

УДК 616.248:616.211-002-022.8]-053.2-08:612.017:604.4:615.331
DOI 10.24144/1998-6475.2020.50.63-72

МОЖЛИВОСТІ КОРЕКЦІЇ МУКОЗАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ ВЕРХНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ ТА АЛЕРГІЧНИЙ РИНІТ

Віленський Я.В.

ДЗ «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України», м. Дніпро

Резюме. Вступ. Хронічні алергічні захворювання респіраторного тракту були і залишаються глобальною проблемою. Уже кілька десятиліть захворюваність на бронхіальну астму (БА) й алергічний риніт (АР) невпинно зростає. Істотно погіршуючи якість життя хворих дітей, алергічні захворювання респіраторного тракту спричиняють неабиякі фінансові витрати як з боку пацієнта і його родичів, так і з боку держави. Діти, хворі на алергічні захворювання респіраторного тракту, внаслідок порушення функціонування захисних епітеліальних бар'єрів, стають більш вразливими щодо різного роду інфекційних агентів, які, відповідно, виступають тригерами алергічного запалення. Одними з основних складових, що забезпечують захисну функцію епітеліальних бар'єрів, проявляючи противірусну, антимікробну та імуномодуючу дію, є антимікробні пептиди (АМП), зокрема їх найбільш вивчені сімейства – кателіцидин та людські дефензини. На сьогоднішній день, даних про стан продукції антимікробних пептидів та їх вплив на респіраторну захворюваність у дітей з алергічними захворюваннями в сучасній літературі недостатньо. Крім того, перспективним вбачається дослідження впливу прийому пробіотичних бактерій, зокрема *Lactobacillus rhamnosus GG*, на показники місцевого імунітету слизових оболонок верхніх дихальних шляхів у дітей з бронхіальною астмою та алергічним ринітом, і показники гострої респіраторної захворюваності у даного контингенту хворих.

Метою дослідження стало вивчення концентрацій людського β -2 дефензину (HbD-2) та кателіцидину (LL-37) в секреті слизових оболонок верхніх дихальних шляхів (ВДШ) у дітей з бронхіальною астмою та алергічним ринітом, визначення чинників, які на них впливають, та оцінка ефективності застосування пробіотичного препарату, що містить *Lactobacillus rhamnosus GG*, з метою профілактики вірус-індукованих загострень даної алергічної патології.

Матеріали та методи. Було проведено клініко-лабораторне обстеження 76 дітей віком від 7 до 17 років, з яких у 24 був діагностований алергічний риніт, у 28 дітей – бронхіальна астма, а у 24 – бронхіальна астма та алергічний риніт. Групу контролю склали 20 клінічно здорових дітей відповідного віку та статі. Окрім загально-клінічних методів дослідження, застосовано аналіз патернів респіраторної захворюваності та визначення концентрацій антимікробних пептидів: кателіцидину (LL-37), людського β -дефензину 2 (HbD-2) – у секреті верхніх дихальних шляхів методом ІФА та методи статистичного аналізу.

Результати досліджень. У дітей з алергічним ринітом і бронхіальною астмою виявлене суттєве зниження концентрацій антимікробних пептидів в секреті верхніх дихальних шляхів у порівнянні з групою контролю. Рівні концентрацій HbD-2 у дітей, хворих на АР, були нижчі в середньому на $(22,31 \pm 2) \%$, у дітей, хворих на БА – на $(41,83 \pm 3) \%$, а при поєднанні цих нозологій – на $(49,8 \pm 3) \%$. Показники концентрацій LL-37 у дітей, хворих на АР, були нижчими ніж в контролі на $(51,69 \pm 5) \%$, при БА – на $(62,92 \pm 5) \%$, при БА та АР – на $(59,55 \pm 5) \%$.

Виявлено негативний вплив на рівні концентрацій АМП в секреті верхніх дихальних шляхів ступеня тяжкості алергічних захворювань, відсутності контролю симптомів, наявності випадків atopічних захворювань у сімейному анамнезі та пасивного тютюнопаління. Позитивно на рівні концентрацій АМП впливали: відсутність симптомів захворювання, прийом препаратів базисної терапії та загальна тривалість грудного вигодовування. Встановлено, що існує зворотний зв'язок між рівнями АМП та частотою ($r = -0,65$, $p < 0,05$) і тривалістю ($r = -0,48$, $p < 0,05$) ГРВІ у дітей з групи БА.

Прийом пробіотичного препарату, що містить штам *Lactobacillus rhamnosus GG*, протягом 1 місяця додатково до базисної терапії алергічного риніту та бронхіальної астми сприяв достовірному підвищенню рівнів HbD-2 (в середньому на 27%) та LL-37 (в середньому на 60%) в секреті верхніх дихальних шляхів, що супроводжувалось зниженням протягом наступного року частоти ГРВІ – в середньому на 26%, зменшенням середньої тривалості одного епізоду (на 22 %) та зниженням частоти вірус-індукованих загострень алергічної патології на 16,5%.

Висновки. При алергічних захворюваннях дихальних шляхів спостерігається зниження концентрацій антимікробних пептидів HbD-2 та LL-37 у секреті слизової оболонки ВДШ. При цьому ступінь порушень визначається найбільшою мірою ступенем активності алергічного запалення та наявністю симптомів алергії. Зниження рівнів концентрації АМП у секреті слизової оболонки ВДШ у дітей з бронхіаль-



ною астмою асоційовано з підвищенням частоти та тривалості ГРВІ. Прийом хворими на алергічні захворювання пробіотичного препарату, що містить *Lactobacillus rhamnosus GG*, сприяє підвищенню рівнів концентрації АМП в секреті ВДШ, профілактиці ГРВІ та зниженню частоти вірус-індукованих загострень.

Ключові слова: діти, бронхіальна астма, алергічний риніт, антимікробні пептиди, кателіцидин, LL-37, людський дефензин бета-2, HbD-2, пробіотичний препарат, *Lactobacillus rhamnosus GG*, LGG.

Possibilities of correction of mucosal immunity of the upper respiratory tract in children with bronchial asthma and allergic rhinitis.

Vilenskyi Y.V.

