

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Глухова Мария Вячеславовна

Маркеры воспаления в диагностике легкой бронхиальной астмы у детей

14.01.08 – Педиатрия

Диссертация

на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Геппе Наталья Анатольевна

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Соодаева Светлана Келдибековна

Москва - 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
1.1 Фенотипы и эндотипы бронхиальной астмы.....	11
1.2 Биомаркеры воспаления в диагностике бронхиальной астмы.....	16
1.3 Нитрозивный и оксидативный стресс и роль оксида азота выдыхаемого воздуха при бронхиальной астме.....	19
1.4 Диагностическое значение конденсата выдыхаемого воздуха при бронхиальной астме.....	28
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	34
2.1 Общая характеристика исследования.....	34
2.2 Общая характеристика пациентов.....	37
2.3 Методы исследования.....	40
2.4 Методы статистической обработки.....	45
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ.....	47
3.1 Исходные данные.....	47
3.2 I этап исследования.....	49
3.3 II этап исследования.....	51
3.3.1 Оксид азота выдыхаемого воздуха.....	51
3.3.2 Конденсат выдыхаемого воздуха.....	58
3.4 Анализ корреляционных взаимосвязей оксида азота выдыхаемого воздуха у детей с легкой бронхиальной астмой.....	65
3.5 Клинические примеры.....	69
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	77
ВЫВОДЫ.....	83
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	85
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	86
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	87
ПРИЛОЖЕНИЕ А.....	102

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

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 [13, 53].

Астма легкого течения преобладает в общей популяции детей с БА [13]. Ранняя диагностика и верификация на начальных этапах развития заболевания крайне важны для своевременного начала лечения и предотвращения прогрессирования.

Сенсибилизация к аллергенам и их повторное воздействие ведут к формированию БА в результате развития воспаления в дыхательных путях, обратимой обструкции и увеличения бронхиальной реактивности. Ключевая роль в развитии БА у детей принадлежит IgE-зависимому типу аллергической реакции и эозинофильному воспалению. Представления о механизмах воспаления БА постоянно углубляются, открываются новые аспекты на клеточном и молекулярном уровнях [53].

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 в различных биологических жидкостях (конденсат выдыхаемого воздуха (КВВ), сыворотка крови, БАЛ и др.) которые отражают степень выраженности патологического процесса в дыхательных путях [53].

Использование инновационных, чувствительных и неинвазивных методов исследования (определение FeNO и маркеров нитрозивного стресса в КВВ), может быть использовано для мониторинга воспалительных изменений в респираторной системе и контроля терапии. В настоящее время в научной

литературе исследования, позволяющие оценить роль данных маркеров в определении прогноза заболевания и тактике ведения пациента при БА легкого течения малочисленны.

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 [14]. На сегодняшний день проведено большое количество исследований, направленных на изучение оксида азота выдыхаемого воздуха при бронхиальной астме, который является одним из основных биомаркеров воспаления. Однако данные о его цикле и метаболизме малочисленны.

Существенный вклад в изучение показателей оксида азота выдыхаемого воздуха внесли Dweik R.A., Voggs P.V. [45], Moschino L. [94], Н.А. Геппе. Ю.М. Мизерницкий, С.Э. Цыпленкова [27], 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.

При легкой БА у детей исследований FeNO недостаточно, а их результаты противоречивы, в то время как данные по изучению цикла NO практически отсутствуют. Исследование этого важного параметра воспаления позволит прогнозировать течение заболевания и контролировать эффективность проводимой терапии, что особенно важно при БА легкого течения в связи с недостаточностью объективных данных о состоянии воспаления дыхательных путей.

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) и 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.
6. 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

Проведенное исследование показало, что у детей с БА легкого течения отмечаются изменения показателей оксида азота выдыхаемого воздуха, а также нарушение соотношения его стабильных метаболитов в зависимости от степени контроля заболевания. Данные изменения коррелируют со стандартными методами исследования и нормализуются в ходе проведения базисной терапии. Полученные данные вносят вклад в изучение патогенетических основ воспаления, возникающего при БА, и указывают на необходимость более тщательного и своевременного контроля над заболеванием. Результаты оценки эффективности базисной терапии ИГКС и АЛР на уровень FeNO могут использоваться в решении вопроса о назначении и/или коррекции базисной терапии у детей с легкой БА.

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.

Личный вклад автора

Автор непосредственно принимала участие в выборе направления исследования, осуществляла анализ и обобщение полученных данных. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: постановка задач, их реализация, сбор и статистическая обработка, а также анализ полученных данных, обсуждение результатов в научных публикациях и их внедрение в практику.

Степень достоверности и апробация результатов

Степень достоверности диссертационной работы, основана на представленных результатах апробированного научно-методического подхода, подвергается аналитическим методам обработки полученных результатов, точным расчетам, статистическому анализу и интерпретации полученных результатов.

По результатам диссертации опубликовано 7 научных работ. Фрагменты научно-исследовательской работы были представлены на следующих конференциях и конгрессах: на XXVII Национальный конгресс по болезням органов дыхания, 2017, Санкт-Петербург, XXVIII Национальный конгресс 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:

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- 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. DOI: 10.31550/1727-2378-2020-19-10-37-41.

- 2 статьи в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus:

1- 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. DOI: 10.18093/0869-0189-2017-27-5-664-671 [Scopus];

2- 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. DOI: 10.20953/1817-7646-2018-5-68-73 [Scopus].

- 2 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 1 зарубежная конференция):

1-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

2- 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

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.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Фенотипы и эндотипы бронхиальной астмы

В настоящее время бронхиальная астма (БА) рассматривается как гетерогенное заболевание, в основе которого лежит хроническое воспаление дыхательных путей [13,53]. Эпидемиологические данные свидетельствуют о росте распространенности БА по всему миру. Согласно отчету Глобальной сети Астмы (The Global Asthma Network), в настоящее время около 334 млн. человек страдают данным заболеванием, 14 % из них – дети [1, 53]. В наблюдениях фазы III Международного исследования бронхиальной астмы и аллергии детского возраста (International Study of Asthma and Allergies in Childhood - ISAAC) распространенность симптомов БА у детей дошкольного возраста по данным на 2007 г. составила: в возрасте 6-7 лет 11,1% - 11,6%, среди подростков 13-14 лет 13,2% - 13,7% [1, 99].

В последние годы для более точного понимания патофизиологических процессов и улучшения таргетной терапии были выделены фенотипы БА: аллергическая БА, неаллергическая БА, БА с поздним дебютом, БА с фиксированной обструкцией дыхательных путей, БА у больных с ожирением [23, 53, 110].

До недавнего времени, возможности создания персонифицированных подходов в лечении БА были ограничены в связи с тем, что фенотипы БА и биомаркеры, определяющие их, оставались недостаточно изученными [53].

Ключ к патогенезу БА лежит во взаимодействии между организмом и окружающей средой, что привело к возникновению различных клинических фенотипов с различными паттернами хрипов, характеризующих бронхиальную обструкцию (ранние, транзиторные, персистирующие, поздние), различными видами воспаления (эозинофильное, нейтрофильное) и различному ответу на лечение [8, 96].

Фенотипирование БА (описание наблюдаемых признаков, не дающих полного понимания патофизиологии) позволило классифицировать пациентов в соответствии с такими характеристиками как причина обострения (аллергены, физическая нагрузка, инфекции и тд), возраст начала заболевания, сопутствующие заболевания (ожирение, синуситы и тд), ответ на проводимую терапию [30,63,120]. Выделение таких описательных фенотипов было весьма полезно для выбора тактики лечения заболевания, но в ограниченном объеме. В последнее время, с целью более точного определения клинических фенотипов БА, к большому объему данных о пациентах были применены объективные механизмы с большим перечнем разных параметров, включающих целый ряд переменных, а также ФВД, индекс массы тела, атопический статус, эозинофилы крови, что позволяет выделить молекулярные фенотипы и эндотипы заболевания, которые характеризуются определенным комплексом биомаркеров воспаления (Рисунок 1) [30,110,120].

Несмотря на то, что эти фенотипы клинически значимы, они не всегда дают необходимое представление о процессах, лежащих в основе заболевания. Именно поэтому, было введено понятие эндотипов астмы, которые положили начало классификации астмы по подтипам, в зависимости от лежащих в ее основе функциональных и патофизиологических механизмов [64,96].

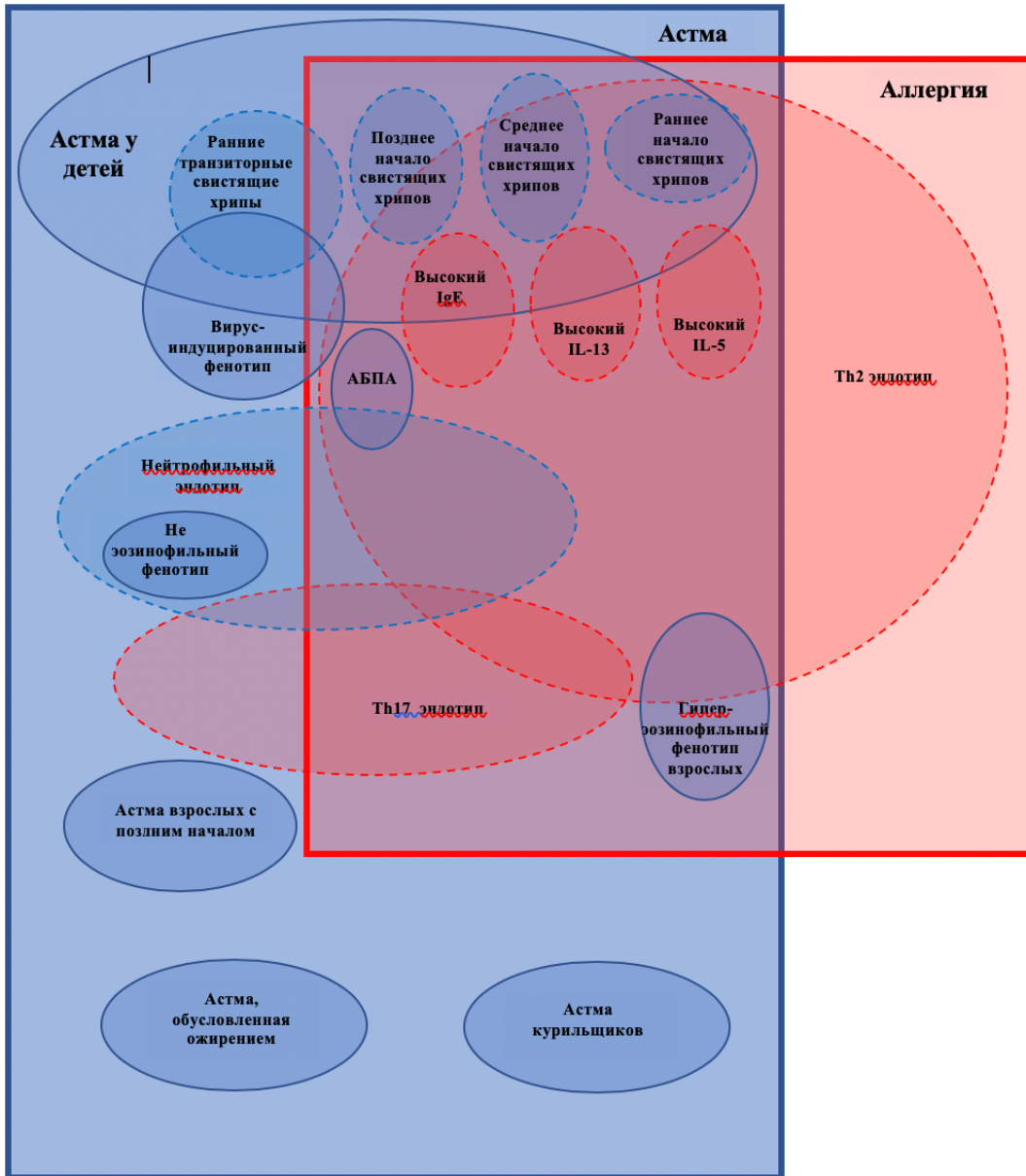


Рисунок 1- Фенотипы и эндотипы БА [адаптировано из Wenzel S. Nature Medicine. 2012;18:716–725]

На сегодняшний день известно, что у детей более чем в 80% случаев преобладает аллергический фенотип БА. Это наиболее легко распознаваемый фенотип, который часто начинается в детстве и связан с наличием аллергических заболеваний (атопический дерматит, аллергический ринит, пищевая или лекарственная аллергия) у пациента или родственников [30,94,120]. В основе эозинофильного воспаления лежат механизмы, ассоциированные с Th2-клеточным ответом и соответствующим цитокиновым профилем, который характеризуется повышением уровней интерлейкина-4 (ИЛ-4), ИЛ-5 и ИЛ-13 [28].

Th-2 воспаление может быть активировано вирусами, бактериями и триггерами, которые стимулируют врожденную иммунную систему посредством продукции ИЛ-33, ИЛ-25 и тимусного стромального лимфопоэтина (TSLP) эпителиальными клетками. Данный тип воспаления характеризуется повышением уровня эозинофилов и повышенным содержанием FeNO [36,80].

Исследование индуцированной мокроты до лечения у пациентов с этим фенотипом БА часто выявляет эозинофильное воспаление дыхательных путей. Пациенты с фенотипом аллергической БА обычно хорошо отвечают на терапию ИГКС [58,94].

Установлено, что у детей с аллергическим фенотипом БА отмечается склонность к частым вирусным инфекциям. Учитывая ведущую роль вирусных инфекций как триггера обострений, изучается взаимосвязь между инфекцией и развитием астмы [126]. Обращается внимание на то, что сочетание атопии и респираторной инфекции влияет на реакцию дыхательной системы. Вирусная инфекция может влиять на развитие сенсибилизации, а при одновременном воздействии вирусов и аллергенов на организм пациента это имеет решающее значение [7, 26].

Неаллергический фенотип составляет от 10% до 33% от всех случаев БА. Для неаллергического фенотипа характерен более поздний дебют и более тяжелое течение заболевания, по сравнению с аллергической БА. Профиль воспаления у пациентов с неаллергическим фенотипом БА может быть эозинофильным, нейтрофильным, смешанным или малогранулоцитарным [46,63].

Согласно современным представлениям БА, ассоциированная с ожирением, может рассматриваться как особый фенотип БА. Молекулярно-клеточные механизмы, участвующие в патогенезе как ожирения, так и БА, во многом совпадают [13]. Продемонстрировано, что патологические компоненты, объединенные понятием «метаболический синдром», имеют в патогенезе много общих черт, связанных с активацией воспалительных явлений в ряде органов и тканей, включая жировую и мышечную. Некоторые цитокины, в том числе продуцируемые адипоцитами адипокины, могут вовлекаться в патогенез БА,

например интерлейкин-6 (ИЛ-6), эотаксин, фактор некроза опухоли α (ФНО- α), лептин, грелин. Другие вещества, вовлеченные в патогенез БА, в частности, трансформирующий фактор роста b1, также могут секретироваться в значительных количествах адипоцитами [63,102].

Также выделяют БА с поздним дебютом. Однако одни исследователи относят к этому типу БА, манифестирующую после 12 лет, подчеркивая более старший возраст, чем при “классической” аллергической БА, начинающейся в детстве. Другие авторы поздней называют БА, дебютирующую в возрасте 40 лет и старше [28, 83]. В большинстве случаев БА с поздним дебютом является неаллергической, однако эозинофилия периферической крови и мокроты, уровень цистеиновых лейкотриенов в легких и FeNO в этой группе больных выше, чем при тяжелой аллергической БА. Для поздно возникшей БА характерно тяжелое, плохо контролируемое течение с частыми обострениями. Нередко наблюдаются резистентность к ИГКС и необходимость назначения системных глюкокортикостероидов (СГКС) [21, 28].

По данным Британского Национального института передового опыта в области здравоохранения (NICE) когда диагноз БА сомнителен (например, в случае нормальных значений ФВД), а также у пациентов, у которых после первоначального клинического обследования предполагается БА, определение фракции NO в выдыхаемом воздухе (FeNO) рекомендовано в сочетании с другими диагностическими методами как у взрослых, так и у детей [21,43,102]. Измерение FeNO рекомендуется NICE также для контроля проводимой терапии у тех пациентов, у которых, несмотря на использование ИГКС сохраняются симптомы БА, также для дифференциального диагноза кашлевого варианта БА, для определения фенотипов хрипов в дошкольном возрасте и для оценки риска развития более поздней астмы [96].

1.2 Биомаркеры воспаления в диагностике бронхиальной астмы

Биомаркер - показатель, который помогает дифференцировать нормальный биологический процесс от патологического, а также предсказать ответ на терапию. Биомаркеры могут помочь дифференцировать фенотипы БА и подбирать пациентам таргетное лечение. На сегодняшний день их можно измерить в выдыхаемом воздухе, в крови и моче пациентов [77,94,136]. Исследование биомаркеров помогает не только в диагностике и контроле заболевания, но и позволяет разработать персонифицированное лечение [80,65].

На сегодняшний день выделяют ряд биомаркеров, свойственных Th-2 БА. К ним относятся: количество эозинофилов в крови и мокроте, уровень IgE и периостина в сыворотке крови, уровень FeNO [8, 36,101,116,133].

«Золотым стандартом» исследования воспаления дыхательных путей является бронхоскопия с биопсией и анализом бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ). Но в связи с высокой инвазивностью, применение данного метода у детей с БА ограничено [101]. Еще одним методом изучения воспаления дыхательных путей является анализ индуцированной мокроты. Доказано, что ее клеточный состав коррелирует с клеточным составом БАЛ [77, 101].

Техника сбора индуцированной мокроты стандартизирована ERS (European Respiratory Society) и может быть использована у детей старше 8 лет. При помощи данного метода можно оценивать эффективность проводимой терапии ИГКС по уменьшению количества эозинофилов в мокроте по сравнению с исходными показателями. Анализ индуцированной мокроты менее инвазивен, однако, это технически сложная процедура, результат которой зависит от множества факторов. У большинства детей не удается получить достаточное для исследования количество мокроты, что создает трудности в регулярном исследовании при ведении пациентов с БА [5, 136].

Одним из наиболее изученных биомаркеров является количество эозинофилов в крови. Однако этот показатель достаточно variabelен. Показано, что для БА характерно умеренное повышение эозинофилов в крови и их

количество коррелирует с тяжестью заболевания [73,74,84]. У пациентов с тяжелым течением БА зачастую отмечается высокий уровень количества эозинофилов крови. IL-5 является проэозинофильным цитокином 2 типа, который связывается, со своим рецептором IL-5R, экспрессируемым на эозинофилах и базофилах, что ведет к привлечению и активации эозинофилов и развитию эозинофильного воспаления в респираторном тракте [16]. Исходный уровень эозинофилов крови используется в качестве биомаркера для прогнозирования клинической эффективности, моноклональных антител к IL-5 (меполизумаб) у пациентов с тяжелой эозинофильной БА и частыми обострениями в анамнезе. Кроме этого, количество эозинофилов является маркером ответа на терапию ГКС у детей дошкольного возраста [133]. В то же время установлено, что уровень эозинофилов крови не всегда коррелирует с концентрацией эозинофилов в мокроте у детей с тяжелой БА [51,71,113].

Нейтрофилы крови являются менее изученным маркером БА. По данным некоторых исследований, у детей с тяжелым течением БА и у детей младшего возраста с бронхообструктивным синдромом наблюдается повышение этого показателя в крови [116,136].

Одним из основных биомаркеров БА признано повышение уровня IgE в крови. Методики определения уровней общего и специфических IgE в крови стандартизованы и автоматизированы, согласно стандартам IFCC (The International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) [13]. На уровень общего IgE влияют возраст, пол и раса [47]. Уровень общего сывороточного IgE активно изучается в связи с появлением биологического препарата Омализумаба, который, благодаря препятствию взаимодействия между IgE антителами и высоко и низкоафинными рецепторами оказывает выраженный терапевтический эффект. После курса лечения Омализумабом отмечается снижение свободного IgE в сыворотке крови. Анти-IgE терапия является патогенетическим лечением, в связи с чем для ее назначения необходимы строгие показания [16]. Специфические IgE помогают выявить сенсibilизацию к аллергенам.

Учитывая недостатки инвазивных методов, большие усилия были приложены для разработки неинвазивных методик исследования патогенетических механизмов, лежащих в основе БА, на основе анализа выдыхаемого воздуха (Рисунок 2) [49].

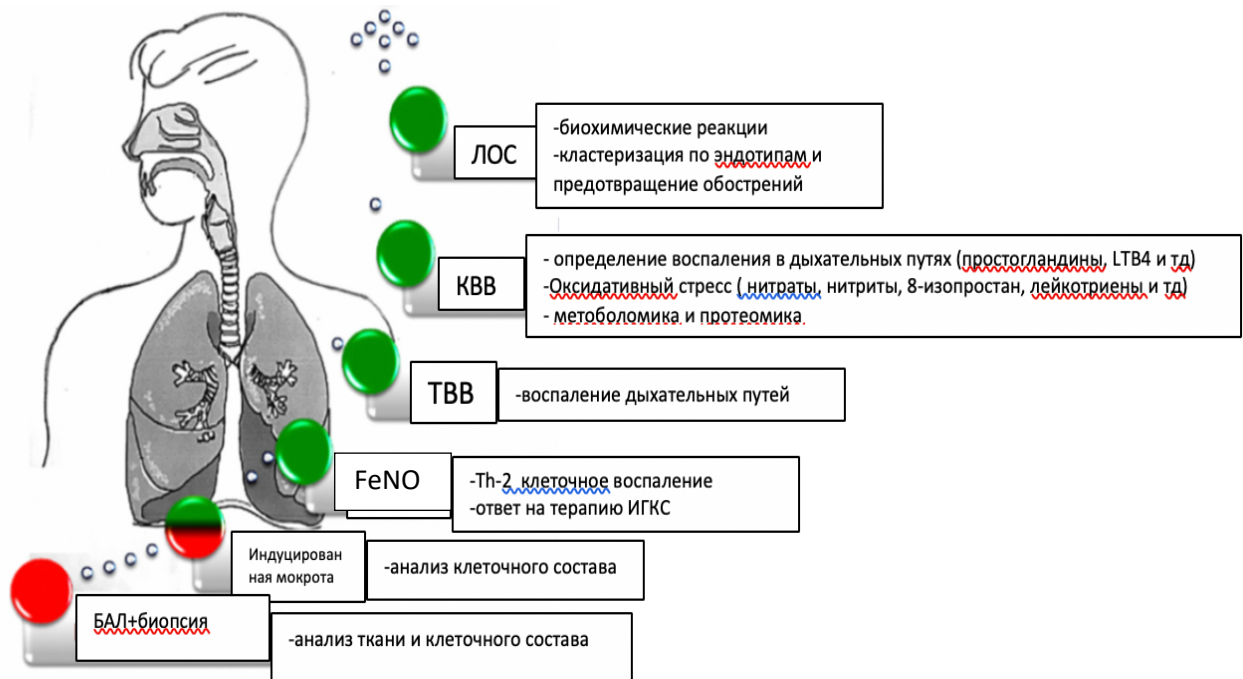


Рисунок 2- Методы исследования воспаления в дыхательных путях (*Красный цвет - инвазивно, красно-зеленый средне-инвазивно, зеленый-неинвазивно. ЛОС - летучие органические соединения, КВВ - конденсат выдыхаемого воздуха, ТВВ - температура выдыхаемого воздуха.*)

Адаптировано из: Exhaled biomarkers in childhood asthma: old and new approaches Ferraro et al. *Asthma Research and Practice* (2018)

Главными методами исследования выдыхаемого воздуха у пациентов с БА являются: определение NO и исследование конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ) [2]. Благодаря этим двум методикам достигнут большой прогресс в диагностике и контроле БА. На сегодняшний день измерение NO стало доступной процедурой в клинической практике [21,65,82].

