

На правах рукописи



Глухова Мария Вячеславовна

Маркеры воспаления в диагностике легкой бронхиальной астмы у детей

14.01.08 – Педиатрия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва-2022

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор
доктор медицинских наук, профессор

Геппе Наталья Анатольевна
Соодаева Светлана Келдибековна

Официальные оппоненты:

Мизерницкий Юрий Леонидович – доктор медицинских наук, профессор, Обособленное структурное подразделение Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю. Е. Вельтищева Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отдел хронических воспалительных и аллергических болезней легких, заведующий отделом

Зайцева Ольга Витальевна – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра педиатрии, заведующая кафедрой

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов»

Защита диссертации состоится «19» сентября 2022 г. в 13:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.09 в ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119435, г. Москва, ул. Большая Пироговская, д. 19

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д. 37/1) и на сайте www.sechenov.ru

Автореферат разослан « ___ » _____ 2022г.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент



Чебышева Светлана Николаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

Бронхиальная астма (БА) является одним из наиболее частых хронических заболеваний в мире, причем имеются данные об увеличении ее распространенности среди детей во всех возрастных группах.

Астма легкого течения преобладает в общей популяции детей с БА. Ранняя диагностика и верификация на начальных этапах развития заболевания крайне важны для своевременного начала лечения и предотвращения прогрессирования.

Согласно GINA (2021) и национальной программе «Бронхиальная астма у детей «Стратегия лечения и профилактика» (2021г) известен целый ряд биологических маркеров БА (IgE в сыворотке крови, эозинофилы крови и мокроты, эозинофильная пероксидаза, эозинофильный катионный протеин (ЭКП), интерлейкины IL-2, IL-4, IL-5 в сыворотке крови и лаважной жидкости бронхов), среди которых важнейшее значение имеет концентрация оксида азота в выдыхаемом воздухе (FeNO) и его метаболитов на системном уровне, которые отражают степень воспаления в дыхательных путях.

Использование инновационных, чувствительных и неинвазивных методов исследования (определение FeNO и маркеров нитрозивного стресса в конденсате выдыхаемого воздуха (КВВ), может быть использовано для мониторинга воспалительных изменений в респираторной системе и контроля терапии. Однако, в настоящее время в научной литературе подобные исследования при БА легкого течения малочисленны и необходимы дополнительные исследования, чтобы оценить роль данных маркеров в определении прогноза заболевания и тактике ведения пациента.

Степень разработанности темы исследования

Основанием для проведения данной диссертационной работы послужила актуальность применения неинвазивных методов диагностики бронхиальной астмы у детей с изучением маркеров воспаления и углубление знаний о патогенезе аллергического воспаления при БА легкого течения. На сегодняшний день

проведено большое количество исследований, направленных на изучение оксида азота выдыхаемого воздуха при бронхиальной астме, который является одним из основных биомаркеров воспаления. Существенный вклад в изучение показателей оксида азота выдыхаемого воздуха внесли Dweik R.A., Boggs P.B., Moschino L., Н.А. Геппе. Ю.Л. Мизерницкий, С.Э. Цыпленкова, С.К.Соодаева, Т.И.Елисеева. В работах этих ученых показано, что данный биомаркер является важным предиктором обострения БА и изменяется в зависимости от течения заболевания и назначаемой терапии. Однако данные о его цикле и метаболизме малочисленны. При легкой БА у детей исследований FeNO недостаточно, а их результаты противоречивы, в то время как данные по изучению цикла NO практически отсутствуют.

Цель исследования

Изучить маркеры воспаления по показателям FeNO и параметрам нитрозивного стресса в КВВ у детей с легкой БА в динамике течения заболевания.

Задачи исследования

- 1) Изучить особенности течения легкой БА у детей в зависимости от контроля течения заболевания.
- 2) Изучить показатели концентрации FeNO в выдыхаемом воздухе у детей с легкой БА вне обострения.
- 3) Изучить метаболизм и цикл NO в конденсате выдыхаемого воздуха у детей с легкой БА вне обострения.
- 4) Оценить параметры функции внешнего дыхания (ФВД) по данным спирографии и компьютерной бронхофонографии (КБФГ) у детей с легкой БА на фоне лечения ингаляционными глюкокортикостероидами (ИГКС) или антагонистами лейкотриеновых рецепторов (АЛР).
- 5) Изучить показатели концентрации FeNO, а также метаболизм и цикл NO у детей с легкой БА после 3х месячного курса лечения ИГКС или АЛР.

- б) Проанализировать взаимосвязь параметров нитрозивного стресса в КВВ (NO₂, NO₃⁻, TNN, 3-нитротирозин) с другими маркерами воспаления (FeNO, IgE общий, эозинофилы крови) и с показателями ФВД по данным спирографии и КБФГ.

Научная новизна

Впервые при БА легкого течения у детей проведено исследование метаболизма NO с изучением цикла NO и параметров нитрозивного стресса в КВВ. Изучено влияние ИГКС и АЛР на состояние нитрозивного статуса у детей с легкой БА. Проведено изучение корреляционной взаимосвязи параметров нитрозивного стресса со стандартными маркерами и с показателями ФВД по данным спирографии и КБФГ.

Теоретическая и практическая значимость

Для мониторинга воспаления и контроля терапии БА могут быть использованы такие чувствительные и неинвазивные методы исследования как определение FeNO и маркеры нитрозивного стресса в КВВ, отражающие воспалительные изменения в дыхательной системе.

У детей с легкой БА дополнительные маркеры воспаления (оксид азота, нитраты, нитриты) необходимы для мониторинга и достижения контроля воспаления в респираторной системе, что может быть полезно в выборе тактики лечения и улучшить прогноз заболевания.

