



До питання вітамін D-залежної регуляції локальних механізмів неспецифічного захисту в дітей із дисплазією сполучної тканини

For cite: Zdorov'ye Rebenka. 2017;12(8):890-894. doi: 10.22141/2224-0551.12.8.2017.119244

Резюме. Актуальність. Особливе значення в дітей при дисплазії сполучної тканини (ДСТ) може мати вплив активних метаболітів вітаміну D (BD) на реакцію захисних неспецифічних механізмів слизових оболонок. **Мета.** Визначити концентрацію людського β -дефензину (HBD-2) і лізоциму в локальних секретах у дітей із ДСТ з урахуванням забезпеченості організму BD. **Матеріали та методи.** Обстежено 127 дітей 11–17 років із фенотиповими проявами ДСТ з урахуванням забезпеченості BD. Визначено 4 групи дітей: 1-ша — здорові діти з фізіологічним рівнем 25ОНD, 2-га — діти з помірними та вираженими ступенями ДСТ та з фізіологічними концентраціями BD (75–100 нмоль/л), 3-тя — діти з ДСТ та недостатністю 25ОНD (50–75 нмоль/л), 4-та група — діти з ДСТ та дефіцитом вітаміну D (ДВД) (нижче 50 нмоль/л). В усіх дітей уміст HBD-2 визначали методом імуноферментного аналізу та лізоциму — за методикою з використанням сухого порошку одностодної культури *Micrococcus luteus* у локальних секретах (слина, копрофільтрат (КФ)). **Результати.** При дослідженні HBD-2 у слині найбільш високі його концентрації виявлені в дітей 1-ї групи — $4,52 \pm 0,06$ нг/мл. У дітей 2-ї та 3-ї групи зареєстровані більш низькі концентрації HBD-2, а в дітей із ДСТ та ДВД показники були найменшими — $3,88 \pm 0,08$ нг/мл. Найбільш високі рівні HBD-2 у КФ виявлені в 1-й групі — $81,14 \pm 5,13$ нг/мл. У групах дітей із диспластичними проявами відмічається достовірна різниця даних ($p \leq 0,05$) залежно від концентрації 25ОНD, при цьому найменші концентрації виявлені в групі ДВД — $52,63 \pm 3,01$ нг/мл. Найвищі показники лізоциму в КФ мали діти 1-ї ($4,68 \pm 0,10$ мг/л) та 2-ї ($4,41 \pm 0,09$ мг/л) груп. Проте найбільш низька концентрація лізоциму виявлена в дітей із ДСТ та ДВД — $4,09 \pm 0,08$ мг/л. Визначається пряма залежність між концентраціями вітаміну D та лізоциму ($r = 0,65$). **Висновки.** Отримані результати свідчать про вітамін D-залежну регуляцію продукції антимікробних пептидів в епітеліоцитах слизової оболонки кишечника при дисплазії сполучної тканини. Виразеність порушень продукції HBD-2 та лізоциму в дітей із ДСТ та ДВД обумовлює доцільність проведення корекції вітаміну D у цієї категорії пацієнтів.

Ключові слова: вітамін D; дисплазія сполучної тканини; антимікробні пептиди; діти

Вступ

Імунна відповідь в організмі дитини залежить від злагодженого функціонування як вроджених неспецифічних механізмів захисту (бар'єрні функції слизових оболонок, гуморальні неспецифічні чинники місцевого захисту, функціонування системи комплементу, моноцитарно-макрофагальна активність

імунокомпетентних клітин, тощо), так і набутої специфічної (адаптивної) ланки імунітету [3].

Результати сучасних наукових досліджень свідчать, що недостатня забезпеченість вітаміном D (BD), характерна для основної маси населення, є чинником ризику не тільки остеопорозу, а й аутоімунних, онкологічних, серцево-судинних, ін-

фекційних, неопластичних процесів, цукрового діабету тощо, що опосередковано підтверджується наявністю рецепторів до ВД (VDR) у багатьох органах і тканинах, у тому числі в клітинах імунної системи [1, 9]. Доведено, що прямо чи опосередковано обмін ВД в організмі регулюється більше ніж 200 видами генів, у тому числі тими, які відповідають за проліферацію, диференціювання клітин, апоптоз і ангиогенез [5].