1.3 Нитрозивный и оксидативный стресс и роль оксида азота выдыхаемого воздуха при бронхиальной астме

Определение FeNO является неинвазивным методом оценки состояния воспаления дыхательных путей. В 2011 году Американское Торакальное Сообщество (АТС) опубликовало руководство по клиническому применению FeNO в качестве показателя эозинофильного воспаления дыхательных путей [17, 22].

Необходимо отметить, что NO является наиболее интенсивно изучаемым биомаркером в выдыхаемом воздухе. Описаны его изменения при различных заболеваниях, хорошо известна его информативность для прогнозирования течения БА. В дыхательной системе выделяют ферментные и неферментные источники NO. В случае ферментного его происхождения исходным субстратом является L-аргинин, а ферментом, катализирующим его превращение, выступает NO-синтаза. Этот фермент существует в трех изоформах. Две из этих изоформ синтезируются постоянно (конститутивно) и активируются незначительными повышениями концентрации внутриклеточного кальция. Третий фермент – индуцируемая NO-синтаза (iNOS, NOS2) - имеет намного большую по сравнению с ее изоформами активность. Она не зависит от концентрации внутриклеточного кальция, активируется цитокинами, эндотоксинами, вирусными частицами и отражает интенсивность воспалительного процесса [9]. Свидетельством того, что выдыхаемый NO, в основном, является продуктом работы NOS2, служит то, что ГКС ингибируют NOS2 в эпителиальных клетках, уменьшают ее активность в биоптате бронхов пациентов с БА, одновременно понижая концентрацию выдыхаемого NO [9, 17, 43].

Вторым значительным источником NO являются его связанные формы. В жидкости, покрывающей эпителий, содержится большое количество тиол-содержащих молекул, таких как цистеин, глутатион. NO связывается с ними и формирует S-нитротиолы и S-нитрозопротеины. По некоторым оценкам от 70 до 90% NO сосредоточено в S-нитротиолах, которые являются главным источником

NO в тканях [20, 72].

Появление NO в выдыхаемом воздухе также может быть связано с протонированием нитритов в кислой среде. Нитриты образуют азотистую кислоту, которая высвобождает газообразный NO. Такой pH-зависимый механизм замечен во время обострения БА, когда в КВВ обнаруживается снижение pH [17, 20, 37, 38, 121].

Оксид азота синтезируется во всех отделах дыхательной системы. Бронхиальные клетки секретируют NO в просвет дыхательных путей, где он смешивается с альвеолярным NO во время выдоха, что приводит к усреднению его концентрации в выдыхаемом воздухе. Прямое определение NO в трахее и главных бронхах с помощью бронхоскопии, а также опыты с ингибированием NOS показали, что основное количество NO синтезируется в нижних дыхательных путях и, скорее всего, этот процесс происходит в эпителиальных клетках [8, 20, 57, 75].

NO, обнаруживаемый в выдыхаемом воздухе, является сигнальной молекулой, выполняющей функции вазо- и бронходилататора. В настоящее время компоненты метаболизма оксида азота объединены в цикл NO (Рисунок 3). Цикл оксида азота является сложно регулируемой системой, включающий в себя NO-синтазную и NO-синтаза-независимую составляющую его синтеза, а также сопутствующий каскад окислительно-восстановительных реакций, и имеет ключевое значение в функционировании организма. NO образуется из аргинина посредством NO-синтазы и вступает во множество конкурирующих реакций: комплекс O₂ с гемоглобином (Hb-O₂) и другими гемовыми белками окисляет его в нитрат-анион (NO₃⁻); при взаимодействии с супероксидом (O₂⁻) образуется токсический пероксинитрит (OONO⁻); небольшие количества NO восстанавливаются до N₂O. NO окисляется до диоксида NO₂, дающего высшие оксиды азота (N₂O₃ и N₂O₄) и множество других реакций [22].

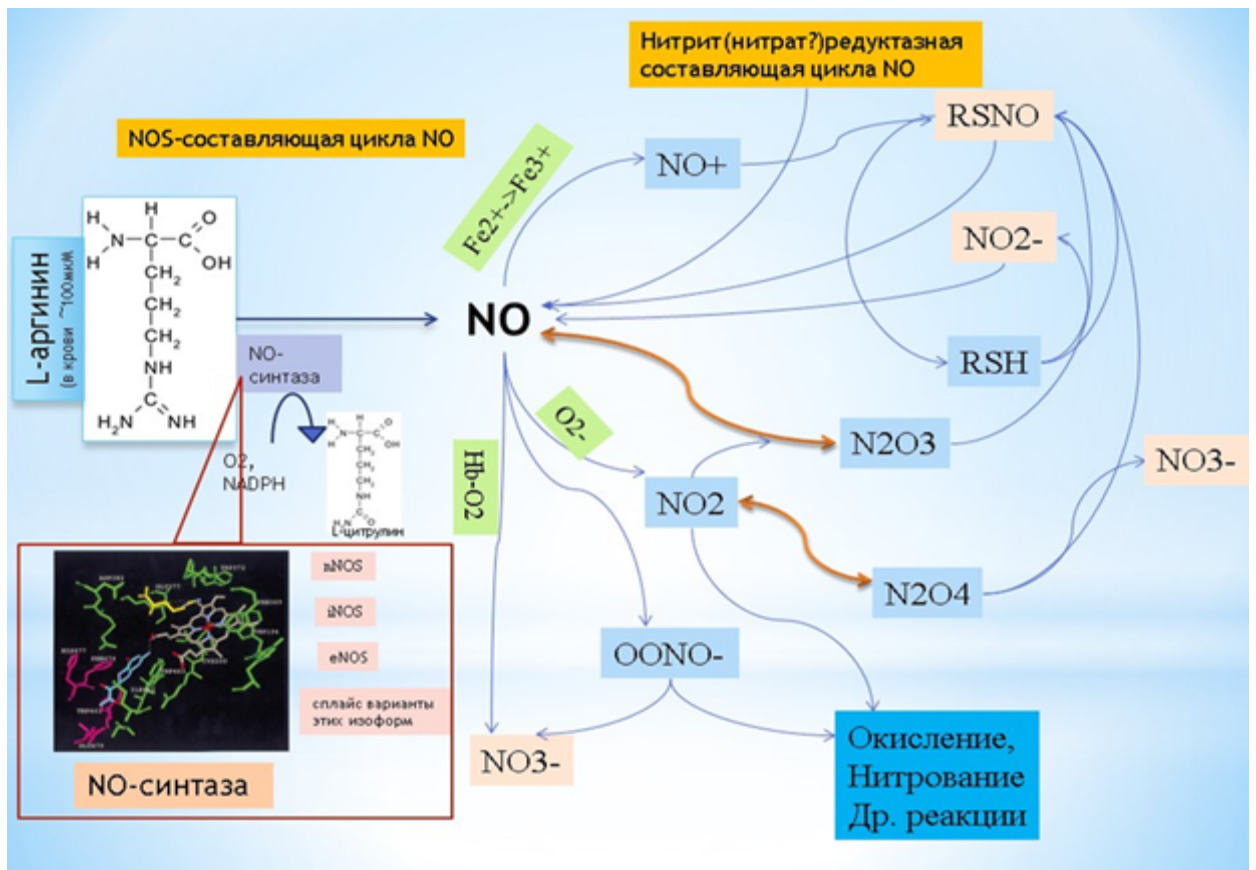


Рисунок 3- Цикл оксида азота в организме

Выделено множество факторов, которые могут влиять на уровень FeNO, включая рост, возраст, пол, расу, наличие атопии, воспаления в носовой полости, инфекции дыхательных путей, прием пищи, содержащей нитраты, прием ингаляционных или пероральных ГКС, курение (включая пассивное), физическую нагрузку. Кроме этого, техника сбора, сила воздушного потока, контаминация назальным NO и тип анализатора, также могут влиять на значения FeNO [66,79,87].

Согласно рекомендациям АТС, уровень FeNO < 20 ppb говорит о маловероятном наличии эозинофильного воспаления и низкой вероятности ответа на терапию ГКС, в то время как уровень FeNO > 50 ppb, наоборот, указывает на наличие эозинофильного воспаления и возможный хороший ответ на терапию ГКС [79].

Значения FeNO между 20 ppb и 50 ppb должно интерпретироваться в контексте клинической симптоматики - необходимо знать, получает ли пациент ГКС и какие ранее были показатели FeNO. Недавние исследования подтверждают

возможность использования значения 20 ppb в качестве адекватной нижней границы, хотя эти значения, по-видимому, могут немного варьировать в зависимости от возраста ребенка и клинического контекста [79].

Malinowski и соавторы, изучая вклад системного воспаления и воспаления дыхательных путей в заболеваемость БА, при одновременном измерении FeNO и уровня эозинофилов крови у взрослых и у детей, установили, что эозинофилы крови, синтезирующиеся в ответ на выработку ИЛ-5 по Th1-ассоциированному пути, влияют на риск развития БА и частоту обострений [85]. Они также установили, что риск развития БА у детей с высоким уровнем FeNO (≥ 35 ppb у детей до 12 лет и ≥ 50 ppb у детей 12 лет и старше) увеличивается при наличии высоких уровней эозинофилов в крови. Аналогичный аддитивный эффект наблюдался в отношении риска возникновения хрипов, приступов астмы и обращений в отделение неотложной помощи, связанных с БА. Авторы пришли к выводу, что системное воспаление, измеряемое эозинофилами крови, которое запускается ИЛ-5 в Th1-пути, может оказывать аддитивное влияние на риск развития астмы, хрипов и обострений астмы. Это исследование было проведено у пациентов с высоким уровнем оксида азота (35-50 ppb), однако авторы рекомендуют интерпретировать значения FeNO только в сочетании с показателями эозинофилов крови [45].

В исследовании Sivan Y. и соавторы (2009), установили, что дети с уровнем FeNO >23 ppb более склонны к развитию БА. Они также обнаружили, что пороговое значение FeNO 20 ppb имело чувствительность 86%, специфичность 89%, положительное прогностическое значение 92% и отрицательное прогностическое значение 80% для развития БА [123]. Аналогичные результаты получили и Peirsmann E.J. et al. (2014), которые описали, что включение мониторинга показателей оксида азота в мероприятия по контролю заболевания привело к меньшему количеству обострений БА по сравнению с обычным контролем. Авторы использовали значение 20 ppb для принятия решений относительно выбора препарата для лечения БА [123].

Sachs-Olsen С. и соавторы обнаружили, что в возрастной группе 9-10 лет значение FeNO >16,6 ppb было значимым в выявлении атопической БА, в отличии от неатопической БА. Однако данное исследование основывалось на однократном измерении уровня NO [115]. Также интересны результаты исследования, в котором измеряли FeNO у 80 детей в возрасте 6-20 месяцев. Повышение уровня FeNO (среднее значение 19,8ppb) было отмечено у всех пациентов с персистирующими сухими свистящими хрипами без верифицированного диагноза БА. Уровень FeNO >15 ppb имел положительное прогностическое значение и отрицательное прогностическое значение для неконтролируемого заболевания 65% и 90%, соответственно [115].

Высокий уровень FeNO (>19,5 ppb) и эозинофилов в крови (>260 кл/мкл) достоверно предсказывают значимый ответ на терапию ГКС и снижение количества обострений [52].

В исследовании, проведенном с участием 52 детей в возрасте от 5 до 36 месяцев, был установлен значительно более высокий уровень FeNO у детей с положительным индексом риска развития БА в сравнении детьми с отрицательным индексом развития БА, хотя средние показатели уровня FeNO были достаточно низкие (от 12,5 до 5,6 ppb соответственно) [122]. Выявлено, что уровень FeNO у детей с атопической БА значительно выше, чем у детей с неатопической БА, а также повышен у детей с положительными кожными пробами, высокими значениями специфических IgE на аэроаллергены и у детей, не страдающих астмой, но имеющих атопию и/или аллергическую сенсibilизацию, в сравнении с детьми с неатопической БА. Таким образом, у детей с атопией, несмотря на наличие или отсутствие лечения, уровень FeNO был выше, чем у детей без атопии [41, 43].

Peirsmann E.J. и соавторы (2014) опубликовали данные о том, что мониторинг уровня FeNO и поддержание его в пределах референсных значений, прогнозирует уменьшение количества обострений БА по сравнению со стандартной схемой контроля заболевания [100].

Ralf J.P. van der Valk и соавторы представили результаты наблюдения 972 детей, которым в возрасте 8 лет был измерен FeNO. Наибольшие значения FeNO наблюдались у тех детей, у которых свистящие хрипы дебютировали позже и сохранялись дольше. Среди детей с атопией (высоким уровнем специфических IgE) FeNO был выше у детей с редкими и транзиторным свистящими хрипами, что позволяет предположить, что фенотип хрипов отражает степень воспаления дыхательных путей у сенсibilизированных детей. В возрасте 4 лет более высокий уровень FeNO был обнаружен у детей с поздним началом и стойкими хрипами, но корреляция между FeNO и фенотипами хрипов была менее сильной по сравнению с возрастом 8 лет, что свидетельствует о большей практической ценности FeNO в более старшем возрасте [131].

Gouvis-Echraghi R. и соавторы (2012) также установили, что FeNO может быть полезен для выявления фенотипов астмы, но только среди детей в возрасте до 36 месяцев. Они обнаружили, что уровни FeNO были самыми высокими ($17,7 \pm 10$ ppb) у детей с неатопической астмой средней тяжести, симптомы которой часто не поддавались контролю, несмотря на лечение ИГКС. Уровни FeNO не были повышены при двух других фенотипах хрипов, умеренном эпизодическом вирусном фенотипе хрипов ($6,6 \pm 4,6$ ppb) и атопическом множественном триггерном фенотипе хрипов ($11,5 \pm 10,7$ ppb) [54].

При интерпретации повышенных значений FeNO следует учитывать вероятность других диагнозов. Повышенный FeNO был описан у детей с эозинофильным бронхитом, состояние, которое характеризуется отсутствием обратимой обструкции воздушного потока и может быть одним из многих фенотипов хрипов [4,54]. В исследовании Kim Y.H. и соавторов (2013), дети с эозинофильным бронхитом имели более высокие уровни FeNO (32 ppb) по сравнению с контролем (21 ppb), но не столь высокие, как дети с БА (40 ppb). Обструктивное апноэ сна также может сопровождаться воспалением дыхательных путей. Поперечное исследование детей без БА или аллергии показало, что уровни FeNO выше у детей с обструктивным апноэ сна по сравнению со здоровыми, хотя

выявленные уровни были ниже 20 ppb [73]. Низкий уровень FeNO был описан при первичной цилиарной дискинезии и легочной гипертензии [135].

Установлено, что уровни FeNO повышаются у детей с бронхиальной гиперреактивностью (БГ) по сравнению со здоровыми детьми и детьми с атопией, но без БГ [6,100]. Кроме того, у детей младше 7 лет с повышенным FeNO и вероятной БА при проведении спирометрии отмечался положительный тест с бронхолитиком [54].

Данные о связи FeNO с показателями ФВД противоречивы. В некоторых исследованиях показано, что оксид азота в выдыхаемом воздухе не коррелирует с ОФВ1 [88] и индексом Генслера (ОФВ1/ФЖЕЛ) [86]. В другом исследовании была обнаружена значительная, но слабая корреляция между FeNO и ОФВ1 [60], а Ricciardolo и соавторы установили, что прогнозируемая ОФВ1 $\leq 86\%$ коррелирует с уровнями FeNO от 20 до 40 ppb у детей с легкой и умеренной БА [119].

Lanz M.J. и соавторы показали, что в когорте из 21 ребенка в возрасте 4-6 лет с БА, которые получали ИГКС (будесонид) через небулайзер в течение 2 недель, было отмечено снижение FeNO с одновременным повышением ОФВ1 в среднем на 85-96% [112]. После отмены ингаляций будесонида уровень FeNO повышался, в то время как ОФВ1 не снижался. В связи с этим предполагают, что FeNO может быть более ранним и чувствительным маркером усиления воспаления после отмены ИГКС по сравнению с данными спирометрии.

Было показано, что аллергическая сенсibilизация, установленная на основании положительных кожных тестов или аллерген-специфических IgE, достоверно коррелирует с повышенными уровнями FeNO [76,100]. Самые высокие уровни FeNO наблюдаются у детей, которые постоянно подвергаются воздействию аллергена, к которому они сенсibilизированы [107]. На уровень повышения FeNO также влияет поливалентность сенсibilизации [76]. Некоторые исследования показали, что уровень FeNO повышен у детей с аллергическим ринитом или атопией и при отсутствии астмы [32,98,124].

В ранних исследованиях показано прогностическое значение повышения FeNO, предсказывающего обострение астмы после прекращения приема ИГКС [60,105]. Недавнее проспективное исследование у 14 взрослых пациентов с эозинофильной астмой показало, что мониторинг FeNO в течение двух лет позволил лучше контролировать симптомы и частоту обострений БА по сравнению с обычной ФВД [138]. Изучение сезонных факторов риска обострений у 400 детей с персистирующей БА средней и тяжелой степени, показало, что уровень FeNO позволяет предсказать осенние обострения [84]. В исследовании изучалась важность ежедневных измерений FeNO для прогнозирования обострений астмы в течение 30-недельного периода у 77 детей с астмой. В исследование были включены 27 пациентов со средне-тяжелыми и 37 пациентов с тяжелыми обострениями. Результаты показали значительное увеличение FeNO за 10 дней до средне-тяжелого обострения [131]. Показано, что однократные измерения уровня FeNO недостаточно информативно для прогнозирования обострений, и необходимо по крайней мере четыре или пять точек измерения. В это исследование включались пациенты, получавшие ИГКС, но не учитывалось какая была терапия в конце исследования, поэтому могло быть недооценено влияние на прогностические возможности FeNO.

В исследовании уровня FeNO в течение 30 недель у 41 ребенка с астмой, Stern G. и соавторы (2011) установили, что уровень FeNO значительно коррелировал с выраженностью симптомов в тот же день, в отличие от уровня FeNO, измеренного в другой день отличный от дня оценки симптомов [134]. Эта связь была наиболее сильной у детей, у которых отмечались средне-тяжелые или тяжелые обострения. В другом поперечном исследовании установлено, что между FeNO и симптоматикой прослеживалась слабая корреляционная связь [59].

В исследовании Karlin E. и соавторов было показано, что уровень FeNO снижается на 23,8% после купирования обострения БА [119]. Это исследование также показало, что афроамериканские дети с обострениями БА имели более высокие уровни FeNO по сравнению с детьми восточной Европы (медиана FeNO 45 против 32 ppb).

В недавнем мета-анализе, включавшем 6 исследований, где измерения FeNO использовались в рамках мониторинга БА, сравнивалось использование FeNO с традиционными методами мониторинга (симптомы, спирометрия) [71]. В исследование были включены 506 детей, которым в процессе наблюдения измеряли FeNO, и 511 детей, у которых оценивались клинические симптомы и данные спирометрии. Не было найдено достоверных различий в значениях FeNO, использовании стероидов и показателями ОФВ1 между 2 группами, однако, в группе, где измерялся FeNO, было отмечено меньше обострений.

В рекомендациях АТС предлагается, что снижение FeNO на 20% является значимым признаком ответа на противовоспалительную терапию [79]. Двойное слепое рандомизированное плацебо-контролируемое исследование у 26 детей с легкой персистирующей астмой показало, что FeNO снижается более чем на 60% при лечении только антагонистами лейкотриеновых рецепторов в течение 4 недель (после исключения детей с сезонной атопией) [83]. Отмечается также, что уровни FeNO снижаются у детей и взрослых с астмой, которые получают лечение ИГКС [93,31], и что повышенный уровень FeNO коррелирует с повышенной чувствительностью к ГКС [67].

Интересен факт, что уровни FeNO выше у детей с вероятным диагнозом БА, которые еще не успели получить какое-либо лечение, по сравнению с детьми с подтвержденным диагнозом, получающими лечение ИГКС [104]. Однако, уровни FeNO могут сильно варьировать от низких до высоких даже у одного ребенка при приеме стабильных доз ИГКС [134]. Это создает сложности в интерпретации результатов, поэтому нужны повторные многократные измерения.

В одном из исследований изучалась возможность корректировки дозы ИГКС с помощью FeNO, однако количество обращений в отделение неотложной помощи детей, у которых контролировалось течение заболевания с помощью измерения FeNO, только повысилось [130].

Lu M. и соавторы (2015) в мета-анализе педиатрических исследований, сравнивающих использование FeNO с рутинными методами, показали, что применение FeNO в лечении БА приводило к несколько более низкой частоте

обострений, хотя достоверных различий в значениях FeNO, показателях ФВД и дозе ГКС, обнаружено не было [83]. Возможно, различия в полученных данных связаны с различной тяжестью течения БА у обследуемых пациентов.

1.4 Диагностическое значение конденсата выдыхаемого воздуха при бронхиальной астме

Исследование конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ) является неинвазивной методикой, легко переносимой пациентами. Она может помочь детализировать принципы регулирования и функционирования цикла NO и оценить степень воспаления дыхательных путей у пациентов всех возрастов [21].

Выдыхаемый воздух человека представляет собой аэрозоль, в котором помимо смеси газов содержатся молекулы летучих органических соединений, а также микрочастицы воды с растворенными в них нелетучими органическими соединениями. Летучие и нелетучие органические соединения являются продуктами метаболической активности организма и, следовательно, отражают текущее состояние клеток, тканей и микробиоты [24, 35, 42].

КВВ получают путем охлаждения выдыхаемого воздуха при контакте с охлажденной поверхностью конденсатора. Для исследования используют жидкие образцы, которые анализируются сразу после сбора, или замороженные образцы, которые могут быть проанализированы в течение 6 месяцев после заморозки [32, 35].