Методология и методы исследования

Методологическая основа диссертационной работы спланирована согласно цели исследования и включает последовательное применение методов научного познания с целью решения поставленных задач. В работе были использованы клинические, инструментальные, лабораторные, аналитические и статистические методы исследования.

Положения, выносимые на защиту

- 1) При БА легкого течения несмотря на легкие обострения или их отсутствие, сохраняется воспалительный процесс в респираторном тракте по данным мониторинга FeNO и его метаболитов, что свидетельствует о частичном контроле заболевания и необходимости продолжения противовоспалительной терапии.
- 2) Оксид азота выдыхаемого воздуха, а также нитраты и нитриты в КВВ являются маркерами воспаления в дыхательных путях, что позволяет проводить мониторинг противовоспалительной терапии при БА легкого течения.
- 3) Лечение низкими дозами ИГКС приводит к более быстрой нормализации показателей FeNO и метаболитов цикла оксида азота по сравнению с терапией АЛР.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационное исследование соответствует паспорту научной специальности 14.01.08 – Педиатрия; формуле специальности – область клинической медицины, изучающая здоровье ребенка в процессе его развития, физиологию и патологию детского возраста, а также разрабатывающая методы диагностики, профилактики и лечения детских болезней.

Апробация и внедрение в практику

По результатам диссертации опубликовано 7 научных работ. Фрагменты научно-исследовательской работы были представлены на следующих конференциях и конгрессах: на XXVII Национальном конгрессе по болезням органов дыхания, 2017, Санкт-Петербург, на XXVIII Национальном конгрессе по болезням органов дыхания. (Москва, 2018,2019,2020); European respiratory society. International congress (Нидерланды, Амстердам 2015, Англия, Лондон 2016, Италия, Милан, 2017 Франция, Париж, 2018). Апробация диссертационной работы

проходила на заседании кафедры детских болезней Клинического института детского здоровья им. Н.Ф.Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет). Результаты исследования используются в лечебной работе УДКБ ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), а также в учебном процессе на кафедре детских болезней Клинического института детского здоровья им. Н.Ф.Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, отражающих основные результаты диссертации, из них: 3 научных статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России; 2 статьи в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus; 2 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (в том числе 1 зарубежная конференция).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 102 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Список литературы включает 140 источников, из них 28 отечественных и 112 зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 13 таблицами и 23 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось в период с 2017 по 2020 год на базе Университетской детской клинической больницы и кафедры детских болезней

Клинического института детского здоровья им. Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

Дизайн исследования: первый этап- открытое проспективное нерандомизированное сравнительное клиническое исследование; второй- открытое проспективное рандомизированное сравнительное клиническое исследование.

Всего в исследование было включено 120 детей в возрасте от 5 до 15 лет. Основную группу составили 90 детей с БА легкого течения. Контрольную группу составили 30 практически здоровых детей сходного возраста без острых и хронических заболеваний бронхолегочной, иммунной и пищеварительной систем.

Диагноз БА устанавливался на основании жалоб, данных анамнеза, клинической картины, лабораторно-инструментального обследования в соответствии с рекомендациями Национальной программы «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика» (2017, 2021г) и GINA (2020-2021г).

Исходно, на первом этапе у всех детей был подробно собран анамнез, проведено физикальное и лабораторное обследование, с определением показателей IgE, эозинофилов крови, FeNO, сбор КВВ, с определением нитратов и нитритов, ФВД и КБФГ, а также проведено сопоставление с данными контрольной группы. На втором этапе исследования пациенты с БА легкого течения методом «конвертов» были рандомизированы на две подгруппы: подгруппа А получала 3-месячный курс терапии АЛР в возрастных дозировках; подгруппа В получала 3-месячный курс низкими дозами ИГКС. По окончании курса лечения было проведено повторное обследование. В дальнейшем проводилось клиническое наблюдение пациентов продолжительностью до 6 месяцев.

В исследование были включены пациенты, у которых диагноз БА был поставлен не менее, чем за 2 года до настоящего исследования. Были проанализированы результаты применения у них базисной терапии. В течение последнего года до включения в исследование 38% детей получали ИГКС (флутиказон, будесонид) курсами от 1 до 3х месяцев, 29% детей – АЛР

(монтелукаст) курсами от 1 до 3х месяцев, 20% - низкие дозы комбинации ИГКС с β 2-агонистами длительного действия (ДДБА) (сальметерол+флутиказон или будесонид+формотерол) курсами до 2-3 месяцев, 13% - ИГКС с АЛР курсами от 1 до 3 месяцев.

Методы исследования включали: анализ данных анамнеза; общеклиническое исследование (физикальное обследование, общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови, рентгенологическое исследование, консультация ЛОР врача); аллергологическое обследование (кожные пробы, уровень общего и специфических IgE); Asthma Control Questionnaire (ACQ-5); инструментальные методы исследования: функция внешнего дыхания (КБФГ и спирометрия); оксид азота выдыхаемого воздуха (FeNO); конденсат выдыхаемого воздуха (NO₂-,NO₃-,TNN, 3-нитротирозин).

Определение оксида азота выдыхаемого воздуха (FeNO) проводили при помощи портативного прибора измерения окиси азота в выдыхаемом воздухе NO-breath, производства компании Bedfont Scientific Ltd, Великобритания. На основании последних рекомендаций Американского торакального сообщества (АТС), уровень нормального значения FeNO принимался <20 ppb.

Анализ конденсата выдыхаемого воздуха проводился в лаборатории клинической и экспериментальной биофизики ФГБУ НИИ пульмонологии ФМБА России (заведующая - проф., д.м.н. Соодаева С.К.)

