

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

КУЦАК ОЛЕСЯ ВОЛОДИМИРІВНА

УДК: 616.248-053]:577.214+575.113.1

**ПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ КОНТРОЛЮ БРОНХІАЛЬНОЇ
АСТМИ У ДІТЕЙ ШКІЛЬНОГО ВІКУ ЗАЛЕЖНО ВІД ВМІСТУ
ЯДЕРНО-ТРАНСКРИПЦІЙНОГО ФАКТОРУ NF-κB ТА
ІНТЕРЛЕЙКІНІВ–4,6 В СИРОВАТЦІ КРОВІ**

14.01.10 – педіатрія

**АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук**

Вінниця – 2018

Дисертацією є рукопис.

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

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

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
Охотнікова Олена Миколаївна,
Національна медична академія післядипломної освіти
імені П. Л. Шупика,
завідувач кафедри педіатрії №1;

доктор медичних наук, професор
Хайтович Микола Валентинович,
Національний медичний університет
імені О.О. Богомольця,
завідувач кафедри клінічної фармакології
та клінічної фармації.

Захист дисертації відбудеться «27» грудня 2018 р. о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 05.600.04 при Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова МОЗ України (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

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

Автореферат розісланий “ 27 ” листопада 2018р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 05.600.04,
доктор медичних наук, професор

Н.І. Токарчук

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Бронхіальна астма (БА) залишається актуальною проблемою педіатрії, що в першу чергу пов'язано із прогресивним зростанням її поширеності в багатьох країнах світу (Хайтович М.В., 2017; Luedde T., Trautwein C., 2016). Розповсюдженість БА серед дітей України в межах 0,60% - 0,56%, може свідчити про проблему недостатньої діагностики захворювання (Боярчук О.Р., 2016; Охотнікова О.М., 2017). Епідеміологічні дослідження останніх років свідчать, що поширеність БА в дитячій популяції становить від 5 до 10% (Антипкін Ю.Г., 2016; Rosenwasser N. et al., 2015; Luedde T., Trautwein C., 2016;), а рівень смертності дітей від БА складає 3,0:1 000 000 (Центр з контролю і профілактики захворювань Global initiative for chronic obstructive lung disease, 2017; CDC GOLD, 2017).

Найвищі показники захворюваності на БА серед дітей віком 6-14 та 15-17 років, зареєстровані у Вінницькій, Дніпропетровській, Харківській, Запорізькій областях та в м. Києві, що перевищують середньостатистичні дані по Україні в 3,5 рази (Антипкін Ю.Г., Чумаченко Н.Г., 2017).

Як відомо, персоніфіковані підходи сучасної педіатрії дозволяють встановити генетичні, фізіологічні, біохімічні особливості кожного пацієнта, що впливає на тяжкість перебігу захворювання, рівень контролю та відповіді на базисне лікування (Хайтович М.В., 2017; Vel E.H., 2015). Такі обставини характеризують БА, як глобальну медико-соціальну проблему та спонукають до необхідності її подальшого всебічного вивчення (Brusselle G., Bracke K., 2014).

Не дивлячись на чисельні дослідження поліморфізму генів цитокінів, залишається не до кінця з'ясованою їх роль у формуванні клінічних проявів алергічної БА у дітей (Горбась В.А., 2015; Ripabelli G., 2014; Tamburro M., Sammarco M.L., 2015). Слід відмітити взаємний вплив поліморфних варіантів генів, факторів зовнішнього середовища, стану імунної системи на розвиток БА (Беш О.М., Радченко О.М., 2014; Bharadwaj A., 2015; Sandford M. et al., 2016).

Однією із сигнальних систем, яка відіграє вирішальне значення в формуванні патогенетичних механізмів неспецифічних захворювань легень, є ядерно-транскрипційний фактор (NF-κB), який регулює експресію цілої низки білків, характерних для розвитку та перебігу алергічної БА, інтерлейкінів (IL-4, IL-15, IL-13, рецепторних молекул IL4RA), IgE, а також проліферацію ключових клітин БА – еозинофілів, В-лімфоцитів, Т-хелперів (Майданик В.Г., Сміян О.І., 2017). Ядерно – транскрипційний фактор NF-κB також відіграє важливу роль у клітинній проліферації, апоптозі, запальних та аутоімунних реакціях за рахунок регулювання активації генів, відповідальних за індуктивний гомеостаз (Головач І.Ю., 2017; Enomoto T., Kawai M., Sasaki S., 2017).

Саме з цієї причини, визначення ролі ядерно - транскрипційного фактору NF-κB, інтерлейкінів-4,6, поліморфізму генів інтерлейкінів та їх рецепторів, що відповідають за схильність до розвитку БА (особливо rs1805010 Ile50Val IL4RA), є вельми важливим для розуміння клініко-генетичних основ захворювання та підвищення ефективності його діагностики. Незважаючи, на досягнуті успіхи в розумінні природи БА у дітей, питання досягнення контролю над захворюваннями залишається остаточно нез'ясованим.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами темами. Дисертаційна робота являється фрагментом науково-дослідної роботи кафедри педіатрії №2 Вінницького національного медичного університету імені М.І.Пирогова «Покращення якості медичної допомоги дітям з мультифакторними хворобами на основі поглибленого вивчення клініко-діагностичних особливостей їх перебігу» (державна реєстрація № 0114U001493).

Мета дослідження: підвищення ефективності діагностики бронхіальної астми у дітей шкільного віку на підставі визначення сироваткових рівнів ядерно-транскрипційного фактору NF-κB та інтерлейкінів-4,6.

Завдання дослідження:

1. Визначити клініко-функціональні особливості перебігу бронхіальної астми у дітей залежно від віку, статі, тяжкості перебігу та рівня контролю.
2. Проаналізувати характер клініко-лабораторних показників активності бронхіальної астми у дітей за даними сироваткового вмісту ядерно-транскрипційного фактору NF-κB та інтерлейкінів (IL-4, IL-6), залежно від ступеня тяжкості та рівня контролю захворювання.
3. Дослідити розподіл генотипів та алелей поліморфізму rs1805010 Cc50Val гена IL4RA у дітей, хворих на бронхіальну астму та їх асоціацію з тяжкістю та рівнем контролю хвороби.
4. Оцінити особливості змін показників функції зовнішнього дихання у дітей шкільного віку, хворих на бронхіальну астму за поліморфізмом rs1805010 Cc50Val гена IL4RA.
5. Проаналізувати рівень ядерно-транскрипційного фактору NF-κB, інтерлейкінів-4 та 6, у дітей, хворих на бронхіальну астму, з позицій поліморфізму rs1805010 Cc50Val гена IL4RA, тяжкості та рівня контролю захворювання.

Об'єкт дослідження – бронхіальна астма у дітей шкільного віку.

Предмет дослідження – фактори ризику розвитку бронхіальної астми, клініко-лабораторні показники, тяжкість та рівень контролю, поліморфізм rs1805010 Cc50Val гена IL4RA, показники функції зовнішнього дихання.

Методи дослідження: загальноклінічні, лабораторні, імуноферментні, інструментальні, молекулярно-генетичні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше отримані нові дані щодо підвищення ефективності діагностики БА у дітей на основі визначення сироваткових рівнів ядерно-транскрипційного фактору NF-κB та інтерлейкінів-4,6.

Уточнені зовнішні фактори ризику розвитку захворювання у дітей, у яких полівалентна сенсibilізація характеризується переважанням побутових алергенів при персистуючій БА переважно у хлопчиків вікової групи 6–7 років, а при інтермітуючому перебігу – у дівчаток 8–12 років.

Визначення основних клінічних показників периферичної крові розширило уявлення про те, що посилення гемопоезу у дітей, хворих на БА, слід розцінювати, як компенсаторний механізм на тривалу гіпоксію тканини в результаті хронічної дихальної недостатності, як при інтермітуючому, так і особливо при персистуючому перебігу захворювання.

Набуло подальшого розвитку положення про клініко-лабораторні показники

активності БА у дітей за вмістом в сироватці крові ядерно-транскрипційного фактору NF-κB та інтерлейкінів (ІЛ-4, ІЛ-6), а також показана значимість визначення сироваткового вмісту інтерлейкіну – 4 та інтерлейкіну – 6, як маркерів активності запального процесу, тяжкості перебігу та рівня контролю хвороби.

З нових наукових позицій розкрита провідна роль ядерно-транскрипційного фактору NF-κB у формуванні БА, показані зміни рівнів його експресії при різних варіантах хвороби. Вперше на підставі отриманих даних генотипування за поліморфізмом rs1805010 Ile50Val гена IL4RA у дітей, хворих на БА, доведено, що носійство генотипу A/A та алелі A позитивно асоціюється з розвитком захворювання, тоді як носійство генотипу G/G та алелі G поліморфного маркера Ile50Val гена IL4RA – негативно асоціюється з розвитком БА. Визначено, що розподіл частоти генотипів A/A, A/G, G/G поліморфізму Ile50Val гена IL4RA серед хворих на БА та практично здорових дітей, встановив переважання гетерозиготного генотипу A/G, незалежно від рівня контролю БА.

