

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

Денисова Вероника Дмитриевна

**Клинико-функциональные особенности нарушений
микроциркуляторно-тканевых систем у детей с бронхиальной астмой**

14.01.08 - Педиатрия

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Геппе Н.А.

Москва - 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК ОСНОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1. Анатомо-физиологическая характеристика микроциркуляторно-тканевых систем у детей страдающих бронхиальной астмой.	10
1.2. Современные методы оценки микроциркуляторно-тканевых систем	14
1.2.1 Капилляроскопия ногтевого ложа	17
1.2.2 Лазерная доплеровская флоуметрия	22
1.3. Окислительно-восстановительные процессы на уровне микроциркуляторно-тканевых систем и возможности их оценки	31
ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.	36
2.1. Общая характеристика обследованных пациентов.	36
2.2. Общеклинические методы обследования.	40
2.3. Специальные методы исследования.	42
ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.	47
3.1. Параметры микроциркуляторно-тканевых систем у детей контрольной группы	47
А. Основные показатели микроциркуляторно-тканевых систем	
Б. Активный и пассивные факторы контроля кровотока	
В. Капилляроскопия ногтевого ложа	
3.2. Показатели микроциркуляции у детей с бронхиальной астмой разной степени тяжести в зависимости от контроля заболевания	53
3.3. Амплитудно-частотный спектр ЛДФ-грамм детей (оценка факторов регуляции), больных бронхиальной астмой разной степени тяжести.	60
3.4. Оценка данных микроциркуляции по параметрам капилляроскопии у детей страдающих бронхиальной астмой разной степени тяжести	65
3.5. Флуоресцентная диагностика окислительно-восстановительных процессов на уровне микроциркуляции у детей страдающих бронхиальной астмой различной степени тяжести	69
3.6. Клинические примеры	72
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ (ЗАКЛЮЧЕНИЕ). ВЫВОДЫ	81
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	91

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Важным патогенетическим звеном в патогенезе бронхиальной астмы (БА) являются нарушения микроциркуляторно-тканевых систем. Морфофункциональные изменения кровеносных сосудов непосредственно связаны с нарушениями структуры дыхательных путей и вентиляционной функции легких, прогрессирующими при активном воспалении. Известно, что функциональные нарушения микроциркуляции в дыхательной системе коррелируют с прогрессированием БА (Федорова О.Ф., Петрова В.Д. и др., 2016). Адаптацию периферического кровотока к изменяющимся условиям окружающей среды в соответствии с потребностями организма обеспечивают нервные, гуморальные и локальные регуляторные факторы [74]. Хроническое течение БА, с повторяющимися эпизодами бронхиальной обструкции, характеризуется у части пациентов недостаточным контролем симптомов, что нередко обусловлено неадекватной терапией и требует совершенствования методов диагностики тяжести и степени контроля заболевания.

Оценить изменения, возникающие в микроциркуляторном русле у детей с БА, можно используя различные методы, позволяющие осуществить комплексную оценку состояния наиболее значимых звеньев микроциркуляторно-тканевых систем, транспорта кислорода и окислительного метаболизма тканей.

Современные методы оценки микроциркуляции включают в себя: капилляроскопию ногтевого ложа и лазерную доплеровскую флоуметрию (ЛДФ). Методы являются неинвазивными, что особенно важно в педиатрии. Моментальная визуализация обеспечивает быстрое получение информации о параметрах функционирования микроциркуляторного русла с различных участков поверхности тела в реальном времени.

Комплексная оценка параметров микроциркуляторно-тканевых систем позволяет более точно определить характер и выраженность

патофизиологических нарушений при БА и оптимизировать подходы к их коррекции у детей.

Степень разработанности темы исследования

Основанием для данной работы послужила безусловная актуальность неинвазивных методов исследования микроциркуляторно-тканевых систем у пациентов с бронхиальной астмой особенной у детей. До настоящего времени изучению особенностей микроциркуляторно-тканевых систем у детей с хронической патологией легких были посвящена ряд исследований.

Так Бережанский П.В. наблюдал 125 детей с 2х до 36 месяцев с обструктивным бронхитом и описал изменения в терминальном отделе микроциркуляторного русла. Так же им были выявлены изменения со стороны архитектоники капилляров [6]. Воронина с соавт. в своей работе указала на значение длительности и тяжести бронхиальной астмы с состоянием микроциркуляторного русла. В острую фазу отмечается изменение артерио-венулярного коэффициента, а в ремиссию изменяется архитектоника капилляров. По мнению Verdant S.et.al у пациентов, длительно страдающих бронхиальной астмой, в стадии неполной ремиссии длительно сохраняются изменения архитектоники капилляров. По результатам работы Шиловой А.А, (2010г.) у детей с обострением БА отмечалась статистически значимое снижение ПМ, более выраженное у детей с тяжелой БА [60,59]. Большая часть исследований охватывает исключительно вопросы, связанные с изучением одного звена микроциркуляторно-тканевых систем без учета аспектов комплексного изменения всех звеньев МЦ.

Поэтому исходя из немногочисленных международных и российских исследований посвященных МЦ нам показалось целесообразно комплексное изучение показателей МЦ у детей с ремиссией БА различной степени тяжести и контрольной группы практически здоровых детей.

Цель исследования:

Изучить клинико-функциональные варианты нарушений микроциркуляторно-тканевых систем у детей с БА различной степени тяжести с учетом контроля течения заболевания.

Задачи исследования:

1. Определить опорные показатели параметров отражающих состояние микроциркуляторно-тканевых систем у здоровых детей различного возраста с помощью неинвазивных инструментальных методов.
2. Исследовать состояние микроциркуляторно-тканевых систем у детей с БА различной степени тяжести с 6-18 лет в зависимости от степени контроля заболевания.
3. Сопоставить результаты оценки микроциркуляторно-тканевых систем у детей с БА различной степени тяжести с параметрами функции внешнего дыхания
4. Выявить наиболее значимые параметры микроциркуляции у детей с БА и определить их прогностическую значимость

Научная новизна исследования

Впервые у детей с БА различной степени тяжести было проведено комплексное исследование микроциркуляторно-тканевых систем, с помощью ЛДФ и капилляроскопии ногтевого ложа со специализированным программным обеспечением с учетом достигаемого контроля течения заболевания. Полученные данные были сопоставлены с показателями контрольной группы детей без бронхолегочной патологии. В течение 6 месяцев у детей с БА различной степени тяжести проведен анализ показателей базальной микроциркуляции (перфузия, сатурация смешанной крови, уровень кровенаполнения микроциркуляторного русла). Впервые проведен анализ факторов контроля микроциркуляции (активных и пассивных) у детей с БА, в зависимости от степени тяжести заболевания, в

динамике. Динамический анализ позволил выявить прогностические параметры обострения БА. Получены дополнительные факторы микроциркуляторно-тканевых систем, играющие роль в патогенезе развития БА, выявлены параметры микроциркуляции характеризующие тяжесть течения заболевания у детей. Учитывая роль гипоксии в патогенезе БА, изучена значимость ферментативной системы NADH в ее устранении. Кофермент NADH принимает участие в окислительном метаболизме, в связи с чем впервые был определен его уровень у детей с БА в различные периоды заболевания.

Практическая значимость

Методы лазерной доплеровской флоуметрии и компьютерной капилляроскопии способствуют выявлению расстройств микроциркуляции у детей с БА в режиме реального времени и могут рассматриваться в качестве дополнительных методов диагностики БА у детей для оценки контроля течения заболевания.

Комплексный подход в оценке микроциркуляторно-тканевых систем (уровень перфузии, кровенаполнение сосудистого русла, сатурации смешанной крови) с учетом модуляции амплитудно-частотных факторов контроля кровотока у детей с БА, в различные периоды заболевания, улучшает диагностику тяжести заболевания и мониторинг терапии.

Впервые дана комплексная оценка микроциркуляторно-тканевых систем у здоровых детей и у детей с БА различной степени тяжести (оценка базального кровотока, факторов его регуляции, ширина периваскулярной зоны, число функционирующих капилляров и диаметр различных отделов капилляров). Проведена оценка кофермента (NADH) участвующего в окислительном метаболизме, что может быть полезным маркером в оценке нарушений при 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 использовались клинические, лабораторные, инструментальные, аналитические и статистические методы исследования.

ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ

- 1) При нормализации клинических симптомов у детей с БА нарушения микроциркуляции сохраняются длительно, от 2-4 месяцев при легкой бронхиальной астме, до 6 месяцев при среднетяжелой и тяжелой бронхиальной астме.
- 2) При тяжелой неконтролируемой и/или частично контролируемой БА возникает декомпенсация параметров регуляции кровотока, что свидетельствует о предрасположенности к более частым обострениям.
- 3) У детей с обострением БА различной степени тяжести отмечено статистически значимое снижение уровня NADH, свидетельствующее об увеличении затрат данного кофермента при устранении гипоксии в ткани.

Личный вклад автора

Автор принял непосредственное участие в выборе направления исследования, осуществлении анализа и обобщении полученных материалов. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: постановки задач, их реализации, сбора, статистической обработки и анализе полученных данных, обсуждения результатов в научных публикациях и докладах и их внедрения в практику.

Апробация диссертационного материала

Апробация диссертационной работы проходила на заседании кафедры детских болезней Клинического института детского здоровья им. Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. 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 материалам исследований опубликовано 8 научных работы, из них 3 в журналах, рекомендованных в ВАК.

Возрастные параметры нормы компьютерной капилляроскопии и лазерной доплеровской флоуметрии / Н.А. Геппе, Н.Г. Колосова, А.Н. Герасимов, В.Д. Денисова, А.В. Ботнева, Н.И. Лозко // Вопросы практической педиатрии.- 2018.- 13 (1).- С. 40-44. - DOI: 10.20953/1817-7646-2018-1-40-44.

Взаимоотношение параметров микроциркуляции и функции внешнего дыхания при бронхиальной астме у детей / Н.А. Геппе, Н.Г. Колосова, В.Д. Денисова, Н.И. Лозко // Сеченовский вестник. - 2018.- №3 (33). - С.30-35. DOI: 10.26442/2218-7332_2018.3.30-35

Лазерная доплеровская флоуметрия в оценке микроциркуляции у детей с бронхиальной астмой / Н.А. Геппе, Н.Г. Колосова, А.Н. Герасимов, В.Д. Денисова, Н.И. Лозко, В.В. Сидоров // Доктор. Ру.- 2018.-№5.- С. 37-41. DOI:10.31550/1727-2378-2018-149-5-37-41

European respiratory society. International congress/ Communi. Laser doppler flowmetry in the evaluation of microcirculation in children with bronchial asthma. Франция, Париж, 2018. Session: the bad and the ugly in paediatric asthma: comorbidities and exacerbations (thematic poster) № 5224.

Внебольничная пневмония у детей: алгоритм диагностики и антибактериальной терапии / А.Б. Малахов, А.П. Зинкевич, А.М. Алискандиев, И.А. Дронов, А.Е. Анджель, И.В. Коваленко, А.Ю. Арсланова, В.Д. Денисова // Практическая пульмонология. -2019. - №2. – С. 18-26.

Подходы к терапии бронхиальной обструкции у детей / Н.А. Геппе, Н.Г. Колосова, А.Р. Денисова, В.Д. Денисова, А.В. Лиханов // Вопросы практической педиатрии. Клиническая практика в педиатрии // 2018. - 13 (5). – С. 68–73. DOI: 10.20953 / 1817-7646-2018-5-68-73

Эффективность комбинированной терапии будесонидом / формотеролом при бронхиальной астме средней тяжести у детей / Н.А. Геппе, А.Р. Денисова, Н.Г. Колосова, С.И. Шаталина, В.Д. Денисова // Вопросы практической педиатрии. Клиническая практика в педиатрии. – 2017. - 12 (1). С. 53–58. DOI: 10.20953 / 1817-7646-2017-1-53-58

Микроциркуляция и функция эндотелия: теоретические основы, принципы диагностики нарушений, значение для клинической практики: научно-методическое пособие / Под ред. О.В.Молоткова, О.В.Халепо. – Смоленск, 2015. – 111 с.

Перспективы дальнейшей разработки темы

- 1) Продолжить изучение и систематизацию полученных данных о состоянии микроциркуляции у детей с различной степенью тяжести БА в период обострения и ремиссии заболевания и возможной корреляции изменений МЦ с другими неинвазивными методами исследования.
- 2) Продолжить комплексную оценку роли кофермента (НАД-Н-никотинамид-аденин-динуклеотид) в патогенезе БА у детей в зависимости от уровня контроля заболевания.
- 3) Разработать новые подходы к длительности и критерии к пересмотру объема базисной терапии БА с учетом изменений в микроциркуляторно-тканевых системах у детей.

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.

1.1. Анатомо-физиологическая характеристика микроциркуляторно-тканевых систем у детей, страдающих бронхиальной астмой.

Бронхиальная астма (БА) по настоящее время остается одной из актуальных проблем педиатрии приводящая к снижению качества жизни, инвалидизации, а иногда, и смерти пациента [74,75]. По оценкам, всего в мире около 334 млн. людей разного возраста страдают данным заболеванием, 14% из которых дети (The Global Asthma Network). Существует определенный диссонанс между истинной распространенностью БА у детей и реальным числом диагностированных пациентов [73]. Это может быть связано, как с недостаточными знаниями педиатров об этом заболевании, трудностями диагностики, так и с недостаточной распространённостью дополнительных неинвазивных методов диагностики, используемых для верификации диагноза и оценки динамики течения заболевания. Согласно международному исследованию ISSAC (International Study of Asthma and Allergies in Childhood) отмечается рост распространенности симптомов БА у детей 6-7 лет 11,1% - 11,6%, среди подростков 13-14 лет 13,2% - 13,7%.

В основе бронхиальной астмы лежит хроническое аллергическое воспаление дыхательных путей, приводящее к ремоделированию стенки бронхов, реализуемое при участии большого количества различных типов клеток (тучных, эозинофилов, лимфоцитов, макрофагов, дендритных, эпителиальных, гладкомышечных и др.) и медиаторов – цитокинов [74,41].

Воспалительный процесс в бронхах сохраняется на всех стадиях заболевания (обострение и ремиссия). Согласно современным руководствам (Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика», GINA) при выборе той или иной стратегии персонализированного подхода к терапии пациентов с БА предлагается уделять внимание фенотипу и эндотипу заболевания. Еще в начале XX века было предложено выделить экзогенную и эндогенную БА. В настоящее

время это разделение правомочно для клинических фенотипов аллергической и неаллергической БА. На современном этапе в соответствии с номенклатурой аллергических болезней, предложенной ЕААСI, выделено 2 основных фенотипа БА: аллергическая и неаллергическая, т.е. IgE – опосредованная и не IgE – опосредованная [42].

Хроническое воспаление часто сопровождается гиперреактивностью бронхов, что лежит в основе клинических проявлений бронхиальной астмы (кашель, одышка, эпизоды затрудненного дыхания, экспираторные свистящие хрипы) [61,94,8].

Основные клетки, участвующие в воспалительном процессе в бронхиальном дереве - это эозинофилы и макрофаги. Они секретируют медиаторы, которые приводят к спазму гладкой мускулатуры бронхов, а также увеличивают сосудистую проницаемость, способствуют отеку стенок бронхов.

Доказано, что при БА происходит ремоделирование микрососудов в виде изменения формы капилляров (неравномерность калибра артериол и венул, с нарушением барьерной функции капилляров) и появление новых коллатералей [35]. Ремоделирование бронхов обусловлено повреждением бронхиального эпителия, нарушением его восстановления, активным выбросом факторов роста, данные изменения наблюдаются даже на ранних стадиях заболевания [65,79,88,64,71].

Также ряд авторов считает, что ремоделирование дыхательных путей связано с эпителиальной гиперплазией, васкуляризацией и изменениями в подслизистой оболочке [91].

В качестве одного из критериев оценки тяжести течения БА, может выступать оценка состояния эндотелиальных клеток. Известно, что при обострении БА имеет место изменение морфофункционального статуса эндотелиальных клеток (изменяется их структура, уровень гуморальных медиаторов). Отмечено увеличение уровня концентрации NO при обострении БА. При тяжелом течении БА отмечается максимальная степень

десквамации эпителия, что связано с наличием у таких пациентов хронической гипоксии и повышенного содержания биологически активных веществ. Данные изменения со стороны эндотелия сохраняются даже в период отсутствия клинических проявлений БА, что в свою очередь отражает пролонгированный характер изменений и в очередной раз убеждает нас в необходимости длительно терапии БА [13].

Таким образом, вклад нарушений микроциркуляторного русла (МЦР) в патогенезе БА не менее важен, чем бронхоконстрикция, особенно у детей, в связи с чем методы объективной оценки микроциркуляции (МЦ) весьма перспективны [11,49,89,80].

Стенка бронхиального дерева содержит несколько капиллярных сети: одна из которых располагается в субэпителиальном пространстве, другая - в перибронхиальной части.

Нарушение проницаемости капилляров при аллергическом воспалении ведет к активации факторов межклеточной адгезии и макрофагального звена, что, стимулирует активацию фактора некроза опухоли. Уровень факторов межклеточной адгезии у пациентов с аллергическими заболеваниями дыхательной системы повышен по сравнению со здоровыми людьми, что ведет к активации микроангиогенеза. Капилляроскопия позволяет выявить данные изменения, такие как уменьшение расстояния между капиллярами, увеличение площади периваскулярной зоны (за счет повышения проницаемости и склонности к «подтеканию» капилляров) [7].

Согласно исследованию, проведенному А.В.Беляковым с соавт. (2007г.), показано, что у детей с бронхиальной астмой не только в обострении, но и в период ремиссии заболевания, отмечаются изменения микроциркуляции, о чем свидетельствуют и функциональные, и морфофункциональные нарушения сосудистого и внутрисосудистого звена. При БА у детей по мере увеличения длительности и утяжеления заболевания расстройства микроциркуляторного русла более выражены и нарастают от функциональных нарушений до появления сладж-феномена, зон

запустевания (уменьшения количества функционирующих капилляров) и морфологических изменений в микрососудах с развитием капилляротрофической недостаточности [5].

