

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**ПАХОЛЬЧУК ОЛЬГА ПЕТРІВНА**



УДК: 616-021.5:613.2]-053.2-07-08

**ДИФЕРЕНЦІЙОВАНИЙ ПІДХІД ДО ДІАГНОСТИКИ, ЛІКУВАННЯ ТА  
ПРОФІЛАКТИКИ ХАРЧОВОЇ ГІПЕРЧУТЛИВОСТІ У ДІТЕЙ**

Г4.01.10 – педіатрія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня доктора  
медичних наук

Запоріжжя - 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Запорізькому державному медичному університеті МОЗ України.

**Науковий консультант:**

доктор медичних наук, професор **Недельська Світлана Миколаївна**, Запорізький державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри факультетської педіатрії.

**Офіційні опоненти:**

доктор медичних наук, професор, Заслужений діяч науки і техніки України **Овчаренко Леонід Сергійович**, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України», завідувач кафедри педіатрії та неонатології з курсом амбулаторної педіатрії;

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

доктор медичних наук, професор **Беш Леся Василівна**, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, завідувач кафедри педіатрії №2.

Захист відбудеться «17» квітня 2019 року о 12<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 17.600.02 при Запорізькому державному медичному університеті МОЗ України (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Запорізького державного медичного університету МОЗ України (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26).

Автореферат розісланий «15» березня 2019 року.

Учений секретар

спеціалізованої вченої ради Д 17.600.02,  
доктор медичних наук, професор

Н.С. Михайловська

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Останніми роками спостерігається різке збільшення частоти харчової гіперчутливості (ХГ) серед дітей до 10 % та до 2 % у дорослих, особливо це помітно у розвинутих країнах, у сім'ях із високим соціально-економічним становищем (Moore L.E. et al., 2017). Постійне зростання кількості пацієнтів, які страждають на ХГ, багато в чому пояснюється зміною характеру харчування, появою і розвитком нових технологій переробки їжі, а також широким використанням харчових добавок, барвників, консервантів, ароматизаторів, які можуть бути причиною розвитку алергічних станів. Оскільки на сьогодні дані щодо превалентності цієї патології складаються лише з інформації за зверненням до лікаря, істинна кількість реакцій на їжу залишається невизначеною. За даними вітчизняних дослідників, неімунна ХГ трапляється навіть частіше (у 50 % дітей), ніж істинна ХГ, але справжню поширеність ХГ визначити складно у зв'язку з великою кількістю можливих харчових алергенів, наявністю прихованої або перехресної алергії, різноманітністю клінічних проявів, схожістю симптомів із неімунною ХГ, невирішеними проблемами діагностики, складністю патогенезу (Venkataraman D. et al., 2018; Охотнікова О.М. та співавт., 2016). На сьогодні, співвідношення імунних та неімунних реакцій на їжу лишається невідомим (Охотнікова О.М. та співавт., 2014). Відсутність чітких критеріїв оцінки поширеності, єдиної дефініції ХГ, використання різних методик епідеміологічних досліджень призвели до дискутабельної валідності досліджень у різних регіонах.

Збільшення проявів алергії викликане не тільки спадковістю, а й епігенетичними впливами зовнішнього середовища, що призводить до змін адаптації, навіть у дітей, які не мають генів атопії (Уманець Т.Р., 2017; Беш Л.В. та співавт., 2015). Основні досягнення експериментальної та клінічної імунології останніх десятиліть пов'язані з дослідженням генетичних механізмів регуляції імунних реакцій (Волосовец А. П. и соавт., 2016). Доведено, що фактори середовища можуть також діяти на генетичну експресію, індукуючи епігенетичні зміни (Potaczek D.P. et al., 2017; Verin M.C., 2014; Волосовец А.П. и соавт., 2013). Не менш важливою є роль дефекту бар'єрної функції шкіри та кишківника, експресії рецепторів та сигнальних шляхів системи JAK-STAT в прогресуванні алергічних захворювань (Fazlollahi M. et al., 2018; Охотнікова О.М. та співавт., 2016; Абатуров А.Е. и соавт., 2015; Krishnapurthy P. et al., 2016). Встановлено, що характер харчування, склад мікробіоти, стан здоров'я та екологія навколишнього середовища корелюють між собою, а попередження

сенситизації обумовлене своєчасним включенням процесів адаптації (Беш Л.В. та співавт., 2016; Claesson M. J. et al., 2012). Дослідження змін у системі регуляції імунної відповіді, присутність біологічних маркерів запалення на слизовій шлунково-кишкового тракту та у шкірі можуть бути використані для оптимізації і контролю терапії (Samrath V. et al., 2017).

Термін ХГ є збірним, оскільки за ним стоїть спектр різної патології: імунна, неімунна ХГ, харчова непереносимість, токсичні та фармакологічні реакції на їжу. Така кількість різних патофізіологічних процесів створює проблеми при визначенні тактики ведення хворих (Flores Kim J. et al., 2018; Недельская С.Н. и соавт., 2016; Охотнікова О.М. і співавт., 2016; Овчаренко Л.С. та співавт. 2016). ХГ виникає переважно у перші роки життя дитини, коли розвиток реакцій гіперчутливості опосередкований не лише через spIgE, а проведення шкірних і провокаційних проб обмежено (Muraro A. et al., 2014). Тому існує необхідність розробки та впровадження діагностичних алгоритмів ХГ у дошкільному віці. Подальше розкриття механізмів формування алергії надасть можливість науково обґрунтувати стандарти діагностики, лікування і профілактики ХГ.

Принципами лікування ХГ є комплексність і етапність застосування різних заходів, спрямованих на усунення клінічних симптомів, профілактику загострень, корекцію порушень функції ШКТ та ін. (Охотнікова О.М. та співавт. 2016; Muraro A. et al., 2014). До теперішнього часу базисним у терапії ХГ вважається призначення елімінаційної дієти, антигістамінних і протизапальних препаратів, сорбентів. Проте накопичено достатньо даних, які свідчать про її невисоку ефективність у частини пацієнтів, що потребує окремого аналізу. До специфічної пероральної алерговакцинації відношення неоднозначне (Smaldini P.L. et al., 2018; Lee S., 2017; Muraro A. et al., 2014). Залишаються недостатньо вирішеними питання диференційної діагностики імунної та неімунної ХГ у дітей, прогнозування перебігу хвороби, об'єктивної оцінки необхідності елімінаційних заходів та специфічної імунотерапії, особливо в ранньому віці.

Таким чином, узагальнення наведених даних свідчить про актуальність вивчення факторів ризику, патогенетичних механізмів та особливостей клінічного перебігу ХГ з метою наукового обґрунтування і розробки програми диференційованих підходів до ведення дітей із симптомами ХГ на шкірі, що обумовлює доцільність проведення даного наукового дослідження.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконана на кафедрі факультетської педіатрії Запорізького державного медичного університету в рамках науково-дослідної роботи «Розробка методів ранньої діагностики найбільш поширених алергічних захворювань у

дітей різних вікових груп, профілактики та лікування основних функціональних порушень та супутньої патології у цієї групи хворих», номер державної реєстрації 0112U005648. В межах зазначеної теми дисертантом проведено комплексне обстеження хворих, аналіз та статистична обробка даних.

**Мета дослідження:** удосконалення діагностики, лікування та профілактики харчової гіперчутливості у дітей на підставі розробки та наукового обґрунтування програми диференційованої діагностики, шляхом вивчення факторів ризику, патогенетичних механізмів, особливостей клінічного перебігу захворювання.

**Завдання дослідження:**

1. Вивчити клініко-анамнестичні особливості перебігу симптомів ХГ на шкірі у дітей та оцінити діагностичну інформативність використання різних методів її діагностики, кореляційний взаємозв'язок та статистичну міру узгодження між ними.

2. Виявити клініко-лабораторні особливості шкірних проявів ХГ у дітей з урахуванням наявності мутацій (2282del4 та R501X) гену філаггрина (FLG), поліморфізму гену серинової протеази (SPINK5), віку дебюту і тривалості захворювання.

3. Дослідити функціональний стан шкірного та кишкового бар'єрів у дітей з шкірними симптомами ХГ.

4. Визначити наявність і характер взаємозв'язків між експресією транскрипційних факторів (STAT-6, GATA-3, FOXP-3) і показниками функціонального стану епітеліальних бар'єрів, маркерами запалення та особливостями шкірних проявів ХГ у дітей.

5. Встановити вікові особливості формування шкірних симптомів ХГ у дітей з метою розробки диференційованих підходів до її діагностики.

6. Оцінити ефективність комплексної терапії ХГ у дітей із включенням засобів фармакологічної корекції епідермальної дисфункції та ад'ювантів для формування оральної толерантності.

*Об'єкт дослідження:* харчова гіперчутливість у дітей.

*Предмет дослідження:* поширеність ХГ у дітей, сенситизація до харчових алергенів, шкірні симптоми ХГ, мутації гену філаггрина, поліморфізм гену серинової протеази, порушення толерантності до глюкози, підвищена проникність кишкового бар'єру, трансепідермальна втрата рідини та її динаміка під впливом лікування, маркери запалення слизової тонкої кишки, циркулюючі цитокіни, фактори транскрипції та транскрипційні регулятори, циркулюючі антитіла, знижена толерантність до харчових алергенів.

*Методи дослідження:* загальноклінічні (збір анамнезу, фізикальне обстеження, заповнення індивідуальних карт спостереження пацієнтів), інструментальні (визначення рівня вологості шкіри – для оцінки трансепідермальної втрати рідини; рівня водню у повітрі, що видихається, – для виявлення синдрому порушення толерантності до глюкози), лабораторні (полімеразна ланцюгова реакція – для виявлення мутацій гену філаггріну, генотипу гену серинової протеази; імуноферментні – для визначення рівнів загального та специфічних IgE, цитокінів IL-2, IL-4 та TLR-2, фактору транскрипції STAT-6, транскрипційних регуляторів GATA-3 та FOXP-3; імунологічні: проточної цитометрії, метод прямого розеткоутворення з частками, вкритими моноклональними антитілами, тест спонтанного відновлення нітросинього тетразолію – для вивчення популяцій Т-лімфоцитів, показників фагоцитозу; хроматографія – для визначення рівня кальпротектину у копрофільтраті, лактулози в сечі), алергологічні (шкірне тестування – для виявлення сенситизації, для діагностики імунної харчової алергії, визначення дози толерантності – оральна провокаційна проба (ОПП)), статистичні методи (параметричні, непараметричні, кореляційний, логістичний, дисперсійний та кластерний аналізи, розрахунок відношення шансів, діагностичної цінності, міри статистичного узгодження, перевірка гіпотези рівності частот).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше виявлено частоту харчової гіперчутливості у загальній популяції дітей шкільного віку (6-18 років) за даними анкетування, яка складає 40,55 % та перевищує частоту ХГ, яку оцінено за звертанням (28,1 %). Встановлено, що спадкова схильність до розвитку ХГ має значення у віці 6-7 років (ВШ 5,326 (95 % ДІ 1,823-15,035)).

Доповнено наукові дані про те, що використання стандартних методів алергологічного обстеження (прик-тест, визначення специфічних IgE (spIgE), ОПП) дозволяє підтвердити імунні механізми розвитку симптомів ХГ на шкірі у 37,64 % пацієнтів віком до 18 років. Доведено, що оральна провокаційна проба дозволяє діагностувати імунну ХГ частіше, ніж шкірні та серологічні тести у дітей віком до 4 років та якщо дебют захворювання відбувся у віці до 12 місяців.

Доповнено наукові дані щодо діагностичної значимості категоріального підходу до інтерпретації та вперше оцінено статистичну міру узгодженості між результатами методів діагностики ХГ у дітей залежно від вікової групи та віку дебюту її симптомів. Доведено, що статистична міра вірогідності співпадіння результату прик-тесту та визначення spIgE у дітей із проявами ХГ на шкірі віком до 1 року ( $\kappa$  0,16 (95 % ДІ -0,10-0,42)) найнижча, а у дітей старше 1 року – середня ( $\kappa$  0,50 (95 % ДІ 0,40-0,59)) та дорівнює мірі

узгодження між визначенням sIgE та ОПП ( $\kappa$  0,50 (95 % ДІ 0,47-0,53)), на підставі чого запропоновано доповнений та стратифікований діагностичний алгоритм для дітей залежно від віку та характеру клінічної симптоматики та виділені фенотипи ХГ, що дозволяє прогнозувати клінічний перебіг захворювання.