В КВВ, собранном при помощи конденсатора R-tube, проведено исследование метаболитов цикла оксида азота: нитрит- (NO₂-), нитрат (NO₃-) анионов, их суммарной концентрации (TNN) спектрофотометрическим методом с использованием реактива Грисса, а также уровня 3-нитротирозина при помощи иммуноферментного анализа.

Функция внешнего дыхания оценивалась при помощи спирометрии и компьютерной бронхофонографии (КБФГ) на базе УДКБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (заведующая отделением функциональной диагностики - Гинесина И.Л.). У всех

детей оценивалась функция внешнего дыхания методом спирометрии на аппарате «Spiro-2» (CareFusion Ltd., США): форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1), индекс Генслера (ОФВ1/ФЖЕЛ), 25% ФЖЕЛ, 50% ФЖЕЛ и 75% ФЖЕЛ.

Метод компьютерной бронхофонографии основан на регистрации звуковых феноменов, возникающих при дыхании, с последующим анализом и математической обработкой частотных и временных характеристик спектра этих шумов. Обработка записи осуществлялась с использованием компьютерной программы «Паттерн». При проведении данного метода оценивается акустический компонент работы дыхания (АКРД) в трех частотных диапазонах: низкочастотной (0,2-1,2 кГц), среднечастотном (> 1,2-5 кГц) и высокочастотном (>5-100кГц).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием базовых методов описательной статистики, параметрических и непараметрических методов сравнения независимых и связанных групп посредством использования критерия Манна-Уитни, t-критерия Стьюдента, критерия χ^2 Пирсона, методов корреляционного анализа с использованием компьютерной программы "Statistica 8.0 Portable».

Результаты исследования и их обсуждение

Перед включением в исследование все дети и/или их родители заполняли опросник ACQ-5. Согласно проанализированным данным, у 36,6% пациентов из основной группы результат оценки составил <0,75, что расценивалось как полностью контролируемое течение БА. У 63,4% пациентов, результат оценки составил 0,75-1,25, что интерпретируется как частично контролируемое течение. На основании данных Bateman E.D. и соавторов, риск обострений в данных группах соответственно составлял 13-18% и 23-24% (Таблица1).

Таблица 1 – Распределение пациентов согласно ACQ-5 и риск обострений по E.D.Bateman et al [Bateman E.D., Hurd S.S., Barnes P.J. et al. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary // Eur. Respir. J. 2008; 31: 143–78]

Основная группа	Кол-во пациентов (%)	Результат оценки по ACQ-5	Риск обострений
Полностью контролируемое течение	36,6	<0,75	13-18%
Частично контролируемое течение	63,4	0,75-1,25	23-24%

На основании метода «конвертов», основная группа была рандомизирована в соотношении 2:1 на 2 подгруппы: А и В. Подгруппу А составили 60 детей с легкой БА, которым был назначен АЛР (монтелукаст) в возрастной дозировке. Подгруппу В составили 30 детей с БА легкого течения, которым были назначены низкие дозы ИГКС (флутиказона пропионат или будесонид). В таблице 2 представлена структура подгрупп А и В по уровню контроля заболевания.

Таблица 2 – Распределение пациентов по уровню контроля заболевания в подгруппах А и В

Уровень контроля	Показатель	Подгруппа	
		А (АЛР)	В (ИГКС)
Частичный	Число пациентов, n /%	39/68	18/32
Полный	Число пациентов, n /%	21/63	12/37
Всего	Число пациентов, n	60	30

Исходно мы проанализировали взаимосвязь частоты обострений БА за последние 6 месяцев с показателями уровня FeNO. У детей с частотой обострений 1-2 раза в год уровень FeNO составил [Медиана(среднее)] [12,5(13,1)], у детей с частотой обострений 2-3 раза в год - [32(33,2)]. Наиболее высокий показатель FeNO продемонстрировали дети, у которых частота обострений за последние 6 месяцев

была более 3 раз в год [45(51,8)]. Таким образом, прослеживается взаимосвязь частоты обострений и показателей FeNO. При анализе показателей FeNO после рандомизации детей на подгруппы А и В в зависимости от получаемой терапии, данная тенденция сохранялась (Рисунок 1).

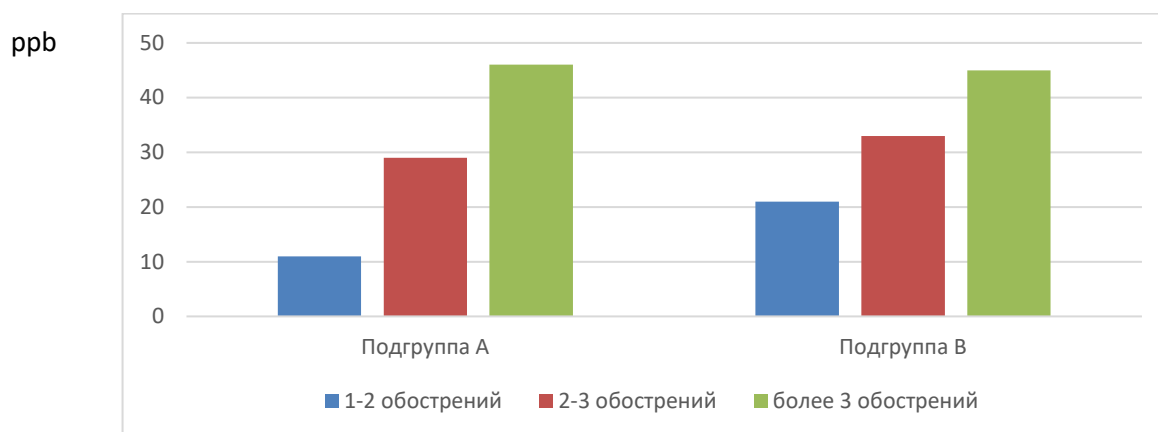


Рисунок 1 – Показатели FeNO и частоты обострений БА за 6 месяцев до начала исследования в подгруппах А (АЛР) и В (ИГКС)

Все пациенты основной группы были разделены на 2 подгруппы по уровню FeNO, измеренного в начале исследования. Подгруппу I составили пациенты с концентрацией FeNO < 20ppb (n=39); подгруппу II - ≥20ppb (n=51).