Имеются данные, что изменения капилляров, наблюдающиеся при проведении капилляроскопии ногтевого валика, также происходят и в микрососудах дыхательных путей, в том числе и при БА [77].

БА - хроническое заболевание с повторными обострениями разной степени тяжести. У детей младшего возраста диагностика бронхиальной астмы сложна, так как использовать ряд диагностических методов у них, в силу возраста, невозможно [3,37,41]. Исследования показали, что даже в период ремиссии у детей с БА различной степени тяжести могут сохраняться те или иные клинические проявления заболевания, что говорит о персистировании воспаления в дыхательных путях [10].

На современном этапе мониторинг адекватности терапии БА различной степени тяжести и целесообразности ее коррекции основан на анализе уровне контроля: контролируемая, частично-контролируемая и неконтролируемая. Руководствуясь согласительными документами критериями контроля является наличие дневных симптомов, ночных пробуждений, потребности в коротко действующие β -2 агонисты (КДБА), любое нарушение активности из-за астмы и оценивается за последние 4 недели. Учитывая появление новой рекомендации для комбинации длительно действующий β -2 агонисты (ДДБА)/ ИГКС в режиме по требованию для детей старше 12 лет начиная с первой ступени, в новой редакции GINA дано четкое пояснение по критериям контроля: при оценке контроля симптомов принимается во внимание только потребность в КДБА; ИГКС/ДДБА, применяемые в режиме по требованию не могут быть критерием контроля симптомов астмы, особенно у пациентов, которые не получают постоянную терапию ИГКС [75].

В настоящее время особое место уделяют поиску биомаркеров аллергического воспаления и ремоделирования дыхательных путей [5].

Учитывая это, представляет большой интерес изучение микроциркуляторного русла у детей, как интегрального показателя воспаления, приводящего к развитию бронхиальной обструкции и влияющего в дальнейшем на течение заболевания.

1.2. Современные способы оценки микроциркуляторно-тканевых систем

Изучение МЦ *in vivo* до последнего времени не представлялось возможным и не входило в задачи функциональной диагностики в виду отсутствия необходимого оборудования. На современном этапе развития функциональных методов диагностики для изучения МЦ используются различные микрорентгенографические, микроскопические, электронно-микроскопические, гистохимические, биомикроскопические и иные методы исследования [56,27,26,21]. Современные методы оценки микроциркуляции основаны на новейших компьютерных технологиях, которые дают возможность получить статические и динамические характеристики кровотока в режиме реального времени [22]. Также в настоящее время разработаны неинвазивные мобильные приборы для оценки работы МЦР.

Микроциркуляторное русло является объектом исследования как конечный отрезок сердечно-сосудистой системы, в котором непосредственно реализуется транспортная функция и обеспечивается трансапиллярный обмен, поддерживающий необходимый для нормальной жизнедеятельности гомеостаз [58,72]. Питание и освобождение от метаболитов клеток ткани происходит благодаря микроциркуляции, в результате изменяющегося потока крови, соответствующего потребностям тканей.

МЦР состоит из сосудов, диаметр которых не превышает 100 мкм и включает в себя гемоциркуляторное русло, состоящее из нескольких компонентов (артериолы, прекапилляры, капилляры, посткапиллярные венулы, венулы и артериоло-венулярные анастомозы) обеспечивающее циркуляцию крови [40,33] (Рис.1). Артериолы - это конечные отделы

артериальной кровеносной системы с наиболее выраженными резистивными функциями. Характерная черта их стенки - наличие слоя гладкомышечных клеток. Артериолы вместе с прекапиллярами обеспечивают формирование периферического сопротивления сосудов и поддержку артериального давления.

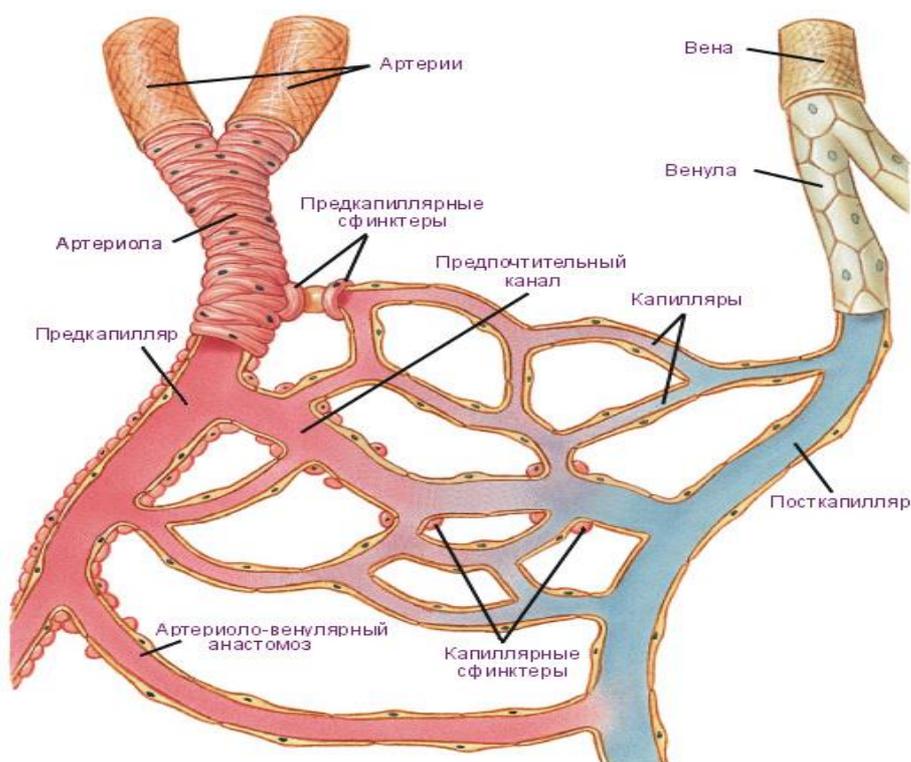


Рисунок 1. Строение микроциркуляторного русла (по данным книги Rani T.J) [92]

Наиболее многочисленными сосудами являются кровеносные капилляры, в которых осуществляется обмен между кровью и тканями. Общая длина капиллярного русла человека примерно равняется длине трех экваторов земного шара. Стенка капилляров состоит из эндотелиального и базального слоев. Перициты расположены снаружи капилляров, на стенках которых обнаружены эфферентные нервные окончания, значение которых связано с регуляцией изменения просвета капилляров. Транскапиллярный обмен поддерживающийся процессами микроциркуляции во многом зависит от функционально-анатомического состояния капилляров [52].

Артериоло-венулярные шунты являющиеся важнейшим компонентом микроциркуляторно русла осуществляют регуляцию капиллярного кровотока и его оптимальное распределение кровотока между органами и внутри них, поддерживая уровень регионального и системного давления крови [31]. В соответствии с этим, движение крови в МЦР разделяется на два потока: транскапиллярный (основной) и внекапиллярный.

В паренхиматозных органах (легких, селезенке, печени) встречаются закрытые капилляры. Существует мнение, что число функционирующих капилляров зависит от работы прекапиллярных сфинктеров, которая в свою очередь зависит от уровня продуктов метаболизма.

Микроциркуляторная система находится под влиянием многофакторной системы регуляции и в настоящее время еще не до конца изучена: общая система регуляции (регуляция в пределах системы кровообращения), местная регуляция (в пределах органа), саморегуляция (в пределах микроциркуляторной единицы).

Влияние нервной системы на уровне прекапиллярных сфинктеров становится минимальным. И лидирующим становится местная гуморальная регуляция тканевого кровотока, и как следствие транскапиллярного обмена, посредством тканевых метаболитов и вазоактивных медиаторов (гистамин, адреналин, ацетилхолин, серотонин, брадикинин).

В последние годы благодаря современным научно-техническим достижениям неинвазивные методы оценки МЦ все больше применяются в педиатрической практике [82]. Это позволяет выявить степень зрелости и характер функционирования отдельных звеньев системы МЦ, а также специфику их взаимодействия на разных этапах развития ребенка.

1.2.1 Капилляроскопия ногтевого ложа

Капилляроскопия ногтевого ложа является одним из высокоинформативных методов оценки состояния микроциркуляции. К преимуществам данного метода относятся: простота, неинвазивность, доступность объекта исследования, моментальная визуализация МЦ, безболезненность (что особенно важно в педиатрической практике), а также возможность ранней доклинической диагностики некоторых патологических изменений [84, 46,25,85, 66, 98].

Впервые примитивный микроскоп для изучения мелких кровеносных сосудов был использован в 1663г. Joan Christophorous, а в 1912г. W.R.Lombard описал методику прижизненной капилляроскопии кровеносных капилляров кожи человека [25]. Основателем клинической капилляроскопии является O.Muller 1992г, который первым оценил статические параметры капилляров. В 1992г. русский ученый А.И. Нестеров расширил понимание о строении сосудистого русла, сообщив о том, что диаметр артериального отдела меньше, чем венозного, а самым широким отделом является переходный.

С помощью современных капилляроскопов и компьютерных программ обработки информации можно получить данные о состоянии микроциркуляторного русла посредством интерпретации следующих параметров: плотности расположения капиллярных петель, наличия аваскулярных зон, размера и формы петель, ориентации капилляров, наличия микрокровоизлияний, расширения подсосочковых венозных сплетений [46,67]. Оценку данных параметров можно проводить с помощью описательного, полуколичественного и количественного методов [23]. Капилляроскопия ногтевого ложа отражает функцию микрососудов в различных отделах тела [93], в том числе и в микрососудах дыхательных путей при БА [77,78].

Непосредственным объектом исследования при проведении капилляроскопии являются капилляры ногтевого ложа пальцев рук или ног,

благодаря их горизонтальному положению относительно поверхности тела, что позволяет оценить капилляр на всем протяжении.

В исследовании, проведенном Ramenghi и Sabatino (1994), показано, что у новорожденных МЦР представлено первичной сетью относительно широких капилляров, артериальных и венозных сосудов. У детей 2-3 месяцев происходит увеличение плотности капилляров первой линии ногтевого ложа. Капилляры при этом короткие и широкие (Herrick, 2000г.). К трем годам происходит удлинение капиллярных петель. В 5 лет отчетливо выражен полиморфизм сосудов, капиллярная сеть диффузная. В последующем, к 6-7 годам капиллярная сеть стремится к упорядочению архитектоники. Субкапиллярная сеть становится менее выраженной, за счет погружения ее вглубь кожи, что также способствует увеличению скорости кровотока. Число функционирующих капилляров в коже приблизительно составляет 40-60 на мм². В 14-17 лет капиллярная сеть аналогична взрослому человеку [25]. В норме капилляры имеют шпилькообразную форму и параллельную ориентацию (Табл.1) [84,95].

Таблица 1. Характеристика параметров капилляров у здоровых взрослых, $M \pm m$ (по данным статьи Mahnaz E.T., Alimohammad F.)

	Исследователи	Кол-во Пациентов, шт.	Длина Капилляра, мкм	Плотность капилляров, шт.	Переходный отдел, мкм	Венозный отдел, мкм	Артериальный отдел, мкм
1986	Lefford and Edwards	18	146,3±54,7	39,8±9,6	34,3±8,9		10,9±2,7
1992	Grass i et at.	25	23,3±51,9	35,4±9,4	38,1±9,4	12,0±3,0	
1996	Kabasakal et al.	38	215±40				
1996	Bukhari et al.	10		36		11	7
2000	Bhushan et al.	44				13,6±2,6	11,3±2,3
2000	Bukhari et al.	20		42,7		15,6	13
2013	Lambova and Muller-Lander	34	197±70			18±1	13±1
2013	Hofstee et al.	14		45,46±8,79		15,95±4,08	13,60±2,74
2013	Graceffa et al.	30		46,1± 10		17,5±3,1	14±3,2
2013	Ingegnoli et al.	100	237	41			
2014	Le and Cho	25	270±35	32,5			

В таблице 1 представлен ряд немногочисленных работ, посвященных капилляроскопии ногтевого ложа у здоровых взрослых. Согласно данным разных авторов видно, что плотность капилляров у взрослых людей находится в диапазоне от 32,5 до 46,1 мкм [86]. Одной из первых значимых работ, описывающих нормальную капилляроскопическую картину ногтевого ложа у детей, была работа М.Т. Terreri et.al. в 1999г.. Было обследовано 329 практически здоровых пациентов, капилляроскопическая картина у них соответствовала таковой у взрослых, за исключением плотности капилляров (равной 5-9 кап./мм), и чаще, чем у взрослых встречаются аномалии

капиллярных петель (36%), форма отличная от U-образной (27%), извитость (10%), кустовидность (6%) [36,99,76].

Согласно данным, полученными Francesca I. и Ariane L.H. 2013г. у новорожденных (первых двух дней) - примитивная сосудистая сеть, состоит из вен и артерий глубоких слоев, при этом сосудистые петли развиты не до конца. К окончанию первого месяца жизни капилляры начинают удлиняться, располагаются относительно равномерно, артериальный и венозный отделы одинаковые. У младенцев происходит быстрое удлинение и формирование шпилькообразных петель, с дифференцировкой на артериальный и венозный компоненты. Дети старше 6 лет имеют зрелую форму микрососудистого русла. У детей старше 10 лет, число (плотность) капилляров равна таковой у взрослых. Число не специфических ненормальных капилляров увеличивается с возрастом. Размер петли также имеет четкую возрастную корреляцию - артериальный и венозный размер имеет тенденцию к увеличению с возрастом, тогда как диаметр их более стабилен. Гендерных различий ученые не обнаружили. Однако обнаружили тенденцию к увеличению плотности капилляров, что может быть связано с процессом созревания ребенка.

При подсчете вручную числа капилляров первой линии на протяжении стандартного экранного расстояния было показано, что плотность капилляров эквивалентна фактической длине ногтевого ложа 2-3 мм, соответственно. Средняя плотность капилляров 6,7 кап/мм (диапазон 5,3-9,3), отмечалось увеличение плотности по мере роста ребенка [70].

Французские авторы показали, что средняя плотность капилляров у детей до 10 лет - 9 кап/мм, по сравнению с 10 кап/мм у взрослых. Итальянская группа ученых получила несколько повышенное число капилляров в диапазоне от 9 кап/мм у новорожденных и до 14 кап/мм у подростков. В крупнейшем исследовании, проведенном Terry с соавт., средняя плотность капилляров была в диапазоне 6,8-7,3 кап/мм у 329 детей в диапазоне 2,1-16, лет. Британские авторы обнаружили плотность капилляров в диапазоне от 5-7,3 кап/мм у детей в возрасте от 6-15 лет.

По результатам одного из исследований, проведенного в 2015г. (Piotto DP, Sekiyama J, Kayser C, Yamada M, Len CA, Terreri MT.) включающего 100 детей в возрасте от 5 до 18 лет, были получены следующие результаты: длина капилляров $278,6 \pm 60,3$, межкапиллярное пространство $124,1 \pm 28,1$, ширина капилляра $15,0 \pm 2,6$. Межкапиллярное пространство было больше у девочек, чем у мальчиков. У подростков от 15 до 18 лет были более длинные и расширенные капилляры по сравнению с другими группами детей. Отмечено значительное увеличение числа кап/мм с возрастом: 6,1 кап/мм (5-7 лет), 7,0 (8-10 лет), 8,0 (11-14 лет) и 9,3 (15-18 лет). Была выявлена позитивная корреляция между возрастом и количеством капилляров/мм, длиной капилляров и их шириной [90].

Из приведенных результатов исследований можно сделать вывод, что в процессе развития организма капиллярное звено МЦР претерпевает ряд изменений (удлинение капилляров, их пространственной упорядоченности, приобретением ими параллельного расположения в терминальном и последующих рядах, отмечается сближение артериального и венозного отделов капиллярной петли), которые направлены на обеспечение наиболее рационального использования функциональных резервов организма [25,86,90].

Работ, посвященных исследованию нарушений МЦ у детей, страдающих БА, очень мало. Бережанский П.В. в своем исследовании, включавшем 125 детей в возрасте от 2 до 36 месяцев, перенесших обструктивный бронхит, выявил ряд изменений в терминальном отделе МЦР: изменение диаметра артериального и венозного отделов капилляров, увеличение диаметра венозного отдела капилляра и уменьшение артериоло-веноулярного коэффициента. А так же увеличение коэффициента поперечной деформации капилляров. Были выявлены изменения со стороны архитектоники капилляров (спиралевидные капилляры, капилляры с однократной перекруткой), отмечено появление экстравазатов [6].

Воронина с соавт. установила, что большое значение имеет длительность и стадия заболевания БА, так в острую фазу отмечается изменение артерио-венулярного коэффициента, а в ремиссию изменяется архитектура капилляров, меняется их форма и извитость. По мнению Verdant S.et.al у пациентов, длительно страдающих БА, в стадии неполной ремиссии длительно сохраняются изменения архитектуры капилляров. В редких работах с исследованием биоптатов легочной ткани у единичных пациентов с тяжелой бронхиальной астмой отмечено увеличение плотности капилляров по сравнению со здоровыми.

1.2.2 Лазерная доплеровская флоуметрия

Не менее важным современным методом оценки общего состояния микроциркуляторно-тканевых систем является ЛДФ. Преимуществами данного метода является его неинвазивность, доступность объекта исследования и возможность более детальной оценки механизмов регуляции кровотока [29,58,45]. В качестве датчика в приборах используется зонд. В основе метода лежит оптическое неинвазивное зондирование тканей излучением и анализ рассеянного (отражение от статических компонентов) и отраженного (отражение от движущихся в тканях эритроцитов) излучения, имеющего доплеровский сдвиг (Рис. 2). Другими словами прибор формирует сигнал, амплитуда которого пропорциональна скорости и количеству эритроцитов в единицу времени [51].

