранулами [202]. Можлива бактерицидна активність кателіцидину у пацієнтів з муковісцидозом є об'єктом багатьох досліджень, адже пошук ефективних методів боротьби з інфекційними

ускладненнями хвороби, а особливо біоплівковими формами синьогнійної палички, залишається актуальним.

Згідно з даними, що були опубліковані останнім часом, вітамін Д грає ключову роль в активації антимікробного захисту та бере участь у регуляції та координації багатьох процесів, в тому числі імунної та запальної відповіді. Імунна відповідь, що індукується вітаміном Д через VDR, стимулює ряд генів, які кодують такі антимікробні білки, як кателіцидини, дефензини, гепсидини та нейтрофільні пептиди, що діють як антибіотики проти різноманітних патогенів [78].

Здатність вітаміну Д збільшувати вміст АМП кателіцидину продемонстровано в роботі Не та співавт. [75], які довели, що у групи пацієнтів після 14-денного курсу вітаміну Д рівень даного пептиду в сироватці крові та слині значно збільшився. Залежність антимікробної активності рідини поверхні дихальних шляхів від рівня забезпеченості вітаміном Д за рахунок підвищення експресії антимікробного пептиду кателіцидину підтверджена у РКД серед групи здорових людей *in vitro* [191].

На сьогодні даних про вивчення зв'язку між рівнем вітаміну Д та кателіцидину і тяжкістю клінічних проявів МВ серед дітей немає, тому дослідження в зазначеному напрямку є доречними.

Для вивчення можливості використання 25-гідроксихолекальциферолу та кателіцидину у якості прогностичних маркерів тяжкості перебігу МВ у дітей нами було проведено порівняння даних групи дітей із тяжким перебігом та об'єднаної групи середньотяжкого та легкого перебігу.

Зазначимо, що при аналізі взаємозв'язків між 25(ОН)Д та показниками спірометрії, результатами посіву мокротиння пацієнтів та тяжкістю перебігу нами були відкинуті значення 25(ОН)Д нижче 20 нг/мг (n=5), так як всі діти належали до групи тяжкого перебігу, що унеможливило подальший статистичний аналіз.

При порівнянні вмісту кателіцидину в групах пацієнтів із тяжким та середньотяжким/легким перебігом МВ нами було виявлено, що у хворих III

квартіля (25,61 – 31,50 нг/мл) із тяжким перебігом рівень пептиду був вищим порівняно з дітьми із середньотяжким/легким перебігом ( $p = 0,047$ ). Серед дітей інших кварталів, що мали тяжкий перебіг, також спостерігалось підвищення кателіцидину, але воно не було статистично значимим (табл. 5.1).

Таблиця 5.1 – Вміст кателіцидину в сироватці крові дітей, хворих на МВ, в залежності від тяжкості захворювання

|                                      | Тяжкий перебіг     | Середньотяжкий/<br>легкий перебіг |
|--------------------------------------|--------------------|-----------------------------------|
| I квартал<br>(менше 18,90 нг/мл)     | $17,83 \pm 0,53$   | $14,47 \pm 0,82$                  |
| II квартал<br>(18,91 – 25,60 нг/мл)  | $23,37 \pm 0,38$   | $23,15 \pm 0,54$                  |
| III квартал<br>(25,61 – 31,50 нг/мл) | $29,47 \pm 0,72^*$ | $27,80 \pm 0,43$                  |
| IV квартал<br>(більше 31,51 нг/мл)   | $35,53 \pm 0,95$   | $34,16 \pm 1,45$                  |

Примітка. \* -  $p = 0,047$  - різниця вірогідна відносно показників групи середньотяжкого/легкого перебігу.

Таким самим чином ми провели аналіз вмісту 25(OH)Д та визначили, що хворі із тяжким перебігом мали нижчий рівень вказаної речовини порівняно із дітьми середньотяжкого перебігу. Так, в групі субоптимального рівня 25(OH)Д діти з тяжким перебігом мали достовірно нижчі показники, які склали  $23,63 \pm 0,46$  проти  $26,09 \pm 0,61$  нг/мл ( $p = 0,002$ ) (табл. 5.2).

Таблиця 5.2 – Вміст 25(OH)Д в сироватці крові дітей, хворих на МВ, в залежності від тяжкості захворювання

|                                | Тяжкий перебіг     | Середньотяжкий/<br>легкий перебіг |
|--------------------------------|--------------------|-----------------------------------|
| Оптимальний (30 – 50 нг/мл)    | $34,72 \pm 0,94$   | $36,09 \pm 0,96$                  |
| Субоптимальний (20 - 30 нг/мг) | $23,63 \pm 0,46^*$ | $26,09 \pm 0,61$                  |

Примітка. \* -  $p = 0,002$  - різниця вірогідна відносно показників групи середньотяжкого/легкого перебігу.

Проведений аналіз впливу рівня 25-гідроксихолекальциферолу на функцію зовнішнього дихання, а саме рівня ОФВ<sub>1</sub>, показав, що діти із оптимальним рівнем вітаміну схильні до вищих показників ОФВ<sub>1</sub> (OR=2,971; 95 % CI: 1,175-7,514;  $\chi^2=5,440$ ; p=0,020), а вірогідність розвитку обструктивних порушень знижується (OR=0,294; 95 % CI: 0,095-0,903;  $\chi^2=4,855$ ; p=0,028 для показників ОФВ<sub>1</sub> менше 65 %). Та навпаки, якщо вміст 25(ОН)Д зменшується до субоптимальних цифр, то і рівень ОФВ<sub>1</sub> також знижується, і шанс розвитку такої події складає 3,400; 95 % CI: 1,107-10,443;  $\chi^2=4,855$ ; p=0,028 для дітей із ОФВ<sub>1</sub> менше 65 %. Також, серед дітей із субоптимальним рівнем 25(ОН)Д вірогідність мати показники ОФВ<sub>1</sub> вище 80% знижена (OR=0,337; 95 % CI: 0,133-0,851;  $\chi^2=5,440$ ; p=0,020) (табл. 5.3).

Таблиця 5.3 - Аналіз відношення шансів зміни ступеня порушення прохідності дихальних шляхів в залежності від рівня 25(ОН)Д в сироватці крові дітей, хворих на МВ

| Показник ОФВ <sub>1</sub> | 25(ОН)Д                           |                                | $\chi^2$ | p     |
|---------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|----------|-------|
|                           | Субоптимальний<br>(20 - 30 нг/мг) | Оптимальний<br>(30 – 50 нг/мл) |          |       |
|                           | OR                                | OR                             |          |       |
| Більше 80 %               | 0,337<br>0,133-0,851              | 2,971<br>1,175-7,514           | 5,440    | 0,020 |
| 65 – 80 %                 | 1,296<br>0,420-3,997              | 0,771<br>0,250-2,379           | 0,205    | 0,652 |
| Менше 65 %                | 3,400<br>1,107-10,443             | 0,294<br>0,095-0,903           | 4,855    | 0,028 |

Щодо ризику та відношення шансів зміни тяжкості МВ залежно від рівня 25-гідроксихолекальциферолу в сироватці крові дітей, було продемонстровано, що пацієнти, які мали високий рівень вказаного вітаміну, мали значно нижчий ризик розвинути тяжку форму захворювання (OR = 0,098; 95 % CI: 0,029 – 0,326), а у хворих із субоптимальним рівнем ризик зростав в 10 разів та складав OR = 10,197; 95 % CI: 3,071-33,858) ( $\chi^2=17,286$ ; p=0,00003) (табл. 5.4).

Таблиця 5.4 - Аналіз відношення шансів та відносного ризику зміни тяжкості захворювання залежно від рівня забезпечення 25(ОН)Д в сироватці крові дітей, хворих на МВ

| Перебіг  | Рівень 25(ОН)Д                    |                                |
|----------|-----------------------------------|--------------------------------|
|          | Субоптимальний<br>(20 - 30 нг/мг) | Оптимальний<br>(30 – 50 нг/мл) |
| OR       | 10,197<br>(3,071-33,858)          | 0,098<br>(0,029-0,326)         |
| $\chi^2$ | 17,286                            |                                |
| p        | 0,00003                           |                                |

Чутливість методу визначення вмісту 25(ОН)Д в сироватці крові дітей, хворих на МВ, для діагностики тяжкого перебігу хвороби становила 70 %, а специфічність складала 88 % (рис. 5.1). Площина під кривою – 0,857; 95 % СІ: 0,765 – 0,942 ( $p < 0,045$ ).

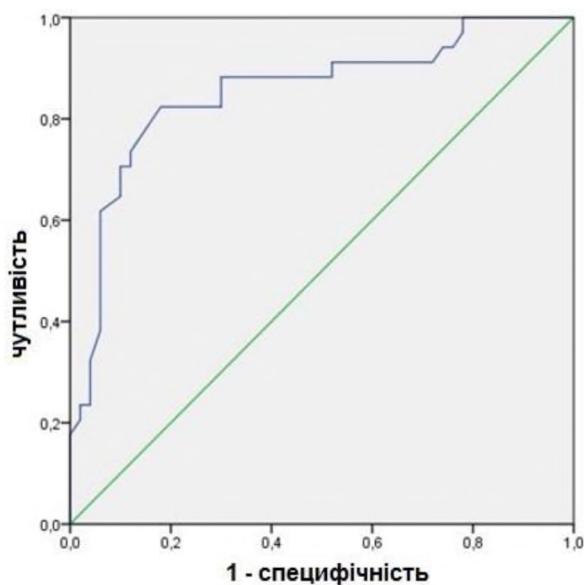


Рисунок 5.1 - ROC – крива: Вміст 25(ОН)Д в сироватці крові для дітей з тяжким перебігом МВ

Оцінка взаємозв'язку між ОФВ1 та рівнем кателіцидину в сироватці крові дітей з МВ показала, що діти I квартиля, які мали найменший рівень пептиду

(менше 18,90 нг/мл), найсильніше асоціювались із нормальними показниками ОФВ1 - вище 80 % (OR = 3,378; 95 % CI: 1,163 – 9,816;  $\chi^2=5,279$ ;  $p=0,022$ ), окрім того, хворі цієї групи мали нижчі шанси до зниження ОФВ1 на рівні 65 – 80 %, і достовірно нижчий ризик зниження цього показника менше 65 % (OR = 0,206; 95 % CI: 0,043 – 0,976;  $\chi^2=4,577$ ;  $p=0,033$ ).

Відслідковується тенденція до погіршення показника спірометрії ОФВ1 зі зростанням рівня кателіцидину. Так, пацієнти IV квартиля (вище 31,51 нг/мл) мають значимо нижчі шанси потрапити до групи ОФВ1 вище 80 % (OR = 0,064; 95 % CI: 0,013 – 0,305;  $\chi^2=16,986$ ;  $p<0,001$ ), а ризик погіршення вказаного параметру зростає та складає OR = 4,375; 95 % CI: 1,027 – 18,629;  $\chi^2=4,208$ ;  $p=0,041$  (табл. 5.5).

Таблиця 5.5 - Аналіз відношення шансів зміни ступеня обструкції дихальних шляхів в залежності від рівня кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на МВ

| Показник<br>ОФВ1 |          | Рівень кателіцидину LL-37               |                                            |                                             |                                           |
|------------------|----------|-----------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------------------------|
|                  |          | I<br>квартиль<br>(менше 18,90<br>нг/мл) | II<br>квартиль<br>(18,91 – 25,60<br>нг/мл) | III<br>квартиль<br>(25,61 – 31,50<br>нг/мл) | IV<br>квартиль<br>(більше 31,51<br>нг/мл) |
| Більше 80 %      | OR       | 3,378<br>1,163-9,816                    | 0,485<br>0,132-1,784                       | 0,929<br>0,303-2,848                        | 0,064<br>0,013-0,305                      |
|                  | $\chi^2$ | 5,279                                   | 1,201                                      | 0,017                                       | 16,986                                    |
|                  | (p)      | 0,022                                   | 0,274                                      | 0,897                                       | <0,001                                    |
| 65 – 80 %        | OR       | 0,743<br>0,163-3,383                    | 0,500<br>0,061-4,090                       | 0,833<br>0,115-6,012                        | 4,375<br>1,027-18,629                     |
|                  | $\chi^2$ | 0,148                                   | 0,423                                      | 0,033                                       | 4,208                                     |
|                  | (p)      | 0,701                                   | 0,516                                      | 0,857                                       | 0,041                                     |
| Менше 65 %       | OR       | 0,206<br>0,043-0,976                    | 4,846<br>0,847-27,704                      | 1,82<br>0,533-6,219                         | 1,714<br>0,545-5,396                      |
|                  | $\chi^2$ | 4,577                                   | 3,533                                      | 0,930                                       | 0,860                                     |
|                  | (p)      | 0,033                                   | 0,061                                      | 0,335                                       | 0,354                                     |

У процесі аналізу отриманих даних щодо зміни відношення шансів серед груп дітей, хворих на МВ, із різним вмістом кателіцидину було виявлено, що у тих пацієнтів, які належали до IV квартиля та мали рівень пептиду вище 31,51 нг/мл, ризик розвитку тяжкої форми хвороби значно зростає: OR = 15,667; 95 % CI: 4,074 – 60,246;  $p < 0,001$ . Значно знижувався ризик тяжкого перебігу хвороби у дітей I квартиля із вмістом пептиду менше 18,9 нг/мл (OR = 0,134; 95 % CI: 0,036 – 0,496;  $p = 0,003$ ) (табл. 5.6).

Таблиця 5.6 - Аналіз відношення шансів та відносного ризику зміни ступеня тяжкості захворювання в залежності від рівня кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на МВ

| Перебіг  | Рівень кателіцидину LL-37            |                                         |                                          |                                     |
|----------|--------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------|
|          | I квартиль<br>(менше 18,90<br>нг/мл) | II квартиль<br>(18,91 –<br>25,60 нг/мл) | III квартиль<br>(25,61 – 31,50<br>нг/мл) | IV квартиль (більше<br>31,51 нг/мл) |
| OR       | 0,134<br>(0,036-0,496)               | 4,083<br>(0,887-<br>18,805)             | 1,650<br>(0,522-5,214)                   | 15,667<br>(4,074-60,246)            |
| $\chi^2$ | 9,350*                               | 2,447                                   | 11,267                                   | 21,599                              |
| p        | 0,003                                | 0,118                                   | 0,0008                                   | 0,000001                            |

Примітка. \*Критерій  $\chi^2$  з поправкою Йейтса.

Чутливість методу визначення вмісту кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на МВ, для діагностики тяжкого перебігу хвороби становила 67 %, а специфічність склала 82 % (рис. 5.2). Площина під кривою – 0,804; 95 % CI: 0,709 – 0,899 ( $p=0,049$ ).

Бактеріальна флора, що персистує у дихальних шляхах і легенях хворих на МВ та зумовлює легеневі загострення, безумовно, відіграє важливу роль у перебігу захворювання. На сьогодні відомо, що такі мікроорганізми, як *P. aeruginosa*, *B. cepacia* негативно впливають на стан респіраторної системи хворих [151] та пришвидшують погіршення стану пацієнтів. Враховуючи активну



роль вітаміну Д у регуляції імунної відповіді, в тому числі на бактеріальні агенти, нами був досліджений двосторонній вплив 25(ОН)Д та бактерій на перебіг МВ.

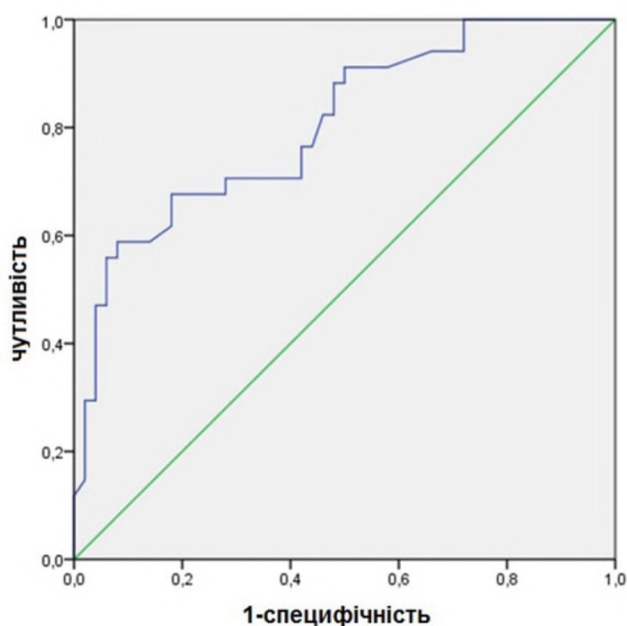


Рисунок 5.2 - ROC – крива: Вміст кателіцидину LL-37 в сироватці крові для дітей з тяжким перебігом МВ.

Нами проаналізовано вірогідність висіву з мокротиння пацієнтів з МВ ряду бактерій, до якого включено *St. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *Str. viridans*, *Str. Pyogenes*, *Str. Agalactiae*, *St. pneumoniae* та бактерії групи *Enterococcus spp.*, та їх асоціація із рівнем 25(ОН)Д.

Було з'ясовано, що серед дітей, які мали оптимальний рівень 25(ОН)Д, ризик висіву вказаних мікроорганізмів був знижений у порівнянні із групою дітей із субоптимальним рівнем. Для *P. aeruginosa* цей ризик достовірно знижений у групі дітей із рівнем 25(ОН)Д 30 – 50 нг/мл (OR = 0,346; 95 % CI: 0,132 – 0,905;  $\chi^2=4,305$ ;  $p=0,028$ ), але значно підвищувався серед дітей із зниженим вмістом вітаміну 20 - 30 нг/мг (OR = 2,889; 95 % CI: 1,105 – 7,554;  $\chi^2=4,822$ ;  $p=0,028$ ). Подібна тенденція спостерігається і серед інших бактерій, але статистично значимих результатів щодо них ми не отримали (табл. 5.7).

Таблиця 5.7 – Аналіз відношення шансів зміни рівня 25(ОН)Д в сироватці крові дітей, хворих на МВ, в залежності від наявності або відсутності в мокротинні мікроорганізмів

| Висіаний мікроорганізм   | Рівень 25(ОН)Д                 |                             | $\chi^2$ | p     |
|--------------------------|--------------------------------|-----------------------------|----------|-------|
|                          | Субоптимальний (20 - 30 нг/мг) | Оптимальний (30 – 50 нг/мл) |          |       |
|                          | OR                             | OR                          |          |       |
| <i>St. aureus</i>        | 2,118<br>0,858-5,227           | 0,472<br>0,191- 1,166       | 2,681    | 0,102 |
| <i>Ps. aeruginosa</i>    | 2,889<br>1,105- 7,554          | 0,346<br>0,132- 0,905       | 4,822    | 0,028 |
| <i>Str. pyogenes</i>     | 1,095<br>0,432- 2,775          | 0,913<br>0,360-2,314        | 0,037    | 0,848 |
| <i>Str. viridans</i>     | 1,460<br>0,598-3,568           | 0,685<br>0,280-1,673        | 0,692    | 0,405 |
| <i>Str. agalactiae</i>   | 1,029<br>0,340-3,108           | 0,972<br>0,322-2,937        | 0,002    | 0,960 |
| <i>St. pneumoniae</i>    | 0,994<br>0,246-4,016           | 1,007<br>0,249-4,068        | 0,000    | 0,992 |
| <i>C. albicans</i>       | 1,338<br>0,543-3,291           | 0,747<br>0,304-1,839        | 0,402    | 0,526 |
| <i>Enterococcus spp.</i> | 1,250<br>0,508-3,074           | 0,800<br>0,325-1,967        | 0,237    | 0,627 |

Також, нами було вивчено взаємозв'язок між рівнем кателіцидину в сироватці крові дітей, хворих на МВ, і бактеріями, що висівались з їх мокротиння.

Аналіз даних серед дітей першого квартиля кателіцидину (менше 18,90 нг/мл) показав, що низький рівень пептиду асоціювався із зниженням шансу висіву таких бактерій, як *St. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *Str. Pyogenes*, *St. pneumoniae* та *Enterococcus spp.* В цій групі достовірно менше зустрічалась *P. aeruginosa*, відношення шансів висіву якої склало (OR = 0,322; 95 % CI: 0,106 – 0,974;  $\chi^2=4,245$ ; p=0,039).