Доведено, що у разі носійства мутантного рецесивного гомозиготного генотипу G/G поліморфізму rs1805010 Ile50Val гена IL4RA визначаються достовірно значимі зміни показників функції зовнішнього дихання (ФЗД), а саме ЖЕЛ, ФЖЕЛ, ОФВ₁, індекс Тіффно, ПОШВ у хворих при інтермітуючому перебігу, які посилюються при персистуючому перебігу БА.

Практичне значення одержаних результатів. Практичне значення роботи полягає в доцільності визначення сироваткового рівня ядерно-транскрипційного фактору NF-κB та інтерлейкінів-4,6 з метою підвищення ефективності діагностики та контролю БА у дітей шкільного віку. Визначення ключових медіаторів запалення, як основних складових хронічного запального процесу низької інтенсивності, дасть підтвердження клініко–параклінічним особливостям перебігу захворювання, рівня контролю та індивідуальній відповіді на базисну фармакотерапію.

Уточнені зовнішні та внутрішні фактори ризику розвитку БА у дітей серед етіологічних чинників, які викликають загострення інтермітуючої БА виявили достовірне переважання побутових алергенів у дівчаток 8-12 та 13–16 років. Побутові алергени також домінують серед інших неінфекційних чинників, які викликають загострення персистуючої БА у групі дітей 6–7, 8-12 та 13-16 років, більше у хлопчиків.

Застосування в практичній роботі молекулярно-генетичного дослідження, а саме генотипування за полімеразною ланцюговою реакцією (ПЛР) поліморфізму rs1805010 Ile50Val гена IL4RA, як одного з основних генетичних маркерів алергічної БА у дітей, спрогнозує перебіг, тяжкість та рівень контролю хвороби.

Доцільність генотипування поліморфного маркера Ile50Val гена IL4RA у дітей, хворих на БА, дає можливість підтвердити підвищений ризик розвитку захворювання у носіїв генотипу A/A та алелі A (OR>1), а у випадку наявності мутантного генотипу G/G та алелі G поліморфізму rs1805010 Ile50Val гена IL4RA – знижений ризик розвитку даного захворювання (OR <1).

Впровадження результатів дослідження. Результати дослідження впроваджені у практику роботи Вінницької обласної дитячої клінічної лікарні, Козятинської центральної районної лікарні Козятинської районної ради, Центру

первинної медико – санітарної допомоги Іллінецької районної ради Вінницької області, Дніпропетровської міської дитячої клінічної лікарні №1 Дніпропетровської обласної ради. Наукові розробки та результати дисертації використовуються в навчальному процесі кафедри педіатрії №1, пропедевтики дитячих захворювань та догляду за хворими дітьми Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова.

Особистий внесок здобувача. Автор самостійно провів патентно-інформаційний пошук, аналіз вітчизняної та зарубіжної наукової літератури за темою дисертації, визначив напрямок наукового дослідження, сформулював мету і завдання роботи, розробив методологію дослідження, обрав комплекс біохімічних, молекулярно-генетичних та інструментальних методів дослідження, здійснив набір тематичних хворих та їх об'єктивне обстеження. Безпосередньо автором виконано клінічні спостереження та лікування хворих на БА, проаналізовано результати клініко-лабораторних, молекулярно-генетичних та інструментальних досліджень, статистичних звітів і медичної документації. Дисертантом особисто проведено обробку отриманих результатів, їх аналіз та узагальнення, сформульовано всі положення, висновки та практичні рекомендації, підготовлено до друку наукові праці і доповіді. Власноруч написано всі розділи дисертації.

Апробація результатів дисертації. Результати дисертаційної роботи були представлені на XVIII Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання педіатрії», присвяченої пам'яті В.М. Сідельникова (Львів, 2016), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні аспекти збереження та відновлення здоров'я жінки» (Вінниця, 2017), Міжнародній науковій конференції студентів та молодих вчених ВНМУ імені М.І.Пирогова «Перший крок в науку» (Вінниця, 2018).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових робіт, з яких 7 статей, в тому числі 5 - у фахових журналах рекомендованих МОН України, 2 статті – у зарубіжних фахових виданнях, 8 наукових праць надруковано у матеріалах науково-практичних конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 201 сторінці машинописного тексту та включає анотацію, вступ, огляд літератури, опис матеріалу та методів дослідження, 3 розділи власних досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, додатків. Робота ілюстрована 66 таблицями, 2 рисунками. Список використаної літератури містить 242 джерела, з яких 172 – авторів України та країн СНД і 70 – закордонних авторів.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал та методи дослідження. В основу роботи покладений клініко-лабораторний та статистичний аналіз результатів лікування та спостереження за 316 дітьми, хворими на БА (ретроспективна група - 241 пацієнт та проспективна - 75 дітей). В якості контрольної групи обстежено 25 практично здорових дітей.

Наукове дослідження виконано на кафедрі педіатрії №2 (зав. кафедри, д.мед.н., професор Дудник В.М.) Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова (ВНМУ) на базі пульмонологічного відділення Вінницької обласної

дитячої клінічної лікарні у період з 2015 по 2017р.

Перший етап полягав у досягненні максимальної однорідності груп пацієнтів, хворих на алергічну БА, та виключення з дослідження дітей із супутньою патологією в стадії загострення або у поєднанні з обструкцією дихальних шляхів. Критеріями включення були лише діти, хворі на алергічну БА, віком від 6 до 18 років, в періоді ремісії і загострення, які отримували покровоку базову терапію.

Другий етап дослідження додатково передбачав формування груп дітей серед хворих проспективної групи і практично здорових дітей з метою визначення сироваткового вмісту ядерно-транскрипційного фактору NF- κ B, інтерлейкіну-4 та інтерлейкіну-6, а також молекулярно-генетичного дослідження поліморфізму гена IL4RA (Ile50Val).

Біохімічні та молекулярно-генетичні дослідження виконані в науково-дослідній клініко-діагностичній лабораторії ВНМУ імені М.І. Пирогова (зав. кафедри біологічної та загальної хімії, д. біол. н., професор Заїчко Н.В.) та на кафедрі молекулярної генетики та біотехнології Чернівецького національного університету імені Ю. Федьковича (зав. кафедри д. біол. н., професор Волков Р.А. Договір про науково-практичне співробітництво між Вінницьким національним медичним університетом імені М.І. Пирогова і Чернівецьким національним університетом імені Ю. Федьковича від 10.10.2016 року).

Діти, які включені у дослідження, оглядалися педіатром, ЛОР-спеціалістом, неврологом, ендокринологом, торакальним хірургом, кардіологом та фахівцями кабінету функціональної діагностики. До групи пацієнтів, хворих на БА, і практично здорових дітей увійшли жителі Подільського регіону України (лікарняна когорта дітей). На хворих з БА та практично здорових дітей заповнювали спеціально розроблену карту, в якій реєстрували анамнестичні, клінічні дані та результати додаткових інструментальних і лабораторних обстежень, а також інформацію про молекулярно-генетичні дослідження.

Загальну геномну ДНК виділяли з крові з використанням комплекту реагентів для виділення ДНК з клінічного матеріалу «ДНК - сорб В». Генотипування IL4R за мутацією Ile50Val проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Ампліфікацію відповідного фрагменту ДНК здійснювали з використанням специфічної пари праймерів RV1607 і RV1608, які розраховували з використанням комп'ютерної програми «Primer». Для розрахунків було використано послідовність ДНК гена IL4R (Acc. №NG_012086.1), яка наявна у базі даних Genbank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/).

Вміст ядерно-транскрипційного фактору - нуклеарного фактору каппа В (NF- κ B) в сироватці крові визначали імуноферментним методом з використанням набору «Human NF- κ B ELISA Kit» (Elabscience, China) відповідно до інструкції фірми-виробника. Визначення вмісту інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) та інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) визначали імуноферментним методом (ELISA) за допомогою набору «ИНТЕРЛЕЙКИН-4-6-ИФА-БЕСТ» (А – 8766; ЗАТ «Вектор – Бест», РФ) відповідно до інструкції фірми-виробника.

Статистична обробка отриманих результатів проводилася за допомогою методів варіаційної статистики із використанням стандартного пакету прикладних програм багатомірного варіаційно-статистичного аналізу «STATISTICA 6,0» (належить ЦНІТ

Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, ліцензійний № АХХR910A374605FA) для Windows'XP (ліцензійний №RKKFD-W8DDF-6PMC4-KX3WW-CR6TI).

Відповідність розподілу частот генотипів у досліджуваних популяціях перевіряли на рівновагу Харді – Вайнберга за допомогою програмного калькулятора «Випадок–контроль». Відношення шансів (OR) розраховували за допомогою програмного калькулятора «Випадок – контроль» (http://gen-expert.ru/calculator_or.php). OR = 1 розглядали як відсутність асоціації, OR > 1 – як позитивну асоціацію (підвищений ризик розвитку патології), OR < 1 – як негативну асоціацію (знижений ризик розвитку патології).

Результати дослідження та їх обговорення. Аналіз результатів роботи свідчить про те, що стаціонарне лікування отримували переважно пацієнти з персистоючою БА (253 дітей; 80,06 %), а інтермітуюча БА становила лише 19,94 % (63 хворих). Подібний розподіл дітей з БА можна аргументувати тяжкістю перебігу БА, яка потребувала лікування в умовах стаціонару.