Вперше встановлено незначну роль мутацій 2282del4 та R501X гену FLG у формуванні та перебігу проявів ХГ у дітей та виявлено, що їх носійство – фактор ризику формування шкірних симптомів ХГ лише протягом першого місяця життя (ВШ 10,00 (95 % ДІ 1,12-89,26)). Розширено наукові дані про те, що у пацієнтів із генотипом SPINK5 GA (420Glu/Lys) у гетерозиготному стані (AG) частіше виявляються позитивні ОПП та більша виразність уражень шкіри.

Вперше виявлено, що, незалежно від наявності мутацій гену FLG та генотипу SPINK5, клінічної та анамнестичної динаміки симптомів ХГ, у більшості пацієнтів (64,28 %) виявляється підвищення проникності слизової оболонки кишечника для лактулози, що є ранньою ознакою епігенетичної активації генів Th2 (STAT-6); у 67,50 % дітей із ХГ виявлено низький рівень вологості у місці локалізації висипу, який асоційований із рівнем трансепідермальної втрати рідини (TEBP) на візуально здорових ділянках, що є ранньою ознакою активації диференціювання Th2-лімфоцитів (GATA-3).

Уточнено особливості стану елементів кишкового бар'єру та їх вікові відмінності у дітей з симптомами ХГ: 40,77 % мали позитивні результати водневого дихального тесту і у 64,28 % виявлено кальпротектин у копрофільтраті. Вперше оцінено прогностичну значимість фекального кальпротектину при проведенні ОПП у дітей з ХГ.

Вперше патогенетично обґрунтовано і розроблено 4-етапний алгоритм діагностики ХГ з урахуванням ролі дисфункції епітеліальних вистілок та запропоновано «вікно можливостей» в процесі формування ХГ у дітей на підставі виявленої вікової зміни профілю факторів транскрипції атопії у системі JAK-STAT (STAT-6, GATA-3, FOXP-3), що впливає на вибір тактики лікування та профілактики.

Розширено наукові дані щодо впливу базової терапії шкірних симптомів ХГ у дітей із різними результатами стандартної алергодіагностики та оцінено її вплив на динаміку дисфункції шкірного бар'єру.

Вперше доведено що використання розробленого та запропонованого способу оптимізованої патогенетично-обґрунтованої терапії шкірного синдрому ХГ у дітей із застосуванням індіферентних зволожуючих кремів, препаратів, що містять пробіотичні протеолітичні штами *Bacillus*, топічних

протимікробних засобів, сприяє корекції епідермальної та мукозальної дисфункції, створенню умов для формування оральної толерантності та зменшення тривалості і частоти загострень, незалежно від результатів стандартного алергологічного обстеження.

**Практичне значення одержаних результатів.** З метою підвищення ефективності диференційної діагностики, подальшого лікування та профілактики ХГ, запропоновано спосіб прогнозування динаміки шкірного синдрому ХГ у дітей на підставі даних анамнезу, віку клінічного дебюту, результатів стандартного алергологічного обстеження, проведення ОПП, який дозволяє стратифікувати хворих за фенотипом ХГ.

Аргументовано доцільність включення до обов'язкових методів дослідження у хворих із симптомами ХГ вимірювання вологості шкіри, ступеня проникності кишечника для лактулози, дихального  $H_2$  тесту із глюкозою, визначення кальпротектину у копрофільтраті для своєчасного виявлення наявності дисфункції епітеліальних бар'єрів, обґрунтування тактики лікування та прогнозування перебігу хвороби. З метою визначення імунних механізмів розвитку шкірних симптомів ХГ та визначення персоналізованих підходів до організації дієти і потреби у формуванні оральної толерантності в подальшому у дітей віком до 4 років доцільним є проведення ОПП у разі наявності показань і відсутності протипоказань.

З метою підвищення ефективності діагностики ХГ на ранніх етапах через неспецифічність симптомів доповнено робочу класифікацію ХГ у дітей шляхом об'єднання клінічних фенотипів неімунного та імунного генезу її формування, які виділені на підставі поглибленого аналізу даних світової літератури та результатів власних досліджень.

Запропоновано і впроваджено в практику спосіб патогенетично-обґрунтованого лікування шкірних проявів ХГ у дітей на підставі розроблених нових підходів до дієтотерапії, використання зволожуючих кремів, препаратів пробіотичних протеолітичних штамів *Bacillus* і топічних протимікробних засобів, що має доведену терапевтичну ефективність (патент України на корисну модель №83625, галузеве нововведення в систему охорони здоров'я №320-2017).

Результати дослідження впроваджено в діяльність дитячих лікувальних закладів і використовуються у роботі Державної установи «Інститут фармакології та токсикології Національної академії медичних наук (НАМН) України», Львівського міського дитячого алергоцентру на базі Комунальної міської дитячої клінічної лікарні м. Львів, Національної дитячої спеціалізованої лікарні «ОХМАТДИТ» МОЗ України, КЗ «Рівненська обласна дитяча лікарня» Рівненської обласної ради, Полтавської обласної



дитячої лікарні, Миколаївської обласної дитячої клінічної лікарні, Волинського обласного дитячого територіального медичного об'єднання, КЗ «Дніпропетровська обласна дитяча клінічна лікарня» Дніпропетровської обласної ради, КЗ «Дніпропетровська міська дитяча клінічна лікарня №1» Дніпропетровської обласної ради, Сумської міської дитячої клінічної лікарні Святої Зінаїди, КЗ «Харківська міська дитяча клінічна лікарня №19», КУ «Кіровоградська обласна клінічна дитяча лікарня», «Дитячої лікарні №1» м. Запоріжжя, КУ «Запорізька міська дитяча багатопрофільна лікарня №5».

Теоретичні положення та практичні рекомендації дисертаційного дослідження включені до навчального процесу на кафедрі педіатрії №2 Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, кафедрі пропедевтики педіатрії №2 Харківського національного медичного університету, кафедрі педіатрії №1 та медичної генетики Державного закладу «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», кафедрі педіатрії медичного інституту Сумського державного університету, кафедрі педіатрії №2 Української медичної стоматологічної академії, кафедрі факультетської педіатрії Запорізького державного медичного університету МОЗ України.

**Особистий внесок здобувача.** Автором самостійно проведений літературний та патентний пошук, узагальнення його результатів для визначення напрямків дослідження, проаналізована сучасна наукова література з теми роботи, особисто сформульовані мета та завдання дослідження та розроблено дизайн його виконання. Здобувачем самостійно проведено клінічне обстеження хворих із використанням інструментальних методів дослідження. Автором особисто призначалася терапія пацієнтам та проводилося їх динамічне спостереження. Автор особисто систематизувала отримані результати, створила електронну базу даних для подальших статистичних розрахунків, написала всі розділи дисертаційної роботи, підготувала до друку наукові праці, впровадила наукові розробки в роботу лікувально-профілактичних закладів України. Автор не запозичувала та не використовувала у роботі ідеї та розробки співавторів публікацій. Матеріали кандидатської дисертації не використовувалися в даній роботі.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на міжнародних та всеукраїнських наукових форумах: EAACI Food allergy and anaphylaxis meeting (м. Рим, 2016), 3-rd Skin allergy meeting (м. Краків, 2014), EAACI Allergy School "Allergy diagnosis in and beyond the skin" (м. Ерланген, 2013), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання та практичні аспекти дитячої пульмонології та алергології: стандарти медичної допомоги», присвяченій 25 річниці НАМН України (м. Київ, 2018),

III Національному конгресі з імунології, алергології та імунореабілітації, присвяченому 50-річчю створення алергологічної служби Дніпропетровської області (м. Дніпро, 2018), VI Всеукраїнській науково-практичній конференції «Алергологи Слобожанщини. Актуальні питання виявлення та лікування алергічних захворювань» (м. Харків, 2018), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання діагностики та лікування алергічних хвороб та автоімунних станів у дітей» (м. Київ, 2017), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання респіраторної та алергічної патології у дітей: національний консенсус» (м. Київ, 2017), науково-практичній конференції «Сафронівські читання-2016. Актуальні питання дитячої алергології» (м. Запоріжжя, 2016), науковому симпозиумі з міжнародною участю «Різдвяні читання: харчова алергія – проблема XXI століття» (м. Львів, 2015), науково-практичній конференції «Медико-соціальні аспекти діагностики, лікування та реабілітації захворювань у дітей» (м. Київ, 2015), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання респіраторної та алергічної патології у дітей» (м. Київ, 2015), XVII Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання педіатрії» (Сидельніковські читання) (м. Дніпро, 2015), науково-практичній конференції «Актуальні питання дитячої алергології» (м. Запоріжжя, 2015), 69-й науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (м. Мінськ, 2015), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації» (м. Запоріжжя, 2015), XVI Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання педіатрії» (Сидельніковські читання) (м. Запоріжжя, 2014), XV Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання педіатрії» (Сидельніковські читання) (м. Харків, 2013), 72-ї Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів «Медицина та фармація 21-го століття – крок у майбутнє» (м. Запоріжжя, 2012), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Новітні технології в педіатричній науці, практиці та освіті», присвяченій пам'яті академіка НАМН України Б.Я. Резніка (м. Одеса, 2012). Апробація дисертаційної роботи відбулась на спільному засіданні кафедр педіатричного профілю Запорізького державного медичного університету, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України» 10 жовтня 2018 року.

**Публікації.** За темою дисертаційного дослідження опубліковано 45 наукових праць, з них 17 статей – у фахових наукових виданнях України, 4 – в журналах, що входять до міжнародних наукометричних баз, 5 – у закордонних виданнях, 11 тез в матеріалах конгресів та наукових

конференцій, 24 роботи – без співавторів. Отримано 1 патент України на корисну модель та 1 галузеве нововведення в системі охорони здоров'я.

**Структура та обсяг дисертації.** Матеріали дисертаційної роботи викладено на 347 сторінках друкованого тексту, проілюстровано 47 таблицями та 36 рисунками. Робота складається із анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаної літератури, що містить 354 джерела (118 – кирилицею та 236 – латиною) і займає 39 сторінок, додатків. Обсяг основного тексту складає 260 сторінок.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали та методи дослідження.** Робота базується на результатах обстеження 424 пацієнтів віком від 1 місяця до 18 років (26,28 [12,00; 54,25] місяців, серед них хлопчиків – 210 (49,00 %), дівчаток – 214 (51,00 %)), які на момент включення у дослідження звернулися за медичною допомогою в алергологічне відділення КУ «Запорізька міська багатопрофільна клінічна лікарня №5», Університетську клініку Запорізького державного медичного університету, а також даних анкетування та обстеження 217 практично здорових дітей віком від 6 до 18 років.

Критерії включення в дослідження: наявність шкірних симптомів, пов'язаних із вживанням харчових продуктів; вік від 1 місяця до 18 років; письмова інформована згода на участь у дослідженні.

Критерії виключення: відмова батьків та дитини брати участь у дослідженні; відсутність достатнього рівня комплаєнсу із лікарем; наявність алергічних реакцій, що загрожують життю дитини; порушення функції нирок, інші хронічні захворювання у стадії декомпенсації; вроджені вади розвитку внутрішніх органів, що мають клінічну симптоматику (окрім малих аномалій); важкі інфекційні захворювання; специфічні інфекційні захворювання; онкогематологічні захворювання; психічні захворювання.

Дизайн роботи погоджено з Комісією з питань біоетики при Запорізькому державному медичному університеті (протокол №4 від 18.04.2013 р.), затверджено проблемною комісією МОЗ та НАМН України зі спеціальності «Педіатрія» (протокол №2 від 21.06.2013 р.).

Дані щодо поширеності проявів харчової алергії збиралися на основі стандартних анкет ISAAC для дітей шкільного віку (від 6 до 18 років), що відповідають міжнародним вимогам до вивчення розповсюдженості алергічних захворювань. Окремо оцінювали дані анамнезу.