Abstract. Introduction. Chronic allergic diseases of the respiratory tract have been and remain a global problem. For several decades, the incidence of bronchial asthma (BA) and allergic rhinitis (AR) has been steadily rising. Significantly deteriorating the quality of life of sick children, allergic diseases of the respiratory tract cause considerable financial costs, both on the part of the patient and his relatives, and on the part of the state. Children with allergic diseases of the respiratory tract, due to the dysfunction of protective epithelial barriers, become more prone to the penetration of various infectious agents, which in turn act as triggers of allergic inflammation. Antimicrobial peptides (AMPs), including their most studied families, cathelicidin and human defensins, are among the main components that provide the protective function of epithelial barriers by exhibiting antiviral, antimicrobial, and immunomodulatory effects. To date, data on the state of production of antimicrobial peptides and their impact on respiratory morbidity in children with allergic diseases in the modern literature are insufficient. In addition, the study of the effect of probiotic bacteria, in particular *Lactobacillus rhamnosus GG*, on local immunity of the upper respiratory mucosa in children with bronchial asthma and allergic rhinitis, and indicators of acute respiratory morbidity in this group is promising.

The aim was to study the concentrations of human β -2 defensin (H β D-2) and cathelicidin (LL-37) in the secretion of the mucous membranes of the upper respiratory tract in children with bronchial asthma and allergic rhinitis, to determine the factors that affect them, and evaluation of the effectiveness of a probiotic preparation containing *Lactobacillus rhamnosus GG*, in order to prevent virus-induced exacerbations of this allergic pathology.

Materials and methods. Clinical and laboratory examination of 76 children aged 7 to 17 years was performed, of which 24 were diagnosed with allergic rhinitis, 28 children - bronchial asthma, and 24 - bronchial asthma and allergic rhinitis. The control group consisted of 20 clinically healthy children of appropriate age and sex. In addition to general clinical, research methods included analysis of respiratory disease patterns, determination of concentrations of antimicrobial peptides: cathelicidin (LL-37), human β -defensin 2 (HbD-2) in the secretion of the upper respiratory tract by ELISA and statistical analysis.

The results of the study. In children with allergic rhinitis and bronchial asthma, a significant decrease in the concentrations of antimicrobial peptides in the secretion of the upper respiratory tract compared with the control group. Levels of HbD-2 concentrations in children with AR were lower by an average of (22.31 $\pm$ 2)%, in children with asthma - by (41.83 $\pm$ 3)%, and with a combination of these nosologies - by (49.8 $\pm$ 3)%. Indicators of LL-37 concentrations in children with AR were lower than in the control by (51.69 $\pm$ 5)%, with asthma - by (62.92 $\pm$ 5)%, with asthma and AR - by (59.55 $\pm$ 5)%.

The negative impact on the level of AMP concentrations in the secretion of the upper respiratory tract of the severity of allergic diseases, lack of control of symptoms, the presence of cases of atopic diseases in the family history and passive smoking. The level of AMP concentrations was positively affected by the absence of symptoms of the disease, the use of basic therapy drugs and the total duration of breastfeeding. It was found that there is an inverse relationship between AMP levels and the frequency ($r = -0.65$, $p < 0.05$) and duration ($r = -0.48$, $p < 0.05$) of acute respiratory viral infection in children from the asthma group.

Taking a probiotic drug containing a strain of *Lactobacillus rhamnosus GG* for 1 month in addition to the basic therapy of allergic rhinitis and bronchial asthma, contributed to a significant increase in levels of HbD-2 (average 27%) and LL-37 (average 60%) in secretions of the upper respiratory tract, which was accompanied by a decrease in the incidence of acute respiratory viral infection over the next year - an average of 26%, a decrease in the average duration of one episode by 22% and a decrease in the frequency of virus-induced exacerbations by 16.5%.

Conclusions. In allergic respiratory diseases, there is a decrease in the concentrations of antimicrobial peptides HbD-2 and LL-37 in the secretion of the mucous membrane of the airways. The degree of disorders is determined to the greatest extent by the degree of activity of allergic inflammation and the presence of allergy symptoms. Decreased levels of AMP in the secretion of the airway mucosa in children with bronchial asthma are associated with an increase in the frequency and duration of acute respiratory viral infection. Taking a probiotic preparation containing *Lactobacillus rhamnosus GG* in patients with allergic diseases helps to increase the levels of AMP in the secretion of upper respiratory tract, prevention of acute respiratory viral infection and reduce the frequency of virus-induced exacerbations.

Key words: children, bronchial asthma, allergic rhinitis, antimicrobial peptides, cathelicidin, LL-37, human defensin beta-2, HbD-2, probiotic preparation, *Lactobacillus rhamnosus GG*, LGG.

Вступ

Незважаючи на значні досягнення сучасної медицини, бронхіальна астма (БА) та алергічний риніт (АР) залишаються актуальною проблемою педіатрії, внаслідок прогресуючого зростання захворюваності на ці патології, їх мультифакторність, ранню маніфестацію, труднощі у діагностиці та досягненні контролю симптомів. У світі близько 339 мільйонів людей хворіють на бронхіальну астму [6] та близько 400 мільйонів людей страждають від алергічного риніту [8]. Разом з цим, АР та БА дуже часто співіснують, погіршуючи перебіг одне одного [1]. Дослідження доводять, що коморбідність АР та БА асоціюється з важчим досягненням контролю симптомів БА, незалежно від рівня алергенної сенситілізації [3].

Відомо, що алергічні захворювання супроводжуються порушенням епітеліальних бар'єрів. Вони стають більш проникними не тільки для алергенів, але й для інфекційних агентів. При цьому інфекція є одним з важливих тригерів алергічного запалення (зокрема, респіраторна вірусна інфекція при бронхіальній астмі, алергічному риніті, кропив'янці тощо). Одним з важливих компонентів епітеліальних бар'єрів є антимікробні пептиди (АМП) – широкий клас природних молекул, невід'ємна частина вродженої імунної системи всіх багатоклітинних організмів. Доведено, що АМП виконують багато функцій і забезпечують противірусну, антибактеріальну, протигрибкову та навіть імуномодулюючу дію [7, 12]. Одними з найбільш вивчених на сьогоднішній день сімейств АМП є кателіцидин та представники людських дефензинів [2, 4].