Характерною особливістю було й те, що персистоюча БА зустрічалася у хлопчиків вікової групи 8–12 років в 3,1 разів, а у віці 13–16 років – в 3,8 разів частіше, порівняно з такими ж віковими періодами у дівчаток. У той же час серед хворих 8–12 років з інтермітуючим перебігом БА домінували дівчатка. Подібний розподіл хворих на БА можна аргументувати тяжкістю перебігу БА, яка потребувала лікування в умовах стаціонару.

Слід зазначити, що переважна більшість дітей, хворих на інтермітуючу БА, були представниками сільської місцевості (37дітей; 58,73%), жителі міста становили 41,27%; (26 осіб; $p < 0,05$). Натомість, на персистоючу БА страждав 141 пацієнт (55,73%) сільської місцевості, у жителів міста даний діагноз був встановлений у 112 (44,27%) випадках та був статистично недостовірним ($p > 0,05$), тобто, тригерні чинники однаково впливали на частоту виникнення персистоючої БА, як у жителів сільської, так і міської місцевості.

Оскільки при персистоючій БА найбільш часто не було відповіді на базисну фармакотерапію – нами проаналізований перебіг захворювання саме у хворих з персистоючою БА за ступенем тяжкості: легкий, середньоважкий та важкий перебіг захворювання.

Так, на легкий ступінь тяжкості страждало 155 дітей (61,26%), середньоважкий – 94 (37,16%), а важкий - лише 4 дитини (1,58%). Як і в загальній групі на легкий та середньоважкий ступінь важкості персистоючої БА переважно хворіли хлопчики у вікових групах 8-12 років (101 хлопчик - 39,92% та 33 дівчинки – 13,05%; $p < 0,05$) та 13-16 років (49 хлопчиків - 19,37% та 13 дівчаток - 5,14%; $p < 0,05$).

Встановлено, що в обстежених дітей з БА ступінь тяжкості загострення хвороби напряму залежав від рівня контролю БА. Розподіл пацієнтів за рівнем контролю персистоючої БА, залежно від віку та статі свідчить про те, що серед пацієнтів на стаціонарному лікуванні переважну більшість склали хворі на неконтрольовану БА (141 – 55,73 %), причому переважали хлопчики вікових груп від 6 до 16 років, найбільше (63 – 24,9 %) у віці 8-12 років. Частково-контрольована БА зустрічалася у 68 дітей (26,87 %): 49 - 19,36 % хлопчиків і 19 дівчаток (7,51 %).

З приводу контрольованої БА терапію отримувало 44 пацієнта (17,4 %): хлопчиків 33 (13,05 %), дівчаток – 11 (4,35 %).

Отже, серед хворих, які знаходилися на стаціонарному лікуванні, переважали хлопчики з неконтрольованим перебігом БА (табл. 1).

Таблиця 1

Розподіл обстежених дітей залежно від рівня контролю БА, віку та статі

Вікові групи, роки	Рівень контролю БА											
	контрольована, n= 44; 17,40%				частковоконтрольована, n=68; 26,87%				неконтрольована, n=141; 55,73%*			
	хлопчики		дівчатка		хлопчики		Дівчатка		хлопчики		дівчатка	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
6-7 років, n= 47	6	2,37	3	1,19	8	3,16	3	1,19	21	8,3*	6	2,37
8-12 років, n=134	14	5,54	5	1,97	24	9,48	12	4,74	63	24,9*	16	6,32
13-16 років, n= 62	10	3,95	2	0,79	16	6,32	4	1,58	23	9,09*	7	2,77
17-18 років, n=10	3	1,19	1	0,4	1	0,4	-	-	4	1,58	1	0,4
Всього: n= 253	33	13,05	111	4,35	449	19,36	19	7,51	1111	43,87*	330	11,86

Примітка.* - $p < 0,05$ – різниця достовірна між показниками груп різних варіантів рівня контролю.

Практично у всіх дітей (293 – 92,6 %) виявлено успадковану схильність до алергічних захворювань і лише у 23 хворих (7,4 %) не було встановлено факторів, які б свідчили про генетично обумовлений характер патології.

Нами була проаналізована супутня патологія у 316 дітей при інтермітуючому, та при персистуючому перебігу БА. Встановлена різна супутня патологія у 268 хлопчиків, що становить 75,82% та у 80 дівчаток (24,18%). Слід засвідчити той факт, що з високою достовірністю ($p < 0,05$) алергічний риніт та побутова алергія часто зустрічалися у хлопчиків, як при персистуючій БА (алергічний риніт: 113 – 24,62% та 76 – 16,55%, відповідно, побутова алергія), так і при інтермітуючій БА (алергічний риніт: 31 – 6,75% та 19 – 4,14%, відповідно алергія).

Отримані результати дослідження засвідчили переважання побутових алергенів у спектрі неінфекційних чинників у 253 дітей з персистуючою БА, які становили 40,93 % (149 випадків), причому здебільшого (94 – 28,82 %) у хлопчиків лише віком 6–7 років. Для загострень інтермітуючої БА характерним було переважання побутових алергенів у хворих вікової групи 8-12 (9 дітей -

16,98 %) і 13–16 років (11 дітей - 20,76 %).

Оцінка змін показників функції зовнішнього дихання показала, що у хворих з персистуючим перебігом БА індекс Тіффно був вищим на 9,77% за рахунок зниження ОФВ₁ ($61,08 \pm 0,47\%$), ніж ФЖЕЛ ($70,85 \pm 0,36\%$; $p < 0,001$). Для дітей з інтермітуючим перебігом захворювання показники форсованого видиху в першу секунду не мали значимих відмінностей порівняно з практично здоровими дітьми ($p > 0,05$).

При контрольованому перебігу показник ОФВ₁ був у 1,44 рази нижчим порівняно з практично здоровими дітьми, ФЖЕЛ – в 1,3 рази, індекс Тіффно – в 1,11, а ПОШВ - в 1,13 рази. Нами відмічено зниження ОФВ₁ и ФЖЕЛ при неконтрольованому перебігу у 1,06 рази в порівнянні із контрольованими формами ($p < 0,05$).

При дослідженні основних клінічних показників периферичної крові загальної групи пацієнтів, хворих на БА, встановлено підвищення вмісту еритроцитів ($5,02 \pm 0,39 \times 10^{12}/\text{л}$), порівняно з практично здоровими дітьми ($4,12 \pm 0,03 \times 10^{12}/\text{л}$) в 1,22 рази ($p < 0,01$), а також рівнів гемоглобіну ($143,00 \pm 0,57$ г/л; $p < 0,05$). Аналіз результатів дослідження гематокриту засвідчив її згущення ($35,33 \pm 0,05\%$; $p < 0,001$), яке призводить до виникнення гіпоксичного стану в організмі та розвитку дихальної недостатності.

Як відомо, дослідження газів крові являється найбільш точним методом оцінки функції органів дихання. Тому, проведений нами аналіз показників SaO₂, встановив статистично достовірне зниження рівня насичення киснем гемоглобіну в еритроцитах, в період загострення БА на 1,79% відносно рівня SaO₂ практично здорових дітей ($96,72 \pm 0,12\%$; $p < 0,01$). Відповідно, у разі насичення гемоглобіну киснем знижене, транспорт газів до тканин порушується, виникає їх киснева залежність, тобто зменшення SaO₂ пов'язано не з факторами крові, а зі зниженням легеневої вентиляції.

Нами, також проведений аналіз основних показників периферичної крові у дітей, хворих на БА, залежно від тяжкості захворювання. Для інтермітуючої та персистуючої БА встановлені характерні підвищені показники крові ($p < 0,001$), а саме: для інтермітуючого та персистуючого перебігу БА встановлені характерні наступні показники периферичної крові: вміст еритроцитів в період загострення підвищувався до $4,21 \pm 0,08 \times 10^{12}/\text{л}$ при інтермітуючому перебігу БА та до показників $5,21 \pm 0,48 \times 10^{12}/\text{л}$ – при персистуючій БА ($p > 0,05$). В період загострення гемоглобін становив $139,84 \pm 1,10$ г/л при інтермітуючому та $143,79 \pm 0,65$ г/л – при персистуючому перебігу захворювання ($p < 0,05$), що значно перевищував показники гемоглобіну у практично здорових дітей ($130,35 \pm 0,4$ г/л; $p < 0,001$).

Разом з тим, при частково-контрольованому і неконтрольованому перебігу патології вміст гемоглобіну перевищував результати досліджень гемоглобіну порівняно з практично здоровими дітьми ($p < 0,001$). При цьому SaO₂ була знижена на 1,94 % при контрольованій, на 2,05 % - при частково-контрольованій і на 3,69 % - неконтрольованій БА ($p < 0,001$).

Аналіз результатів дослідження периферичної крові у дітей, хворих на БА, залежно від рівня контролю захворювання показав, що вміст еритроцитів при контрольованому, частково контрольованому та неконтрольованому перебігу

захворювання мав статистично значимі підвищені показники, відносно результатів дослідження у практично здорових дітей ($p < 0,001$).