Для сбора КВВ существует различное оборудование, но в настоящее время чаще всего используются системы R-Tube (Respiratory Research Inc., VA) и ECoScreen (VIASYS Healthcare, Hoechberg, Germany). Согласно данным исследований по сравнению этих устройств [91, 93], pH и проводимость КВВ достоверно не отличаются. В одном исследовании были обнаружены различия в количествах некоторых компонентов КВВ, собранных этими устройствами, таких как эотаксин и цистеинил-лейкотриен [24, 38, 62]. Czebe и соавторы также сравнили устройства сбора и разные температуры охлаждения для R-Tube, но не

обнаружили существенных различий ни в объемах проб, ни в общем количестве белка в пробах, собранных при помощи R-Tube и ECoScreen [38]. В другом исследовании [109] объем КВВ оказался больше в пробах, собранных с помощью R-Tube, но в то же время, в пробах, собранных при помощи ECoScreen, были обнаружены большие концентрации общего белка. Тем не менее, авторы сделали вывод, что общее количество белка и показатели для конкретных белков в КВВ зависят, скорее, от методики проведения анализа [24, 109].

R-Tube представляет собой портативную одноразовую трубку, которая может быть использована в стационаре, лаборатории и даже дома. Выдыхаемый воздух направляется через обратный клапан в охлажденную камеру для сбора, где происходит конденсация, далее клапан используется как поршень, который собирает капли со стенок. Слюна отделяется и скапливается в нижнем отсеке трубки, благодаря силе тяжести [24, 38].

В отличие от R-Tube, ECoScreen является стационарным устройством, которое имеет дополнительные функции, включая спирометр, отдельные камеры, позволяющие отбирать пробы из различных участков дыхательных путей, уловитель слюны и электрическую систему охлаждения [24, 114].

Во время сбора образцов может происходить их контаминация в том случае, если у пациентов повышенное слюноотделение. Для предотвращения влияния контаминации слюной на определяемые параметры необходимо наличие фильтрующей системы и/или анализ образцов на наличие слюны в КВВ [24, 37, 61, 114]. Контаминация слюной может оказывать влияние на уровень различных маркеров в КВВ. Так, присутствие большого количества эйкозаноидов в слюне у детей при обострении астмы [75] или нитритов/нитратов после принятия пищи с большим количеством этих соединений [12] может оказывать влияние на уровень эйкозаноидов или маркеров метаболизма окиси азота в конденсате [24].

В составе КВВ обнаружено более 200 соединений. Однако большинство из этих веществ можно определить только с помощью высокоточных аналитических методов [20]. В связи со сложностями сбора, рутинно определяют достаточно небольшую группу соединений. Для измерения в КВВ быстроразрушаемых

молекул, таких как NO, H₂O₂, требуется их быстрое определение непосредственно во время сбора КВВ путем мониторинга (NO и H₂O₂-анализаторы) [20].

Считается, что основными нелетучими компонентами КВВ являются метаболические продукты клеток, выстилающих воздухопроводящие пути [140]. Биологические молекулы попадают в пробу из бронхиального и альвеолярного аэрозолей, формирующихся при испарении жидкости, прилежащей к эпителию. Кроме таких широко известных составляющих, как водород, кислород, углекислый газ, инертные газы и пары воды, выдыхаемый воздух содержит также тысячи летучих и нелетучих компонентов, главным образом, в следовых количествах, что превращает их обнаружение в достаточно сложную задачу. Применение современных высокочувствительных технологий при анализе проб составляет основу правильного анализа этого типа биоматериала. Так, использование масс-спектрометрии обладает огромным потенциалом в области профилирования биомаркеров выдыхаемого воздуха [24, 37, 48].

Одними из активно изучаемых в настоящее время биомаркеров в КВВ являются цитокины. В исследованиях было выявлено повышенное содержание цитокинов у детей с БА по сравнению с контрольной группой здоровых детей [88]. При более детальном исследовании было обнаружено значительное повышение уровня ИЛ-6 у детей с БА, при этом различий между группой детей получавших низкие дозы ИГКС и группой получавшей высокие дозы ИГКС выявлено не было [78].

В двух исследованиях были изучены цитокины в КВВ у детей с БА физического усилия [88,128]. Было выявлено повышение уровня интерлейкина-4 (IL-4) у большинства детей, у которых был положительный тест на метахолин [128]. В другом исследовании IL-16 и моноцитарный хемотаксический белок - 1 (MCP-1) были значительно выше в КВВ у детей с БА физического усилия по сравнению с детьми без обострений БА на физическую нагрузку [88]. Основным ограничением обоих этих исследований является отсутствие сбора КВВ перед тренировкой. Поэтому неясно, действительно ли измеренные различия в

цитокинах между испытуемыми отражают воспалительную реакцию, вызванную физической нагрузкой.

Также изучается роль аммиака (NH_4) в КВВ при различных заболеваниях. Показано, что определение аммиака в КВВ может использоваться для дифференциальной диагностики вирусных и бактериальных заболеваний легких [12]. Определение уровней NO и аммиака также используют для диагностики муковисцидоза и контроля проводимой терапии [24, 39, 113], диагностики БА, тяжести и контроля развития заболевания [39,95,108].

Перекись водорода образуется из радикалов кислорода, выделяющихся активированными клетками воспаления: нейтрофилами, макрофагами и эозинофилами. Она обнаруживается в КВВ и является потенциальным маркером окислительного стресса в легких. Уровень H_2O_2 используется в диагностике астмы [24, 29].

Кроме этого, во многих исследованиях, изучающих воспаление дыхательных путей, обращает на себя внимание изучение эйкозаноидов, представляющих большую группу гетерогенных метаболитов арахидоновой кислоты, образующихся из свободнорадикальной или ферментативной оксигенации, включая простаноиды, лейкотриены и эпоксиды [132].

Лейкотриен (ЛТ) В4 является мощным медиатором воспаления и хемоаттрактантом для нейтрофилов, играющих важную роль в патогенезе БА. У детей с БА в КВВ были обнаружены повышенные уровни ЛТ В4, причем эти уровни были повышены более чем в 2 раза у детей, не получавших ранее терапию ГКС, в сравнении со здоровыми детьми [92,118].

Цистеиновые лейкотриены (LTC_4 , LTD_4 и LTE_4) являющиеся мощными бронхоконстрикторами и провоспалительными медиаторами, были обнаружены в высоких концентрациях в КВВ пациентов с БА, с максимальным уровнем при тяжелой и неконтролируемой БА [32,90, 137,139].

В одном из исследований было установлено, что уровень цистеиновых ЛТ снижался после терапии ГКС (5 дней перорального приема преднизолона) при обострении БА [137]. Между тем, Vodini и соавторы обнаружили, что уровень

цистеиновых ЛТ в выдыхаемом воздухе и процент эозинофилов в индуцируемой мокроте, снижались самопроизвольно после элиминации аллергенов [92].

В КВВ изучались 8-изопростан и перекись водорода, как потенциальные медиаторы оксидативного стресса. 8-изопростан представляет собой простагландиноподобное соединение, получаемое путем перекисного окисления арахидоновой кислоты. Он обнаруживается в значительно более высоких уровнях в КВВ у детей с БА, особенно во время обострений. На фоне терапии ГКС (5-дневный курс перорального преднизолона) снижает уровень 8-изопростана, однако показатель остается выше, чем в контроле. Это позволяет предположить, что ГКС могут быть не в полной мере эффективны в контроле оксидативного стресса у детей с обострением БА [137].

Другим маркером окислительного стресса, обнаруживаемым в КВВ, является перекись водорода (H_2O_2), которая образуется из супероксидных анионов в результате воспаления дыхательных путей. В мета-анализе, проведенном на взрослых пациентах с БА было установлено, что концентрация H_2O_2 в КВВ выше нормы у пациентов с БА и коррелирует с тяжестью заболевания, нарушением контроля и ответом на лечение стероидами [35,117]. Уровень перекиси водорода в КВВ у пациентов с БА снижается при лечении ГКС [35].

Похожие результаты были получены и при исследовании детской популяции. Jöbsis и соавторы установили, что уровень H_2O_2 в КВВ у детей с БА был достоверно выше, чем в группе контроля, а также у пациентов, не получавших терапию ГКС [132].

Метаболиты оксида азота, такие как 3-нитротирозин (3-NT), нитрит и нитрат в КВВ, также могут служить маркерами оксидативного стресса. 3-NT образуется в результате нитрования аминокислоты тирозина и может служить в качестве биомаркера образования реакционноспособных промежуточных соединений азота. Концентрация 3-NT в КВВ у детей с БА в пять раз выше по сравнению с группой контроля, при этом не обнаружено достоверных различий между пациентами с БА, получающими терапию ГКС, и пациентами, не

получающими такую терапию [69]. В двух исследованиях у детей с диагнозом БА было выявлено, что средние уровни нитритов\ нитратов были значительно выше, чем у их здоровых сверстников, но есть противоречивые результаты по корреляции между этими веществами и тяжестью БА [33,95].

Биомаркеры (LTC₄, LTD₄, LTE₄, H₂O₂) на сегодняшний день не получили широкого практического применения в связи с трудностями сбора материала для исследования и низкой чувствительностью методик определения. В то время как маркеры оксидативного стресса (8-изопростан, 3-NT, нитриты и нитраты) более доступны для практического применения и играют важную роль в понимании метаболизма NO.

Таким образом, суммируя данные литературы, FeNO выдыхаемого воздуха является доступным, неинвазивным и важным биомаркером воспаления. Однако, при легкой БА у детей исследований FeNO недостаточно, а их результаты противоречивы; данные по изучению цикла NO практически отсутствуют. Изучение этого важного параметра воспаления позволит прогнозировать течение заболевания и контролировать эффективность проводимой терапии, что особенно важно при БА легкого течения в связи с недостаточностью объективных данных о состоянии воспаления дыхательных путей.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Общая характеристика 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) (заведующая кафедрой – профессор, д.м.н., Геппе Н.А., главный врач – профессор, д.м.н., Валиева С.И.). Дети обследованы в отделении пульмонологии УДКБ (заведующая отделением – к.м.н. Гребенева И.В.) и в лечебно-диагностическом отделении УДКБ (заведующая отделением – Жучкова С.Н.)

Дизайн исследования: первый этап – открытое проспективное нерандомизированное сравнительное клиническое исследование. Второй этап – открытое проспективное рандомизированное сравнительное клиническое исследование.

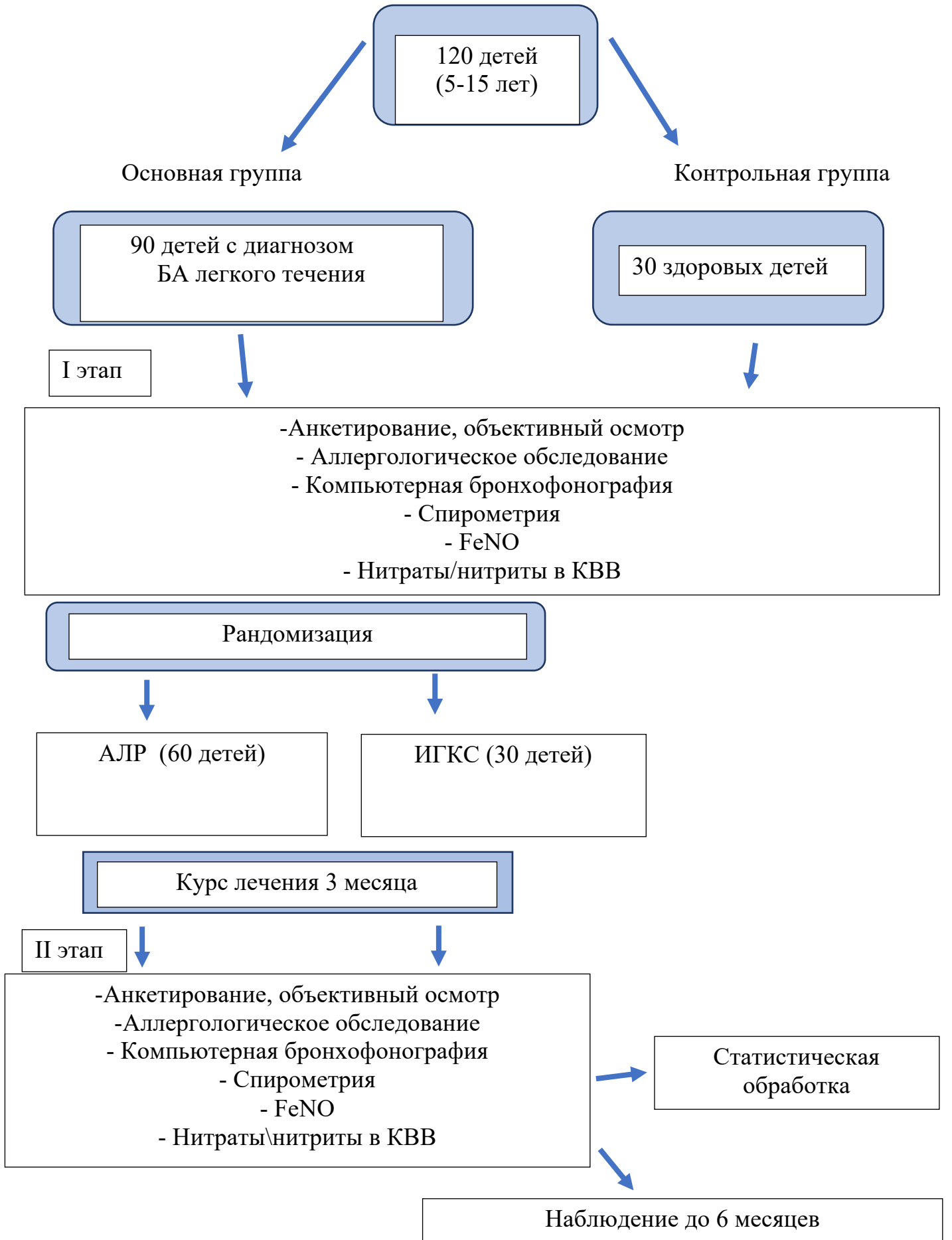
Всего в исследование было включено 120 детей в возрасте от 5 до 15 лет. Основную группу составили 90 детей с БА легкого течения. Контрольную группу составили 30 практически здоровых детей сходного возраста без острых и хронических заболеваний бронхолегочной, иммунной и пищеварительной систем.

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) [53].

Протокол исследования был одобрен Межвузовским Комитетом по этике (протокол № 11-17 от 06.12.2017). Для всех включенных в исследование пациентов было получено добровольное информированное согласие, которое давал один из родителей или иной законный представитель детей до 15 лет или сам пациент в возрасте 15 лет и старше.

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 пациентам с БА назначали 3-месячный курс терапии низкими дозами ИГКС или АЛР в возрастных дозировках. Было проведено повторное обследование с определением показателей IgE, эозинофилов крови, исследование FeNO, сбор КВВ с определением нитратов и нитритов, ФВД и КБФГ. В дальнейшем проводилось клиническое наблюдение пациентов продолжительностью до 6 месяцев.

Схема исследования 1

2.2 Общая характеристика пациентов

Возраст обследуемых детей основной группы составил 10,1 [8,2-13,0] лет (медиана [интерквартильный размах]). Мальчиков было 75,0%, девочек 25,0%. Возраст детей контрольной группы составил 11,3 [9,2-15,0] лет. Мальчиков было 70,0%, девочек 30,0%.

Отягощенный семейный анамнез по аллергическим заболеваниям был выявлен у 89,6% пациентов из основной группы. У 59,8% пациентов один из родителей имел проявления аллергических заболеваний (у 30,1%-мать, у 29,7%-отец). Из них у 3,5% аллергическими заболеваниями страдали одновременно оба родителя. У других родственников аллергические проявления отмечались в 26,3% случаев (Рисунок 4).

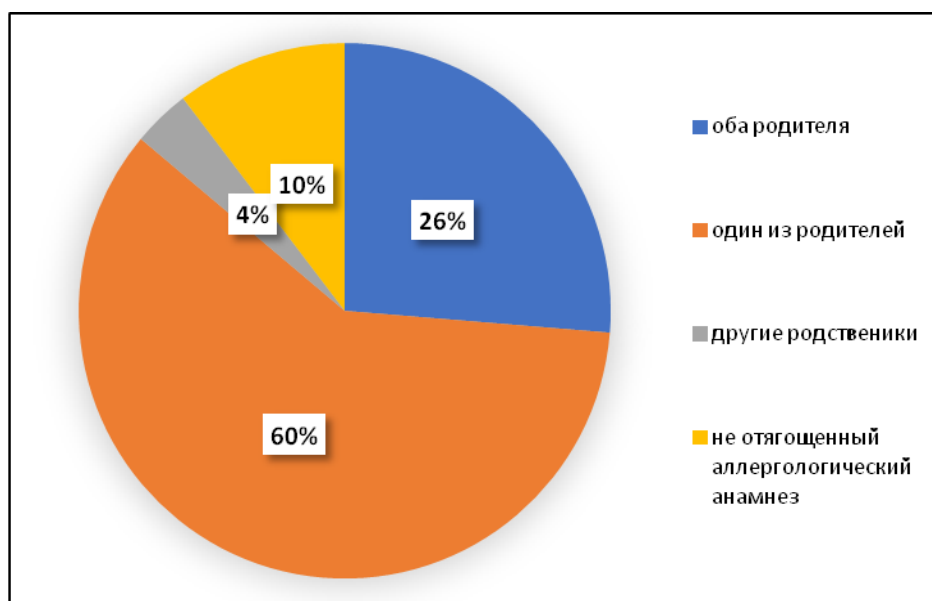


Рисунок 4- Семейный аллергологический анамнез у пациентов с БА

В 90,5% случаев у пациентов основной группы была выявлена поливалентная сенсibilизация к различным группам аллергенов (пыльцевые, бытовые, пищевые, эпидермальные, лекарственные, инфекционные). У 9,5% сенсibilизация выявлялась только к одной группе аллергенов. У 36,7%-к двум группам, у 29,1% к трем группам, у 24,7%- к более, чем 3 группам аллергенов.

По данным анамнеза частота обострений в группе детей с БА в среднем составила 3 раза в год. У 85,4% детей с БА отмечалось 2-3 обострения в год, у 14,6% - более 3 раз в год (Таблица 1). Обострения заболевания сопровождались сухими свистящими хрипами в легких, приступообразным кашлем, дистанционными хрипами, затруднением дыхания, одышкой.

Таблица 1- Частота обострений БА

Количество обострений в год	Относительное количество пациентов с БА (n /%)
2-3	77 /85,4 %
>3	13/14,6 %

Согласно анамнестическим данным, триггерами обострения в основном являлись инфекционные агенты и аэроаллергены (пыльцевые и бытовые/эпидермальные) - 72%. На втором месте - физическая нагрузка (20%). Продукты питания, лекарственные средства, стресс и др. составили 8% (Рисунок 5).

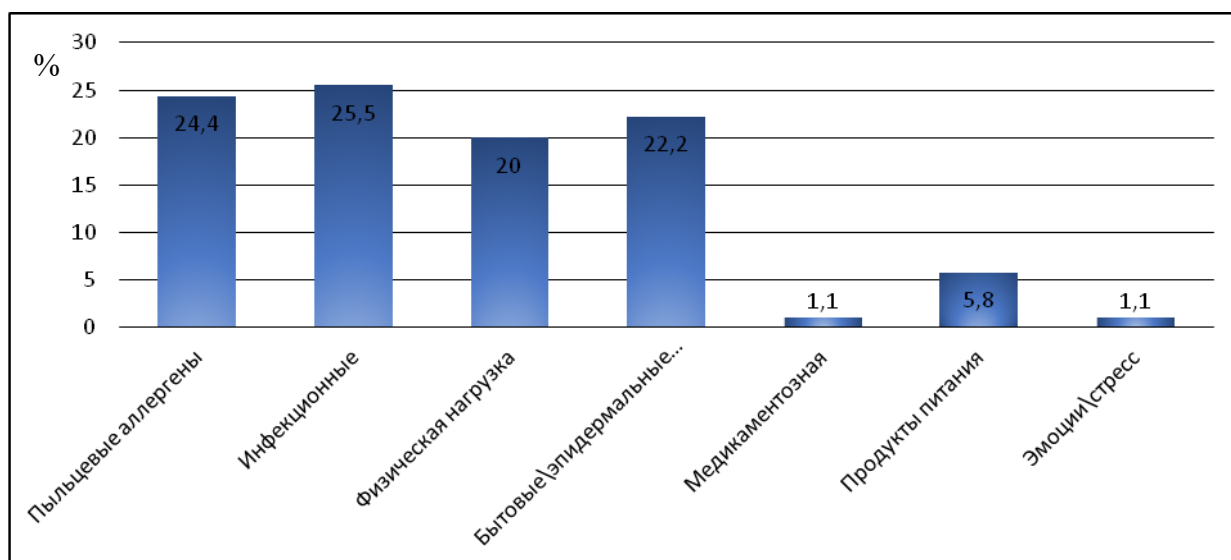


Рисунок 5 - Распределение триггеров обострения у детей с БА (n=90) в %

Длительность заболевания БА у детей основной группы до включения в исследование составила 4,0 [1,0-8,5] (медиана [интерквартильный размах] года).

В 98,3% случаев для купирования обострений пациенты использовали комбинированный бронхолитик фенотерол/ипратропия бромид в возрастных дозировках + микронизированная суспензия будесонида в дозировке 0,25-0,5 мкг/ингаляцию) через небулайзер. В 1,7% при средне-тяжелом обострении дополнительно назначались системные ГКС (преднизолон) коротким курсом на 1-3 дня.

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) (будесонид+формотерол или сальметерол+флутиказон) курсами до 2-3 месяцев, 13% - ИГКС с АЛР курсами от 1 до 3 месяцев (Рисунок 6).

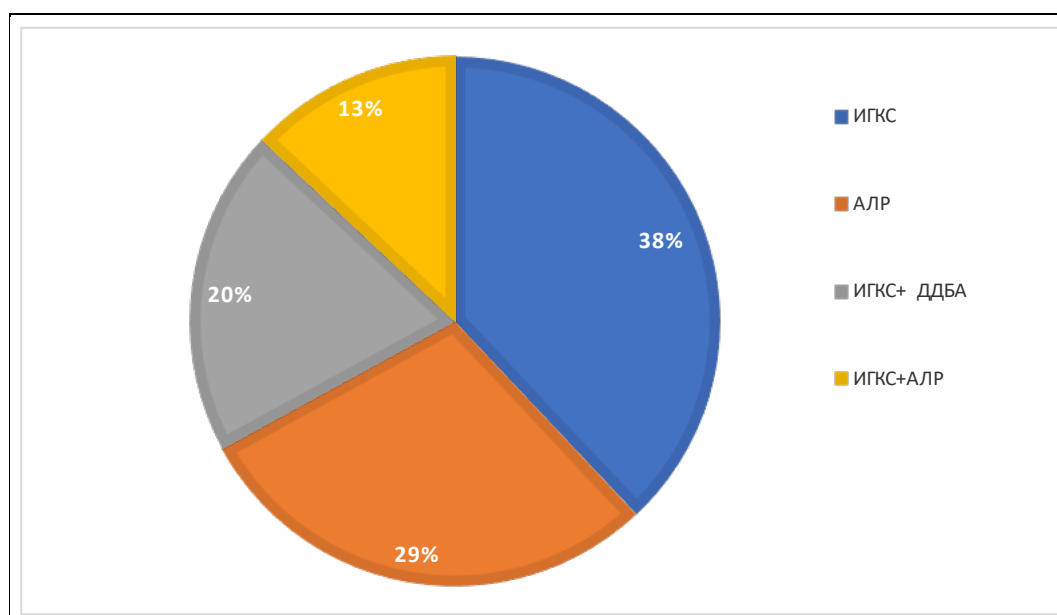


Рисунок 6 - Распределение пациентов с БА в зависимости от базисной терапии, предшествовавшей исследованию (%)

2.3 Методы исследования

В настоящем исследовании применялись:

- Анализ данных анамнеза;
- Общеклиническое исследование (физикальное обследование, общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови, рентгенологическое исследование, консультация ЛОР врача);
- Аллергологическое обследование (определение уровня IgE общего, IgE специфических);
- Опросник ACQ-5.
- Инструментальные методы исследования:
 - Функция внешнего дыхания (КБФГ и спирометрия)
 - Оксид азота выдыхаемого воздуха
 - Конденсат выдыхаемого воздуха

Анализ данных анамнеза проводился согласно анкете. Уточнялся анамнез жизни, анамнез заболевания, аллергологический анамнез, семейный анамнез. Длительность заболевания, возраст постановки диагноза, триггерные факторы, предшествующая терапия и ее эффективность.

Общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови проводился в Педиатрической экспресс-лаборатории УДКБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Определение уровней общего и специфических IgE проводили на базе Межклинической иммунологической лаборатории УДКБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Опросник ACQ-5

В настоящее время для оценки контроля над астмой используется несколько мультифункциональных инструментов, которые можно разделить на категориальные (шкалы GINA и GOAL) и ординарные (шкалы ACQ, АСТ и др.).

Мы использовали опросник АСQ-5, который чаще всего используется в клинических исследованиях как для детей, так и для взрослых.

АСQ имеет 5 вопросов с 6-бальной шкалой ответов. Общий балл АСQ-5 вычисляется как среднее арифметическое для 5-ти ответов. У пациентов, которые адекватно контролируют течение БА итоговый результат по АСQ был ниже 0,75. Диапазон баллов от 0,75 до 1,25 указывает на частичный контроль болезни. При значениях выше 1,25 баллов диагностируется неконтролируемая БА. При измерении контроля БА в динамике клинически значимым является изменение показателя на 0,5 баллов [70] (Приложение А).

Определение оксида азота выдыхаемого воздуха проводили при помощи портативного ручного прибора измерения окиси азота в выдыхаемом воздухе NO-breath, производства компании Bedfont Scientific Ltd, Великобритания (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2010\06574) (Рисунок 7).



Рисунок 7 - Прибор для измерения оксида азота выдыхаемого воздуха «NO breath»

Согласно данным руководства АТС [94], FeNO признан маркером эозинофильного воспаления дыхательных путей и является простым, неинвазивным методом диагностики и контроля терапии как у детей, так и у взрослых.

Измерение оксида азота проводится при спокойном выдохе с постоянной скоростью в течение 10 сек (у детей с ЖЕЛ менее 3 л – 6 сек). Проведение данной методики исследования возможно у детей старше 4 лет.

На основании последних рекомендаций Американского торакального сообщества (АТС) уровень нормальных значений FeNO принимался как <20 ppb [79].

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

КВВ представляет собой жидкость, полученную в результате конденсации паров выдыхаемого воздуха, и состоит из конденсируемых паров воды и диспергационных частиц с поверхности респираторного тракта.

Сбор КВВ является безопасным и не инвазивным методом получения информации о состоянии респираторного тракта. Процесс сбора конденсата занимает в среднем 10-15 минут, в процессе которого ребенок осуществляет спокойный вдох и выдох через специальный загубник. В результате образуется 1-1,5 мл конденсата выдыхаемого воздуха. Прибор для сбора конденсата состоит непосредственно из конденсирующего отсека, охлажденной алюминиевой муфты, входного и вихревого клапанов и загубника (Рисунок 8).

В КВВ проведено исследование метаболитов цикла оксида азота: нитрит- (NO_2^-), нитрат (NO_3^-) анионов, их суммарной концентрации (TNN), спектрофотометрическим методом с использованием реактива Грисса, а также уровней 3-нитротирозина при помощи иммуноферментного анализа.

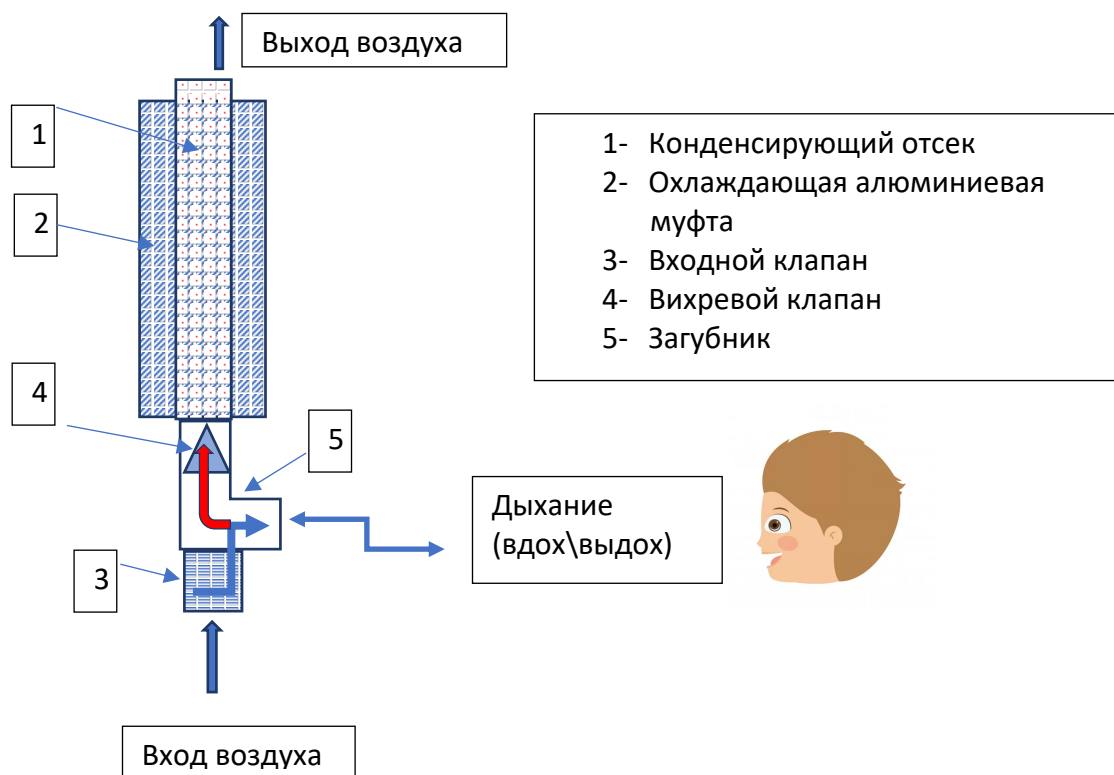


Рисунок 8 - Схема прибора для сбора КВВ

Функция внешнего дыхания оценивалась при помощи **спирометрии** и **компьютерной бронхофонографии (КБФГ)**. Данные методики проводились в УДКБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), отделение функциональной диагностики (заведующая отделением – Гинесина И.Л.) при помощи спирометрического аппарата «Spiro USB» (CareFusion Ltd., США) и бронхофонографического диагностического автоматизированного прибора «ПАТТЕРН-01» (рег.уд. № ФСР2009\04789 от 22.04.2009).

- **Метод спирометрии** позволяет оценить такие параметры внешнего дыхания как форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1), индекс Генслера (ОФВ1\ФЖЕЛ), 25% ФЖЕЛ, 50% ФЖЕЛ и 75% ФЖЕЛ. Ингаляционный тест с бронхолитиком (сальбутамол в возрастной дозировке) с оценкой прироста ОФВ1 и ФЖЕЛ считался достоверным при приросте ОФВ1 и\или ФЖЕЛ более 12%.

- **Метод компьютерной бронхофонографии** основан на регистрации звуковых феноменов, возникающих при дыхании, с последующим анализом и математической обработкой частотных и временных характеристик спектра этих шумов. Звук, возникающий при дыхании, записывается при этом методе напрямую через микрофон с помощью компьютерного диагностического комплекса — компьютерной бронхофонографии (КБФГ) [8]. Обработка записи осуществлялась с использованием компьютерной программы «Паттерн». (Рисунок 9).

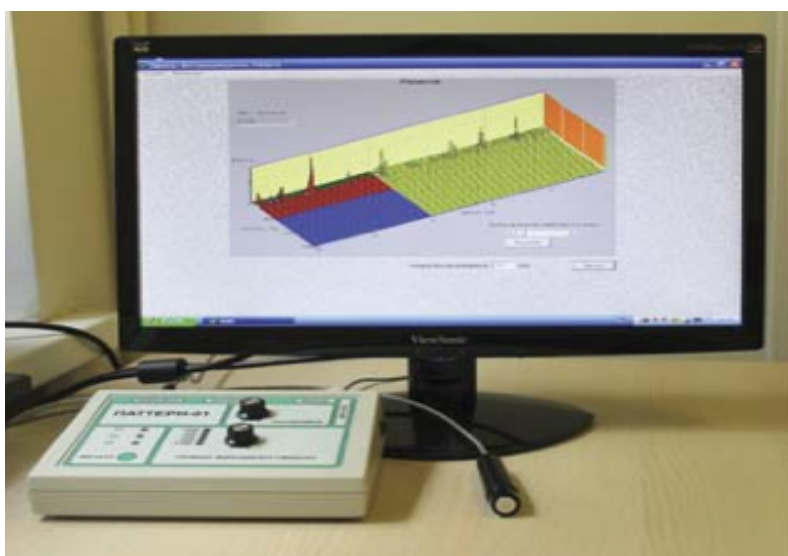


Рисунок 9 - Прибор для проведения КБФГ

Исследование проводится при спокойном дыхании ребенка в течение 10 секунд через специальный датчик и загубник, для чего не требуется обучения пациента каким-либо специальным дыхательным маневрам, поэтому может использоваться с периода новорожденности. При проведении данного метода оценивается акустический компонент работы дыхания (АКРД) в трехчастотных диапазонах: низкочастотной (0,2-1,2 кГц), среднечастотном (> 1,2-5 кГц) и высокочастотном (>5-100кГц).

Исследование состояло из 2-х этапов: исходная запись АКРД и проба с бронхолитиком (сальбутамол). Снижение АКРД на 10% и более после ингаляции сальбутамолом, расценивалась как положительная реакция.

2.4 Методы статистической обработки

В работе использовали описательный, корреляционный и сравнительный статистические анализы. Для анализа признаков, выраженных в количественной шкале, использовали программу PAST, в которой реализованы современные универсальные непараметрические (рандомизационно-перестановочные) алгоритмы построения доверительных интервалов (ДИ) и статистических сравнений на основе процедур бутстрэпа и Монте-Карло (Hammer et al., 2001). Для статистического описания этих признаков проверяли их согласие с нормальным распределением и оценивали средние значения, медианы с 95%-ми доверительными интервалами.

В соответствии с современными рекомендациями везде, где возможно, были использованы средства наглядного графического представления исходных данных и результатов их статистического анализа: описательные графики с ДИ, ящичные диаграммы, вероятностные графики.

Для статистических сравнений использовали параметрические критерии: t -критерий Стьюдента парный и для независимых выборок (при равенстве дисперсий) и критерий Уэлча – в случае статистически значимо различающихся дисперсий. Ориентировались на точные P -значения или на P -значения, полученные методом Монте-Карло.

В соответствии с современными рекомендациями сравнение данных основывали не только на P -значениях, но и на 95%-х ДИ для разности сравниваемых средних значений.

Теснота корреляционной взаимосвязи количественных признаков оценивалась линейным коэффициентом корреляции Пирсона и ранговым коэффициентом ранговой корреляции Спирмена.

ROC-анализ выполняли с использованием программ EasyROC и MetaboAnalyt. В соответствии с международными рекомендациями (ICMJE, 2013) статистическая значимость наблюдаемых эффектов была проверена не только

значениями P , но и доверительными интервалами (ДИ) для оцененных различий, соотношений и т.д.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Бронхиальная астма (БА) является серьезной глобальной проблемой в области здоровья, затрагивающей все возрастные группы. Во многих странах распространенность БА возрастает, особенно среди детей. Несмотря на все прилагаемые усилия, а также на доступность эффективных методов лечения, данные международных исследований по-прежнему свидетельствуют о недостаточном уровне контроля БА во многих странах [53].

В общей популяции детей с БА преобладает БА легкого течения. Несмотря на то, что течение заболевания считается легким, как правило предрасположенность к обострениям сохраняется. В связи с чем необходимы дополнительные объективные методы обследования, которые позволят вовремя оценить состояние дыхательных путей и предотвратить обострение.

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

3.1 Исходные данные

Перед включением в исследование все дети и/или их родители заполняли опросник ACQ-5 (Приложение А).

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. Пациенты с неконтролируемой БА включены в исследование не были.

На основании данных Bateman E.D. и соавторов, риск обострений в данных группах соответственно составлял 13-18% и 23-24% [88] (Таблица 2).

Таблица 2 - Распределение пациентов согласно АСQ-5 и риск обострений по E.D. Bateman et al. [120]

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

Анализ течения БА показал, что согласно анамнезу и опроснику АСQ-5 у большинства детей течение БА расценивалось как частично-контролируемое, при этом риск обострения заболевания, согласно данным E.D. Bateman et al., в данной группе составляет 23–24%, что требует назначения противовоспалительной терапии. Согласно E.D. Bateman et al., у пациентов с полностью контролируемым течением БА риск обострения заболевания сохраняется на достаточно высоком уровне и составляет 13–18%, что также требует динамического контроля и своевременного назначения терапии в целях предотвращения обострений.

Согласно клиническим рекомендациям по диагностике и лечению бронхиальной астмы, основным принципом лечения БА является ступенчатый подход. У детей регулярная терапия может начинаться с низких доз ИГКС и/или монотерапии АЛР [8, 34]. В связи с этим, 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 в дозе 50–125 мкг).

В Таблице 3 представлена структура подгрупп А и В по уровню контроля заболевания. Представлены точные (95%) доверительные интервалы (ДИ) для долей каждого типа уровня контроля, вычисленные по методу Клоппера-Пирсона.

Таблица 3 - Распределение пациентов по уровню контроля заболевания в подгруппах А и В

Уровень контроля	Показатель	Подгруппа		Всего	Разность долей	mid- <i>p</i>
		А	В			
Частичный	Число пациентов, <i>n</i>	39	18	57	-15 ⁵ ₂₆	0,57
	Доля пациентов, <i>f</i> , %	52 ⁶ ₅₇₆	42 ⁵ ₉₇₅	53 ⁶ ₃₇₃		
Полный	Число пациентов, <i>n</i>	21	12	33		
	Доля пациентов, <i>f</i> , %	24 ³ ₅₄₈	24 ⁴ ₁₅₈	27 ³ ₇₄₇		
Всего	Число пациентов, <i>n</i>	60	30	90		
	Доля пациентов, <i>f</i> , %	100	100	100		

95% доверительные интервалы для долей пациентов при частичном и полном контроле заболевания в сравниваемых группах перекрываются; 95% доверительный интервал для разности долей при частичном и полном контроле составляет -16⁵₂₆ % и накрывает ожидаемое (при равенстве долей) нулевое значение, что говорит об однородности распределений пациентов подгрупп А и В по уровню контроля.

3.2 I этап исследования

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, КБФГ и ФВД.

В таблицах ниже приведены описательные статистики контрольной (Таблица 4) и основной (Таблица 5) групп пациентов по количественным признакам. Непараметрические 95%-ные доверительные интервалы вычислены с использованием алгоритма бутстреп. Использована программа PAST.

Таблица 4 - Описательные статистики контрольной группы (n=30)

Признак	Размах варьирования		Среднее, M с 95%-ным ДИ	Стандартное отклонение, SD	Медиана, Me с 95%-ным ДИ
	Min	Max			
IgE, МЕ/мл	1	43	1418 ₂₃	13	1018 ₂₀
Эозинофилы, %	0	8	1 ₂₃	2	1 ₂₂
КБФГ, в\ч, мкДж	0,01	0,21	0,030,040,06	0,04	0,020,030,04
КБФГ, с\ч, мкДж	1,2	9,2	4,55,15,8	1,84	4,35,25,8
КБФГ, н\ч, мкДж	9,2	82,1	2835 ₄₂	19,06	2033 ₄₁
ОФВ1\ФЖЕЛ, %	94	100	9697 ₉₈	2	9697 ₉₈
ОФВ1, %	105	129	115117 ₁₁₉	6	115118 ₁₁₉

В контрольной группе пациентов не было зарегистрировано повышения уровня IgE и эозинофилов крови. Данные ФВД по результатам проведения спирометрии с оценкой ОФВ1 и ОФВ1\ФЖЕЛ, а также КБФГ с оценкой в\ч, ср\ч и н\ч диапазонов были в пределах референсных значений.

Таблица 5 - Описательные статистики основной группы пациентов (n=90)

Признак	Размах варьирования		Среднее, M с 95%-ным ДИ	Стандартное отклонение, SD	Медиана, Me с 95%-ным ДИ
	Min	Max			
IgE, МЕ/мл	9	990	220 ²⁷⁰ ₃₃₀	210	180 ²³⁰ ₃₀₀
Эозинофилы, %	1	18	4 ⁵ ₄	3	4 ⁴ ₄
КБФГ, в\ч, мкДж	0,01	0,9	0,16 ^{0,19} _{0,23}	0,15	0,10 ^{0,14} _{0,20}
КБФГ, с\ч, мкДж	1,6	38,1	13 ¹⁵ ₁₇₂	8,21	11 ¹³ ₁₉
КБФГ, н\ч, мкДж	18	315	71 ^{85,02} ₉₉	55,50	64 ⁸⁵ ₉₆
ОФВ1\ФЖЕЛ, %	79	95	86 ⁸⁷ ₈₈	5	84 ⁸⁷ ₈₉
ОФВ1, %	90	118	100 ¹⁰² ₁₀₄	8	96 ⁹⁹ ₁₀₀

Как видно из таблицы выше, у пациентов основной группы уровень IgE и эозинофилов крови имеет достаточно широкий размах варьирования (min 9 max 990), что обусловлено разной отягощенностью аллергологического анамнеза. У 85% пациентов (n=77) основной группы, несмотря на легкую степень тяжести течения заболевания отмечались изменения показателей ФВД (ОФВ1\ФЖЕЛ M=87) и КБФГ (в\ч M=0,19, ср\ч M=15, н\ч M=85,02).

3.3 II этап исследования

3.3.1 Оксид азота выдыхаемого воздуха

Всем пациентам из основной группы детей с БА при поступлении было проведено измерение оксида азота выдыхаемого воздуха (FeNO) при помощи портативного прибора «NObreath». Повторно FeNO оценивался через 3 месяца лечения.

Исходно, мы проанализировали взаимосвязь частоты обострений БА за последние 6 месяцев с показателями уровня FeNO до исследования. У детей в основной группе детей с частотой обострений 1-2 раза в год, FeNO составил

[Медиана(среднее)] [12,5(13)], у детей с частотой обострений 2-3 раза составил [32(33,2)]. Наиболее высокий показатель FeNO продемонстрировали дети, у которых частота обострений за последние 6 месяцев составила более 3 [45(51,8)]. Таким образом, прослеживается взаимосвязь частоты обострений и показателей FeNO. При анализе детей основной группы после их рандомизации на подгруппы А и В в зависимости от получаемой терапии, данная взаимосвязь сохранялась (Рисунок 10).

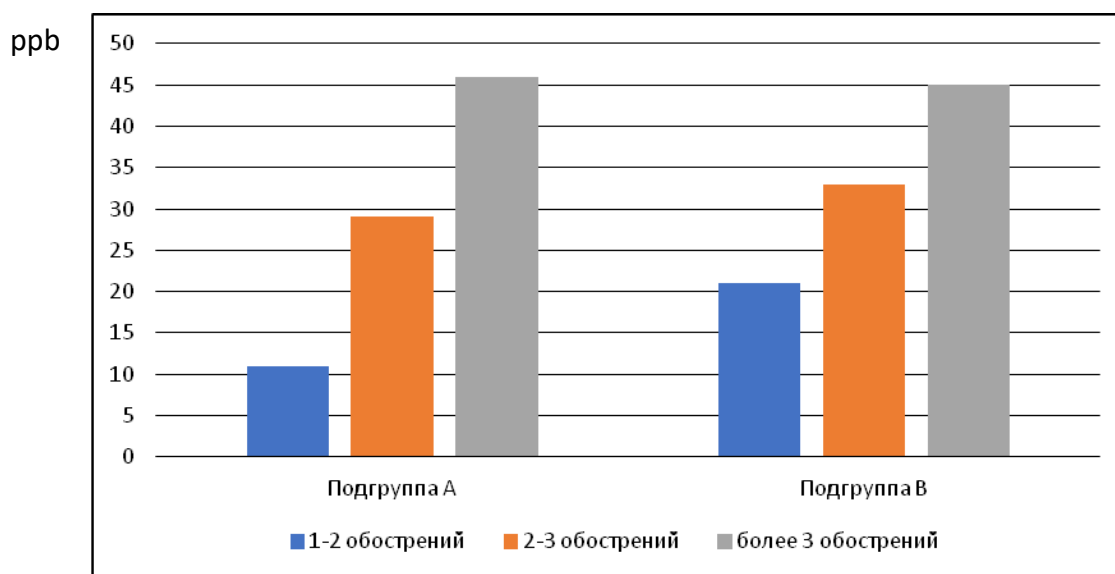


Рисунок 10 - Показатель FeNO и частоты обострений БА за 6 месяцев до начала исследования в подгруппах А и В

На основании последних рекомендаций Американского торакального сообщества (АТС), нормальными показателями уровня FeNO являются значения <20 ppb [79]. В соответствии с этими данными, мы выявили, что у большинства детей основной группы (56,6%) уровень FeNO был повышен (медиана 33 ppb), у 43,4 % детей уровень FeNO был в норме (медиана 10 ppb).

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

У детей I подгруппы с частичным контролем заболевания (тест ACQ-5 0,75-1,25) 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 7,5 ppb. Во II подгруппе, у детей с частичным контролем БА медиана FeNO была достоверно в 1,5 раза выше, чем в группе детей с полным контролем БА: 33,5 ppb и 22 ppb соответственно (Рисунок 11, Таблица 6).