Несмотря на то, что в I подгруппе показатели в среднем были в пределах нормы (FeNO <20 ppb), в нее вошли дети с частичным контролем заболевания (показатели теста ACQ-5 (0,75-1,25)). У этих детей показатели FeNO были в два раза выше (медиана 16 ppb) по сравнению с детьми с полным контролем заболевания (тест ACQ-5 <0,75), у которых медиана составила 7,5ppb. Во II подгруппе, с показателями FeNO >20 ppb, у детей с частичным контролем БА медиана FeNO была в 1,5 раза выше, чем в группе детей с полным контролем БА: 33,5ppb и 22ppb соответственно (Таблица 3). Эти данные отражают выраженность сохраняющегося минимального воспаления в респираторном тракте у детей с легкой БА.

Таблица 3 – Исходные показатели FeNO до лечения у детей с частичным и полным контролем БА M(Me) +/-s (ppb)

	M(Me) +/-s			
	Подгруппа I (<20 ppb)		Подгруппа II (>20 ppb)	
FeNO, ppb	9,6 (10)+/-6,12 n=39		38,47* (33)+/-18,4 n=51	
ч\к FeNO, ppb	13,5 (16)+/-4,5	20,5%	40,8* (33,5)+/-19	96%
п\к FeNO, ppb	7,5 (7,5)+/-5,74	79,5%	23,8* (22)+/-3,5	4%

* - достоверное различие по сравнению с группой с нормальными значениями NO (p<0,05)

Во II подгруппе детей, с FeNO >20ppb, контроль заболевания практически не достигался. При нормальных показателях FeNO (<20ppb) только у 20,5% детей, периодически отмечались незначительные симптомы бронхиальной обструкции и\или гиперреактивности.

При сравнении данных FeNO у детей в подгруппах А и В в зависимости от назначаемого лечения (подгруппа А-АЛР, подгруппа В-ИГКС) было выявлено, что у детей в подгруппе А показатели FeNO были в норме более чем в половине случаев (55%), в подгруппе В только у 20% детей. В подгруппе А медиана составила 9+/-6,4, в подгруппе В-14 +/-5,8 соответственно. При анализе детей с повышенным уровнем FeNO, в подгруппе А у 45% детей медиана FeNO составила 33+/-21,3, в подгруппе В у 80% детей -32+/-15,1 (Рисунок 2).

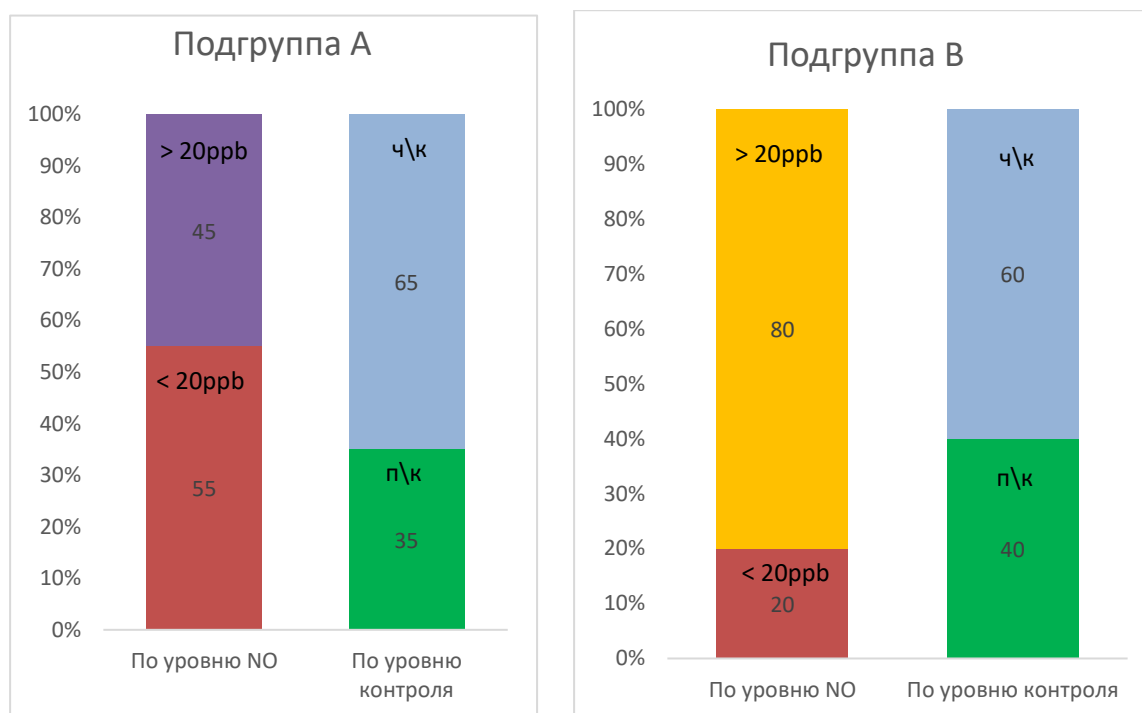


Рисунок 2 – Распределение пациентов в подгруппах А и В по уровню контроля заболевания и уровню NO

После проведения 3х месячного курса лечения АЛР у детей в подгруппе А и низкими дозами ИГКС у детей в подгруппе В, уровень FeNO был измерен повторно. При анализе FeNO до и после лечения было выявлено значительное снижение уровня FeNO в обеих подгруппах при отсутствии обострений БА и минимальных клинических симптомов бронхиальной обструкции.