Вірогідніше за все, збільшення кількості еритроцитів і рівнів гемоглобіну в крові дітей, хворих на БА, слід розцінювати як компенсаторний механізм посиленого гемопоезу на тривалу гіпоксію тканин в результаті хронічної дихальної недостатності, в меншій мірі при інтермітуючій БА та в більшій – при персистуючому перебігу захворювання.

Одним із провідних маркерів атопії є IgE, який бере активну участь в активації синтезу медіаторів запалення та відіграє провідну роль у патогенезі імунної стадії алергії, а також ураховуючи те, що гіперпродукція IgE при БА, зумовлена активацією показників цитокінового ряду, призводить до гіперреактивності бронхів та прогресування виразності патологічних змін при даній патології (Марусик У. І., 2016; Vousquet, J. M., Anto C., Bachert J. et al. 2013), нами проведено дослідження з визначення його вмісту у дітей, хворих на бронхіальну астму.

Отримані в результаті дослідження виявили, що в плазмі крові IgE у хворих на БА загальної групи показали статистично високий їх вміст відносно показників практично здорових дітей в 23,59 рази ($p < 0,001$). Нами було відмічено підвищення рівнів загального імуноглобуліну – E, залежно від тяжкості перебігу захворювання. При інтермітуючому перебігу БА загальний IgE перевищували рівні імуноглобуліну – E практично здорових дітей в 22,18 рази ($p < 0,001$). У хворих дітей на персистуючий перебіг патології IgE був підвищеним у 25,98 разів порівняно з нормою.

Результати дослідження загального IgE, залежно від рівня контролю БА, показали також статистичне підвищення його рівнів відносно практично здорових дітей ($p < 0,001$), а точніше: при контрольованому перебігу - в 29,11 рази, частково-контрольованому – в 37,4 рази та неконтрольованому – в 25,82 рази.

Визначення вмісту в крові дітей, хворих на БА, еозинофілів було вельми важливим для визначення їх ролі в патогенетичних механізмах розвитку та характері перебігу БА у дітей, так як еозинофіли, також є маркерами, визначальними за алергію, пошкодження тканин запаленням, підвищення чутливості рецепторів до імуноглобулінів класу E, накопичення та стимуляція вивільнення медіаторів запалення, поглинання і зв'язування медіаторів запалення, насамперед, гістаміну.

Нами встановлено, що в загальній групі пацієнтів відмічалася підвищення активності еозинофілів до рівня помірної еозинофілії ($16,29 \pm 0,32\%$), яка перевищувала показники практично здорових дітей в 9,93 рази ($p < 0,001$), та залежала від тяжкості перебігу захворювання. Так вміст еозинофілів у периферичній крові у дітей, хворих на персистуючу БА, склав $17,08 \pm 0,31\%$ та був вищим в 10,41 рази ($p < 0,01$), порівняно з практично здоровими дітьми. При інтермітуючому перебігу захворювання відмічалася також помірна еозинофілія, яка перевищувала рівні еозинофілів порівняно з групою практично здорових дітей в 7,93 рази.

Слід зазначити, що помірна еозинофілія спостерігалася при усіх рівнях БА. Так, при контрольованому перебігу вона становила $14,83 \pm 0,76\%$, при частково

контрольованому – $17,20 \pm 1,4\%$, при неконтрольованому – $17,73 \pm 0,44\%$ та була статистично достовірно вищою порівняно з показниками практично здорових дітей ($p < 0,001$). Нами відмічено збільшення на $2,9\%$ ($p < 0,05$) кількості еозинофілів при неконтрольованому перебігу БА, порівняно з пацієнтами контрольованого перебігу захворювання.

Слід зазначити, що пригнічення ядерно – транскрипційного фактору NF- κ B може, як послаблювати запалення та імунні реакції, так і посилювати клітинну загибель, оскільки даний фактор призводить до експресії ряду молекул, сприяючи виживанню клітин. Саме з цієї причини наступною частиною нашої роботи було визначення вмісту ядерно-транскрипційного фактору NF- κ B в сироватці крові у дітей, хворих на БА, та оцінка його змін залежно від ступеню тяжкості та рівня контролю захворювання з метою визначення їх ролі в формуванні клінічних особливостей перебігу БА у дітей шкільного віку, які проживають на території Подільського регіону України.

При аналізі отриманих результатів дослідження, відзначалась достовірна різниця між вмістом ядерно – транскрипційного фактору NF- κ B в сироватці крові у хворих на БА, відносно рівнів ядерно – транскрипційного фактору NF- κ B у практично здорових дітей. Так, у загальній групі пацієнтів, рівень ядерно – транскрипційного фактору NF- κ B в периферичній крові становив $7,15 \pm 0,25$ пг/мл та був у 1,95 рази вищим ніж у практично здорових дітей - $3,66$ пг/мл ($p < 0,001$). Оцінюючи, рівень ядерно – транскрипційного фактору NF- κ B у сироватці крові хворих на БА, залежно від тяжкості хвороби, нами відмічені нижчі показники ядерно – транскрипційного фактору NF- κ B у дітей, хворих на інтермітуючу БА, порівняно з пацієнтами, що страждають на персистуючу БА (відповідно: $6,44 \pm 0,37$ пг/мл та $7,15 \pm 0,25$ пг/мл), однак достовірної різниці при цьому не виявлено ($p > 0,05$). Аналіз рівнів ядерно – транскрипційного фактору NF- κ B в сироватці крові при інтермітуючому та персистуючому перебігу БА, встановив, що вміст ядерно – транскрипційного фактору NF- κ B при інтермітуючій БА був у 1,86, а при персистуючій – у 2,05 рази вищим порівняно з практично здоровими дітьми ($p < 0,001$).

В результаті, дослідження вмісту ядерно – транскрипційного фактору NF- κ B в сироватці крові у хворих на БА, залежно від рівня контролю захворювання, були встановлені у 2,4 рази ($p < 0,001$) вищі його значення у пацієнтів, хворих на контрольовану БА, відносно показників практично здорових дітей. Також, достовірно значимими ($p < 0,001$) високі рівні ядерно – транскрипційного фактору NF- κ B залишалися при частково-контрольованому рівні персистуючої БА ($7,63 \pm 0,68$ пг/мл) та неконтрольованому рівні захворювання ($6,41 \pm 0,41$ пг/мл). Оцінка вмісту ядерно – транскрипційного фактору NF- κ B у дітей з БА між контрольованим, частково-контрольованим та неконтрольованим рівнем хвороби достовірної різниці не досягла ($p > 0,05$) (табл. 2).

При порівнянні показників рівнів інтерлейкінів ІЛ-4 та ІЛ-6, залежно від тяжкості перебігу БА виявлено, що вміст зазначених цитокінів в сироватці крові дітей був високим порівняно з його рівнем у практично здорових дітей, як при інтермітуючому, так і персистуючому перебігу БА, причому висока продукція інтерлейкінів відзначалася у хворих з персистуючим перебігом хвороби ($p < 0,001$). Так, сироватковий рівень ІЛ-4 при персистуючому перебігу БА був збільшений у

1,91 рази, тоді як при інтермітуючому - він також був збільшений ($4,27 \pm 0,24$ пг/мл), порівняно з аналогічним показником практично здорових дітей. Вміст ІЛ-6 при персистуючому перебігу БА збільшувався у 1,84 рази, а при інтермітуючому - у 1,64 рази ($p < 0,001$). Відповідно, можна вважати, що посилена продукція інтерлейкінів при персистуючому перебігу хвороби може свідчити про інтенсивність запального процесу при БА у дітей. Отримані результати дають підстави розглядати сироваткові рівні інтерлейкіну-4 та інтерлейкіну-6, як маркерів активності запального процесу і тяжкості БА.

Таблиця 2

Вміст ядерно-транскрипційного фактору NF-κB в сироватці крові у хворих на БА залежно від рівня контролю

Показники	Рівень контролю бронхіальної астми		
	Контрольована, n = 9	Частково контрольована, n = 15	Неконтрольована, n = 23
	M±m	M±m	M±m
NF- κB, пг/мл, n = 47	8,79±0,72*	7,63± 0,68*	6,41± 0,41*
Практично здорові діти, n = 25	3,66 ± 0,21		

Примітка. * - $p < 0,001$ - різниця достовірна між показниками груп хворих та практично здорових дітей.

Вміст показників у сироватці крові відповідно до рівнів контролю БА, становив: інтерлейкіну-4 при контрольованому перебігу - $5,48 \pm 0,33$ пг/мл, при частково-контрольованому - $5,33 \pm 0,38$ пг/мл та неконтрольованому - $4,42 \pm 0,26$, що були достовірно вищими, ніж у практично здорових дітей - $2,62 \pm 0,15$ пг/мл; $p < 0,001$ (табл. 3).