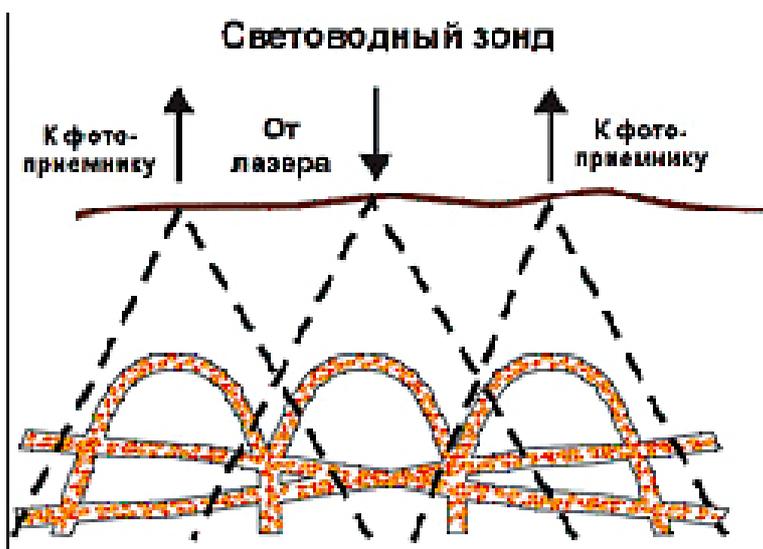


Рисунок 2. Схема зондирования ткани лазерным излучением (по А.И.Крупаткину, В.В. Сидорову)

В клинической практике чаще всего объектом для функциональной диагностики состояния микроциркуляторно - тканевых систем является кожный покров [44,83,4]. При регистрации ЛДФ используют кожный покров, оптимальным участком является область пальцев, кисти. Это подтверждает ряд исследований. Согласно исследованию, проведенному на 15 различных участках тела у 80 испытуемых в возрасте от 18 до 24 лет, было показано, что наибольшее значение показателя микроциркуляции фиксируется на ладонной поверхности 4-го пальца кисти [24]. Так же было отмечено, что по мере приближения к дистальным сегментам конечностей наблюдается градиентное увеличение параметров МЦ, что связано с повышением плотности расположения капилляров (Рис. 3).

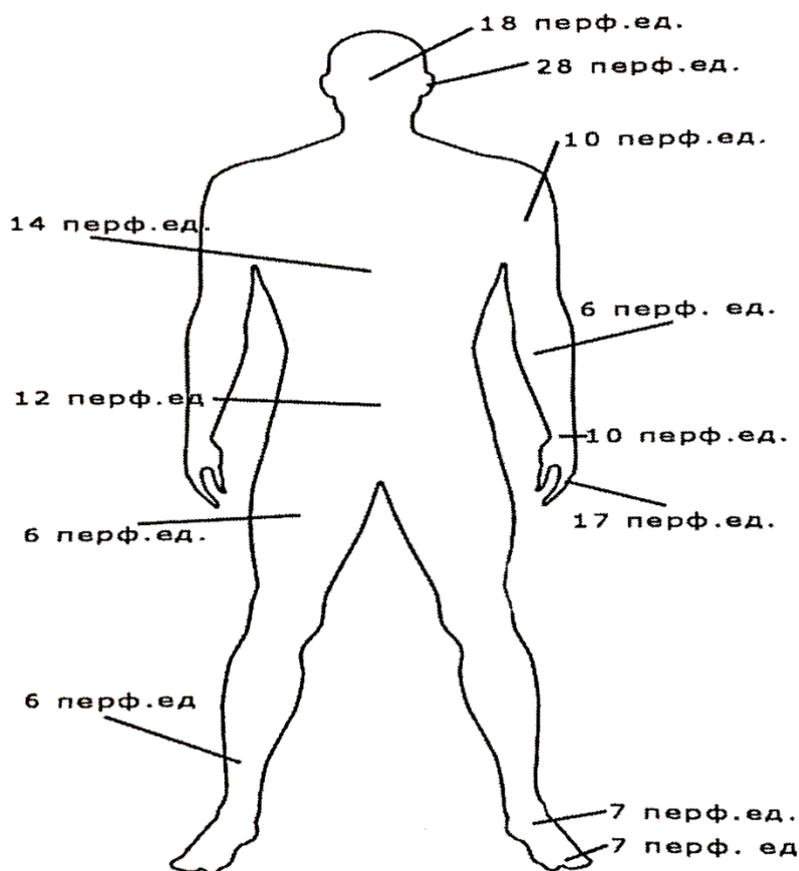


Рисунок 3. Показатели ЛДФ в коже различных областей тела.

Датчик анализатора комплекса «ЛАКК-М» неподвижно закрепляют на исследуемой поверхности [31,32].

ЛДФ-сигнал имеет постоянную и переменную от времени составляющие [51]. В 1992г. для описания выходного сигнала European Laser Doppler User Group (ELDUG) было принято решение при исследованиях ЛДФ применять единый термин «Laser Doppler Perfusion» (перфузия), а амплитуду этого сигнала измерять в перфузионных единицах (пф.ед. или п.е.) [31,32].

К постоянным показателям МЦ, оценивающих величину среднего потока крови, относят:

- 1) показатель микроциркуляции (ПМ)
- 2) среднеквадратичное отклонение (σ) - характеризует временную изменчивость перфузии отражая среднюю модуляцию кровотока. Чем

больше величина σ , тем лучше функционируют механизмы модуляции тканевого кровотока. Снижение данного показателя свидетельствует об угнетении активных вазомоторных механизмов с преобладанием симпатических влияний [31].

3) Коэффициент вариации (K_v) - соотношение ПМ и σ .

Анализ переменной составляющей ЛДФ-сигнала дает нам представление о механизмах регуляции кровотока.

К факторам регуляции относят (Рис.4):

1) Активные (тонус-формирующие факторы, непосредственно воздействующие на микрососуды) - эндотелиальный, миогенный и нейрогенный. Они модулируют поток крови со стороны сосудистой стенки и выполняют свою функцию через мышечно-тонический компонент, создавая поперечные колебания.

Колебания эндотелиального фактора регуляции обусловлено функционированием эндотелия и выбросом вазоактивных веществ (в том числе NO). Эндотелий сосудов представляет особый интерес, так как является самой крупной и важной эндокринной железой в организме [28,47,68,69,39]. Функция эндотелия заключается в поддержании баланса между выработкой релаксирующих и констриктивных факторов. Соответственно, при нарушении равновесия между указанными факторами возникает эндотелиальная дисфункция [20]. С помощью ЛДФ появляется возможность оценить функцию эндотелия, тем самым имеется возможность диагностики эндотелиальной дисфункции МЦР [31,39]. Так же неотъемлемую роль в развитии дисфункции эндотелия играет гипоксия, вызывая выраженные изменения функциональной активности эндотелия.

Принято различать пять условных форм гипоксии: легочная (гипоксическая, или дыхательная), гемическая, циркуляторная, гистотоксическая и смешанная. Легочная гипоксия может быть связана с обструкцией дыхательных путей, рестрикцией альвеолярной ткани, недостаточным поступлением кислорода в легочные капилляры, а так же с

различными диффузными расстройствами. Циркуляторная гипоксия возникает вследствие нарушения транспорта кислорода к ткани и связана с расстройствами кровообращения за счет нарушения тканевой микроциркуляции и реологических свойств крови. Наиболее часто встречается смешанная гипоксия, она обусловлена первоначально наличием легочной гипоксии в дальнейшем присоединением циркуляторной, т.к. возникает артериолоспазм и нарушение реологии крови. В дальнейшем метаболические расстройства усугубляются присоединением гемического и гистотоксического компонента.

При гипоксии отмечается усиления образования NO за счет стимуляции экспрессии гена eNOS [20,62]. Повышение миогенного тонуса прекапилляров приводит к уменьшению диаметра сосудов. При уменьшении диаметра сосуда возрастают сдвиговые напряжения на сосудистую стенку, что вызывает высвобождение оксида азота эндотелием, который препятствует вазоконстрикторному эффекту и снижает (Meyer M.F. et.al. 2003) гипоксию ткани.

Формирование эндотелиальной дисфункции происходит при серьезных поражениях эндотелиальной выстилки и нарушениях ее целостности. Нейрогормоны через появившиеся в интиме сосуда деэндотелизированные участки, непосредственно воздействуют на гладкомышечные клетки, вызывая их сокращение. Параллельно с усугублением тяжести поражения сосудов развивается истощение компенсаторной вазодилатирующей активности эндотелиоцитов с преобладанием вазоконстрикторных и пролиферативных реакций [69,20].

2) Пассивные факторы (факторы, формирующиеся вне системы микроциркуляции) - это пульсовая волна со стороны артерий и присасывающее действие «дыхательного насоса» со стороны вен, создающие продольные колебания.

Регистрируемый в ЛДФ-грамме колебательный процесс является результатом наложения колебаний, обусловленных активными и пассивными факторами [45].

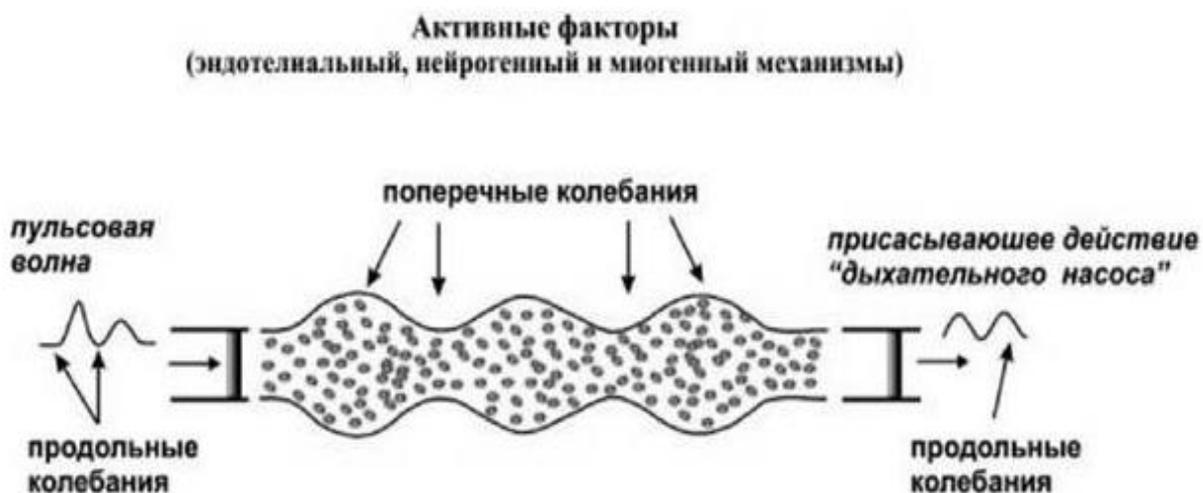


Рисунок 4. Факторы, определяющие модуляцию кровотока (по А.И. Крупаткину, В.В. Сидорову, 2014)

Каждая из этих оставшаяся характеризуется двумя параметрами: F -частотой (Гц) и амплитудой $-A$ (пф.ед.). Колебания тканевого кровотока исследуются в диапазоне от 0,02 до 2 Гц [31,25].

В соответствии с этим авторы предлагают выделить следующие волны флуксуций:

- Медленные волны в диапазоне частот 0,07-0,2Гц
- Быстрые волны в диапазоне частот 0,2-0,4Гц
- Пульсовые волны в диапазоне частот 0,8-1,5 Гц

С помощью анализа амплитудно-частотного спектра (АЧС) колебаний перфузии и ветвей преобразования, возможен детальный анализ функционирования МЦР. По величине амплитуд колебаний микрокровотока в конкретных частотных диапазонах можно оценить функциональное состояние определенных механизмов контроля перфузии. Определение вклада амплитуды колебаний определенного частотного диапазона

относительно средней модуляции кровотока оценивается с помощью формулы A/σ , что позволяет исключить влияние не стандартных условий проведения исследований.

На основании проведенных комплексных исследований удалось выделить следующие типы МЦ, обусловленные различным уровнем базального тканевого кровотока [17]. Чаще встречается - мезоемический тип характеризуется средними параметрами тканевого кровотока и хорошо выраженной аperiodичностью колебаний в ЛДФ-грамме. Такая ЛДФ-грамма отражает высокий уровень подвижности эритроцитов в тканях. Для гиперемического типа микроциркуляции характерен повышенный уровень тканевого кровотока. При биомикроскопии у таких пациентов наблюдается повышенная плотность функционирующих капилляров. У здоровых лиц с гиперемическим типом МЦ обычно регистрируется монотонная ЛДФ-грамма, которая характеризуется относительно высоким уровнем показателя микроциркуляции и монотонным характером флуксуаций с незначительной амплитудой.

У практически здоровых людей с гипоемическим типом МЦ регистрируется монотонная ЛДФ-грамма с низким уровнем ПМ. Наиболее частым типом микроциркуляции у здоровых мальчиков является мезоемический тип в 87% случаев; гиперемический у 4% и гипоемический у 9%. У девушек мезоемический тип МЦ встречается в 57% случаев, гиперемический тип микроциркуляции - 14% случаев, а гипоемический тип - 29% случаев [17]. (Рис.5, табл.2).

Таблица 2 Типологические особенности микроциркуляции

Показатели микроциркуляция и реактивности микрососудов	Гипоемический тип	Мезоемический тип	Гиперемический тип
Уровень тканевого кровотока	Нижние значения в пределах нормы	Средний	Верхние значения в пределах нормы
ЛДФ-грамма	Монотонная с низким ПМ	Апериодическая	Монотонная с высоким ПМ
Показатель микроциркуляции, С КО, <i>перф.ед.</i>	5,6 ± 0,94	18,4 ± 0,94	23,8 ± 0,95
ИФМ	1,04 ± 0,08	1,98 ± 0,06	1,76 ± 0,17
Уровень реактивности микрососудов на дыхательную пробу, %	81-82	99-100	42-43
Резерв капиллярного кровотока, РКК, %	206+19,2	173+5,7	133+3,7
Уровень реактивности микрососудов на окклюзионную пробу, %	59	100	52

Примечание: приведены показатели ЛДФ-грамм в коже тыльной поверхности 4-го пальца кисти.



Рисунок 5. Индивидуально-типологические особенности микроциркуляции крови
 Типы микроциркуляции: 1-гиперемический тип; 2- мезоемический тип; 3-гипоемический тип

Гуровой О.А. проведен ряд исследования [17,16,18] в результате которых было отмечено, что у студентов, средний возраст которых составлял 18 лет, при проведении трехкратного исследования микрогемодициркуляции в течение суток (утром, в обед и вечером), было выявлено снижение тканевой

перфузии кровью и потребления кислорода тканью к вечеру. В обеденные часы в регуляции МЦ отмечается уменьшение активности вазомоторных механизмов и усиление роли пульсовых и дыхательных влияний, что свидетельствует о повышенной нагрузке в регуляции сердечно-сосудистой системы в эти часы. Уровень перфузии тканей кровью остается относительно стабильным в утренние часы и дневные часы, и имеет тенденцию к снижению в вечернее время на 10% и более. К 18-20 часам показатели средней скорости кровотока достигают максимальной величины.

Насыщение артериальной крови кислородом (SpO_2) остается неизменным от 10-12 до 18-20 часов и составляет 90-97% [17,16,18]. В течение дня отмечается тенденция к снижению потребления кислорода тканями [16]. В возрастном диапазоне от 8 до 19 лет у девочек и мальчиков отмечено повышение тканевой перфузии, что обусловлено высокой интенсивностью обменных процессов и уровнем метаболической активности, связанной с началом перестроек механизмов регуляции МЦ при переходе к пубертатному периоду [54]. Что касается группы испытуемых 17-26 лет, у большинства был зарегистрирован мезоемический тип МЦ [18].

Как говорилось ранее, большое значение в определении тяжести и прогноза заболевания БА имеют изменения гемодинамики и микроциркуляции [5]. Современные исследования с использованием ЛДФ свидетельствуют, что при легкой и среднетяжелой БА в период обострения снижается уровень нейрогенной и миогенной регуляции, при нормальных значения показателя микроциркуляции. Тогда как при тяжелой форме БА показатель микроциркуляции существенно снижается. Таким образом, развитие БА характеризуется зависимыми от тяжести заболевания изменениями в системе микрогемодинамики, связанными с активностью воспалительного процесса в дыхательном тракте и параметрами бронхиальной проходимости. При легкой БА отмечаются преходящие изменения капиллярного кровотока и адекватное включение механизмов регуляции микрососудистого тонуса с целью поддержания уровня тканевой

перфузии. При обострении среднетяжелой БА отмечается повышение уровня периферической гемодинамики в ответ на активный воспалительный процесс в респираторном тракте и возрастание степени бронхиальной обструкции [5,2]. По результатам работы Шиловой А.А, (2010г.) у детей с обострением БА отмечалась статистически значимое снижение показателя микроциркуляции, более выраженное у детей с тяжелой БА [60,59]. Однако есть работы, в которых не было выявлено статистически значимых изменений в частотных диапазонах амплитуд колебаний факторов регуляции кровотока, что свидетельствует о сохранности артериального и венозного кровотока [55]. Степень изменений в микроциркуляторно-тканевых системах у детей зависит от продолжительности течения БА. При длительном течении заболевания у ряда пациентов имеются данные о нарушении функционирования эндотелиальной системы регуляции [55].

1.3 Окислительно - восстановительные процессы на уровне микроциркуляторно-тканевых систем и возможности их оценки

Целостность микроциркуляции и митохондриальной активности является ключевым фактором поддержания нормальной клеточной активности. Одним из основных факторов, обеспечивающих нормальное функционирование тканей и органов, является соответствующий уровень подачи кислорода в митохондрии, необходимый для производства АТФ.