Людські β -дефензини (HbD) експресуються в усіх епітеліальних тканинах, в тому числі і в епітелії порожнини рота. Вони присутні в епітелії ясен, язика, слинних залоз і слизовій оболонці ротової порожнини та проявляють противірусну дію по відношенню до аденовірусу, вірусів грипу А, вірусів простого герпесу 1 та 2 типів, а також РС-вірусу шляхом інгібіції проникнення вірусу у клітину, руйнування вірусної оболонки та інактивації віріона. HbD приймають участь в імунній відповіді з перших годин запалення, посилюючи міграцію моноцитів в осередок запалення та стимулюючи продукцію фактору росту епітеліальних клітин [4]. Кателіцидин (LL-37) являє собою катіоноактивну молекулу, яка складається з 37 амінокислотних залишків, та експресується в гранулах нейтрофілів та кліти-

нах епітелію. Як і всі АМП, він має широкий спектр антимікробної активності проти грам-негативних і грампозитивних бактерій, а також проявляє антивірусну дію, зокрема індукує пряме пошкодження вірусної оболонки респіраторно-синцитіального вірусу та забезпечує синергічний антибактеріальний ефект з HbD [14].

Відомо, що рівні концентрацій LL-37 та HbD-2 у секреті верхніх дихальних шляхів підвищуються в процесі гострого запалення, зокрема викликаному риновірусом людини, вірусами грипу та респіраторно-синцитіальним вірусом [4, 5]. А при хронічних запальних захворюваннях ротової порожнини, в тому числі і при каріозному процесі, навпаки, знижуються. Також є дані про зниження концентрацій АМП на поверхні слизових оболонок респіраторного тракту при алергічних захворюваннях, зокрема, при atopічному дерматиті [3, 8]. Втім, роль HbD та LL-37, як факторів захисту при алергічних захворюваннях дихальної системи на сьогоднішній день вивчена недостатньо. Можна припустити, що у дітей з алергічними захворюваннями спостерігаються деякі дефекти синтезу АМП, але літературні дані щодо цієї теми, на сьогоднішній день обмежені та несистемні.

Також варто зауважити, що в ряді досліджень було доведено позитивний вплив окремих пробіотичних штамів, зокрема *Lactobacillus rhamnosus GG (LGG)* на резистентність до респіраторної вірусної інфекції. Так, відмічається, що прийом *LGG* сприяв зменшенню кількості днів пропусків у дитячих шкільних та дошкільних закладах, зумовлених респіраторною інфекцією, зниженню загальної захворюваності на ГРПІ, зменшенню числа випадків призначення антибіотиків. Також доведено профілактичну дію *LGG* щодо розвитку atopічних захворювань, завдяки механізму збудження імунної відповіді типу Th1 і зниження запальної реакції [7, 9]. Тому перспективним вбачається вивчення впливу прийому пробіотичного засобу, що містить штам *LGG*, на фактори місцевого захисту слизової оболонки респіраторного тракту у контексті профілактики гострих респіраторних інфекцій у дітей з респіраторними алергічними захворюваннями.

Мета дослідження

Вивчення концентрацій людського β -2 дефензину (HbD-2) та кателіцидину (LL-37)



в секреті слизових оболонок верхніх дихальних шляхів (ВДШ) у дітей з бронхіальною астмою та алергічним ринітом, визначення чинників, які на них впливають, та оцінка ефективності застосування пробіотичного препарату, що містить *Lactobacillus rhamnosus GG*, з метою профілактики вірус-індукованих загострень даної алергічної патології.

Матеріали та методи

Дослідження проводилось на базі КП «Спеціалізований медико-реабілітаційний центр для дітей та підлітків» ДОР з вересня 2018 по січень 2020 рр. (директор – к.мед.н. Коваленко Т. Ю.). Проведення наукової роботи дозволено Комісією з питань біомедичної етики Державного закладу «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України».

Проведено клініко-лабораторне обстеження 76 дітей віком від 7 до 17 років, з яких у 24 був діагностований алергічний риніт, у 28 – бронхіальна астма, а у 24 – бронхіальна астма та алергічний риніт. Групу контролю склали 20 клінічно здорових дітей відповідного віку та статі.

Критеріями включення дітей у дослідження були: інформована згода батьків на участь у дослідженні, верифікований діагноз бронхіальної астми та/або алергічного риніту тривалістю не менше ніж 1 рік, вік від 7 до 17 років. Критерії виключення: наявність хронічних неалергічних, спадкових та вроджених захворювань бронхолегеневої системи, загострення хронічної алергічної або неалергічної патології дихальних шляхів, наявність на момент дослідження гострого інфекційного захворювання, прийом системних чи місцевих протимікробних або пробіотичних засобів протягом 1 місяця до початку дослідження.

Діагноз бронхіальної астми та алергічного риніту встановлювався на основі Уніфікованого протоколу первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги «Бронхіальна астма у дітей» МОЗ України № 868 від 08 жовтня 2013 та Наказу МОЗ України «Про затвердження Протоколів діагностики та лікування алергологічних хвороб у дітей» № 767 від 27.12.2005.

Анамнестичні дані оцінювали за допомогою анкетування батьків та аналізу медичної документації дитини. Усім дітям проводилось стандартне клініко-лабораторне обстежен-

ня, передбачене відповідними національними нормативними документами, включаючи визначення рівнів загального імуноглобуліну E (IgE) та ідентифікацію причинно-значущих алергенів за допомогою шкірних прик-тестів або визначення специфічних IgE в сироватці крові. Окрім цього були проаналізовані патерни респіраторної захворюваності: частота, тривалість та характер гострих респіраторних інфекцій протягом останніх трьох років.

Кількісне визначення рівня антимікробних пептидів у секреті ВДШ було проведено за допомогою імуноферментного аналізу (Human LL-37 ELISA test kit, Human HbD-2 ELISA test kit, Nycult biotech, Нідерланди). Досліджуваний матеріал (1 мл змішаної нестимульованої слини) збирали в першій половині дня, натщесерце, до проведення гігієнічних процедур порожнини рота, шляхом безпосереднього стікання слини в пробірку. Зібраний матеріал центрифугували зі швидкістю 3000 об / хв. протягом 15 хвилин. Для дослідження використовували надосадову рідину. Імунологічні дослідження виконувались в Лікувально-діагностичному центрі ТОВ «Аптеки медичної академії», м. Дніпро (завідувач лабораторією – к.біол.н. О. В. Братусь).