У хворих із найвищим рівнем кателіцидину (більше 31,51 нг/мл)

спостерігалась достовірна сильна асоціація з такими бактеріями, як *St. aureus* та *P. aeruginosa*. Для *St. aureus* відношення шансу висіву з мокротиння дітей з МВ підвищувалось до 3,193; 95 % CI: 1,037-9,832;  $\chi^2=4,340$ ;  $p=0,037$ , а для *P. aeruginosa* це відношення становило 3,300; 95 % CI: 1,167-9,328;  $\chi^2=5,341$ ;  $p=0,02$  (табл. 5.8).

Таблиця 5.8 – Аналіз відношення шансів зміни рівня кателіцидину LL-37 в сироватці крові дітей, хворих на МВ, в залежності від наявності або відсутності в мокротинні мікроорганізмів

| Висіяний мікроорганізм |                 | Рівень кателіцидину LL-37               |                                            |                                             |                                           |
|------------------------|-----------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------------------------|
|                        |                 | I<br>квартиль<br>(менше 18,90<br>нг/мл) | II<br>квартиль<br>(18,91 –<br>25,60 нг/мл) | III<br>квартиль<br>(25,61 –<br>31,50 нг/мл) | IV<br>квартиль<br>(більше<br>31,51 нг/мл) |
| 1                      | 2               | 3                                       | 4                                          | 5                                           | 6                                         |
| <i>St. aureus</i>      | OR<br>95%<br>CI | 0,604<br>0,233-1,567                    | 0,859<br>0,255-2,894                       | 1,684<br>0,587-4,828                        | 3,193<br>1,037-9,832                      |
|                        | $\chi^2$<br>(p) | 1,081<br>(0,298)                        | 0,060<br>(0,807)                           | 0,948<br>(0,330)                            | 4,340<br>(0,037)                          |
| <i>P. aeruginosa</i>   | OR<br>95%<br>CI | 0,322<br>0,106-0,974                    | 2,216<br>0,571-8,604                       | 1,589<br>0,527-4,797                        | 3,300<br>1,167-9,328                      |
|                        | $\chi^2$<br>(p) | 4,245<br>(0,039)                        | 1,351<br>(0,245)                           | 0,682<br>(0,409)                            | 5,341<br>(0,020)                          |
| <i>Str. pyogenes</i>   | OR<br>95%<br>CI | 0,765<br>0,274-2,137                    | 1,121<br>0,303-4,145                       | 1,154<br>0,378-3,524                        | 1,467<br>0,519-4,146                      |
|                        | $\chi^2$<br>(p) | 0,263<br>(0,608)                        | 0,029<br>(1,000)                           | 0,063<br>(0,802)                            | 0,525<br>(0,469)                          |
| <i>Str. viridans</i>   | OR<br>95%<br>CI | 1,654<br>0,638-4,291                    | 0,940<br>0,281-3,142                       | 0,790<br>0,278-2,248                        | 0,313<br>0,101-0,964                      |
|                        | $\chi^2$<br>(p) | 1,081<br>(0,298)                        | 0,010<br>(0,921)                           | 0,195<br>(0,659)                            | 4,340<br>(0,037)                          |

Продовження таблиці 5.8

| 1                        | 2               | 3                    | 4                     | 5                    | 6                    |
|--------------------------|-----------------|----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|
| <i>Str. agalactiae</i>   | OR<br>95%<br>CI | 1,172<br>0,359-3,824 | 0,447<br>0,076-2,613  | 1,210<br>0,312-4,701 | 1,606<br>0,482-5,345 |
|                          | $\chi^2$<br>(p) | 0,069<br>(0,792)     | 0,827<br>(0,363)      | 0,076<br>(0,782)     | 0,603<br>(0,437)     |
| <i>St. pneumoniae</i>    | OR<br>95%<br>CI | 0,688<br>0,132-3,578 | 1,294<br>0,165-10,150 | 1,026<br>0,172-6,108 | 1,706<br>0,385-7,551 |
|                          | $\chi^2$<br>(p) | 0,031<br>(0,861)*    | 0,080<br>(0,778)*     | 0,183<br>(0,669)*    | 0,125<br>(0,724)*    |
| <i>C. albicans</i>       | OR<br>95%<br>CI | 0,904<br>0,349-2,340 | 1,451<br>0,424-4,964  | 0,960<br>0,334-2,758 | 0,729<br>0,267-1,998 |
|                          | $\chi^2$<br>(p) | 0,043<br>(0,834)     | 0,352<br>(0,553)      | 0,006<br>(0,939)     | 0,377<br>(0,539)     |
| <i>Enterococcus spp.</i> | OR<br>95%<br>CI | 0,785<br>0,297-2,073 | 0,769<br>0,215-2,745  | 2,053<br>0,710-5,935 | 1,195<br>0,434-3,291 |
|                          | $\chi^2$<br>(p) | 0,240<br>(0,624)     | 0,164<br>(0,685)      | 1,791<br>(0,181)     | 0,120<br>(0,729)     |

Примітка. \*Критерій  $\chi^2$  з поправкою Йейтса.

Для *Str. viridans* розподіл ризиків був дещо інший, він показав, що діти із низьким рівнем кателіцидину, менше 18,90 нг/мл, більше асоціювались із висівом цієї бактерії, ніж діти II, III та IV квантилів (OR = 1,654; 95 % CI: 0,638 – 4,291;  $\chi^2=1,081$ ; p=0,298). А от хворі IV квантиля мали достовірно нижчий ризик висіву *Str. viridans* (OR = 0,313; 95 % CI: 0,101 – 0,964;  $\chi^2=4,340$ ; p=0,037) (див. табл. 5.8).

Опираючись на попередньо отримані дані нами було проведено аналіз з метою пошуку предикторів, що мають найбільший зв'язок із тяжкістю перебігу МВ. Для цього ми побудували кореляційну матрицю із використанням таких показників як рівень 25(ОН)Д та кателіцидину, ОФВ1, позитивні культури *S. aureus* та *P. aeruginosa* в мокротинні, вік та ІМТ (табл. 5.9).

Виявлено значимі кореляції середньої сили тяжкості МВ із рівнем кателіцидину, 25(ОН)Д та ІМТ та слабкі кореляції між тяжкістю та ОФВ1 та інфікуванням *P. aeruginosa*. Колінеарність між факторами виражена слабо.

Таблиця 5.9 – Кореляційна матриця факторів.

|                      |   | 1             | 2             | 3            | 4            | 5      | 6     | 7            | 8     |
|----------------------|---|---------------|---------------|--------------|--------------|--------|-------|--------------|-------|
| Тяжкість             | 1 | 1,000         |               |              |              |        |       |              |       |
|                      |   | .             |               |              |              |        |       |              |       |
| LL-37                | 2 | <b>-0,517</b> | 1,000         |              |              |        |       |              |       |
|                      |   | 0,001         | .             |              |              |        |       |              |       |
| 25(ОН)Д              | 3 | <b>0,601</b>  | <b>-0,460</b> | 1,000        |              |        |       |              |       |
|                      |   | 0,001         | 0,001         | .            |              |        |       |              |       |
| ОФВ1                 | 4 | <b>0,259</b>  | <b>-0,317</b> | <b>0,420</b> | 1,000        |        |       |              |       |
|                      |   | 0,021         | 0,004         | 0,001        | .            |        |       |              |       |
| <i>S. aureus</i>     | 5 | 0,213         | -0,211        | 0,207        | 0,213        | 1,000  |       |              |       |
|                      |   | 0,051         | 0,054         | 0,059        | 0,057        | .      |       |              |       |
| <i>P. aeruginosa</i> | 6 | <b>0,246</b>  | <b>-0,254</b> | <b>0,313</b> | <b>0,275</b> | -0,071 | 1,000 |              |       |
|                      |   | 0,024         | 0,020         | 0,004        | 0,013        | 0,519  | .     |              |       |
| Вік                  | 7 | 0,187         | <b>-0,352</b> | 0,154        | 0,012        | 0,124  | 0,023 | 1,000        |       |
|                      |   | 0,089         | 0,001         | 0,162        | 0,915        | 0,262  | 0,835 | .            |       |
| ІМТ                  | 8 | <b>0,349</b>  | -0,128        | 0,174        | <b>0,268</b> | 0,062  | 0,146 | <b>0,458</b> | 1,000 |
|                      |   | 0,001         | 0,247         | 0,114        | 0,016        | 0,577  | 0,185 | 0,001        | .     |

Для перевірки значимості відібраних факторів, що можуть впливати на тяжкість перебігу МВ нами було застосовано двовибірних F-тест для дисперсій. За результатами проведеного аналізу ми відкинули такі фактори  $X_4$  та  $X_6$  (вік та інфікування *S. aureus*), адже вони не показали статистичну значущість (табл. 5.10).

Таблиця 5.10 – Значення F-критерію для факторів

| Перемінні      |                      | F-критерій  | Значимість   |
|----------------|----------------------|-------------|--------------|
| X <sub>1</sub> | LL-37                | 31,58       | 0,001        |
| X <sub>2</sub> | 25(OH)Д              | 36,25       | 0,001        |
| X <sub>3</sub> | ОФВ1                 | 5,41        | 0,023        |
| X <sub>4</sub> | <i>S. aureus</i>     | <b>3,92</b> | <b>0,051</b> |
| X <sub>5</sub> | <i>P. aeruginosa</i> | 5,27        | 0,24         |
| X <sub>6</sub> | <b>Вік</b>           | <b>3,35</b> | <b>0,71</b>  |
| X <sub>7</sub> | ІМТ                  | 11,96       | 0,001        |

Для прогнозування перебігу МВ у дітей нами була використана логіт-регресійна модель, що прогнозує вірогідність розвитку важкого або середньотяжкого-легкого перебігу захворювання за певним значенням ряду факторів.

Рівняння моделі має наступний вигляд:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-z}}$$

де  $p$  - вірогідність бінарного вибору змінної «е», тобто в цій моделі вірогідність тяжкості перебігу;

Залежною змінною в моделі є тяжкість перебігу, де значення «1» - тяжкий перебіг, «0» - середньотяжкий-легкий перебіг.

$Z$  – лінійна комбінація прогностичних параметрів.

$$Z = b_1 \cdot X_1 + b_2 \cdot X_2 + \dots + b_n \cdot X_n + a,$$

де  $X_i$  – значення незалежних змінних,  $b_i$  – розраховані коефіцієнти,  $a$  – розрахована константа.

На основі отриманих даних та проведеного аналізу для побудови рівняння були використані фактори:

$X_1$  – рівень кателіцидину;

$X_2$  – рівень 25-гідроксиколекальциферолу 25 (ОН) Д;

$X_3$  – значення ОФВ1;

$X_5$  – колонізація *P. aeruginosa*;

$X_7$  – ІМТ;

Побудова логіт-регресійної моделі проводилась із використанням процедури зворотнього виключення слабких предикторів Вальда. Поріг відсічення заданий на рівні 0,50. Отримані параметри моделі наведені в таблиці 5.11. В результаті проведеної процедури фактори  $X_3$ ,  $X_5$  були визнані незначимими та виключені.

Таблиця 5.11 – Прогнозування вірогідності тяжкого перебігу МВ у дітей методом логістичної регресії на основі оцінки рівня кателіцидину та 25(ОН)Д в сироватці крові. Модель «Тяжкість – кателіцидин, 25-гідроксихолекальциферол, ІМТ»

|                      | $b_i$  | Середня<br>квадратична<br>помилка | OR    | 95% CI      | Значимість,<br>p |
|----------------------|--------|-----------------------------------|-------|-------------|------------------|
| Кателіцидин<br>LL-37 | 0,135  | 0,053                             | 1,145 | 1,032-1,271 | 0,011            |
| 25 (ОН) Д            | -0,224 | 0,068                             | 0,799 | 0,699-0,913 | 0,001            |
| ІМТ                  | -0,432 | 0,195                             | 0,648 | 0,442-0,948 | 0,026            |
| Константа            | 8,834  | -                                 | -     | -           | -                |

Так, високий рівень кателіцидину достовірно підвищує ризик розвитку тяжкого перебігу МВ (OR = 1,145; 95 % CI: 1,032 – 1,271; p=0,011), а високий рівень 25(ОН)Д, навпаки, знижує шанс тяжкої форми хвороби (OR = 0,799; 95 % CI: 0,699 – 0,913; p=0,001).

Оцінка якості отриманої моделі проводилась на основі критеріїв  $\chi^2$  та його значимості, -2Log правдоподібності та  $R^2$ . Так,  $\chi^2 = 49,266$  (p<0,001), що вказує на значну статистичну значущість моделі.  $R^2$  складає 0,62, це означає, що наведена модель може пояснити 62 % усіх спостережень. Такий результат вказує на те, що отримана модель може бути використана у практичній лікарській діяльності (табл. 5.12).

Таблиця 5.12 – Оцінка якості моделі «Тяжкість – кателіцидин, 25-гідроксихолекальциферол, ІМТ»

| Критерій | $\chi^2$ | p      | -2Log правдоподібність | R <sup>2</sup> |
|----------|----------|--------|------------------------|----------------|
| Значення | 49,266   | <0,001 | 58,416                 | 0,62           |

Класифікаційна здатність моделі визначалась за навчальною вибіркою та складала 80,0 %, чутливість моделі 71,9 %, а специфічність 85,4 % (табл. 5.13).

Таблиця 5.13 – Таблиця класифікації для моделі «Тяжкість – кателіцидин, 25-гідроксихолекальциферол, ІМТ»

|               | Перебіг               | Передбачені           |        | % правильних |
|---------------|-----------------------|-----------------------|--------|--------------|
|               |                       | Середньотяжкий-легкий | Тяжкий |              |
| Спостереження | Середньотяжкий-легкий | 41                    | 7      | 85,4         |
|               | Тяжкий                | 9                     | 23     | 71,9         |
| -             |                       |                       |        | 80,0         |

Проведений ROC-аналіз моделі показав, що модель має високу надійність. Площина під кривою – 0,91; 95 % CI: 0,848 – 0,970 (p<0,001) (рис. 5.3).

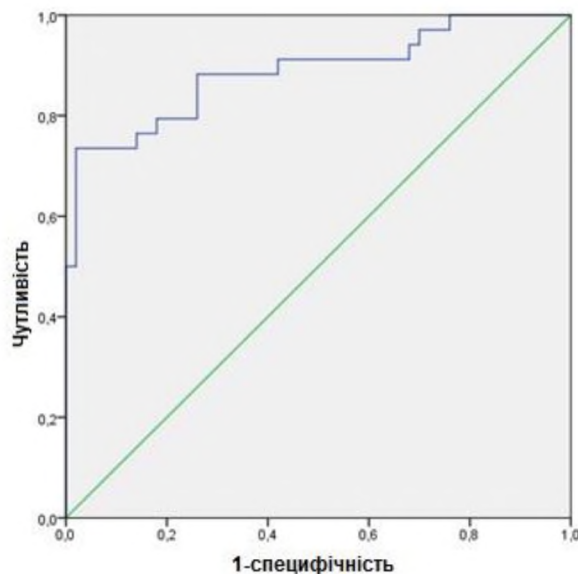


Рисунок 5.3 – ROC-аналіз регресійної моделі прогнозування вірогідності тяжкого перебігу за рівнем кателіцидину, 25-гідроксихолекальциферолу в сироватці крові та ІМТ дітей, хворих на МВ.



Таким чином, модель прогнозування перебігу МВ у дітей виглядає так:

$$p = \exp(8,834 + LL-37(\text{нг/мл}) \times 0,135 + 25(\text{ОН})\text{Д}(\text{нг/мл}) \times -0,224 + \text{ІМТ} \times -0,432) / (1 + \exp(8,834 + LL-37(\text{нг/мл}) \times 0,135 + 25(\text{ОН})\text{Д}(\text{нг/мл}) \times -0,224 + \text{ІМТ} \times -0,432)),$$

де LL-37 – отриманий показник кателіцидину (нг/мл) у пацієнта,

25(ОН)Д – отриманий показник 25-гідроксихолекальциферолу (нг/мл) у пацієнта,

ІМТ – індекс маси тіла.

Отримане значення «р» можна інтерпретувати таким чином: якщо «р» дорівнює або більше 0,5, такого пацієнта слід віднести до групи важкого перебігу, якщо «р» менше 0,5, пацієнта потрібно віднести до групи середньотяжкого-легкого перебігу. Статистична значимість моделі складає  $p < 0,001$ .

### Резюме

Вивчаючи рівень 25(ОН)Д відносно тяжкості захворювання, ми встановили, що діти, хворі на МВ, які страждали на тяжку форму хвороби, мали достовірно нижчі показники вітаміну ( $p=0,002$ ) та достовірно вищі значення кателіцидину ( $p = 0,047$ ).

Оцінивши шанси щодо зміни показника спірометрії ОФВ1 залежно від забезпеченості 25 (ОН) Д, ми встановили, що оптимальний рівень 25(ОН)Д в 2,9 разів підвищує шанс уникнути зниження рівня ОФВ1 нижче 80 % (OR=2,971; 95% CI: 1,175-7,514;  $p=0,020$ ) та знижує ризик ускладнень (OR=0,294; 95% CI: 0,095-0,903;  $p=0,028$ ). При зниженні вмісту 25(ОН)Д в сироватці крові дітей, хворих на МВ, ризик зниження рівня ОФВ1 нижче 65 % збільшується в 3,4 рази (OR=3,400; 95% CI: 1,107-10,443;  $p=0,028$ ).

Провівши оцінку шансів щодо зміни показника ОФВ1 у дітей, хворих на МВ, залежно від рівня кателіцидину в сироватці крові, ми встановили, що діти I квартиля в 3,38 рази мали вищий шанс до збереження ОФВ1 вище 80 % (OR =

3,378; 95% CI: 1,163 – 9,816;  $p=0,022$ ), в порівнянні з дітьми II, III та IV кватилів. Серед дітей IV кватилія, з рівнем кателіцидину вище 31,51 нг/мл в 4,4 рази підвищувався ризик зниження ОФВ1 на рівні 65 – 80 % (OR = 4,375; 95% CI: 1,027 – 18,629;  $p=0,041$ ).

При вивченні асоціації між рівнем 25(ОН)Д та вірогідністю висіву певних бактерій ми виявили, що серед групи дітей із субоптимальним рівнем вітаміну шанс висіву *P. aeruginosa* підвищувався в 2,89 разів, у порівнянні із дітьми, що мали оптимальне забезпечення вітаміном (OR = 2,889; 95 % CI: 1,105 – 7,554;  $p=0,028$ ).

Оцінка вірогідності висіву бактерій в залежності від рівня кателіцидину у дітей, хворих на МВ, показала, що хворі з рівнем кателіцидину більше 31,51 нг/мл мали підвищення ризику висіву з мокротиння *St. aureus* та *P. aeruginosa* в 3,2 та 3,3 раза відповідно (3,193; 95 % CI: 1,037-9,832;  $\chi^2=4,340$ ;  $p=0,037$ , та 3,300; 95 % CI: 1,167-9,328;  $\chi^2=5,341$ ;  $p=0,02$ , відповідно).

В групі I кватилія, де вміст кателіцидину складав менше 18,90 нг/мл, шанс висіву *P. aeruginosa* достовірно знижений порівняно з дітьми інших кватилів (OR = 0,322; 95 % CI: 0,106 – 0,974;  $p=0,039$ ).

На основі отриманих даних нами була побудована логіт регресійна модель прогнозування тяжкого перебігу у дітей, хворих на МВ. Статистична значимість цієї моделі складала  $p < 0,001$ , чутливість 71,9 %, специфічність 85,4 %.  $R^2$  складає 0,62. ROC-аналіз продемонстрував надійність моделі, площа під кривою становила 0,91; 95 % CI: 0,848 – 0,970 ( $p<0,001$ ). Така модель може бути використана для прогнозування перебігу МВ у дітей.