В процессе производства энергии митохондриальные сети являются ключевыми элементами, обеспечивающими метаболизм субстратов в АТФ. Многие патологические состояния связаны с митохондриальной дисфункцией, поскольку митохондрии связаны с широким спектром клеточных процессов. Следовательно, любое нарушение в производстве энергии вызывает разрушительные последствия, которые в конечном итоге могут привести к гибели клеток в результате химической ишемии. Для оценки здоровья и функций митохондрий существует несколько

биоэнергетических параметров, отражающих либо всю функциональность митохондрий, либо отдельные митохондриальные комплексы.

Дыхательная цепь является частью процесса окислительного фосфорилирования и включает в себя три белковых комплекса и подвижные молекулы-переносчики. Комплексы дыхательной цепи построены из большого количества полипептидов, а также они содержат ряд окислительно-восстановительных ферментов (в том числе FAD). По показателям дыхательной цепи возможно диагностировать ишемию ткани.

По имеющимся данным в тканях очага воспаления тормозятся процессы дыхания и синтеза аденозинтрифосфорной кислоты, меняется окислительно-восстановительный статус клеток и концентрация эндогенных флуорофоров, в том числе и NADH [44]. Одним из способов оценки функционального состояния дыхательной цепи является оценка содержания коферментов NADH и FAD, определяемого по интенсивности их эндогенной флуоресценции. Что представляется возможным осуществить с помощью лазерной флуоресцентной спектроскопии.

Благодаря лазерной флуоресцентной спектроскопии представляется возможным оценить клеточный метаболизм посредством определения содержания эндогенных флуорофоров. Таким образом, данный метод является неинвазивным способом диагностики кислородного метаболизма тканей [32].

Флуоресценция возникает при поглощении света и обусловлена электролитным переходом молекулы из возбужденного состояния в стабильное. Среди эндогенных флуорофоров кожи находятся различные формы никотинамид-аденин-динуклеотида (NAD). В клеточном метаболизме принимают участие редуцированная (NADH) и окисленная (NAD⁺) формы NAD [56]. NADH является переносчиком электронов к молекулярному кислороду. FAD является акцептором электронов. Для возбуждения флуоресценции NADH используется излучение с длиной волны 365 нм, при этом спектр флуоресценции - 460-470 нм. Для

возбуждения FAD используют излучение с длиной волны 450 нм, спектр флуоресценции при этом равен- 510-520 нм. Интенсивность спектра флуоресценции NADH пропорциональна его содержанию в митохондриях. NADH, FAD и их окисленные аналоги имеют решающее значение для широкого спектра окислительно-восстановительных реакций в живых клетках [82,85,56]. В частности, окислительно-восстановительное отношение (FAD + NADH) позволяет осуществлять мониторинг метаболического состояния клетки в режиме реального времени во время патофизиологических изменений.

На протяжении последних десятилетий данный способ в медицине используется в основном для диагностики злокачественных опухолей, так как более ста лет назад было выявлено, что развитие злокачественных новообразований сопровождается повышенным накоплением порфиринов в тканях опухоли. Выявление данного феномена привело к созданию методов флуоресцентной диагностики [43].

Первая попытка применения флуориметрии NADH к тканям человека *in vivo* была предпринята еще в 1971 году Jobsis et al. на изолированных клетках из тканей человека, для оценки относительной скорости потребления кислорода и биоэнергетической активности интактной коры головного мозга пациентов. Используя флуоресцентную микрофлуориметрию NADH, исследователи наблюдали за обнаженным мозгом нейрохирургических пациентов, проходящих лечение по поводу очаговых судорог головного мозга. Проводилась корреляция между электромиографическими данными и окислительно-восстановительным состоянием NADH при прямой кортикальной стимуляции контролируемой области. В последующем был проведен ряд исследований посвященных оценке уровня данного кофермента в различных тканях *in vivo*. В том числе Lohman [8] сообщил о мониторинге легочной ткани при различных состояниях. Флуоресцентная томография (с пиком при 460 нм) вместе с другими установленными методами может быть использована для определения гистологии образца

биопсии. Установлено, что в раковых клетках наблюдается увеличение скорости метаболизма [87].

Исходя из их функциональной роли, внутриклеточные NADH и FAD обладают диагностическим потенциалом в качестве естественных биомаркеров для окислительно-восстановительных реакций клеток, энергетического метаболизма и митохондриальных аномалий в различных патофизиологических условиях [88,64].

Регистрация флуоресценции ткани слизистой полости носа у людей страдающих аллергическим ринитом с длиной волны 440 нм ассоциируется с аккумуляцией в ткани активных лейкоцитов (эозинофилов и нейтрофилов), поддерживающих локальную аллергическую реакцию за счет секреции биологически активных веществ и продукции активированных форм кислорода. Обе субпопуляции лейкоцитов активны в плане фагоцитоза, реализация которых осуществляется благодаря ферментам NADH - оксидазам. Активация клеток, экспрессирующих данный фермент, приводит к изменению их спектральных характеристик и увеличению флуоресценции связанного с белками NADH.

Важно отметить, что эти коферменты являются естественными флуоресцентными, и, следовательно, для их диагностики может осуществляться подлинная неинвазивная визуализация метаболических активностей в живых клетках и тканях. Аутофлуоресцентные свойства NADH и FAD устраняют потенциальную токсичность, неспецифическое связывание и вмешательство в биомолекулярные функции, которые связаны с использованием экзогенных красителей.

Мониторинга одного параметра, такого как функция митохондрий или только микроциркуляторный кровоток, недостаточно для правильной диагностики энергетического метаболизма тканей.

Поэтому целесообразно для оценки функционирования микроциркуляторно-тканевых систем у пациентов при различных состояниях применять комплексный подход с одновременным применением ряда

современных неинвазивных методик, таких как капилляроскопия, ЛДФ и спектроскопия. В настоящее время работ, оценивающих все звенья микроциркуляторно-тканевой системы в педиатрической практике единицы.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика обследованных пациентов

Исследование проводилось в период с 2016 по 2019г. 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 – д.м.н., профессор Н.А. Геппе, главный врач - С.И. Валиева). Дети обследованы в отделении пульмонологии УДКБ (заведующая отделением, к.м.н.- И.В. Гребенева).

Было обследовано 132 ребенка в возрасте 6-18 лет.

Дизайн исследования: выборочное динамическое проспективное исследование.

В основную группу обследуемых детей включались пациенты

- возраст от 6 до 17 лет (включительно);
- дети через 3-4 недели после обострения БА
- дети с установленным диагнозом бронхиальная астма различной степени тяжести (легкая, среднетяжелая, тяжелая)

Все пациенты или их законные представители подписывали информированное согласие на участие в исследовании.

Диагноз БА устанавливался на основании жалоб, данных анамнеза, клинической картины, с учетом данных лабораторно-инструментального обследования в соответствии с рекомендациями Национальной программы «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактики» (2017г.), Федеральных клинических рекомендаций по диагностике и лечению БА, 2017г.. и GINA (2019, 2020гг.).

Протокол исследования был одобрен Межвузовским Комитетом по этике (протокол №11-17 от 06.12.2017).

Всем пациентам проводилось комплексное обследование, включавшее общеклиническое (определение массы и длины тела, клинический и биохимический анализы крови, оценка функции внешнего дыхания), аллергологическое (сбор аллергоанамнеза, постановка кожных скарификационных проб, определение уровня общего и специфических IgE). Анкета с блоками вопросов по анамнезу жизни и заболевания, наследственности, характеру и длительности применяемой терапии, клинико-функциональным характеристикам пациентов применялась для оценки возникновения и течения БА .

Была выявлена отягощенная по аллергическим заболеваниям наследственность у детей: при легкой БА - у 80%, при среднетяжелой БА - 89%, при тяжелой БА - у 95%. Аллергологическая отягощенность чаще встречалась по линии матери (Табл.3).

В 48 % случаев обострение БА были вызваны респираторными инфекциями. В 45% случаев проявления бронхообструкции провоцировались причинно-значимыми аллергенами. Сочетание бронхиальной астмы с аллергическим ринитом отмечалось у 85% пациентов, с атопическим дерматитом у 25% соответственно. На момент проведения работы длительность заболевания БА у пациентов составила ([медиана интерквартильный размах]) 6,2 ([3,00-10,00]) лет.

Возраст пациентов (медиана [интерквартильный размах]) с легкой БА 10 [7±3,9], со среднетяжелой БА 13 [7±2,8] и тяжелой 13,5 [3,5±2,0]. Мальчиков было - 70%, девочек - 30%. Из них дети с легкой БА n= 43 , среднетяжелая БА n= 39 , тяжелая БА n= 20.

Также было обследовано 30 детей того же возраста без патологии респираторной системы (контрольная группа). В контрольной группе пациентов средний составил (медиана [интерквартильный размах]) 10,0 [3,0±2,5] лет. В динамике через 3 и 6 месяцев терапии обследовано 102 ребенка (Табл.3).

Таблица 3. Общая характеристика обследованных детей с БА различной степени тяжести

	Легкая	Среднетяжелая	Тяжелая
Число пациентов	43	39	20
Средний возраст, лет	13 [7±3,9]	10 [7±2,8]	13,5 [3,5±2,0]
Наследственная отягощенность по аллергическим заболеваниям	80%	89%	95%
Триггеры обострения			
Острые респираторные инфекции	50%	48%	48%
Причинно-значимый аллерген	45%	40%	50%
Сопутствующие заболевания			
Аллергический ринит	45%	70%	83%
Атопический дерматит	20%	25%	17%

Коморбидные заболевания (аллергический ринит, атопический дерматит) отмечены у 80% обследованных пациентов. У большинства детей наблюдалось сочетание БА и аллергического ринита, а у части пациентов встречалось сочетание БА и АД. У 20-30% отмечалось сочетание аллергического ринита + атопического дерматита и БА (Табл.4).

Таблица 4 Коморбидные заболеваний у детей с БА различной степени тяжести (в %)

	Количество больных (n)	%
БА+аллергический ринит	76	72,9
БА+атопический дерматит	35	30,5
БА+АР+поллиноз	25	20,4

У 47 детей (55,3%) показатель общего IgE у превышал возрастные нормы. Его значение в среднем было $471,3 \pm 44,1$ МЕ/мл. Таким образом повышение общего Ig E в 2 раза от возрастной нормы отмечалось у 12,9% (11), в 3-5 раз у 28,2% (24) и более 5 раз у 14,1% (12) детей. Относительные цифры эозинофилов в клиническом анализе крови - $7,4 \pm 0,8\%$.

Длительность ремиссии у обследуемых детей составляла: менее 1 месяца у 17%, 1-3 месяц у 25 %, более 6 месяцев у 58%. Дети с бронхиальной астмой были обследованы через 3-4 недели после ликвидации основных симптомов обострения, через 3 и 6 месяцев.

Все дети получали базисную терапию БА. С легкой степенью БА соответственно 1 ступени: низкие дозы иГКС (n=10) и антагонисты лейкотриеновых рецепторов (n=33). Со среднетяжелой БА соответственно 2-3 степеням: низкие (n=12) и средние дозы (n=27) иГКС + β_2 агонисты длительного действия. Дети с тяжелой БА получали терапию согласно 3-4 ступеням: средние/высокие дозы иГКС + β_2 агонисты длительного действия (n=15) + иммунобиологической терапией (омализумаб) (n=5).

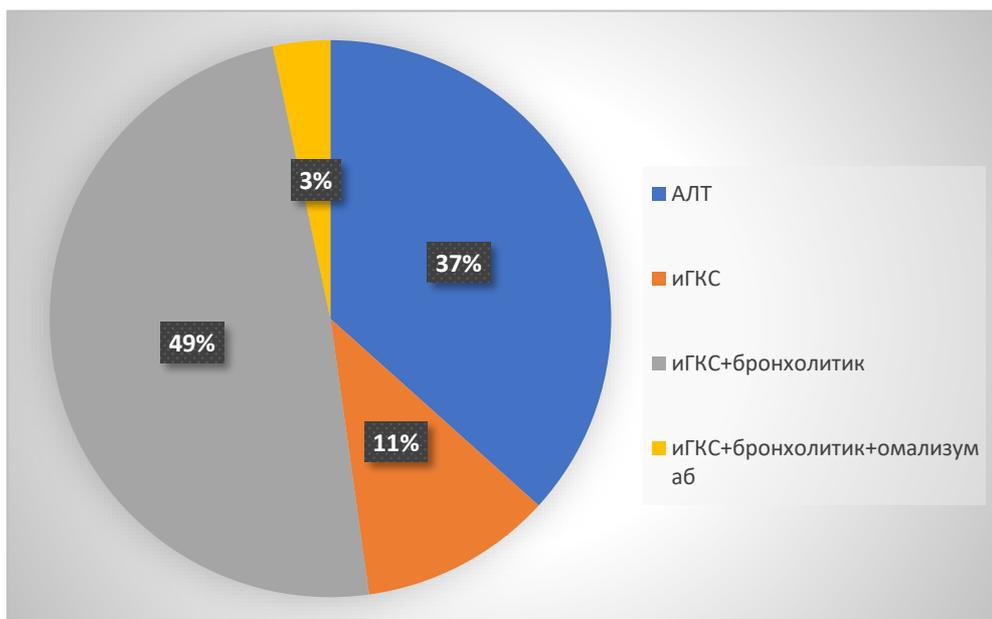


Рисунок 6 Распределение пациентов с учетом базисной терапии (в %)

Примечание. АЛТ-антилейкотриеновые препараты, ИГКС-ингаляционные глюкокортикостероиды.

У детей с БА различной степени тяжести контроль заболевания оценивался согласно GINA 2018, 2020гг..

2.2. Общеклинические методы обследования

В настоящем исследовании применялись:

- анализ данных анамнеза
- рутинное аллергообследование (определение уровня общего Ig E и специфических Ig E, кожные скарификационные пробы)
- исследование функции внешнего дыхания методом спирометрии
- оценка капиллярного звена микроциркуляции методом капилляроскопии ногтевого ложа
- исследование микроциркуляторно-тканевых систем методом лазерной доплеровской флоуметрии и оптической тканевой оксиметрии
- оценка состояние кислородного метаболизма тканей с помощью исследование содержания эндогенных флуорофоров (NADH) методом лазерной флуоресценции.

Анализ данных анамнеза проводили у всех детей в соответствии с анкетой (состоящей из 10 вопросов, анкета прилагается (Приложение 1). Уточняли анамнез жизни, анамнез заболевания, аллергоанамнез, семейный анамнез, оценивали длительность заболевания, длительность ремиссии, причинно-значимые факторы, проводимую терапию за период наблюдения.

Определение уровня общего и специфических Ig E проводили на базе Межклинической иммунологической лаборатории ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (заведующая лабораторией- Н.Г. Дашкова). Уровень общего IgE в сыворотке крови определялся методом количественного иммуноферментного анализа (ELISA) (реактивы АОЗТ «ДИА-плюс») с использованием двух моноклональных антител с различной этиотропной специфичностью. Одно из них иммобилизовано на твердой фазе. Второе конъюгировано с пероксидазой. Результаты были отражены в % от нормы. Референтные значения IgE в сыворотке крови детей от 1 до 6 лет составили до 60 МЕ/мл, от 7 до 18 лет до 150 МЕ/мл.

Спирометрия проводилась на аппарате «Spiro USB» (CareFusion Ltd.,США). Оценка результатов проводилась согласно границам норм и градации патологических отклонений показателей кривой «поток-объем»: форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁), пиковая скорость выдоха (ПСВ), максимальные объемные скорости потока кривой в точках, соответствующих объему легких 75%, 50%, 25% (МОС₇₅, МОС₅₀, МОС₂₅). Полученные результаты выражались в процентах от должных величин. Проводили ингаляционную пробу с бронхолитиком (сальбутамол 200-400 мкг в зависимости от возраста). Прирост ОФВ₁ и/или ФЖЕЛ на 12% и более считается существенным.

2.3. Специальные методы исследования.

Исследование капиллярного звена микроциркуляции проводилось методом капилляроскопии ногтевого ложа с помощью диагностического аппарата общеклинического применения «Капилляроскан-01» (разработка ООО «НЭТ РФ») (Рисунок 7).



Рисунок 7 Диагностический аппарат общеклинического применения «Капилляроскан-01»

Обработка и оценка данных капилляроскопии производилась с помощью специального программного обеспечения: статические параметры (форма и размер капилляров, число функционирующих капилляров первой линии, наличие аваскулярных зон, наличие экстра- и интравазатов, наличие светлых включений, сладж-феномена, периваскулярная зона) и динамических (наличие и длительность стаза), что позволяло в режиме реального времени получить данные о состоянии капиллярного звена (рис. 8, рис.9).