Таблица 6 - Показатели FeNO до лечения у детей с частичным и полным контролем БА (ppb)

	M(Me) +/-s			
	Подгруппа I (<20 ppb)		Подгруппа II (>20 ppb)	
Общее 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 ($p < 0,05$)

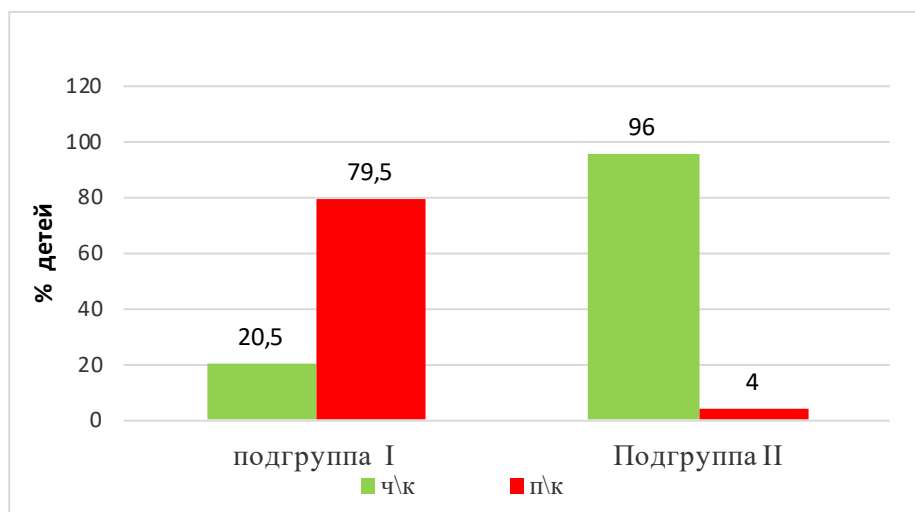


Рисунок 11- Распределение детей по уровню контроля заболевания в I и II подгруппах (%)

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, нормальные показатели наблюдались лишь у 20% детей, что вероятно связано с большим количеством детей с частично контролируемым течением. В подгруппе А медиана составила $9 \pm 6,4$, в подгруппе В- $14 \pm 5,8$ соответственно (Рисунок 12).

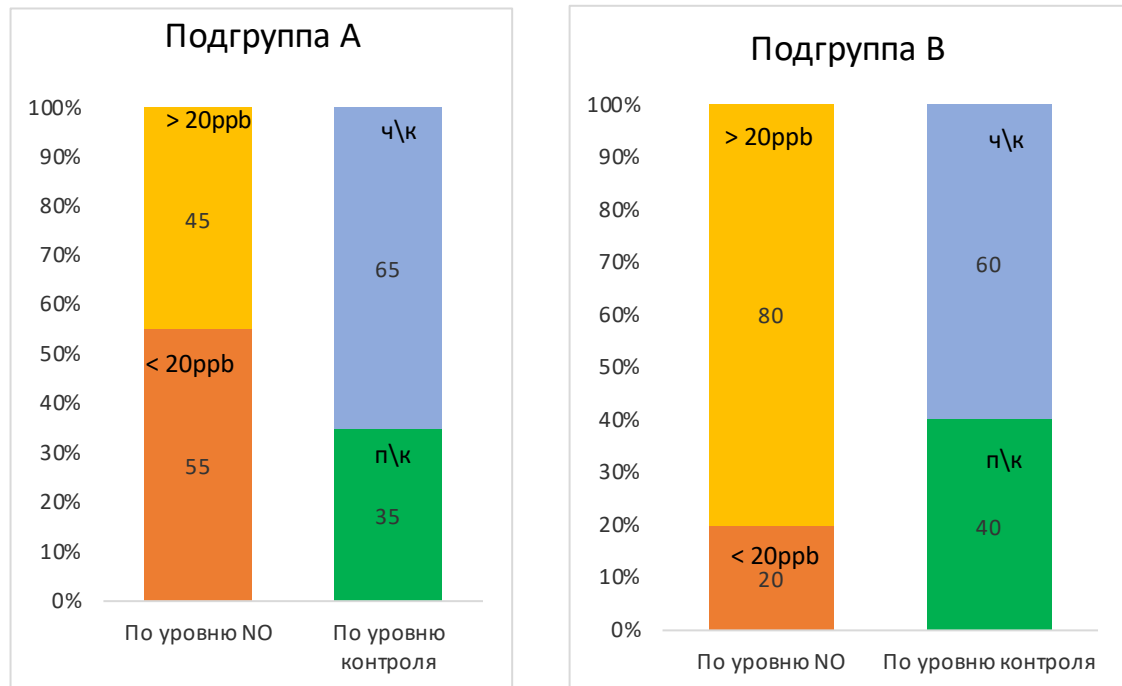


Рисунок 12 - Распределение пациентов в подгруппах А и В по уровню контроля заболевания и уровню NO

При анализе повышенных уровней FeNO, в подгруппе А у 45% детей медиана FeNO составила $33 \pm 21,3$, в подгруппе В- $32 \pm 15,1$ (Таблица 7, Рисунок 13).

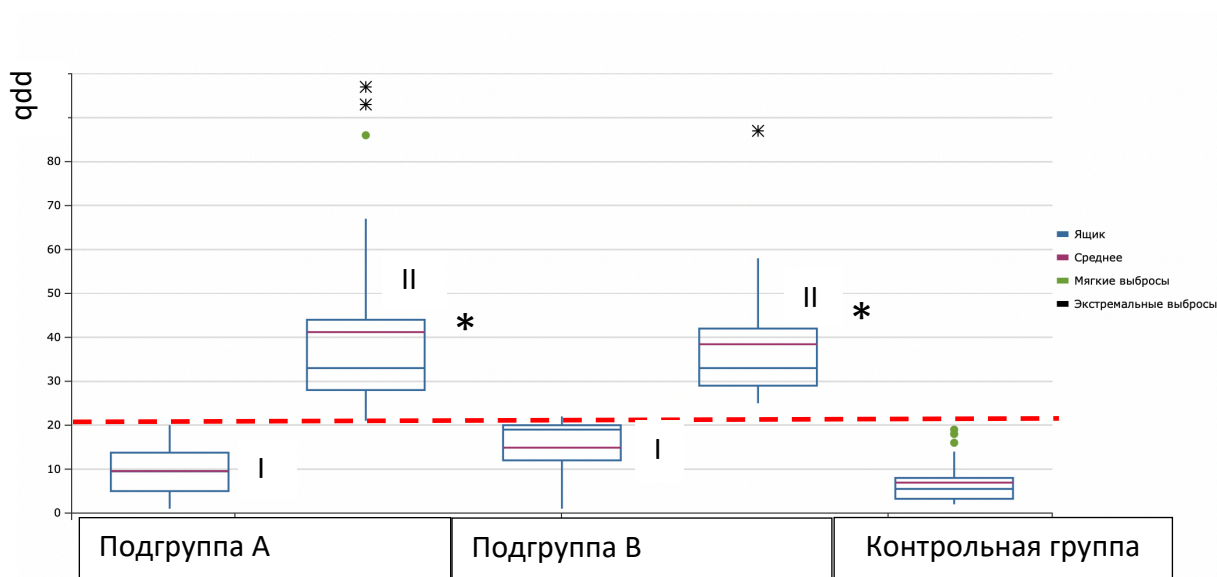


Рисунок 13 - Исходные показатели FeNO до лечения

*- достоверное различие по сравнению с исходными значениями NO ($p < 0,05$) I-FeNO < 20ppb, II-FeNO > 20ppb

Таблица 7 -Показатели FeNO в подгруппах А (n=60), В(n=30) до лечения

	X, (Me) +/-s			
	Подгруппа I <20ppb		Подгруппа II >20ppb	
Подгруппа А АЛР, n=60	9,2 (9) +/-6,4	55%	40,4(33) +/-21,3*,**	45%
Подгруппа В ИГСК, n=30	11,6 (14) +/-5,8	20%	36,29(32)+/15,1*,**	80%
Контроль	6,9 (5,5) +/-	100%		

* - достоверное различие по сравнению с пациентами с нормальными значениями NO в подгруппе ($p < 0,05$)

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

В течение 3х месяцев лечения все дети чувствовали себя удовлетворительно. Выраженных клинических обострений заболевания не отмечалось. 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 данного показателя до и после лечения было выявлено значительное снижение уровня FeNO в обеих подгруппах при отсутствии обострений БА.

В подгруппе А нормальные показатели оксида азота продемонстрировали 76,6% детей, медиана FeNO составила 10,5 ppb. После лечения АЛР повышенный уровень FeNO наблюдался только у 23,4% детей (Me= 28,6). В подгруппе В уровень FeNO нормализовался у 66,6%, медиана-16,5 ppb. Уровень FeNO остался повышен у 33,4% детей (Me=32), что вероятно связано с более высокими значениями FeNO до лечения (Таблица 8. Рисунок 14).

Таблица 8 - Динамика FeNO у детей, получавших 3х месячный курс лечения АЛР (подгруппа А) и ИГКС (подгруппа В)

	Норма после лечения		Повышен после лечения	
	X (Me)+/-s	%	X (Me)+/-s	%
Подгруппа А	11,19(10,5) +/-6,2*	76,6	29,8 (28,6) +/-4,7*	23,4
Подгруппа В	14,95(16,5) +6,33*	66,6	37,7 (32) +/-6,5*	33,4

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

ppb

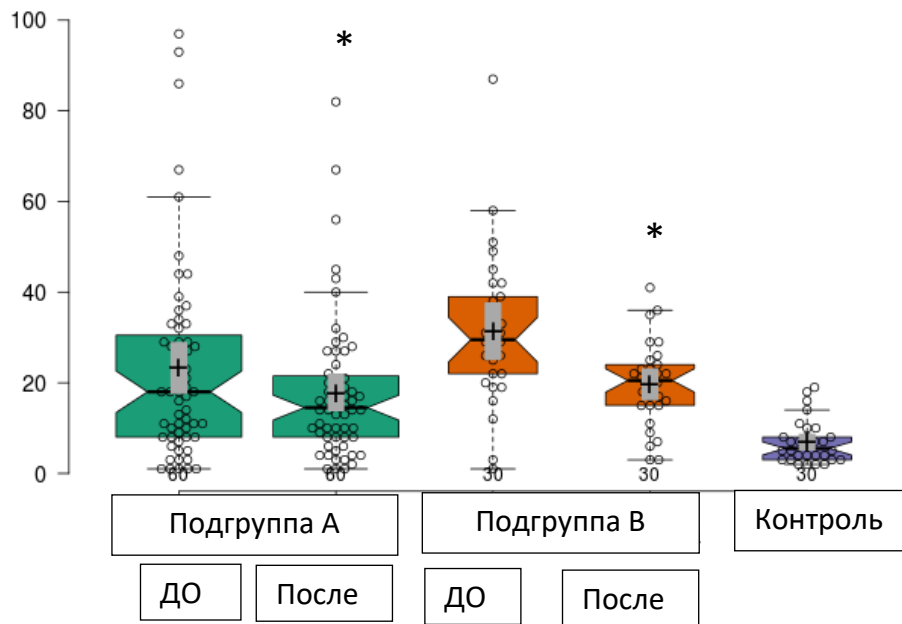


Рисунок 14 -Уровень FeNO до и после лечения во всех подгруппах А (АЛР) и В (ИГКС)

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

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 15).

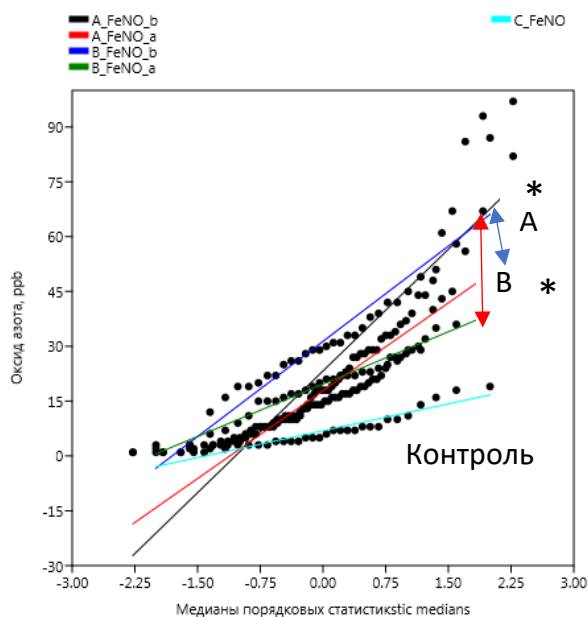


Рисунок 15 –Вероятностные графики динамики уровня оксида азота выдыхаемого воздуха в – до лечения, а – после лечения

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

3.3.2 Конденсат выдыхаемого воздуха

Всем пациентам с БА при поступлении был осуществлен забор КВВ при помощи конденсатора R-tube.

Как показали результаты исследований с применением радиоактивных изотопов, 85% от общего уровня NO-содержащих веществ в организме здорового человека составляют нитраты и нитриты, около 10% - мембраносвязанные соединения или S – нитрозосоединения [10, 18, 127]. Нитрат- и нитрит-анионы являются наиболее стабильными из указанных метаболитов. Считается, что в связи с нестабильностью NO, наибольшим процентом выхода из метаболизма NO обладают нитраты и нитриты. Уровень конечных метаболитов оксида азота, к которым относятся нитриты/нитраты, может служить маркером концентрации оксида азота в организме [10, 56]. Таким образом, для полной оценки метаболизма оксида азота по уровню его конечных стабильных метаболитов необходимо определение не только содержания нитрат-анионов и нитрит-анионов по отдельности, но и их суммарной концентрации [10] (Рисунок 16).



Рисунок 16- Схема метаболизма оксида азота [22]

Нами было проведено исследование таких метаболитов цикла оксида азота как нитрит- (NO₂⁻), нитрат (NO₃⁻) анионы, их суммарная концентрация (TNN- total concentration of nitrites and nitrates) и уровень 3-нитротирозина в КВВ. В ходе анализа КВВ было выявлено, что концентрация 3-нитротирозина была за пределами чувствительности методики определения <3,2 нМ.

В группе детей с полным контролем заболевания (по данным ACQ-5) достоверные различия между подгруппами I и II выявлены только для NO₃⁻ и TNN. У детей с частичным контролем БА обнаружено достоверное повышение уровней всех исследуемых метаболитов (NO₂⁻, NO₃⁻, TNN) в КВВ (Таблица 9, Рисунки 17,18,19).

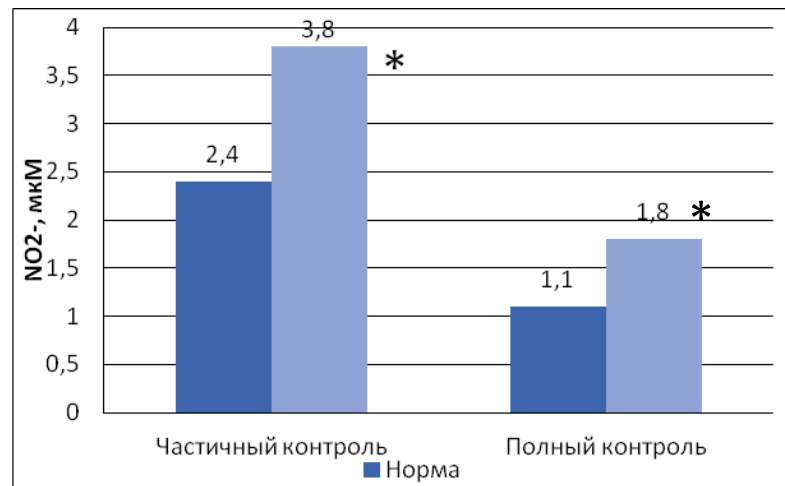


Рисунок 17 - Показатели NO₂- в КВВ до лечения у детей с БА

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

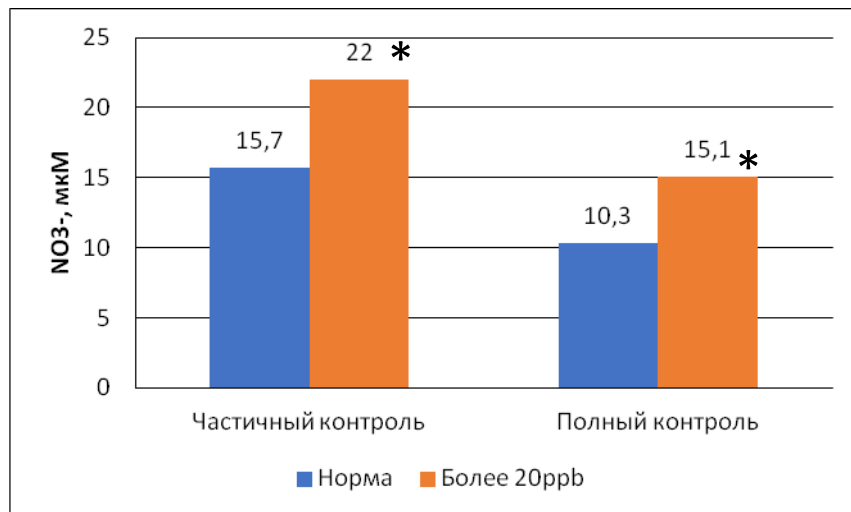


Рисунок 18 - Показатели NO₃- в КВВ до лечения у детей с БА

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

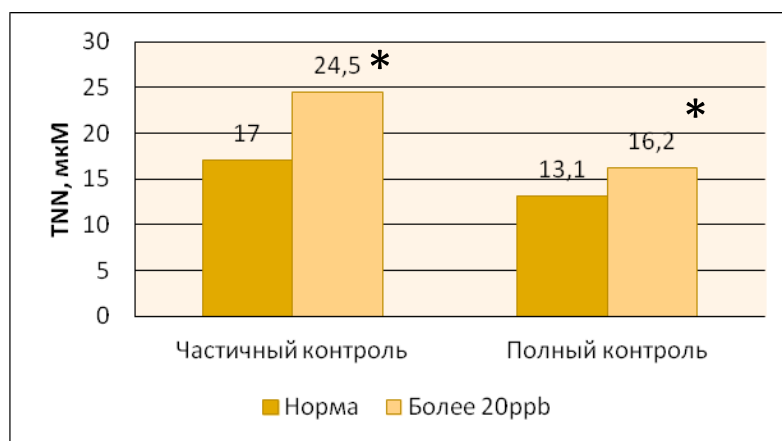


Рисунок 19 - Показатели TNN- в КВВ до лечения у детей с БА

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

Таблица 9 - 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

Таким образом, 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 обострения заболевания, несмотря на отсутствие объективной клинической симптоматики БА.

При оценке показателей стабильных метаболитов цикла оксида азота в КВВ на фоне проводимой терапии АЛР в подгруппе А и низкими дозами ИГКС в подгруппе В, были получены следующие результаты.

До лечения в подгруппе А 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. Показатели TNN и NO₃- достоверно превышали значения контрольной группы ($p=0,01$ и $p=0,011$, соответственно) после проведенной терапии. Показатели NO₂- и 3-нитротирозина достоверно не изменялись в ходе проводимой терапии (Таблица 10, Рисунок 20).

Таблица 10 - Показатели стабильных метаболитов цикла NO до и после лечения АЛР

		Подгруппа А (n=60), (АЛР)	
	Контроль	До лечения	После лечения
TNN (мкМ)	8,6+/-4,1	18,1+/-4,9*	14,5+/-6,1**,*
NO ₃ - (мкМ)	6,8+/-2,3	15,3+/-4,0*	12,5+/-3,8**,*
NO ₂ - (мкМ)	1,8+/-1,3	2,8+/-1,8	2,0+/-1,5
Концентрация 3-нитротирозина (нМ)	<3,2	<3,2	<3,2

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

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

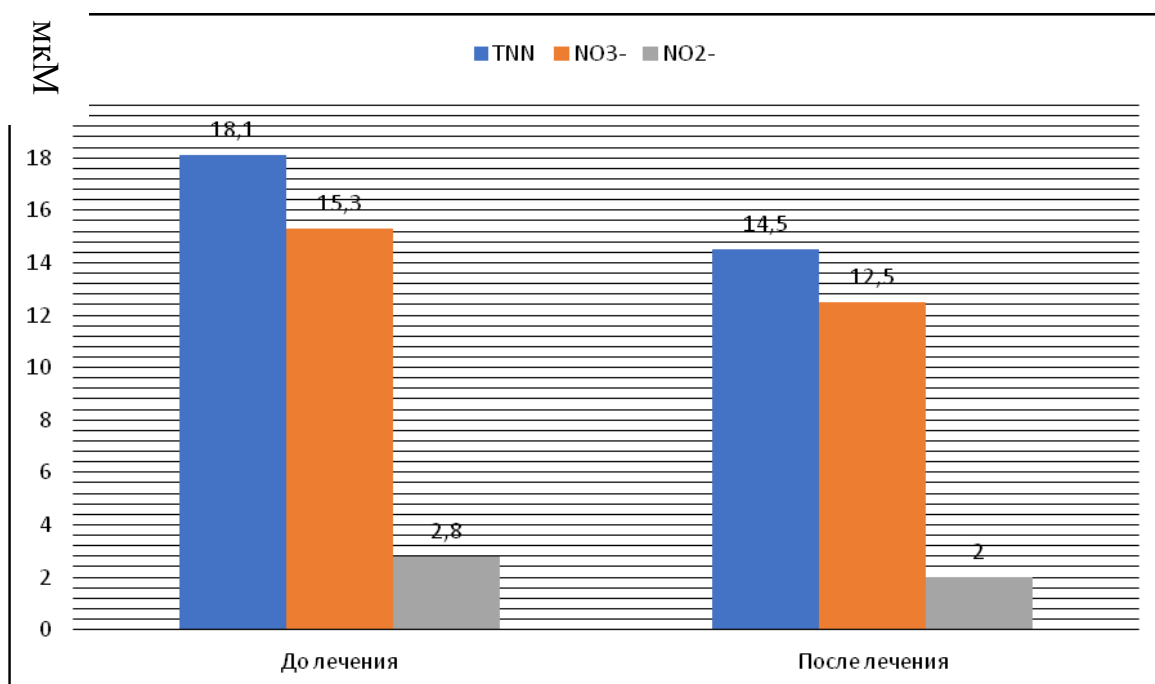


Рисунок 20 - Динамика концентрации метаболитов NO на фоне лечения АЛР

У детей с БА, получавших ИГКС до лечения обнаружено достоверное превышение концентрации TNN и NO₃- в КВВ по сравнению с 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 (Таблица 11, Рисунок 21).