**Основні результати розділу опубліковано у таких працях: [24, 90]**

## АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Муковісцидоз – поширене спадкове аутосомно-рецесивне захворювання серед білошкірого населення світу. Згідно з даними останнього щорічного звіту реєстру пацієнтів Американської спілки муковісцидозу за 2018 рік [84], Європейської асоціації муковісцидозу (ECFSPR) за 2017 рік [87] та Австралійського реєстру пацієнтів 2017 року [48] як найбільших реєстрів у світі, на Землі проживає близько 80 000 людей, хворих на МВ. Демографічна характеристика цієї групи значно змінилась за останнє десятиліття, кількість дорослих досягла 50 % [87], що пов'язано із відкриттям ефективних методів лікування захворювання, які дозволяють підтримувати пацієнтів у задовільному стані протягом всього життя. До базисної терапії належать інгаляційна та інфузійна антибіотикотерапія, інгаляції з гіпертонічним розчином хлориду натрію та дорназою альфа, замісна терапія ферментами підшлункової залози, жиророзчинними вітамінами, фізіотерапія для механічної евакуації мокротиння, урсодезоксихолева кислота для лікування проявів хвороби з боку печінки та жовчовивідних шляхів.

Незважаючи на значні досягнення у лікуванні МВ, які спрямовані на покращення респіраторної функції легень та подовження тривалості життя, проблема прогресуючого ураження легень залишається. Вважається, що легенева функція являється чи не найважливішим предиктором виживаємості хворих на муковісцидоз [65]. Kegeret та співавт. показали, що критичне зниження рівня ОФВ1 нижче 30 %, яке відбулось хоча б раз, асоціюється з підвищенням шансів летального закінчення життя протягом двох років та вимагає вирішення питання про трансплантацію легень [117]. У наступних дослідженнях було запропоновано використовувати криву вимірювання ОФВ1 в динаміці як більш точний показник для прогнозування смертності [47, 164], а також для оцінки тяжкості хвороби [144]. У прогностичній моделі, яку запропонували Mayer-Hamble та співавт., до факторів, які асоціюються із двохрічною смертністю, належать вік, зріст, ОФВ1,

бактеріальна колонізація та кількість госпіталізацій [139].

Однак із часом, наведені моделі прогнозування смертності не виявили достатньої надійності. У пізніших дослідженнях було виявлено, що показник ОФВ1 не чутливий до діагностики ранніх проявів ураження легень [95, 102]. Хоча сьогодні показник ОФВ1 і використовується як маркер функції легень для моніторингу прогресування МВ та визначення показів до трансплантації легень [173], продовжується пошук інших предикторів, які б могли допомогти у прогнозуванні перебігу МВ.

Серед факторів, що впливають на легеневу функцію, значну роль приділяють колонізації легень бактеріями. Виділяють певні види бактерій, життєдіяльність яких значно пошкоджує легеневу тканину та знижує її функціональність. Показано, що хронічне інфікування легень *P. aeruginosa* асоціюється із значним зниженням дихальної функції [113, 122, 194], а пацієнти, інфіковані *Staphylococcus aureus (MRSA)*, *Mycobacterium abscessus*, *Burkholderia cerasia* демонструють швидше зниження ОФВ1 порівняно із неінфікованими хворими [80, 91, 122, 180]. Враховуючи наведені літературні дані, можна стверджувати, що тяжкість МВ напряму залежить від колонізації легень бактеріями і може бути використана для аналізу зв'язку із іншими речовинами.

До інших факторів, які корелюють із перебігом МВ у дітей, також належать маса тіла, наявність «барабанних паличок», сухих та вологих хрипів, щоденний кашель, кількість загострень [188], МВ-асоційований діабет [108, 184].

Дефіцит вітаміну Д є поширеним явищем серед пацієнтів із МВ. Найкращим маркером, що відображає забезпечення зазначеним вітаміном, вважається рівень 25(ОН)Д, прекурсора активної форми вітаміну Д [196]. В літературі існують дані про зв'язок між сироватковим 25(ОН)Д та легеневою функцією у дітей із бронхіальною астмою та у дорослих із ХОЗЛ. Щодо дітей, хворих на МВ, переконливих даних немає, а проведені дослідження мають певні обмеження та потребують додаткового вивчення [155]. В дослідженнях McCauley та співавт. було показано, що у дітей із достатнім забезпеченням 25(ОН)Д значно

скорочувалась кількість легеневих загострень та госпіталізацій [140], деякі автори вказують на зменшення запальних процесів [155], але механізми такого впливу досі не зрозумілі.

Відомо, що вітамін Д володіє не лише функцією регуляції обміну кальцію та фосфору в кістках. Ядерні рецептори вітаміну Д (VDR), з якими зв'язується 25(OH)Д, виявлені на клітинах шкіри, підшлункової, дихальних шляхів та деяких імунних клітинах [74, 77]. Активація VDR регулює експресію генів, що кодують антимікробні пептиди (АМП), наприклад, кателіцидин людини LL-37 та  $\beta$ -дефензини людини [98, 195], які, здебільшого, присутні в дихальних шляхах. АМП стоять на першій лінії протимікробного захисту і здійснюють бактерицидний ефект, в тому числі проти *Pseudomonas aeruginosa* [201]. Таким чином, існує можливість участі вітаміну Д у патофізіологічних процесах багатьох респіраторних хвороб, зокрема і МВ.

Враховуючи вищенаведені докази, нами була допущена гіпотеза про активну участь у патогенетичних процесах легеневих проявів МВ вітаміну Д та антимікробного пептиду кателіцидину LL-37. Висунуто припущення про можливість використання цих речовин для оцінки тяжкості хвороби та для прогнозування перебігу захворювання. Відповідно до цієї гіпотези були складені мета та завдання нашого дослідження.

У нашому дослідженні було обстежено 84 дитини, хворих на МВ, з різних областей України та показано, що середній вік обстеженої групи склав  $9,96 \pm 0,44$  роки, хлопчики незначно переважали за кількістю (55,95 %), ніж дівчатка (44,05 %). Розподіл за віком показав, що дітей віком до 5 років було дещо менше, ніж в групах 6 – 11 років та 12 – 17 років, а за статтю в цій групі переважали дівчатка ( $p < 0,05$ ). Україна не має національного реєстру пацієнтів із МВ, кожна область керується власними даними, тому офіційної статистики за даним захворюванням в нашій країні поки що немає. Відомо, що у 2016 році, за даними МОЗ в Україні, було 647 дітей, хворих на МВ, офіційних даних про дорослих не було знайдено. Такий розподіл цілком відповідає загальноєвропейському, де в більшості країн чоловіча стать дещо переважає і з

віком ця перевага незначно збільшується [87].

Для належної оцінки тяжкості перебігу МВ нами була використана шкала тяжкості Швахмана-Кульчицького, яка залишається простим та ефективним методом клінічної оцінки стану пацієнтів з МВ [177]. У досліджуваній групі значно переважали діти із середньотяжким та тяжким перебігом ( $p < 0,01$ ), із легким перебігом під спостереженням було лише 11 хворих (13,10 %).

Частота різних ступенів тяжкості перебігу МВ за віковими групами розподілена таким чином: найбільша кількість дітей із легким перебігом була у віці від 12 до 17 років ( $p < 0,05$ ), а із тяжким перебігом МВ відмічалось найбільше хворих віком 6 – 11 років ( $p < 0,05$ ). Такий розподіл тяжкості за віком можна пояснити тим, що у пацієнтів із початковими легкими проявами МВ прогресування хвороби не швидке, тому діти доживають та успішно перетинають 18-річний вік. У тих пацієнтів, у яких захворювання з самого початку супроводжувалось яскравими симптомами, МВ зазвичай прогресує швидше та потребує кращого лікування, тому такі хворі можуть не доживати до юнацького віку.

Питання ранньої діагностики МВ сьогодні висувається на перший план, адже терапія, розпочата до появи перших клінічних проявів захворювання, асоціюється із меншою кількістю ускладнень та кращим прогнозом у майбутньому [62]. Проведений в нашому дослідженні аналіз анамнезу захворювання показав, що в групі обстежених дітей в 71,43 % випадків ( $p < 0,01$ ) діагноз був встановлено до 3-річного віку (здебільшого до 1 року), що є досить малим показником, враховуючи те, що клінічні прояви хвороби в наведеному віковому періоді ми виявили у 92,86 % хворих. Таким чином, у 21,43 % дітей діагноз не був встановлений вчасно. До групи хворих із запізненою діагностикою МВ слід додати і тих, в кого перші клінічні прояви були неяскраві або проявились пізніше, та, відповідно, діагноз не було встановлено у ранньому віці, це в нашому дослідженні 7,14 % хворих.

Підсумовуючи отримані результати, можна стверджувати, що у 28,57 % дітей за певних причин, наведених вище, діагноз МВ не був встановлений вчасно,

тому для уникнення пропусків в діагностиці цієї хвороби в Україні необхідне проведення неонатального скринінгу на МВ.

На сьогодні з 2000 відомих мутацій гену CFTR, згідно з базою даних проекту з розшифрування клінічного та функціонального значення мутацій цього гену - CFTR2, 360 варіантів мутантних алелей зумовлюють МВ [71]. Виявлення двох із них у пацієнта підтверджує діагноз МВ. F508del – найбільш поширена алель у світі, яка зустрічається у 60,75 % обстежених серед країн Європи (ECFSРР за 2017 рік), а за даними Американського реєстру 2018 року – у 84,7 % обстежених, з них 44,2 % у гомозиготному стані, а 40,5 % – у гетерозиготному [84]. Результати нашого дослідження були наближені до даних Американського реєстру та показали, що алель F508del зустрічалась у 84,6 % обстежених дітей, з них 45,2 % мали дану алель у гомозиготному стані.

З анамнезу хвороби також було проаналізовано скарги, з якими хворі вперше звернулись до лікаря. Вставлено, що у дітей, які на момент дослідження страждали на середньотяжкий та тяжкий перебіг МВ, з усіх отриманих скарг (кашель, затяжні, рецидивуючі бронхообструктивні захворювання, поліфекалія, стеаторея та затримка фізичного розвитку) достовірно частіше виявляли стеаторею ( $p < 0,01$ ). Оцінка ІМТ відносно тяжкості МВ виявила, що діти із тяжким перебігом мали нижчі значення ІМТ порівняно із середньотяжким ( $p=0,0008$ ) та легким перебігом ( $p=0,05$ ).

Оцінка скарг, отриманих під час обстеження дітей основної групи, дала можливість визначити їх частоту залежно від тяжкості перебігу МВ. У дослідженні було виявлено значне переважання малопродуктивного вологого кашлю ( $p < 0,01$ ), виділення гнійного мокротиння ( $p < 0,01$ ), задишки в спокої ( $p < 0,01$ ), ціанозу ( $p < 0,01$ ) та стеатореї ( $p < 0,05$ ) серед дітей із тяжким перебігом хвороби.

Фізикальне обстеження досліджуваної групи показало, що при тяжкому перебігу МВ достовірно частіше виявлялась емфізематозна грудна клітка ( $p < 0,05$ ) порівняно з іншими ступенями тяжкості, в той час, коли у дітей із легким перебігом здебільшого змін не виявлялось ( $p < 0,05$ ). Аналіз

аускультативних даних вказує на те, що у дітей із тяжким МВ достовірно частіше вислуховуються вологі хрипи ( $p < 0,01$ ) та ослаблене дихання ( $p < 0,05$ ) порівняно із дітьми середньотяжкого та легкого перебігу. 44,05 % обстежених дітей мали збільшення живота за рахунок здуття, у 11,90 % виявлена гепатомегалія, у 4,76 % - гепатоспленомегалія.

Близько 85 % хворих на 1 році життя мають зниження ФЕ-1 та демонструють типові клінічні прояви недостатності функції підшлункової залози (ФПЗ): стеаторея, поліфекалія, поганий набір маси тіла. З часом у дітей, які не мали вказаних ознак, поступово рівень ФЕ-1 знижується [175]. У нашому дослідженні діти із ознаками зниження екзокринної функції підшлункової значно переважали – 65,52 % хворих мали тяжке порушення, 27,59 % – помірне, що цілком відповідає даним інших досліджень.

Протягом першого десятиліття життя у дітей, хворих на МВ, з мокротиння найчастіше виділяється *St. aureus* та *Haemophilus influenzae* [82], але з часом перевага зміщається в бік *P. aeruginosa* та зростає з 25 % у 5 років до 80 % у дорослих пацієнтів віком 25 років та старше [85, 128]. За даними CFFPR за 2018 рік, серед усіх хворих на МВ кількість інфікованих *St. aureus* складала близько 70 %, а *P. aeruginosa* – близько 40 – 45 % [84]. У нашому дослідженні серед усіх обстежених інфікованих *St. aureus* було 54,0 %, *P. aeruginosa* – 38,10 %, що не цілком відповідає аналогічній віковій когорті CFFPR і демонструє нижчі цифри інфікування *St. aureus*. Також показано, що діти, у яких виділяли вказані бактерії, частіше мали тяжкий перебіг МВ.

Середнє значення ОФВ1 у пацієнтів віком 6-17 років із реєстру CFF 2018 року складало 94,3 % [84], що дещо вище порівняно із аналогічною віковою групою у нашому дослідженні, де ОФВ1 склало 89,88 %. Отримані показники спірометрії вказують на значне зниження дихальної функції у дітей із тяжким та середньотяжким перебігом МВ, адже складали в середньому на 10-13 % нижчі значення порівняно з легким перебігом.

Загальна оцінка рівня 25(ОН)Д в сироватці крові дітей, хворих на МВ, відобразила загальну тенденцію, яка відслідковується у сучасних літературних



дослідженнях – недостатнє забезпечення вітаміном Д є поширеним явищем серед пацієнтів з МВ. Отримані значення показали, що 58,4 % дітей мали середній рівень 25(ОН)Д нижче 30 нг/мл. Проведене порівняння групи хворих на МВ із контрольною групою показало, що діти з МВ мають значно гірше забезпечення вітаміном Д, ніж здорові діти ( $p < 0,001$ ). У різних джерелах описують різну частоту дефіциту вітаміну Д у хворих на МВ, яка сягає від 6 до 95 % хворих [89, 100], такі значні коливання вимагають уточнення даних та продовження досліджень у вказаному напрямку.

Розподіл за віком виявив такі тенденції: діти меншого віку більш схильні до недостатності 25(ОН)Д порівняно із старшими. Такі дані не співпадають із результатами інших досліджень [140], де вказується, що відсоток дітей із недостатнім рівнем 25(ОН)Д зростає із віком пацієнтів.

Визначення вмісту кателіцидину в сироватці крові та пошук закономірностей його вмісту при різних нозологіях проводилась у багатьох дослідженнях [43, 45, 109, 208] та показала досить велику варіабельність даних. У нашому дослідженні показано, що діти, хворі на МВ, мали значно вищі значення кателіцидину порівняно з контрольною групою здорових дітей ( $p < 0,001$ ). Серед хлопчиків середній рівень LL-37 був дещо вищим, ніж у дівчаток, про що доповідалось і в інших дослідженнях [178]. Розподіл за віком показав, що старші діти мали нижчі значення кателіцидину, ніж молодші.

Вивчення вмісту кателіцидину серед обстежених дітей показало, що існує закономірність між тяжкістю перебігу МВ та вказаною речовиною. У хворих із тяжким перебігом МВ спостерігались вищі значення LL-37, ніж у середньотяжких та легких хворих ( $p < 0,001$ ). У дослідженні Mansbach та спіават., де вивчалась залежність між LL-37 та тяжкістю бронхіоліту, було представлено подібні результати [134].

У літературних джерелах вказується на зв'язок тяжкості перебігу багатьох хвороб із рівнем забезпечення вітаміном Д. Так, у дітей, що лікувались в умовах ПТТ, дефіцит вітаміну Д асоціювався із тяжчим клінічним перебігом хвороби [141]. У нашому дослідженні між тяжкістю МВ та 25(ОН)Д в сироватці крові

також було виявлено залежність: діти із тяжким перебігом більш схильні до дефіциту 25(ОН)Д.

Оскільки екзокринна функція підшлункової напряму впливає на всмоктування жиророзчинних вітамінів, нами було співставлено рівень 25(ОН)Д та кателіцидину з показником ФЕ-1. Отримані результати підтвердили наявні дані про те, що тяжке порушення функції ПШЗ асоціюється із дефіцитом вітаміну Д [121]. Вміст кателіцидину, навпаки, був значно вищим у дітей із тяжким порушенням ПШЗ та знижувався із покращенням показника ФЕ-1 ( $p=0,018$ ).

Показники спірометрії ОФВ1 та ФЖЄЛ використовуються для моніторингу прогресування ураження легень у хворих на МВ та корелюють із тяжкістю хвороби. Оцінка цих параметрів відносно рівня забезпеченості 25(ОН)Д у дітей з МВ показала, що хворі з оптимальним рівнем вказаного метаболіту вітаміну Д демонстрували значно кращу функцію зовнішнього дихання, ніж діти з недостатнім його забезпеченням. Можна прослідкувати, що чим нижчий рівень 25(ОН)Д, тим нижчі спірометричні показники спостерігаються у хворих.

Враховуючи активну роль кателіцидину у протимікробному захисті дихальних шляхів людини, його асоціацію із тяжкістю деякої респіраторної патології у дітей, ми вивчили та оцінили показники функції зовнішнього дихання залежно від рівня LL-37. Отримані дані вказують на те, що діти із рівнем кателіцидину вище 31,51 нг/мл мали значно знижену дихальну функцію, порівняно із хворими, у яких вміст вказаного пептиду був 25,60 нг/мл та нижче. В літературних джерелах зазначено, що у пацієнтів із МВ підвищений рівень кателіцидину у бронхоальвеолярних змивах корелює із тяжкістю хвороби [73].

Бактеріальні антигени підвищують експресію hCAP-18 та вивільнення кателіцидину із імунних клітин, тому ми очікували підвищення рівня кателіцидину у інфікованих певними бактеріями пацієнтів. Хворі на МВ діти із колонізацією легень *P. aeruginosa* показували достовірно вищі значення кателіцидину LL-37 ( $p=0,004$ ) та достовірно нижчі показники 25(ОН)Д ( $p = 0,007$ ) порівняно із дітьми, що не були інфіковані даною бактерією. Такі результати збігаються із дослідженням Yamshchikov та співавт., де вивчались статус вітаміну

Д та вміст кателіцидину у пацієнтів із активною формою туберкульозу [204]. Для інших бактерій, таких як *St. aureus*, *St. pneumoniae*, статистично значимих відмінностей не було виявлено. У дослідженні також було виявлене значне зниження кателіцидину в сироватці крові пацієнтів, у яких виявили *Str. viridans* ( $p = 0,02$ ), але такі дані потребують подальшого вивчення, адже подібних результатів в інших дослідженнях не було виявлено.

У наукових джерелах описується прямий вплив метаболіту вітаміну Д 1,25-дигідроксивітаміну Д<sub>3</sub> на експресію антимікробних пептидів, а особливо на кателіцидин людини LL-37 у дихальних шляхах через VDR [170]. Проведені дослідження щодо взаємозв'язку між сироватковим 25(ОН)Д та кателіцидином у пацієнтів із нелегеневою патологією, а саме сепсисом [158], перитонітом та цирозом [208] не виявили значної кореляції між цими речовинами, хоча і визнають позитивний вплив додаткової терапії препаратами вітаміну Д<sub>3</sub> на рівень LL-37. Щодо вивчення хворих із респіраторною патологією, то не було проведено досліджень, які б однозначно відповіли на питання щодо взаємозв'язку між рівнем 25(ОН)Д та LL-37 в сироватці крові [104].

Дані, які ми отримали в процесі дослідження, свідчать про обернений зв'язок між вмістом 25(ОН)Д та кателіцидином LL-37 в сироватці крові у дітей, хворих на МВ. У пацієнтів із достатнім забезпеченням вітаміном Д, які мали 25(ОН)Д 30 нг/мл та вище, відзначався значно нижчий рівень LL-37 порівняно із групою дітей із дефіцитом 25(ОН)Д ( $22,06 \pm 1,36$  нг/мл проти  $30,42 \pm 2,68$  нг/мл;  $p=0,03$ ). Порівняння вмісту 25(ОН)Д за квантилями кателіцидину показало таку саму закономірність – у хворих I квантиля із рівнем пептиду нижче 18,90 нг/мл спостерігались значно вищі значення 25(ОН)Д, ніж у дітей IV квантиля із рівнем LL-37 більше 31,51 нг/мл ( $33,26 \pm 1,63$  нг/мл проти  $24,20 \pm 1,21$  нг/мл;  $p=0,0001$ ). Аналіз взаємозв'язку між вмістом антимікробного пептиду кателіцидину та 25-гідроксихолекальциферолом показав, що існує обернений зв'язок середньої сили між цими речовинами  $r_{xy} = -0,48$  ( $p=0,001$ ).