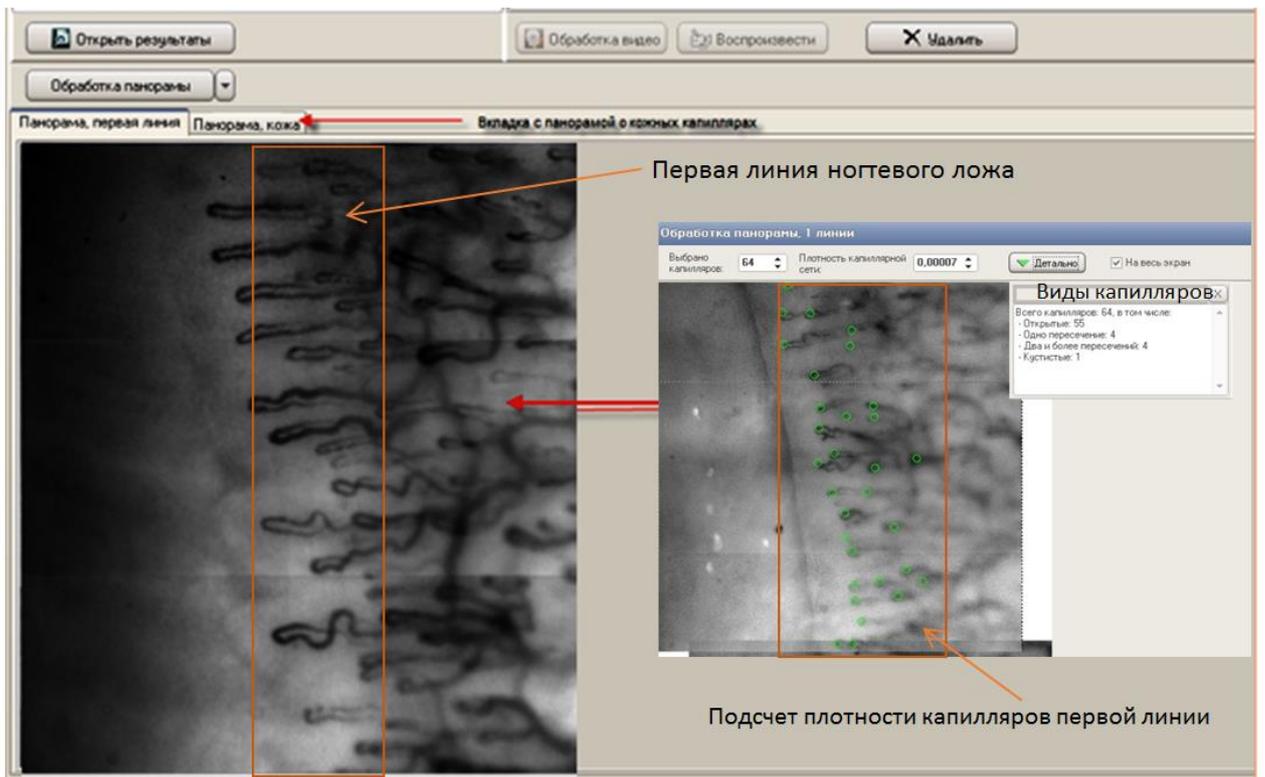


Рисунок 8 Интерфейс обработки статических показателей

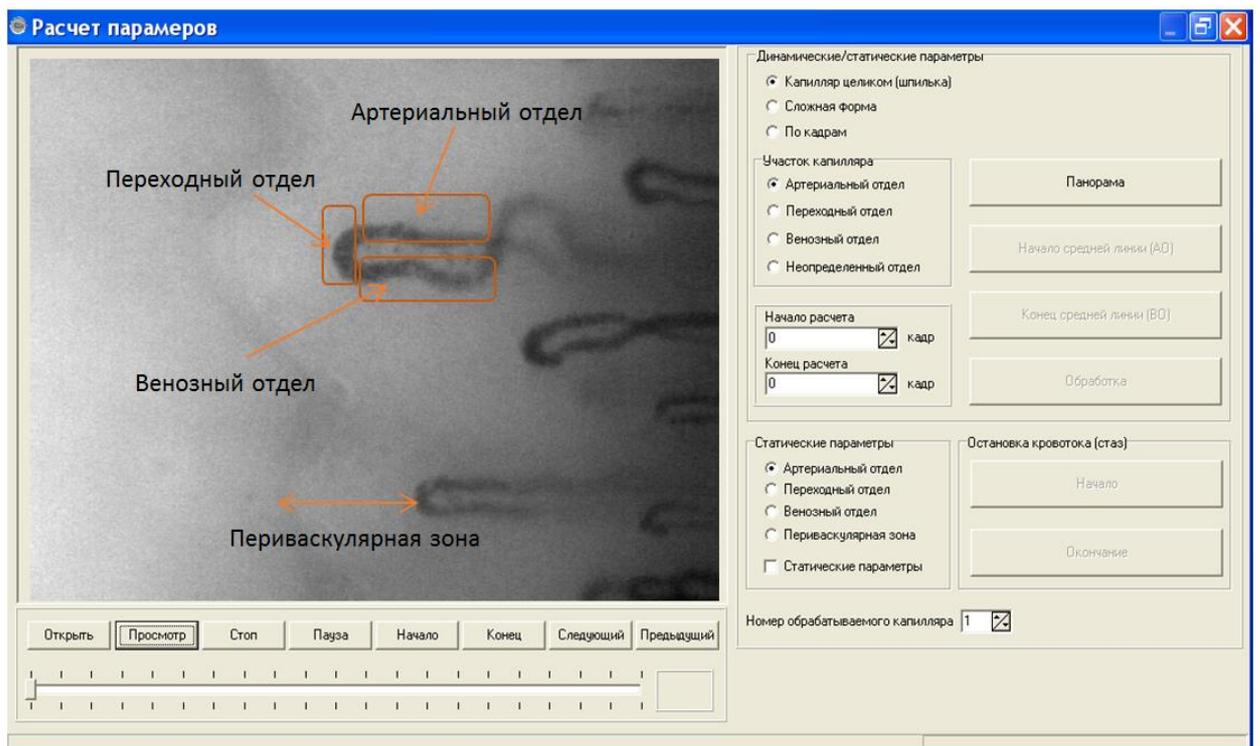


Рисунок 9 Интерфейс обработки параметров капилляроскопии

Диаметры артериального, переходного и венозного отделов капилляров определяли в режиме «просмотр видеоролика». Отделы капилляра идентифицируются по направлению движения крови: в артериальном отделе кровь движется центробежно в направлении к верхушке петли, а в венозном – от верхушки петли. В режиме «стоп-кадр» измеряется диаметр каждого отдела. Для оценки периваскулярной зоны измеряется расстояние от крайней наружной точки капиллярной петли до края периваскулярной зоны данного капилляра.

Исследование микроциркуляторно-тканевых систем методом лазерной доплеровской флоуметрии и оптической тканевой оксиметрии.

Лазерная доплеровская флоуметрия проводится с помощью аппарата разработанного ООО НПП «ЛАЗМА». В качестве датчика в приборах используется световой зонд, который фиксируются на исследуемой поверхности (кожа в области пальцев кисти). Запись сигнала осуществляется в положении исследуемого сидя, при этом рука находится на уровне сердца.

В комплекс «ЛАКК-М» входят: блок диагностики, встроенный оптико-волоконный зонд, встроенный пульсоксиметр, светофильтры калиброванные, кабель связи между комплексом и компьютером, CD-диск с программным обеспечением.

Комплекс многофункциональный лазерный диагностический «ЛАКК-М» предназначен для комплексного исследования состояния биологической ткани путем одновременного использования ряда неинвазивных методов диагностики. В ходе исследования методом лазерной доплеровской флоуметрии оценивают базовые показатели микроциркуляции (М-показатель микроциркуляции, σ - среднеквадратичное отклонение показателя микроциркуляции, K_v - коэффициент вариации показателя микроциркуляции) и факторы ее регуляции (активные (миогенный, нейрогенный, эндотелиальный) и пассивные (дыхательный, сердечный)) (Рис.10).

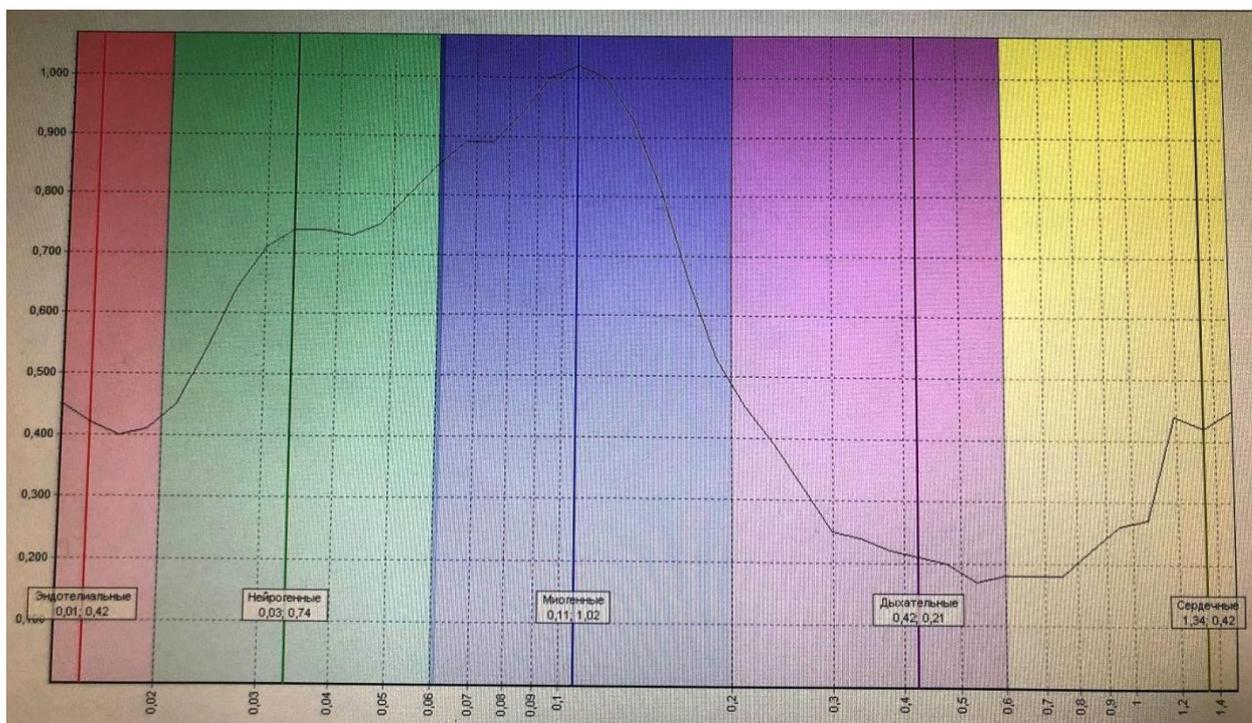


Рисунок 10 Интерфейс обработки активных и пассивных факторов регуляции кровотока. Пассивные: пульсовая волна (диапазон 0,8-1,6 Гц), дыхательная волна (диапазон 0,15-0,4 Гц); активные: миогенные колебания (диапазон 0,007-0,15 Гц), нейрогенные колебания (диапазон 0,002-0,052), эндотелиальные колебания (диапазон 0,0095-0,02 Гц).

Методом оптической тканевой оксиметрии (ОТО) можно оценить доставку и потребление кислорода в микроциркуляторном русле. Методом пульсоксиметрии оценивается сатурация кислорода артериальной крови.

Оценка содержания ферментов (NADH, FAD) в ткани осуществляется методом лазерной флуоресцентной диагностики (ЛФД), с помощью регистрации спектра вторичного излучения ткани на длине волны соответствующей максимальной длине поглощения излучения соответствующего фермента. Для оценки тканевого кислородного метаболизма применяют определение тканевого содержания NADH. В доплеровском канале применялся лазерный модуль с длиной волны излучения 1064 нм, для возбуждения флуоресценции NADH и FAD использовались источники с длиной волн излучения 365 нм и 450 нм соответственно. Показатель I_f отражает уровень концентрации в исследуемой области эндогенных флуорофоров.

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

ГЛАВА 3

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Параметры микроциркуляторно-тканевых систем у детей контрольной группы.

Для получения опорных показателей МЦ проведено амбулаторное обследование детей в возрасте 6–18 лет без острых и хронических заболеваний.

Объект исследования – ладонная поверхность безымянного пальца. Запись ЛДФ-граммы проводилась в течении 5 минут в режиме «ЛДФ + спектрофотометрия».

Проводилась оценка следующих параметров микроциркуляции: уровень перфузии (ПМ), сатурация микрокровотока (SO₂) и объемное кровенаполнение ткани (V_r). Для каждого параметра (ПМ, SO₂, V_r) выделены числовые значения: M- среднеарифметическое значение, δ- среднеквадратичное отклонение, K_v- коэффициент вариации. Оценивали активные и пассивные факторы контроля МЦ. Состояние базальной микроциркуляции оценивали по среднему значению показателя перфузии ПМ (среднего потока крови в интервалах времени), измеряется в перфузионных единицах (пф. ед.). Изменения ПМ характеризует повышение или снижение перфузии. Параметр δ- среднее колебание перфузии относительно среднего значения потока крови, тоже измеряется в перфузионных единицах (пф.ед) отражает временную изменчивость перфузии, среднюю модуляцию кровотока во всех частотных диапазонах. Параметр K_v - коэффициент вариации, определяет соотношение между величиной среднего потока крови и ее изменчивостью ($K_v = \delta / M \cdot 100\%$) [70,34,25].

Прежде чем оценить параметры микроциркуляторно-тканевых систем у детей контрольной группы нами была определена воспроизводимость метода. С этой целью было отобрано 10 детей в возрасте от 6 до 18 лет, которым было проведено три регистрации сигнала с ладонной поверхности 4 пальца кисти в течение 5 минут с интервалом в 5 минут (Табл. 5). В результате достоверной разницы результатов получено не было. Различия составляли не более 5–7%. Далее в контрольной и основной группах исследование проводилось однократно.

Таблица 5 Оценка воспроизводимости метода лазерной доплеровской флоуметрии

Пациент/ номер исследования	Показатель микроциркуляции, пф.ед		
	1	2	3
1	23,52	24,9	23,9
2	25,41	26,44	24,57
3	25,5	24,6	24,5
4	24,95	24,08	25,4
5	24,59	24,27	23,85
6	24,75	25,19	25,4
7	24,48	23,76	24,38
8	25,4	24,3	24,1
9	25,76	24,5	25,3
10	25,1	24,9	25,3
Среднее значение	24,946	24,694	24,67
Среднеквадратичное отклонение	0,65	0,75	0,63

А. Основные показатели микроциркуляторно-тканевых систем.

В контрольную группу вошли 30 практически здоровых детей. Средний возраст пациентов составил (медиана [интерквартильный размах]) 10 лет [3,0±2,5].

Среднее значение показателя микроциркуляции у детей контрольной группы составили $25,8 \pm 2,67$ пф.ед.. Параметр σ , оценивающий среднее колебание перфузии относительно значения потока был равен $2,67 \pm 1,3$ пф.ед.. Коэффициент вариации (K_v) $6,63 \pm 8,7$ %. Среднее значение показателя сатурации кровотока составило $85,81 \pm 4,6\%$. Среднее значение

объемного кровенаполнения ткани (V_T) равнялось $8,42 \pm 1,8$ пф.ед. Среднее значение сатурации SO_2 , оцениваемое с помощью оптической тканевой оксиметрии составило $85,81 \pm 4,6$ пф.ед. Полученные показатели нами были использованы как опорные (норма) для дальнейшей оценки микроциркуляции у детей с контролируемой бронхиальной астмой различных степеней тяжести (Табл. 6).

Таблица 6 Показатели микроциркуляции у контрольной группы пациентов

	ПМ	SO_2	V_T
ПМ, пф.ед	$25,78 \pm 2,9$	$85,81 \pm 4,6$	$8,42 \pm 1,8$
σ , пф.ед	$2,67 \pm 1,3$	$1,5 \pm 1,3$	$0,53 \pm 0,2$
K_v	$6,63 \pm 8,7$	$1,78 \pm 1,4$	$6,75 \pm 3,9$

Примечание. ПМ-среднее арифметическое показателя микроциркуляции; σ – среднее квадратическое отклонение амплитуды колебаний кровотока от среднеарифметического значения; K_v -коэффициент вариации. SO_2 – средний уровень кислородной сатурации (оксигенации) крови микроциркуляторного русла биоткани; V_T - фракционное объемное кровенаполнение микроциркуляторного русла ткани в зоне измерения.

Б. Факторы регуляции микроциркуляторно-тканевых систем (активные и пассивные)

К активным факторам относятся: эндотелиальный (в диапазоне $0,0095-0,02$ Гц), нейрогенный (в диапазоне $0,02-0,052$ Гц), миогенный (в диапазоне $0,07-0,15$ Гц). К пассивным факторам регуляции относятся: дыхательный (в диапазоне $0,15-0,4$ Гц) и сердечный (в диапазоне $0,8-1,6$ Гц). Активные факторы (нейрогенный, эндотелиальный, миогенный) непосредственно действуют на систему микроциркуляции, модулируют поток крови со стороны сосудистой стенки и проявляются через ее мышечный компонент. Пассивные факторы, такие как пульсовая волна и действие «дыхательного насоса», вызывают колебания кровотока вне системы микроциркуляции. Как активные, так и пассивные колебания влияют на поток крови, что ведет к изменению скорости и плотности потока эритроцитов. Колебания тканевого кровотока исследуются в диапазоне от

0,02 до 2 Гц. Как пассивные, так и активные факторы оцениваются в определенном диапазоне: сердечный в диапазоне 0,8-1,6 Гц, дыхательный 0,15-0,4 Гц, миогенный 0,007-0,15 Гц, нейрогенный 0,02-0,0052 Гц, эндотелиальный 0,02-0,052 Гц (рис.11) [31,34,25].