Таблица 11 - Показатели стабильных метаболитов цикла NO до и после лечения ИГКС

	Контроль	Подгруппа В (n=30) Ингаляционные глюкокортикостероиды	
		До лечения	После лечения
TNN(мкМ)	8,6+/-4,1	23,4+/-7,9*	13,5+/-7,2**, *
NO ₃ - (мкМ)	6,8+/-2,3	20,3+/-4,9*	11,3+/-4,8**, *
NO ₂ - (мкМ)	1,8+/-1,3	3,1+/-1,9	2,2+/-1,8
Концентрация 3-нитротирозина (нМ)	<3,2	<3,2	<3,2

* - достоверное различие по сравнению контрольными значениями NO (p<0,05)

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

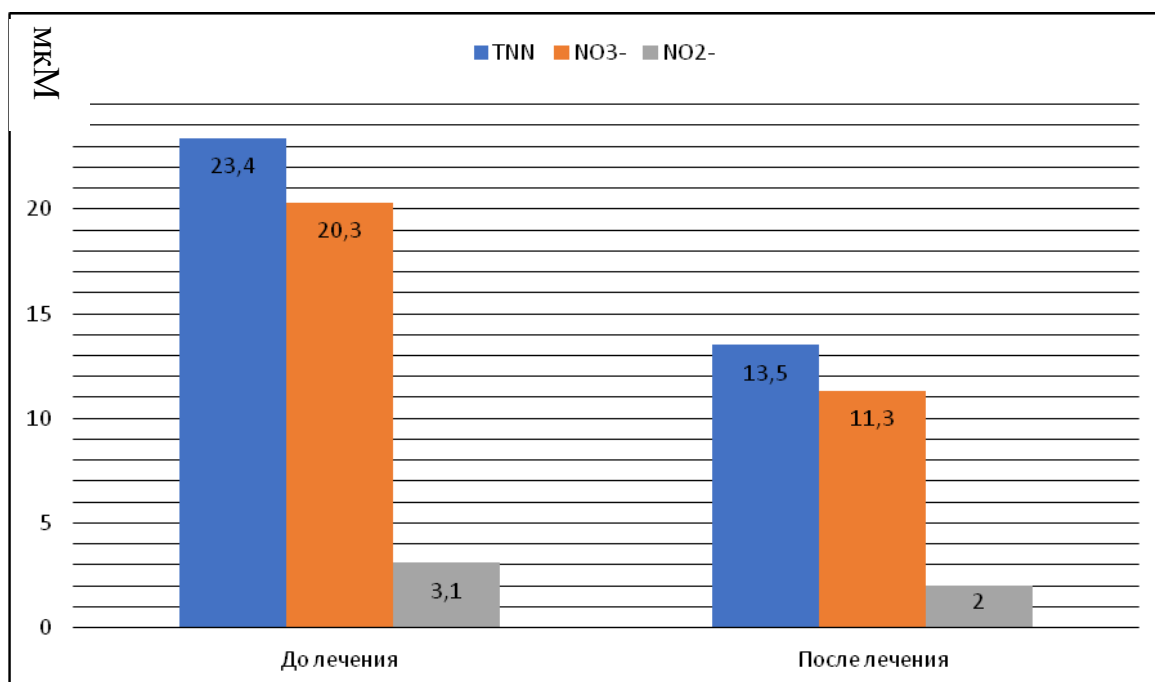


Рисунок 21 - Динамика концентрации метаболитов NO на фоне лечения ИГКС

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.

3.4 Анализ корреляционных взаимосвязей оксида азота выдыхаемого воздуха у детей с легкой бронхиальной астмой

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 ФВД: (ОФВ1, ОФВ1\ФЖЕЛ), 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 ($r > 0,317$, $p < 0,005$) (Таблица 12).

Таблица 12 - Корреляционные взаимосвязи FeNO до лечения АЛР

		FeNO	
		r	p
ФВД	ОФВ1 %	-0,378	0,003
	ОФВ1\ФЖЕЛ %	-0,589	0,001
КБФГ	ср\ч	0,317	0,005

Исходно у 36,6% детей основной группы было установлено полностью контролируемое течение заболевания, у 63,4%-частично контролируемое течение. 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.

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 более тяжелым проявлением 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 13).

Таблица 13 - Корреляционные взаимосвязи FeNO в группе детей с БА, получавших АЛР после 3х месяцев терапии

		FeNO	
		r	p
ФВД	ОФВ1 %	-0,343	0,007
	Индекс Тиффно %	-0,378	0,003
IgEобщий		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 22 представлена визуализация корреляционных взаимосвязей между всеми измеренными показателями до и после лечения. Обращает на себя внимание, что относительно более тесная взаимосвязь, статистически значимая на уровне 0,01 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.

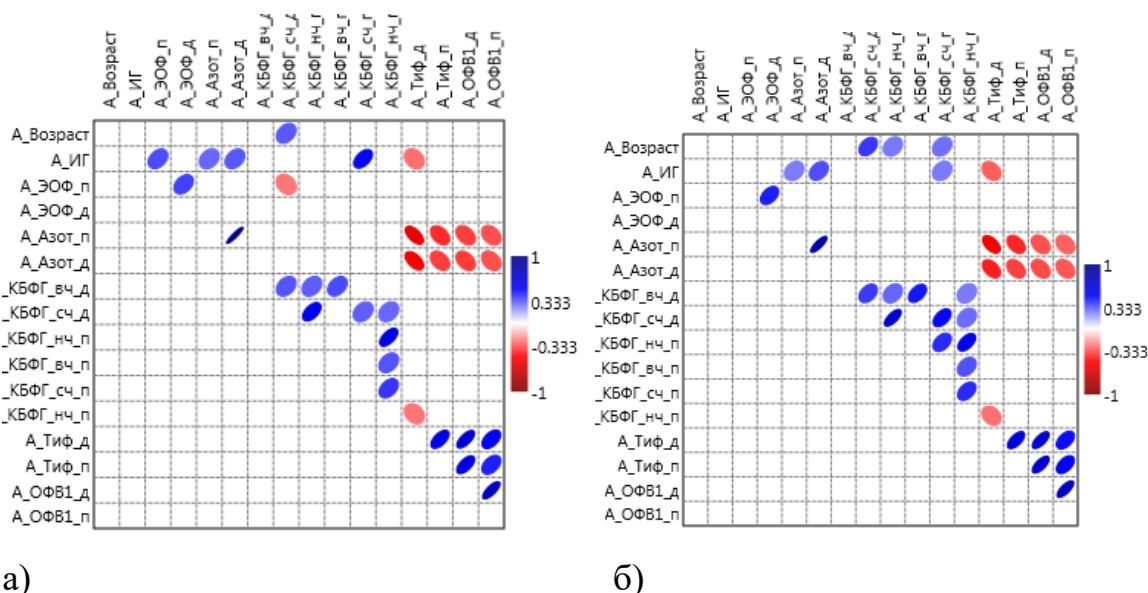


Рисунок 22 - Диаграммы корреляционной матрицы коэффициентов корреляции Пирсона (а) и Спирмена (б) для группы детей с БА, получавших АЛР (Синим цветом обозначены прямые корреляционные взаимосвязи, красным-обратные. Чем более вытянут эллипс и чем более насыщен цвет, тем корреляционная взаимосвязь более сильная)

Для группы детей, получавших низкие дозы ИГКС, при помощи коэффициентов ранговой корреляции исходно были выявлены 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 может служить маркером сохраняющегося воспаления. При этом, выявленная положительная корреляционная взаимосвязь только между концентрацией TNN и NO₃- ($r = 0,68$, $p = 0,02$), также свидетельствует о наличии воспаления на фоне нарушения цикла NO.

После курса ИГКС была обнаружена обратная корреляционная взаимосвязь 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 (Рисунок 23).

У пациентов после проведенной терапии 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 показывают, что на фоне терапии ИГКС также нормализуется взаимоотношение участников цикла NO.

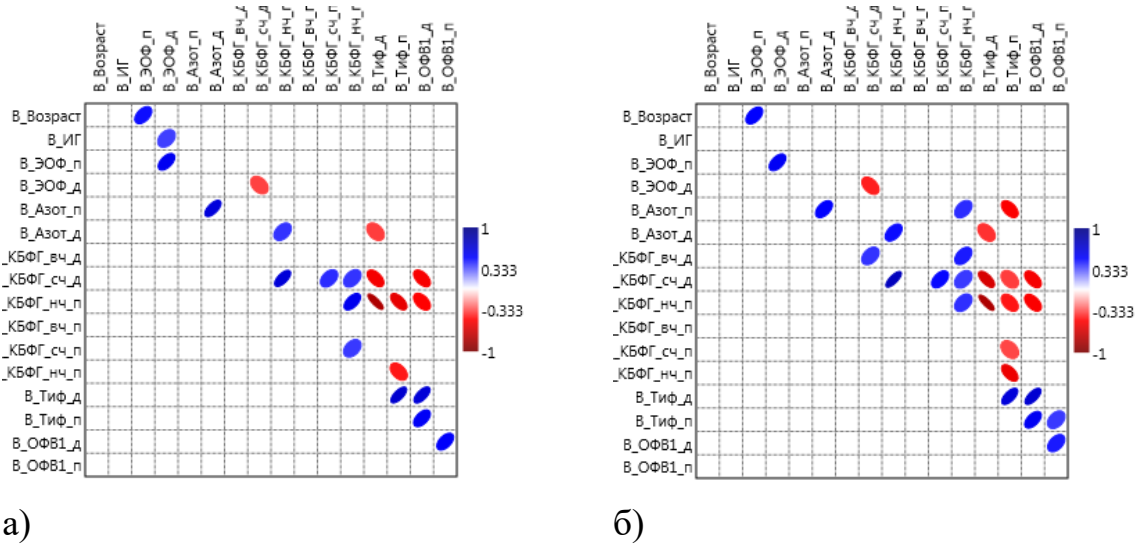


Рисунок 23 – Диаграммы корреляционной матрицы коэффициентов корреляции Пирсона (а) и Спирмена (б) для группы детей с БА, получавших ИГКС в течение 3 месяцев (Синим цветом обозначены прямые корреляционные взаимосвязи, красным-обратные. Чем более вытянут эллипс и чем более насыщен цвет, тем корреляционная взаимосвязь более сильная)

3.5 Клинические примеры

Пример №1

Пациент Д., 14 лет

Anamnesis vitae

Мальчик от беременности, протекавшей на фоне токсикоза в I триместре. От оперативных родов в срок. Вес при рождении 3520г, рост 51см. Грудное вскармливание до 2х лет. Психомоторное развитие по возрасту. Привит по календарю, без реакций. Реакция Манту 2010г. - 5 мм, 2011г. 7 мм, 2015г.- 7 мм, 2017г.- 8 мм. Детские инфекции: ветряная оспа в 7 лет. Аллергоанамнез: пищевой

и медикаментозной аллергии не выявлено. Проявления риноконъюнктивального синдрома при цветении березы. При контакте с шерстью кошки кашель, затруднение дыхания. Перенесенные заболевания: ОРВИ, обструктивные бронхиты, внебольничная правосторонняя пневмония (2012г.). Семейный анамнез: у мамы аллергия на шерсть животных, у старшей сестры БА. Жилищные условия: домашних животных нет, курящих в квартире нет, подушка и одеяло-синтетические, книги на открытых полках, много комнатных растений, ковров-2 шт, есть очиститель и увлажнитель воздуха.

Anamnesis morbi

С 1 года жизни явления атопического дерматита. В лечении использовали антигистаминные препараты, эмоленты, мази с глюкокортикостероидом. С 2х лет мальчик начал посещать ДДУ, после чего стал часто болеть респираторными заболеваниями с бронхиальной обструкцией, клинически проявлявшейся приступообразным кашлем, дистанционными хрипами, эпизодами затрудненного дыхания. В комбинированной терапии ингаляции Будесонида+Ипратропия бромид/фенотерол через небулайзер с положительным эффектом. Практически каждое обострение получал антибактериальную терапию до 5-6 раз в год. В 5 лет проходил стационарное лечение, в ходе которого мальчику была диагностирована бронхиальная астма. В качестве базисной терапии рекомендован фликсотид 100 мкг/сут, который получал в течение 2х лет, с положительным эффектом. Обострения БА возникали 1 раз в 3-5 месяцев, преимущественно после контакта с причинно-значимым аллергеном (у бабушки дома живет кошка) и на фоне респираторных инфекций. С 2015 года базисную терапию не получает, постоянно беспокоит аллергический круглогодичный ринит (применяет сосудосуживающие препараты, мометазон с положительным эффектом). Обострения БА сохраняются до 3-4раз в год, купируются ингаляциями Будесонида +Ипратропия бромид/фенотерол короткими курсами 2-3 недели. Последнее обострение за 1 месяц до поступления.

Status praesens

ЧСС 82-84 в мин ЧД 18-20 в мин АД 117/60 мм.рт.ст. Т 36,0 Вес 46 кг, рост 161 см. При осмотре состояние средней степени тяжести по основному заболеванию. Самочувствие удовлетворительное. Сознание ясное, положение активное. Не лихорадит. Носовое дыхание умеренно затруднено, слизистое отделяемое. В зеве застойная гиперемия дужек, небные миндалины не гипертрофированы, налетов нет. Кожные покровы бледные, чистые, сухие, периорбитальные тени. В легких дыхание жесткое, проводится во все отделы равномерно, выслушиваются единичные сухие свистящие хрипы при форсированном дыхании. Тоны сердца звучные, систолический шум на верхушке. Живот мягкий, симметричный, доступен глубокой пальпации, безболезненный во всех отделах. Печень у края реберной дуги, селезенка не увеличены. Физиологические отправления в норме.

Результат теста ACQ-5: 0,65, что расценивается как контролируемое течение

Общий анализ крови: гемоглобин 133 г/л; тромбоциты: $284 \cdot 10^9$ /л; эритроциты: $5,19 \cdot 10^{12}$ /л; лейкоциты: WBC: $5,6 \cdot 10^9$ /л; СОЭ Панч.: 6 мм/час; Цветовой показатель: 0,88, Эозинофилы: 6,7 %;

Биохимический анализ крови: IG A: 1,31 г/л; IG G: 9,6 г/л; IG M: 0,6 г/л; АЛТ: 14 ед/л; АСТ: 21 ед/л; Белок общий: 66 г/л; Билирубин общий: 27,2 мкмоль/л; Билирубин прямой: 9,8 мкмоль/л; Глюкоза: 4,4 ммоль/л;

Аллергологическое обследование: IgE: 267 МЕ/мл (норма до 60), специфический IgE: 4 + к эпидермису и шерсти собаки и кошки, IgE 3+ пыльца березы, ольхи, лещины.

Спирограмма с сальбутамолом (200мкг): FEV1 85-91 % (+6 %); FVC – 84 -89 % (+6 %), FEV1\FVC 82-86(5)%, PEF 78-80 % (+2 %); FEF50 79-84 (+5%).

Компьютерная бронхофонография: АКРД в высокочастотном (0,1мкДж) и среднечастотном (9мкДж) диапазонах в пределах референсных значений, в низкочастотном диапазоне отмечается повышение показателя до 110мкДж, после сальбутамола без динамики.

Rg-графия органов грудной клетки: на рентгенограмме легких в прямой проекции видимые легочные поля вздуты без очаговых и инфильтративных теней. Легочный рисунок усилен за счет сосудистого компонента в базально-медиальных отделах. Корни легких не расширены, структурны. Реберно-диафрагмальные синусы свободны. Диафрагма расположена обычно с обеих сторон контуры четкие. Тень сердца не расширена, конфигурация не изменена.

Rg-графия придаточных пазух носа, глазницы, скуловой кости, нижней челюсти, костей носа, носоглотки: на рентгенограмме придаточных пазух носа лобные пазухи пневматизированы. Верхнечелюстные пазухи пристеночно затемнены с валовидным утолщением слизистой. Носовые раковины утолщены. Костно-травматических изменений не определяется.

Исследование FeNO при поступлении: 38ppb

Исследование FeNO через 14 дней: 31ppb-28-ppb-30ppb

Исследование метаболитов NO в КВВ: NO₂- 1,0 мкМ, NO₃- 13,1мкМ, TNN 15,0 мкМ

Клинический диагноз: Бронхиальная астма, аллергическая, легкая, контролируемое течение.

Сопутствующий диагноз: Аллергический ринит, персистирующий, обострение.

Проводимая терапия: Флутиказон 125мкг по 1 дозе 2р/д, Мометазон 50мкг по 1 дозе 2р/д интраназально, промывание полости носа солевыми растворами 3-4р/день

Заключение:

Несмотря на отсутствие жалоб на кашель, одышку, затрудненное дыхание на момент поступления, показатели FeNO превышали нормальные значения, в то время как показатели метаболитов NO в КВВ находятся в пределах референсных значений. Учитывая повышенные показатели FeNO, ребенку была назначена базисная терапия в виде низких доз ИГКС курсом на 3 месяца. Через 3 месяца пациент был повторно обследован, уровень FeNO нормализовался, его значения составили: 23ppb-20ppb-19ppb, что говорит о значительном снижении уровня оксида азота выдыхаемого воздуха и коррелирует с улучшением параметров ФВД (FEV1 85-94%, FVC 84-91%) и КБФГ (с\ч9мкДж-2мкДж). Динамика исходных значений и показателей через 3 месяца говорит об уменьшении напряженности нитрозивного стресса в ходе лечения. Показатели метаболитов КВВ оставались в пределах референсных значений. У данного пациента отмечается контролируемое течение заболевания по данным опросника АСQ-5. Применение ИГКС в качестве препаратов для ежедневного контроля персистирующей легкой астмы профилактирует возникновение обострений, улучшает легочную функцию, уменьшает потребность в препаратах скорой помощи, а также снижает количество госпитализаций по поводу обострений астмы.

Пример №2

Пациент И., 9 лет

Anamnesis vitae

Мальчик от физиологически протекавшей беременности, роды в срок, путем Кесарева сечения. Вес при рождении 3100г, рост 50 см. На искусственном вскармливании с рождения. Рос и развивался в соответствии с возрастом. Привит по календарю. Аллергоanamnez: с апреля по июнь отмечается течение риноконъюнктивального синдрома (РКС). Наследственность: у бабушки по материнской линии-отек Квинке при употреблении рыбы, у старшего брата-

тяжелая бронхиальная астма. Жилищные условия: ковров, цветущих растений нет, подушка и одеяло синтетические, дома живет кот.

Anamnesis morbi

С 4 лет в весенне-летний период (апрель-июнь) отмечается выраженный РКС. Получал курсами антигистаминные препараты с положительным эффектом. С 5 лет в этот же период стал отмечать появление приступообразного кашля, свистящего, затрудненного дыхания, одышку при физической нагрузке. В лечении использовал ингаляции пульмикорта и беродуала с положительным эффектом. После консультации аллерголога выставлен диагноз: бронхиальная астма, легкое течение. Назначен монтелукаст в дозе 5 мг/сут. На фоне приема препарата обострений заболевания не отмечалось. Принимал препарат курсами по 6 месяцев в течение 2х лет. Последний год базисную терапию не получал. Однако при физической нагрузке отмечается приступообразный кашель, одышка.

Общий анализ крови: гемоглобин 169 г/л; тромбоциты: $180 \cdot 10^9$ /л; эритроциты: $5,58 \cdot 10^{12}$ /л; лейкоциты: WBC: $6,5 \cdot 10^9$ /л; СОЭ Панч.: 2 мм/час; Цветовой показатель: 0,91, Эозинофилы: 4,3 %;

Биохимический анализ крови: АЛТ: 27 ед/л (N 10-40); АСТ: 24 ед/л (N 0-50); Белок общий: 67 г/л (N 57-80); Билирубин общий: 10,8 мкмоль/л (N 5-21); Глюкоза: 4,5 ммоль/л (N 3,5-5,6).

Иммунологическое исследование: IG A: 3,43 г/л (N 0,7-4); IG G: 10,7 г/л (N 7-16); IG M: 0,51 г/л (N 0,4-2,3);

Аллергологическое обследование: IgE общий (ИФА): >500 МЕ/мл (N 20-100); Ig E специфические: Арахис- Умеренный; Береза- Очень высокий, Ежа- Умеренный; Лесной орех- Низкий.

Rg-графия органов грудной клетки: на рентгенограмме легких в прямой проекции видимые легочные поля вздуты без очаговых и инфильтративных теней. Легочный рисунок усилен за счет сосудистого компонента в базально-медиальных отделах. Корни легких не расширены, структурны, неоднородно уплотнены. Реберно-диафрагмальные синусы свободны. Диафрагма расположена

обычно с обеих сторон контуры четкие. Тень сердца не расширена, конфигурация не изменена.

Rg-графия придаточных пазух носа, глазницы, скуловой кости, нижней челюсти, костей носа, носоглотки: на рентгенограмме придаточных пазух носа правая лобная пазуха пневматизирована, левая лобная пазуха со сниженной пневматизацией. Верхнечелюстные пазухи пристеночно затемнены с валообразным утолщением слизистой больше справа. Носовая перегородка расположена срединно. Носовые раковины утолщены.

Спирограмма: FEV108-113(5)%, FVC 108-108(0)%, FEV\FVC 82-86(5)%, PEF 103-98(-5)%, FEF25 108-112(4)%, FEF50 85-114(33)%, FEF75 75-92(23)%

Результат теста ACQ-5: 0,65, что расценивается как контролируемое течение.

Компьютерная бронхофонография: АКРД: в норме в высокочастотном (0,05мкДж) и среднечастотном (4,3мкДж) диапазонах, в низкочастотном диапазоне отмечается повышение показателя до 124 мкДж, после сальбутамола без динамики.

Исследование FeNO при поступлении: 27ppb

Исследование метаболитов NO в КВВ: NO₂- 1,1 мкМ, NO₃- 12,9 мкМ, TNN 14,2 мкМ

Клинический диагноз: Бронхиальная астма, аллергическая, легкая, контролируемое течение.

Сопутствующий диагноз: Аллергический ринит, персистирующий, обострение.

На момент поступления ребенка беспокоил приступообразный кашель и одышка при физической нагрузке, а также сезонные обострения заболевания, которые купировались короткими курсами ингаляций Будесонида+Ипратропия+бромид\фенотерол. Показатели FeNO незначительно превышали нормальные значения, а показатели метаболитов NO в КВВ находились в пределах референсных значений.

Ребенку была назначена базисная терапия Монтелукастом в дозе 5мг/сут курсом на 3 месяца. Через 3 месяца был повторно измерен уровень FeNO, значения которого составили: 23ppb-22ppb-25ppb, что говорит о возможно сохраняющемся минимальном персистирующем воспалении в дыхательных путях несмотря на отсутствие жалоб и нормализацию показателей ФВД и КБФГ. Показатели метаболитов КВВ оставались в пределах референсных значений. На фоне проводимого лечения, кашель, одышка и эпизоды затрудненного дыхания при физической нагрузке исчезли, носовое дыхание оставалось свободным. В связи с тем, что FeNO не достиг уровня нормальных значений, базисную терапию было рекомендовано продлить до 6 месяцев. При повторном измерении показателей FeNO через 6 месяцев была отмечена нормализация уровня оксида азота выдыхаемого воздуха, обострений заболевания не отмечалось.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ), относит БА к числу серьезных неинфекционных заболеваний. БА болеют люди всех возрастов, и это самая распространенная хроническая болезнь в мире среди детей [ВОЗ].

Астма легкого течения преобладает в общей популяции детей с БА. Несмотря на то, что у 80 % детей заболевание протекает легко, как правило, предрасположенность к обострениям, в том числе к средне-тяжелым, сохраняется. Доказано, что контроль воспаления с помощью базисной противовоспалительной терапии позволяет достичь хорошего результата терапии и уменьшить риск последующих обострений. При оценке контроля БА следует ориентироваться не только на контроль клинической симптоматики, но и на комплайнс пациента по выполнению рекомендаций по лечению и по элиминации триггерных факторов. Достижение хорошего клинического контроля над БА позволяет снизить риск обострений [88].