Таблиця 3

Вміст інтерлейкінів-4 та 6 у сироватці крові дітей з БА залежно від рівня контролю

Показники	Рівень контролю бронхіальної астми			Практично здорові діти, n = 25
	контрольована, n = 9	частково- контрольована n = 15	неконтрольована, n = 23	
	M±m	M±m	M±m	
Інтерлейкін-4, пг/мл	5,48±0,33*	5,33±0,38*	4,42±0,26	2,62±0,15
Інтерлейкін-6, пг/мл	6,09±0,88*	5,54±0,41*	4,94±0,37	3,04±0,18

Примітка. * - $p < 0,001$ - різниця достовірна між показниками груп хворих і практично здорових дітей.

Натомість, вміст інтерлейкіну-6, при контрольованому перебігу хвороби, був у межах $6,09 \pm 0,88$ пг/мл ($p < 0,05$), при частково-контрольованому - $5,54 \pm 0,41$ пг/мл ($p < 0,001$), при неконтрольованому - $4,94 \pm 0,37$ пг/мл ($p < 0,01$) та мав достовірно нижчу різницю відносно рівня показників практично здорових дітей ($3,04 \pm 0,18$ пг/мл).

Порівняльний аналіз розподілу частот алелей і генотипів поліморфного маркера Ile50Val гена IL4RA, засвідчив наявність статистично достовірних відмінностей між групами хворих на БА та практично здорових дітей. На підставі отриманих результатів встановлено, що у практично здорових дітей гомозиготний генотип A/A визначався в 8% випадків, гетерозиготний генотип A/G – в 64%, а гомозиготний мутантний генотип G/G виявлений у 28% випадках. Натомість, у школярів, хворих на БА, генотип A/A становив 67% випадків, генотип A/G – 58,66%, а генотип G/G визначався лише 6,67% дітей.

В подальшому для проведення аналізу генотипів та алелей за поліморфним маркером Ile50Val гена IL4RA був застосований розподіл частот, який відповідав рівновазі Харді – Вайнберга, як для пацієнтів, хворих на БА, так і для практично здорових дітей ($\chi^2=5,60$, $p=0,02$ - для групи пацієнтів, хворих на БА, та $\chi^2=2,78$, $p=0,1$ - для практично здорових дітей).

Для вивчення асоціації поліморфізму rs1805010 Ile50Val гена IL4RA з розвитком БА у дітей шкільного віку, які проживають на території Вінниччини (дітей лікарняної когорти), нами використані мультиплікативна, загальна, домінантна і рецесивна моделі генетичного ризику наслідування БА.

Проведені результати дослідження, які свідчать про те, що в групі практично здорових дітей Вінниччини, осіб з генотипом A/G зустрічалося найбільше і їх кількість переважала носіїв генотипу A/A в 8 разів, а генотипу G/G – в 2,29 рази ($p < 0,05$). Разом з тим, у контрольній групі практично здорові діти з алелями G переважали осіб, носіїв алелі A в 1,5 рази ($p < 0,05$).

На наступному етапі роботи було проведено дослідження з метою оцінки ризику розвитку БА серед дітей у разі носійства поліморфного маркера Ile50Val гена IL4RA. Як показали дослідження з вивчення особливостей розподілу частоти алелів та генотипів у дітей носії алелі A поліморфного маркера Ile50Val гена IL4RA мають підвищений ризик патології ($OR=2,67$, 95% CI [1,38 – 5,14]), а у разі носійства алелю G - знижений ризик розвитку захворювання ($OR=0,38$, 95% CI [0,19 – 0,72]; модель достовірна при $\chi^2=8,87$, $p=0,003$).

У свою чергу, в разі носійства гомозиготного генотипу A/A поліморфного маркера Ile50Val гена IL4RA, нами встановлено, що серед хворих на БА, і практично здорових дітей його частота статистично достовірно становила 0,347 та 0,080, відповідно, при цьому визначався значно підвищений ризик патології ($\chi^2=11,96$; $p < 0,003$; $OR=6,10$; 95% CI [1,33 – 27,93]), а у разі носійства гетерозиготного генотипу A/G, отримані результати свідчать про знижений ризик виникнення БА ($OR=0,80$, 95% CI 0,31–2,04). Слід зазначити, що у дітей в випадку носійства генотипу G/G, може бути також знижений ризик розвитку даного захворювання ($OR=0,18$, 95% CI 0,05 – 0,65; $\chi^2=11,96$; $p=0,003$).

В той же час, аналіз результатів дослідження показав те, що серед популяції

дітей домінуючим і маніфестуючим за поліморфним маркером Ile50Val гена IL4RA, являється алель А та генотип А/А. Зауважимо, що алель А присутня і в генотипі А/Г.

У подальшому були вивчені асоціації з БА у дітей за поліморфізмом rs1805010 Ile50Val гена IL4RA, залежно від рівня контролю захворювання. Розподіл дітей за алелями А, G та генотипами А/А, А/Г, G/G за поліморфізмом rs1805010 Ile50Val гена IL4RA серед хворих на контрольовану, частково-контрольовану та неконтрольовану БА, а також практично здорових дітей, виявив більше носіїв алелі А при всіх рівнях контролю БА, порівняно з носіями алелі А у практично здорових дітей. Слід зазначити, що розподіл частоти генотипів А/А, А/Г, G/G поліморфізму rs1805010 Ile50Val гена IL4RA серед хворих на БА та практично здорових дітей встановив переважання гетерозиготного генотипу А/Г, незалежно від рівня контролю БА (табл. 4, 5, 6).

Таблиця 4

Асоціація алелей та генотипів за поліморфізмом rs1805010 Ile50Val гена IL4RA з контрольованим рівнем БА у дітей

Алелі	Хворі на БА, n = 25	Практично здорові діти, n = 25	χ^2	p	OR	
					знач.	95% CI
Алель А	0.640	0.400	5.77	0.02	2.67	1.19-5.99
Алель G	0.360	0.600			0.38	0.17-0.84
Генотип А/А	0.320	0.080	8.10	0.02	5.41	1.02-28.79
Генотип А/Г	0.640	0.640			1.00	0.32-3.17
Генотип G/G	0.040	0.280			0.11	0.01-0.95

Таблиця 5

Асоціація алелей та генотипів за поліморфним маркером Ile50Val гена IL4RA з частково контрольованим рівнем БА у дітей

Алелі	Хворі на БА, n = 20	Практично здорові діти, n = 25	χ^2	p	OR	
					знач.	95% CI
Алель А	0.625	0.400	4.50	0.03	2.50	1.06-5.87
Алель G	0.375	0.600			0.40	0.17-0.94
Генотип А/А	0.350	0.080	5.63	0.02	6.19	1.12-34.32
Генотип А/Г	0.550	0.640			0.69	0.21-2.29
Генотип G/G	0.100	0.280			0.29	0.05-1.57

Таблиця 6

Асоціація алелей та генотипів за поліморфізмом rs1805010 Ile50Val гена IL4RA з неконтрольованим рівнем БА у дітей

Алелі	Хворі на БА, n = 30	Практично здорові діти, n = 25	χ^2	p	OR	
					знач.	95% CI
Алель А	0.650	0.400	6.85	0.009	2.79	1.28-6.05
Алель G	0.350	0.600			0.36	0.17-0.78
Генотип А/А	0.367	0.080	8.64	0.003	6.66	1.31-33.80
Генотип А/G	0.567	0.640			0.74	0.25-2.19
Генотип G/G	0.067	0.280			0.18	0.03-0.98

Дослідження рівнів цитокінів (IL-4, IL-6) та ядерно – транскрипційного фактору NF-кВ у дітей, хворих на БА, за генотипами поліморфізму rs1805010 Ile50Val гена IL4RA показали, що вміст IL-6 у носіїв мутантного генотипу G/G поліморфізму Ile50Val гена IL4RA були в 1,7 рази вищими за рівнів аналогічних показників у носіїв генотипу А/А та в 1,4 рази переважав рівень IL-6 у носіїв генотипу А/G ($p < 0,05$).

Натомість, аналіз отриманих результатів дослідження вмісту IL-4, IL-6 та ядерно – транскрипційного фактору NF-кВ у хворих на БА за поліморфізмом rs1805010 Ile50Val гена IL4RA встановив, що рівень IL-4 у хворих на БА- носіїв генотипу А/А, був у 1,9 рази вищий, ніж у практично здорових дітей ($p < 0,05$), вміст IL-6 перевищував рівень показників у здорових дітей в 1,7 рази ($p < 0,05$), а ядерно – транскрипційного фактору NF-кВ – в 2,3 рази ($p < 0,05$).

Слід зауважити, що при дослідженні вмісту цитокінів у носіїв генотипу А/G поліморфізму rs1805010 Ile50Val гена IL4RA також отримані результати, які свідчать про їх підвищені рівні. Так, IL-4 в 1,6 разів перевищував рівень однойменного цитокіну у практично здорових дітей; IL-6 – в 1,8 рази; рівень ядерно – транскрипційного фактору NF-кВ у хворих на БА був вищим в 2,3 рази та становив $7,34 \pm 0,43$ пг/мл ($p < 0,05$).

Особливу увагу привертали результати аналізу рівнів IL-4 та IL-6, а також ядерно – транскрипційного фактору NF-кВ у носіїв мутантного генотипу G/G поліморфізму Ile50Val гена IL4RA у зв'язку зі значним (більш ніж у 2 рази), переважанням їх вмісту порівняно з практично здоровими дітьми: IL-4 - в 2,2 рази, IL-6 - в 2,7 рази, ядерно – транскрипційного фактору NF-кВ – в 2, 2 рази ($p < 0,05$; табл. 7).