У літературних джерелах дані щодо кореляції між рівнями кателіцидину та 25(ОН)Д неоднозначні. Наприклад, у публікації Yamshchikov та

співавт. показано, що у пацієнтів із активним туберкульозом відмічається значне зниження рівня 25(ОН)Д та підвищення рівня кателіцидину в сироватці, хоча між собою вони не корелюють [204].

Співставлення досліджуваних речовин між собою за тяжкістю перебігу показало, що діти із легким перебігом мали найвищі показники 25(ОН)Д та найнижчі значення кателіцидину ( $38,92 \pm 2,18$  нг/мл та  $14,08 \pm 1,91$  відповідно). Хворі із тяжким МВ показали в 1,6 раза нижчі показники 25(ОН)Д ( $24,23 \pm 0,81$  нг/мл;  $p < 0,001$ ) та в 2,14 раза вищий рівень кателіцидину ( $30,22 \pm 1,17$  нг/мл;  $p < 0,001$ ). Аналіз зв'язку між тяжкістю перебігу МВ та рівнем 25(ОН)Д показав позитивний середньої сили зв'язок ( $r_{xy} = 0,67$ ;  $p = 0,001$ ) між тяжкістю МВ та рівнем кателіцидину LL-37 встановлено обернений середньої сили зв'язок ( $r_{xy} = -0,60$ ;  $p = 0,001$ ). Подібні результати були отримані у дослідженні Arıkoğlu та співавт., де вивчались діти із бронхіальною астмою, та було виявлено, що при тяжких загостреннях у хворих відмічались нижчі середні значення 25(ОН)Д та вищі показники кателіцидину в сироватці крові порівняно із групою контролю. Також у дослідженні встановлено позитивний зв'язок між рівнем кателіцидину та частотою загострень БА [45].

Використання спірометрії, а саме параметру ОФВ1, для визначення тяжкості ураження функції легень при МВ рекомендується багатьма настановами, тому нами було обрано цей показник для порівняння та оцінки досліджуваних речовин. Встановлено, що діти із ОФВ1 вище 80 % показували кращі значення 25(ОН)Д ( $31,27 \pm 1,16$  нг/мл) та найнижчі значення кателіцидину ( $21,96 \pm 1,02$  нг/мл). Із погіршенням показника ОФВ1 ми спостерігали пропорційне зниження середнього вмісту 25(ОН)Д в 1,21 раза, а рівень кателіцидину підвищувався в 1,3 раза (порівняно із показниками дітей із ОФВ1 64 % та нижче). Між усіма показниками спірометрії та вмістом 25(ОН)Д встановлено позитивний прямий зв'язок, зокрема для ФЖЄЛ  $r_{xy} = 0,36$  ( $p = 0,001$ ), а для ОФВ1  $r_{xy} = 0,39$  ( $p = 0,0004$ ). Між усіма показниками спірометрії та рівнем кателіцидину виявлено обернений зв'язок середньої сили. Для ФЖЄЛ  $r_{xy} = -0,32$  ( $p = 0,004$ ), а для ОФВ1 встановлено слабкий обернений зв'язок  $r_{xy} = -0,29$  ( $p = 0,009$ ). Отримані нами дані

підтверджуються у багатьох дослідженнях, де вивчалась дихальна функція у хворих на МВ дітей залежно від рівня 25(ОН)Д [130, 186]. Так, встановлено значимий взаємозв'язок між сироватковим 25(ОН)Д та показниками ОФВ1 та ФЖЄЛ, а також припускається, що додаткове забезпечення вітаміном Д може покращити дихальну функцію. У літературних джерелах досить обмежені дані щодо взаємозв'язку між дихальною функцією та рівнем сироваткового кателіцидину у дітей, тому це питання потребує додаткового вивчення, зокрема і серед хворих на МВ пацієнтів.

Частоту загострень МВ, швидкість прогресування ураження легень пов'язують із життєдіяльністю колонізуючих легені бактерій, з яких особливу роль приділяють *P. aeruginosa*. В нашому дослідженні проведено співставлення досліджуваних речовин із кількісними та якісними характеристиками отриманих з посіву мокротиння бактерій. В результаті, було встановлено, що у хворих із тяжким та середньотяжким МВ *St. aureus* висівався у більшій кількості, ніж у дітей із легким ( $p=0,0036$ ) та середньотяжким ( $p=0,007$ ) перебігом. В літературних даних ці результати підтверджуються та показано, що інфікування дихальних шляхів дітей з МВ *S. aureus*, *H. influenzae*, *P. aeruginosa* або *S. pneumoniae* посилює прозапальну відповідь, знижуючи функцію легень порівняно із неінфікованими дітьми, та асоціюється з частими загостреннями хвороби та тяжчим перебігом [160].

Було проведене порівняння вмісту 25(ОН)Д та кателіцидину в групах дітей із позитивною та негативною культурою мікроорганізмів, що вивчались у дослідженні. Виявлено, що у дітей із тяжким та середньотяжким перебігом, інфікованих *P. aeruginosa*, *Str. agalactiae*, *St. pneumoniae*, визначались дещо нижчі значення 25(ОН)Д, а у хворих із тяжким МВ, які мали *St. aureus* в мокротинні, виявили значне ( $p = 0,042$ ) зниження 25(ОН)Д, ніж у неінфікованих дітей. Рівень кателіцидину у дітей із позитивною культурою *St. aureus* та *P. aeruginosa* в мокротинні був значно підвищений ( $p = 0,031$  та  $p = 0,042$  відповідно) порівняно із дітьми, що не мали вказаних бактерій.

Аналіз кількісного складу бактерій залежно від рівня 25(ОН)Д та

кателіцидину в сироватці крові не виявив значних відмінностей, тому можна зробити висновок, що вміст досліджуваних речовин не залежить від кількісної характеристики мікрофлори дихальних шляхів, а, вірогідно, лише від її якісного складу. Ми не виявили в літературних джерелах даних, які б висвітлювали це питання, тому воно потребує подальшого спрямованого вивчення в окремих дослідженнях.

Оцінка зв'язку рівня 25(ОН)Д та кателіцидину із кількісними показниками окремих мікроорганізмів, висіяних з мокротиння, показала, що існує зворотній зв'язок середньої сили між кількістю КУО *Ps. aeruginosa* та 25(ОН)Д ( $r_{xy} = -0,35$ ;  $p = 0,049$ ). Такий результат співпадає із іншим дослідженням, де вивчалась колонізація *Ps. aeruginosa* у дітей, хворих на МВ, залежно від забезпеченості 25(ОН)Д, та було показано, що у дітей із рівнем 25(ОН)Д нижче 29,9 нг/мл достовірно частіше зустрічалось інфікування даним патогеном [174].

Між вмістом кателіцидину та кількісними показниками бактерій виявлено позитивні зв'язки середньої та слабкої сили, але статистично значимих серед них не було.

Для вивчення можливості використання сироваткових 25-гідроксихолекальциферолу та кателіцидину як прогностичних маркерів тяжкості перебігу МВ у дітей, нами була проведена оцінка шансів впливу досліджуваних речовин на загальну тяжкість захворювання, зміну показника спірометрії ОФВ1 та склад мікрофлори дихальних шляхів як ключових критеріїв при ураженні легень.

Проведений аналіз впливу рівня 25(ОН)Д на функцію зовнішнього дихання, а саме рівня ОФВ1, показав, що оптимальний рівень асоціюється із вищими показниками ОФВ1 (OR = 2,971; 95 % CI: 1,175-7,514;  $\chi^2 = 5,440$ ;  $p = 0,020$ ), а субоптимальний рівень 25(ОН)Д асоціюється із показниками ОФВ1 64 % та нижче (OR = 3,400; 95 % CI: 1,107-10,443;  $\chi^2 = 4,855$ ;  $p = 0,028$ ).

Також була вивчена асоціація вмісту 25(ОН)Д із бактеріями, що висівались із мокротиння дітей, хворих на МВ. Встановлено, що субоптимальний рівень 25(ОН)Д асоціювався із висівом *P. aeruginosa* (OR = 2,889; 95 % CI: 1,105 – 7,554;  $\chi^2 = 4,822$ ;  $p = 0,028$ ), а в групі із достатнім забезпеченням вітаміном ризик висіву

*P. aeruginosa* був значно знижений (OR = 0,346; 95 % CI: 0,132 – 0,905;  $\chi^2 = 4,822$ ;  $p = 0,028$ ).

У дослідженні було виявлено, що субоптимальний рівень 25(ОН)Д асоціювався підвищеним в 10 разів ризиком розвитку тяжких проявів МВ (OR = 10,197; 95 % CI: 3,071-33,858;  $\chi^2 = 17,286$ ;  $p = 0,00003$ ), в той час як діти із вмістом 25(ОН)Д вище 30 нг/мл мали знижений ризик тяжкого захворювання (OR = 0,098; 95 % CI: 0,029 – 0,326;  $p = 0,00003$ ).

Враховуючи такі асоціації з клінічними проявами МВ, ми робимо висновок, що зміна рівня 25(ОН)Д в сироватці крові може вказувати на тяжкість перебігу хвороби. З метою вивчення надійності методу визначення рівня 25(ОН)Д в сироватці крові дітей, хворих на МВ, для діагностики тяжкого перебігу хвороби нами було проведено ROC-аналіз. Чутливість методу становила 70 %, а специфічність склала 88 %, площа під кривою – 0,857; 95 % CI: 0,765 – 0,942 ( $p < 0,045$ ). За отриманими результатами чутливість методу є недостатньо високою, це означає, що опираючись тільки на показник 25(ОН)Д, можна помилково віднести дитину із тяжким перебігом до групи середньотяжкого-легкого перебігу. А от висока специфічність дає можливість з високою ймовірністю діагностувати та відслідковувати хворих із середньотяжким-легким МВ.

Оцінка впливу рівня кателіцидину на функцію легень проводилась на основі асоціації між рівнем пептиду та ОФВ1. Ми виявили, що рівень LL-37 нижче 18,90 нг/мл асоціюється зі значенням ОФВ1 вище 80 % (OR = 3,378; 95 % CI: 1,163 – 9,816;  $\chi^2 = 5,279$ ;  $p = 0,022$ ). Рівень кателіцидину вище 31,51 нг/мл підвищує ризик зниження ОФВ1 нижче 80 % в 4,38 разів (OR = 4,375; 95 % CI: 1,027 – 18,629;  $\chi^2 = 4,208$ ;  $p = 0,041$ ).

Вміст кателіцидину вище 31,51 нг/мл асоціювався із позитивною культурою *St. aureus*, ризик висіву якої збільшувався в 3,2 рази (OR = 3,193; 95 % CI: 1,037 – 9,8832;  $\chi^2 = 4,340$ ;  $p = 0,037$ ) та *P. aeruginosa*, для якої ризик підвищувався в 3,3 разів (OR = 3,300; 95 % CI: 1,167 – 9,328;  $\chi^2 = 5,341$ ;  $p = 0,020$ ).

У дослідженні показано, що у хворих із вмістом кателіцидину вище

31,51 нг/мл значно зростає ризик тяжкого перебігу МВ (OR = 15,667; 95 % CI: 4,074 – 60,246;  $p < 0,001$ ). Побудова ROC – кривої для вивчення надійності методу визначення рівня кателіцидину в сироватці крові дітей, хворих на МВ, для діагностики тяжкого перебігу хвороби показала, що чутливість методу становила 67 %, а специфічність склала 82 %, площа під кривою – 0,804; 95 % CI: 0,709 – 0,899 ( $p=0,049$ ). Метод виявив досить низьку чутливість, але достатню специфічність.

На основі аналізу вмісту 25(ОН)Д та кателіцидину в сироватці крові дітей, хворих на МВ, ми побудували регресійну модель прогнозування тяжкості перебігу МВ. Модель виглядає таким чином:

$$p = \exp(8,834 + \text{LL-37(нг/мл)} \times 0,135 + 25(\text{ОН})\text{Д (нг/мл)} \times -0,224 + \text{ІМТ} \times -0,432) / (1 + \exp(8,834 + \text{LL-37(нг/мл)} \times 0,135 + 25(\text{ОН})\text{Д (нг/мл)} \times -0,224 + \text{ІМТ} \times -0,432)),$$

де LL-37 – отриманий показник кателіцидину (нг/мл) у пацієнта,

25(ОН)Д – отриманий показник 25-гідроксихолекальциферолу (нг/мл) у пацієнта,

ІМТ – індекс маси тіла.

Отримане значення «р» можна інтерпретувати таким чином: якщо «р» дорівнює або більше 0,5, такого пацієнта слід віднести до групи тяжкого перебігу, якщо «р» менше 0,5, пацієнта потрібно віднести до групи середньотяжкого-легкого перебігу.

Статистична значимість моделі складає ( $p < 0,001$ ),  $R^2 = 0,62$ , тому дану модель можна використовувати у практичній діяльності лікаря.



## ВИСНОВКИ

1. Муковісцидоз належить до групи орфанних спадкових аутосомно-рецесивних захворювань, що займає значне місце в респіраторній патології, адже супроводжується значним зниженням якості, тривалості життя та інвалідизацією дітей. Поширеність захворювання серед країн Європи складає 1,14 – 25,71 хворих на 100000 населення, а смертність сягає 1 - 2 % щорічно (European Cystic Fibrosis Society Patients Registry, 2010). Враховуючи участь метаболітів вітаміну Д в патогенезі МВ, їх здатність впливати на експресію антимікробного пептиду кателіцидину, визначення цих речовин у якості предикторів тяжкості МВ обумовлює актуальність нашого дослідження.

2. Серед обстежених пацієнтів із МВ спостерігались рецидивуючі бронхообструктивні епізоди (72,62 %), поліфекалія (70,24 %), кашель (65,48 %), стеаторея (61,90 %) та затримка фізичного розвитку (79,76 %). У 21,43 % дітей діагноз не був встановлений вчасно. Діти віком 6-11 років частіше мали тяжкі прояви МВ ( $p < 0,05$ ), легкий перебіг частіше зустрічався в групі 12-17 років ( $p < 0,05$ ). Алель F508del зустрічалась у 84,6 % обстежених дітей, з них 45,2 % мали дану алель у гомозиготному стані.

3. У дітей із тяжким перебігом МВ у мокротинні було виявлено *P. aeruginosa* ( $p < 0,05$ ) та *St.aureus* ( $p < 0,01$ ). Також при тяжкому перебігу спостерігалось зниження показників ФЖЄЛ та ОФВ1 на 15,65 % та 19,16 % порівняно із показниками дітей легкого перебігу МВ.

4. У 58,4 % дітей, хворих на МВ, було виявлено зниження рівня 25(ОН)Д нижче 30 нг/мл. У дітей із тяжким МВ визначалися показники 25(ОН)Д на субоптимальному та дефіцитному рівнях та отримано найвищі серед усіх обстежених дітей значення LL-37 ( $p < 0,001$ ). Визначався достовірний ( $p = 0,001$ ) кореляційний зв'язок між тяжкістю перебігу хвороби та вмістом LL-37 ( $r_{xy} = -0,60$ ) і 25(ОН)Д ( $r_{xy} = 0,67$ ).

5. У дітей із субоптимальними значеннями 25(ОН)Д частіше визначалась

колонізація дихальних шляхів *P. aeruginosa* ( $p=0,007$ ). Оцінка зв'язку між рівнем 25(ОН)Д та кількісними показниками мікроорганізмів, висіяних з мокротиння, показала, що існує зворотній зв'язок середньої сили між кількістю КУО *P. aeruginosa* та 25(ОН)Д ( $r_{xy} = -0,35$ ;  $p = 0,049$ ). Ризик висіву *P. aeruginosa* з мокротиння у дітей із МВ, які мали рівень 25(ОН)Д 20-30 нг/мл підвищувався в 2,89 рази ( $p = 0,028$ ). Рівень LL-37 понад 31,51 нг/мл асоціювався із позитивною культурою *St. aureus* та *P. aeruginosa* для яких ризик підвищувався в 3,2 та 3,3 рази ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з рівнем LL-37 нижче 18,90 нг/мл.

6. У дітей, хворих на МВ, спостерігались пропорційне підвищення вмісту в сироватці крові кателіцидину в 1,3 рази та зниження вмісту 25(ОН)Д в 1,21 рази при зниженні показника ОФВ1 менше 64 %. Встановлено кореляційний взаємозв'язок ( $p < 0,01$ ) між показником спірометрії ОФВ1 та вмістом LL-37 ( $r_{xy} = -0,29$ ) і 25(ОН)Д ( $r_{xy} = 0,39$ ). Діти, які мали субоптимальний рівень 25(ОН)Д, асоціювались із підвищеним в 3,4 рази ризиком ( $p = 0,028$ ) зниження ОФВ1 нижче 64 %. У дітей, у яких визначався рівень LL-37 понад 31,51 нг/мл відмічався підвищений в 4,4 рази ( $p = 0,041$ ) ризик зниження ОФВ1.

7. Вимірювання 25(ОН)Д та LL-37 імуноферментним методом в сироватці крові у якості додаткових маркерів визначення тяжкості МВ показало, що для 25(ОН)Д чутливість склала 70 %, специфічність – 88 %, для LL-37 чутливість та специфічність склали 67 та 82 %.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. У практичній діяльності лікаря загальної практики, педіатра, дитячого пульмонолога при спостереженні дітей, хворих на муковісцидоз, слід визначати рівень метаболіту вітаміну Д 25-гідроксихолекальциферолу в сироватці крові як додаткового маркера тяжкості перебігу муковісцидозу.

- При зниженні рівня 25-гідроксихолекальциферолу нижче 30 нг/мл ризик розвитку тяжкого перебігу МВ зростає. Зниження рівня 25-гідроксихолекальциферолу нижче 30 нг/мл достовірно підвищує ризики інфікування *P. aeruginosa* та зниження рівня ОФВ1.

2. У хворих із вмістом кателіцидину вище 31,51 нг/мл значно зростає ризик тяжкого перебігу МВ. Рівень LL-37 вище 31,51 нг/мл підвищує ризик зниження ОФВ1 та асоціюється із позитивною культурою *St. aureus* та *P. aeruginosa*.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абатуров, А. Е., & Бабич, В. Л. (2016). Медикаментозное управление продукцией антимикробных пептидов при муковисцидозе у детей. *Здоровье ребенка*, 2 (70).
2. Абатуров, А. Е., & Завгородняя, Н. Ю. (2012). Витамин-D-зависимая продукция антимикробных пептидов. *Здоровье ребенка*, 1 (36).
3. Абатуров, А. Е., Крючко, Т. А., & Леженко, Г. А. (2017). Лекарственные средства, основанные на молекулярных структурах антимикробных пептидов, и терапевтические возможности при лечении инфекционных заболеваний респираторного тракта (часть 1). *Здоровье ребенка*, 12(8).
4. Абатуров, А. Е., Крючко, Т. А., Кривуша, Е. Л., & Ткаченко, О. Я. (2018). Нутритивная и медикаментозная коррекция дефицита кальция и витамина D у детей. *Здоровье ребенка*, 13(7).
5. Ашерова, И. К., Ершова, О. Б., Охупкина, Е. А., & Белова, К. Ю. (2012). Нарушение метаболизма витамина d у детей и подростков с муковисцидозом. *Педиатрия. Журнал им. ГН Сперанского*, 91(2).
6. Багрий, М. М., Михайлюк, І. О., Гевка, О. І., & Ходан, В. В. (2010). Муковісцидоз із легневими симптомами. *Архів клінічної медицини*, (1), 89-93.
7. Белых, Н. А., & Амелина, В. В. (2019). Значение дефицита витамина D в формировании бронхообструктивного синдрома у детей. *Наука молодых—Eruditio Juvenium*, 7(2).
8. Березенко, В. С., Резніков, Ю. П., & Крат, В. В. (2017). Муковісцидоз у дітей. Своєчасна діагностика як важливий предиктор ефективності лікування (клінічний випадок). *Перинатологія і педиатрія*, (3), 74-80.
9. Больбот, Ю. К., & Годяцкая, Е. К. (2015). Внескелетные эффекты витамина D и значение его дефицита в развитии респираторной патологии у детей. *Пульмонология детского возраста: проблемы и решения*, 150-155.