З метою вивчення ефективності застосування пробіотичного препарату, що містить *LGG*, дітей з алергічною патологією методом пар-копій було розділено на дві групи: основну групу склали 38 дітей, які в комплексі лікувальних заходів додатково приймали пробіотичний препарат, що містив 10 мільярдів KVO *LGG* у добовій дозі протягом 1 місяця, а до групи порівняння увійшло 38 дітей, які отримували лише стандартне лікування (базисна терапія).

Статистичну обробку даних проводили за допомогою стандартних пакетів прикладного статистичного аналізу для Statistica for Windows v. 6.1 та Microsoft Excel. Перевірка нормальності розподілу кількісних показників проводилась за допомогою критерію Шапіро – Уїлка. Оскільки переважна більшість отриманих даних характеризувалась типом розподілу, що відрізняється від нормального, при статистичному аналізі результатів дослідження розраховувались непараметричні показники: кількісні дані представлені у вигляді медіани (Me) та інтерквартильного розмаху (IQR) – Q1(25-й перцентиль) і Q3 (75-й перцентиль). Для оцінки вірогідності відмінностей між незалежними групами для кількісних ознак використовувався критерій

Манна – Уїтні (U). Для визначення зв'язку між досліджуваними параметрами розраховували показники рангової кореляції Спірмена. Критичне значення рівня значущості (p) приймалося $<5\%$ ($p < 0,05$). Для визначення зв'язку між якісними показниками використовували відношення шансів (ВШ) з 95% довірчим інтервалом (95% ДІ) і p-значенням.

Результати досліджень

Середній вік обстежених дітей становив ($10,0 \pm 0,2$) року. Серед дітей, які були включені у дослідження, переважна більшість дітей ($94,7\%$) були у віці від 7 до 15 років. При аналізі гендерної складової було виявлено переважання хлопчиків у групах БА та БА+АР – ($57,1 \pm 9\%$) та ($83,3 \pm 7\%$) відповідно. Дівчат було дещо більше лише у групі з ізолюваним АР ($58,3 \pm 10\%$).

Серед хворих на АР середня тривалість захворювання складала ($5,1 \pm 0,48$) року, а у групі з поєднанням АР та БА вона становила ($6,1 \pm 0,41$) року. При ізолюваному АР хворих із сезонними проявами захворюваннями було ($58,3 \pm 10\%$), а при поєднанні з БА їх частка суттєво знижувалась і складала ($41,6 \pm 9\%$), ($p < 0,05$). Помірний ступінь важкості риніту при ізолюваному АР зареєстровано у ($54,1 \pm 10\%$) випадків, при поєднанні з БА – у ($50 \pm 9\%$) пацієнтів. Серед пацієнтів з ізолюваним АР, на момент включення у дослідження, терапію отримували ($75 \pm 8\%$). У групі дітей, хворих на БА та АР, медикаментозну терапію алергічного риніту отримували ($70,83 \pm 9\%$) пацієнтів. Серед пацієнтів, які отримували терапію, у групі дітей з АР контрольований перебіг риніту спостерігався у ($94,44 \pm 5\%$) випадків, а у групі дітей БА+АР – у ($88,24 \pm 7\%$) випадків. Контрольований перебіг риніту у пацієнтів, які не отримували терапію, спостерігався у ($83,3 \pm 5\%$) випадків у групі дітей з ізолюваним АР, та у ($85,71 \pm 13\%$) випадків в групі дітей БА+АР.

У групі БА середня тривалість захворювання складала ($5,7 \pm 0,41$) року, у групі з поєднанням БА та АР вона становила ($6,6 \pm 0,42$) року. На момент встановлення діагнозу серед дітей із ізолюваною БА переважали пацієнти з інтермітуючим перебігом ($53,5 \pm 9\%$). Легка персистуюча астма була виявлена у ($28,7 \pm 9\%$) пацієнтів, а персистуюча астма середнього ступеня важкості – у ($17,8 \pm 7\%$). У групі з поєднанням БА та АР частка дітей з інтермітуючою астмою становила ($66,6 \pm 9\%$), ($p < 0,05$), у решти пацієнтів

було діагностовано легку персистуючу астму ($33,4 \pm 9\%$). Серед пацієнтів з ізолюваною БА на момент включення у дослідження терапію отримували ($17,8 \pm 9\%$). Серед дітей, хворих на БА та АР, базисну терапію БА отримували ($12,5 \pm 8\%$). Серед пацієнтів, які отримували базисну терапію, у групі дітей з БА контрольований перебіг астми спостерігався у ($80 \pm 7\%$) випадків, а у групі дітей БА+АР – у ($66,6 \pm 5\%$) випадків. Серед пацієнтів, які не отримували базисну терапію, у групі дітей з ізолюваною БА контрольований перебіг спостерігався у ($91 \pm 5\%$) випадків, а у групі дітей БА+АР – у ($85,7 \pm 7\%$) випадків.

При аналізі патернів респіраторної захворюваності виявилось, що за останні три роки, діти з алергічними хворобами дихальних шляхів хворіли на ГРВІ в середньому на 30% частіше, ніж їх здорові однолітки з контрольної групи. Найвищою середня частота гострих респіраторних захворювань виявилась у хворих на БА ($3,8 \pm 0,56$ епізодів на рік). Вони хворіли не тільки майже у 2 рази частіше, ніж діти контрольної групи ($1,9 \pm 0,19$ епізодів на рік; $p < 0,05$), але й достовірно частіше, ніж діти з АР ($2,9 \pm 0,56$ епізодів на рік; $p < 0,05$). Майже такою ж високою була захворюваність на ГРВІ у групі з поєднанням АР та БА ($3,6 \pm 0,49$ епізодів на рік). І хоча найнижчою частота ГРВІ була у дітей з ізолюваним АР, але все одно вона виявилась достовірно вищою, ніж у групі контролю. На фоні перенесених ГРВІ погіршення симптомів алергічних захворювань, які потребували корекції лікувального плану, спостерігалось у $81 \pm 0,8\%$ дітей в групі БА, у $83 \pm 0,7\%$ в групі БА+АР та у $53 \pm 1,2\%$ пацієнтів у групі АР. Це супроводжувалось подовженням середньої тривалості одного епізоду захворювання на ГРВІ. Найбільшим цей показник виявився в групі дітей, хворих на БА та АР ($18,3 \pm 0,28$ днів), що майже у 2,6 рази більше ніж у групі контролю ($7,2 \pm 0,27$ днів), тоді як при ізолюваній БА середня тривалість одного епізоду ГРВІ складала ($13,4 \pm 0,13$) днів, а при АР ($10,8 \pm 0,30$) днів.