При аналізі сироваткового вмісту цитокінів, які характеризують активність БА у дітей, нами виявлені їх значні відмінності у дітей з різними рівнями контролю захворювання. Вміст IL-4, IL-6 та ядерно – транскрипційного фактору NF-кВ в сироватці крові носіїв генотипів А/А, А/G, G/G поліморфізму Ile50Val гена IL4RA, залежав від рівня контролю хвороби та в 1,3 рази був вищим порівняно з контрольованим, в 1,5 рази – з неконтрольованим перебігом БА та в 2 рази достовірно

вищим порівняно з величиною показників практично здорових дітей (табл. 8).

Таблиця 7

Вміст інтерлейкіну-4, інтерлейкіну-6 та ядерно – транскрипційного фактору NF – κB у дітей, хворих на БА, за поліморфізмом rs1805010 Ile50Val гена IL4RA

Показники	Носії генотипу					
	A/A		A/G		G/G	
	хворі на БА, n=26	здорові діти, n=2	хворі на БА, n=44	здорові діти, n=16	хворі на БА, n=5	здорові діти, n=7
Інтерлейкін-4 пг/мл	4,98±0,27*	2,6±1,20	4,33±0,21*	2,75±0,18	5,22±0,85*	2,35±0,25
Інтерлейкін-6 пг/мл	4,63±0,32**	2,7±0,50	5,59±0,28***	3,18±0,26	7,62±0,58***	2,81±0,28
NF-κB пг/мл	7,34±0,43*	3,25±0,7	6,64±0,35*	3,82±0,30	7,36±1,12*	3,43±0,35

Примітки:

- 1.*- $p < 0,05$ – різниця достовірна між показниками груп хворих та практично здорових дітей.
2. **- $p < 0,05$ – різниця достовірна між показниками груп хворих та носіями генотипу G/G поліморфізму Ile50Val гена IL4RA.

Таблиця 8

Вміст інтерлейкіну-6, інтерлейкіну-4 та ядерно – транскрипційного фактору NF-κB у дітей з БА за генотипами поліморфного маркера Ile50Val гена IL4RA залежно від рівня контролю хвороби

Рівень контролю БА	Цито-кіни	Носії генотипів		
		A/A	A/G	G/G
Контрольований, n=25	ІЛ-4	4,91±0,38*	4,29±0,40**	3,80***
	ІЛ-6	4,66±0,75	5,83±0,59**	8,50***
	NF-κB	7,19±0,31***	7,22±0,87**	5,40
Частково контрольований, n= 20	ІЛ-4	6,10±0,47*	4,28±0,41*	5,55±1,75
	ІЛ-6	5,21±0,44**	5,37±0,54**	7,35±1,15**
	NF-κB	9,53±0,91***	6,40±0,54**	7,75±2,35
Неконтрольований, n=30	ІЛ-4	4,32±0,40	4,06±0,34*	5,60±1,70
	ІЛ-6	4,00±0,46	5,37±0,46**	7,45±1,25**
	NF-κB	6,03±0,53*	6,29±0,53**	7,95±2,15
Практично здорові діти, n=25	ІЛ-4	2,6±1,20	2,75±0,18	2,35±0,25
	ІЛ-6	2,70±0,50	3,18±0,26	2,81±0,28
	NF-κB	3,25±0,65	3,82±0,30	3,43±0,35

Примітки:

- 1.*- $p < 0,05$ – різниця достовірна між хворими та практично здоровими дітьми;
2. **- $p < 0,01$ – різниця достовірна між хворими та практично здоровими дітьми;
3. ***- $p < 0,001$ – різниця достовірна між хворими та практично здоровими дітьми.

Отже, виходячи з матеріалів проведеного дослідження щодо участі в патогенетичних механізмах розвитку алергічної БА, можна припустити, що ядерно – транскрипційний фактор NF- κ B, являється пусковим чинником в цитокиновій регуляції IL-4 та IL-6, які опосередковано (або напряму) впливають на холінергічні нерви, призводячи до гіперреактивності дихальних шляхів в результаті чого порушується функція бронхоальвеолярного лаважу. Відповідно, цитокини (IL-4, IL-6), стимулюють також і експресію фібробластів, основною функцією яких є синтез та секреція білків, що призводить до гіперпродукції білків з послідуною обтурацією бронхолегеневої системи. В свою чергу при взаємодії компонентів міжклітинної речовини (гранулоцити, макрофаги, опасисті клітини, еозинофіли, В-клітини), відбувається процес проліферації за участю експресії гена рецептора цитокинів та медіаторів запалення (IL4RA), що може бути характерною складовою процесу в патогенезі алергічної БА.

ВИСНОВКИ

1. Бронхіальна астма (БА) є мультифакторіальним захворюванням, яке обумовлено спадковою схильністю, реалізація котрої відбувається під впливом факторів зовнішнього середовища. Незважаючи на сучасні методи діагностики та лікування, поширеність БА зростає в багатьох країнах від 1% до 18%, а серед дитячого населення - 5-10%. Проте й досі залишаються не з'ясованими питання досягнення контролю над захворюваннями та ролі ядерно-транскрипційного фактору NF- κ B в патогенетичних механізмах розвитку алергічної БА, що й обумовлює актуальність проведеного дослідження.

2. Основними тригерними чинниками, які найчастіше призводять до загострення БА, є полівалентна сенсibilізація з переважанням побутових алергенів при персистуючому та інтермітуючому перебігу БА (40,93%; $p < 0,05$). Спектр сенсibilізації ширший серед хлопчиків порівняно з дівчатками у 2,5 рази у віці 8-12 років та у 4,1 рази в пубертатному періоді ($p < 0,05$).

3. У дітей, хворих на БА, посилення експресії ядерно-транскрипційного фактору NF- κ B в сироватці крові, залежить від тяжкості та рівня контролю захворювання. При інтермітуючому перебігу його вміст становить $6,44 \pm 0,37$ пг/мл, при персистуючому - $7,51 \pm 0,31$ пг/мл. Високі рівні ядерно-транскрипційного фактору NF- κ B характерні для контрольованого ($8,79 \pm 0,72$ пг/мл) та частково-контрольованого рівня персистуючої БА ($7,63 \pm 0,68$ пг/мл) порівняно з неконтрольованим перебігом захворювання ($6,41 \pm 0,41$ пг/мл; $p < 0,001$).

4. Підвищений ризик розвитку алергічної БА у дітей визначається у носіїв гомозиготного генотипу A/A поліморфізму rs1805010 Ile50Val гена IL4RA, оскільки у хворих на БА він зустрічається в 4,34 рази частіше, ніж у практично здорових дітей (OR=6,10; 95% CI [1,33–27,93]; $\chi^2=11,96$; $p < 0,003$). Негативна асоціація відзначена у разі носійства гомозиготного мутантного генотипу G/G поліморфізму rs1805010 Ile50Val гена IL4RA, який зустрічається значно (у 4,2 рази) рідше (OR=0,18, 95% CI [0,05–0,65]; $\chi^2=11,96$; $p = 0,003$), а ніж у практично здорових дітей.

5. Поліморфізм rs1805010 Ile50Val гена IL4RA у дітей шкільного віку, які проживають на території Вінниччини, не впливає на тяжкість перебігу БА. Частота

гомозиготного генотипу А/А відзначалася у 3,8 разів частіше серед хворих на інтермітуючий перебіг БА ($OR=5.03$; 95% CI [0.92–27.43]; $\chi^2=7,19$; $p = 0,007$) та в 4,45 рази - при персистуючому перебігу патології ($OR=6.62$; 95% CI [1.40-31.24]; $\chi^2=10.11$; $p = 0,001$), порівняно з практично здоровими дітьми.

6. За поліморфізмом rs1805010 Ile50Val гена IL4RA, у дітей шкільного віку, хворих на БА, за величинами параметрів функції зовнішнього дихання, визначаються прогностично низькі їх значення порівняно з практично здоровими дітьми ($p < 0,001$). ОФВ₁ у дітей з генотипом А/А поліморфізму rs1805010 Ile50Val гена IL4RA визначаються помірні обструктивні порушення за рахунок уповільнення форсованого видиху, який на 24,7% нижчий від рівня показників практично здорових дітей ($66,77 \pm 1,97\%$; $p < 0,001$). У носіїв мутантного генотипу G/G поліморфізму rs1805010 Ile50Val гена IL4RA функція зовнішнього дихання знижується за всіма параметрами: ЖЄЛ на 16,0% ($p < 0,001$), ФЖЄЛ – на 17,4% ($p < 0,001$), ОФВ₁ – на 18,1% ($p < 0,001$), індекс Тіффно – на 2,0 % ($p < 0,05$) і ПОШВ – на 5,29 % ($p < 0,001$).