Усім дітям проводилося об'єктивне визначення морфології шкірних симптомів відповідно до загальноприйнятої класифікації шкірних елементів (еритема, папула, пустула, везикула, вузли, екскоріації, лущення та інше) з метою виділення основного морфологічного елементу, що дозволило б провести диференційну діагностику. Для оцінки тяжкості екзематичних шкірних проявів використовували шкалу SCORAD та TIS.

З метою оцінки трансепідермальної втрати рідини (ТЕВР) дітям визначали рівень вологості шкіри за допомогою портативного пристрою для визначення вологості шкіри (Queentone, Франція) у місці висипу та на непошкоджених ділянках.

Стандартне алергологічне обстеження з метою виявлення імунних механізмів ХГ та причинних продуктів включало шкірні прик- та патч-тести, оральну провокаційну пробу (ОПП), визначення рівнів загального та специфічного IgE.

Стан імунної реактивності оцінювали за результатами CD-типуювання лімфоцитів периферичної крові з використанням методу проточної цитометрії – в діагностичній лабораторії ТОВ «ДІАСЕРВІС» м. Запоріжжя та методом прямого розеткоутворення з частками, вкритими моноклональними антитілами (ВМУ, Беларусь); вимірювання вмісту основних класів сироваткових імуноглобулінів (IgG, IgM, IgA) у крові здійснювали методом радіальної імунодифузії в агарі за G. Mancini та співавт. (1965), тесту спонтанного відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тест) у міській лабораторії клінічної імунології дитячої лікарні №1 м. Запоріжжя.

З метою встановлення частоти та зв'язку із перебігом симптомів ХГ у дітей проводили аналіз поліморфних варіантів гену SPINK5 та мутацій гену FLG (R501X та 2282del4) – методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі в автоматичному режимі на термоциклері «Терцик» (ДНК-технологія, Росія) у ДУ «Інститут спадкової патології АМН України», м. Львів, Україна. Використовували ендонуклеази Hin1II для мутації R501X, Adel (Fermentas, Литва) для мутації 2282del4.

Для оцінки функціонального стану кишкового бар'єру визначали кількість водню у повітрі, що видихається, за допомогою аналізатора Gastro+ Gastrolyzer® (Bedfont, Німеччина) за методикою виробника. З метою оцінки проникності бар'єру кишківника проводили тест сечі на лактулозу за модифікованою методикою Behrens R.H. et al. (1984). За рівнем кальпротектину, який визначали якісним методом у копрофільтраті за допомогою тест-систем CalprotectinRAPID TEST (Італія) за методикою виробника, оцінювали наявність ознак органічного пошкодження бар'єру кишківника.

З метою виявлення особливостей змін імунної системи у дітей оцінювали концентрації цитокінів та експресію рецепторів. Рівні ІЛ-2, ІЛ-4 визначали методом ІФА згідно до інструкції до наборів Human ІЛ-2 Platinum ELISA та Human ІЛ-4 Platinum ELISA (Affymetrix eBioscience, Австрія). ТLR-2 у сироватці крові виявляли за допомогою набору ELISA Kit for TLR-2 для ІФА (Cloud-Clone Corp, США).

Для оцінки експресії генів атопії досліджували методом ІФА фактори транскрипції GATA-3 та FOXP-3 із використанням відповідних наборів для ELISA виробництва RayBiotech, Inc. (США), STAT-6 – наборів для ELISA, виробництва Elabscience Biotechnology Co., Ltd. (Китай). ІФА проводили за допомогою апаратного комплексу ImmunoChem-2100 (США) на кафедрі клінічної лабораторної діагностики ЗДМУ МОЗ України.

Враховуючи встановлені в ході дослідження ознаки дисфункції шкірного та мукозального бар'єрів, була розглянута можливість їх корекції за допомогою оптимізації лікування та профілактики ХГ у дітей, що включали організацію дієти, використання індиферентних зволожуючих кремів, препаратів, що містять пробіотичні протеолітичні штами *Bacillus*, топічних протимікробних препаратів з урахуванням їх короткострокових та довготривалих ефектів. Для корекції дисфункції шкірного бар'єру вивчена ефективність застосування різної кратності нанесення зволожуючого крему від 1 до 8 раз на день. Для корекції мукозального бар'єру була вивчена ефективність застосування пробіотичних протеолітичних штамів *Bacillus*.

Діти із симптомами ХГ були розділені на 2 групи порівняння залежно від проведеного лікування: основна група (n=88) отримувала терапію відповідно до запропонованої схеми лікування; група порівняння (n=60) – отримувала традиційну терапію згідно до наказу МОЗ України №767 від 27.12.2005 р. «Про затвердження протоколів діагностики та лікування алергологічних хвороб у дітей». Ефекти лікування оцінювали за допомогою вимірювання вологості шкіри, за шкалою SCORAD, підрахунку частоти та тривалості загострень впродовж 1-го року спостереження.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програмного пакету «Statistica 6.0» (StatSoft Inc., США, №AXXR712D833214FAN5). Нормальність розподілу параметрів визначали за тестом Шапіро-Уїлка. При відхиленні розподілу від нормального дані представляли у вигляді медіани та міжквартильного розмаху – Me [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>] (медіана, 25 та 75 перцентиль). При розподілі, що відрізняється від нормального, для порівняння груп використовували непараметричні критерії: U-критерій Манна-Уїтні для незалежних вибірок та критерій Вілкоксона –

для залежних вибірок. Міжгрупові відмінності якісних ознак оцінювали з використанням  $\chi^2$  Пірсона (при малій вибірці – з поправкою Йетса, точний критерій Фішера). Для оцінки взаємозв'язків між показниками використовували кореляційний аналіз Спірмена та Кендала (при розподілі, що відрізняється від нормального) та обчислення коефіцієнту контингенції ( $\phi$ -коефіцієнту). Зв'язок між атрибутивними ознаками вважали достовірним при  $\phi > 0,0625$ . Для порівняння статистичних характеристик використовували множинне порівняння за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (Kruskal-Wallis test ANOVA). Перевірку гіпотези рівності частот у двох групах проводили за допомогою порівняння часток. Для оцінки впливу факторів розраховували відношення шансів (ВШ) з визначенням довірчого 95 % інтервалу (ДІ). При ВШ  $> 1$  ймовірність розвитку результату в групі впливу фактору ризику вище, а при ВШ  $< 1$  нижче, ніж у осіб без впливу фактору. З метою оцінки вірогідності негативного та позитивного результатів діагностичних тестів розраховували їх чутливість (Se) та специфічність (Sp). Статистичну міру вірогідності співпадіння результатів різних методів діагностики ХГ оцінювали із використанням коефіцієнту каппи Коена (Карра Cohen (к)) та вважали високою при значенні коефіцієнту к вище 0,75, доброю – від 0,40 до 0,75, поганою – нижче 0,40. Окремо розраховували 95 % довірчий інтервал каппи (95 % ДІ). Для виявлення зв'язку між досліджуваними показниками застосовували лінійний регресійний аналіз з розрахунком стандартизованих регресійних коефіцієнтів (бета), коефіцієнту детермінації (R) та звичайних регресійних коефіцієнтів (B). Гіпотеза відносно зв'язку між ознаками ефективності методів лікування оцінена за допомогою методу об'єднання кластерного аналізу (деревовидної кластеризації, розрахунку одинарного зв'язку евклідової відстані). Відмінності вважали достовірними при рівні статистичної значущості  $p < 0,05$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.** Перший етап роботи передбачав вивчення особливостей клінічного перебігу, молекулярних та клініко-лабораторних особливостей симптомів ХГ у дітей з урахуванням наявності мутацій гену філаггрина (FLG) та поліморфізму гену серинової протеази (SPINK5). Відповідно до МКХ-X 291 дитина (68,63 %) мала верифікований діагноз дерматит, що викликаний вживаною їжею, і 107 пацієнтів (25,23 %) – atopічний дерматит. Генералізований характер висипу ( $n=100$ ) і локалізація на щоках ( $n=168$ , вік 18,00 [8,40; 40,80] місяців) зустрічалися статистично достовірно частіше у ранньому дитячому віці (вік 21,67 [6,31; 42,94] місяців). Окремо було виділено яскраво-червоний дрібнопапульозний висип, що подібний до кору, та який зустрічався у

7,54 % (n=32) дітей (вік 9,41 [3,50; 26,53] місяців). У 16 випадках (3,77 %) як у пацієнтів до, так і після 12 місяців життя спостерігали рухливі, безболісні папули та вузлики, що мали забарвлення від насичено червоного до темно-червоного кольору. Виділені фенотипові прояви ХГ у дітей мають діагностичну та прогностичну цінність, оскільки свідчать про системні імунні зміни у цих хворих.

На момент включення в дослідження майже у 34,43 % (n=146) випадків пацієнти не могли точно вказати продукт, що є причиною висипу. Прик-тести із харчовими алергенами виявилися позитивними у 18,27 % (n=53) пацієнтів, а частота ХГ, виявлена за його допомогою, із віком знижувалася. Лише 12,06 % (n=35) дітей мали позитивні результати патч-тестів, що свідчило про харчову сенситизацію уповільненого типу.

Підвищені рівні специфічних IgE (spIgE) до харчових продуктів виявлено у 34,64 % (n=88) дітей загальної вибірки, загального IgE – у 46,10 % (n=142) пацієнтів; spIgE були наявні у 36,14 % (n=60) дітей із нормальними рівнями загального IgE. Найбільш часто виявляли специфічні антитіла IgE до алергенів молока та яєць. Переважна більшість дітей мала полісенситизацію за результатами визначення spIgE. Лише у 56,97 % (n=98) дітей із підвищеними рівнями специфічних антитіл були виявлені позитивні результати шкірних тестів, що вказує на необхідність визначення їх діагностичної значимості.

Оральна провокаційна проба (ОПП) була позитивною у 128 хворих (37,64 %). Переважна більшість дітей (70,31 %) мали позитивний результат із одним продуктом, і лише 34 дитини – із двома (26,56 %). Найчастіше виявляли сенситизацію до коров'ячого молока (71,09 %;  $\chi^2=26,54$ ;  $df=1$ ;  $p<0,05$ ), рідше – до курячого яйця (39,06 % пацієнтів). Позитивні результати ОПП мали зв'язок із рівнями специфічних до харчових продуктів IgE ( $\phi=0,218$ ;  $p<0,05$ ) та попередньо отриманими даними прик-тестів ( $\phi=0,289$ ;  $p<0,05$ ), що свідчить про важливість використання ОПП при визначенні клінічної значимості їх результатів. Виявлено, що важливе прогностичне значення при ОПП мали вік дебюту симптомів ХГ та свербіж ( $\phi=0,09$ ;  $p<0,05$ ). У дітей із позитивними шкірною та ОПП спостерігали достовірно більш важкі симптоми ХГ на шкірі, оцінені за шкалою SCORAD ( $U=3797,50$  та  $U=5062,50$  відповідно;  $p<0,05$ ), що вказує на прогностичну значимість оцінювання екзематичних реакцій. Ранній вік появи перших симптомів ХГ, а саме дебют впродовж перших 6 місяців життя, мав зв'язок із результатом шкірних проб із харчовими алергенами ( $\phi=0,073$ ;  $p<0,05$ ), але не мав достовірного зв'язку із результатами визначення spIgE до харчових

продуктів та ОПП, що засвідчує низьку значимість оцінки віку дебюту клінічних проявів при прогнозуванні результатів стандартних методів діагностики ХГ.

Подальше порівняння даних традиційних методів визначення ХГ незалежно від того, коли спостерігали дебют симптомів у дітей різного віку, методом однофакторного дисперсійного аналізу (Kruskal-Wallis test (ANOVA)) показало, що статистично достовірна різниця між віковими групами була виявлена лише за результатами аналізу анамнестичних даних (Kruskal-Wallis test:  $H(4, N=424)=16,40$ ;  $p<0,05$ ) та проведення оральної провокаційної проби ( $H(4, N=196)=29,50$ ;  $p<0,05$ ), а також їх поєднання ( $H(4, N=196)=29,50$ ;  $p<0,05$ ). А при одномоментному порівнянні п'яти загальноприйнятих вікових груп за результатом шкірного прик-тесту та визначення рівнів sIgE до харчових алергенів різниця була відсутня ( $H(4)=8,50$ ;  $p>0,05$  та  $H(4)=8,00$ ;  $p>0,05$ ). Достовірні відмінності між дітьми до 1 року та старше були виявлені при аналізі частоти підтвердженої ХГ за даними ОПП ( $\chi^2=7,29$ ;  $df=1$ ;  $p<0,05$ ).