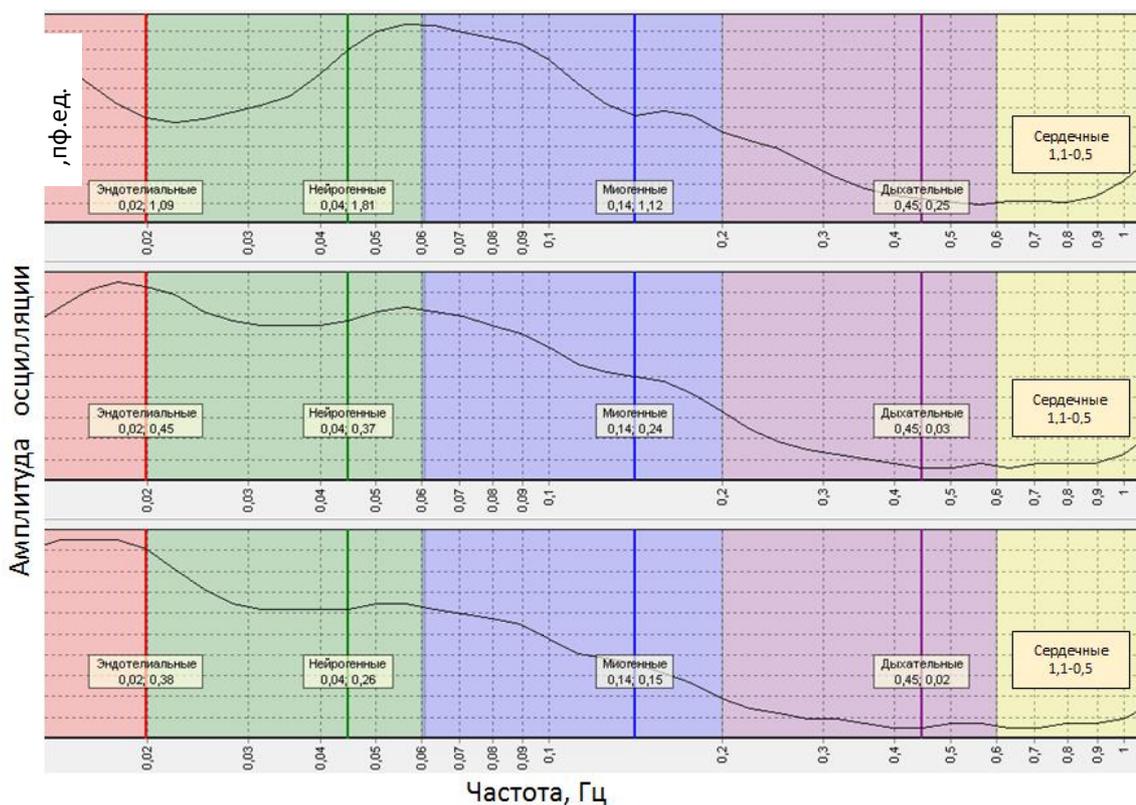


Рисунок 11 Интерфейс обработки активных и пассивных факторов регуляции кровотока. Пассивные: пульсовая волна (диапазон 0,8-1,6 Гц), дыхательная волна (диапазон 0,15-0,4 Гц); активные: миогенные колебания (диапазон 0,007-0,15 Гц), нейрогенные колебания (диапазон 0,002-0,052), эндотелиальные колебания (диапазон 0,0095-0,02 Гц).

Оценка вклада каждого из факторов регуляции осуществляется с помощью двух параметров: F- частотой (Гц) и A- амплитудой (пф.ед).

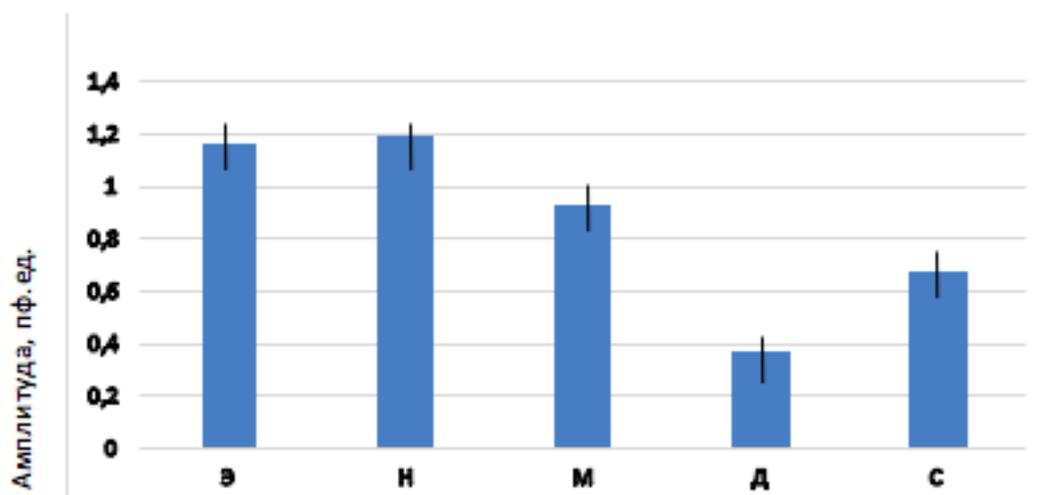


Рисунок 12 Амплитуда факторов регуляции пациентов контрольной группы в диапазоне от 0,02 до 2 Гц, (M±m).

Примечание: факторы регуляции: э-эндотелиальный, н-нейрогенный, м-миогенный, д-дыхательный, с-сердечный.

Амплитуда колебаний факторов регуляций у детей контрольной группы составила для пассивных факторов - дыхательный $0,37 \pm 0,03$ пф.ед., сердечный $0,67 \pm 0,03$ пф.ед., а для активных факторов - нейрогенный $1,19 \pm 0,38$ пф.ед., миогенный $0,93 \pm 0,04$ пф.ед. и эндотелиальный $1,17 \pm 0,48$ пф.ед. (Рис.12). Это согласуется с данным, полученным другими исследователями [4].

Для исключения влияния условий проведения исследований целесообразно так же использовать соотношение амплитуды колебания (А) к среднеквадратическому отклонению колебаний перфузии (Б). Эта величина А/3Б более точно характеризуется показатели регуляции сосудистого тонуса а [31,32].

У контрольной группы пациентов амплитуда колебаний факторов регуляции составила: пассивные факторы- дыхательный $5,24 \pm 3,2$ пф.ед., сердечный $9,09 \pm 3,8$ пф.ед. и активные факторы- нейрогенный $16,74 \pm 4,3$ пф.ед., миогенный $12,30 \pm 4,3$ пф.ед. и эндотелиальный $15,82 \pm 3,4$ пф.ед..

В. Капилляроскопия ногтевого ложа

С целью выявления возрастных особенностей строения микроциркуляторно-тканевых систем у детей мы провели оценку параметров капилляроскопии у контрольной группы детей от 4х до 18 лет. Дополнительно нами была обследована группа детей в возрасте от 4х до 6ти лет. Обследованные дети были разделены на 3 группы: 1-я группа – дети в возрасте 4–6 лет (средний возраст 5,5), 2-я группа – дети 7–13 лет (средний возраст 10,2), 3-я группа – от 14 до 18 (средний возраст 15) (Табл. 7).

Таблица 7 Капилляроскопические параметры микроциркуляторного русла у здоровых детей (от 4 до 18 лет).

Показатель	1-я группа (n=18)	2 группа (n=29)	3 группа (n=30)
Диаметр артериального отдела, мкм	8,5± 2,5	9,05± 3,0	12,05± 6,0
Диаметр переходного отдела, мкм	17,0 5± 3,0	14,55± 4,5	16,0 5± 10,0
Диаметр венозного отдела, мкм	7,55± 3,5	10,35 ± 3,0	10,35±6,3
Количество функционирующих капилляров, шт	10,55± 2,5	11,55 ± 3,5	12,55± 4,5
Периваскулярная зона, мкм	56,5± 8	86,5± 3,5	100, 5± 8,0*

Примечание: не получено статистически значимых различий при межгрупповом сравнении (критерий Манна-Уити), $p > 0,05$; * $p \leq 0,05$ статистически значимые различия при межгрупповом сравнении (критерий Манна-Уити).

Достоверно значимых различий параметров микроциркуляторного русла по капилляроскопии у детей разного возраста получено не было ($p \geq 0,05$). Однако установлено, что диаметры всех отделов капилляра и ширина периваскулярной зоны ($p \leq 0,05$) имеют тенденцию к увеличению с

возрастом. У детей первой возрастной группы диаметр артериального отдела $8,5 \pm 2,5$ мкм, второй возрастной группы $9,05 \pm 3,0$ мкм и третьей возрастной группы $12,05 \pm 6,0$ мкм. Диаметр венозного отдела у первой возрастной группы $7,55 \pm 3,5$ мкм, у второй возрастной группы $10,35 \pm 3,0$ мкм, у третьей возрастной группы $10,35 \pm 6,3$ мкм. Также с возрастом отмечается увеличение числа функционирующих капилляров первой линии и ширина периваскулярной зоны (от 56,5 до 100,5 мкм). Наши данные сопоставимы с результатами, полученными другими исследователями ранее [99,25].

В дальнейшем полученные данные были использованы нами в качестве опорных для последующего анализа показателей микроциркуляции у детей с БА различной степени тяжести.

3.2. Показатели микроциркуляции у детей с бронхиальной астмой различной степени тяжести в зависимости от контроля заболевания

С целью выявления нарушений микроциркуляторно-тканевых систем и динамики этих изменений у детей с БА было обследовано 102 ребенка с БА различной степени тяжести (43 ребенка с легкой БА, 39 детей со среднетяжелой БА, 20 детей с тяжелой БА).

Диагноз БА установлен в соответствии с критериями национальной программы «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика 2017», Федеральных клинических рекомендаций по диагностике и лечению БА и GINA 2017, 2020 гг..

Основной целью терапии бронхиальной астмы является достижение контроля симптомов и течения заболевания [74,41]. Согласно GINA 2018, 2020 гг., контроль БА, оценивается по наличию клинических симптомов (в том числе и наличие ночных приступов), потребности в короткодействующих β_2 агонистах и ограничения физической или повседневной активности, связанные с БА [42].

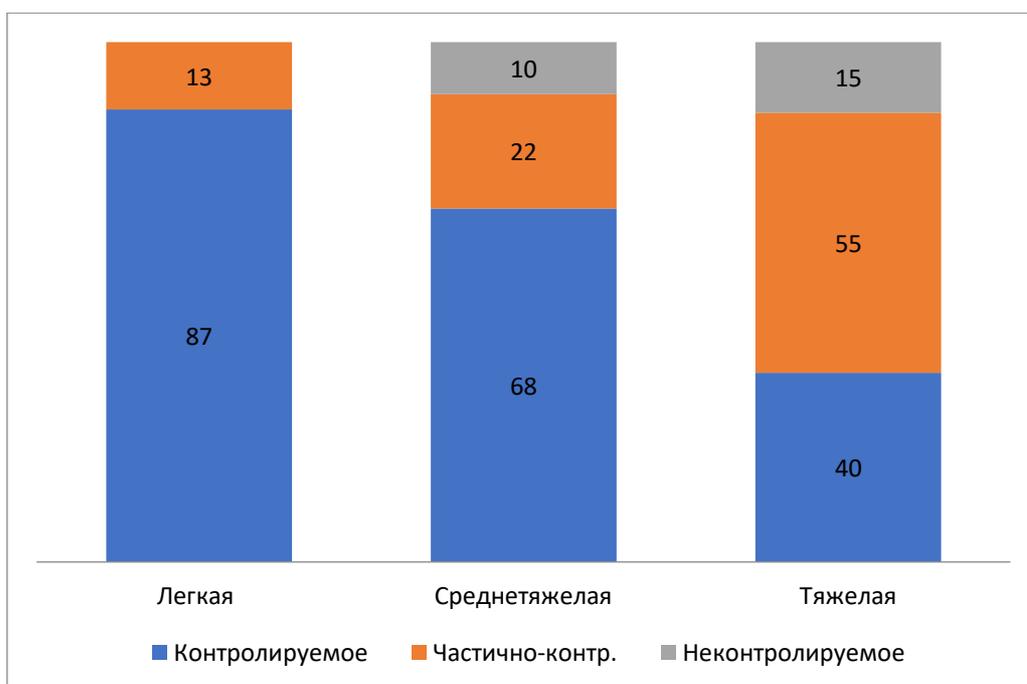


Рисунок 13 Контроль заболевания у детей с БА различной степени тяжести, в %

У 87% детей с легкой БА, 68% детей со среднетяжелой БА и 40% детей с тяжелой БА было контролируемое течение заболевания (полная клинико-лабораторная ремиссия). Частичный контроль БА отмечался у детей с легкой БА у 13%, со среднетяжелой БА у 22% детей и 55% у детей с тяжелой БА соответственно (Рис. 13). У них сохранялись жалобы на редкий кашель, одышку при физической нагрузке, эпизоды затрудненного дыхания. У пациентов могли быть как отдельные симптомы (кашель, одышка при физической нагрузке и т.п.), так и комбинация различных симптомов, характерных для БА.

При исследовании ФВД у детей с разной степенью тяжести БА были выявлены следующие изменения: в среднем показатель ОФВ₁ составил у детей с легкой БА $91,77 \pm 1,2\%$, со средне тяжелой БА $87,8 \pm 1,61$ и тяжелой БА $82,73 \pm 1,26\%$. ПСВ – у детей с легкой БА $90,6 \pm 2,4\%$, со среднетяжелой БА $85,73 \pm 2,09\%$, и тяжелой БА $83,47 \pm 2,34\%$ (Табл. 8). Показатель ОФВ₁ между пациентами с легкой и тяжелой БА отличался на $9,1 \pm 1,2\%$ ($p \leq 0,05$).

Таблица 8 Исходные показатели функции внешнего дыхания у детей и подростков с легкой, среднетяжелой и тяжелой бронхиальной астмой

	Легкая БА n=42	Среднетяжелая БА n=39	Тяжелая БА n=8
ОФВ1, % от должного	91,77±1,2	87,8±1,61	82,73±1,26
ПСВ, % от должного	90,6±2,4	85,73±2,09	83,47±2,34

Кроме того степень контроля оценивалась и по наличию бронхиальной гиперреактивности с помощью спирометрии (Табл. 9).

Таблица 9 Положительный бронхолитический тест (прирост ОФВ1 > 12 %) у наблюдаемых детей с БА, в %.

Течение БА	Положительный тест, %
Легкое	41,2
Среднетяжелое	57,1
Тяжелое	89%
Итого	58,3

Примечание. ОФВ1- объема форсированного выдоха на 1 секунде.

Обращает внимание, что у большинства детей даже при легком течении БА выявляется положительный бронхолитический тест, что может свидетельствовать о наличии у пациентов бронхиальной гиперреактивности или бронхиальной лабильности несмотря на наличие контроля согласно GINA 2017,2020гг.. Положительный бронхолитический тест у 41,2 % детей с

легкой БА, у детей со среднетяжелой БА у 57,1 %, у детей с тяжелой БА у 89% (Табл. 9).

Все исследования проводились трехкратно: исходно (через 3-4 недели после обострения БА), далее через 3 и 6 месяцев.

Таблица 10 Средние показатели микроциркуляции (ПМ) у детей с бронхиальной астмой разной степени тяжести исходно, в динамике через 3 месяца и 6 месяцев (M±m), пф.ед.

Тяжесть БА Показатель	Исходно			Через 3 месяца			Через 6 месяцев		
	Легкая	Среднетяжелая	Тяжелая	Легкая	Среднетяжелая	Тяжелая	Легкая	Среднетяжелая	Тяжелая
ПМ, пф.ед	23,98±1,05	21,15±0,66	18,79±1,93	24,46 ±1,08	22,9±0,6	19,6±0,7	24,73±0,91*	23,79±0,62*	20,84±1,66**
σ, пф.ед	3,28±0,34	2,63±0,22	3,23±0,68	3,375 ± 0,25	2,60±1,22	3,17±1,0	3,19±0,42	2,53±0,25	3,16±0,66
Kv,%	13,55±3,25	11,60±1,42	17,1±6,29	15,045 ± 3,01	11,50±1,42	16,7±3,5	12,89±3,27	10,91±1,47	15,27±4,71

Примечание. В таблице: БА-бронхиальная астма; ПМ-среднее арифметическое показателя микроциркуляции; σ – среднее квадратическое отклонение амплитуды колебаний кровотока от среднеарифметического значения; Kv-коэффициент вариации. (p< 0,05)

*p≥ 0,05 статистически не значимые различия при межгрупповом сравнении (критерий Манна-Уити); **p≤ 0,05 статистически значимые различия при межгрупповом сравнении (критерий Манна-Уити).

Выявлено, что у детей с легкой БА имеются незначительные изменения ПМ через 3-4 недели после обострения, которые быстро нормализуются в динамике. У детей со среднетяжелой БА исходно показатели были несколько ниже, чем в контрольной групп ПМ ($p \geq 0,05$). В целом в течение последующего наблюдения (через 3-6 месяцев) они, как и при легкой БА медленно восстанавливаются в течение 3х месяцев. Статистически значимой разницы показателей микроциркуляции исходно и через 6 месяцев наблюдения у детей с легкой и среднетяжелой астмой по сравнению с контрольной группой получено не было ($p \geq 0,05$) (Табл.10).

Наиболее выраженные изменения ПМ отмечались у детей с тяжелой БА. Исходно ПМ микроциркуляции у этих пациентов был достоверно ниже нормы ($18,79 \pm 1,93$ пф.ед.), $p < 0,06$ (Табл. 12). На фоне базисной терапии при динамическом наблюдении ПМ имели тенденцию к увеличению через 3 месяца, но в среднем показатели оставались ниже нормы (Табл.11).

Таблица 11 Сравнение показателя микроциркуляции (ПМ) у детей с бронхиальной астмой различной степени тяжести и контрольной группы ($M \pm m$), пф.ед.

	Легкая БА (n=43)	Среднетяжелая БА (n=39)	Тяжелая БА (n=20)	Контрольная группа (n=30)
Исходно	$23,98 \pm 1,05^*$	$21,15 \pm 0,66^{**}$	$18,79 \pm 1,93^{**}$	$25,78 \pm 2,9$
3 месяца	$24,46 \pm 1,08$	$22,9 \pm 0,6$	$19,6 \pm 0,7^{**}$	
6 месяцев	$24,73 \pm 0,91$	$23,79 \pm 0,62$	$20,84 \pm 1,66$	

Примечание: $*p \geq 0,05$ статистически не значимые различия при межгрупповом сравнении (критерий Манна-Уити); $**p \leq 0,05$ статистически значимые различия при межгрупповом сравнении (критерий Манна-Уити).