В подгруппе А нормальные показатели оксида азота продемонстрировали 76,6% детей, медиана FeNO составила 10,5ppb. После лечения АЛР повышенный уровень FeNO сохранялся у 23,4% детей (Me= 28,6). В подгруппе В уровень FeNO нормализовался у 66,6%, медиана-16,5ppb. Уровень FeNO остался повышен у 33,4% детей (Me=32) (Таблица 4).

Таблица 4 – Динамика FeNO у детей, получавших 3х месячный курс лечения АЛР (подгруппа А) и ИГКС (подгруппа В)

	Исходно <20ppb		После лечения <20 ppb		Исходно >20ppb		>20 ppb после лечения	
	X(Me) +/-s	%	X (Me) +/-s	%	X (Me) +/-s	%	X (Me) +/-s	%
Подгруппа А (АЛР)	9,2 (9) +/-6,4	55	11,19(10,5) +/-6,2*	76,6	40,4(33) +/-21,3*,**	45	29,8 (28,6) +/-4,7*	23,4
Подгруппа В (ИГКС)	11,6(14) +/-5,8	20	14,95(16,5) +6,33*	66,6	36,29(32) +/-15,1*,**	80	37,7 (32) +/-6,5*	33,4

* - достоверное различие по сравнению с значениями NO до лечения($p<0,05$)

** - достоверное различие по сравнению с группой контроля ($p<0,05$)

При анализе данных уровня FeNO до и после лечения АЛР и ИГКС было отмечено, что уровень FeNO имеет более выраженную тенденцию к снижению в группе детей, получавших ИГКС, по сравнению с группой детей получавших АЛР (Рисунок 3).

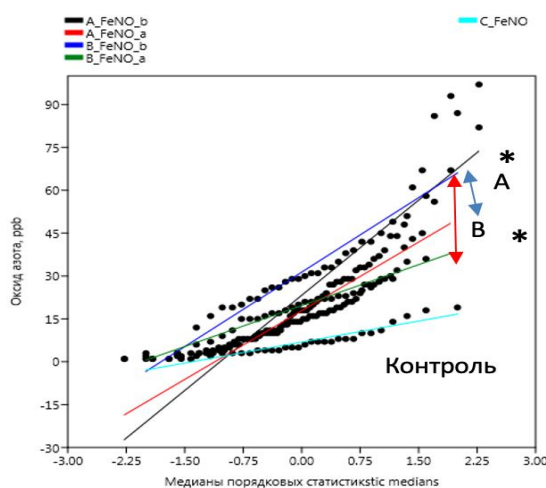


Рисунок 3 – Вероятностные графики динамики уровня оксида азота выдыхаемого воздуха б – до лечения, а – после лечения

* - достоверное различие по сравнению с группой контроля ($p<0,05$)

В КВВ было проведено исследование нитрит- (NO_2^-) и нитрат- (NO_3^-) анионов, их суммарной концентрации (TNN-total concentration of nitrites and nitrates), а также уровня 3-нитротирозина. В ходе анализа КВВ было выявлено, что концентрация 3-нитротирозина была $<3,2$ нМ, что возможно связано с легким течением БА у обследуемых детей.

У детей с частичным контролем БА и более высоким уровнем FeNO (>20 ppb) обнаружено достоверное повышение уровней всех исследуемых метаболитов (NO_2^- , NO_3^- , TNN) в КВВ. В группе детей с полным контролем заболевания (по данным ACQ-5) достоверные различия между подгруппами I и II выявлены только для NO_3^- и TNN. (Таблица 5). Таким образом, у детей с легкой БА и более высокими показателями FeNO сохраняется нитрозивный стресс, но уже на низком уровне.

Таблица 5 – Показатели метаболитов NO у детей с БА до лечения

		X (Me) +/-s	
		Подгруппа I (<20 ppb)	Подгруппа II (>20 ppb)
NO ₂ ⁻ , мкМ	общее	1,9 (1,8)+/-0,6	3,0* (2,9)+/-0,8
	ч/к	2,4 (2,4)+/-0,9	3,8*(3,9)+/-0,9
	п/к	1,1 (1,2)+/-0,6	1,8 (1,8)+/-0,9
NO ₃ ⁻ , мкМ	общее	13,9 (14,25)+/-3,1	19,0*(19,2)+/-14,2
	ч/к	15,7(15,8) +/-3,4	22*(21,2)+/-5,1
	п/к	10,3 (12,7)+/-2,9	15,1*(17,1)+/-2,6
TNN, мкМ	Общее	15,2(16,1)+/-4,0	23,1*(22)+/-5,3
	ч/к	17,0 (18,3)+/-3,3	24,5*(25,1)+/-3,7
	п/к	13,1(13,9)+/-2,5	16,2*(18,9)+/-3,0

* - достоверное различие по сравнению с группой с нормальными значениями NO ($p<0,05$) ч/к-частичный контроль, п/к-полный контроль

Выявленные изменения характеризуют более выраженную напряженность нитрозивного стресса у пациентов с частично контролируемой БА, что подтверждается повышенными значениями метаболитов цикла NO в этой группе. Кроме того, выявлено нарушение соотношения стабильных метаболитов NO₃- и NO₂- в группе детей с частично контролируемым течением заболевания, что может быть связано с более выраженными дисфункциональными нарушениями дыхательных путей. Данное нарушение может быть показателем более вероятного риска обострения заболевания, несмотря на отсутствие объективной клинической симптоматики БА и требует продолжения лечения.