Використання даних анамнезу, підтверджених результатами визначення sIgE, дозволяло виявити імунну ХГ у дітей до 1 року достовірно частіше, ніж після 1 року ( $\chi^2=14,91$ ;  $df=1$ ;  $p<0,05$ ). Але найбільшу кількість ХГ підтверджено поєднанням даних опитування із ОПП (від 60,71 % у віці до 1 року, до 15,56 % у дітей від 4 до 6 років) та визначенням sIgE (69,35 % та 37,50 % відповідно), порівняно із поєднанням даних анамнезу та шкірних проб ( $\chi^2=35,89$ ;  $df=1$  та  $\chi^2=29,15$ ;  $df=1$  відповідно;  $p<0,05$ ). У той же час у дітей віком від 1 року поєднання даних анамнезу і шкірних тестів та анамнезу та визначення sIgE однаково інформативне ( $\chi^2=0,35$ ;  $df=1$ ;  $p=0,55$ ). Статистична міра співпадіння ( $\kappa$ ) була найнижчою між прик-тестом та визначенням sIgE у віці до 1 року ( $\kappa 0,16$  (95 % ДІ -0,10-0,42)). У дітей старше 1 року можуть мати відтворюваність прик-тест та sIgE ( $\kappa 0,50$  (95 % ДІ 0,40-0,59)), визначення sIgE та ОПП ( $\kappa 0,5$  (95 % ДІ 0,47-0,53)). Жоден із методів не мав високої узгодженості. Вивчення діагностичної точності стандартних методів алергодіагностики, результати яких представляли у вигляді категоріальних даних, показало, що використання даних анамнезу має відносно високу чутливість при порівнянні із прик-тестом та визначенням sIgE (71,69 % та 81,48 % порівняно із 53,33 % та 46,39 %). Однак отримана специфічність (49,53 % та 48,00 %) вказує на невисоку ймовірність виключення дітей, які не мають імунного механізму симптомів ХГ на шкірі. Розрахована чутливість тільки шкірних тестів та серологічного аналізу (46,39 %) виявилася невисокою.



З метою додаткової оцінки впливу особливостей перебігу ХГ на результати стандартних методів алергологічного обстеження було проведено розрахунок ВШ. Вік дитини до 1 року та ранній дебют клінічних проявів ХГ на шкірі (до 12 місяців), а також наявність свербіжу асоціювалися із підвищенням шансів отримання позитивного результату опитування та ОПП у 2,1, 4,9 та 30 разів відповідно. Виявлені особливості свідчать про необхідність диференційованого підходу при визначенні прогностичної значимості стандартних тестів та підтверджують необхідність включення ОПП до алгоритму діагностики ХГ у дітей, особливо віком до 1 року, та вказують на прогностичну значимість віку пацієнта при проведенні ОПП, при цьому важливими є саме перші 12 місяців.

Після використання традиційних методів обстеження залишалися 30,89 % (n=131) пацієнтів (вік 35,00 [14,00; 50,00] місяців, вік дебюту симптомів 11,50 [5,00; 18,00] місяців), у яких стандартні тести, в тому числі і ОПП, виявилися негативними. Це спонукало до пошуку інших, окрім причинних алергенів, генетичних та епігенетичних факторів, що мають значення у формуванні та перебігу симптомів ХГ у дітей.

З метою встановлення зовнішніх та генетично-опосередкованих факторів ризику розвитку ХГ у дітей вивчено особливості анамнезу вибірки пацієнтів, результати якої було порівняно із даними опитування 217 відносно здорових дітей, відібраних серед школярів 6-17 років. Загалом, серед дітей у вибірці із загальної популяції тільки 40,55 % (n=88) мали в анамнезі висипи на шкірі, пов'язані із вживанням продуктів харчування. З них лише половина (28,10 %) зверталися до лікаря і у них був верифікований діагноз. Кількість респондентів із загальної популяції, які мали висип у ранньому дитинстві та на момент опитування навчалися у початкових класах (48,23 %), перевищувала кількість дітей з такими відповідями в старших (34,84 % та 36,36 %), що корелює з існуючою тенденцією неухильного росту алергопатології впродовж останніх десятиліть. Чим старшим був вік дітей, тим менш специфічною була причина висипу, оскільки 2/3 з них у віці старше 13 років не могли точно вказати причину, порівняно із 1/3 дітей у віці до 10 років. Облігатні алергени (молоко, яйця, злаки, м'ясо тварин) були значимими лише для пацієнтів, які самостійно звернулися за допомогою, тоді як серед активно відібраних ці продукти були важливі лише у молодшому шкільному віці (6-7 років) (18,86 % проти 7,33 %), а серед старших взагалі не зустрічалися. Навпроти, у них превалювали реакції, пов'язані із їжею, багатою на біологічні аміни (шоколад, екзотичні фрукти) – 36,58 % проти 16,67 % та 10,61 %, однак лише у молодшому шкільному віці. Серед дітей, відібраних активно, достовірно більша частина ( $\chi^2=57,9$ ;  $p<0,05$ ) вказувала на

дозозалежність симптомів ХГ, загалом незалежно від віку – 30,41 %. В той же час, серед хворих дітей така особливість була виявлена лише у 7,54 % пацієнтів. Обтяжений сімейний алергологічний анамнез було виявлено у 23,11 % дітей із симптомами ХГ, відібраних за звертанням, та 28,41 %, 30,33 % і 33,33 % відповідно серед дітей, активно рекрутованих різних вікових груп (6-7, 13-14, 16-18 років). Наявність сімейного алергоанамнезу у дітей молодшого шкільного віку достовірно збільшувала вірогідність появи симптомів ХГ на шкірі у 5,3 раза (ВШ 5,326 (95 % ДІ 1,823-15,035;  $p < 0,05$ ), тоді як для дітей старшого віку спадковість не мало значення. Виявлено, що такі фактори епігенетичного впливу, як перебіг та характер харчування впродовж вагітності, перебіг пологів, так само як шкідливі умови праці та мешкання не мали достовірного впливу на шанси появи симптомів ХГ ( $p > 0,05$ ). У дітей, які були відібрані активно та мали анамнез та/або прояви ХГ на шкірі, обстеження виявило сухість шкіри (вологість  $< 35$  %) в 1,5 рази частіше порівняно із школярами без даних за ХГ, що спонукало до подальшого вивчення функціонального стану шкіри.

Наступним було визначено роль генетичних факторів, асоційованих із станом шкірного бар'єру та виявлено їх невисоку значимість у формуванні та перебігу симптомів ХГ у дітей. Мутації 2282del4 та R501X гену філаггрина (FLG) були виявлені у 9,34 % пацієнтів (7,54 %,  $n=4$  та 1,80 %,  $n=1$  відповідно). Їх наявність – це фактор ризику формування шкірних симптомів ХГ лише протягом першого місяця життя, ВШ складає 10,00 (1,120-89,262). Виявлено, що як діти із мутаціями гену, так і з «диким» генотипом мають однакові шанси підвищення рівнів IgE, маніфестації симптомів протягом 1-го року життя. Не виявлено достовірної відмінності при перевірці гіпотези рівності частот за допомогою порівняння часток, як за частотою мутації окремо 2282del4 (0,0754 проти 0,046 ( $n=1456$ ),  $p=0,32$ ), R501X (0,018 ( $n=53$ ) проти 0,041 ( $n=1456$ ),  $p=0,40$ ), так і загалом (0,0943 проти 0,103 ( $n=1456$ ),  $p=0,84$ ), що свідчить про валідність результатів.

За результатами генотипування SPINK5 (генотип GA (420Glu/Lys)) було виявлено, що превалювала кількість гетерозигот (AG) ( $\chi^2=16,91$ ;  $df=1$  та  $\chi^2=7,62$ ;  $df=1$ ;  $p < 0,05$ ), які достовірно частіше мали підвищені рівні загального IgE ( $\chi^2=5,33$ ;  $df=1$  та  $\chi^2=6,88$ ;  $df=1$ ;  $p < 0,05$ ), порівняно із генотипами AA та GG, та позитивні результати ОПІ ( $\chi^2=8,12$ ;  $df=1$  та  $\chi^2=14,35$ ;  $df=1$ ;  $p < 0,05$ ), порівняно із генотипами AA та GG, та більш важкий перебіг симптомів на шкірі ( $\chi^2=8,71$ ;  $df=1$ ;  $p < 0,05$ ), порівняно із генотипом GG. Перевірка за рівнянням Харді-Вайнберга ( $p^2+2pq+q^2=1$ ) показала, що у досліджуваній групі дітей дія факторів, що впливають на підтримку рівноваги незначна та не може мати суттєвого впливу на мутації гену

FLG ( $0+0,0943+0,9057=1$ ) та генотип SPINK5 ( $0,283+0,5476+0,1698=1,0004$ ). Оцінка морфології висипів при ХГ не може бути використана для визначення підгруп за генотипом ( $p>0,05$ ).

Наступним кроком було вивчення функціонального стану шкіри та ШКТ у дітей із ХГ. Дисфункція шкірного бар'єру була виявлена у 67,50 % пацієнтів, що було засвідчено ознаками трансепідермальної втрати рідини – ТЕВР (рівень вологості менше 35,00 % – 26,50 [20,80; 39,40] %) незалежно від наявності мутації гену FLG та генотипу SPINK5. ТЕВР у місцях локалізації висипу прямо та сильно корелювала із станом шкіри у візуально непошкоджених місцях (вологість 37,85 [32,59; 48;35] %) ( $r=+0,73$ ;  $p<0,05$ ), значимо зворотно корелювала із рівнями інтерлейкіну-2 ( $r=-0,28$ ;  $p<0,05$ ), але достовірного зв'язку із клінічним фенотипом висипу, генотипом SPINK5 ( $r=+0,10$  та  $r=-0,40$ ;  $p>0,05$ ), наявністю мутацій гену FLG ( $\phi=0,035$  та  $\phi=0,024$ ;  $p>0,05$ ), рівнями IL-4 та TLR-2 ( $p>0,05$ ), тривалістю персистенції симптомів ХГ ( $r=+0,04$ ;  $p>0,05$ ) і віком їх дебюту не виявлено. Найбільші коливання вологості шкіри спостерігали у віці до трьох років: від 12,10 до 46,60 % у місцях локалізації шкірних проявів ХГ (23,60 [19,50; 28,60] %), що дозволяє розглядати дисфункцію шкірного бар'єру як окрему ціль для терапевтичної корекції, незалежно від наявності підтвердженої ХГ.

Подальший аналіз рівнів прозапальних цитокінів, паттерн-розпізнавальних рецепторів та факторів транскрипції зазначив наступне. Рівні основних прозапальних цитокінів (IL-2 – 9,90 [6,70; 16,00] pg/ml, IL-4 – 4,10 [1,60; 18,00] pg/ml та TLR-2 – 0,15 [0,098; 0,19] ng/ml) не залежали від причинного продукту, умов мешкання. Діти з найвищими значеннями вмісту IL-2 та IL-4 мали найнижчі рівні TLR-2. Чим більшим був вік маніфестації симптомів та тривалість захворювання, тим більшим був рівень прозапального IL-2 та меншою кількістю TLR-2. Виявлено, що пацієнти із експресованими TLR-2 мають рівні IL-2, нижчі за середній у вибірці хворих (8,44 [3,82; 14,34] pg/ml проти 12,11 [7,65; 17,88] pg/ml;  $p<0,05$ ). Це свідчить про зростаючу активацію системних змін із поступовою поляризацією імунної відповіді за рахунок росту Т-лімфоцитів.