Рівні концентрацій HbD-2 у секреті верхніх дихальних шляхів у дітей з алергічними захворюваннями виявились достовірно нижчими у порівнянні з групою контролю (табл. 1): в середньому в 1,2 рази у дітей з групи АР, у 1,6 рази в дітей з групи БА та в 2 рази – у дітей із поєднанням цих нозологій. При цьому відмінності у рівнях концентра-



цій HbD-2 в секреті верхніх дихальних шляхів у дітей між групами теж виявились статистично значущими.

Ми також виявили достовірне зниження концентрацій LL-37 в секреті верхніх дихальних шляхів у дітей всіх досліджуваних

груп порівняно з показниками групи контролю: в середньому в 2 рази у дітей з групи АР, в 2,9 разу у дітей із групи БА та в 2,4 разу у дітей із поєднанням цих нозологій. Найнижчі рівні LL-37 було зареєстровано у хворих на БА.

Таблиця 1

**Середні концентрації антимікробних пептидів HbD-2 (pg/ml)
та LL-37 (ng/ml) у секреті ВДШ дітей досліджуваних груп**

Групи	HbD-2	LL-37
АР (n=24)	194±0,77 ^{*,0}	0,43±0,006 ^{*,0}
БА (n=28)	152±5,12 ^{*,^}	0,30±0,01 ^{*,^}
БА+АР (n= 24)	125±2,32 ^{*,#}	0,36±0,006 ^{*,#}
Контроль (n=20)	250±0,99	0,88±0,01

Примітки: 1) * - $p < 0,05$ у порівнянні з групою контролю; 2) ⁰ - $p < 0,05$ у порівнянні з групою БА; 3) # - $p < 0,05$ у порівнянні з групою АР; 4) [^] - $p < 0,05$ у порівнянні з групою БА+АР.

Кореляційний аналіз засвідчив, що рівні концентрацій досліджуваних АМП зворотно залежали від ступеня важкості алергічної патології. Так, виявлено зв'язок середньої сили між концентрацією LL-37 в секреті верхніх дихальних шляхів та ступенем важкості АР ($r = -0,68$, $p < 0,05$), ступенем важкості БА ($r = -0,54$, $p < 0,05$), а також між концентрацією в секреті ротової порожнини HbD-2 та ступенем важкості АР ($r = -0,64$, $p < 0,05$). Сильний негативний зв'язок відзначався між концентрацією HbD-2 в секреті верхніх дихальних шляхів та ступенем важкості БА ($r = -0,86$, $p < 0,05$).

Зниження концентрацій обох АМП було пов'язане з наявністю симптомів БА (HbD-2 – ВШ=45; 95 % ДІ: 2,34 – 869; $p < 0,05$, LL-37 – ВШ=7,2; 95% ДІ: 1,14 – 45,1; $p < 0,05$).

У пацієнтів з БА, які на момент проведення дослідження отримували базисну терапію, рівні концентрацій як LL-37, так і HbD-2 у секреті верхніх дихальних шляхів були достовірно вищі (LL-37: ВШ=17,2; 95 % ДІ: 3,47 – 85,5; $p < 0,05$; HbD-2: ВШ=8,25; 95 % ДІ: 2,35 – 29,3; $p < 0,05$). Підвищення рівнів концентрацій АМП не залежало від характеру базисної терапії (інгаляційні стероїди чи антилейкотрієнові препарати).

У той же час ми не виявили залежності рівнів концентрацій АМП в секреті ВДШ від тривалості алергічних захворювань, рівня еозинофілії, концентрацій IgE в сироватці крові, характеру сенсibiliзації та віком, у якому вперше був встановлений діагноз алергічного захворювання.

При аналізі впливу медико-біологічних факторів ми виявили, що пасивне куріння сприяє зниженню рівнів концентрацій HbD-2

(ВШ=4; 95 % ДІ: 1,5 – 10; $p < 0,05$) та рівнів концентрацій LL-37 у секреті верхніх дихальних шляхів (ВШ=3,2; 95% ДІ: 1,2– 8,4; $p < 0,05$). Наявність у сімейному анамнезі випадків atopічних захворювань по жіночій лінії сприяє зниженню рівнів концентрацій HbD-2 у секреті верхніх дихальних шляхів у групі дітей БА+АР (ВШ=12; 95 % ДІ: 0,97 – 148; $p < 0,05$) та в групі дітей АР (ВШ=19,9; 95 % ДІ: 0,97 – 408; $p < 0,05$). Наявність у самих пацієнтів atopічного дерматиту в анамнезі також сприяла зниженню рівнів концентрацій HbD-2 (ВШ=8,1; 95% ДІ: 1,4 – 47; $p < 0,05$), та рівнів концентрацій LL-37 (ВШ=9; 95% ДІ: 1,5–50; $p < 0,05$) у секреті верхніх дихальних шляхів. У той же час було встановлено достовірну пряму залежність між рівнями концентрацій АМП та загальною тривалістю грудного вигодовування (ГВ). Виявлено слабкий зв'язок між рівнем концентрації HbD-2 та загальною тривалістю ГВ у дітей групи БА ($r = 0,33$, $p < 0,05$). Зв'язок середньої сили було відзначено у групі АР, як з рівнем концентрації HbD-2 ($r = 0,40$, $p < 0,05$), так і з рівнем концентрації LL-37 ($r = 0,41$, $p < 0,05$). Найсильнішим виявився зв'язок між загальною тривалістю ГВ та рівнем концентрації HbD-2 у групі БА+АР ($r = 0,80$, $p < 0,05$). Ми не виявили залежностей між рівнями концентрацій АМП в секреті ВДШ та місцем проживання і наявністю супутньої хронічної неалергічної патології.