Відносно нещодавнім надбанням еволюційного розвитку живих організмів є ВД-залежна регуляція неспецифічних механізмів захисту. Найважливішими імуномодулюючими ефектами ВД є індукція диференціювання моноцитів, стимуляція процесів фагоцитозу в макрофагах, посилення продукції антимікробних пептидів (АМП). Встановлено, що поєднана експресія фактора транскрипції сукупності стероїд-гормональних рецепторів ВД та мітохондріального ферменту родини цитохрому P450 1α -гідроксилази відмічається в моноцитах, дендритних клітинах, лімфоцитах, нейтрофілах, епітеліоцитах респіраторного й харчового тракту, клітин децидуальної оболонки й трофобластах [4].

Активация експресії екстраренальної 1α -гідроксилази в кістковій тканині, епітелії шкіри, слизових оболонках легень і кишечника, паразитоподібних залоз забезпечує синтез кальцитріолу, що взаємодіє з VDR, індукуючи продукцію антимікробних пептидів [7]. Індукція експресії екстраренальної 1α -гідроксилази асоційована зі збудженням Toll-подібних рецепторів (TLR, NLR) і дією TGF- β_1 . Наявність ВД сприяє продукції АМП-кателіцидину (LL-37) при збудженні TLR1/2. Доведено, що при активації TLR кальцитріол індукуює синтез β -дефензинів і кателіцидину (LL-37) не тільки в моноцитах, але й у нейтрофілах і кератиноцитах. При цьому в клітинах імунної системи підвищення експресії АМП, що спостерігається при стимуляції TLR у присутності ВД, супроводжується одночасним пригніченням продукції прозапальних Th₁-асоційованих цитокінів IL-1, IL-12 і TNF- α [6].

Встановлено, що Th₁- і Th₂-асоційовані цитокіни диференційовано впливають на продукцію АМП. Основними цитокінами, що регулюють TLR2/1-асоційовану індукцію експресії АМП кателіцидину та людського β -дефензиму 2 (HBD-2), є IFN- γ та IL-4. У відповідь на стимуляцію IFN- γ людські макрофаги синтезують $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, і при достатній експресії VDR виникає активация продукції АМП моноцитами й макрофагами [8, 12]. Взаємодія VDR із VDRE обумовлює індукцію синтезу HBD-2 і кателіцидину (LL-37), а кальцитріол індукуює експресію й HBD-3. Для експресії HBD-2, HBD-3 необхідна конвергенція збудження TLR і впливу IL-1 β , а в ентоцитях індукція їх експресії може бути пов'язана з активацією NLRC2 [11].

Треба зазначити, що численні типи клітин людського організму експресують VDR і 1α -гідро-

ксилазу, але дані молекулярно-біологічних досліджень показують, що VDR-опосередкована індукція АМП не є універсальною для всіх типів клітин організму і в природних умовах залежить від багатьох різних зовнішніх і внутрішніх факторів. VDR-опосередкована індукція АМП є характерною особливістю мієлоїдних клітин, кератиноцитів, трофобластів, епітеліоцитів харчового й респіраторного тракту. Епітеліоцити слизової оболонки товстого кишечника беруть активну участь у VDR-опосередкованій індукції АМП. ВД-залежна регуляція продукції АМП в епітеліоцитах товстого кишечника, що регулярно взаємодіють з коменсальними кишковими бактеріями, мають суттєву відмінність від VDR-опосередкованої індукції АМП моноцитами, кератиноцитами й іншими клітинами. Продемонстровано, що кальцитріол-асоційований сигнальний шлях продукції АМП функціонально пов'язаний з цитоплазматичним NOD-подібним рецептором — NLRC2, збудження якого мураміддипептидом при адекватному забезпеченні кальцитріолом сприяє збільшенню (практично в два рази) продукції HBD-2 і кателіцидину (LL-37) епітеліоцитами слизової кишечника [10].

Вплив плейотропних активних метаболітів ВД на реакцію захисних неспецифічних механізмів локальних секретів, що обумовлює активність бар'єрних функцій слизових оболонок, може мати особливе значення в дітей із дезорганізацією базальних мембран при дисплазії сполучної тканини (ДСТ), оскільки відома схильність дітей до захворювань шлунково-кишкового тракту та респіраторної патології.

Мета: визначити концентрацію HBD-2 і лізоциму в локальних секретах у дітей із ДСТ з урахуванням забезпеченості організму вітаміном D.