Фактор транскрипції STAT-6, що визнаний як сигнальна молекула, яка запускає епігенетичну експресію генів Th2, виявлено у 94,59 % пацієнтів із симптомами ХГ (вік 24,00 [13,00; 36,00] місяців), в той час, як GATA-3, який необхідний для диференціювання Th2, виявлено у 54,05 % (вік 39,00 [17,00; 77,00] місяців), транскрипційний фактор регуляторних Т-лімфоцитів (Treg) – FOXP-3 – у 21,62 % (вік 88,00 [52,00; 129,00] місяців). Визначені особливості підтверджують виявлені раніше ознаки поступовості змін імунної регуляції. Доведено, що GATA-3 пов'язаний із рівнем вологості

у візуально здорових ділянках шкіри ( $\phi=0,098$ ;  $p<0,05$ ). Це дозволило прогнозувати ефективність корекції епідермальної дисфункції не обмежуючись місцями локалізації висипу, як для лікування, так і профілактики системних змін при ХГ у дітей.

Позитивні результати прик-тесту із харчовими алергенами мали асоціацію із рівнями регулятора транскрипції Th2 GATA-3 ( $\phi=0,110$ ;  $p<0,05$ ), але не мали зв'язку із сигнальною молекулою експресії генів Th2 – STAT-6 ( $\phi=0,007$ ;  $p>0,05$ ), що свідчить про діагностичну значимість шкірних проб для виявлення ознак вже зміненої імунної відповіді. Ознаками її зміни також виступили можливість ідентифікації причинного продукту за даними опитування та вік пацієнтів до 4 років (зв'язок із експресією GATA-3:  $\phi=0,22$  та  $\phi=0,085$  відповідно;  $p<0,05$ ). FOXP-3 не мав значимого зв'язку із результатами діагностики ХГ у дітей жодним із традиційних методів, що свідчить про неможливість їх використання для диференціації між десенситизацією та формуванням імунної толерантності.

Маркер підвищення міжклітинного транспорту в епітелії кишечника – лактулозу у сечі було виявлено у 64,28 % пацієнтів у кількості 2,58 [1,87; 3,15] ммол/л, з них кожна третя дитина (26,26 %) була віком до 1 року та майже половина пацієнтів (48,48 %) віком від 1 до 3 років. Виявлений статистично достовірний зворотній зв'язок між рівнем лактулози сечі і віком ( $r=-0,25$ ;  $p<0,05$ ), але його сила була слабкою. Лінійний зв'язок між цими параметрами відсутній ( $R^2=0,06$ ), що вказує на неможливість використання віку дітей для предикції рівнів лактулози сечі. Значна частина дітей мали позитивний результат водневого дихального тесту (ДТ) із глюкозою та аналізу копрофільтрату на наявність фекального кальпротектину (ФК) (40,77 % та 45,09 %, відповідно). Переважна кількість таких пацієнтів належала до раннього дитячого віку. Серед дітей віком від 12 місяців статистично достовірно частіше (58,00 %) виявляли маркер мукозального запалення – ФК, тоді як кількість позитивних результатів дихальних тестів та аналізу сечі на наявність лактулози у цій віковій групі не відрізнялася від попередньої. Від 4-го року життя ознаки гранулоцитарної інфільтрації кишкової стінки (ФК) виявляли значно рідше (3,90 % порівняно зі 12,74 % та 26,47 % у інші вікові періоди). Кількість позитивних результатів водневого дихального тесту із глюкозою залишалася майже однаковою в різному віці (10,67 % проти 12,62 % та 15,50 %), тоді, як кишкова проникність для великої молекули лактулози зменшувалася майже у 2 рази (11,68 % проти 31,16 %). Діти від 7 років мали незначні зміни у роботі слизової кишківника (табл. 1).

Таблиця 1 – Частота виявленої дисфункції бар'єру кишківника у дітей із симптомами ХГ на шкірі у різні вікові періоди за результатами методів дослідження, абс. (%)

Вік	Тест на лактулозу у сечі (n=154)	Водневий дихальний тест з глюкозою (n=103)	Якісне визначення кальпротектину у копрофільтраті (n=102)
До 1 року	26 (16,88 %)*	13 (12,62 %)*	13 (12,74 %)*
1–3 роки	48 (31,16 %)*#	16 (15,50 %)*	27 (26,47 %)*#
4-6 років	18 (11,68 %)*	11 (10,67 %)*	4 (3,90 %)
7-11 років	6 (3,89 %)	1 (0,97 %)	1 (0,98 %)
12-18 років	1 (0,64 %)	1 (0,97 %)	1 (0,98 %)
Всього	99 (64,28 %)	42 (40,77 %)	46 (45,09 %)

Примітка 1. \* – статистично-значима різниця порівняно із групою 7-11 та 12-18 років ( $p < 0,05$ ).

Примітка 2. # – статистично значима різниця порівняно із групою віком до 1 року за методом  $\chi^2$  ( $p < 0,05$ ).

Як видно з табл. 1, виявлені особливості вказують на роль мукозального бар'єру у розвитку симптомів ХГ у дітей саме у віці до 3 років, та необхідність включення окремих методів впливу на його стан з метою лікування та профілактики ХГ.

Доведено, що рівень лактулози в сечі – рання ознака епігенетичної активації генів, оскільки статистично підтверджено зв'язок із активацією транскрипційного регулятора епігенетичної активації генів атопії Th2-лімфоцитів – СТАТ-6 ( $\phi=0,079$ ;  $p < 0,05$ ), що має прогностичну цінність, оскільки цей процес передуює поляризації імунної відповіді. Доведено, що експресія GATA-3 мала зв'язок із позитивними результатами ДТ ( $\phi=0,118$ ;  $p < 0,05$ ), що свідчить про можливість його використання для верифікації поляризації імунної регуляції. Чим вищою була проникність кишкового епітелію, тим нижчою – вологість шкіри у змінених ділянках ( $r=+0,17$ ;  $p > 0,05$ ). Виявлені зміни є етапами системних процесів, що підтверджено асоціацією між ступенем проникності кишечника та результатами ДТ ( $\phi=0,186$ ;  $p < 0,05$ ), відсутністю кореляції між рівнем лактулози в сечі із ІЛ-2 ( $r=+0,10$ ;  $p > 0,05$ ), ІЛ-4 ( $r=+0,04$ ;  $p > 0,05$ ) та TLR-2 ( $r=-0,15$ ;  $p > 0,05$ ).

При порівнянні груп дітей за кількістю цитокінів залежно від результату тестів оцінки мукозальної функції (Mann-Whitney U Test) рівні ІЛ-2, TLR-2 статистично значимо не відрізнялися. Середній рівень ІЛ-4 у пацієнтів із відсутньою різницею між пре- та постдозовими значеннями

водню при проведенні ДТ склав 3,00 [1,35; 10,48] pg/ml проти 12,27 [2,80; 60,97] pg/ml, що свідчить про зв'язок ДТ із зміненою імунною реактивністю, яку підтверджено виявленою асоціацією між позитивним результатом водневого ДТ із глюкозою та наявністю мутацій гену філаггину та генотипу AG гену SPINK5 ( $\phi=0,069$  та  $\phi=0,074$  відповідно;  $p<0,05$ ).

FOXP-3 не мав асоціацій з маркерами дисфункції мукозального бар'єру. Кількість лактулози сечі не відрізнялася у дітей з різними рівнями експресії FOXP-3 ( $U=52,50$ ;  $p=0,02$ ). Але практично всі діти (90 %) з негативним результатом аналізу на наявність FOXP-3 мали патологічну проникність кишечника, в той час, як діти з позитивним результатом у більшості випадків (75 %) мали нормальні його рівні. Середня кількість лактулози склала 2,29 [1,05; 3,21] ммол/л та 0,70 [0; 1,22] ммол/л. Це свідчить про те, що нормалізація функціонального стану мукозального бар'єру співпадає із моментом формування імунної толерантності.

Виявлено, що ознаки дисфункції мукозального бар'єру – це прогностичний фактор, що не залежить від кількості загального ( $r=+0,02$ ;  $p>0,05$ ) та специфічних IgE ( $r=+0,05$ ;  $p>0,05$ ), результатів шкірних та провокаційної проб ( $\phi=0,001$  та  $\phi=0,0004$  відповідно;  $p>0,05$ ). Це свідчить про важливість корекції мукозального бар'єру, як із лікувальною, так і з профілактичною метою, незалежно від результатів алергодіагностики. Доведено, що ФК не мав прогностичної значимості для предикції результату оральної провокаційної проби ( $p>0,05$ ).

Аналіз даних імунологічного дослідження пацієнтів засвідчив, що середня відносна кількість субпопуляцій лімфоцитів знаходилася переважно в межах референтних значень. Виявлено тенденцію до зменшення кількості моноцитів/макрофагів (CD14) та цитотоксичних лімфоцитів (CD3+, 56+) (2,20 [1,10; 4,30] %, 6,90 [4,80; 8,50] % та 6 [2,80 6,20] % відповідно).

Отже, доведено, що переламним є рубіж, який відповідає віку дитини 12 місяців, коли процес експресії генів призводить до початку диференціювання клітин atopії, що виливається у клінічно значущі результати тестів діагностики ХГ. На підставі вивчення факторів транскрипції atopії у системі JAK-STAT було визначено цей період як «вікно можливостей» в процесі формування ХГ, що впливає на вибір тактики лікування та профілактики.

Визначені особливості патогенезу стали підґрунтям для запропонованої схеми молекулярно-генетичних механізмів формування та єдиної практичної схеми підходів до діагностики терапевтичних цілей при ХГ у дітей (рис.1).



Рисунок 1 – Терапевтичні цілі при ХГ у дітей, виділені на підставі встановлених молекулярно-генетичних етапів її формування (від I до IV)

Результати дослідження патогенетичних механізмів формування ХГ у дітей продемонстрували, що її симптоми – прояви системних процесів у всьому організмі. На підставі узагальнюючого аналізу результатів дослідження було виділено фенотипи ХГ у дітей, що має практичне значення. В разі дебюту шкірних проявів ХГ у віці до 12 місяців, наявності свербіжів та/без порушення оральної толерантності слід віднести дитину до раннього, транзиторного фенотипу ХГ, що має тенденцію до абортивного перебігу, оскільки не асоціюється із стабільною поляризацією імунної відповіді. Наявність зміненої оральної толерантності незалежно від віку маніфестації та за наявності інших ознак atopії є діагностичним критерієм персистуючого фенотипу, що має менш сприятливий перебіг через ознаки системних змін у імунній регуляції. Пізній розвиток симптомів (поява перших висипань після 12 місяців) та відсутність ознак atopії – критерії пізнього (неімунного) фенотипу, що слід розглядати як прояв порушення толерантності до харчових продуктів із неімунним механізмом.

На наступному етапі вивчено ефективність традиційної фармакотерапії шкірних проявів ХГ у дітей. Оцінка проведена із залученням групи пацієнтів із симптомами ХГ (вік 36,01 [16,88; 63,96] місяців), яким попередньо проведено повне стандартне і додаткове обстеження (n=60, хлопчиків – 29 (48,00 %), дівчаток – 31 (52,00 %)). Всі діти даної групи отримували стандартне лікування відповідно до дизайну дослідження, яке включало елімінаційну дієту, 1-2-разове нанесення індиферентних емолієнтів зовнішньо, планове призначення H1-антигістамінних препаратів 2-го покоління та їх активних метаболітів і кремів, що містять нефторовані глюкокортикостероїдні препарати (мометазону фууроату 1 мг) місцево на уражені ділянки впродовж перших 5 днів, кремнієві сорбенти, пробіотики внутрішньо, сольові ванни курсом впродовж 5 днів. Після стабілізації шкірного процесу і досягнення ремісії, з метою профілактики загострень надавалися поради виключити з раціону причинні продукти харчування. Статистично значима різниця за статевою ознакою була відсутня ( $\chi^2=0,13$ ;  $p=0,70$ ), групи хлопчиків та дівчаток не відрізнялися за віком ( $U=414,50$ ;  $p=0,40$ ). Вибірка була репрезентативною загальної: переважна кількість пацієнтів була віком до 4 років – 61,00 % (n=37).