10. Вертегел, А. О., & Овчаренко, Л. С. (2015). Вплив недостатності вітаміну Д на стан імунної системи: подвійна небезпека розвитку порушень остеогенезу в дітей, хворих на рекурентний бронхіт. *Перинатологія і педіатрія*, (3), 71-74.
11. Гошовська, І. І., Кузик, Ю. І., & Гошовська, Н. А. (2015). Муковісцидоз у дітей: патоморфологічні особливості. *Вісник наукових досліджень*, (4), 29-32.
12. Демянишина В. В. (2020). Особливості клінічного перебігу муковісцидозу у дітей. *Вісник ВНМУ*, 2 (24), 115-119.
13. Демянишина В.В. (2016). *Муковісцидоз у дітей – клінічний випадок*. Збірник тез наукових робіт учасників XIII міжнародної конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2016» (7-8 квітня 2016 р. м. Вінниця). Вінниця, ВНМУ ім. М.І. Пирогова, с. 195
14. Демянишина В.В. (2017). *Клініко-патогенетичне значення вітаміну Д<sub>3</sub> у дітей, хворих на муковісцидоз*. Збірник тез наукових робіт учасників XIV міжнародної конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2017». (26-28 квітня 2017р. м. Вінниця). Вінниця, ВНМУ ім. М.І. Пирогова, с. 266.
15. Демянишина В.В. (2018). *Клінічні особливості перебігу муковісцидозу у дітей*. Збірник тез наукових робіт учасників XV міжнародної конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2018». (18-20 квітня 2018р. м. Вінниця). Вінниця, ВНМУ ім. М.І. Пирогова, с. 263.
16. Демянишина В.В. (2019). *Стан біоценозу респіраторного тракту у дітей, хворих на муковісцидоз*. Збірник тез наукових робіт учасників XV міжнародної конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2019». (18-19 квітня 2019р. м. Вінниця). Вінниця, ВНМУ ім. М.І. Пирогова, с. 433-434.
17. Дудник В.М., Демянишина В.В. (2018). *Клініко-патогенетичне значення вітаміну Д<sub>3</sub> у дітей, хворих на муковісцидоз*, Матеріали конференції «Проблеми сьогодення в педіатрії» 29.03.18, Харків, с. 14
18. Дудник В.М., Демянишина В.В. (2018). *Оцінка вмісту*

антимікробного пептиду кателіцидину в сироватці крові у дітей, хворих на муковісцидоз, Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю присвяченої 95-літньому ювілею Харківської медичної академії післядипломної освіти «Медицина XXI століття» 23.11.2018. Харків, с. 68-69.

19. Дудник В.М., Демянишина В.В. (2018). Оцінка вмісту холекальциферолу в сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз. *Перинатологія та педіатрія*, 3 (75), 82 – 87.

20. Дудник В.М., Демянишина В.В. (2018). Рівень антимікробного пептиду кателіцидину у дітей, хворих на муковісцидоз. *Medical sciences: development prospects in countries of Europe at the beginning of the third Millennium, Stalowa Wola, Poland*, 134 – 147

21. Дудник В.М., Демянишина В.В. (2018). Роль дефіциту 25-гідроксихолекальциферолу у клінічному перебігу муковісцидозу у дітей, Матеріали конференції «European biomedical young scientist conference NMAPE» 19-21.04.18, Київ, с. 76-77

22. Дудник В.М., Демянишина В.В. (2018). Спектр мікроорганізмів респіраторного тракту дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від важкості захворювання, Матеріали XIII конгресу педіатрів України «Актуальні проблеми педіатрії». Київ: Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології 12 (3), с.32

23. Дудник В.М., Демянишина В.В. (2019). Склад мікроорганізмів, отриманих із посіву мокротиння дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від рівня забезпечення вітаміном Д3. Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю Харківської медичної академії післядипломної освіти «Медицина XXI століття» 29.11.2019р., Харків, с.32-33.

24. Дудник В.М., Демянишина В.В. (2020). Аналіз зв'язку між рівнем с-кінцевого hCAP-18 антимікробного пептиду кателіцидину LL-37 та показниками тяжкості перебігу муковісцидозу у дітей. *Проблеми клінічної педіатрії*, 1-2 (47-48), 66-72.

25. Дудник В.М., Демянишина В.В. (2020). *Вміст кателіцидину LL-37 та 25-гідроксихолекальциферолу в сироватці крові залежно від складу мікрофлори дихальних шляхів у дітей, хворих на муковіцидоз*. Збірник тез наукових робіт учасників науково-практичної конференції «Актуальні досягнення медичних наукових досліджень в Україні та країнах ближнього зарубіжжя» (2–3 жовтня 2020 р., м. Київ). Київ, с. 38-41.
26. Дудник В.М., Демянишина В.В. (2020). *Оцінка вмісту антимікробного пептиду кателіцидину LL-37 та гідроксихолекальциферолу в сироватці крові дітей, хворих на муковіцидоз, залежно від функції зовнішнього дихання*. Збірник тез наукових робіт учасників міжнародної науково-практичної конференції “New trends and unresolved issues of preventive and clinical medicine” (25-26 вересня 2020 р., м. Люблін, Польща). Люблін, с. 79-83
27. Клименко, В. А., Пасічник, О. В., Дробова, Н. М., & Яновська, К. О. (2017). Клінічне спостереження дитини, хворої на муковіцидоз. *Здоровье ребенка*, (12, № 5), 631-635.
28. Климов, Л. Я., Кондратьева, Е. И., Ильенкова, Н. А., Долбня, С. В., Дятлова, А. А., Енина, Е. А., ... & Кузьмина, Е. М. (2019). Особенности врожденного иммунитета на фоне хронической инфекции респираторного тракта у детей с муковисцидозом. *Педиатрия. Приложение к журналу Consilium Medicum*, (1).
29. Котлова, Ю. В., Герасімчук, Т. С., & Сліпко, В. О. (2017). Вплив вітаміну D на імунну відповідь дітей раннього віку, хворих на респіраторні інфекції. *Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина*, (7, № 1), 86-88.
30. Леженко, Г. А., Абатуров, А. Е., Пашкова, Е. Е., & Абрамов, А. В. (2014). Уровень противомикробных белков у детей с воспалительными заболеваниями респираторного тракта. *Педиатрия. Восточная Европа*, (1), 21-30.
31. Леженко, Г. О., Пашкова, О. Є., Крайня, Г. В., Леженко, Г. А., Пашкова, Е. Е., & Крайня, А. В. (2017). Вміст антимікробних пептидів у дітей раннього віку, хворих на гострий бронхіт, залежно від етіологічного чинника.
32. Майданник, В. Г. (2017). Вітамін D, імунна система і профілактика

гострих респіраторних інфекцій. *Міжнарод ний журнал педіатрії, акушерства та гінекології*, 11(4), 38-53.

33. Муковісцидоз в Україні: проблема, що потребує негайних дій (2014). *Современная педиатрия*, 3 (59), 23-27.

34. Мусин, Х. Г. (2018). Антимикробные пептиды-потенциальная замена традиционным антибиотикам. *Инфекция и иммунитет*, 8(3).

35. Наказ Міністерства охорони здоров'я України 15.07.2016 № 723 “Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги хворим на муковісцидоз”. Взято з [http://search.ligazakon.ua/l\\_doc2.nsf/link1/MOZ26216.html](http://search.ligazakon.ua/l_doc2.nsf/link1/MOZ26216.html)

36. Окороченков, С. А., Желтухина, Г. А., & Небольсин, В. Е. (2012). Антимикробные пептиды: механизмы действия и перспективы практического применения. *Биомедицинская химия*, 58(2), 131-143.

37. Пашкевич, А. А., Ковалев, В. Н., Никитина, М. И., Кайстрия, И. В., Дорофейков, В. В., Желенина, Л. А., & Костик, М. М. (2018). Оценка эффективности коррекции дефицита витамина d у детей с муковисцидозом в Санкт-Петербурге: результаты 12-месячного проспективного исследования. *Педиатр*, 9(5).

38. Пигарова, Е. А., & Петрушкина, А. А. (2017). Неклассические эффекты витамина D. *Остеопороз и остеопатии*, 20(3).

39. Починок, Т. В. (2016). Коррекция дефицита витамина d и его влияние на иммунологические и метаболические нарушения у детей раннего возраста, страдающих от частых респираторных заболеваний. *Здоровье ребенка*, (2 (70)).

40. Синчук, Н. И., & Соловьева, С. И. (2016). Современный взгляд на состояние дыхательных путей при муковисцидозе и коррекция нарушений. *Педиатрия. Восточная Европа*, (3), 450-461.

41. Снопов, С. А. (2014). Механизмы действия витамина D на иммунную систему. *Медицинская иммунология*, 16(6).

42. Шадрин, С. А., Альюкла, С. А., & Шадрина, Э. М. (2006). Микробиоценоз больных муковисцидозом. *Вопросы современной педиатрии*, (S).



43. Albanna, E. A., Ali, Y. F., & Elkashnia, R. A. (2010). Vitamin D and LL-37 in children with pneumonia. *Egyptian Journal of Pediatric Allergy and Immunology (The)*, 8(2).
44. Antal, A. S., Dombrowski, Y., Koglin, S., Ruzicka, T., & Schaubert, J. (2011). Impact of vitamin D3 on cutaneous immunity and antimicrobial peptide expression. *Dermato-endocrinology*, 3(1), 18–22. <https://doi.org/10.4161/derm.3.1.14616>
45. Arikoglu, T., Kuyucu, S., Karaismailoglu, E., Batmaz, S. B., & Balci, S. (2015). The association of vitamin D, cathelicidin, and vitamin D binding protein with acute asthma attacks in children. *Allergy and asthma proceedings*, 36(4), 51–58. <https://doi.org/10.2500/aap.2015.36.3848>.
46. Ashitani, J., Matsumoto, N., & Nakazato, M. (2007). Elevated levels of antimicrobial peptides in bronchoalveolar lavage fluid in patients with chronic eosinophilic pneumonia. *Respiration; international review of thoracic diseases*, 74(1), 69–75. <https://doi.org/10.1159/000090199>
47. Augarten, A., Akons, H., Aviram, M., Bentur, L., Blau, H., Picard, E., Rivlin, J., Miller, M. S., Katznelson, D., Szeinberg, A., Shmilovich, H., Paret, G., Laufer, J., & Yahav, Y. (2001). Prediction of mortality and timing of referral for lung transplantation in cystic fibrosis patients. *Pediatric transplantation*, 5(5), 339–342. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3046.2001.00019.x>
48. Australian Cystic Fibrosis Data Registry annual report 2017. Взято з [https://www.cysticfibrosis.org.au/getmedia/24e94d66-29fa-4e3f-8e65-21ee24ed2e5a/ACFDR-2017-Annual-Report\\_highres\\_singles.pdf.aspx](https://www.cysticfibrosis.org.au/getmedia/24e94d66-29fa-4e3f-8e65-21ee24ed2e5a/ACFDR-2017-Annual-Report_highres_singles.pdf.aspx)
49. Autier, P., Boniol, M., Pizot, C., & Mullie, P. (2014). Vitamin D status and ill health: a systematic review. *The lancet. Diabetes & endocrinology*, 2(1), 76–89. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(13\)70165-7](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(13)70165-7)
50. Bals R. (2000). Epithelial antimicrobial peptides in host defense against infection. *Respiratory research*, 1(3), 141–150. <https://doi.org/10.1186/rr25>
51. Bals, R., & Hiemstra, P. S. (2004). Innate immunity in the lung: how epithelial cells fight against respiratory pathogens. *The European respiratory*

*journal*, 23(2), 327–333. <https://doi.org/10.1183/09031936.03.00098803>

52. Bals, R., & Wilson, J. M. (2003). Cathelicidins--a family of multifunctional antimicrobial peptides. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 60(4), 711–720. <https://doi.org/10.1007/s00018-003-2186-9>

53. Banaschewski, B. J., Baer, B., Arsenault, C., Jazey, T., Veldhuizen, E. J., Delpont, J., ... & Yamashita, C. (2017). The antibacterial and anti-inflammatory activity of chicken cathelicidin-2 combined with exogenous surfactant for the treatment of cystic fibrosis-associated pathogens. *Scientific Reports*, 7(1), 1-15.

54. Barnard, K., & Colón-Emeric, C. (2010). Extraskelatal effects of vitamin D in older adults: cardiovascular disease, mortality, mood, and cognition. *The American journal of geriatric pharmacotherapy*, 8(1), 4–33. <https://doi.org/10.1016/j.amjopharm.2010.02.004>

55. Beard, J. A., Bearden, A., & Striker, R. (2011). Vitamin D and the anti-viral state. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 50(3), 194–200. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2010.12.006>

56. Beaudoin, T., Stone, T. A., Glibowicka, M., Adams, C., Yau, Y., Ahmadi, S., Bear, C. E., Grasemann, H., Waters, V., & Deber, C. M. (2018). Activity of a novel antimicrobial peptide against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Scientific reports*, 8(1), 14728. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33016-7>

57. Beaumont PE, McHugh B, Gwyer Findlay E, Mackellar A, Mackenzie KJ, et al. (2014) Cathelicidin Host Defence Peptide Augments Clearance of Pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* Infection by Its Influence on Neutrophil Function In Vivo. *PLoS ONE* 9(6): e99029. doi:10.1371/journal.pone.0099029

58. Bell, T. D., Demay, M. B., & Burnett-Bowie, S. A. (2010). The biology and pathology of vitamin D control in bone. *Journal of cellular biochemistry*, 111(1), 7–13. <https://doi.org/10.1002/jcb.22661>

59. Bikle D. D. (2014). Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chemistry & biology*, 21(3), 319–329. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2013.12.016>

60. Black, P. N., & Scragg, R. (2005). Relationship between serum 25-

hydroxyvitamin d and pulmonary function in the third national health and nutrition examination survey. *Chest*, 128(6), 3792-3798.

61. Boas, S. R., Hageman, J. R., Ho, L. T., & Liveris, M. (2009). Very high-dose ergocalciferol is effective for correcting vitamin D deficiency in children and young adults with cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 8(4), 270–272. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2009.04.004>

62. Borowitz, D., Robinson, K. A., Rosenfeld, M., Davis, S. D., Sabadosa, K. A., Spear, S. L., Michel, S. H., Parad, R. B., White, T. B., Farrell, P. M., Marshall, B. C., & Accurso, F. J. (2009). Cystic Fibrosis Foundation evidence-based guidelines for management of infants with cystic fibrosis. *The Journal of pediatrics*, 155(6 Suppl), S73–S93. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2009.09.001>

63. Borregaard, N., Sørensen, O. E., & Theilgaard-Mönch, K. (2007). Neutrophil granules: a library of innate immunity proteins. *Trends in immunology*, 28(8), 340–345. <https://doi.org/10.1016/j.it.2007.06.002>

64. Bratcher, P. E., Rowe, S. M., Reeves, G., Roberts, T., Szul, T., Harris, W. T., Tirouvanziam, R., & Gaggar, A. (2016). Alterations in blood leukocytes of G551D-bearing cystic fibrosis patients undergoing treatment with ivacaftor. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 15(1), 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2015.02.010>

65. Breuer, O., Caudri, D., Stick, S., & Turkovic, L. (2018). Predicting disease progression in cystic fibrosis. *Expert review of respiratory medicine*, 12(11), 905–917. <https://doi.org/10.1080/17476348.2018.1519400>

66. Brockman-Schneider, R. A., Pickles, R. J., & Gern, J. E. (2014). Effects of vitamin D on airway epithelial cell morphology and rhinovirus replication. *PloS one*, 9(1), e86755. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086755>

67. Burkes, R. M., Ceppe, A. S., Couper, D. J., Comellas, A. P., Wells, J. M., Peters, S. P., Criner, G. J., Kanner, R. E., Paine, R., 3rd, Christenson, S. A., Cooper, C. B., Barjaktarevic, I. Z., Krishnan, J. A., Labaki, W. W., Han, M. K., Curtis, J. L., Hansel, N. N., Wise, R. A., Drummond, M. B., & SPIROMICS collaborators (2020).

Plasma Cathelicidin is Independently Associated with Reduced Lung Function in COPD: Analysis of the Subpopulations and Intermediate Outcome Measures in COPD Study Cohort. *Chronic obstructive pulmonary diseases (Miami, Fla.)*, 7(4), 370–381. <https://doi.org/10.15326/jcopdf.7.4.2020.0142>

68. Cantin, A. M., Hartl, D., Konstan, M. W., & Chmiel, J. F. (2015). Inflammation in cystic fibrosis lung disease: Pathogenesis and therapy. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 14(4), 419–430. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2015.03.003>

69. Cantorna, M. T., Snyder, L., Lin, Y. D., & Yang, L. (2015). Vitamin D and 1,25(OH)<sub>2</sub>D regulation of T cells. *Nutrients*, 7(4), 3011–3021. <https://doi.org/10.3390/nu7043011>

70. Castellani, C., Southern, K. W., Brownlee, K., Dankert Roelse, J., Duff, A., Farrell, M., Mehta, A., Munck, A., Pollitt, R., Sermet-Gaudelus, I., Wilcken, B., Ballmann, M., Corbetta, C., de Monestrol, I., Farrell, P., Feilcke, M., Férec, C., Gartner, S., Gaskin, K., Hammermann, J., ... Elborn, S. (2009). European best practice guidelines for cystic fibrosis neonatal screening. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 8(3), 153–173. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2009.01.004>

71. CFTR2 variants. Взято із [https://cftr2.org/mutations\\_history](https://cftr2.org/mutations_history)

72. Chávez, J. C., Hernández-González, E. O., Wertheimer, E., Visconti, P. E., Darszon, A., & Treviño, C. L. (2012). Participation of the Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> exchangers SLC26A3 and SLC26A6, the Cl<sup>-</sup> channel CFTR, and the regulatory factor SLC9A3R1 in mouse sperm capacitation. *Biology of reproduction*, 86(1), 1–14. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.111.094037>

73. Chen, C. I., Schaller-Bals, S., Paul, K. P., Wahn, U., & Bals, R. (2004). Beta-defensins and LL-37 in bronchoalveolar lavage fluid of patients with cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 3(1), 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2003.12.008>

74. Chen, Y., Liu, W., Sun, T., Huang, Y., Wang, Y., Deb, D. K., Yoon, D., Kong, J., Thadhani, R., & Li, Y. C. (2013). 1,25-Dihydroxyvitamin D promotes

negative feedback regulation of TLR signaling via targeting microRNA-155-SOCS1 in macrophages. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *190*(7), 3687–3695. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1203273>

75. Cheng-Shiun He, William D. Fraser, Jonathan Tang, Kirsty Brown, Stephen Renwick, Jay RudlandThomas, James Teah, Ellie Tanqueray & Michael Gleeson (2015). The effect of 14 weeks of vitamin D3 supplementation on antimicrobial peptides and proteins in athletes, *Journal of Sports Sciences*, DOI: 10.1080/02640414.2015.1033642

76. Chesdachai, S., & Tangpricha, V. (2016). Treatment of vitamin D deficiency in cystic fibrosis. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, *164*, 36–39. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.09.013>

77. Christakos, S., & DeLuca, H. F. (2011). Minireview: Vitamin D: is there a role in extraskelatal health?. *Endocrinology*, *152*(8), 2930–2936. <https://doi.org/10.1210/en.2011-0243>

78. Chung, C., Silwal, P., Kim, I., Modlin, R. L., & Jo, E. K. (2020). Vitamin D-Cathelicidin Axis: at the Crossroads between Protective Immunity and Pathological Inflammation during Infection. *Immune network*, *20*(2), e12. <https://doi.org/10.4110/in.2020.20.e12>

79. Chung, M., Balk, E. M., Brendel, M., Ip, S., Lau, J., Lee, J., Lichtenstein, A., Patel, K., Raman, G., Tatsioni, A., Terasawa, T., & Trikalinos, T. A. (2009). Vitamin D and calcium: a systematic review of health outcomes. *Evidence report/technology assessment*, (183), 1–420.