Матеріали та методи

Проведено дослідження показників неспецифічного імунітету (HBD-2 і лізоциму) в слині та копрофільтратах (КФ) у 127 дітей 11–17 років. Залежно від ступеня вираженості фенотипових проявів ДСТ за кількістю балів відповідно до класифікації Т. Мілковської-Дімітрової в модифікації Л.Н. Абакумової [2] виділяли: легкий ступінь дисплазії (варіант норми) — загальна кількість балів до 12, помірний — 13–23 бали та виражений ступінь дисплазії — 24 бали й більше. Статус вітаміну D оцінювали за останньою класифікацією, згідно з якою дефіцит вітаміну D (ДВД) встановлюється при рівні 25ОНD нижче від 50 нмоль/л, недостатність ВД — при показниках 25ОНD між 50 та 75 нмоль/л, а концентрація 25ОНD у межах 75–125 нмоль/л вважається нормальною [11]. Використовували імуноферментні набори для кількісного визначення 25-гідроксिवітаміну D та інших гідроксильованих метаболітів у сироватці або плазмі виробництва Immunodiagnostic Systems Ltd (IDS Ltd) (Велика Британія).

З урахуванням концентрації ВД у сироватці крові визначено 4 групи дітей: 1-ша група — здо-

рові діти з фізіологічним рівнем 25ОНD, 2-га група — діти з помірними та вираженими ступенями ДСТ та з фізіологічними концентраціями VD (75–100 нмоль/л), 3-тя група — діти з ДСТ та недостатністю 25ОНD (50–75 нмоль/л), 4-та група — діти з ДСТ та дефіцитом вітаміну D (нижче від 50 нмоль/л).

У виділених групах проаналізовано концентрацію НВД-2 та лізоциму в локальних секретах (слина, копрофільтрат). Концентрацію дефензину (НВД-2) визначали методом імуноферментного аналізу з використанням комерційного набору β -Defensin 2 ELISA Kit, виробник Immundiagnostik AG, Німеччина. Концентрацію лізоциму в слині та копрофільтратах — за методикою з використанням сухого порошку одностійкої культури *Micrococcus lysodeiiticus*.

Результати та обговорення

При дослідженні антимікробних пептидів, зокрема НВД-2, у слині найбільш високі його концентрації виявлені в здорових дітей 1-ї групи, що мали фізіологічну концентрацію 25ОНD $4,52 \pm 0,06$ нг/мл. У дітей із диспластичними проявами (2-га та 3-тя групи) зареєстровані більш низькі концентрації НВД-2, а в дітей із ДСТ та ДВД показники були найменшими серед обстежених осіб — $3,88 \pm 0,08$ нг/мл (табл. 1).

Згідно з Т-тестом Welch, з 95% вірогідністю, що відповідає р-значенням в інтервалі $0 \leq p \leq 0,05$, статистично вірогідні різниці спостерігалися: між 1-ю та 4-ю групами ($p_{1,4} = 2,97 \cdot 10^{-8}$); між 2-ю та 4-ю групами ($p_{2,4} = 0,05$); між 1-ю та 2-ю групами ($p_{1,2} = 0,05$); між 3-ю та 4-ю групами ($p_{3,4} = 0,04$).

При дослідженні НВД-2 у копрофільтратах найбільш високі показники НВД-2 виявлені в 1-й групі — $81,14 \pm 5,13$ нг/мл (табл. 2). У групах дітей із диспластичними проявами відмічається вірогідна різниця даних ($p \leq 0,05$) залежно від концентрації 25ОНD, при цьому найменші концентрації виявлені в групі з ДВД — $52,63 \pm 3,01$ нг/мл.

Згідно з Т-тестом Welch, з 95% вірогідністю, що відповідає р-значенням в інтервалі $0 \leq p \leq 0,05$, статистично вірогідні різниці спостерігалися: між 1-ю та 4-ю групами ($p_{1,4} = 1,43 \cdot 10^{-5}$); між 2-ю та 4-ю групами ($p_{2,4} = 0,001$); між 1-ю та 2-ю групами ($p_{1,2} = 0,05$); між 3-ю та 4-ю групами ($p_{3,4} = 0,05$).