Проведен анализ показателей нитрозивного стресса у детей с БА на фоне лечения ИГКС и АЛР. У детей с БА, получавших АЛР, исходно отмечено достоверное превышение концентрации TNN и NO₃- в КВВ по сравнению с контрольной группой ($p=0,003$ и $p=0,001$, соответственно), что может быть обусловлено сохраняющимся воспалительным процессом в респираторном тракте. После 3х месячного курса АЛР отмечалось достоверное снижение показателей TNN и NO₃- в 1,24 и 1,22 раза, соответственно ($p=0,002$ и $p=0,001$, соответственно). Значения NO₂- достоверно не отличались от значений контрольной группы. Однако показатели TNN и NO₃- достоверно превышали значения контрольной группы ($p=0,01$ и $p=0,011$, соответственно) несмотря на проведенную терапию. Показатели NO₂- и 3-нитротирозина достоверно не изменялись в ходе проводимой терапии. У детей с БА, получавших ИГКС, до лечения концентрация TNN и NO₃- в КВВ также достоверно превышала показатели в контрольной группой ($p=0,004$ и $p=0,003$, соответственно). Значения NO₂- и 3-нитротирозина достоверно не отличались от контрольной группы в ходе проводимой терапии. На фоне проводимой терапии отмечалось достоверное снижение показателей TNN и NO₃- в 1,73 и 1,79 раза, соответственно ($p=0,002$ и $p=0,001$, соответственно). При этом, значения TNN достоверно не превышали показателей контрольной группы (Рисунок 4).

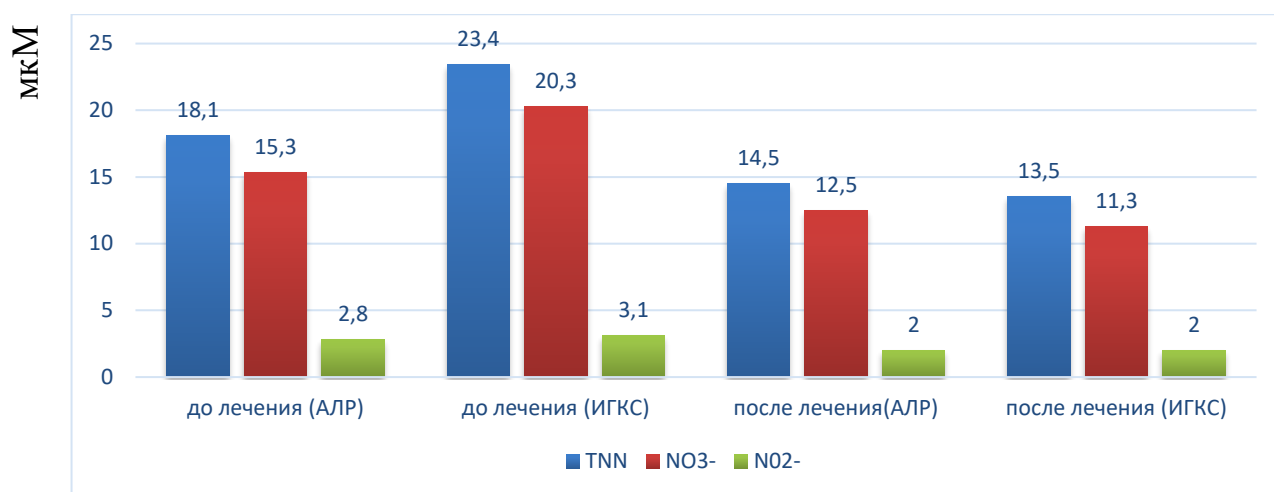


Рисунок 4 – Динамика концентрации метаболитов NO на фоне лечения АЛР и ИГКС

Таким образом, на фоне проводимой терапии выявлено снижение показателей метаболитов цикла оксида азота в обеих группах пациентов, причем на фоне лечения ИГКС отмечается более выраженное снижение изучаемых показателей до уровня контрольных значений, что может свидетельствовать об уменьшении напряженности нитрозивного стресса в ходе лечения. Так же отмечается нормализация соотношения метаболитов цикла NO.

При помощи линейных коэффициентов корреляции Спирмена и Пирсона у детей с БА легкого течения (n=90), был проведен корреляционный анализ между такими параметрами активности воспалительного процесса как FeNO, эозинофилы крови, IgE и показателями ФВД: спирографии (ОФВ1, ОФВ1/ФЖЕЛ) и КБФГ (показатели АКРД в высокочастотном, среднечастотном и низкочастотном диапазонах), а также между FeNO и NO₂, NO₃⁻, TNN. Корреляционный анализ проводился до лечения АЛР или ИГКС и через 3 месяца после.

До назначения противовоспалительной терапии АЛР у детей, в подгруппе А, были выявлены обратные корреляционные взаимосвязи между ОФВ1/ФЖЕЛ и уровнем FeNO ($r > -0,589$, $p < 0,001$), уровнем FeNO и ОФВ1 ($r > -0,378$, $p < 0,003$). Более высокие показатели FeNO коррелируют со снижением показателей ФВД. Прямая, более слабая корреляция была выявлена между показателями КБФГ в среднечастотном диапазоне и FeNO ($r > 0,317$, $p < 0,005$).

Была выявлена положительная достоверная корреляция между уровнем FeNO и NO₂-, NO₃- и TNN у пациентов при полностью контролируемой БА. У пациентов с частично контролируемой БА отмечается положительная достоверная корреляция только между FeNO и TNN (Таблица 6).

Наличие линейной взаимосвязи между компонентами цикла NO рассматривается как один из маркеров характера течения оксидативного и нитрозивного стресса. Отсутствие линейной взаимосвязи между компонентами цикла NO можно связать с усилением патоморфологических нарушений и клинически более тяжелым течением заболевания. Так, при частично контролируемой БА нами выявлены более существенные нарушения цикла оксида азота, которые выражаются в потере линейной связи между содержанием его компонентов, а также перераспределением долей субстратов синтеза NO в NOS независимых звеньях цикла и уровней его депонирования.