80. Cogen, J., Emerson, J., Sanders, D. B., Ren, C., Schechter, M. S., Gibson, R. L., Morgan, W., Rosenfeld, M., & EPIC Study Group (2015). Risk factors for lung function decline in a large cohort of young cystic fibrosis patients. *Pediatric pulmonology*, *50*(8), 763–770. <https://doi.org/10.1002/ppul.23217>

81. Cohen, T. S., & Prince, A. (2012). Cystic fibrosis: a mucosal immunodeficiency syndrome. *Nature medicine*, *18*(4), 509–519. <https://doi.org/10.1038/nm.2715>

82. Coutinho, H. D., Falcão-Silva, V. S., & Gonçalves, G. F. (2008).

Pulmonary bacterial pathogens in cystic fibrosis patients and antibiotic therapy: a tool for the health workers. *International archives of medicine*, 1(1), 24. <https://doi.org/10.1186/1755-7682-1-24>

83. Cutolo, M., Pizzorni, C., & Sulli, A. (2011). Vitamin D endocrine system involvement in autoimmune rheumatic diseases. *Autoimmunity reviews*, 11(2), 84–87. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2011.08.003>

84. Cystic Fibrosis Foundation. Patient registry annual data report 2018 Взято з <https://www.cff.org/Research/Researcher-Resources/Patient-Registry/2018-Patient-Registry-Annual-Data-Report.pdf>

85. Cystic Fibrosis Foundation. 2008. Patient registry 2008. Annual data report to the center directors. Cystic Fibrosis Foundation, Bethesda, MD.

86. Cystic Fibrosis in Europe – Facts and Figures 2017. Zolin A, Orenti A, Naehrlich L, van Rens J et al, 2019. Взято з [https://www.ecfs.eu/sites/default/files/general-content-files/working-groups/ecfs-patient-registry/At-a-Glance\\_2017\\_ECFSPR.pdf](https://www.ecfs.eu/sites/default/files/general-content-files/working-groups/ecfs-patient-registry/At-a-Glance_2017_ECFSPR.pdf)

87. Cystic Fibrosis in Europe – Facts and Figures. The European Cystic Fibrosis Society, 2015. Взято з <https://www.ecfs.eu/projects/ecfs-patient-registry/annual-reports>

88. DiFranco, K. M., Mulligan, J. K., Sumal, A. S., & Diamond, G. (2017). Induction of CFTR gene expression by 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D<sub>3</sub>, 25OH vitamin D<sub>3</sub>, and vitamin D<sub>3</sub> in cultured human airway epithelial cells and in mouse airways. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 173, 323–332. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2017.01.013>

89. Douros, K., Loukou, I., Nicolaidou, P., Tzonou, A., & Doudounakis, S. (2008). Bone mass density and associated factors in cystic fibrosis patients of young age. *Journal of paediatrics and child health*, 44(12), 681–685. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1754.2008.01406.x>

90. Dudnyk V., Demianyshyna V. Assessment of severity of cystic fibrosis in children depending on the vitamin D status/ V. Dudnyk, V. Demianyshyna // Journal of Education, Health and Sport. – 2020. – № 10 (9). – С. 561-568.

91. Esther, C. R., Jr, Esserman, D. A., Gilligan, P., Kerr, A., & Noone, P. G. (2010). Chronic Mycobacterium abscessus infection and lung function decline in cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis*, 9(2), 117–123. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2009.12.001>
92. Farrell, P. M., White, T. B., Ren, C. L., Hempstead, S. E., Accurso, F., Derichs, N., ... & Sermet-Gaudelus, I. (2017). Diagnosis of cystic fibrosis: consensus guidelines from the Cystic Fibrosis Foundation. *The Journal of pediatrics*, 181, S4-S15.
93. Ferguson, J. H., & Chang, A. B. (2012). Vitamin D supplementation for cystic fibrosis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (4), 1-29.
94. Finklea, J. D., Grossmann, R. E., & Tangpricha, V. (2011). Vitamin D and chronic lung disease: a review of molecular mechanisms and clinical studies. *Advances in Nutrition*, 2(3), 244-253.
95. Fuchs, S. I., Gappa, M., Eder, J., Unsinn, K. M., Steinkamp, G., & Ellemunter, H. (2014). Tracking Lung Clearance Index and chest CT in mild cystic fibrosis lung disease over a period of three years. *Respiratory medicine*, 108(6), 865–874. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2014.03.011>
96. Ginde, A. A., Mansbach, J. M., & Camargo, C. A., Jr (2009). Association between serum 25-hydroxyvitamin D level and upper respiratory tract infection in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Archives of internal medicine*, 169(4), 384–390. <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2008.560>
97. Gombart, A. F. (2009). The vitamin D–antimicrobial peptide pathway and its role in protection against infection. *Future microbiology*, 4(9), 1151-1165.
98. Gombart, A. F., Borregaard, N., & Koeffler, H. P. (2005). Human cathelicidin antimicrobial peptide (CAMP) gene is a direct target of the vitamin D receptor and is strongly up-regulated in myeloid cells by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 19(9), 1067–1077. <https://doi.org/10.1096/fj.04-3284com>
99. Gray, R. D., Hardisty, G., Regan, K. H., Smith, M., Robb, C. T., Duffin, R., Mackellar, A., Felton, J. M., Paemka, L., McCullagh, B. N., Lucas, C. D., Dorward, D. A., McKone, E. F., Cooke, G., Donnelly, S. C., Singh, P. K., Stoltz, D. A., Haslett, C.,

McCray, P. B., Whyte, M., ... Davidson, D. J. (2018). Delayed neutrophil apoptosis enhances NET formation in cystic fibrosis. *Thorax*, *73*(2), 134–144. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2017-210134>

100. Greer, R. M., Buntain, H. M., Potter, J. M., Wainwright, C. E., Wong, J. C., O'Rourke, P. K., Francis, P. W., Bell, S. C., & Batch, J. A. (2003). Abnormalities of the PTH-vitamin D axis and bone turnover markers in children, adolescents and adults with cystic fibrosis: comparison with healthy controls. *Osteoporosis international*, *14*(5), 404–411. <https://doi.org/10.1007/s00198-003-1388-1>

101. Grey, V., Atkinson, S., Drury, D., Casey, L., Ferland, G., Gundberg, C., & Lands, L. C. (2008). Prevalence of low bone mass and deficiencies of vitamins D and K in pediatric patients with cystic fibrosis from 3 Canadian centers. *Pediatrics*, *122*(5), 1014–1020. <https://doi.org/10.1542/peds.2007-2336>

102. Gustafsson, P. M., De Jong, P. A., Tiddens, H. A., & Lindblad, A. (2008). Multiple-breath inert gas washout and spirometry versus structural lung disease in cystic fibrosis. *Thorax*, *63*(2), 129–134. <https://doi.org/10.1136/thx.2007.077784>

103. Hall, W. B., Sparks, A. A., & Aris, R. M. (2010). Vitamin d deficiency in cystic fibrosis. *International journal of endocrinology*, *2010*, 218691. <https://doi.org/10.1155/2010/218691>

104. Han, J. E., Alvarez, J. A., Jones, J. L., Tangpricha, V., Brown, M. A., Hao, L., Brown, L., Martin, G. S., & Ziegler, T. R. (2017). Impact of high-dose vitamin D<sub>3</sub> on plasma free 25-hydroxyvitamin D concentrations and antimicrobial peptides in critically ill mechanically ventilated adults. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, *38*, 102–108. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2017.02.002>

105. Hansdottir, S., Monick, M. M., Hinde, S. L., Lovan, N., Look, D. C., & Hunninghake, G. W. (2008). Respiratory epithelial cells convert inactive vitamin D to its active form: potential effects on host defense. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *181*(10), 7090–7099. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.10.7090>

106. Hansdottir, S., Monick, M. M., Lovan, N., Powers, L., Gerke, A., & Hunninghake, G. W. (2010). Vitamin D decreases respiratory syncytial virus induction of NF-kappaB-linked chemokines and cytokines in airway epithelium while maintaining



the antiviral state. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 184(2), 965–974. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0902840>

107. Hartl, D., Gaggar, A., Bruscia, E., Hector, A., Marcos, V., Jung, A., Greene, C., McElvaney, G., Mall, M., & Döring, G. (2012). Innate immunity in cystic fibrosis lung disease. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 11(5), 363–382. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2012.07.003>

108. Harun, S. N., Wainwright, C., Klein, K., & Hennig, S. (2016). A systematic review of studies examining the rate of lung function decline in patients with cystic fibrosis. *Paediatric respiratory reviews*, 20, 55–66. <https://doi.org/10.1016/j.prrv.2016.03.002>

109. Hasegawa, K., Mansbach, J. M., Ajami, N. J., Petrosino, J. F., Freishtat, R. J., Teach, S. J., Piedra, P. A., & Camargo, C. A., Jr (2017). Serum cathelicidin, nasopharyngeal microbiota, and disease severity among infants hospitalized with bronchiolitis. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 139(4), 1383–1386.e6. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.09.037>

110. Hegyi, P., Wilschanski, M., Muallem, S., Lukacs, G. L., Sahin-Tóth, M., Uc, A., Gray, M. A., Rakonczay, Z., Jr, & Maléth, J. (2016). CFTR: A New Horizon in the Pathomechanism and Treatment of Pancreatitis. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*, 170, 37–66. [https://doi.org/10.1007/112\\_2015\\_5002](https://doi.org/10.1007/112_2015_5002)

111. Hiemstra, P. S., Amatngalim, G. D., van der Does, A. M., & Taube, C. (2016). Antimicrobial Peptides and Innate Lung Defenses: Role in Infectious and Noninfectious Lung Diseases and Therapeutic Applications. *Chest*, 149(2), 545–551. <https://doi.org/10.1378/chest.15-1353>

112. Hiemstra, P. S., McCray, P. B., Jr, & Bals, R. (2015). The innate immune function of airway epithelial cells in inflammatory lung disease. *The European respiratory journal*, 45(4), 1150–1162. <https://doi.org/10.1183/09031936.00141514>

113. Hoffman, L. R., Kulasekara, H. D., Emerson, J., Houston, L. S., Burns, J. L., Ramsey, B. W., & Miller, S. I. (2009). *Pseudomonas aeruginosa* lasR mutants are associated with cystic fibrosis lung disease progression. *Journal of cystic fibrosis*, 8(1), 66–70. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2008.09.006>

114. Hughes, D. A., & Norton, R. (2009). Vitamin D and respiratory health. *Clinical & Experimental Immunology*, *158*(1), 20-25.
115. Jadhav, N. J., Gokhale, S., Seervi, M., Patil, P. S., & Alagarasu, K. (2018). Immunomodulatory effect of 1, 25 dihydroxy vitamin D<sub>3</sub> on the expression of RNA sensing pattern recognition receptor genes and cytokine response in dengue virus infected U937-DC-SIGN cells and THP-1 macrophages. *International immunopharmacology*, *62*, 237–243. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.07.019>
116. Jassil, N. K., Sharma, A., Bikle, D., & Wang, X. (2017). Vitamin D binding protein and 25-hydroxyvitamin D levels: emerging clinical applications. *Endocrine Practice*, *23*(5), 605-613.
117. Kerem, E., Reisman, J., Corey, M., Canny, G. J., & Levison, H. (1992). Prediction of mortality in patients with cystic fibrosis. *The New England journal of medicine*, *326*(18), 1187–1191. <https://doi.org/10.1056/NEJM199204303261804>
118. Kerem, E., Viviani, L., Zolin, A., MacNeill, S., Hatziagorou, E., Ellemunter, H., Drevinek, P., Gulmans, V., Krivec, U., Olesen, H., & ECFS Patient Registry Steering Group (2014). Factors associated with FEV1 decline in cystic fibrosis: analysis of the ECFS patient registry. *The European respiratory journal*, *43*(1), 125–133. <https://doi.org/10.1183/09031936.00166412>
119. Khan, M. A., Ali, Z. S., Swezey, N., Grasemann, H., & Palaniyar, N. (2019). Progression of Cystic Fibrosis Lung Disease from Childhood to Adulthood: Neutrophils, Neutrophil Extracellular Trap (NET) Formation, and NET Degradation. *Genes*, *10*(3), 183. <https://doi.org/10.3390/genes10030183>
120. Khare, D., Godbole, N. M., Pawar, S. D., Mohan, V., Pandey, G., Gupta, S., Kumar, D., Dhole, T. N., & Godbole, M. M. (2013). Calcitriol [1, 25[OH]<sub>2</sub> D<sub>3</sub>] pre- and post-treatment suppresses inflammatory response to influenza A (H1N1) infection in human lung A549 epithelial cells. *European journal of nutrition*, *52*(4), 1405–1415. <https://doi.org/10.1007/s00394-012-0449-7>
121. Klapdor, S., Richter, E., & Klapdor, R. (2012). Vitamin D status and per-oral vitamin D supplementation in patients suffering from chronic pancreatitis and pancreatic cancer disease. *Anticancer research*, *32*(5), 1991–1998.

122. Konstan, M. W., Wagener, J. S., Vandevanter, D. R., Pasta, D. J., Yegin, A., Rasouliyan, L., & Morgan, W. J. (2012). Risk factors for rate of decline in FEV1 in adults with cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, *11*(5), 405–411. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2012.03.009>
123. Kreindler, J. L., Steele, C., Nguyen, N., Chan, Y. R., Pilewski, J. M., Alcorn, J. F., Vyas, Y. M., Aujla, S. J., Finelli, P., Blanchard, M., Zeigler, S. F., Logar, A., Hartigan, E., Kurs-Lasky, M., Rockette, H., Ray, A., & Kolls, J. K. (2010). Vitamin D3 attenuates Th2 responses to *Aspergillus fumigatus* mounted by CD4+ T cells from cystic fibrosis patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis. *The Journal of clinical investigation*, *120*(9), 3242–3254. <https://doi.org/10.1172/JCI42388>
124. Lammertyn, E. J., Vandermeulen, E., Bellon, H., Everaerts, S., Verleden, S. E., Van Den Eynde, K., Bracke, K. R., Brusselle, G. G., Goeminne, P. C., Verbeken, E. K., Vanaudenaerde, B. M., & Dupont, L. J. (2017). End-stage cystic fibrosis lung disease is characterised by a diverse inflammatory pattern: an immunohistochemical analysis. *Respiratory research*, *18*(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s12931-016-0489-2>
125. Lark, R. K., Lester, G. E., Ontjes, D. A., Blackwood, A. D., Hollis, B. W., Hensler, M. M., & Aris, R. M. (2001). Diminished and erratic absorption of ergocalciferol in adult cystic fibrosis patients. *The American journal of clinical nutrition*, *73*(3), 602–606. <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.3.602>
126. Larkin, A., & Lassetter, J. (2014). Vitamin D deficiency and acute lower respiratory infections in children younger than 5 years: identification and treatment. *Journal of pediatric health care : official publication of National Association of Pediatric Nurse Associates & Practitioners*, *28*(6), 572–584. <https://doi.org/10.1016/j.pedhc.2014.08.013>
127. Lee C. (2020). Controversial Effects of Vitamin D and Related Genes on Viral Infections, Pathogenesis, and Treatment Outcomes. *Nutrients*, *12*(4), 962. <https://doi.org/10.3390/nu12040962>
128. Lipuma J. J. (2010). The changing microbial epidemiology in cystic fibrosis. *Clinical microbiology reviews*, *23*(2), 299–323. <https://doi.org/10.1128/CMR.00068-09>

129. Liu, P. T., Stenger, S., Li, H., Wenzel, L., Tan, B. H., Krutzik, S. R., Ochoa, M. T., Schauber, J., Wu, K., Meinken, C., Kamen, D. L., Wagner, M., Bals, R., Steinmeyer, A., Zügel, U., Gallo, R. L., Eisenberg, D., Hewison, M., Hollis, B. W., Adams, J. S., ... Modlin, R. L. (2006). Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science (New York, N.Y.)*, *311*(5768), 1770–1773. <https://doi.org/10.1126/science.1123933>
130. Loukou, I., Moustaki, M., Sardeli, O., Plyta, M., & Douros, K. (2019). Association of vitamin D status with lung function measurements in children and adolescents with cystic fibrosis. *Pediatric Pulmonology*, *55*(6), 1375-1380.
131. Majewski, K., Kozłowska, E., Żelechowska, P., & Brzezińska-Błaszczyk, E. (2018). Serum concentrations of antimicrobial peptide cathelicidin LL-37 in patients with bacterial lung infections. *Central-European journal of immunology*, *43*(4), 453–457. <https://doi.org/10.5114/ceji.2018.81355>
132. Majewski, K., Żelechowska, P., & Brzezińska-Błaszczyk, E. (2017). Circulating cathelicidin LL-37 in adult patients with pulmonary infectious diseases. *Clinical and investigative medicine. Medecine clinique et experimentale*, *40*(1), E34–E39. <https://doi.org/10.25011/cim.v40i1.28052>
133. Makukh, H., Krenková, P., Tyrkus, M., Bober, L., Hancárová, M., Hnateyko, O., & Macek, M., Jr (2010). A high frequency of the Cystic Fibrosis 2184insA mutation in Western Ukraine: genotype-phenotype correlations, relevance for newborn screening and genetic testing. *Journal of cystic fibrosis*, *9*(5), 371–375. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2010.06.001>
134. Mansbach, J. M., Hasegawa, K., Ajami, N. J., Petrosino, J. F., Piedra, P. A., Tierney, C. N., Espinola, J. A., & Camargo, C. A. (2017). Serum LL-37 Levels Associated With Severity of Bronchiolitis and Viral Etiology. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, *65*(6), 967–975. <https://doi.org/10.1093/cid/cix483>
135. Mansour, S. C., Pena, O. M., & Hancock, R. E. (2014). Host defense peptides: front-line immunomodulators. *Trends in immunology*, *35*(9), 443–450. <https://doi.org/10.1016/j.it.2014.07.004>

136. Marcos, V., Zhou-Suckow, Z., Önder Yildirim, A., Bohla, A., Hector, A., Vitkov, L., Krautgartner, W. D., Stoiber, W., Griese, M., Eickelberg, O., Mall, M. A., & Hartl, D. (2015). Free DNA in cystic fibrosis airway fluids correlates with airflow obstruction. *Mediators of inflammation*, 2015, 408935. <https://doi.org/10.1155/2015/408935>
137. Martin, C., Hamard, C., Kanaan, R., Boussaud, V., Grenet, D., Abély, M., Hubert, D., Munck, A., Lemonnier, L., & Burgel, P. R. (2016). Causes of death in French cystic fibrosis patients: The need for improvement in transplantation referral strategies!. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 15(2), 204–212. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2015.09.002>
138. Mayer-Hamblett, N., Polineni, D., & Heltshe, S. L. (2018). In statistics we trust: Towards the careful derivation and interpretation of meaningful survival estimates in cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 17(2), 133–134. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2018.01.005>
139. Mayer-Hamblett, N., Rosenfeld, M., Emerson, J., Goss, C. H., & Aitken, M. L. (2002). Developing cystic fibrosis lung transplant referral criteria using predictors of 2-year mortality. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 166(12 Pt 1), 1550–1555. <https://doi.org/10.1164/rccm.200202-087OC>
140. McCauley, L. A., Thomas, W., Laguna, T. A., Regelman, W. E., Moran, A., & Polgreen, L. E. (2014). Vitamin D deficiency is associated with pulmonary exacerbations in children with cystic fibrosis. *Annals of the American Thoracic Society*, 11(2), 198–204. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201208-068OC>
141. McNally JD, Amrein K. (2016). Vitamin D Deficiency in Pediatric Critical Care. *J Pediatr Intensive Care*, 5(4), 142-153. doi: 10.1055/s-0036-1583285.
142. McNally, J. D., Leis, K., Matheson, L. A., Karuananyake, C., Sankaran, K., & Rosenberg, A. M. (2009). Vitamin D deficiency in young children with severe acute lower respiratory infection. *Pediatric pulmonology*, 44(10), 981–988. <https://doi.org/10.1002/ppul.21089>
143. McNally, P., Coughlan, C., Bergsson, G., Doyle, M., Taggart, C., Adorini, L., Uskokovic, M. R., El-Nazir, B., Murphy, P., Grealley, P., Greene, C. M., &

McElvaney, N. G. (2011). Vitamin D receptor agonists inhibit pro-inflammatory cytokine production from the respiratory epithelium in cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, *10*(6), 428–434. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2011.06.013>

144. Milla, C. E., & Warwick, W. J. (1998). Risk of death in cystic fibrosis patients with severely compromised lung function. *Chest*, *113*(5), 1230–1234. <https://doi.org/10.1378/chest.113.5.1230>

145. Mirtajani SB, Farnia P, Hassanzad M, Ghanavi J, Farnia P, Velayati AA. (2017). Geographical distribution of cystic fibrosis; The past 70 years of data analyzis. *Biomed Biotechnol Res J*, *1*, 105-112.