Отже, вірогідна різниця показників НВД-2 у слині та КФ дітей 1-ї та 2-ї груп свідчить про більш низькі концентрації АМП у дітей із ДСТ, навіть без недостатності VD, що опосередковано може визначати вроджену недостатність синтезу або свідчити про більш інтенсивне виснаження захисних функцій слизової оболонки в пацієнтів із дезорганізацією сполучної тканини, яка є обтяжуючим фактором щодо формування та перебігу дис-

Таблиця 1. Концентрація НВД-2 у слині дітей із ДСТ з урахуванням забезпеченості вітаміном D (нг/мл)

Показник	Значення показника в групах, n = 127			
	Група 1, n = 33	Група 2, n = 30	Група 3, n = 32	Група 4, n = 32
НВД-2	$4,52 \pm 0,06$	$4,35 \pm 0,06$	$4,13 \pm 0,09$	$3,88 \pm 0,08$
р статистики Т-критерію	Welch: $p_{1,4} = 2,97 \cdot 10^{-8}$, $p_{2,4} = 0,05$, $p_{3,4} = 0,04$, $p_{1,2} = 0,05$, $p_{1,3} = 0,0007$, $p_{2,3} = 0,047$			

Таблиця 2. Концентрація НВД-2 у копрофільтратах дітей із ДСТ з урахуванням забезпеченості вітаміном D (нг/мл)

Показник	Значення показника в групах, n = 127			
	Група 1, n = 33	Група 2, n = 30	Група 3, n = 32	Група 4, n = 32
НВД-2	$81,14 \pm 5,13$	$68,71 \pm 3,48$	$60,17 \pm 2,26$	$52,63 \pm 3,01$
р статистики Т-критерію	Welch: $p_{1,4} = 1,43 \cdot 10^{-5}$, $p_{2,4} = 0,001$, $p_{3,4} = 0,05$, $p_{1,2} = 0,05$, $p_{1,3} = 0,0005$, $p_{2,3} = 0,04$			

Таблиця 3. Концентрація лізоциму в локальних секретах при ДСТ у дітей з урахуванням забезпеченості вітаміном D (мг/л)

Показник	Значення показника в групах, n = 127			
	Група 1, n = 33	Група 2, n = 30	Група 3, n = 32	Група 4, n = 32
Лізоцим (слина)	$15,27 \pm 0,88$	$13,42 \pm 0,39$	$12,85 \pm 0,89$	$11,00 \pm 0,19$
р статистики Т-критерію	Welch: $p_{1,4} = 3,48 \cdot 10^{-5}$, $p_{2,4} = 1,58 \cdot 10^{-6}$, $p_{3,4} = 0,05$, $p_{1,2} = 0,12$, $p_{1,3} = 0,07$, $p_{2,3} = 0,56$			
Лізоцим (КФ)	$4,68 \pm 0,10$	$4,41 \pm 0,09$	$4,14 \pm 0,10$	$4,09 \pm 0,08$
р статистики Т-критерію	Welch: $p_{1,4} = 2,15 \cdot 10^{-5}$, $p_{2,4} = 0,01$, $p_{3,4} = 0,7$, $p_{1,2} = 0,05$, $p_{1,3} = 0,0003$, $p_{2,3} = 0,05$			

пластикозалежних патологічних процесів у такої категорії дітей. Більш низькі концентрації НВД-2, як компонента неспецифічного захисту слизових оболонок, що проявляється однаковою мірою при дослідженні як слини, так і копрофільтратів, у дітей з D-дефіцитом можуть свідчити про вітамін-D-залежну регуляцію продукції АМП в епітеліоцитах слизової оболонки товстого кишечника, які регулярно взаємодіють з мікробіотою кишечника.

Концентрація лізоциму як фактора неспецифічного гуморального імунного захисту в локальних секретах є вірогідним імунологічним маркером функціонального стану організму, показником резистентності, що відображає стан його імунологічної реактивності, активність запального процесу та прогноз захворювання. Результати визначення концентрації лізоциму в слині та КФ у пацієнтів дослідних груп подано в табл. 3.

За T-тестом Welch з рівнем значущості $\alpha = 0,05$ спостерігається така картина відмінностей за концентрацією лізоциму в слині: між 1-ю та 4-ю групами ($p_{1,4} = 3,78 \cdot 10^{-5}$); між 2-ю та 4-ю групами ($p_{2,4} = 1,58 \cdot 10^{-6}$); між 3-ю та 4-ю групами ($p_{3,4} = 0,05$). Проте статистично вірогідна різниця відсутня між 1-ю, 2-ю та 3-ю групами ($p_{1,2} = 0,12$; $p_{1,3} = 0,07$; $p_{2,3} = 0,56$).