Вплив традиційної терапії на стан епідермального бар'єру виявився недостатнім, оскільки у 47,61 % пацієнтів на 10-у добу лікування рівень вологості шкіри лишався нижче нормального (35 %). Незважаючи на зменшення тяжкості симптомів у хворих зберігалися слабкі шкірні симптоми (еритема, папули, сухість), залишалися скарги на свербіж шкіри на тлі застосування H1-антигістамінних препаратів, хоча його виразність стала меншою. Загальна сума балів за шкалою SCORAD статистично значимо зменшувалася, але в середньому відповідала легкому-середньому ступеню тяжкості шкірних симптомів. У 52,39 % дітей функція епідермального бар'єру відновилася. Доведено, що динаміка змін ТЕВР при використанні стандартної терапії не відрізнялася у дітей з різним результатом шкірних прик-тестів ( $U=69,50$ ;  $p=0,23$ ), серологічного тесту ( $U=169,00$ ;  $p=0,06$ ), оральної провокаційної проби ( $U=136,50$ ;  $p=0,09$ ) та у тих дітей, які мали негативні результати всіх тестів ( $U=90,00$ ;  $p=0,40$ ). Доведено, що ефективність традиційної терапії симптомів ХГ на шкірі статистично вища у пацієнтів із підтвердженою сенситизацією до харчових продуктів. Так, кількість балів за шкалою SCORAD статистично значимо відрізнялась у дітей залежно від результату серологічного тесту та оральної провокаційної проби ( $U=90,50$  та  $U=105,00$  відповідно;  $p<0,05$ ). Діти із позитивною ОПП в анамнезі мали вищі значення оцінки за шкалою SCORAD, ніж ті, у яких сенситизація виявлена не була (28,6 [21,25; 46,15] проти 10,9 [7,9; 24,4] балів).



Але вона не відрізнялась залежно від результатів прик-тесту та при негативному результаті використання загальноприйнятих методів верифікації ХГ ( $U=56,00$  та  $U=70,00$  відповідно;  $p>0,05$ ). Враховуючи попередньо отримані нами результати, відповідно до яких стандартні методи виявлення ХГ були негативними у більшій кількості пацієнтів, стає зрозумілим, що традиційні схеми лікування будуть мати низьку ефективність у цих хворих, що спонукало до розробки та впровадження оптимізованої програми лікування та профілактики ХГ на основі отриманих даних щодо молекулярно-генетичних етапів її формування.

Враховуючи виявлену раніше роль дисфункції шкірного та кишкового бар'єрів, для корекції цих порушень було запропоновано схему оптимізованого лікування з орієнтацією на виділені етіо-патогенетичні етапи. Застосування індиферентних зволожуючих кремів для корекції дисфункції шкірного бар'єру з частотою 6-8 разів на день призвело до нормалізації рівня вологості шкіри на 3-ю добу ( $p<0,05$ ). Для дітей з ознаками порушення мукозального бар'єру запропоновано терапію препаратами, що містять пробіотичні протеолітичні штами бактерій *Bacillus* (*B.clausii*, *B.subtilis*, *B.lichenformis*, *B.coagulans*, *B.toyo* (*cereus*), *B.natto* (*subtilis*), *B.polyfermentans* та *B.cereus*) у вигляді розчину для внутрішнього застосування.

Шляхом рандомізації із числа дітей, які попередньо пройшли повний протокол стандартного та додаткового обстежень, була відібрана основна група з 88 пацієнтів із симптомами ХГ на шкірі, які звернулися за медичної допомогою активно. Ці діти отримували етіопатогенетично обґрунтоване лікування. Результати оцінки терапії порівнювали із даними групи дітей, яких лікували традиційно ( $n=60$ ). Статистично значима різниця між дітьми обох груп за віком і статтю, результатами стандартного алергологічного обстеження за допомогою прик-тестування, провокаційної проби та визначення рівнів специфічних антитіл була відсутня ( $p>0,05$ ). Також групи були порівнювальними за даними визначення рівнів цитокінів.

На 10-й день медикаментозного лікування в основній групі дослідження більша частина хворих мала виразну позитивну динаміку, яка статистично достовірно відрізнялася від пацієнтів групи порівняння за вираженістю свербіжності, та балів за шкалою SCORAD загалом ( $p<0,05$ ). При однакових вихідних даних за тяжкістю симптомів на шкірі у обох групах, на 10-у добу від початку терапії медіана та розмах коливань балів за шкалою SCORAD у дітей основної групи дослідження були статистично меншими ( $p<0,05$ ). У пацієнтів обох груп на тлі терапії спостерігалось статистично значиме зниження рівня трансепідермальної втрати рідини ( $p<0,05$ ).

Визначено, що застосування комбінації індиферентних зволожуючих кремів із корекцією дисфункції мукозального бар'єру достовірно зменшує тяжкість шкірних проявів ХГ протягом 10 днів на шкірі незалежно від клінічного варіанту, анамнестичних даних та профілю біомаркерів, порівняно із традиційним лікуванням ( $p < 0,05$ ).

Доведено, що підвищена проникність кишкового бар'єру на підставі тесту сечі з лактулозою впливала на швидкість настання короткострокового результату лікування, а саме на вологість у неуражених ділянках шкіри та динаміку свербіжжю, оцінену суб'єктивно ( $U=411,50$  та  $U=556,50$  відповідно;  $p < 0,05$ ), що було свідченням системних змін імунітету при ХГ у дітей.

Зафіксовано довготривалий ефект запропонованої схеми терапії, про що свідчили вірогідно рідші рецидиви ( $U=1492,50$ ;  $p < 0,05$ ), та менша тривалість персистенції шкірних симптомів ( $U=1516,50$ ;  $p < 0,05$ ) у дітей основної групи, особливо при маніфестації симптомів ХГ на шкірі у віці до 1 року, порівняно із дітьми, які отримували традиційне лікування.

Встановлено, що частота загострень хвороби під час спостереження, відрізнялася залежно від наявності підвищених рівнів IL-4 ( $U=28,00$ ;  $p=0,01$ ), позитивних результатів прик-тесту ( $U=250,50$ ;  $p=0,04$ ) 4 та ОПП ( $U=503,00$ ;  $p=0,01$ ), але не була пов'язана із рівнями IL-2 та TLR-4. На противагу цьому, використання стандартної схеми впливало лише на тривалість загострень, особливо у дітей з наявністю асимптомного запалення слизової оболонки кишки – ФК у копрофільтраті ( $U=105,50$ ;  $p=0,02$ ) та не зменшувала їх частоти.

Аналіз отриманих нами даних показав, що методи стратифікації пацієнтів із ХГ для проведення медикаментозного лікування повинні базуватися на негенетичних факторах, таких як особливості маніфестації, перебігу, наявності біомаркерів запалення, що має вирішальне значення для прогнозування довготривалих ефектів терапії та формування групи пацієнтів для алерген-специфічного лікування, прогнозування його ефективності.

Відмінності довготривалих ефектів запропонованої схеми терапії порівняно із базовими підходами до терапії доведені за допомогою кластерного аналізу. У дітей обох груп з порівнюваними методами лікування виділено по два основні кластери, в які об'єдналися різні вузли критеріїв. У хворих основної групи динаміка рівня вологості шкіри однаково була важливою для прогнозування тривалості та частоти загострень. На противагу у дітей групи порівняння динаміка рівня вологості шкіри об'єдналася у кластер із частотою, а суб'єктивної сухості шкіри – із тривалістю загострень, що підкреслює їх прогностичну значимість для лікування та профілактики ХГ у дітей.

## ВИСНОВКИ

1. Симптоми харчової гіперчутливості на шкірі у дітей є найпоширенішими проявами небажаних реакцій на їжу. Багатокомпонентний процес формування зміненої імунної регуляції при вживанні білків харчових продуктів та адитивів потребує розробки та впровадження нових підходів до діагностики, лікування та профілактики ранніх структурно-функціональних змін епітеліальних бар'єрів та імунної системи у дітей. У дисертаційній роботі представлено розв'язання актуальної проблеми сучасної педіатрії щодо удосконалення підходів до діагностики, лікування та профілактики харчової гіперчутливості у дітей на підставі вивчення факторів ризику, особливостей клінічного перебігу захворювання.

2. Використання стандартних методів алергологічного обстеження (прик-тест, визначення sIgE, ОПП) дозволяє підтвердити імунні механізми розвитку симптомів ХГ на шкірі у 37,64 % пацієнтів, при цьому їх інформативність відрізняється залежно від віку дитини, дебюту симптомів. Статистична міра узгодження між результатом прик-теста та визначення sIgE є найнижчою у дітей віком до 1 року ( $\kappa$  0,16 (95 % ДІ -0,10-0,42)), а у дітей старше 1 року є середньою ( $\kappa$  0,50 (95 % ДІ 0,40-0,59)) та дорівнює мірі узгодження між визначенням sIgE та ОПП ( $\kappa$  0,50 (95 % ДІ 0,47-0,53)).

3. Генетично детермінована схильність до появи шкірних проявів алергії – мутації 2282del4 та R501X гену FLG у гетерозиготному стані (Wt/2282del4 та Wt/ R501X) наявні у 9,34 % пацієнтів. Мутації гену філагтрину – фактор ризику формування симптомів ХГ протягом першого місяця життя (ВШ 10,00 (95 % ДІ 1,120-89,262)). Пацієнти із генотипом SPINK5 (GA (420Glu/Lys)) у гетерозиготному стані (AG) частіше мають підвищені рівні загального IgE, позитивні ОПП та більшу виразність симптомів.

4. Хворі із клінічними проявами ХГ на шкірі у 67,50 % та 64,28 %, відповідно, мають дисфункцію шкірного та кишкового бар'єрів та тенденцію до кореляції між ними ( $r=+0,17$ ;  $p>0,05$ ), незалежно від наявності мутації гену FLG та генотипу SPINK5 і віку дитини (коефіцієнт детермінації  $R^2=0,06$ ). Дисфункція епітеліальних бар'єрів передуює поляризації Th2-опосередкованої відповіді. Ранньою ознакою епігенетичної активації генів атопії Th2-лімфоцитів є порушення проникності слизової оболонки кишечника (асоціація із STAT-6,  $\phi=0,079$ ;  $p<0,05$ ), а зниження рівня вологості шкіри є ранньою ознакою активації диференціювання Th2-лімфоцитів (асоціація із GATA-3  $\phi=0,098$ ;  $p<0,05$ ). Ознаки формування оральної толерантності (експресія FOXP-3) асоційовані із зникненням патологічної проникності слизової оболонки кишечника.

5. Встановлено наявність етапних змін рівнів транскрипційних факторів із віком дитини (STAT-6 у 94,59 % у 24,00 [13,00; 36,00] місяці, GATA-3 у 54,05 % у 39,00 [17,00; 77,00] місяців і FOXP-3 у 21,62 % у 88,00 [52,00; 129,00] місяців) та «вікна можливостей» в процесі формування ХГ у дітей. Експресія GATA-3 пов'язана із віком хворих до 4 років ( $\phi=0,085$ ;  $p<0,05$ ), рівнем ІЛ-4 ( $r=+0,59$ ;  $p<0,05$ ) та позитивними результатами шкірних проб ( $\phi=0,11$ ;  $p<0,05$ ). STAT-6 негативно корелює із маніфестацією симптомів ХГ на першому місяці життя ( $r=-0,54$ ;  $p<0,05$ ), а GATA-3 – із початком симптомів ХГ у перші 6 місяців життя ( $r=-0,33$ ;  $p<0,05$ ).

6. Чим більшим є вік маніфестації симптомів та тривалість клінічних проявів ХГ на шкірі, тим виразнішими є ознаки зміненої імунної регуляції, що підтверджується більшими рівнями ІЛ-2, ІЛ-4 та меншою кількістю TLR-2. Виявлено, що пацієнти із експресованими TLR-2 рецепторами мають рівні прозапального цитокіну ІЛ-2, нижчі за середній у вибірці хворих (8,44 [3,82; 14,34] pg/ml проти 12,11 [7,65; 17,88] pg/ml;  $p<0,05$ ).