146. Myhr K. M. (2009). Vitamin D treatment in multiple sclerosis. *Journal of the neurological sciences*, *286*(1-2), 104–108. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2009.05.002>

147. Neumann, A., Berends, E. T., Nerlich, A., Molhoek, E. M., Gallo, R. L., Meerloo, T., Nizet, V., Naim, H. Y., & von Köckritz-Blickwede, M. (2014). The antimicrobial peptide LL-37 facilitates the formation of neutrophil extracellular traps. *The Biochemical journal*, *464*(1), 3–11. <https://doi.org/10.1042/BJ20140778>

148. Nichols, D. P., & Chmiel, J. F. (2015). Inflammation and its genesis in cystic fibrosis. *Pediatric pulmonology*, *50* Suppl 40, S39–S56. <https://doi.org/10.1002/ppul.23242>

149. Norton, L., Page, S., Sheehan, M., Mazurak, V., Brunet-Wood, K., & Larsen, B. (2015). Prevalence of inadequate vitamin d status and associated factors in children with cystic fibrosis. *Nutrition in clinical practice : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition*, *30*(1), 111–116. <https://doi.org/10.1177/0884533614562839>

150. Olszowiec-Chlebna, M., Koniarek-Maniecka, A., Brzozowska, A., Błaż, A., Rychlik, B., & Stelmach, I. (2019). Vitamin D inhibits pro-inflammatory cytokines in the airways of cystic fibrosis patients infected by *Pseudomonas aeruginosa*- pilot study. *Italian journal of pediatrics*, *45*(1), 41. <https://doi.org/10.1186/s13052-019-0634-x>

151. Paganin, P., Fiscarelli, E. V., Tuccio, V., Chianciani, M., Bacci, G.,

Morelli, P., Dolce, D., Dalmastrì, C., De Alessandri, A., Lucidi, V., Taccetti, G., Mengoni, A., & Bevivino, A. (2015). Changes in cystic fibrosis airway microbial community associated with a severe decline in lung function. *PloS one*, *10*(4), e0124348. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124348>

152. Patient registry annual data report. // Cystic Fibrosis Foundation. – 2019. Взято з <https://www.cff.org/Research/Researcher-Resources/Patient-Registry/2019-Patient-Registry-Annual-Data-Report.pdf>

153. Pender M. P. (2012). CD8+ T-Cell Deficiency, Epstein-Barr Virus Infection, Vitamin D Deficiency, and Steps to Autoimmunity: A Unifying Hypothesis. *Autoimmune diseases*, *2012*, 189096. <https://doi.org/10.1155/2012/189096>

154. Persson, L. J., Aanerud, M., Hardie, J. A., Miodini Nilsen, R., Bakke, P. S., Eagan, T. M., & Hiemstra, P. S. (2017). Antimicrobial peptide levels are linked to airway inflammation, bacterial colonisation and exacerbations in chronic obstructive pulmonary disease. *The European respiratory journal*, *49*(3), 1601328. <https://doi.org/10.1183/13993003.01328-2016>

155. Pincikova T, Nilsson K, Moen IE, et al. (2011) Inverse relation between vitamin D and serum total immunoglobulin G in the Scandinavian Cystic Fibrosis Nutritional Study. *Eur J Clin Nutr* *65*, 102–109.

156. Pompilio, A., Crocetta, V., Scocchi, M., Pomponio, S., Di Vincenzo, V., Mardirossian, M., Gherardi, G., Fiscarelli, E., Dicuonzo, G., Gennaro, R., & Di Bonaventura, G. (2012). Potential novel therapeutic strategies in cystic fibrosis: antimicrobial and anti-biofilm activity of natural and designed  $\alpha$ -helical peptides against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Stenotrophomonas maltophilia*. *BMC microbiology*, *12*, 145. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-145>

157. Porro, C., Lepore, S., Trotta, T., Castellani, S., Ratclif, L., Battaglino, A., Di Gioia, S., Martínez, M. C., Conese, M., & Maffione, A. B. (2010). Isolation and characterization of microparticles in sputum from cystic fibrosis patients. *Respiratory research*, *11*(1), 94. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-11-94>

158. Quraishi, S. A., De Pascale, G., Needleman, J. S., Nakazawa, H., Kaneki, M., Bajwa, E. K., Camargo, C. A., Jr, & Bhan, I. (2015). Effect of Cholecalciferol

Supplementation on Vitamin D Status and Cathelicidin Levels in Sepsis: A Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Critical care medicine*, 43(9), 1928–1937. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000001148>

159. Ramsey, K. A., & Ranganathan, S. (2014). Interpretation of lung function in infants and young children with cystic fibrosis. *Respirology (Carlton, Vic.)*, 19(6), 792–799. <https://doi.org/10.1111/resp.12329>

160. Ramsey, K. A., Ranganathan, S., Park, J., Skoric, B., Adams, A. M., Simpson, S. J., Robins-Browne, R. M., Franklin, P. J., de Klerk, N. H., Sly, P. D., Stick, S. M., Hall, G. L., & AREST CF (2014). Early respiratory infection is associated with reduced spirometry in children with cystic fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 190(10), 1111–1116. <https://doi.org/10.1164/rccm.201407-1277OC>

161. Regamey, N., Jeffery, P. K., Alton, E. W., Bush, A., & Davies, J. C. (2011). Airway remodelling and its relationship to inflammation in cystic fibrosis. *Thorax*, 66(7), 624–629. <https://doi.org/10.1136/thx.2009.134106>

162. Riordan J. R. (2008). CFTR function and prospects for therapy. *Annual review of biochemistry*, 77, 701–726. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.75.103004.142532>

163. Roesch, E. A., Nichols, D. P., & Chmiel, J. F. (2018). Inflammation in cystic fibrosis: An update. *Pediatric pulmonology*, 53(S3), S30–S50. <https://doi.org/10.1002/ppul.24129>

164. Rosenbluth, D. B., Wilson, K., Ferkol, T., & Schuster, D. P. (2004). Lung function decline in cystic fibrosis patients and timing for lung transplantation referral. *Chest*, 126(2), 412–419. <https://doi.org/10.1378/chest.126.2.412>

165. Rosenfeld, M., Gibson, R. L., McNamara, S., Emerson, J., Burns, J. L., Castile, R., Hiatt, P., McCoy, K., Wilson, C. B., Inglis, A., Smith, A., Martin, T. R., & Ramsey, B. W. (2001). Early pulmonary infection, inflammation, and clinical outcomes in infants with cystic fibrosis. *Pediatric pulmonology*, 32(5), 356–366. <https://doi.org/10.1002/ppul.1144>

166. Sanjay H. Chotirmall, Catherine M. Greene, Peter Grealley, Gudmundur



Bergsson, Emer P. Reeves, Paul McNally (2009). LL-37 Complexation with Glycosaminoglycans in Cystic Fibrosis Lungs Inhibits Antimicrobial Activity, Which Can Be Restored by Hypertonic Saline. *J Immunol* 183:543-551doi: 10.4049/jimmunol.0803959

167. Sato, E., Imafuku, S., Ishii, K., Itoh, R., Chou, B., Soejima, T., Nakayama, J., & Hiromatsu, K. (2013). Vitamin D-dependent cathelicidin inhibits *Mycobacterium marinum* infection in human monocytic cells. *Journal of dermatological science*, 70(3), 166–172. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2013.01.011>

168. Schrupf, J. A., van Sterkenburg, M. A., Verhoosel, R. M., Zuyderduyn, S., & Hiemstra, P. S. (2012). Interleukin 13 exposure enhances vitamin D-mediated expression of the human cathelicidin antimicrobial peptide 18/LL-37 in bronchial epithelial cells. *Infection and immunity*, 80(12), 4485–4494. <https://doi.org/10.1128/IAI.06224-11>

169. Scotet, V., L'Hostis, C., & Férec, C. (2020). The Changing Epidemiology of Cystic Fibrosis: Incidence, Survival and Impact of the *CFTR* Gene Discovery. *Genes*, 11(6), 589. <https://doi.org/10.3390/genes11060589>

170. Selvaraj, P., Prabhu Anand, S., Harishankar, M., & Alagarasu, K. (2009). Plasma 1,25 dihydroxy vitamin D3 level and expression of vitamin d receptor and cathelicidin in pulmonary tuberculosis. *Journal of clinical immunology*, 29(4), 470–478. <https://doi.org/10.1007/s10875-009-9277-9>

171. Sexauer, W. P., Hadeh, A., Ohman-Strickland, P. A., Zanni, R. L., Varlotta, L., Holsclaw, D., ... & Hadjiliadis, D. (2015). Vitamin D deficiency is associated with pulmonary dysfunction in cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis*, 14(4), 497-506.

172. Sheppard, D. N., & Welsh, M. J. (1999). Structure and function of the CFTR chloride channel. *Physiological reviews*, 79(1 Suppl), S23–S45. <https://doi.org/10.1152/physrev.1999.79.1.S23>

173. Shweish, O., & Dronavalli, G. (2019). Indications for lung transplant referral and listing. *Journal of thoracic disease*, 11(Suppl 14), S1708–S1720. <https://doi.org/10.21037/jtd.2019.05.09>

174. Simoneau, T., Bazzaz, O., Sawicki, G. S., & Gordon, C. (2014). Vitamin D

status in children with cystic fibrosis. Associations with inflammation and bacterial colonization. *Annals of the American Thoracic Society*, *11*(2), 205–210. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201306-171BC>

175. Singh, V. K., & Schwarzenberg, S. J. (2017). Pancreatic insufficiency in Cystic Fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, *16 Suppl 2*, S70–S78. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2017.06.011>

176. Stocks, J., Thia, L. P., & Sonnappa, S. (2012). Evaluation and use of childhood lung function tests in cystic fibrosis. *Current opinion in pulmonary medicine*, *18*(6), 602–608. <https://doi.org/10.1097/MCP.0b013e328358dfbe>

177. Stollar, F., Adde, F. V., Cunha, M. T., Leone, C., & Rodrigues, J. C. (2011). Shwachman-Kulczycki score still useful to monitor cystic fibrosis severity. *Clinics (Sao Paulo, Brazil)*, *66*(6), 979–983. <https://doi.org/10.1590/s1807-59322011000600010>

178. Stukes, T. M., Shary, J. R., Wei, W., Ebeling, M. D., Dezsi, K. B., Shary, F. S., Forestieri, N. E., Hollis, B. W., & Wagner, C. L. (2016). Circulating Cathelicidin Concentrations in a Cohort of Healthy Children: Influence of Age, Body Composition, Gender and Vitamin D Status. *PloS one*, *11*(5), e0152711. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152711>

179. Svensson, D., Nebel, D., Voss, U., Ekblad, E., & Nilsson, B. O. (2016). Vitamin D-induced up-regulation of human keratinocyte cathelicidin anti-microbial peptide expression involves retinoid X receptor  $\alpha$ . *Cell and tissue research*, *366*(2), 353–362. <https://doi.org/10.1007/s00441-016-2449-z>

180. Szczesniak, R. D., McPhail, G. L., Duan, L. L., Macaluso, M., Amin, R. S., & Clancy, J. P. (2013). A semiparametric approach to estimate rapid lung function decline in cystic fibrosis. *Annals of epidemiology*, *23*(12), 771–777. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2013.08.009>

181. Szczesniak, R., Heltshe, S. L., Stanojevic, S., & Mayer-Hamblett, N. (2017). Use of FEV<sub>1</sub> in cystic fibrosis epidemiologic studies and clinical trials: A statistical perspective for the clinical researcher. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, *16*(3), 318–326.

<https://doi.org/10.1016/j.jcf.2017.01.002>

182. Takano, Y., Mitsuhashi, H., & Ueno, K. (2011).  $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> inhibits neutrophil recruitment in hamster model of acute lung injury. *Steroids*, 76(12), 1305–1309. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2011.06.009>

183. Tangpricha, V., Kelly, A., Stephenson, A., Maguiness, K., Enders, J., Robinson, K. A., ... & Cystic Fibrosis Foundation Vitamin D Evidence-Based Review Committee. (2012). An update on the screening, diagnosis, management, and treatment of vitamin D deficiency in individuals with cystic fibrosis: evidence-based recommendations from the Cystic Fibrosis Foundation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 97(4), 1082-1093.

184. Taylor-Robinson, D., Whitehead, M., Diderichsen, F., Olesen, H. V., Pressler, T., Smyth, R. L., & Diggle, P. (2012). Understanding the natural progression in %FEV1 decline in patients with cystic fibrosis: a longitudinal study. *Thorax*, 67(10), 860–866. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2011-200953>

185. Teymoori-Rad, M., Shokri, F., Salimi, V., & Marashi, S. M. (2019). The interplay between vitamin D and viral infections. *Reviews in medical virology*, 29(2), e2032. <https://doi.org/10.1002/rmv.2032>

186. Timmers, N., Stellato, R. K., van der Ent, C. K., Houwen, R., & Woestenenk, J. W. (2019). Vitamin D intake, serum 25-hydroxy vitamin D and pulmonary function in paediatric patients with cystic fibrosis: a longitudinal approach. *The British journal of nutrition*, 121(2), 195–201. <https://doi.org/10.1017/S0007114518003021>

187. UK Cystic Fibrosis Registry 2015 Annual Data Report. – 2016.

188. VanDevanter, D. R., Wagener, J. S., Pasta, D. J., Elkin, E., Jacobs, J. R., Morgan, W. J., & Konstan, M. W. (2010). Pulmonary outcome prediction (POP) tools for cystic fibrosis patients. *Pediatric pulmonology*, 45(12), 1156–1166. <https://doi.org/10.1002/ppul.21311>

189. Vankeerberghen, A., Cuppens, H., & Cassiman, J. J. (2002). The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: an intriguing protein with pleiotropic functions. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis*

*Society*, 1(1), 13–29. [https://doi.org/10.1016/s1569-1993\(01\)00003-0](https://doi.org/10.1016/s1569-1993(01)00003-0)

190. Vanstone, M. B., Egan, M. E., Zhang, J. H., & Carpenter, T. O. (2015). Association between serum 25-hydroxyvitamin D level and pulmonary exacerbations in cystic fibrosis. *Pediatric pulmonology*, 50(5), 441–446. <https://doi.org/10.1002/ppul.23161>

191. Vargas Buonfiglio, L. G., Cano, M., Pezzulo, A. A., Vanegas Calderon, O. G., Zabner, J., Gerke, A. K., & Comellas, A. P. (2017). Effect of vitamin D<sub>3</sub> on the antimicrobial activity of human airway surface liquid: preliminary results of a randomised placebo-controlled double-blind trial. *BMJ open respiratory research*, 4(1), e000211. <https://doi.org/10.1136/bmjresp-2017-000211>

192. Verway, M., Bouttier, M., Wang, T. T., Carrier, M., Calderon, M., An, B. S., Devemy, E., McIntosh, F., Divangahi, M., Behr, M. A., & White, J. H. (2013). Vitamin D induces interleukin-1 $\beta$  expression: paracrine macrophage epithelial signaling controls M. tuberculosis infection. *PLoS pathogens*, 9(6), e1003407. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003407>

193. Wagener, J. S., Elkin, E. P., Pasta, D. J., Schechter, M. S., Konstan, M. W., Morgan, W. J., & Investigators and Coordinators of the Epidemiologic Study of Cystic Fibrosis (2015). Pulmonary function outcomes for assessing cystic fibrosis care. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 14(3), 376–383. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2014.11.008>

194. Wainwright, C. E., Vidmar, S., Armstrong, D. S., Byrnes, C. A., Carlin, J. B., Cheney, J., Cooper, P. J., Grimwood, K., Moodie, M., Robertson, C. F., Tiddens, H. A., & ACFBAL Study Investigators (2011). Effect of bronchoalveolar lavage-directed therapy on *Pseudomonas aeruginosa* infection and structural lung injury in children with cystic fibrosis: a randomized trial. *JAMA*, 306(2), 163–171. <https://doi.org/10.1001/jama.2011.954>

195. Wang, T. T., Nestel, F. P., Bourdeau, V., Nagai, Y., Wang, Q., Liao, J., Tavera-Mendoza, L., Lin, R., Hanrahan, J. W., Mader, S., & White, J. H. (2004). Cutting edge: 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 173(5), 2909–2912.

<https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.5.2909>

196. Wang, X., Sheng, Z., Meng, L., Su, C., Trooskin, S., & Shapses, S. A. (2019). 25-Hydroxyvitamin D and Vitamin D Binding Protein Levels in Patients With Primary Hyperparathyroidism Before and After Parathyroidectomy. *Frontiers in endocrinology*, *10*, 171. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00171>

197. Wani, W. A., Nazir, M., Bhat, J. I., Malik, E. U., Ahmad, Q. I., Charoo, B. A., & Ali, S. W. (2019). Vitamin D status correlates with the markers of cystic fibrosis-related pulmonary disease. *Pediatrics and neonatology*, *60*(2), 210–215. <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2018.07.001>

198. Watkins, R. R., Lemonovich, T. L., & Salata, R. A. (2015). An update on the association of vitamin D deficiency with common infectious diseases. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, *93*(5), 363–368. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2014-0352>

199. Wilke, M., Buijs-Offerman, R. M., Aarbiou, J., Colledge, W. H., Sheppard, D. N., Touqui, L., Bot, A., Jorna, H., de Jonge, H. R., & Scholte, B. J. (2011). Mouse models of cystic fibrosis: phenotypic analysis and research applications. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, *10 Suppl 2*, S152–S171. [https://doi.org/10.1016/S1569-1993\(11\)60020-9](https://doi.org/10.1016/S1569-1993(11)60020-9)

200. Wine J. J. (1995). Cystic fibrosis: How do CFTR mutations cause cystic fibrosis?. *Current biology : CB*, *5*(12), 1357–1359. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(95\)00269-7](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(95)00269-7)

201. Wnorowska, U., Niemirowicz, K., Myint, M., Diamond, S. L., Wróblewska, M., Savage, P. B., Janmey, P. A., & Bucki, R. (2015). Bactericidal activities of cathelicidin LL-37 and select cationic lipids against the hypervirulent *Pseudomonas aeruginosa* strain LESB58. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *59*(7), 3808–3815. <https://doi.org/10.1128/AAC.00421-15>

202. Xiao, W., Hsu, Y. P., Ishizaka, A., Kirikae, T., & Moss, R. B. (2005). Sputum cathelicidin, urokinase plasminogen activation system components, and cytokines discriminate cystic fibrosis, COPD, and asthma inflammation. *Chest*, *128*(4), 2316–2326. <https://doi.org/10.1378/chest.128.4.2316>