У КФ залежність синтезу лізоциму в групах простежується більш чітко (табл. 3). Найвищі показники мали діти 1-ї ($4,68 \pm 0,10$ мг/л) та 2-ї ($4,41 \pm 0,09$ мг/л) груп, що відображає адекватність синтезу ендogenous лізоциму клітинами слизової оболонки кишечника здорових дітей. Проте найбільш низька концентрація лізоциму виявлена в дітей із ДСТ та ДВД — $4,09 \pm 0,08$ мг/л.

Згідно з T-тестом Welch з рівнем значущості $\alpha = 0,05$ спостерігаються відмінності між 1-ю та 4-ю групами ($p_{1,4} = 2,15 \cdot 10^{-5}$); між 2-ю та 4-ю групами ($p_{2,4} = 0,04$). При цьому між 3-ю та 4-ю групами вірогідної різниці не виявлено ($p_{3,4} = 0,7$).

Отже, при фізіологічних концентраціях 25ОНД як у дітей із ДСТ, так і в здорових дітей без фенотипових ознак дисплазії сполучної тканини показники лізоциму в локальних секретах (слина, копрофільтрат) вірогідно відрізнялись від його значень у дітей із ДСТ та дефіцитом вітаміну D. При цьому визначається пряма залежність між концентраціями вітаміну D та лізоциму ($r = 0,65$), що підтверджує залежність концентрації лізоциму від забезпеченості організму 25ОНД. Зниження вмісту 25ОНД призводить до зменшення рівня лізоциму в слині та КФ дітей із ДСТ, що визначає недостатність неспецифічної гуморальної імунної відповіді, яка може бути пов'язана з первинним дефектом мікромакрофагальної ланки імунологічного захисту організму, збільшенням лімфоцитарної й гранулоцитарної інфільтрації в місцях запалення або зміною її відповіді на антигени різного походження. Отримані результати певною мірою можуть пояснити схильність дітей із ДСТ до частих вірусно-бактеріальних захворювань із фор-

муванням хронічних запальних процесів у носоглотці, шлунку та кишечника.

Вираженість порушень продукції АМП та лізоциму в дітей із ДВД обумовлює доцільність проведення його корекції, що може підвищити рівень захисних функцій слизових оболонок і сприяти зменшенню захворюваності на респіраторну та шлунково-кишкову патологію.

Висновки

1. У дітей з ДСТ встановлено зменшення концентрації НВД-2 у локальних секретах порівняно зі здоровими дітьми без ознак ДСТ, що опосередковано може визначати вроджену недостатність синтезу або більш інтенсивне виснаження захисних функцій слизової оболонки при дезорганізації сполучної тканини та порушенні синтезу колагену в базальних мембранах, що є обтяжуючим фактором перебігу патологічних процесів у такої категорії дітей.

Низькі концентрації НВД-2, як компонента неспецифічного захисту слизових оболонок, що проявляється однаковою мірою при дослідженні як слини, так і копрофільтратів, у дітей з D-дефіцитом свідчить про вітамін-D-залежну регуляцію продукції НВД-2 в епітеліоцитах слизової оболонки кишечника.

2. Концентрація лізоциму в локальних секретах при фізіологічних концентраціях 25ОНД як у дітей із ДСТ, так і здорових дітей вірогідно відрізнялись від показників дітей із ДСТ на тлі дефіциту вітаміну D. Визначена пряма залежність між концентраціями вітаміну D та лізоциму ($r = 0,65$), що підтверджує залежність концентрації лізоциму від забезпеченості організму 25ОНД та визначає недостатність неспецифічної гуморальної імунної відповіді, яка може бути пов'язана з первинним дефектом мікромакрофагальної ланки імунологічного захисту організму або пригніченням її активності в місцях запалення. Вираженість порушень продукції АМП та лізоциму в дітей з ДСТ та ДВД обумовлює доцільність проведення корекції вітаміну D у такої категорії дітей.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів при підготовці даної статті.

