

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 захворювання (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 кращі 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 (порівняння 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 2,8 раза ($p = 0,037$). 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-гідроксихолекальциферол, кателіцидин, тяжкість перебігу.

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 Д₃ 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-гідроксиколекальциферолу 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 NМАRE» (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 муковісцидоз / В. М. Дудник, В. В. Демянишина // Збірник тез наукових робіт учасників XV міжнародної конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2018» (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 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. *(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 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. *(Особистий внесок – здобувач провів збір та обробку матеріалів дослідження, аналіз результатів, написання тез)*