Аналіз зв'язків між рівнями АМП та показниками гострої респіраторної захворюваності дітей, хворих на АР та БА, виявив наявність зворотного зв'язку середньої сили між частотою ГРВІ за останні три роки та рівнем концентрації LL-37 в групі дітей з БА ($r = -0,65$, $p < 0,05$),

а також зворотний слабкий зв'язок між концентраціями LL-37 та H β D-2 в секреті ротової порожнини та середньою тривалістю одного епізоду ГРВІ при БА ($r=-0,31$, $p<0,05$ та $r=-0,48$, $p<0,05$ відповідно).

Як демонструють наші попередні дослідження [15], навіть при повній відсутності симптомів, незалежно від проведеної базисної терапії чи без неї, рівні концентрацій АМП у секреті ротової порожнини залишаються зниженими, тому ми вважаємо, що з ціллю профілактики ГРВІ у досліджуваного контингенту хворих було б доцільно використовувати пробіотичні препарати, що містять штам *LGG*, з огляду на те, що ці препарати довели свою ефектив-

ність при профілактиці ГРВІ, а також враховуючи їх потенційний вплив на продукцію АМП.

Через 1 місяць прийому пробіотичного препарату ми спостерігали суттєвий приріст рівнів концентрацій АМП у секреті верхніх дихальних шляхів. Так, рівень концентрацій H β D-2 в динаміці зріс майже на 27%, практично до рівнів контрольної групи, на відміну від групи порівняння (рис. 1).

Ще більш вираженим виявилось збільшення рівнів концентрації LL-37 у секреті ротової порожнини – після прийому *LGG* протягом 1 місяця вони зросли майже на 60%, тоді як у групі порівняння відмінності були незначними (рис. 2).

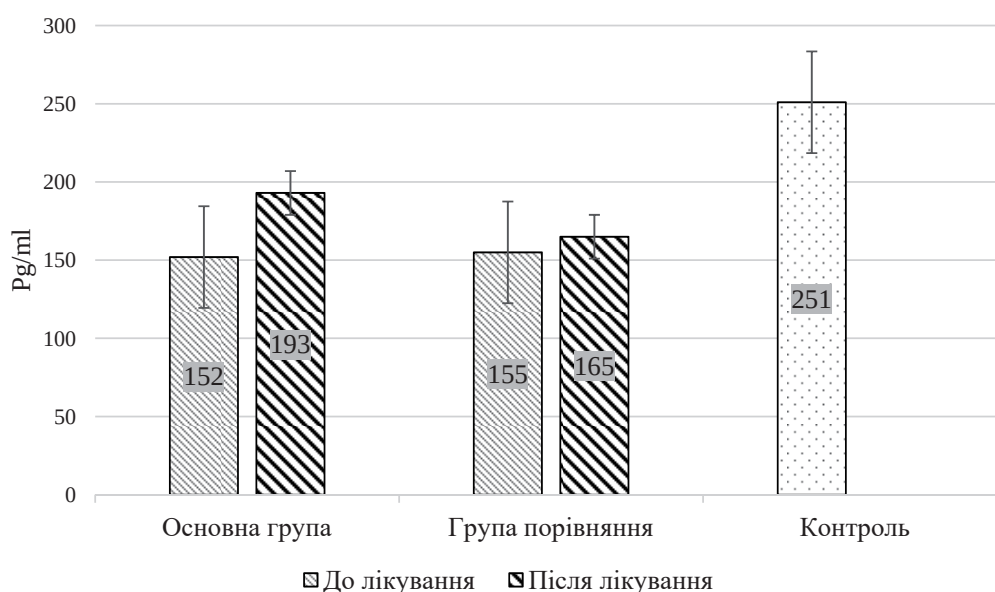


Рис. 1. Динаміка рівнів H β D-2 в секреті верхніх дихальних шляхів у дітей досліджуваних груп у процесі лікування (медіана, pg/ml)

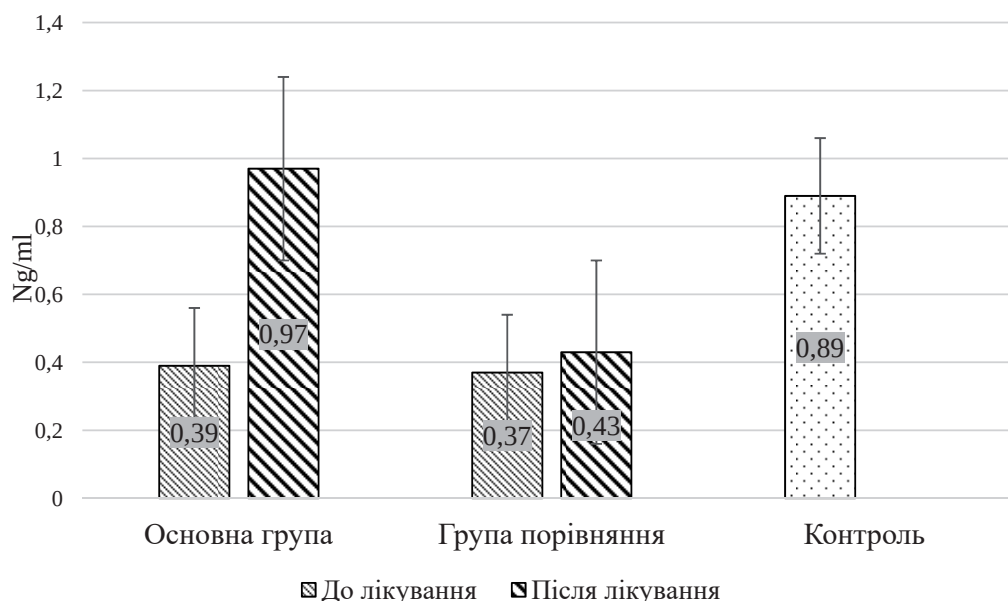


Рис. 2. Динаміка рівнів LL-37 в секреті верхніх дихальних шляхів у дітей досліджуваних груп у процесі лікування (медіана, ng/ml)



Катамнестичне спостереження протягом 1 року показало суттєве зниження частоти ГРВІ у дітей з основної групи, в середньому на 26%. Максимальний ефект зниження частоти ГРВІ спостерігався протягом перших 3 місяців спостереження. Крім того, у дітей з основної групи протягом наступного після проведеного лікування року на 16,5% зменшилась частота вірус-індукованих загострень алергічних захворювань, тоді як у групі порівняння вона знизилась всього на 3%. Зменшення частоти загострень алергічної патології та інших ускладнень ГРВІ супроводжувалось достовірним зниженням середньої тривалості одного епізоду захворювання, в загальному на 22,6%. В групі порівняння зниження середньої тривалості ГРВІ було не суттєвим і залишилось майже на тому самому рівні.