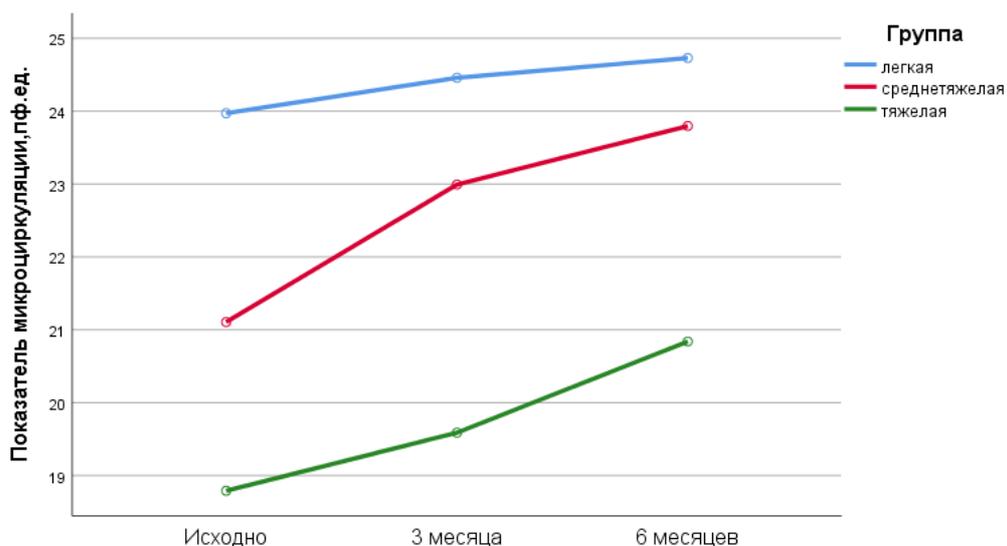


Рисунок 14 Динамика показателя микроциркуляции (ПМ) у детей с БА разной степени тяжести (по данным дисперсионного анализа с повторными измерениями).

При анализе полученных данных у детей с легкой БА в период через 3-4 недели после обострения среднее значение показателя микроциркуляции при сравнении с контрольной группой статистически не отличаются ($p \geq 0,05$). У пациентов с тяжелой бронхиальной астмой в течение 6 месяцев наблюдения отмечается статистически значимое увеличение ПМ ($p \leq 0,05$). Однако сохранялась часть детей (41%) у которых этот показатель в динамике оставался низким.

Таблица 12 Распределение детей с БА различной степени тяжести вне обострения, в зависимости от значения ПМ (<23пф.ед и > 23 пф.ед) при наблюдении от 1 до 6 месяцев (в %).

Значение ПМ, пф.ед	1 месяц		3 месяца		6 месяцев	
	<23	>23	<23	>23	<23	>23
Легкая	23%	77%	17%	83%	11,8%	88,2%
Среднетяжелая	57%	43%	38%	62%	25%	75%
Тяжелая	65%	35%	52%	48%	41%	59%

В 12 таблице приведен процент исследуемых пациентов со сниженным показателем микроциркуляции в зависимости от степени тяжести бронхиальной астмы. Учитывая данные ПМ в норме (25,8 пф.ед. \pm 2,67), снижение показателя микроциркуляции менее 23 пф.ед отмечалось у 23% детей с легкой БА. Соответственно у детей со среднетяжелой БА снижение этого показателя отмечалось у 57%, а с тяжелой БА у 65% детей. Выявлен большой процент детей со сниженным ПМ, при отсутствии клинических проявлений бронхиальной обструкции.

При детальном анализе микроциркуляции исходное снижение ПМ отмечалось у пациентов с неконтролируемым течением БА, у которых последнее обострение БА было менее месяца назад. Все дети с исходно низким значением ПМ на момент исследования не получали базисную терапию, самостоятельно отменяли лечение и имели жалобы на кашель, кратковременные эпизоды затрудненного дыхания (частично контролируемая астма). У пациентов с исходно сниженным ПМ при правильно подобранной терапии и контролируемом течении БА отмечена нормализация ПМ через 3-6 месяцев в зависимости от тяжести заболевания.

При более легком течении БА у детей показатели стабилизировались быстрее. У 1/3 пациентов с тяжелой БА и у 1/4 пациентов со среднетяжелой БА показатели микроциркуляции оставались ниже нормальных показателей. По-видимому, это было связано: 1) с более тяжелым течением заболевания 2) с недостаточно адекватно подобранной базисной терапией 3) с низким комплаенсом и 4) наличием коморбидных заболеваний.

3.3 Амплитудно-частотный спектр ЛДФ-грамм (оценка факторов регуляции) у больных бронхиальной астмой различной степени тяжести.

В МЦР кровотоков подвержен колебаниям, которые контролируются активными и пассивными механизмами. Анализ амплитудно-частотного спектра позволяет оценить вклад каждого звена контроля микроциркуляции.

Таблица 13 Среднее значение факторов регуляции у детей с легкой БА исходно, в динамике через 3 месяца и 6 месяцев, (M±m).

I. Амплитуда колебаний факторов регуляции

Фактор	А, пф.ед				
	Э	Н	М	Д	С
1 месяц	1,97±0,9	2,04±1,1	1,35±0,7	0,28±0,1	0,55±0,2
3 месяца	1,76±1,2	1,71±1,4	1,00±0,1	0,23±0,1	0,59±0,3
6 месяцев	1,29±0,5	1,32±0,8	0,97±0,8	0,51±0,4	0,64±0,35
Контрольная	1,17±0,48	1,19±0,38	0,93±0,04	0,4±0,003	0,67±0,03

Примечание: факторы регуляции: э-эндотелиальный, н-нейрогенный, м-миогенный, д-дыхательный, с-сердечный. : $p \geq 0,05$ статистически не значимые различия при межгрупповом сравнении всех факторов регуляции (критерий Манна-Уити);

II. Соотношение амплитуды колебания (А) к среднеквадратическому отклонению колебаний перфузии (Б), в %.

Фактор	А/3Б, %				
	Э	Н	М	Д	С
1 месяц	15,05±2,4	14,96±3,9	10,7±5,6	2,33±1,1	5,07±2,5
3 месяца	18,17±6,5	16,87±5,2	13,15±6,1	2,95±1,1	4,81±2,2
6 месяцев	15,04±2,3	14,94±3,9	11,22±3,8	5,33±1,35	10,17±5,5
Контрольная группа	15,82±3,4	16,74±4,3	12,30±4,3	5,24±3,2	9,09±3,8

Примечание: факторы регуляции: э-эндотелиальный, н-нейрогенный, м-миогенный, д-дыхательный, с-сердечный. * $p \geq 0,05$ статистически не значимые различия при межгрупповом сравнении всех факторов регуляции (критерий Манна-Уити);

При легкой БА отмечается нормализация показателей факторов регуляции: нейрогенного, дыхательного, сердечного и миогенного. Изменения амплитуды колебания эндотелиального фактора регуляции через 3-4 недели у 35% детей и у 20% детей через 3 месяца, свидетельствует о необходимости длительного контроля и пролонгированной терапии. По данным Андрианова Е.Н. и Рывкина А.А. (2008г.) в момент обострения у пациентов с легкой БА было зарегистрировано увеличение эндобронхиальной концентрации NO, что подтверждается увеличением амплитуды колебаний эндотелиального фактора.

Вероятнее всего это связано с тем, что при легкой БА отмечается меньшая вариабельность и более быстрое достижение нормальных показателей за счет менее выраженных изменений в структуре и функции сосудов.

Таблица 14 Показатели амплитуды колебаний факторов регуляции у детей со среднетяжелой БА, через 3 месяца и 6 месяцев, $M \pm m$.

I. Амплитуда колебаний факторов регуляции

Фактор	А, отн.ед				
	Э	Н	М	Д	С
1 месяц	1,48±0,6	1,37±0,6	1,00±0,6	0,36 ±0,5	0,55±0,3
3 месяца	1,05±0,45	1,17±0,7	0,84±0,6	0,35±0,3	0,62±0,2
6 месяцев	0,80±0,7	0,84±0,9	0,45±0,4	0,30±0,2	0,59±0,3
Контрольная группа	1,17±0,48	1,19±0,38	0,93±0,04	0,4±0,003	0,67±0,03

Примечание: факторы регуляции: э-эндотелиальный, н-нейрогенный, м-миогенный, д-дыхательный, с-сердечный. : $p \geq 0,05$ статистически не значимые различия при межгрупповом сравнении для факторов регуляции (критерий Манна-Уити);

II. Соотношение амплитуды колебания (А) к среднеквадратическому отклонению колебаний перфузии (Б) у детей с среднетяжелой БА , в %.

Фактор	А/Б				
	Э	Н	М	Д	С
1 месяц	16,96±4,4	16,96±4,4	16,96±4,4	16,96±4,4	16,96±4,4
3 месяца	14,00±3,7	14,00±3,7	14,00±3,7	14,00±3,7	14,00±3,7
6 месяцев	13,46±3,5	13,46±3,5	13,46±3,5	13,46±3,5	13,46±3,5
Контрольная группа	15,82±3,4	15,82±3,4	15,82±3,4	15,82±3,4	15,82±3,4

Примечание: факторы регуляции: э-эндотелиальный, н-нейрогенный, м-миогенный, д-дыхательный, с-сердечный. : $p \geq 0,05$ статистически не значимые различия при межгрупповом сравнении всех факторов регуляции (критерий Манна-Уити);

При среднетяжелой БА у пациентов сохраняется тенденция к нормализации амплитуды колебаний эндотелиального фактора. Однако нормализации показателей происходит медленнее, чем у пациентов с легкой

БА. Кроме того, через 6 месяцев наблюдения отмечается снижение этого показателя ниже нормы, что свидетельствует, о начале снижения компенсаторных возможностей (эндотелиальной дисфункции). В группе детей со среднетяжелой БА отмечается большее количество детей с частично-контролируемой астмой. Нормализация миогенного фактора через 3 месяца свидетельствует, о необходимости длительного приема у детей с БА комбинированной терапии (ИГКС + β_2 агонистами длительного действия), однако продолжающееся снижение миогенного фактора в динамике наблюдения до показателей ниже, чем в контрольной группе, может говорить о необходимости пересмотра у части пациентов получаемой терапии с возможностью отмены длительного приема бронхолитиков.

Таблица 15 Среднее значение факторов регуляции у детей с тяжелой БА исходно, в динамике через 3 месяца и 6 месяцев, (M \pm m).

I. Амплитуда колебаний факторов регуляции

Фактор	А,пф.ед				
	Э	Н	М	Д	С
1 месяц	1,16 \pm 0,4	1,26 \pm 0,7	0,85 \pm 0,6	0,40 \pm 0,5	0,51 \pm 0,1
3 месяца	1,18 \pm 0,7	1,36 \pm 1,2	0,95 \pm 0,8	0,35 \pm 0,1	0,74 \pm 0,3
6 месяцев	1,16 \pm 0,5	1,42 \pm 1,1	0,92 \pm 0,9	0,38 \pm 0,3	0,69 \pm 0,5
Контрольная группа	1,17 \pm 0,48	1,19 \pm 0,38	0,93 \pm 0,04	0,4 \pm 0,003	0,67 \pm 0,03

Примечание: факторы регуляции: э-эндотелиальный, н-нейрогенный, м-миогенный, д-дыхательный, с-сердечный. : $p \geq 0,05$ статистически не значимые различия при межгрупповом сравнении всех факторов регуляции (критерий Манна-Уити);

II. Соотношение амплитуды колебания (А) к среднеквадратическому отклонению колебаний перфузии (Б), в %.

Фактор	А/Б, %				
	Э	Н	М	Д	С
1 месяц	15,36±5,4	14,46±4,7	11,52±6,1	5,19±2,3	7,31±3,3
3 месяца	14,70±4,8	15,39±7,5	12,22±4,9	5,02±3,1	10,16±4,1
6 месяцев	15,01±2,1	18,10±5,1	12,01±4,1	5,12±2,9	8,23±3,9
Контрольная группа	15,82±3,4	16,74±4,3	12,30±4,3	5,24±3,2	9,09±3,8

Примечание: факторы регуляции: э-эндотелиальный, н-нейрогенный, м-миогенный, д-дыхательный, с-сердечный. * $p \geq 0,05$ статистически не значимые различия при межгрупповом сравнении всех факторов регуляции (критерий Манна-Уити);

У 70% детей с тяжелой БА амплитуда колебаний эндотелиального ($1,16 \pm 0,4$ пф.ед.), миогенного ($0,85 \pm 0,6$ пф.ед.) и дыхательного ($0,40 \pm 0,5$ пф.ед.) факторов регуляции статистически значимо не отличались от контрольной группы. У 30% пациентов нарушения были сходны со значениями полученными у детей со среднетяжелой БА. Также нами выявлен значительный разброс показателя сердечного компонента (исходно - $0,51 \pm 0,1$ пф.ед., через 3 месяца $0,74 \pm 0,3$ пф.ед. и через 6 месяцев $0,69 \pm 0,5$ пф.ед.).

3.4 Оценка данных микроциркуляции по параметрам капилляроскопии у детей страдающих бронхиальной астмой различной степени тяжести.

Одним из методов неинвазивной диагностики микроциркуляторно-тканевых систем является капилляроскопия ногтевого ложа. Нами была проведена оценка статических показателей (периваскулярная зона, количество функционирующих капилляров, диаметр различных отделов капилляра ногтевого ложа) у детей с БА различной степени тяжести исходно и в динамике через 3 и 6 месяцев.

По данным литературы, показатели капилляроскопии у детей имеют свои особенности в каждой возрастной группе. На первом этапе нами были оценены опорные показатели капилляроскопии у практически здоровых детей разного возраста (Табл. 7). Средний возраст исследуемых пациентов с легкой БА составил 13 лет, у детей со среднетяжелой БА =10 лет, а у детей с тяжелой БА = 13,5 лет. Таким образом, все исследуемые пациенты с БА различной степени тяжести входят в одну возрастную группу, что позволило нам взять в качестве нормы показатели у детей с 7 до 13 лет.

Таблица 16 Средние значения показателей капилляроскопии у детей с бронхиальной астмой различной степени тяжести, $M \pm m$

	ПВЗ, мкм	Кол-во функционирующих капилляров, шт.	Диаметр артериального отдела, мкм	Диаметр переходного отдела, мкм	Диаметр венозного отдела, мкм
Легкая	93,76±3,40	11,82±0,31	10,35±0,31	13,18±0,73	11,41±0,63
Среднетяжелая	96,40±2,99	12,91±0,34	11,89±0,59	14,26±0,55	12,49±0,70
Тяжелая	100±6,45	14,13±4,45	11,75±0,49	14,38±1,15	12,75±0,75
Норма	86±3,5	11,55±3,5	9,05± 3,0	14,55± 4,5	10,35 ±3,0

Примечание: ПВЗ-периваскулярная зона

Ширина периваскулярной зоны и диаметр артериального отдела капилляра у детей в зависимости от степени тяжести имеет тенденцию к

увеличению по сравнению с нормой (Табл.16). Это может быть объяснено наличием отека и воспаления у детей с хроническим заболеванием легких. Количество функционирующих капилляров, диаметр венозного и переходного отделов остаются практически неизменными.

Таблица 17 Средние значение показателей капилляроскопии у с легкой БА через 1 месяц после обострения и в динамике через 3 и 6 месяцев.

	1 месяц	3 месяца	6 месяцев	Контрольная группа
ПВЗ, мкм	96,21±9,98	95,8±5,45*	94,64±16,2	86±3,5
Количество функционирующих капилляров, шт.	11,5±1,91	11,8±1,09	12,6±0,6	11,55±3,5
Диаметр артериального отдела, мкм	9,5±1,92	10,2±2,4	8,7±1,5	9,05± 3,0
Диаметр переходного отдела, мкм	13,78±4,86	11,8±2,3	12±1,0	14,55± 4,5
Диаметр венозного отдела, мкм	9,5±3,71	11±3,2	11,3±3,2	10,35 ± 3,0

Примечание: *парный критерий Стьюдента исходно и через 3 месяца изменения признака статистически не значимы (p=0,56)

Оценивая показатели капилляроскопии у детей с легкой БА исходно и в динамике через 3 и 6 месяцев мы не выявили существенных изменений (p=0,56).

Таблица 18 Средние значение показателей капилляроскопии у среднетяжелой БА через 1 месяц после обострения и в динамике через 3 и 6 месяцев.

	1 месяц	3 месяца	6 месяцев	Контрольная группа
ПВЗ, мкм	96±13,8**	97,4±10,1	91,7±8,7*	86±3,5
Количество функционирующих капилляров, шт.	12,86±1,8	12,9±1,9	13,7±1,6	11,55±3,5
Диаметр артериального отдела, мкм	12,2±3,3	12,1±4,2	10,0±1,0*	9,05± 3,0
Диаметр переходного отдела, мкм	14,3±3,6	14,1±3,4	15,3±1,2	14,55± 4,5
Диаметр венозного отдела, мкм	11,57±3,9	13±4,2	13,0±2,0	10,35 ± 3,0

Примечание: *парный критерий Стьюдента исходно и через 3 месяца изменения признака статистически не значимы ; **парный критерий Стьюдента исходно и через 3 месяца изменения признака статистически значимы ($p \leq 0,05$)

У детей со среднетяжелой БА мы видим уменьшение ПВЗ и диаметра артериального отдела в динамике через 3 и 6 месяцев по сравнению с исходными значениями ($p=006$).

Таблица 19 Средние значение показателей капилляроскопии у с тяжелой БА через 1 месяц после обострения и в динамике через 3 и 6 месяцев.

	1 месяц	3 месяца	6 месяцев	Контрольная группа
ПВЗ, мкм	107±4,2*	105±7,1	98±5,1	86±3,5
Количество функционирующих капилляров, шт.	14,3±1,9*	13,9±1,8	13,4±1,9	11,55±3,5
Диаметр артериального отдела, мкм	12,5±1,3*	12,1±1,4	12,2±1,5	9,05± 3,0
Диаметр переходного отдела, мкм	15,1±3,2	15,0±2,9	14,9±3,1	14,55± 4,5
Диаметр венозного отдела, мкм	11,7±2,1	11,6±2,1	11,4±1,9	10,35 ± 3,0

Примечание: *парный критерий Стьюдента исходно и через 3 месяца изменения признака статистически значимы ($p \leq 0,05$)

У детей с тяжелой БА в динамике показатели капилляроскопии существенно не изменились, что может быть связано с тяжестью заболевания и снижением компенсаторных возможностей организма. Через 6 месяцев адекватно подобранной терапии, отсутствия выраженных обострений БА эти изменения сохраняются.