Выделяют БА с неконтролируемым, частично и полностью контролируемым течением. Считается, что у детей, у которых удалось достичь полного контроля, терапия минимизируется или отменяется. Однако, вне зависимости от тяжести и контроля, БА является хроническим заболеванием, в основе которого лежит воспаление неинфекционного генеза, носящее персистирующий характер и сохраняющееся в интервалах между обострениями. Минимизация воспаления в дыхательных путях имеет большое значение для прогноза и определяет соответствующие подходы к диагностике, лечению и профилактике.

Именно поэтому так важно изучение воспалительных и патофизиологических маркеров воспаления, которые являются предикторами риска обострений и снижения функции легких независимо от уровня клинического контроля [97,111].

Согласно GINA(2021) и национальной программе «Бронхиальная астма у детей «Стратегия лечения и профилактика» (2017-2021г) известен целый ряд

биологических маркеров БА (IgE в сыворотке крови, эозинофилы крови и мокроты, эозинофильная пероксидаза, эозинофильный катионный протеин, интерлейкины IL-2, IL-4, IL-5 в сыворотке крови и лаважной жидкости бронхов).

Бронхоскопия с биопсией и анализом бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) является золотым стандартом исследования воспаления дыхательных путей, но в связи со своей инвазивностью, применение данного метода у детей ограничено, тем более при нетяжелых вариантах течения [48]. Еще одним методом изучения воспаления дыхательных путей является анализ индуцированной мокроты. Анализ индуцированной мокроты менее инвазивен, чем бронхоскопия, однако это технически сложная процедура, зависящая от множества факторов, и может быть использована только у детей старше 8 лет. Кроме этого, большинство детей с БА не выделяют достаточное для исследования количество мокроты, что создает трудности в регулярном исследовании при ведении пациентов с БА [136]. Одним из наиболее изученных маркеров являются эозинофилы в крови. Однако их количество достаточно вариабельно и объективно не отражает степень воспаления в дыхательных путях. IgE в крови является одним из основных биомаркеров БА, однако на него влияют такие факторы как возраст, пол и раса. Эффект лечения анти- IgE терапией может уменьшить показатели IgE и реактивность кожных тестов. Таким образом, несмотря на достаточно большое количество биомаркеров, маркеры, которые могут использоваться в реальной практике у детей и объективно отражать воспаление малочисленны.

На сегодняшний день, важнейшее практическое и научное значение имеет концентрация оксида азота в выдыхаемом воздухе и его стабильных метаболитов, которые отражают степень воспаления в дыхательных путях. Применение инновационных, чувствительных и неинвазивных методов исследования (определение NO выдыхаемого воздуха и маркеров нитрозивного стресса в конденсате выдыхаемого воздуха), может быть использовано для диагностики и мониторинга воспалительных изменений в респираторной системе и контроля терапии. Однако, в настоящее время в научной литературе данные о подобных исследованиях при БА легкого течения малочисленны. Роль данных маркеров в

определении прогноза заболевания и тактики ведения пациента может быть очень важна, так как не только дает возможность оценить достигнутый эффект терапии, но и позволяет прогнозировать длительность терапии, мониторировать воспалительный процесс. Нашей задачей было изучить данные биомаркеров с целью предотвращения риска обострений и минимизации воспаления дыхательных путей у детей с легким течением БА.

В нашей работе впервые на репрезентативной выборке у детей с БА легкого течения проведено исследование метаболизма и цикла NO в выдыхаемом воздухе и в конденсате выдыхаемого воздуха. NO, обнаруживаемый в выдыхаемом воздухе, является сигнальной молекулой, выполняющей функции вазо- и бронходилататора. В настоящее время компоненты метаболизма NO объединены в цикл NO, который является сложнорегулируемой системой, включающий в себя NO-синтазную и NO-синтазанезависимую составляющую его синтеза, а также сопутствующий каскад окислительно-восстановительных реакций. Метаболиты NO, такие как 3-нитротирозин (3-NT), нитрит и нитрат, могут служить маркерами оксидативного стресса.

Нами изучалось влияние терапии низкими дозами ИГКС и АЛР на состояние нитрозивного статуса у детей с легкой БА. Впервые были проанализированы корреляционные взаимосвязи параметров нитрозивного стресса со стандартными маркерами воспаления, с показателями функции внешнего дыхания и данными компьютерной бронхофонографии.

На первом этапе нашей работы было выявлено, что у детей с установленной БА легкого течения, несмотря на отсутствие клинической симптоматики на момент проведения исследования (кашель, одышка, затрудненное дыхание, хрипы в легких), показатели оксида азота выдыхаемого воздуха были выше нормальных значений у 56,6% пациентов. Причем у детей с частичным контролем заболевания (тест ACQ-5 0,75-1,25) показатели FeNO были в два раза выше по сравнению с детьми с полным контролем заболевания. При анализе уровней NO₂-, NO₃- и TNN в конденсате выдыхаемого воздуха было выявлено достоверное повышение данных параметров у пациентов с частично контролируемым течением БА, в то

время как при полном контроле заболевания данные показатели находились в пределах референсных значений. Таким образом, более выраженная напряженность нитрозивного стресса выявлена у пациентов с частично контролируемой БА, что подтверждается повышенными значениями метаболитов цикла NO в этой группе.

Полученные нами данные свидетельствует о сохраняющемся воспалении в дыхательных путях несмотря на отсутствие клинической симптоматики заболевания. Таким образом данные неинвазивных и чувствительных маркеров нитрозивного стресса могут быть использованы для мониторинга воспалительных изменений в дыхательных путях, что улучшит контроль заболевания и качество жизни пациентов.

При оценке инструментальных методов исследования (ФВД и КБФГ) у детей с легким течением БА было установлено, что показатели ФВД (ОФВ1 и индекс Тиффно) могут быть в норме и коррелируют с уровнем оксида азота выдыхаемого воздуха (обратная корреляционная взаимосвязь между индексом Тиффно и уровнем FeNO ($r > -0,589$, $p < 0,001$), уровнем FeNO и ОФВ1 ($r > -0,378$, $p < 0,003$), в то время, как показатели КБФГ, как более чувствительного метода, в диапазонах (высокочастотный и низкочастотный), характеризующих наличие или отсутствие обструкции в дыхательных путях могут оставаться повышенными. Нами была установлена прямая корреляционная взаимосвязь между АКРД в среднечастотном диапазоне и FeNO ($r 0,317$, $p < 0,005$). Данный факт так же свидетельствует о наличии сохраняющегося воспалительного процесса в дыхательных путях, несмотря на отсутствие клинической симптоматики и нормальные показатели ФВД.

На втором этапе исследования, после анализа показателей уровня FeNO у детей с легкой БА, получивших трехмесячный курс лечения низкими дозами ИГКС или АЛР у большинства пациентов (76,6%) было отмечено снижение показателей уровня FeNO до контрольных значений, что коррелировало с улучшением параметров ФВД и КБФГ и говорит об уменьшении напряженности нитрозивного стресса в ходе лечения. При анализе показателей NO₂-, NO₃- и

TNN в конденсате выдыхаемого воздуха после лечения АЛР, было отмечено достоверное снижение показателей TNN (с 18,1мкМ до 14,4мкМ) и NO₃- (15,3мкМ до 12,5мкМ) ($p=0,002$ и $p=0,001$, соответственно). В группе детей, получавших ИГКС отмечалось более выраженное снижение показателей TNN (с 23,4 мкМ до 13,5мкМ) и NO₃- (с 20,3мкМ до 11,3мкМ) ($p=0,002$ и $p=0,001$, соответственно). Обращает на себя внимание более выраженное снижение уровня FeNO и его стабильных метаболитов в группе детей получавших ИГКС.

Полученные данные согласуются с данными клинических рекомендаций по лечению БА [GINA 2021]. Благодаря противовоспалительной активности, ингаляционные кортикостероиды являются наиболее эффективными препаратами и рекомендованы в качестве препаратов первой линии терапии для контроля бронхиальной астмы любой степени тяжести в виде монотерапии или в составе комбинации. Применение ИГКС в качестве препаратов для ежедневного контроля персистирующей астмы облегчает симптомы и улучшает легочную функцию, уменьшает потребность в препаратах скорой помощи и частоту обострений, а также снижает количество госпитализаций по поводу обострений астмы у детей всех возрастов и улучшает качество жизни. У пациентов, ранее не получавших лечения, в качестве стартовой терапии рекомендовано назначение монотерапии низкими дозами ИГКС [3].

АЛР рекомендованы как препараты второго выбора после ИГКС в низких дозах. Они являются эффективными для облегчения симптомов и улучшения лёгочной функции, а также профилактики обострений астмы у детей с двухлетнего возраста, включая обострения, спровоцированные вирусной инфекцией у детей 2–5 лет [3]. АЛР обеспечивают эффективную защиту от бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой и особенно эффективны у пациентов, страдающих сопутствующим аллергическим ринитом. Однако при применении АЛР могут отмечаться такие побочные эффекты как тошнота, боль в животе, повышение ферментов печени, апатия, вялость и тд. В нашем исследовании аллергический ринит был у 87% детей ($n=52$), получавших АЛР, где мы также отметили улучшение течения заболевания.

При оценке эффективности проводимой терапии нами было установлено, что у 33% детей, получавших низкие дозы ИГКС и у 23% детей, получавших АЛР через 3 месяца после лечения уровень FeNO сохранялся повышенным, при нормализации показателей ФВД и КБФГ. Большой процент детей с повышенными значениями оксида азота в группе получавшей ИГКС вероятно может быть связан с изначально более высокими цифрами оксида азота выдыхаемого воздуха в этой группе и большим количеством детей с частичным контролем заболевания. Кроме этого, при анализе показателей КВВ, показатели NO₂- и 3-нитротирозина достоверно не изменялись в ходе проводимой терапии. Этот факт требует особого внимания и свидетельствует о сохранении минимального персистирующего воспаления в дыхательных путях и необходимости продолжения терапии.

В результате проведенного исследования нами предложен комплексный подход к диагностике и оценке эффективности проводимой терапии, включающий такие более чувствительные и неинвазивные методы определения маркеров воспаления, как FeNO и концентрация нитратов и нитритов в КВВ, а также использование показателей КБФГ (преимущественно в среднечастотном и высокочастотном диапазонах) для более точной диагностики сохраняющейся бронхиальной обструкции.

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 3,8 мкМ, 22 мкМ, 24,5 мкМ соответственно), по сравнению с пациентами с полным контролем заболевания (Me 1,8 мкМ, 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, свидетельствующим 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 частичном или недостаточном контроле заболевания.
- 2) У детей с легкой БА при частичном контроле заболевания необходимо проведение курса противовоспалительной терапии ИГКС в низкой дозе 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 СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АКРД – Акустический компонент работы дыхания
- АЛР – Антагонисты лейкотриеновых рецепторов
- АР- Аллергический ринит
- АТС- Американское торакальное сообщество
- БА – Бронхиальная астма
- ГКС- Глюкокортикостероиды
- ИГКС- Ингаляционные глюкокортикостероиды
- КБФГ- Компьютерная бронхофонография
- КВВ – Конденсат выдыхаемого воздуха
- ОФВ1 – Объем форсированного выдоха за 1 секунду
- РКС-Риноконъюнктивальный синдром
- СГКС- Системные глюкокортикостероиды
- ФВД – Функция внешнего дыхания
- ФЖЕЛ- Форсированная жизненная емкость легких
- FeNO – Оксид азота выдыхаемого воздуха
- NO – Оксид азота

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Битюкова Е.М., Хруцкая С.В. Небулайзерная терапия суспензией будесонида в базисной терапии бронхиальной астмы // Трудный пациент. – 2018. – Т. 16. – №1-2. – С. 41-42.
2. Борукаева И.Х. Патофизиологическое обоснование применения интервальной гипоксической тренировки и энтеральной оксигенотерапии при бронхиальной астме: дис. ... док. мед. наук: 14.03.03 / Борукаева Ирина Хасанбиевна. – Владикавказ, 2011. – 295 с.
3. Вишнева Е.А., Намазова-Баранова Л.С., Алексеева А.А., Эфендиева К.Е., Левина Ю.Г., Вознесенская Н.И., Томилова А.Ю., Селимзянова Л.Р., Промыслова Е.А. Детская астма: ключевые принципы достижения контроля на современном этапе // Педиатрическая фармакология. – 2013. – Т. 10. – № 4. – С. 60-72.
4. 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.
5. 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.
6. 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. – 2018. – 2, Т.13, №5. – С. 68-73.
7. Геппе Н.А., Малышев В.С. Компьютерная бронхофонография респираторного цикла // Медиа Сфера. – 2016. – С. 108
8. Глухова М.В., Геппе Н.А., Колосова Н.Г., Соодаева С.К., Климанов И.А., Гребенева И.В. Оксид азота выдыхаемого воздуха у детей с легкой бронхиальной астмой в мониторинге противовоспалительной терапии // Доктор.Ру. – 2020. – № 19 (10). – С. 37–41.

9. Котляров С.Н., Качамина С.А. Анализ конденсата выдыхаемого воздуха в диагностике бронхиальной астмы // Российский научный журнал. – 2015. – № 6 (49). – С. 370-374.
10. Ли Т.В. Метаболизм оксида азота при хронической ишемии головного мозга: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.11 / Ли Тимур Владимирович. – М., 2013. – 160 с.
11. Лозко Н.И. Нарушение микроциркуляции при бронхиальной астме у детей по данным лазерной доплеровской флуометрии: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.08 / Лозко Наталья Ивановна. – М., 2019. – 120 с.
12. Мозалевский А.Ф., Травянко Т.Д., Яковлев А.А. и др. Состав метаболитов арахидоновой кислоты в крови и слюне детей с бронхиальной астмой // Укр. биохим. ж. – 1997. – Т. 69. – С. 162-168
13. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». 5-е изд., М., 2021. – 160 с.
14. Озерская И.В. Морфо-функциональное состояние цилиарного эпителия верхних дыхательных путей у детей с бронхиальной астмой в сочетании с аллергическим ринитом: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.08 / Озерская Ирина Владимировна. – М., 2018. – 135 с.
15. Постникова Л.Б, Соодаева С.К., Климанов И.А., Кубышева Н.И., Афиногенов К.И., Глухова М.В., Никитина Л.Ю. Оксидативный стресс, индуцированный антибактериальными препаратами, и антибиотикорезистентность бактерий // Пульмонология. – 2017. – Т. 27 (5). – С. 664–671.
16. Ревякина В.А, Геппе Н.А. Биобаланс. Биологические препараты у сложных (коморбидных) больных с аллергическими заболеваниями. Практические рекомендации //МедКом-Про. – 2021. – С. 38-46.
17. Ровкина Е.И. Сравнительная характеристика маркеров воспаления дыхательных путей у больных бронхиальной астмой: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.43 / Ровкина Екатерина Игоревна. – Санкт-Петербург, 2007. – 149 с.
18. РРО, «федеральным клиническим рекомендациям по диагностике и лечению бронхиальной астмы», 2016.

19. Сизякова Л.А., Бобровницкий И.П., Рассулова М.А., Айрапетова Н.С., Бадалов Н.Г., Акильева Т.Ю., Жукова О.Г. Способ лечения больных с затяжной пневмонией // Патент на изобретение RU 2342916 С1, 10.01.2009. Заявка № 2007125252/14 от 04.07.2007.
20. Смирнов А.С., Скрягин А.Е., Таганович А.Д. Конденсат выдыхаемого воздуха. Подходы к диагностике заболеваний легких // Белорусский медицинский журнал. – 2004. – № 3 (9). – С. 17-19.
21. Соодаева С.К., Климанов И.А., Никитина Л.Ю. Нитрозивный и оксидативный стресс при заболеваниях органов дыхания // Пульмонология. – 2017. – Т. 27. – № 2. – С. 262-273.
22. Соодаева С.К., Климанов И.А., Никитина Л.Ю. Особенности цикла оксида азота при респираторных заболеваниях // Пульмонология. – 2016. – Т. 26. – № 6. – С. 753-759.
23. Трушина Е.Ю. Клинико-иммунологическая диагностика типов воспаления дыхательных путей в оптимизации терапии у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких: дис. ... канд. мед. наук: 14.03.09 / Трушина Елена Юрьевна. – Пенза, 2020. – 128 с.
24. Федорченко К.Ю. Метод неинвазивной диагностики рака легкого, основанный на анализе белкового и пептидного состава конденсата выдыхаемого воздуха человека: дис. ... канд. биол. наук: 03.01.02 / Федорченко Кристина Юрьевна. – М., 2017. – 150 с.
25. Хромов-Борисов Н.Н. Гармонизация статистических доказательств и предсказаний в биомедицине // Мы продолжаем традиции российской статистики: сб. докладов междунаро. научнопракт. конф. «I Открытый российский статистический конгресс» (Новосибирск, 20-22 октября 2015 г.): в 4 т. - Т 4: Теоретические поиски и предложения / Российская ассоциация статистиков; Федеральная служба государственной статистик и РФ; Новосиб. гос. ун-т экономики и управления. - Новосибирск: НГУЭУ 2016. - 499 с. - ISBN 978-5-7014-0730-3.
26. Царев С.В. Эффективная фармакотерапия // Аллергология и иммунология. –

2015. – №1. – С. 20.
27. Цыпленкова С.Э., Мизерницкий Ю.Л. Уровень оксида азота в выдыхаемом воздухе как биологический маркер аллергических воспалений дыхательных путей у детей // Пульмонология. – 2007. – № 4. – С. 69-78.
28. Черняк Б.А., Воржева И.И. Клиническое значение эозинофилии при бронхиальной астме // Астма и аллергия. – 2016. – № 1. – С. 2-5.
29. Aldakheel F. M, Thomas P. S., Bourke J. E., Matheson M. C., Dharmage S. C., Lowe A. J. Relationships between adult asthma and oxidative stress markers and pH in exhaled breath condensate: a systematic review // Allergy. - 2016. - Vol. 71, No 6. - P. 741-757
30. Anto J.M., Bousquet J., Akdis M., Auffray C., Keil T., Momas I., Postma D.S., Wenzel K. et al Mechanisms of the Development of Allergy (MeDALL): Introducing novel concepts in allergy phenotypes // Allergy Clin Immunol. – 2017. – № 139 (2). – P. 388-399.
31. Baraldi E., Azzolin N.M., Zanconato S., et al Corticosteroids decrease exhaled nitric oxide in children with acute asthma // J Pediatr. – 1997. – № 131(3). – P. 381–385.
32. Baraldi E., Carraro S., Alinovi R., Pesci A., Ghironi L., Bodini A., et al Cysteinyl leukotrienes and 8-isoprostane in exhaled breath condensate of children with asthma exacerbations // Thorax. – 2003. – 58(6). – P. 505–9.
33. Baraldi E., Giordano G., Pasquale M.F., Carraro S., Mardegan A., Bonetto G., et al 3-Nitrotyrosine, a marker of nitrosative stress, is increased in breath condensate of allergic asthmatic children // Allergy. – 2006. – № 61(1). – P. 90–6.
34. 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. – P. 143–78.
35. Bodini A., Peroni D., Vicentini L., Loiacono A., Baraldi E., Ghironi L., et al. Exhaled breath condensate eicosanoids and sputum eosinophils in asthmatic children: a pilot study // Pediatr Allergy Immunol. – 2004. – № 15 (1). – P. 26–31.
36. Chung K.F., Wenzel S.E., Brozek J.L. et al. International ERS/ATS guidelines on

- definition, evaluation and treatment of severe asthma // *Eur Respir J.* — 2014. — № 43. — P. 343–373.
37. Corradi M., Goldoni M., Caglieri A., Folesani G., Poli D., Corti M., Mutti A. Collecting Exhaled Breath Condensate (EBC) with Two Condensers in Series: A Promising Technique for Studying the Mechanisms of EBC Formation, and the Volatility of Selected Biomarkers // *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv.* – 2008. – Vol. 21, No 1. – P. 35-44.
38. Czebe K., Barta I., Antus B., Valyon M., Horvath I., Kullmann T. Influence of condensing equipment and temperature on exhaled breath condensate pH, total protein and leukotriene concentrations // *Respir Med.* - 2008. - Vol. 102. - P. 720–725.
39. Czitrovsky A., Szymanski W., Nagy A., Jani P. A new method for the simultaneous measurement of particle size, complex refractive index and particle density // *Meas Sci Technol.* - 2002. - Vol. 13. - P. 303–308.
40. Dahlen S.E. et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2002. – Vol. 165. – P. 93.
41. Daniel P.F., Klug B., Valerius N.H. Measurement of exhaled nitric oxide in young children during tidal breathing through a facemask // *Pediatr Allergy Immunol.* – 2005. – № 16 (3). – P. 248–253.
42. De Jongste J.C., Carraro S., Hop W.C., et al Daily telemonitoring of exhaled nitric oxide and symptoms in the treatment of childhood asthma // *Am J Respir Crit Care Med.*- 2009.-179(2). – P. 93–96.
43. Devika R.R., Wanda R., An Overview of Fractional Exhaled Nitric Oxide and Children with Asthma // *Expert Rev Clin Immunology.* – 2016. – № 12 (5) – P. 521–530.
44. Dodig I., Cepelak, Dodig S. Exhaled breath condensate – from an analytical point of view // *Biochem Med (Zagreb).* – 2013. – Vol. 23, No 3. – P. 281-295.
45. Dweik R.A., Boggs P.B., Erzurum S.C., et al An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2011. – № 184 (5). – P. 602–615
46. Edwards M.R., Strong K., Cameron A., Walton R.P., Jackson D.J., Johnston S.L.

- Viral infections in allergy and immunology: How allergic inflammation influences viral infections and illness. // *J Allergy Clin Immunol.* – 2017. – № 140 (4). – P. 909-920.
47. Ennis M. Neutrophils in asthma pathophysiology // *Curr Allergy Asthma Rep.* – 2003. – № 3(2). – P.159-65.
48. Ferlay, H.R. Shin, F. Bray, D. Forman, C. Mathers, D.M. Parkin Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008 // *Int J Cancer.* - 2010. - No 127. - P. 2893– 2917.
49. Ferraro et al. Exhaled biomarkers in childhood asthma: old and new approaches *Asthma // Research and Practice.* – 2018.- 4:9.
50. Formanek W., Inci D., Lauener R.P., Wildhaber J.H., Frey U., Hall G.L. Elevated nitrite in breath condensates of children with respiratory disease // *Eur Respir J.* – 2002. – № 19 (3). – P. 487–91.
51. Gaillard E.A., McNamara P.S., Murray C.S. et al. Blood eosinophils as a marker of likely corticosteroid response in children with preschool wheeze: time for an eosinophil guided clinical trial? // *Clin Exp Allergy.* – 2015. – № 45 – P. 1384–1395.
52. Ghdifan S., Verin E., Couderc L., Lubrano M., Michelet I., Marguet C. Exhaled nitric oxide fractions are well correlated with clinical control in recurrent infantile wheeze treated with inhaled corticosteroids // *Pediatr Allergy Immunol.*- 2010.- Nov.- 21(7).-P. 1015-20.
53. Global Initiative for asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention, 2021.- www.ginasthma.org
54. Gouvis-Echraghi R, Saint-Pierre P., Besharaty A.A., et al Exhaled nitric oxide measurement confirms 2 severe wheeze phenotypes in young children from the Trousseau Asthma Program // *J Allergy Clin Immunol.* -2012.-130(4).-P. 1005–7.
55. Green R.H., Brightling C.E., Woltmann G. et al. Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophilia and poor response to inhaled corticosteroids // *Thorax.* – 2002. – № 57. – P. 875–879.