7. Вміст інтерлейкіну - 4,6 та ядерно-транскрипційного фактору NF – κB в сироватці крові носіїв гомозиготних та гетерозиготних генотипів А/А, А/Г, G/G поліморфного маркера rs1805010 Ile50Val гена IL4RA, залежить від рівня контролю захворювання, в 1,3 рази вищий порівняно з контрольованим, в 1,5 рази – з неконтрольованим та в 2 рази порівняно з показниками практично здорових дітей ($p < 0,05$).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. В практичній діяльності лікаря педіатра доцільно врахувати визначення сироваткового вмісту ядерно-транскрипційного фактору NF-κB, рівень якого залежить від перебігу, тяжкості та контролю БА, що важливо для діагностики та коректного призначення покровокого підходу до базисної фармакотерапії.

2. У разі підвищення вмісту ядерно-транскрипційного фактору NF-κB та довготривалого неконтрольованого перебігу БА, слід вирішити питання про перегляд базисної терапії.

3. Хворим на алергічну бронхіальну астму, доцільно проводити молекулярно-генетичне дослідження (ПЛР) за поліморфізмом rs1805010 Ile50Val гена IL4RA для встановлення групи ризику, перебігу захворювання, ступеня тяжкості та рівня контролю хвороби.

СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Дудник В.М., Куцак О.В., Хромих К.В. Особливості перебігу бронхіальної астми у дітей в залежності від важкості захворювання, віку та статі. Вісник Морфології. 2017;2(23): 263-266.*(Дисертантом особисто проведено аналіз літературних джерел, збір матеріалу, підготовка публікації до друку).*

2. Дудник В.М., Куцак О.В. Преморбідний фон розвитку бронхіальної астми та функція зовнішнього дихання у дітей. Biomedical and Biothetical Anthropological. 2017;(29):111-115.*(Дисертантом особисто проведено аналіз*

літературних джерел, написання та переклад резюме, збір матеріалу даних, узагальнення висновків, підготовка до друку).

3. Куцак О.В. Особливості перебігу бронхіальної астми у дітей при різних показниках периферичної крові. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2017;2 (21): 491-495. *(Дисертантом проведено аналіз літературних джерел, збір матеріалу, статистична обробка параметричних та непараметричних даних, узагальнення результатів та висновків, підготовка до друку).*

4. Дудник В.М., Куцак О.В. Вміст ядерно-транскрипційного фактору NF- κ B в сироватці крові дітей, хворих на бронхіальну астму, залежно від тяжкості та рівня контролю захворювання. Сучасна Педіатрія. 2018;3 (91):8-11. *(Дисертантом особисто проведено аналіз літературних джерел, збір матеріалу, аналіз даних, узагальнення висновків, підготовка до друку).*

5. Дудник В.М., Куцак О.В. Вміст інтерлейкінів-4 та 6 в сироватці крові дітей, хворих на бронхіальну астму, залежно від тяжкості та рівня контролю захворювання. Перинатологія та Педіатрія. 2018; 2 (74):79-83. *(Дисертантом проведено аналіз літературних джерел, підготовка матеріалу, статистична обробка параметричних та непараметричних даних між належними вибірками, узагальнення отриманих результатів та висновків, підготовка до публікації)*

6. Dudnyk V.M., Kutsak, O.V. Features prevalence of polymorphism Ile50Val gene IL4RA in patients with bronchial asthma and healthy children school age Vinnichina. Journal of Education. Health and Sport. 2017; 7(5): 943-934. *(Дисертантом проведено аналіз літературних джерел, спрогнозовані асоціації поліморфізму Ile50Val гена IL4RA з розвитком бронхіальної астми, перевірена статистична обробка отриманих результатів на відповідність Закону Харді - Вайнберга, узагальнення результатів та висновків, підготовка статі до друку).*

7. Dudnyk V.M., Kutsak, O. V. The period of the Ile50Val IL4RA polymorphic marker in children with patients with bronchial asthma depending on the determination of diseases. Journal of Education. Health and Sport. 2017; 7 (6): 1145-1159. *(Дисертантом проведено аналіз літературних джерел, збір матеріалу, аналіз даних, узагальнення висновків, підготовка публікації до друку).*

8. Дудник В.М., Куцак О.В. Оцінка анамнестичних факторів розвитку бронхіальної астми у дітей шкільного віку. Тези доповідей Актуальні питання діагностики та лікування алергічних і неалергічних захворювань респіраторної системи у дітей: 2016; Чернівці; БНМУ; 2016 жовтень 25-26, с.37-39. *(Дисертантом особисто проведено аналіз літературних джерел, збір та порівняння матеріалу, узагальнення висновків, підготовка публікації до друку).*

9. Куцак О.В. Характеристика функції зовнішнього дихання у дітей шкільного віку, хворих на бронхіальну астму, жителів Вінницького регіону. Тези доповідей Нові досягнення у галузі медичних та фармацевтичних наук; Одеса; ОНМУ; 2017, с. 86-88. *(Дисертантом проведено аналіз літературних джерел, збір матеріалу, аналіз даних, узагальнення висновків, підготовка публікації до друку).*

10. Дудник В.М. Куцак О.В. Генетичні та анамнестичні особливості бронхіальної астми в дітей шкільного віку Вінницького регіону. Тези доповідей Вплив науково-технічного прогресу на розвиток медичної науки та практики: реалії

сьогодення; 2017, Київ: 2017 липень 14-15, с. 44-46. *(Дисертантом проведено аналіз літературних джерел, збір матеріалу та підготовка публікації до друку).*

11. Дудник В.М., Куцак О.В. Структура супутньої патології серед дітей, хворих на atopічну бронхіальну астму. Тези доповідей Перспективні напрями розвитку сучасних медичних та фармацевтичних наук; 2018 лютий 9-10; Дніпро; 2018, с. 60-61. *(Дисертантом проведено збір матеріалу, аналіз даних, узагальнення результатів, підготовка публікації до друку).*

12. Дудник В.М., Куцак О.В. Сучасні погляди на базисне лікування бронхіальної астми у дітей шкільного віку. Тези доповідей науково – практичної конференції Медична симуляція – погляд у майбутнє:2018; Вінниця; ВНМУ імені М.І.Пирогова; 2018 2 лютого, с.9-12. *(Дисертантом проведено аналіз літературних джерел, порівняння даних дослідження, збір матеріалу, узагальнення висновків, підготовка публікації до друку).*

13. Дудник В.М., Куцак О.В. Патогенетичні особливості контролю atopічної бронхіальної астми у дітей шкільного віку та прогнозування відповіді на базисну терапію. Матеріали XII Міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених Перший крок в науку – 2017; 2017 квітень 6-7; Вінниця. ВНМУ імені М.І.Пирогова; 2017 с.272-273. *(Дисертантом проведено аналіз та порівняння літературних джерел, збір матеріалу, підготовка та аналіз даних, узагальнення висновків, підготовка публікації до друку).*

14. Дудник В.М., Куцак О.В. Поширеність генотипів та алелей поліморфного маркера Ile50Val гена IL4RA у хворих на бронхіальну астму та практично здорових дітей Вінниччини. Матеріали XII Міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених Перший крок в науку – 2018; 2018 квітень 26-28; Вінниця. Вінниця: ВНМУ імені М.І. Пирогова; 2018, с.273-274. *(Дисертантом проведено аналіз літературних джерел, збір матеріалу, обробка молекулярно-генетичного дослідження з використанням мультиплікативної моделі генетичного ризику захворювання, узагальнення результатів та висновків, підготовка до друку).*

15. Дудник В.М., Куцак О.В. Розподіл частот алелей та генотипів за поліморфним маркером Ile50Val гена IL4RA у хворих на бронхіальну астму та практично здорових дітей, залежно від статі. Матеріали III науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 25-річчю Національної академії медичних наук України; 2018; Харків, ХНАМН України; 2018, с.11-12. *(Дисертантом проведено аналіз літературних джерел, збір та обробка молекулярно-генетичного матеріалу, аналіз даних за методами варіаційної статистики та відповідність Закону Харді - Вайнберга, узагальнення результатів, підготовка публікації до друку).*

АНОТАЦІЯ

Куцак О.В. Патогенетичні особливості контролю бронхіальної астми у дітей шкільного віку залежно від вмісту ядерно – транскрипційного фактору NF-κB та інтерлейкінів-4,6 в сироватці крові. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.10 - педіатрія. – Вінницький національний медичний

університет імені М.І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2018.

Дисертаційна робота присвячена підвищенню ефективності діагностики БА у дітей шкільного віку на підставі визначення сироваткових рівнів ядерно-транскрипційного фактору NF-кВ та інтерлейкінів-4,6.

В основу наукової роботи покладений клініко-лабораторний та статистичний аналіз результатів лікування та спостереження за 316 хворими на алергічну БА: ретроспективний – 241 дитина та проспективний – 75. Проаналізувавши результати нами встановлено, що серед хворих на 60,12% переважали пацієнти з персистою перебігом БА (253 дітей; 80,06%), а з інтермітуючим – 19,94% (63 пацієнтів). Розподіл хворих виявив 141 дитину (55,73%) з неконтрольованою БА, з частково-контрольованою - 68 дітей (26,87%) та 44 (17,40%) з контрольованою БА.