Узагальнюючи вищевикладені дані, можна стверджувати, що прийом пробіотичного препарату, який містить штам *LGG*, протягом 1 місяця призводив до приросту рівнів концентрацій АМП у секреті верхніх дихальних шляхів, що супроводжувалось достовірним зниженням як частоти гострої респіраторної інфекції, так і загострень алергічних захворювань, пов'язаних з респіраторними інфекціями. Відповідно до існуючих уявлень, механізм впливу *LGG* на продукцію АМП, скоріше за все, може бути опосередкований мікробіомом кишківника [16, 13, 12]. Метаболіти *LGG*, отримані після ферментації пребіотика мікробіомом кишечника, шляхом зв'язування з рецепторами жирних кислот активують сигнальний білок STAT3, дозволяючи модулювати гени для збільшення експресії АМП [10]. Позитивний вплив *LGG* на показники респіраторної захворюваності, на нашу думку, може

бути пов'язаним з підвищенням рівнів концентрацій АМП у секреті верхніх дихальних шляхів, хоча, ймовірно, існують і інші механізми, вивчення яких може стати метою подальших досліджень.

Висновки

1. У дітей з алергічним ринітом і бронхіальною астмою виявлене суттєве зниження концентрацій антимікробних пептидів у секреті верхніх дихальних шляхів, найбільш виражене при поєднанні бронхіальної астми та алергічного риніту.

2. Виявлено негативний вплив на рівні концентрацій АМП у секреті верхніх дихальних шляхів ступеня тяжкості алергічних захворювань, відсутності контролю симптомів, наявності випадків atopічних захворювань у сімейному анамнезі та пасивного тютюнопаління. Тоді як позитивно на рівні концентрацій АМП впливали: відсутність симптомів захворювання, прийом препаратів базисної терапії та загальна тривалість грудного вигодовування.

3. Встановлено, що низькі концентрації АМП у дітей з алергічними захворюваннями респіраторного тракту асоційовані зі збільшенням частоти та тривалості ГРВІ.

4. Прийом пробіотичного препарату, що містить штам *Lactobacillus rhamnosus GG* протягом 1 місяця призвів до достовірного відновлення рівнів концентрації HbD-2 та LL-37 у секреті верхніх дихальних шляхів, що супроводжувалось зниженням частоти, зменшенням середньої тривалості ГРВІ та зниженням частоти вірус-індукованих загострень протягом наступного року.

ЛІТЕРАТУРА

1. Bousquet J, Hellings PW, Agache I, Bedbrook A, Bachert C, Bergmann KC, et al. ARIA 2016: Care pathways implementing emerging technologies for predictive medicine in rhinitis and asthma across the life cycle. *Clinical and Translational Allergy*. 2016;6:47. DOI: 10.1186/s13601-016-0137-4
2. Currie SM, Gwyer Findlay E, McFarlane AJ, et al. Cathelicidins Have Direct Antiviral Activity against Respiratory Syncytial Virus In Vitro and Protective Function In Vivo in Mice and Humans. *J Immunol*. 2016;196(6):2699-2710. doi:10.4049/jimmunol.1502478
3. de Groot, Eric & Nijkamp, Anke & Duiverman, Eric & Brand, Petrus. (2012). Allergic rhinitis is associated with poor asthma control in children with asthma. *Thorax*. 67. 582-7. 10.1136/thoraxjnl-2011-201168.
4. Dora Patricia Rosete Olvera and Carlos Cabello Gutiérrez (November 5th 2018). Multifunctional Activity of the β -Defensin-2 during Respiratory Infections, Immune Response Activation and Immunomodulation, Rajeev K. Tyagi and Prakash S. Bisen, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.80611.
5. Gibson GJ, Loddenkemper R, Lundbäck B, Sibille Y. Respiratory health and disease in Europe: the new European Lung White Book. *Eur Respir J*. 2013;42(3):559-563. doi:10.1183/09031936.00105513



6. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet* 2017; 390: 1211–59.
7. Mahlapuu M, Håkansson J, Ringstad L, Björn C. Antimicrobial Peptides: An Emerging Category of Therapeutic Agents. *Front Cell Infect Microbiol*. 2016;6:194. Published 2016 Dec 27. doi:10.3389/fcimb.2016.00194
8. Meltzer EO, Bukstein DA. The economic impact of allergic rhinitis and current guidelines for treatment. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2011;106(2 Suppl):S12-S16. doi:10.1016/j.anai.2010.10.014
9. Milani M. Approaching atopic dermatitis treatment differently: from skin barrier preservation to allergen-specific immunotherapy. *Immunotherapy*. 2012;4(6):561-564. doi:10.2217/imt.12.47
10. Prebiotics: Mechanisms and Preventive Effects in Allergy Carole Brosseau, Amandine Selle, Debra J. Palmer, Susan L. Prescott, Sébastien Barbarot, Marie Bodinier *Nutrients*. 2019 Aug; 11(8): 1841. Published online 2019 Aug 8. doi: 10.3390/nu11081841
11. Villena, J., Chiba, E., Tomosada, Y. et al. Orally administered *Lactobacillus rhamnosus* modulates the respiratory immune response triggered by the viral pathogen-associated molecular pattern poly(I:C). *BMC Immunol* 13, 53 (2012). <https://doi.org/10.1186/1471-2172-13-53>
12. Vladimir Ivashkin, Oxana Zolnikova, Nino Potskherashvili, Alexander Trukhmanov, Natalia Kokina, Natiya Dzhakhaya, A correction of a gut microflora composition for the allergic bronchial asthma complex therapy, *Italian Journal of Medicine: Vol. 12 No. 4* (2018). <https://doi.org/10.4081/itjm.2018.931>
13. Zhang LJ, Gallo RL. Antimicrobial peptides. *Curr Biol*. 2016;26(1):R14-R19. doi:10.1016/j.cub.2015.11.017
14. Абатуров А.Е., Крючко Т.А., Леженко Г.А., Завгородняя Н.Ю. Антимикробные пептиды и протеины респираторного тракта, диагностическая значимость и терапевтические возможности. Монография. Харьков : Планета-Принт, 2018. 496 с.
15. Ботьот Ю. К., Т. А. Бордій, Я. В. Віленський Вплив застосування пробіотичного препарату, що містить штам *Lactobacillus rhamnosus* GG, на рівні людського β -дефензину 2 (HbD-2) і кателіцидину (LL-37) у секреті верхніх дихальних шляхів і респираторну захворюваність у дітей, хворих на бронхіальну астму й алергічний риніт // *Здоров'я ребенка*. 2020. № 5. С. 33-40
16. Каннер Е.В., Горелов А.В., Печуров Д.В., Горелова Е.А., Максимов М.Л., Ермолаева А.С. Мукозальная иммунная система пищеварительного и респираторного трактов: возможности профилактики и лечения инфекционных заболеваний. *Медицинский Совет*. 2019;(11):100-107. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-11-100-107>