Через 3 месяца после лечения АЛР мы выявили снижение FeNO у 76,6% пациентов, что коррелировало с улучшением параметров ФВД и КБФГ. Обратные корреляционные взаимосвязи были выявлены между ОФВ1 и FeNO ($r > -0,343$, $p < 0,007$), уровнем FeNO и индексом Тиффно ($r > -0,378$, $p < 0,003$), а также между уровнем IgE и FeNO (Таблица 6).

Таблица 6 – Корреляционные взаимосвязи FeNO до и после лечения АЛР

		FeNO	
		г	р
До лечения			
Спирография	ОФВ1 %	-0,378	0,003
	ОФВ1/ФЖЕЛ %	-0,589	0,001
КБФГ	ср/ч	0,317	0,005
После лечения			
Спирография	ОФВ1 %	-0,343	0,007
	Индекс Тиффно %	-0,378	0,003
IgE общий		0,329	0,010

Зарегистрирована положительная корреляционная взаимосвязь между уровнями TNN и NO₃- ($r=0,79$, $p=0,002$) и между NO₃- и NO₂- ($r=0,89$, $p=0,001$). Полученные данные свидетельствуют о том, что терапия АЛР способствует нормализации взаимоотношений участников цикла NO в указанной группе пациентов.

На рисунке 6 представлена визуализация корреляционных взаимосвязей между всеми измеренными показателями до и после лечения. Обращает на себя внимание, что относительно более тесная взаимосвязь наблюдается у одних и тех же показателей, измеренных до и после лечения: уровень оксида азота, индекс Тиффно, ОФВ1 до и после лечения. Это может быть объяснено достаточной эффективностью проводимой терапии в ходе которой, измеренные показатели снижаются до нормальных значений.

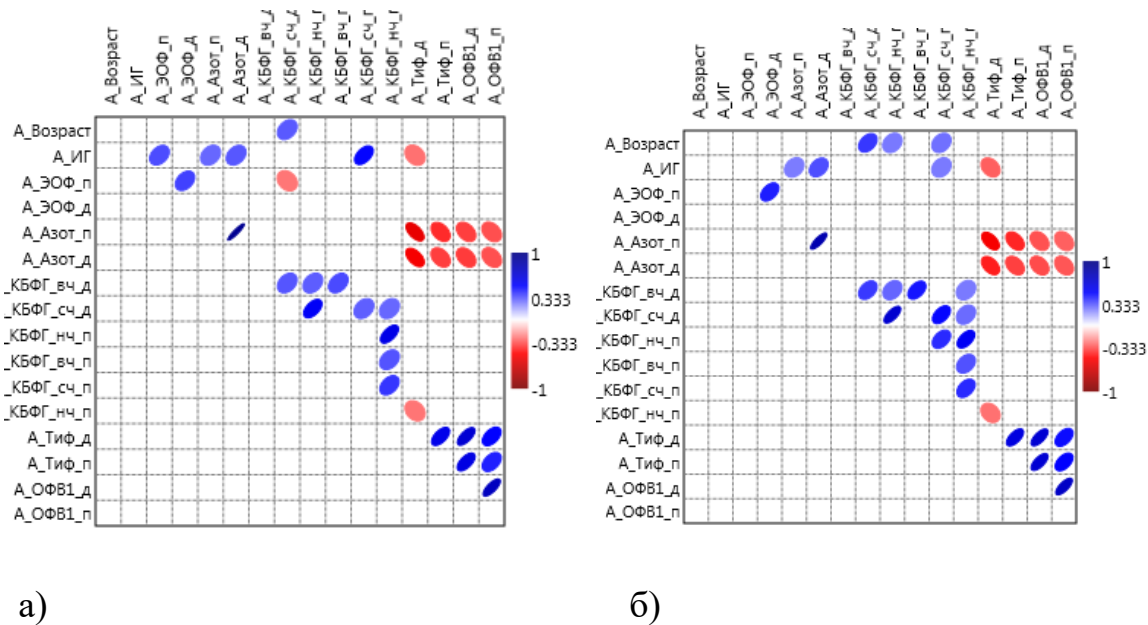


Рисунок 6 – Диаграммы корреляционной матрицы коэффициентов корреляции Пирсона (а) и Спирмена (б) для группы детей с БА, получавших АЛР (Синим цветом обозначены прямые корреляционные взаимосвязи, красным-обратные. Чем более вытянут эллипс и чем более насыщен цвет, тем корреляционная взаимосвязь более сильная)

Для группы детей, получавших низкие дозы ИГКС, при помощи коэффициентов ранговой корреляции исходно были выявлены также положительные корреляционные взаимосвязи между FeNO и показателями низкочастотного диапазона КБФГ ($p<0,008$, $r>0,477$). Учитывая, что повышение показателя АКРД в средне- и низкочастотном диапазоне указывает на наличие

обструкции в дыхательных путях, выявление повышенного уровня FeNO является маркером сохраняющегося воспаления. При этом, средняя степень положительной корреляционной взаимосвязи между концентрацией TNN и NO₃- ($r=0,68$, $p=0,02$), также свидетельствует о наличии воспаления на фоне нарушения цикла NO.

После курса ИГКС обратная корреляционная взаимосвязь была выявлена между FeNO и индексом Тиффно ($p<0,004$, $r>-0,509$), а также прямая корреляционная взаимосвязь между FeNO и низкочастотным и среднечастотным диапазоном КБФГ ($p<0,004$, $r> 0,515$), ($p<0,002$, $r> 0,533$) соответственно.