203. Yamshchikov, A. V., Desai, N. S., Blumberg, H. M., Ziegler, T. R., & Tangpricha, V. (2009). Vitamin D for treatment and prevention of infectious diseases: a systematic review of randomized controlled trials. *Endocrine practice : official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists*, *15*(5), 438–449. <https://doi.org/10.4158/EP09101.ORR>
204. Yamshchikov, A. V., Kurbatova, E. V., Kumari, M., Blumberg, H. M., Ziegler, T. R., Ray, S. M., & Tangpricha, V. (2010). Vitamin D status and antimicrobial peptide cathelicidin (LL-37) concentrations in patients with active pulmonary tuberculosis. *The American journal of clinical nutrition*, *92*(3), 603–611. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2010.29411>
205. Yonker, L. M., Cigana, C., Hurley, B. P., & Bragonzi, A. (2015). Host-pathogen interplay in the respiratory environment of cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, *14*(4), 431–439. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2015.02.008>
206. Yuan, S., Hollinger, M., Lachowicz-Scroggins, M. E., Kerr, S. C., Dunican, E. M., Daniel, B. M., Ghosh, S., Erzurum, S. C., Willard, B., Hazen, S. L., Huang, X., Carrington, S. D., Oscarson, S., & Fahy, J. V. (2015). Oxidation increases mucin polymer cross-links to stiffen airway mucus gels. *Science translational medicine*, *7*(276), 276ra27. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3010525>
207. Yuk, J. M., Shin, D. M., Lee, H. M., Yang, C. S., Jin, H. S., Kim, K. K., Lee, Z. W., Lee, S. H., Kim, J. M., & Jo, E. K. (2009). Vitamin D3 induces autophagy in human monocytes/macrophages via cathelicidin. *Cell host & microbe*, *6*(3), 231–243. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2009.08.004>
208. Zhang, C., Zhao, L., Ding, Y., Sheng, Q., Bai, H., An, Z., Xia, T., Wang, J., & Dou, X. (2016). Enhanced LL-37 expression following vitamin D supplementation in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*, *36*(1), 68–75. <https://doi.org/10.1111/liv.12888>
209. Zhang, Y., Leung, D. Y., Richers, B. N., Liu, Y., Remigio, L. K., Riches, D. W., & Goleva, E. (2012). Vitamin D inhibits monocyte/macrophage

proinflammatory cytokine production by targeting MAPK phosphatase-1. *Journal of immunology* (Baltimore, Md.:1950), 188(5), 2127–2135. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1102412>

210. Zhou, Y., Song, K., Painter, R. G., Aiken, M., Reiser, J., Stanton, B. A., Nauseef, W. M., & Wang, G. (2013). Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator recruitment to phagosomes in neutrophils. *Journal of innate immunity*, 5(3), 219–230. <https://doi.org/10.1159/000346568>

211. Zhou, Z., Duerr, J., Johannesson, B., Schubert, S. C., Treis, D., Harm, M., Graeber, S. Y., Dalpke, A., Schultz, C., & Mall, M. A. (2011). The ENaC-overexpressing mouse as a model of cystic fibrosis lung disease. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 10 Suppl 2, S172–S182. [https://doi.org/10.1016/S1569-1993\(11\)60021-0](https://doi.org/10.1016/S1569-1993(11)60021-0)

212. Zhou, Z., Treis, D., Schubert, S. C., Harm, M., Schatterny, J., Hirtz, S., Duerr, J., Boucher, R. C., & Mall, M. A. (2008). Preventive but not late amiloride therapy reduces morbidity and mortality of lung disease in betaENaC-overexpressing mice. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 178(12), 1245–1256. <https://doi.org/10.1164/rccm.200803-442OC>

213. Zhou, Z., Wang, X., Liu, H. Y., Zou, X., Li, M., & Hwang, T. C. (2006). The two ATP binding sites of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) play distinct roles in gating kinetics and energetics. *The Journal of general physiology*, 128(4), 413–422. <https://doi.org/10.1085/jgp.200609622>

**ДОДАТОК А**  
**СПИСОК РОБІТ ЗДОБУВАЧА,**  
**ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ:**

1. Дудник В.М., **Демянишина В.В.** Оцінка вмісту холекальциферолу в сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Перинатологія та педіатрія. – 2018. – № 3 (75). – С. 82 – 87.
2. Дудник В.М., **Демянишина В.В.** Рівень антимікробного пептиду кателіцидину у дітей, хворих на муковісцидоз / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Medical sciences: development prospects in countries of Europe at the beginning of the third Millennium: Collective monograph. Riga: Izdevnieciba “Baltija Publishing”. – 2018. – С. 134 – 147.
3. Дудник В.М., **Демянишина В.В.** Аналіз зв'язку між рівнем с-кінцевого hCAP-18 антимікробного пептиду кателіцидину LL-37 та показниками тяжкості перебігу муковісцидозу у дітей / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Проблеми клінічної педіатрії. – 2020. – № 1-2 (47-48). – С. 66-72.
4. **Демянишина В. В.** Особливості клінічного перебігу муковісцидозу у дітей. / В.В. Демянишина // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2020. – № 2 (24). – С. 215-219.
5. Dudnyk V., **Demianyshyna V.** Assessment of severity of cystic fibrosis in children depending on the vitamin D status/ V. Dudnyk, V. Demianyshyna // Journal of Education, Health and Sport. – 2020. – № 10 (9). – С. 561-568.
6. **Демянишина В.В.** Муковісцидоз у дітей – клінічний випадок / В.В. Демянишина // Збірник тез наукових робіт учасників XIII міжнародної конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2016» (7-8 квітня 2016 р., м. Вінниця). – Вінниця: ВНМУ ім. М.І. Пирогова, 2016. – С. 195.
7. **Демянишина В.В.** Клінічні особливості перебігу муковісцидозу у дітей / В.В. Демянишина // Збірник тез наукових робіт учасників XV міжнародної конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2018» (18-20 квітня 2018р., м. Вінниця). – Вінниця: ВНМУ ім. М.І. Пирогова, 2018. – С. 263.



8. Дудник В.М., **Демянишина В.В.** Клініко-патогенетичне значення вітаміну Д<sub>3</sub> у дітей, хворих на муковісцидоз / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Збірник тез наукових робіт учасників міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених «Проблеми сьогодення в педіатрії» (29 березня 2018р., м. Харків). – Харків, 2018. – С. 14.

9. Дудник В.М., **Демянишина В.В.** Роль дефіциту 25-гідроксихолекальциферолу у клінічному перебігу муковісцидозу у дітей / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Збірник тез наукових робіт учасників міжнародної науково-практичної конференції «European biomedical young scientist conference NMAPRE» (19-21 квітня 2018р., м. Київ). – Київ, 2018. – С. 76-77.

10. Дудник В.М., **Демянишина В.В.** Оцінка вмісту антимікробного пептиду кателіцидину в сироватці крові у дітей, хворих на муковісцидоз / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Збірник тез наукових робіт учасників науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю присвяченої 95-літньому ювілею Харківської медичної академії післядипломної освіти «Медицина ХХІ століття» (23 листопада 2018р., м. Харків). – Харків, 2018. – С. 68-69.

11. Дудник В.М., Морозова І.В., **Демянишина В.В.** Спектр мікроорганізмів респіраторного тракту дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від важкості захворювання / В. М. Дудник, І. В. Морозова, В. В. Демянишина // Матеріали XIII конгресу педіатрів України «Актуальні проблеми педіатрії». – Київ: Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології. – 2018. – № 3 (12). – С. 32.

12. Дудник В.М., **Демянишина В.В.** Склад мікроорганізмів, отриманих із посіву мокротиння дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від рівня забезпечення вітаміном Д<sub>3</sub> / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Збірник тез наукових робіт учасників науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю Харківської медичної академії післядипломної освіти «Медицина ХХІ століття» (29 листопада 2019р., м. Харків). – Харків, 2019. – С. 32-33.

13. **Демянишина В.В.** Стан біоценозу респіраторного тракту у дітей,

хворих на муковісцидоз / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Збірник тез наукових робіт учасників XV міжнародної конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2019» (18-19 квітня 2019р., м. Вінниця) . – Вінниця: ВНМУ ім. М.І. Пирогова, 2019. – С. 433-434.

14. Дудник В.М., **Демянишина В.В.** Вміст кателіцидину LL-37 та 25-гідроксихолекальциферолу в сироватці крові залежно від складу мікрофлори дихальних шляхів у дітей, хворих на муковісцидоз / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Збірник тез наукових робіт учасників міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні досягнення медичних наукових досліджень в Україні та країнах ближнього зарубіжжя» (2–3 жовтня 2020 р., м. Київ) . – Київ, 2020. – С. 38-41.

15. Дудник В.М., **Демянишина В.В.** Оцінка вмісту антимікробного пептиду кателіцидину LL-37 та гідроксихолекальциферолу в сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз, залежно від функції зовнішнього дихання / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Збірник тез наукових робіт учасників міжнародної науково-практичної конференції “New trends and unresolved issues of preventive and clinical medicine” (25-26 вересня 2020 р., м. Люблін, Польща) . – Люблін, 2020. – С. 79-83.

## ДОДАТОК Б АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

Основні положення за результатами дисертаційної роботи були представлені та обговорені на науково-практичних конференціях:

1. Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена пам'яті акад. Б. Я. Резніка «Нові медичні технології в педіатрії та сімейній медицині» (Одеса, 2017 р.), форма участі – стендова доповідь.
2. XIV міжнародна наукова конференція студентів і молодих вчених «Перший крок в науку - 2017» (Вінниця, 2017 р.), форма участі – усна доповідь.
3. XV міжнародна наукова конференція студентів і молодих вчених «Перший крок в науку - 2018» (Вінниця, 2018 р.), форма участі – усна доповідь та публікація тез.
4. XIII Конгрес педіатрів України (9-11 жовтня 2018 року, Київ), форма участі – публікація тез.
5. XVI науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку - 2019» (Вінниця, 2019 р.), форма участі – усна доповідь та публікація тез.
6. Науково-практична конференція молодих вчених з міжнародною участю Харківської медичної академії післядипломної освіти «Медицина XXI століття» (29 листопада 2019р., м. Харків), форма участі – публікація тез.
7. Науково-практична мультидисциплінарна конференція «Досягнення сучасної медицини та фармакології на засадах медичної біохімії» (Вінниця, 2019 р.), форма участі – усна доповідь.
8. XVII науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку - 2020» (Вінниця, 2020 р.), форма участі – усна доповідь.
9. Міжнародна науково-практична конференція “New trends and unresolved issues of preventive and clinical medicine” (25-26 вересня 2020 р., м. Люблін, Польща), форма участі – публікація тез.

10. Міжнародна науково-практична конференція «Актуальні досягнення медичних наукових досліджень в Україні та країнах ближнього зарубіжжя» (2–3 жовтня 2020 р., м. Київ), форма участі – публікація тез.

11. XVII науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку – 2020» (Вінниця, 2020 р.), форма участі – усна доповідь.

**ДОДАТОК В**  
**Бальна оцінка стану хворих на муковісцидоз**

| Кількість балів | Загальна активність                                                                                                        | Клінічні показники                                                                                                                                                                 | Фізичний стан                                                                                                                                                              | Рентгенологічні зміни                                                                                           |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 25              | Нормальна активність і працездатність. Бігає. Регулярно відвідує школу.                                                    | Кашель відсутній, частота пульсу і дихання нормальні. Нормальна статура. В легенях фізикальних змін немає.                                                                         | Маса тіла та зріст вище 25-го перцентіля. Випорожнення оформлені та переважно нормальні. Тонус м'язів достатній.                                                           | Легеневі поля чисті.                                                                                            |
| 20              | Недостатня витривалість, втома надвечір. Добре відвідує школу.                                                             | Пульс і дихання в спокої нормальні; рідко кашель або відкашлювання. Кісткові деформації відсутні. В легенях змін немає.                                                            | Маса тіла та зріст між 15-м і 25-м перцентілем. Випорожнення 1 - 2 рази з невеликими змінами. М'язовий тонус достатній.                                                    | Незначне посилення бронхосудинного малюнка, початкова емфізема.                                                 |
| 15              | Схильність до перерв на відпочинок протягом дня; швидка втомлюваність після напруги. Обмежена здатність відвідувати школу. | Періодично кашель, переважно вранці. Частота дихання підвищена, легка емфізема. Хрипи в легенях непостійні. Початкова деформація грудної клітини та пальців - "барабанні палички". | Маса тіла та зріст вище 3-го перцентіля. Випорожнення 3 - 4 рази, мало оформлені. Злегка збільшений живіт. Поганий м'язовий тонус і розвиток мускулатури.                  | Незначна емфізема з ділянками ателектазів. Помірне посилення бронхосудинного малюнка.                           |
| 10              | Значна слабкість, швидка втомлюваність. Приступи кашлю. Довгі перерви на відпочинок. Учиться тільки вдома.                 | Частий кашель з харкотинням. Значні тахікардія і задишка. Помірна емфізема. Деформація грудної клітини. Вологі тріскучі хрипи у великій кількості. "Барабанні палички".            | Маса тіла та зріст нижче 3-го перцентіля. Випорожнення об'ємні, жирні, неформлені з поганим запахом. Обвислі, кволі м'язи. Помірне збільшення об'єму живота.               | Помірна емфізема, великі ділянки ателектазів, запальних вогнищ. Незначні бронхоектази.                          |
| 5               | Ортопноє. Ліжковий або напівліжковий режим.                                                                                | Тяжкий, приступоподібний кашель. Тахіпноє, тахікардія, значні зміни в легенях; ознаки недостатності правого серця. "Барабанні палички".                                            | Маса тіла різко знижена до дистрофії, відставання у зрості. Сильне збільшення об'єму живота. Випорожнення об'ємні, часті, жирні з поганим запахом. Випадіння прямої кишки. | Значні зміни в легенях з ознаками бронхіальної обструкції та запалення. Ателектази частки легені, бронхоектази. |

Відмінний стан - 86-100 балів, хороший - 71 - 85, задовільний - 56 - 70, середньої тяжкості - 41 - 55 та тяжкий - 40 балів і менше.

## ДОДАТОК Г

### Логіт-модель прогнозування тяжкості перебігу муковісцидозу у дітей

$$p = \exp(8,834 + LL-37(\text{нг/мл}) \times 0,135 + 25(\text{ОН})Д(\text{нг/мл}) \times -0,224 + ІМТ \times -0,432) / (1 + \exp(8,834 + LL-37(\text{нг/мл}) \times 0,135 + 25(\text{ОН})Д(\text{нг/мл}) \times -0,224 + ІМТ \times -0,432)),$$

де **LL-37** – отриманий показник кателіцидину (нг/мл) у пацієнта,

**25(ОН)Д** – отриманий показник 25-гідроксихолекальциферолу (нг/мл) у пацієнта,

**ІМТ** – індекс маси тіла.

Отримане значення «р» можна інтерпретувати наступним чином:

«р»  $\geq$  0,5 - пацієнта слід віднести до групи важкого перебігу;

«р»  $<$  0,5 - пацієнта потрібно віднести до групи середньотяжкого-легкого перебігу.



## ДОДАТОК Д2



2019 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: «Діагностична роль визначення вмісту холекальциферолу в сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз».
2. Ким запропоновано, адреса виконавця: Вінницький національний медичний університет, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56
3. Джерело інформації: «Оцінка вмісту холекальциферолу в сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз» В.М. Дудник, В.В. Демянишина, стаття, опубліковано – журнал «Перинаталогія і педіатрія», №3 (75)/2018.
4. Де і коли впроваджено: 2019-2020рр.  
*ДУ „Університет ПЛС НАМН України” в м. Хмельницькому*
5. Результати впровадження даних обстеження дітей:  
 позитивні /кількість спостережень/ 6  
 невизначені /кількість спостережень/ \_\_\_\_\_  
 негативні /кількість спостережень/ немає
6. Ефективність впровадження /підвищення ефективності ранньої діагностики, зниження частоти захворюваності, економічний ефект, ін.: даний спосіб підвищує якість оцінки стану дітей, хворих на муковісцидоз
7. Зауваження, пропозиції Немає

Дата „ 30 ” / IX ” 2019Підпис [Signature]  
/відповідальні за впровадження/

Примітка: 1. Пп. 4-7 заповнюються організацією, яка впровадила розробку.  
 2. Акт впровадження направляється організації – розробнику, найменування якої приведено в п.2.



## ДОДАТОК ДЗ



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: «Діагностична роль визначення вмісту холекальциферолу в сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз».
2. Ким запропоновано, адреса виконавця: Вінницький національний медичний університет, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56
3. Джерело інформації: «Оцінка вмісту холекальциферолу в сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз» В.М. Дудник, В.В. Демянишина, стаття, опубліковано – журнал «Перинаталогія и педиатрія», №3 (75)/2018.
4. Де і коли впроваджено: 2019-2020рр.

ЖНП «Тернопільська міська дитяча комунальна «Фарма»

5. Результати впровадження даних обстеження дітей:

позитивні /кількість спостережень/ 17

невизначені /кількість спостережень/ —

негативні /кількість спостережень/ —


6. Ефективність впровадження /підвищення ефективності ранньої діагностики, зниження частоти захворюваності, економічний ефект,ін.: даний спосіб підвищує якість оцінки стану дітей, хворих на муковісцидоз
7. Зауваження, пропозиції —

Дата „30” 09.19

Підпис [Signature]  
/відповідальні за впровадження/

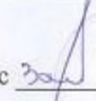
Примітка: 1. Пп. 4-7 заповнюються організацією, яка впровадила розробку.  
2. Акт впровадження направляється організації – розробнику, найменування якої приведено в п.2.

## ДОДАТОК Д4

„ЗАТВЕРДЖУЮ”  
  
 „24” 09 2019 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

- Назва пропозиції для впровадження: «**Діагностична роль визначення вмісту холекальциферолу в сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз**».
- Ким запропоновано, адреса виконавця: Вінницький національний медичний університет, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56
- Джерело інформації: «Оцінка вмісту холекальциферолу в сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз» В.М. Дудник, В.В. Демянишина, стаття, опубліковано – журнал «Перинаталогия и педиатрия», №3 (75)/2018.
- Де і коли впроваджено: 2019-2020рр.  
 «*ЗБ Дніпропетровська обласна дитяча клінічна лікарня ДОР*»
- Результати впровадження даних обстеження дітей:  
 позитивні /кількість спостережень/ 15  
 невизначені /кількість спостережень/ —  
 негативні /кількість спостережень/ —
- Ефективність впровадження /підвищення ефективності ранньої діагностики, зниження частоти захворюваності, економічний ефект, ін.: даний спосіб підвищує якість оцінки стану дітей, хворих на муковісцидоз
- Зауваження, пропозиції —

Дата „24” 09 2019 Підпис   
 /відповідальні за впровадження/

*Примітка:* 1. Пп. 4-7 заповнюються організацією, яка впровадила розробку.  
 2. Акт впровадження направляється організації – розробнику, найменування якої приведено в п.2.

## ДОДАТОК Д5



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: «**Діагностична роль визначення вмісту холекальциферолу в сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз**».
2. Ким запропоновано, адреса виконавця: Вінницький національний медичний університет, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56
3. Джерело інформації: «Оцінка вмісту холекальциферолу в сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз» В.М. Дудник, В.В. Демянишина, стаття, опубліковано – журнал «Перинаталогія и педиатрія», №3 (75)/2018.
4. Де і коли впроваджено: 2019-2020рр.  
Київська міська дитяча клінічна лікарня №2
5. Результати впровадження даних обстеження дітей:
 

|                                      |   |
|--------------------------------------|---|
| позитивні /кількість спостережень/   | 6 |
| невизначені /кількість спостережень/ | — |
| негативні /кількість спостережень/   | — |
6. Ефективність впровадження /підвищення ефективності ранньої діагностики, зниження частоти захворюваності, економічний ефект, ін.: даний спосіб підвищує якість оцінки стану дітей, хворих на муковісцидоз
7. Зауваження, пропозиції —

Дата „24” „09” 2019Підпис Олександр Горшков  
/відповідальні за впровадження/

Примітка: 1. Пп. 4-7 заповнюються організацією, яка впровадила розробку.  
2. Акт впровадження направляється організації – розробнику, найменування якої приведено в п.2.

## ДОДАТОК Д6



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: «Діагностична роль визначення вмісту холекальциферолу в сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз».
2. Ким запропоновано, адреса виконавця: Вінницький національний медичний університет, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.
3. Джерело інформації: «Оцінка вмісту холекальциферолу в сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз» В.М. Дудник, В.В. Демянишина, стаття, опубліковано – журнал «Перинатология и педиатрия», №3 (75)/2018.
4. Де і коли впроваджено: 2019р.
5. Результати впровадження даних обстеження дітей: Д.В. Козар  
 позитивні/кількість спостережень/ 46  
 невизначені/кількість спостережень/ 1  
 негативні/кількість спостережень/ —
6. Ефективність впровадження/підвищення ефективності ранньої діагностики, зниження частоти захворюваності, економічний ефект та ін.: даний спосіб підвищує якість оцінки стану дітей, хворих на муковісцидоз.
7. Зауваження, пропозиції кресло

Дата «24» 09. 2019р.Підпис Д.В. Козар  
(відповідальні за впровадження)