7. Оптимізація протокольного лікування ХГ у дітей за рахунок збільшення кратності нанесення індиферентних зволожуючих кремів, зволоження шкіри ваннами з чистою водою, використання препаратів, що містять пробіотичні протеолітичні штами *Bacillus*, а також топічних протимікробних засобів забезпечує кращі найближчі та віддалені результати лікування (зниження кількості рецидивів хвороби,  $U=1492,50$ ;  $p<0,05$  та тривалості персистенції шкірних симптомів,  $U=1516,50$ ;  $p<0,05$ ), порівняно із традиційною терапією ( $p<0,05$ ), незалежно від анамнестичних даних, клінічного варіанту, результатів обстеження та профілю біомаркерів, особливо при маніфестації шкірних проявів ХГ у дітей першого року життя.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. У дітей із симптомами ХГ на шкірі слід обов'язково включати до діагностичного алгоритму визначення віку дебюту, морфології висипу, оцінку суб'єктивних симптомів, результатів додаткових методів обстеження, які дозволяють виявити її клінічні та клініко-морфологічні фенотипи, що є доцільним для діагностики, лікування та прогнозування перебігу захворювання. В разі дебюту шкірних проявів ХГ у віці до 12 місяців, наявності свербіжів та/без порушення оральної толерантності слід віднести дитину до раннього, транзиторного фенотипу ХГ. Наявність зміненої оральної толерантності незалежно від віку маніфестації та за наявності інших ознак атопії є діагностичним критерієм персистуючого фенотипу. Пізній розвиток симптомів (поява перших висипань після 12 місяців) та відсутність

ознак атопії – критерії пізнього (неімунного) фенотипу. У разі виявлення дрібнопапульозного генералізованого висипу слід верифікувати його, як варіант, подібний до кору. В разі виявлення рухливих безболісних папул та вузликів – як папульозно-вузлуватий.

2. Дітям із підвищеними рівнями специфічного IgE до певного харчового алергену та позитивними результатами прик-тестів проведення оральної провокаційної проби не доцільно. Рекомендовано з метою визначення харчового продукту, толерантність до якого порушена, та підвищення ефективності лікування та профілактики, пацієнтам віком до 1 року та при ранньому (у віці до 12 місяців) дебюті симптомів ХГ проведення шкірного прик-тесту доповнити визначенням рівнів специфічних IgE до харчових продуктів з подальшим проведенням оральної провокаційної проби.

3. З метою поліпшення діагностики дисфункції епідермального бар'єру вимірювання вологості шкіри доцільно проводити як у місцях висипу, так і на візуально непошкоджених ділянках. Значення вологості  $\geq 35\%$  у дітей слід розцінювати як ознаку патологічного підвищення трансепідермальної проникності та показання для проведення терапевтичного корегування стану шкірного бар'єру, що підвищить загальну ефективність лікування, зменшить частоту загострень.

4. Дітям на будь-якому етапі формування клінічних проявів ХГ на шкірі доцільно проводити водневий дихальний тест з глюкозою і поєднувати його з визначенням проникності бар'єру кишечника на підставі наявності лактулози у сечі з метою визначення стану мукозального бар'єру та потреби у корекції його стану, що підвищить загальну ефективність лікування.

5. З метою корекції епітеліальних дисфункцій, зменшення частоти та тривалості загострень усім дітям з шкірними проявами ХГ для відновлення шкірного бар'єру доцільно наносити індиферентні зволожуючі креми у кратності 6-8 раз на день (приблизно 1 нанесення кожні 2-3 години) не менше 10 днів поспіль. Першу оцінку їх ефективності оптимально проводити на 3 добу лікування. В разі підвищеної проникності слизової оболонки тонкої кишки, позитивного водневого дихального тесту з глюкозою та позитивного результату аналізу копрофільтрату на наявність кальпротектину доцільно щоденне внутрішнє застосування розчину пробіотичних протеолітичних штамів *Bacillus* раз на добу курсом 10 днів.

6. У дітей з клінічними проявами ХГ на шкірі з метою профілактики подальшого прогресування атопії доцільно використання індиферентних зволожуючих кремів також і на візуально непошкоджених ділянках шкіри з частотою 6-8 разів на день не менше 10 днів поспіль.

## СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

**Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:**

1. Пахольчук О.П. Оцінка ролі дисфункції мукозального бар'єру у формуванні харчової гіперчутливості у дітей. *Астма та алергія*. 2018. №1. С. 1-5.

2. Пахольчук О.П. Оцінка патогенетично обґрунтованого лікування шкірних проявів харчової гіперчутливості в дітей. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2018. №1 (57). С. 66-72.

3. Пахольчук О.П. Значимість віку дебюту та особливостей клінічних проявів для диференційної діагностики симптомів харчової гіперчутливості на шкірі у дітей. *Вісник проблем біології та медицини*. 2018. Вип. 1. Том 1 (142). С. 148-152.

4. Пахольчук О.П. Короткострокові результати фармакотерапії в дітей із симптомами харчової гіперчутливості на шкірі. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2018. № 3 (59). С. 73-78.

5. Пахольчук О.П. Поширеність та кореляційно-статистичні взаємозв'язки дисфункції кишкового бар'єру у дітей із симптомами харчової гіперчутливості на шкірі. *ScienceRise: Medical Science*. 2018. №5 (25). С. 36-39.

6. Pakholchuk O.P. Transepidermal water lost as the earliest independent marker of the epidermal barrier dysfunction in children with food hypersensitivity. *Clinical and Experimental Medical Sciences*. 2018 Vol. 6 (1), P. 25 – 32.

7. Pakholchuk O.P. Features of the Pattern Recognition Receptor TLR-2 Expression and Cytokines IL-2, IL-4 Profile in Children with Food Hypersensitivity. *Biological Markers and Guided Therapy*. 2018. Vol. 5 (1). P. 9 – 16.

8. Пахольчук О.П. Результати популяційного дослідження поширеності та факторів ризику розвитку харчової непереносимості у дітей шкільного віку. *Запорозж. мед. журн. : науч.-практ. журн.* 2015. № 2 (89). С. 74-77.

9. Пахольчук О.П. Обґрунтування оптимальної схеми застосування емолієнта для лікуванні шкірних проявів алергії в дітей. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2015. № 2. С. 90-94.

10. Pakholchuk O.P. Impact of the genetically predisposed skin barrier function abnormalities on the onset and course of food allergy in children. *Здоров'я ребенка*. 2015. №2 (61). С. 19-22.

11. Пахольчук О.П. Особливості верифікації клінічних шкірних проявів харчової алергії у дітей. *Вісник проблем біології і медицини*. 2015. Вип. 2. Т.3 (120). С. 212-215.

12. Пахольчук О.П. Порівняльний аналіз результатів водневого дихального тесту у дітей з харчовою алергією та ротавірусною інфекцією. *Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології*. 2015. 1 (15). С. 66-71.

13. Pakholchuk O.P. Features of the SPINK5 gene polymorphism associations with food allergy onset and course in children. *Запорозж. мед. журн.* 2015. № 4. С. 76-78.

14. Пахольчук О.П. Способы коррекции врожденного иммунитета у детей с кожными проявлениями пищевой аллергии. *Journal of theoretical and clinical medicine*. 2014. №3, Том 1. С.142-144.

15. Пахольчук О.П., Недельська С.М. Проспективне дослідження значимості маркерів дисфункції мукозального бар'єру для оцінки ефективності нової стратегії лікування харчової гіперчутливості у дітей. *Здоров'я ребенка*. 2018. №2. Т.13. С. 33-37. (Здобувачем проведено відбір та клінічне спостереження в динаміці, призначено лікування, літературний пошук, статистична обробка та статистична обробка даних, підготовлено статтю до друку).

16. Недельська С.М., Пахольчук О.П. Узгодженість між стандартними методами діагностики харчової гіперчутливості у дітей різного віку. *Астма та алергія*. 2018. №2. С. 7-11. (Здобувачем проведено літературний пошук, огляд хворих, призначені діагностика та лікування хворим, проведено клінічне спостереження, статистична обробка та аналіз даних, підготовлено статтю до друку).

17. Пахольчук О.П., Недельська С.М. Біомаркер запалення слизової оболонки при симптомах харчової гіперчутливості на шкірі у дітей. *Астма та алергія*. 2018. Том 13. №4. С. 48-52. (Здобувачем проведено огляд хворих, діагностика та лікування, клінічне спостереження, літературний пошук, статистична обробка та аналіз даних, підготовлено статтю до друку).

18. Пахольчук О.П., Недельська С.М. Вікові особливості IgE-залежної гіперчутливості до харчових продуктів у дітей різного віку, підтвердженої методом прик та патч-тестування. *Здоров'я ребенка*. 2017. №7 (12). С. 9-13. (Здобувачем проведено огляд хворих, призначений план діагностики та лікування з подальшим клінічним спостереженням, проведено літературний пошук, статистична обробка та аналіз даних, підготовлено статтю до друку).

19. Пахольчук О.П., Недельська С.М. Порівняльна характеристика методів діагностики гіперчутливості до харчових продуктів у дітей. *Астма та алергія*. 2017. №2. С. 23-29. (Здобувачем проведено клінічне та лабораторне дослідження, літературний пошук, статистична обробка та аналіз даних, підготовлено статтю до друку).

20. Pakholchuk O.P. Nedelska S.N. Fecal calprotectin for prediction of the oral challenge test response in children with food hypersensitivity skin symptoms. *Biological Markers and Guided Therapy*. 2016. Vol. 3 (1). P. 1-8. (Здобувачем проведено огляд хворих, призначений план діагностики та лікування з подальшим клінічним спостереженням, проведено літературний пошук, статистична обробка та аналіз даних, підготовлено статтю до друку).

21. Nyankovsky S., Nyankovska O., Dobryansky D., Shadrin O., Klimenko V., Iatsula M., Nedelska S., Ashcheulov O., Haiduchyk H., Pakholchuk O. Clinical effectiveness of amino acid formula in infants with severe atopic dermatitis and cow's-milk protein allergy. *Pediatrics polska*. 2016. №91. P. 521 – 527. (Здобувачем проведено відбір частини пацієнтів, призначене лікування, проведено клінічне спостереження, підготовлено первинну документацію та базу даних, проведено збір та проміжний аналіз даних).

22. Недельська С.М., Пахольчук О.П., Бессікало Т.Г. Місце харчової сенситизації в структурі гіперчутливості у дітей Запоріжжя. *Запорозж. мед. журн.* 2011. Т.13. №2. С. 103-104. (Здобувачем проведено обстеження хворих, літературний пошук, статистична обробка та аналіз даних, підготовлено статтю до друку).

#### **Опубліковані праці апробаційного характеру:**

23. Пахольчук О.П. Вікові особливості діагностики харчової гіперчутливості у дітей. *Клініч. імунологія. Алергологія. Інфектологія*. 2018, спеціальний випуск, Матеріали науково-практичної конференції алергологів Слобожанщини «Актуальні питання виявлення і лікування алергічних захворювань» (12 квітня 2018р.). Харків, 2018. С.54.

24. Pakholchuk O.P. Diagnostic approaches to the differentiating food allergies from food intolerances. *Clinical and Translational Allergy*. 2017. Vol. 7 (Suppl 1). P. PP010.

25. Pakholchuk O. Barrier's deficiency impact in food allergy course in children. *Clinical and Translational Allergy*. 2015. Vol. 5 (Suppl 1). P. O17.

26. Пахольчук О.П. Условия формирования и факторы риска развития пищевой непереносимости у детей г. Запорожья. *Збірка тез: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2015»* (14-15 травня 2015р.). Запоріжжя, 2015. С. 102.



27. Pakholchuk O.P. Efficacy of an emolient frequent use for skin eczematous rash in children with food hypersensitivity. *Abstract book "Allergy diagnosis in and beyond the skin"* (25-28 Jul 2013). Erlangen, 2013. P. na.

28. Пахольчук О.П. Місце вродженого імунітету у формуванні шкірних проявів алергії. *Клініч. імунологія. Алергологія. Інфектологія*. 2013. №5. С. 32-33.

29. Пахольчук О.П. Роль епігенетичної дисрегуляції у епідемії алергічних захворювань. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2012 (9), додаток 2 тези доповідей 72-ї Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів «Медицина та фармація 21-го століття – крок у майбутнє» (19-20 квітня 2012р.). Запоріжжя, 2012. С.130.