У пациентов после проведенной терапии зарегистрирована высокая положительная корреляционная взаимосвязь между уровнями TNN и NO₃- ($r=0,79$, $p=0,002$) и между NO₃- и NO₂- ($r=0,89$, $p=0,001$). Полученные данные показывают, что на фоне терапии ИГКС минимизируется воспаление и нормализуется взаимоотношение участников цикла NO.

ВЫВОДЫ

1. Выявлено, что несмотря на течение легкой БА, только у 37% детей клинически отмечается контролируемое течение заболевания, а у 63 % частично контролируемое течение, что предрасполагает к возникновению обострений.
2. При БА легкого течения уровень FeNO выдыхаемого воздуха превышает нормальные показатели у 56% детей, что свидетельствует о сохраняющемся воспалении в респираторном тракте. При таком частичном контроле заболевания концентрация FeNO в два раза выше по сравнению с полным контролем (Me 40,8 ppb и 23,8 ppb соответственно) ($p<0,05$).
3. Показатели цикла NO в конденсате выдыхаемого воздуха (NO₂-,NO₃-,TNN) достоверно выше в группе пациентов с частичным контролем (Me 3,8мкМ, 22мкМ, 24,5мкМ соответственно), по сравнению с пациентами с полным контролем заболевания (Me 1,8мкМ, 15,1 мкМ, 16,2 мкМ соответственно), что указывает на более выраженную напряженность нитрозивного стресса у детей с частичным контролем заболевания.

4. Показатели FeNO у детей с легкой БА коррелируют с показателями ФВД (спирография и КБФГ) и являются чувствительным параметром, свидетельствующем о сохраняющемся воспалительном процессе в дыхательных путях.
5. У детей с легкой БА после трехмесячного курса терапии низкими дозами ИГКС или АЛР снижаются показатели цикла оксида азота до нормальных значений у 67% детей, что свидетельствует об улучшении контроля заболевания и снижении риска обострений. Терапия ИГКС дает более выраженное снижение показателей FeNO и его стабильных метаболитов.
6. Выявлены особенности корреляционных взаимосвязей параметров нитрозивного стресса с другими маркерами воспаления, а также с показателями КБФГ и спирографии до и после терапии. Обратные корреляционные взаимосвязи обнаружены между ОФВ1 и FeNO, уровнем FeNO и индексом Тиффно, а также между концентрациями IgE и FeNO. На фоне проводимой терапии зарегистрирована нормализация корреляционных взаимоотношений между изученными компонентами цикла оксида азота.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У детей с легкой БА, несмотря на отсутствие изменений при исследовании ФВД следует обращать внимание на параметры FeNO. Повышение данного параметра свидетельствует о недостаточном контроле заболевания.
2. У детей с легкой БА при частичном контроле заболевания необходимо проведение курса противовоспалительной терапии ИГКС в низких дозах не менее 3х месяцев, что снижает риск возникновения обострений.
3. Для мониторинга воспалительных изменений в дыхательных путях, контроля и улучшения качества жизни пациентов с легкой БА могут быть использованы такие дополнительные, чувствительные и неинвазивные методы исследования как определение оксида азота выдыхаемого воздуха, а также нитраты и нитриты в конденсате выдыхаемого воздуха.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Геппе Н.А., Колосова Н.Г., **Глухова М.В.**, Барановский А.Е. Роль нормализации дыхания в комплексной реабилитации детей с бронхиальной астмой // **Доктор.ру.** – 2011. №2 (61). С. 24-27.
2. Геппе Н.А., **Глухова М.В.**, Денисова А.Р., Колосова Н.Г., Шаталина С.И., Шахназарова М.Д. Эффективность муколитической терапии при острых респираторных заболеваниях у детей // **Доктор.ру.** – 2015. № 13 (114). С. 59-63.
3. Л.Б. Постникова, С.К. Соодаева, И.А. Климанов, Н.И. Кубышева, К.И. Афиногенов, **М.В. Глухова**, Л.Ю. Никитина. Оксидативный стресс, индуцированный антибактериальными препаратами, и антибиотикорезистентность бактерий // **Пульмонология.** – 2017. 27 (5). С.664-671. [**Scopus**]
4. Глухова М.В, Соодаева С.К. Климанов И.А. Изменение соотношений стабильных метаболитов оксида азота в конденсате выдыхаемого воздуха при ХОБЛ на фоне антиоксидантной терапии Сборник научных трудов XXVII Национальный конгресс по болезням органов дыхания. 17-20 октября 2017. Г. Санкт-Петербург, С.229
5. Геппе Н.А., Колосова Н.Г., Денисова А.Р., Денисова В.Д., **Глухова М.В.**, Лиханов А.В. Подходы к терапии бронхиальной обструкции у детей. // **Вопросы практической педиатрии.** – ноябрь 2018. том13. №5. С. 68-73. [**Scopus**]
6. **Mary Glukhova**, Natalya Geppe, Svetlana Soodaeva, Natalia Kolosova Changes in nitric oxide (NO) cycle metabolites in children with mild asthma (BA)receiving STEP-2 therapy European Respiratory Society. October 2020; 56: Suppl.64, 1219
7. **Глухова М.В.**, Геппе Н.А., Колосова Н.Г., Соодаева С.К., Климанов И.А., Гребенева. Оксид азота выдыхаемого воздуха у детей с легкой бронхиальной

астмой в мониторинге противовоспалительной терапии. И.В. // Доктор.Ру. – 2020. 19(10). С. 37-41.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АЛР- антилейкотриеновые препараты

ИГКС- ингаляционные глюкокортикостероиды

КБФГ-компьютерная бронхофонография

FeNO-оксид азота выдыхаемого воздуха

КВВ-конденсат выдыхаемого воздуха