References

1. Abaturov, AYe, Borisova TP, Krivusha YeL. Treatment and prevention of vitamin D insufficiency and deficiency in children and adolescents. *Zdorov'ye rebenka*. 2015; 3 (63): 73-78. (in Russian).
2. Abbakumova LN. Connective tissue dysplasia. *St Petersburg*; 2006. 46 p. (in Russian).
3. Dranik GN, editor. *Clinical immunology and allergology: textbook for students, interns, immunologists, allergists, and doctors of all specialties*, 4th ed. Kyiv; 2010. 552 p. (in Russian).
4. Hewison M. Vitamin D and innate and adaptive immunity. *Vitam Horm*. 2011;86:23-62. doi: 10.1016/B978-0-12-386960-9.00002-2.
5. Chatterjee M. Vitamin D and genomic stability. *Mutat Res*. 2001 Apr 18;475(1-2):69-87. PMID: 11295155.
6. Schaubert J, Dorschner RA, Coda AB et al. Injury enhances TLR2 function and antimicrobial peptide expression through a vitamin D-dependent mechanism. *J Clin Invest*. 2007 Mar;117(3):803-11. doi: 10.1172/JCI30142.

7. Gombart AF. The vitamin D-antimicrobial peptide pathway and its role in protection against infection. *Future Microbiol.* 2009 Nov;4(9):1151-65. doi: 10.2217/fmb.09.87.

8. Gombart AF, Borregaard N, Koefler HP. Human cathelicidin antimicrobial peptide (CAMP) gene is a direct target of the vitamin D receptor and is strongly up-regulated in myeloid cells by 1,25-dihydroxyvitamin D. *FASEB J.* 2005 Jul;19(9):1067-77. doi: 10.1096/fj.04-3284com.

9. Hartley M, Hoare S, Lithander F, Rachel E. Comparing the effects of sun exposure and vitamin D supplementation on vitamin D insufficiency, and immune and cardio-metabolic function: the Sun Exposure and Vitamin D Supplementation (SEDS) Study. *BMC Public Health.* 2015 Feb 10;15:115. doi: 10.1186/s12889-015-1461-7.

10. Lagishetty V, Misharin AV, Liu NQ, et al. Vitamin D deficiency in mice impairs colonic antibacterial activity and predisposes to colitis. *Endocrinology.* 2010 Jun;151(6):2423-32. doi: 10.1210/en.2010-0089.

11. Hertting O, Holm A, Lüthje P, Brauner H. Vitamin D Induction of the Human Antimicrobial Peptide Cathelicidin in the Urinary Bladder. *PLoS One.* 2010 Dec 14;5(12):e15580. doi: 10.1371/journal.pone.0015580.

12. Shirakawa AK, Nagakubo D, Hieshima K, Nakayama T, Jin Z, Yoshie O. 1,25-dihydroxyvitamin D3 induces CCR10 expression in terminally differentiating human B cells. *J Immunol.* 2008 Mar 1;180(5):2786-95. PMID: 18292499.

Отримано 22.10.2017 ■

Омельченко Л.И.¹, Муквич Е.Н.¹, Лавренчук О.В.²

¹ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», г. Киев, Украина

²КНП «Центр первичной медико-санитарной помощи № 1» Шевченковского района, г. Киев, Украина

К вопросу витамин D-зависимой регуляции локальных механизмов неспецифической защиты у детей с дисплазией соединительной ткани

Резюме. Актуальность. Особое значение у детей при дисплазии соединительной ткани (ДСТ) может иметь влияние активных метаболитов витамина D (ВД) на реакцию защитных неспецифических механизмов слизистых оболочек. **Цель.** Определить концентрацию человеческого β -дефензина (HBD-2) и лизоцима в локальных секретах у детей с ДСТ, учитывая обеспеченность организма ВД. **Материалы и методы.** Обследовано 127 детей 11–17 лет с фенотипическими проявлениями ДСТ с учетом обеспеченности ВД. Определены 4 группы детей: 1-я — здоровые дети с физиологическим уровнем 25OHD, 2-я — дети с умеренными и выраженными степенями ДСТ и с физиологическими концентрациями ВД (75–100 нмоль/л), 3-я — дети с ДСТ и недостаточностью 25OHD (50–75 нмоль/л), 4-я группа — дети с ДСТ и дефицитом витамина D (ДВД) (ниже 50 нмоль/л). У всех детей содержание HBD-2 определяли методом иммуноферментного анализа и лизоцима — по методике с использованием сухого порошка однодневной культуры *Micrococcus lysodeiticus* в локальных секретах (слюна, копрофильтрат (КФ)). **Результаты.** При исследовании HBD-2 в слюне наиболее высокие его концентрации выявлены у детей 1-й группы — $4,52 \pm 0,06$ нг/мл.