З високою достовірністю найбільша кількість хворих на БА припадала на віковий період 8 -12 років (n=158 - 50,01%: 113 хлопчиків – 35,76% та 45 дівчаток – 14,25%) та 13 -16 років (n=96 - 30,36%: 77 хлопчиків - 24,36% та 19 дівчаток – 6,0%). Тобто, розподіл хворих, як в загальній групі, так і в окремих вікових групах, виявив закономірне збільшення захворювання серед хлопчиків у порівнянні з дівчатками в 2,5 рази більше у віці 8-12 років та в 4,06 рази в пубертатному періоді.

Вивчено, що основними тригерними чинниками, є полівалентна сенсibiliзація з переважанням побутових алергенів, незалежно від перебігу хвороби (40,93%; $p < 0,05$). Анамнестичні дані хворих встановили, що серед супутньої патології найчастіше спостерігається алергічний риніт та побутова алергія при персистою перебігу БА (113 – 24,62% та 76 – 16,55%), та інтермітуючому (31 – 6,75%; відповідно 19 – 4,14%).

Встановлено достовірне зниження показників ФЗД у хворих на БА, порівняно з практично здоровим, незалежно від рівня контролю хвороби ($p < 0,05$).

Ключові слова: бронхіальна астма, діти, інтерлейкіни (4,6), ядерно-транскрипційний фактор NF-кВ, поліморфізм rs1805010 Ile50Val гена IL4RA, діагностика.

АННОТАЦИЯ

Куцак О.В. Патогенетические особенности контроля бронхиальной астмы у детей школьного возраста в зависимости от содержания ядерно - транскрипционного фактора NF-кВ и интерлейкинов-4,6 в сыворотке крови. - На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук за специальностью 14.01.10 – педиатрия. - Винницкий национальный медицинский университет имени Н.И. Пирогова МЗ Украины, Винница, 2018.

Диссертационная работа посвящена повышению эффективности диагностики БА у детей школьного возраста на основании определения сывороточных уровней ядерно-транскрипционного фактора NF-кВ и интерлейкинов-4,6.

В основу научной работы положен клинико-лабораторный и статистический анализ результатов лечения и наблюдения за 316 больными на аллергическую БА: ретроспективный - 241 ребенок и проспективный - 75. Проанализировавши, результаты нами установлено, что среди больных 60,12% преобладали пациенты с персистирующим течением БА (253 детей; 80,06%), а с интермитирующим -

19,94% (63 пациентов). Распределение больных обнаружило 141 ребенка (55,73%) с неконтролируемой БА, с частично-контролируемой - 68 детей (26,87%) и 44 (17,40%) с контролируемой БА.

С высокой достоверностью наибольшее количество больных БА приходилась на возрастной период 8-12 лет ($n = 158 - 50,01\%$: 113 мальчиков - 35,76% и 45 девочек - 14,25%) и 13-16 лет ($n = 96 - 30,36\%$: 77 мальчиков - 24,36% и 19 девочек - 6,0%). То есть, распределение больных, как в общей группе, так и в отдельных возрастных группах, обнаружил закономерное увеличение заболевания среди мальчиков по сравнению с девочками в 2,5 раза больше в возрасте 8-12 лет и в 4,06 раза в пубертатном периоде.

Изучено, что основными триггерными факторами, является поливалентная сенсибилизация с преобладанием бытовых аллергенов, независимо от течения болезни (40,93%; $p < 0,05$). Анамнестические данные больных установили, что среди сопутствующей патологии чаще всего наблюдается аллергический ринит и бытовая аллергия при персистирующем течение БА (113 - 24,62% и 76 - 16,55%) и интермиттирующем (31 - 6,75%; соответственно 19 - 4,14%).

Установлено достоверное снижение показателей ФВД у больных с БА по сравнению с практически здоровыми, независимо от уровня контроля болезни ($p < 0,05$).

Ключевые слова: бронхиальная астма, дети, интерлейкины (4,6), ядерно-транскрипционный фактор NF- κ B, полиморфизм rs1805010 Ile50Val гена IL4RA, диагностика.

ABSTRACT

Kutsak O.V. Pathogenetic features of control of bronchial asthma in schoolchildren depending on the content of nuclear transcription factor NF- κ B and interleukin-4, 6 in serum - On the rights of manuscript.

Dissertation for a Candidate Degree of Medicine, specialty 14.01.10 – Pediatrics. - Vinnitsa National Pirogov Memorial Medical University, Vinnitsa, 2018.

The basis of scientific work is clinical, laboratory and statistical analysis of the results of treatment and monitoring of 316 children with bronchial asthma: retrospective - 241 patients and prospective - 75 children. Representation of the comparison groups is represented by age and gender. The design of the second stage of the study further provided, taking into account the tasks set forth in the work, in patients of the prospective group and practically healthy children, the formation of a group of patients for the purpose of determining in the serum the content of the nuclear transcription factor NF- κ B, interleukin-4 and interleukin-6, and also a molecular genetic study of the rs1805010 Ile50Val polymorphism of the IL4RA gene.

As a result of a retrospective and prospective clinical, laboratory and statistical analysis of the results of treatment and observation of 316 patients with asthma, we have specified the risk factors for the disease in children, which made it possible to form groups of patients who are prone to varying degrees, periods, levels of asthma control depending from age and gender.

It has been established that the highest number of patients with asthma was found to be at the age of 8-12 years ($n = 158 - 50,01\%$: 113 boys - 35,76%, and 45 girls -

14,25%) and 13 to 16 years (n = 96 - 30.36%: 77 boys -24.36% and 19 girls - 6.0%). That is, the distribution of patients, both in the general group and in separate age groups, revealed a natural increase in the disease among boys compared with girls 2.5 times more in the age of 8-12 years, and especially 4,06 times in puberty period.

Among children with asthma who were on inpatient treatment 60,12% were dominated by patients with a persistent course of asthma (253 children, 80,06%), and with intermittent patients – 19,94% (63 patients). With a high, significantly higher level of persistent asthma, there was a similarity in boys of the age group of 8-12, 13-16 years old (101-31,96%; 49-15,51%, respectively), and in girls of the same age groups (33 – 10,45%; 13 – 4,11%, respectively). Intermittent BA at 3,78% (12 patients) was significantly more common in girls in the age group of 8 to 12 years.

Allergic rhinitis and home allergy are more likely to occur in boys, as in the persistent flow of asthma (allergic rhinitis: 113 – 24,62%, and household allergy 76 – 16,55%), as well as in the intermittent course of asthma (allergic rhinitis: 31 - 6,75% and accordingly household allergy 19 - 4,14%).

Natural allergens with the persistent flow of BA dominated among other non-infectious factors that accounted for 40,93% and prevailed in boys (28,82%) only in the age group of 6-7 years, where as the in termittent course of the disease at that age was characteristic food allergy (7,55%).

Among the surveyed children with allergic asthma, in the majority of hospitalized patients there were children with uncontrolled asthma (141 – 55,73%), with significantly higher prevalence of boys (p <0,05) in age groups of 6 to the age of 16, the most (63 - 24,9%) at the age of 8-12 years. Partially controlled persistent asthma occurred in 68 children (26,87%): 49-19,36% of boy sand 19 girls (7,51%). Regarding controlled asthma treatment, 44 patients (17,4%) received boys 33 (13,05%), girls - 11 (4,35%).

In patients with a persistent pass age of BA, the Tiffin index was higher by 9,77% due to there duction of FEV₁ (61,08 ± 0,47%) than FVC (70,85 ± 0,36%; p <0,001). For children with anin termittent course of disease, FEV₁ did not have a significant difference compared with practically healthy children (p> 0,05).

At controlled BA levels, the FEV₁ score was 1,44 times lower compared to almos the althy children, FVC – 1,3 times, Tiffen's index – 1,11, and PEF - 1,13 times. We observed a significant decrease in FEV₁ and FVC in anun controlled course of 1,06 times compared with a controlled level of disease.

Key words: bronchial asthma, children, interleukins – (4,6), nuclear transcription factor (NF-κB), polymorphism rs 1805010 lle50Val of the IL4RA gene, diagnostics.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

AA	– гомозигота, нормальний генотип
AG	- гетерозигота
БА	– бронхіальна астма
БПЗТ	– базисна протизапальна терапія
ЖЕЛ	– життєва ємність легень
ІГК	– інгаляційні глюкокортикоїди
ІЛ	– інтерлейкіни

IL4RA	– α -ланцюг рецептора до інтерлейкіну - 4
ОФВ ₁	– об'єм форсованого видиху за одну хвилину
ПОШВ	– пікова об'ємна швидкість видиху
ПЛР	– полімеразна ланцюгова реакція
ФЖЄЛ	– форсована життєва ємність легень
ФЗД	– функція зовнішнього дихання
CI	– довірчий інтервал
IgE	– імуноглобулін E
OR	– відношення шансів
SNP	– однонуклеотидний поліморфізм
GG	– гомозигота, мутантний генотип
ЯТФ	- ядерно-транскрипційний фактор

Підписано до друку 23.11.2018 р. Замовл. № 698
Формат 60x90 1/16 ум. Друк. арк. 0,9 друк офсетний.
Наклад 100 примірників

Вінниця. Друкарня ВНМУ ім. М.І. Пирогова, Пирогова, 56.