30. Пахольчук О.П. Спосіб оцінки клінічної значимості виявленої реакції гіперчутливості до харчових алергенів у дітей. *Актуал. питання фармац. та мед. науки та практики : науково-практичний журнал*. 2011. Вип. 24, № 2 (Додаток). С. 87.

31. Nedelska S.N., Pakholchuk O. P. An 8-month old with erythema nodosum – clinical case report. *Патологія*. 2015. №2. С. 114-116. (Здобувачем проведено огляд хворих, призначений план діагностики та лікування, клінічне спостереження, проведено літературний пошук, обробка та аналіз даних, підготовлено статтю до друку).

32. Недельская С.Н., Пахольчук О.П., Бессикало Т.Г., Вакула Д.А. Роль синдрома избыточного бактериального роста тонкой кишки в развитии аллергической патологии у детей. *Актуальні проблеми сучасної медицини: вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2015. Т.15. Вип. 1 (49). С. 232-236. (Здобувачем проведено огляд хворих, призначений план діагностики та лікування, проведено літературний пошук, обробка та аналіз даних, підготовлено статтю до друку).

33. Pakholchuk O., Nedelska S. Validation of food hypersensitivity phenotypes using longitudinal observation and atopic sensitization data in the first 6 years of life. *Clinical and Translational Allergy*. 2017. №7 (Suppl 1). P. PP011. (Здобувачем проведено огляд хворих, призначений план діагностики та лікування з подальшим клінічним спостереженням, проведено літературний пошук, статистична обробка та аналіз даних, підготовлено тези до друку).

34. Пахольчук О.П., Вакула Д.А. Сравнительный анализ результатов водородного дыхательного теста у детей пищевой аллергией и ротавирусной инфекцией. Сборник тезисов докладов 69-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием. Минск, 2015. С. 647. (Здобувачем проведено огляд хворих, проведено

*дослідження, літературний пошук, статистична обробка та аналіз даних, підготовлено тези до друку).*

35. Пахольчук О.П., Вакула Д.О. Особливості місцевого імунітету у дітей з харчовою алергією. Тези доповідей 83-ої науково-практичної конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині» (27-28 березня 2014). Запоріжжя, 2014. С. 132. *(Здобувачем проведено огляд хворих, проведено дослідження, літературний пошук, статистична обробка та аналіз даних, підготовлено тези до друку).*

**Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:**

36. Пахольчук О.П. Клінічні особливості харчової алергії у дітей на тлі синдрому надмірного бактеріального росту тонкої кишки. *Совр. педиатрия*. 2015. №5. С. 107-110.

37. Пахольчук О.П. К вопросу о роли генетически модифицированных продуктов в развитии пищевой аллергии у детей. *Астма та алергія*. 2014. №2. С. 22-25.

38. Недельська С.М., Пахольчук О.П. Проект сучасної класифікації клінічних проявів харчової гіперчутливості у дітей. *Здоровье ребенка*. 2016. №6 (74). С. 103-107. *(Здобувачем проведено аналіз літератури, клінічне спостереження, аналіз даних, підготовлено статтю до друку).*

39. Недельская С. Н., Пахольчук О.П. Трудности и ошибки, или насколько правомочен диагноз "пищевая аллергия". *Запорож. мед. журн*. 2014. №1. С. 104-106. *(Здобувачем проведено клінічні спостереження за пацієнтами, аналіз літератури, аналіз власних даних та проведено порівняння, підготовлено статтю до друку).*

40. Няньковський С.Л., Шадрін О.Г., Клименко В.А., Добрянський Д.О., Яцула М.С., Івахненко О.С., Недельська С.М., Кобець Т.В., Ащеулов О.М., Пахольчук О.П., Гостіщева Г.А., Гайдучик О.В. Результати багатоцентрового проспективного дослідження ефективності амінокислотної суміші у дітей грудного віку з тяжким атопічним дерматитом та алергією до білків коров'ячого молока. *Здоровье ребенка*. 2014. №4. С. 43-50. *(Здобувачем проведено огляд частини пацієнтів за розподіленим розділом дослідження, призначений план діагностики та лікування, клінічне спостереження, створено базу даних та проведено їх статистичну обробку та аналіз).*

41. Недельська С.М., Пахольчук О.П., Бессікало Т.Г., Шевченко О.О., Кізілова І.А. Алергія на морепродукти: їсти чи не їсти. *Алергія у дитини*. 2013. №13-14. С. 37. *(Здобувачем проведено літературний пошук, підготовлено статтю до друку).*

42. Недельська С.М., Пахольчук О.П., Бессікало Т.Г. Щодо епігенетичних механізмів формування харчової алергії у дітей. *Перинатологія і педіатрія : науч.-практ. журн.* 2012. №4. С. 112-113. (Здобувачем проведено аналіз літератури, підготовлено статтю до друку).

43. Недельська С.М., Пахольчук О.П., Бессікало Т.Г. Раціональне харчування в профілактиці та лікуванні алергії на їжу у дітей. *Совр. педіатрія: науч.-практ. педіатрич. журн.* 2012. №6. С. 113-114. (Здобувачем проведено аналіз даних літератури, підготовлено статтю до друку).

44. Недельська С.М., Пахольчук О.П., Бессікало Т.Г. Обґрунтування програми профілактики харчової алергії у дітей. *Астма та алергія.* 2011. №4. С. 58-60. (Здобувачем проведено аналіз літератури, аналіз даних, підготовлено статтю до друку).

45. Пат. 83625 Україна, МПК (2013.01) А 61К 31/57, А 61К 31/58, А 61Р 5/44, А 61Р 17/00. Спосіб лікування atopічного дерматиту у дітей / Недельська С.М., Пахольчук О.П., Бессікало Т.Г. № и 2013 01591; заявл. 11.02.2013; опубл. 25.09.2013, бюл.№18. (Здобувачем проведено патентно-інформаційний пошук, оформлено документацію, заявку).

## АНОТАЦІЯ

**Пахольчук О.П. Диференційований підхід до діагностики, лікування та профілактики харчової гіперчутливості у дітей. – На правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.10 – педіатрія. – Запорізький державний медичний університет МОЗ України, м. Запоріжжя, 2019.

У дисертаційній роботі представлено розв’язання актуальної проблеми сучасної педіатрії щодо удосконалення діагностики, лікування та профілактики харчової гіперчутливості (ХГ) у дітей на підставі розробки та наукового обґрунтування програми диференційованої діагностики, шляхом вивчення факторів ризику, патогенетичних механізмів, особливостей клінічного перебігу захворювання.

Обстежено 424 пацієнтів (вік 26,28 [12,00; 54,25] місяців, серед них хлопчиків – 210 (49 %), дівчаток – 214 (51 %)) та додатково 217 практично здорових дітей віком від 6 до 18 років. Визначено особливості клінічного перебігу, морфології шкірних елементів, стану шкірного та мукозального бар’єрів. Виявлено мутації 2282del4 та R501X гену FLG у гетерозиготному стані (Wt/2282del4 та Wt/ R501X) у 9,34 % пацієнтів. Доведено

поетапні зміни активації транскрипційних факторів атопії у системі JAK-STAT (STAT-6, GATA-3 FOXP-3) із віком у дітей із симптомами ХГ на шкірі. Встановлено фенотипи ХГ, що має прояви на шкірі (ранній, транзиторний фенотип, персистуючий, пізній (неімунний)) і клініко-морфологічні фенотипи: дрібнопапульозний «кореподібний» та папульозно-вузлуватий, що є доцільним для правильної верифікації симптомів, виявлення причинних факторів та прогнозування перебігу захворювання. Виділені основні патогенетично-обґрунтовані послідовні етапи діагностики ХГ. Доведено, що ранньою ознакою епігенетичної активації генів атопії Th2 є порушення проникності слизової кишківника, а зниження рівня вологості шкіри – рання ознака активації диференціювання Th2. Запропонована комплексна терапія із включенням засобів фармакологічної корекції епідермальної дисфункції та ад'ювантів для формування оральної толерантності, а саме використання емолієнтів у кратності 6-8 раз на день та препаратів *Vacillus* внутрішньо дозволяє досягнути більш тривалої ремісії та меншої частоти загострень, порівняно із стандартною терапією. Доведено, що результати корекції мукозального та епідермального бар'єрів залежать від результатів прик-тесту, рівня IL-2 та TLR-4 у крові, лактулози у сечі.

**Ключові слова:** харчова гіперчутливість, епідермальна та мукозальна дисфункція, лікування, профілактика.

## АННОТАЦІЯ

**Пахольчук О.П. Дифференцированный подход к диагностике, лечению и профилактике пищевой гиперчувствительности у детей. – На правах рукописи.**

Диссертация на соискание научной степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.10 – педиатрия. – Запорожский государственный медицинский университет МОЗ Украины, г. Запорожье, 2019.

Диссертация посвящена повышению эффективности диагностики, лечения и профилактики пищевой гиперчувствительности (ПГ) у детей путем разработки и научного обоснования дифференцированной диагностики, основанной на изучении факторов риска, патогенетических механизмов, особенностей ее клинического течения. Проведена оценка состояния кожного и кишечного барьеров, активации транскрипционных факторов (JAK-STAT), установлена значимость мутаций гена FLG и полиморфизма гена SPINK5. Выделены фенотипы ПГ, этапы диагностики. Доказано, что эффекты предложенной комплексной терапии, которая позволяет достичь меньшей

длительности и частоты обострений, зависит от результатов прик-теста, уровней IL-2 и TLR-4 в крови, наличия лактулозы в моче.

**Ключевые слова:** пищевая гиперчувствительность, эпидермальная и мукозальная дисфункция, лечение, профилактика.

## ANNOTATION

**Pakholchuk O.P. Differential approach to the diagnostics, treatment and prophylaxis of the food hypersensitivity in children. – The manuscript.**

The dissertation is presented for the degree of Doctor of Medical Science in specialty 14.01.10 – pediatrics. – Zaporizhzhia state medical university, Ministry of Public Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2019.

The dissertation presents a solution for the problem of modern pediatrics – improvement of diagnostics, treatment and prophylaxis of the food hypersensitivity (FH) in children with scientific prove of the differential diagnostics based on the studying of the risk factors, pathogenetical mechanisms and features of the course.

There were peculiarities of the mucosal and epidermal barrier functioning, activation of the factors of gene transcription (JAK-STAT) estimated. Prevalence of the FLG gene mutations and polymorphism of the SPINK5 gene in children with FH was assessed. Phenotypes of FH and steps of diagnostics were proposed. It was proved that effectiveness of the proposed treatment results in the less frequency and duration of the exacerbations and depends on results of the skin prick-test, level of IL-2 and TLR-4 in serum, lactulose in urine.

**Key words:** food hypersensitivity, epidermal barrier and mucosal barrier dysfunction, treatment, prophylaxis.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

ВШ	– відношення шансів
ДТ	– дихальний тест
H <sup>2</sup>	– водень
ОПП	– оральна провокаційна проба
ТЕВР	– трансепідермальна втрата рідини
ФК	– фекальний кальпротектин
ХГ	– харчова гіперчутливість
95 % ДІ	– 95 % довірчий інтервал
ISAAC	– анкета (International Study of Asthma and Allergies in Childhood)
FLG	– філаггрин
FOXP-3	– транскрипційний фактор Т-регуляторних лімфоцитів
GATA-3	– транскрипційний фактор диференціації Th2
IgE	– імуноглобулін класу Е
IL	– інтерлейкін
JAK-STAT	– сигнальна система (Janus kinases – JAK, signal transducer and activator of transcription proteins – STAT)
spIgE	– специфічний імуноглобулін класу Е
SPINK5	– серинова протеаза (Serine peptidase inhibitor, Kazal type 5)
STAT-6	– транскрипційний фактор Th2
Th	– Т-лімфоцит хелпер
TLR	– Toll-like рецептор
Treg	– Т-лімфоцит регуляторний

Підписано до друку 12.03.2019. Гарнітура Times new Roman  
Папір друкарський. Формат 60x90 1/16. Умовн. друк. арк. 1,5.

Наклад – 100 прим. Замовлення № 8225.

Надруковано з оригінал-макету в типографії  
Запорізького державного медичного університету  
69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26.