REFERENCES

1. Abaturon A.E., Kryuchko T.A., Lezhenko G.A., Zavgorodnyaya N.Yu. Antimikrobynye peptidy i proteiny respiratornogo trakta, diagnosticheskaya znachimost i terapevticheskie vozmozhnosti Monografiya. Harkov : Planeta-Print, 2018. 496 s.
2. Bol'bot Yu. K., T. A. Bordij, Ya. V. Vilens'kyj Vplyv zastosuvannya probiotychnogo preparatu, shho mistyt' shtam *Lactobacillus rhamnosus* GG, na rivni lyuds'kogo β -defenzy'nu 2 (HbD-2) i katelicydy'nu (LL-37) u sekreti verxnix dy'xal'ny'x shlyaxiv i respiratornu zaxvoryuvanist' u ditej, xvory'x na bronxial'nu astmu j alergichny'j ry'nit // *Zdorov'e rebenka*. 2020. № 5. S. 33-40.
3. Bousquet J, Hellings PW, Agache I, Bedbrook A, Bachert C, Bergmann KC, et al. ARIA 2016: Care pathways implementing emerging technologies for predictive medicine in rhinitis and asthma across the life cycle. *Clinical and Translational Allergy*. 2016;6:47.DOI: 10.1186/s13601-016-0137-4
4. Currie SM, Gwyer Findlay E, McFarlane AJ, et al. Cathelicidins Have Direct Antiviral Activity against Respiratory Syncytial Virus In Vitro and Protective Function In Vivo in Mice and Humans. *J Immunol*. 2016;196(6):2699-2710. doi:10.4049/jimmunol.1502478
5. de Groot, Eric & Nijkamp, Anke & Duiverman, Eric & Brand, Petrus. (2012). Allergic rhinitis is associated with poor asthma control in children with asthma. *Thorax*. 67. 582-7. 10.1136/thoraxjnl-2011-201168.
6. Dora Patricia Rosete Olvera and Carlos Cabello Gutiérrez (November 5th 2018). Multifunctional Activity of the β -Defensin-2 during Respiratory Infections, Immune Response Activation and Immunomodulation, Rajeev K. Tyagi and Prakash S. Bisen, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.80611.



7. Gibson GJ, Loddenkemper R, Lundbäck B, Sibille Y. Respiratory health and disease in Europe: the new European Lung White Book. *Eur Respir J*. 2013;42(3):559-563. doi:10.1183/09031936.00105513
8. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet* 2017; 390: 1211–59.
9. Kanner E.V., Gorelov A.V., Pechkurov D.V., Gorelova E.A., Maksimov M.L., Ermolaeva A.S. Mucosal immune system of digestive and respiratory tracts: possibilities of prevention and treatment of infectious diseases. *Meditinskiy sovet = Medical Council*. 2019;(11):100-107. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-11-100-107>
10. Mahlapuu M, Håkansson J, Ringstad L, Björn C. Antimicrobial Peptides: An Emerging Category of Therapeutic Agents. *Front Cell Infect Microbiol*. 2016;6:194. Published 2016 Dec 27. doi:10.3389/fcimb.2016.00194
11. Meltzer EO, Bukstein DA. The economic impact of allergic rhinitis and current guidelines for treatment. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2011;106(2 Suppl):S12-S16. doi:10.1016/j.anai.2010.10.014
12. Milani M. Approaching atopic dermatitis treatment differently: from skin barrier preservation to allergen-specific immunotherapy. *Immunotherapy*. 2012;4(6):561-564. doi:10.2217/imt.12.47
13. Prebiotics: Mechanisms and Preventive Effects in Allergy Carole Brosseau, Amandine Selle, Debra J. Palmer, Susan L. Prescott, Sébastien Barbarot, Marie Bodinier *Nutrients*. 2019 Aug; 11(8): 1841. Published online 2019 Aug 8. doi: 10.3390/nu11081841
14. Villena, J., Chiba, E., Tomosada, Y. et al. Orally administered *Lactobacillus rhamnosus* modulates the respiratory immune response triggered by the viral pathogen-associated molecular pattern poly(I:C). *BMC Immunol* 13, 53 (2012). <https://doi.org/10.1186/1471-2172-13-53>
15. Vladimir Ivashkin, Oxana Zolnikova, Nino Potskherashvili, Alexander Trukhmanov, Natalia Kokina, Natiya Dzhakhaya, A correction of a gut microflora composition for the allergic bronchial asthma complex therapy, *Italian Journal of Medicine*: Vol. 12 No. 4 (2018). <https://doi.org/10.4081/itjm.2018.931>
16. Zhang LJ, Gallo RL. Antimicrobial peptides. *Curr Biol*. 2016;26(1):R14-R19. doi:10.1016/j.cub.2015.11.017

Отримано 23.11.2020 р.