56. Guevara I., Iwanejko J., Dembinska-Kiec A. et al Determination of nitrite/nitrate in human biological material by the simple Griess reaction // *Clin Chim Acta.* – 1998. – № 22.- 274 (2) – P. 177–88.
57. Gwkhan M. M., Kevin W. G., Richard A. R., Larry H. D., Rubinstein I. Collection and Analysis of Exhaled Breath Condensate in Humans // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*- 2001.- 164(5). - P. 731-737.
58. Haldar P., Pavord I.D., Shaw D.E., Berry M.A., Thomas M., Brightling C.E., Wardlaw A.J., Green R.H., Am J. Cluster analysis and clinical asthma phenotypes // *Respir Crit Care Med.*- 2008.- Aug.- 178(3).- P. 218-224.
59. Haldar P., Pavord I.D., Shaw D.E., et al Cluster analysis and clinical asthma phenotypes // *Am J Respir Crit Care Med.* -2008.- 78(3).-P. 218–224.
60. Hanson J.R., De Lurgio S.A., Williams D.D., et al Office-based exhaled nitric oxide measurement in children 4 years of age and older // *Ann Allergy, Asthma Immunol.*- 2013.- 111(5).-P. 358–363.
61. Horvath I., Lazar Z., Gyulai N., Kollai M., Losonczy G.Exhaled biomarkers in lung cancer // *Eur Respir J.* - 2009. - Vol. 34. - P. 261–275.
62. Hüttmann E.M., Greulich T., Hattesoehl A., Schmid S., Noeske S., Herr C.,John G., Jörres R.A., B. Müller, Vogelmeier C., Koczulla A. R. Comparison of two devices and two breathing patterns for exhaled breath condensate sampling // *PLoS One.* - 2011. - Vol. 6, No 11. - P. e27467
63. Ildiko H., Peter J. B., SteliosL., Peter J.S., Marieann H., Anna-Carin Olin, Anton A., et al. A European Respiratory Society technical standard: exhaled biomarkers in lung disease // *Eur Respir J.*- 2017.- 49.- 1600965
64. Iordanidou M., Loukides S., Paraskakis E. Asthma phenotypes in children and stratified pharmacological treatment regimens //*Expert Rev Clin Pharmacol.*- 2017.- 10(3).-P. 293–303
65. James A., Hedlin G. Biomarkers for the Phenotyping and Monitoring of Asthma in Children // *Curr Treat Options Allergy.*- 2016.-3(4).-P.439-452.
66. Jartti T., Wendelin-Saarenhovi M., Heinonen I., et al Childhood asthma management guided by repeated FeNO measurements: a meta-analysis // *Paediatr*

- Respir Rev.- 2012.-13(3).-P. 178–183.
67. Jones S.L., Herbison P., Cowan J.O., et al Exhaled NO and assessment of anti-inflammatory effects of inhaled steroid: dose-response relationship // *Eur Respir J.*- 2002.- 20(3).-P. 601–608.
68. Jouaville L.F., Annesi-Maesano I., Nguyen L.T., et al Interrelationships among asthma, atopy, rhinitis and exhaled nitric oxide in a population-based sample of children // *Clin Exp Allergy.*- 2003.-33(11).-P. 1506–1511.
69. Jobsis Q., Raatgeep H.C., Hermans P.W., de Jongste J.C. Hydrogen peroxide in exhaled air is increased in stable asthmatic children // *Eur Respir J.*- 1997.-10(3).- P. 519–21
70. Juniper E.F., O'Byrne P.M., Guyatt G.H. et al. Development and validation of a questionnaire to measure asthma control // *Eur. Respir. J.*- 1999.- 14.- 902–907
71. Karlin E., Gebretsadik T., Peebles R.S. Jr. et al Fractional exhaled nitric oxide change in pediatric patients after emergency department care of asthma exacerbations // *Ann Allergy, Asthma Immunol.*- 2015.- 114(2).-P. 149–151
72. Kharitonov S.A., Yates D.H., Robbins R.A., Logan-Sinclair R., Shinebourne E.A., Barnes P.J. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients // *Lancet.*- 1994.- 343.-P. 133-135
73. Kim Y.H., Kim K.W., Baek J., et al Usefulness of impulse oscillometry and fractional exhaled nitric oxide in children with Eosinophilic bronchitis // *Pediatr Pulmonol.*- 2013.- 48(3).-P. 221–228
74. Konradsen J.R., Nordlund B., Lidegran M., Pedroletti C., Grönlund H., van Hage M., Dahlen B., Hedlin G. Problematic severe asthma: a proposed approach to identifying children who are severely resistant to therapy. // *Swedish Network of Pediatric Allergists, Severe Asthma Network // Pediatr Allergy Immunol.*- 2011.- Feb.-22(1 Pt 1).- P. 9-18.
75. Konstantinidi E. M., Lappas A. S., Tzortzi A. S., Behrakis P. K. Exhaled Breath Condensate: Technical and Diagnostic Aspects // *SWJ.* - 2015. - Vol. 2015. - P. 435160.

76. Lanz M.J., Bautista A.P., Peyrou N.M., et al Exhaled nitric oxide in young, symptomatic patients with atopic asthma receiving nebulized budesonide therapy // *Ann Allergy Asthma Immunol.*- 2010.-105(5).-P. 0–401
77. Leung T.F., Ko F.W.S., Wong G.W.K. Recent advances in asthma biomarker research // *Ther Adv Respir Dis.*- 2013.-7(5).-P. 297–308
78. Linares Segovia B., Cortes Sandoval G., Estrada Pacheco F.D. Increased Interleukin-6 (IL-6) in exhaled breath condensate of asthmatic children // *Arch Bronconeumol.*- 2017.- 53.-P. 82–83
79. Linn W.S., Rappaport E.B., Eckel S.P., et al Multiple-flow exhaled nitric oxide, allergy, and asthma in a population of older children // *Pediatr Pulmonol.*- 2013.- 48(9).-P. 885–896
80. Lötvall J., Akdis C.A., Bacharier L.B., Bjermer L., Casale T.B., Custovic A., et al. Asthma endotypes: a new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome // *J Allergy Clin Immunol.*-2011.-127(2).-P. 355–60
81. Lötvall J. et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* -2011.- V.- 127.- P. 355
82. Lødrup Carlsen K.C., Pijnenburg MW. Monitoring of asthma in children // *Eur Respir Rev.*-2015
83. Lu M., Wu B., Che D., et al. FeNO and asthma treatment in children: a systematic review and meta- analysis // *Medicine.* – 2015. – № 94 (4). – P. 347.
84. Malerba M., Radaeli A., Olivini A., et al. The combined impact of exhaled nitric oxide and sputum eosinophils monitoring in asthma treatment: A prospective cohort study // *Curr Pharm Des.*-2015.-21(32).-P. 4752–4762
85. Malinovschi A., Fonseca J.A., Jacinto T., Alving K., Janson C. Exhaled nitric oxide levels and blood eosinophil counts independently associate with wheeze and asthma events in National Health and Nutrition Examination Survey subjects // *J Allergy Clin Immunol.*- 2013.- Oct.-132(4).-P. 7-821
86. Malmberg L.P., Pelkonen A.S., Haahtela T., et al. Exhaled nitric oxide rather than lung function distinguishes pre-school children with probable asthma // *Thorax.*- 2003.- 58(6).-P. 494–499
87. Massaro A.F., Mehta S., Lilly C. et al. Elevated nitric oxide concentrations in

- isolated lower airway gas of asthmatic subjects // *Am J Respir Crit Care Med.*-1996.-153.-P. 1510-1514
88. Mastrigt E., de Jongste J.C., Pijnenburg M. The analysis of volatile organic compounds in exhaled breath and biomarkers in exhaled breath condensate in children - clinical tools or scientific toys? // *Clin Exp Allergy.*- 2015.- 45(7).-P. 1170–88
89. Meyts I., Proesmans M., Van Gerven V., et al. Tidal off-line exhaled nitric oxide measurements in a pre-school population // *Eur J Pediatr.*- 2003.-162(7-8).-P.506–510
90. Montuschi P., Barnes P.J. Exhaled leukotrienes and prostaglandins in asthma // *J Allergy Clin Immunol.* -2002.- 109(4).-P. 615–20
91. Montuschi P., Corradi M., Ciabattoni G., Nightingale J.,Kharitonov S.A., Barnes P.J. Increased 8-Isoprostane, a Marker of Oxidative Stress, in Exhaled Condensate of Asthma Patients // *Am J Respir Crit Care Med.* - 1999. - Vol. 160, No 1. - P. 216-220
92. Montuschi P. LC/MS/MS analysis of leukotriene B4 and other eicosanoids in exhaled breath condensate for assessing lung inflammation // *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci.*- 2009.- 877(13).- P.1272–80
93. Montuschi P., Mondino C., Koch P., et al. Effects of montelukast treatment and withdrawal on fractional exhaled nitric oxide and lung function in children with asthma // *Chest.*-2007.-32(6).-P.1876–188
94. Moschino L., Zanconato S., Bozzetto S., Baraldi E., Carraro S. Childhood asthma biomarkers: present knowledge and future steps // *Paediatr Respir Rev.*-2015.- 16(4).-P. 205–12
95. Newport S., Amin N., Dozor A.J. Exhaled breath condensate pH and ammonia in cystic fibrosis and response to treatment of acute pulmonary exacerbations // *Pediatr Pulmonol.* - 2009. - Vol. 44, No 9. - P. 866-872
96. Oland A.A., Booster G.D., Bender B.G. Psychological and lifestyle risk factors for asthma exacerbations and morbidity in children.// *World Allergy Organ J.*- 2017.- Oct 17.-10(1).-P.35

97. Osborne M.L., Pedula K.L., O'Hollaren M., Ettinger K.M., Stibolt T., Buist A.S., Vollmer W.M. Assessing future need for acute care in adult asthmatics: the Profile of Asthma Risk Study: a prospective health maintenance organization based study // *Chest*.- 2007.-132.-P.1151-61
98. Paraskakis E., Brindicci C., Fleming L., et al. Measurement of bronchial and alveolar nitric oxide production in normal children and children with asthma // *Am J Respir Crit Care Med*.- 2006.- 174(3).-P. 260–26
99. Pearce N., Aït-Khaled N., Beasley R., Mallol J., Keil U., Mitchell E., et al. Worldwide trends in the prevalence of asthma symptoms: phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). // *Thorax*.- 2007.- 62(9).-P. 758–66.
100. Peirsman E.J., Carvelli T.J., Hage P.Y., et al. Exhaled nitric oxide in childhood allergic asthma management: a randomised controlled trial // *Pediatr Pulmonol*.- 2014.- 49(7).-P.624–631
101. Petsky H.L., Cates C.J., Lasserson T.J. et al. A systematic review and meta-analysis: tailoring asthma treatment on eosinophilic markers (exhaled nitric oxide or sputum eosinophils) // *Thorax*.-2012.- 67.-P. 199–208
102. Peters S.P. Asthma phenotypes: nonallergic (intrinsic) asthma // *J Allergy Clin Immunol Pract*.- 2014.-Nov-Dec.-2(6).-P. 650-2
103. Pijnenburg M.W., Bakker E.M., Hop W.C., et al. Titrating steroids on exhaled nitric oxide in children with asthma: a randomized controlled trial // *Am J Respir Crit Care Med*.- 2005.- 172(7).-P. 831–836
104. Pijnenburg M.W., De Jongste J.C. Exhaled nitric oxide in childhood asthma: a review // *Clin Exp Allergy*.- 2008.- 38(2).-P. 246–259
105. Pijnenburg M.W., Hofhuis W., Hop W.C., et al. Exhaled nitric oxide predicts asthma relapse in children with clinical asthma remission // *Thorax*.- 2005.-60(3).- P. 215–218
106. Ralf J.P. van der Valk, Liesbeth D., Nicolas J.T., Muhammad T.S., Marie S., John A.C., Jon G., Marjan K., Author manuscript // *J Allergy Clin Immunol*.-2014.- Jul.- 134(1).-P. 46–55

107. Rao D.R., Sordillo J.E., Kopel L.S., et al. Association between allergic sensitization and exhaled nitric oxide in children in the school inner-city asthma study// *Ann Allergy, Asthma Immunol.*- 2015.- 114(3).-P. 256–257
108. Ratnawati, J. Morton, R. L. Henry, P. S. Thomas Exhaled breath condensate nitrite/nitrate and pH in relation to pediatric asthma control and exhaled nitric oxide // *Pediatr Pulmonol.* - 2006. - Vol. 41, No 10. - P. 929-936
109. Reinhold P., Langenberg A., Becher G., Rothe M. Breath condensate—a medium obtained by a noninvasive method for the detection of inflammation mediators of the lung // *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* - 1999. - Vol. 112. - P. 254-259.
110. Renée J.G., Marc M., Todd A. L. A Review of the Utility and Cost Effectiveness of Monitoring Fractional Exhaled Nitric Oxide (FeNO) in Asthma Management // *Managed care (Langhorne, Pa.)*.-2018.-27(7).-P.34-41
111. Rensen E.L., Sont J.K., Evertse C.E., Willems L.N., Mauad T., Hiemstra P.S., Sterk P.J. Bronchial CD8 cell infiltrate and lung function decline in asthma // *Am J Respir Crit Care Med.*-2005.-172.-P. 837-41
112. Ricciardolo F.L.M., Silvestri M., Pistorio A., et al. Determinants of exhaled nitric oxide levels (FeNO) in childhood atopic asthma: evidence for neonatal respiratory distress as a factor associated with low FeNO levels // *J Asthma.*- 2010.- 47(7).-P. 810–816
113. Robroeks C. M. H. H. T., Van De Kant K. D. G., Jobsis Q., Hendriks H. J. E., Van Gent R., Wouters E. F. M., Damoiseaux J. G. M. C., Bast A., Wodzig W. K. W. H., Dompeling E. Exhaled nitric oxide and biomarkers in exhaled breath condensate indicate the presence, severity and control of childhood asthma // *Clin Exp Allergy.* - 2007. - Vol. 37, No 9. - P. 1303- 1311
114. Rosias P.P., Dompeling E., Hendriks H.J., Heijns J. W., Donckerwolcke R. A., Jöbsis Q. Exhaled breath condensate in children: pearls and pitfalls // *Pediatr Allergy Immunol.* - 2004. - Vol. 15, No 1. - P. 4-19
115. Sachs-Olsen C., Lødrup Carlsen K.C., Mowinckel P., Håland G., Devulapalli C.S., Munthe-Kaas M.C., Carlsen K.H. Diagnostic value of exhaled nitric oxide in childhood asthma and allergy // *Pediatr Allergy Immunol.* -2010.- Feb.-21(1 Pt 2).-

P. 213-21

116. Saglani S., Lloyd C.M. Eosinophils in the pathogenesis of paediatric severe asthma. // *Curr Opin Allergy Clin Immunol.*- 2014.- Apr.- 4(2).-P.143-8
117. Samitas K., Chorianopoulos D., Vittorakis S., Zervas E., Economidou E., Papatheodorou G., et al.Exhaled cysteinyl-leukotrienes and 8-isoprostane in patients with asthma and their relation to clinical severity // *Respir Med.*- 2009.- 103(5).-P. 750–6
118. Sanak M. Eicosanoid mediators in the airway inflammation of asthmatic patients: what is new? // *Allergy, Asthma Immunol Res.* -2016.- 8(6).-P. 481–90
119. Sardón-Prado O., Korta-Murua J., Valverde-Molina J., et al. Association among lung function, exhaled nitric oxide, and the CAN questionnaire to assess asthma control in children. *Pediatr Pulmonol* // 2010.-45(5).-P. 434–439
120. Schleich F.N., Manise M., Sele J. et al. Distribution of sputum cellular phenotype in a large asthma cohort: predicting factors for eosinophilic vs neutrophilic inflammation // *BMC Pulm Med.*- 2013.- 13.-P 11
121. Sheu F.S., Zhu W., Fung P.C. Direct observation of trapping and release of NO by glutathione and cysteine with electron paramagnetic resonance spectroscopy // *Biophys J.*- 2000.- 78.-P. 1216-1226
122. Simpson A.J., Honkoop P.J., Kennington E., et al. Perspectives of patients and healthcare professionals on Health for asthma self-management // *Eur Respir J.*- 2017.- 49.- 1601966
123. Sivan Y., Gadish T., Fireman E., Soferman R. The use of exhaled nitric oxide in the diagnosis of asthma in school children // *J Pediatr.*- 2009.- Aug.- 155(2).-P. 211-6
124. Sordillo J.E., Webb T., Kwan D., et al. Allergen exposure modifies the relation of sensitization to fraction of exhaled nitric oxide levels in children at risk for allergy and asthma // *J Allergy Clin Immunol.*- 2011.-127(5).-P. 1165–72
125. Soyer O.U., Dizdar E.A., Keskin O., Lilly C., Kalayci O. Comparison of two methods for exhaled breath condensate collection // *Allergy.* - 2006. - Vol. 61. - P. 1016–1018

126. So Y. P., Seunghee B. et al. Clinical Significance of Asthma Clusters by Longitudinal Analysis in Korean Asthma Cohort for the COREA // Study Group PLoS One.- 2013.- 8(12) P. e83540
127. Stamler J. S., Simon D. I., Osborne J. A. et al. NO metabolism and breakdown // Biochim Biophys Acta.- 1999.- 1411.-P. 273–289
128. Stelmach I., Zaczeniuk M., Sztafinska A., Majak P., Jerzynska J., Kuklinska-Pijanka A., et al Serum tryptase level and inflammatory markers in exhaled breath condensate of children with exercise-induced symptoms // Allergy Asthma Proc.- 2016.- 37.-P. 84–92
129. Stern G., De Jongste J., van der Valk R., et al. Fluctuation phenotyping based on daily fraction of exhaled nitric oxide values in asthmatic children // J Allergy Clin Immunol.- 2011.- 128(2).-P. 293–300
130. Taylor D.R., Pijnenburg M.W., Smith A.D., et al Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation // Thorax.-2006.- 61(9).-P. 817–827
131. Teach S.J., Gergen P.J., Szeffler S.J., et al Seasonal risk factors for asthma exacerbations among inner-city children // J Allergy Clin Immunol.- 2015.- 135(6).-P. 1465–1473
132. Teng Y., Sun P., Zhang J., Yu R., Bai J., Yao X., Huang M., Adcock I. M., Barnes P. J. Hydrogen peroxide in exhaled breath condensate in patients with asthma: a promising biomarker? // Chest. - 2011. - Vol. 140, No 1. - P. 108-116
133. Ulrik C.S. Peripheral eosinophil counts as a marker of disease activity in intrinsic and extrinsic asthma. // Clin Exp Allergy.-1995.- Sep.-25(9).-P. 820-7
134. Van der Valk R.J., Baraldi E., Stern G., et al Daily exhaled nitric oxide measurements and asthma exacerbations in children // Allergy.-2012.- 67(2).-P. 265–271
135. Verhulst S.L., Aerts L., Jacobs S., et al Sleep-disordered breathing, obesity, and airway inflammation in children and adolescents // Chest.-2008.- 134(6).-P. 1169–1175
136. Vijverberg S.J., Hilvering B., Raaijmakers J.A., Lammers J-W.J., Maitland-van der

- Zee A.H., Koenderman L. Clinical utility of asthma biomarkers: from bench to bedside // *Biol Targets Ther.*-2013.-7.-P. 199–210
137. Wan G-H., Yan D-C., Tseng H-Y., Tung T-H., Lin S-J., Lin Y-W. Cysteinyl leukotriene levels correlate with 8-isoprostane levels in exhaled breath condensates of atopic and healthy children // *Pediatr Res.*- 2013.-74(5).-P. 584–91
138. Zacharasiewicz A., Wilson N., Lex C., et al Clinical use of noninvasive measurements of airway inflammation in steroid reduction in children // *Am J Respir Crit Care Med.*- 2005.- 171(10).-P. 1077– 1082
139. Zanconato S., Carraro S., Corradi M., Alinovi R., Pasquale M.F., Piacentini G., et al Leukotrienes and 8-isoprostane in exhaled breath condensate of children with stable and unstable asthma // *J Allergy Clin Immunol.*- 2004.-113(2).-P. 257–63
140. Zetterquist W., Pedroletti C., Lundberg J. O. N., Alving K. Salivary contribution to exhaled nitric oxide // *Eur Respir J.* -1999. - Vol. 13. - P. 327-333

ПРИЛОЖЕНИЕ А**Опросник АСQ-5**

Пожалуйста ответьте на вопросы 1-5.

Обведите кружком номер ответа, который лучше всего отражает Ваше состояние в течение последней недели.

- | | | |
|--|---------------------------------|--|
| 1. В среднем, как часто за последнюю неделю Вы просыпались ночью из-за астмы? | 0
1
2
3
4
5
6 | Никогда
Очень редко
Редко
Несколько раз
Много раз
Очень много раз
Не мог (-ла) спать из-за астмы |
| <hr/> | | |
| 2. В среднем, насколько сильны были симптомы астмы, когда Вы просыпались утром в течение последней недели? | 0
1
2
3
4
5
6 | Симптомов не было
Очень слабые симптомы
Слабые симптомы
Умеренные симптомы
Довольно сильные симптомы
Сильные симптомы
Очень сильные симптомы |
| <hr/> | | |
| 3. В целом, насколько Вы были ограничены в своих профессиональных и повседневных занятиях из-за астмы в течение последней недели? | 0
1
2
3
4
5
6 | Совсем не ограничен (-а)
Чуть-чуть ограничен(-а)
Немного ограничен (-а)
Умеренно ограничен (-а)
Очень ограничен (-а)
Чрезвычайно ограничен (-а)
Полностью ограничен (-а) |
| <hr/> | | |
| 4. В целом, была ли у Вас одышка из-за астмы в течение последней недели? | 0
1
2
3
4
5
6 | Одышки не было
Очень небольшая
Небольшая
Умеренная
Довольно сильная
Сильная
Очень сильная |
| <hr/> | | |
| 5. В целом, какую часть времени в течение последней недели у Вас были хрипы в груди? | 0
1
2
3
4
5
6 | Никогда
Очень редко
Редко
Иногда
Значительную часть времени
Подавляющую часть времени
Все время |