У детей 2-й и 3-й группы зарегистрированы более низкие концентрации HBD-2, а у детей с ДСТ и ДВД показатели были наименьшими — $3,88 \pm 0,08$ нг/мл. Наиболее высокие уровни HBD-2 в КФ обнаружены в 1-й группе — $81,14 \pm 5,13$ нг/мл. В группах детей с диспластическими проявлениями отмечается достоверная разница данных ($p \leq 0,05$) в зависимости от концентрации 25OHD, при этом наименьшие концентрации обнаружены в группе ДВД — $52,63 \pm 3,01$ нг/мл. Самые высокие показатели лизоцима в КФ имели дети 1-й ($4,68 \pm 0,10$ мг/л) и 2-й ($4,41 \pm 0,09$ мг/л) групп. Однако наиболее низкая концентрация лизоцима выявлена у детей с ДСТ и ДВД — $4,09 \pm 0,08$ мг/л. Определяется прямая зависимость между концентрациями витамина D и лизоцима ($r = 0,65$). **Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют о витамин D-зависимой регуляции продукции антимикробных пептидов в эпителиоцитах слизистой оболочки кишечника при дисплазии соединительной ткани. Выраженность нарушений продукции HBD-2 и лизоцима у детей с ДСТ и ДВД обуславливает целесообразность проведения коррекции витамина D у этой категории пациентов.

Ключевые слова: витамин D; дисплазия соединительной ткани; антимикробные пептиды; дети

L.I. Omelchenko¹, O.M. Mukvich¹, O.V. Lavrenchuk²

¹State Institution "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of the NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine

²Public Non-Profit Enterprise "Center for Primary Health Care N 1" of Shevchenko District, Kyiv, Ukraine

On vitamin D-dependent regulation of local mechanisms of non-specific defense in children with connective tissue dysplasia

Abstract. Background. The influence of active vitamin D (VD) metabolites on the reaction of nonspecific defense mechanisms of mucous membranes may be of particular importance in children with connective tissue dysplasia (CTD). The purpose of the study was to establish the concentration of human β -defensin (HBD-2) and lysozyme in local secretions in children with CTD taking into account the body's VD supply. **Materials and methods.** We examined 127 children aged 11–17 years with phenotypic manifestations of CTD taking into account the supplementation of VD. Four groups of children were identified: group 1 — healthy children with a physiological level of 25OHD, group 2 — children with moderate and severe CTD degrees and physiological concentrations of VD (75–100 nmol/l), group 3 — children with CTD and 25OHD insufficiency (50–75 nmol/l), group 4 — children with CTD and vitamin D deficiency (VDD) (below 50 nmol/l). Determination of HBD-2 level by immunoassay and lysozyme using a dry powder of one-day *Micrococcus lysodeiticus* culture in local secretions (saliva, coprofiltrate (CF)) was performed in all children. **Results.** When studying HBD-2 in saliva, its highest concentrations were found in children of group 1 — 4.52 ± 0.06 ng/ml.

Lower levels of HBD-2 were reported in children of groups 2 and 3, and in children with CTD and DVD, the rates were lowest — 3.88 ± 0.08 ng/ml. The highest HBD-2 concentrations in CF were detected in group 1 — 81.14 ± 5.13 ng/ml. In groups of children with dysplastic manifestations, a significant difference in data ($p \leq 0.05$) is observed depending on the concentration of 25OHD, with the lowest concentrations found in VDD group — 52.63 ± 3.01 ng/ml. The highest lysozyme levels in CF were in children from groups 1 (4.68 ± 0.10 mg/l) and 2 (4.41 ± 0.09 mg/l); however, the lowest concentration of lysozyme was found in children with CTD and VDD — 4.09 ± 0.08 mg/l. A direct relationship is determined between the concentrations of vitamin D and lysozyme ($r = 0.65$). **Conclusions.** The obtained results indicated vitamin D-dependent regulation of the antimicrobial peptide production in the epitheliocytes of the intestinal mucosa in connective tissue dysplasia. The severity of HBD-2 and lysozyme production disorders in children with CTD and VDD determines the appropriateness of correcting vitamin D in this category of patients.

Keywords: vitamin D; connective tissue dysplasia; antimicrobial peptides; children