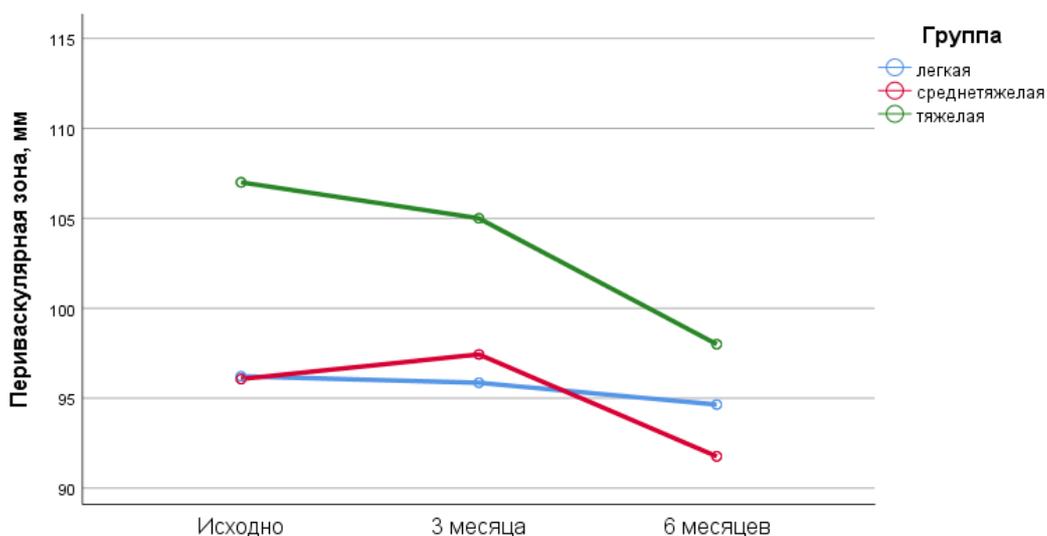


Рисунок 15 Динамика среднего значения периваскулярной зоны у детей с БА разной степени тяжести (по данным дисперсионного анализа с повторными измерениями).

Однако мы видим, что значение ПВЗ у пациентов со среднетяжелой и тяжелой БА, выше чем у контрольной группы пациентов, что свидетельствует о наличии отека. Увеличение количества функционирующих капилляров говорит, о задействовании коллатералей в процессах микроциркуляции.

Таблица 20 Корреляционные связи ОФВ1 у детей с БА различной степени тяжести вне обострения с параметрами микроциркуляции.

	ОФВ1					
	ПМ		Диаметр артериального отдела		ПВЗ	
	г	р	г	р	г	р
Легкая	-0,143	>0,05	-0,416	>0,05	-0,430	>0,05
Среднетяжелая	-0,265	0,157	-0,187	>0,05	0,050	>0,05
Тяжелая	-0,143	>0,05	0,393	>0,05	0,393	>0,05

Примечание: *r- коэффициент корреляции **р – достоверность отличия. ПМ- показатель микроциркуляции, ПВЗ-периваскулярная зона

При изучении корреляционных связей между показателями ОФВ1 и параметрами микроциркуляции (ПМ, ПВЗ, диаметр артериального отдела) у детей с БА различной степени тяжести вне обострения нами получены следующие данные: у пациентов со средне-тяжелой БА значимая корреляция не выявлена. У пациентов с легкой и тяжелой БА выявлена отрицательная корреляционная связь между диаметром артериального отдела и величиной ПВЗ у детей. Это подтверждает необходимость длительной противовоспалительной терапии у данных пациентов.

3.5. Флуоресцентная диагностика окислительно-восстановительных процессов на уровне микроциркуляции у детей страдающих бронхиальной астмой различной степени тяжести

Явление флуоресценции заключается в излучение возбужденными атомами или молекулами вещества нетепловых квантов света. Если явление флуоресценции возникает под действием внешнего оптического излучения, то такая флуоресценция называется автофлуоресценцией [56]. Большинство органических и неорганических молекул обладает «индивидуальными» спектрами флуоресценции.

Различные природных флуоресцирующих веществ (флуорофоров), всегда присутствуют в тканях и жидкостях внутри организма, таких как

витамины, порфирины, флавины, эластин, коллаген, NADH и др. Прижизненная регистрация в тканях и органах флуоресцирующих веществ, которые определяют метаболизм и жизнеспособность клеток и тканей, стала возможной с помощью ЛДФ. В основе метода лежит регистрация интенсивности обратно рассеянного тканями и флуоресцентного излучения как функцию длины волны. Флуоресцентная диагностика лишена погрешности и необходимости динамической записи сигнала, достаточно выполнения одномоментного измерения.

В синей области спектра (400-480 нм) основная доля флуоресценции приходится на различные формы кофермента никотинамид-аденин-динуклеотид. Нарушение клеточного метаболизма и клеточного дыхания в большинстве случаев отражается в изменении различных форм данных молекул. Данный факт интересен для диагностики дыхательных и обменных процессов в живых биотканях.

При проведении лазерной флуоресцентной диагностики регистрируются два максимума спектральной плотности мощности. Одним из которых является I_i , который отражает обратное рассеянное кожей излучение на длине волны генерации лазера. Второй I_f отражает уровень концентрации в исследуемой области эндогенных флуорофоров.

Амплитуда данных сигналов зависит от множества факторов (параметров самого объекта исследования, мощности источника возбуждения флуоресценции, глубины залегания в тканях флуорофоров и т.п.), поэтому анализ только одного из этих показателей недостаточен. Для устранения влияния мощности возбуждающего (исходного) излучения на результат диагностики оценивают коэффициент флуоресценции (КФ), равный отношению амплитуд I_f и I_i ($КФ = I_f / I_i$).

Таблица 21 Среднее значение уровня концентрации NADH у контрольной группы и у детей с БА.

	Дети с БА	Обострение БА	Контрольная Группа	p ₁	p ₂
I _f среднее значение	205,97±30,15	151,6±25,27	286,8±38,20	0,152	>0,05

Примечание: величина P₁ - достоверность различий среднего, полученная при помощи дисперсионного анализа между группой контроля и пациентами с БА; величина p₂ - достоверность различий средних рингов между группой контроля и пациентами с БА (критерий Манн-Уитни).

При сравнении средних значений I_f NADH у детей с БА в ремиссии и контрольной группы статистически значимой разницы получено не было.

При сравнении уровня концентрации NADH у практически здоровых детей и детей с обострением БА различной степени тяжести, было выявлено статистически значимое снижение уровня NADH ($p \leq 0,05$). Это может свидетельствовать об увеличении затрат данного кофермента организмом для устранения гипоксии. Так как при обострении БА происходит увеличение концентрации NO в просвете бронхов [14], что ведет к свободнорадикальному перекисному окислению липидов в котором принимает участие ферментативная система NADH. Изучение перекисного окисления липидов при заболеваниях органов дыхания вызывает особый интерес, так как легкие рассматриваются в качестве одной из крупнейших биомембран организма, представленных обширной капиллярно-альвеолярной сетью [14].

NO синтезируется в клетках эндотелия, реакция ее синтеза протекает при участии ряда кофакторов, таких как никотинамиддинуклеотидфосфат (NADH), флавинадениндинуклеотид (FAD) и др. NO проникает в гладкомышечные клетки и вызывает их релаксацию [14].

После открытия вазодилатирующей субстанции, синтезируемой эндотелиальными клетками, названной в последствии «эндотелиальным фактором релаксации» (NO), активно стала изучаться роль эндотелия в регуляции сосудистого тонуса [14]. Ряд авторов считает, что развитие

бронхолегочных процессов сопровождается изменением уровня метаболитов оксида азота и степени десквамации интимы сосудов, коррелирующими со степенью тяжести заболевания [38, 1].

3.6 Клинические примеры

ПРИМЕР №1.

Пациент Ф., 17 лет

Anamnesis vitae

Мальчик от физиологически протекавшей беременности, самостоятельных родов в срок. При рождении вес- 3600, рост – 52 см. Раннее психомоторное развитие по возрасту. Перенесенные заболевания: В период новорожденности – дакриоцистит, желтуха новорожденных. На первом году – инфекционный энтерит; в 3 мес. – первый обструктивный бронхит, после чего ребенок (по настоящее время) часто болеет ОРВИ (5-6 раз в год), протекающими с признаками БОС. Профилактические прививки по календарю, без реакций.

Семейный анамнез: у матери – риноконъюнктивит на пыль; у бабушки и у дедушки по линии матери, у дяди со стороны матери и отца – бронхиальная астма; у младшего брата – бронхиальная астма. Аллергоанамнез: на шоколад – сыпь в локтевых и подколенных сгибах. Непереносимость лекарственных средств: на клафоран и сумамед – сыпь на теле. Жилищные условия: Быт гипоаллергенный.

Anamnesis morbi

Со слов матери, болен с 3-х месяцев, когда впервые перенес обструктивный бронхит. Далее в течение года практически ежемесячно мальчик госпитализировался по м/ж по поводу БОС, парентерально вводился преднизолон, эуфиллин. В 1 год (декабрь 2003 г.), в 1 г. 2 мес. (февраль 2004 г.) – находился в отделении реанимации по поводу тяжело протекающих приступов бронхообструкции. В январе 2004 г. выставлен диагноз «бронхиальная астма», начата базисная терапия пульмикортом 500мкг/сут. С

мая 2004 г . по декабрь 2005 г . – фликсотид 100-250 мкг/сут, с декабря 2005г. – беклазон ЭКО 200 мкг /сут; с июля 2008 г . – беклазон 400-600 мкг/сут, с июля 2009г. – серетид-50/250мкг/ сут. На фоне проводимого лечения стабилизации течения бронхиальной астмы достичь не удалось. Обострения заболевания отмечались на фоне ОРВИ до 6-7 раз в год, купировались ингаляциями беродуала и пульмикорта через небулайзер. При госпитализации в 2012г. по данным КСП – умеренная сенсibilизация к библиотечной пыли. Положительный спиротест с физнагрузкой, показатели ФВД оставались в норме. При выписке было рекомендовано продолжить прием серетида 50/250 мкг/сут, однако течение заболевания оставалось нестабильным: обострения бронхиальной астмы на фоне ОРВИ до 5-6 раз в год, практически еженедельные приступы затрудненного дыхания, беспокоили одышка при физической нагрузке, малопродуктивный кашель по утрам. Амбулаторно доза серетида была повышена до 100/500 мкг/сут. Однако обострения продолжали рецидивировать каждые 1,5-2 мес, сохранялись одышки при физической нагрузке. С марта по июль 2015 года терапия серетидом была заменена на зенхейл 10/400/сут, затем вновь возобновлен серетид 100/500/сут + сингуляр 5 мг/сут, со слабо-положительным эффектом. С апреля 2016г. в качестве базисной терапии начат прием симбикорта 320/9 мкг 1 ингаляции 2 раза в день. Несколько раз за год ребенка госпитализировали для купирования обострений бронхиальной астмы, в том числе, с проведением инфузионной терапии (эуфиллин+ преднизолон/дексаметазон). В последующем ребенок был переведен на релвар/эллипта 22/184 мкг/сутки. Данную терапию получает по настоящее время. С сентября 2019г. в рамках клинической апробации ребенку проведен курс иммунобиологической терапии ксоларом на протяжении 6 месяцев в дозе 450 мг/ежемесячно.

Status praesens

При осмотре общее состояние ребенка удовлетворительное. Масса тела 53 кг, рост 175 см. Кожа бледно-розовая, чистая. Зев без островоспалительных

явлений. Лимфатические узлы не увеличены. Язык чистый. ЧД 19 в мин. АД115/65 мм рт ст, ЧСС 68 в мин. При аускультации в легких дыхание жесткое, проводится равномерно по всем полям, хрипы не выслушиваются. Тоны сердца звучные, ритмичные. Живот мягкий, симметричный, при пальпации безболезненный во всех отделах. Печень и селезенка не пальпируются. Физиологические отправления в норме.

1. Общий клинический анализ крови:

Эритрох. 10^9 /л	Нв г\л	Тромб. 10^9 /л	Лейк. 10^9 /л	Эоз.%	Баз.%	П/я %	С/я %	Лимф. %	Мон.%	СОЭ мм\ч
4,76	135	200	4,76	3	1	1	52	38	5	4

2. Общий IgE: 258 МЕ/мл (норма до 60)

3. Специфический IgE : высокий (2+) уровень к эпидермису и шерсти кошки, шерсти собаки, очень высокий (4+) уровень к березе ольхе, еже; отрицательно к домашней пыли, тараканам, шерсти собаки, апельсину тимофеевке, полыни, амброзии, одуванчику, креветкам, белку и желтку куриного яйца, молоку, лесному ореху, арахису, сое, моркови, клубнике, томатам, пшеничной муке- отрицательные.

4. Спирограмма: ЖЭЛ 80 %, ОФВ1 69%, ПСВ 50%, ОФВ1/ЖЭЛ 86%, МОС50 50%, МОС75 40%. После 200мкг вентолина прирост показателей: ОФВ1+39%(350мл). Заключение: генерализованные умеренно выраженные нарушения бронхиальной проходимости по обструктивному типу. Проба с сальбутамолом (200 мкг).

6. Рентгенография органов грудной клетки: Легочные поля симметричные, пневматизация неравномерная засчет диффузных участков лобулярного вздутия. Очаговых и инфильтративных изменений легочной паренхимы не выявлено. Легочный рисунок незначительно усилен засчет сосудистого компонента.

7. Консультация ЛОР-врача: Аллергический ринит, круглогодичный.

9. ЛДФ-грамма исходно: ПМ-18,10 пф.ед, δ ПМ-3,21пф.ед., Kv ПМ-17,0%. (Рис.16). Амплитуда колебаний факторов регуляции: $A/3\delta(\text{Э})=1,16$, $A/3\delta(\text{H})=1,26$, $A/3\delta(\text{M})=0,86$, $A/3\delta(\text{D})=0,40$, $A/3\delta(\text{C})=0,51$.

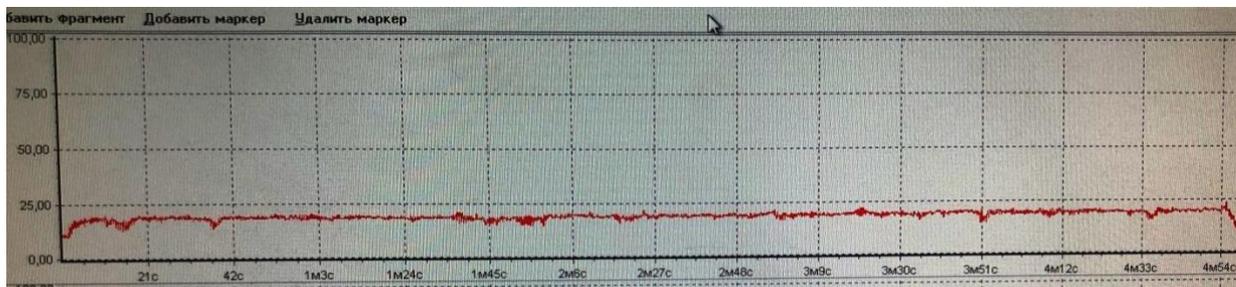


Рисунок 16 ЛДФ-грамма пациента с тяжелой БА исходно.

10. ЛДФ-грамма через 3 месяца: ПМ - 19,50 пф.ед, δ ПМ-3,2пф.ед., Kv ПМ-17,0%. Амплитуда колебаний факторов регуляции: $A/3\delta(\text{Э})=1,16$, $A/3\delta(\text{H})=1,36$, $A/3\delta(\text{M})=0,97$, $A/3\delta(\text{D}) = 0,36$, $A/3\delta(\text{C})=0,78$

10. ЛДФ-грамма: через 6 месяцев: М ПМ-19,12 пф.ед, δ ПМ-3,3пф.ед., Kv ПМ-15,3%. Амплитуда колебаний факторов регуляции: $A/3\delta(\text{Э})=1,16$, $A/3\delta(\text{H})=1,44$, $A/3\delta(\text{M})=0,95$, $A/3\delta(\text{D})=0,39$, $A/3\delta(\text{C})=0,70$.

11. Капилляроскопия ногтевого ложа: количество функционирующих капилляров - 16,0 шт, периваскулярная зона - 110 мкм, диаметр артериального отдела - 12,0 мкм, диаметр переходного отдела - 13,5 мкм, диаметр венозного отдела - 12,5 мкм. (Рис.17)



Рисунок 17 Капилляроскопия пациента с БА тяжелого течения.

Клинический диагноз: Бронхиальная астма, аллергическая, тяжелого течения. Аллергический ринит, круглогодичный, средней тяжести.

Лечение: высокие дозы ИГКС+бронхолитики, монтелукаст 10мг, мометазон в нос, иммунобиологическая терапия (омализумабом). Состояние ребенка с положительной динамикой: кашля нет, приступов затрудненного дыхания не было. При аускультации хрипов нет.

Таким образом, на основании данных анамнеза, клинико-лабораторных и инструментальных исследований у пациента была диагностирована бронхиальная астма, тяжелого течения через 4 недели после перенесенного обострения. На ЛДФ-грамме отмечено снижение уровня перфузии по сравнению с контрольной группой. В течение полугода наблюдения отмечается улучшение показателей микроциркуляции, однако даже на фоне проводимой базисной и иммунобиологической терапии полного восстановления показателей микроциркуляторно-тканевых систем достичь не удалось. В данной клинической ситуации мы не обнаружили значимых изменений амплитуды колебаний миогенного, нейрогенного, дыхательного и сердечного факторов регуляции. Что было расценено как маркер снижения компенсаторных возможностей микроциркуляции у детей с длительным и тяжелым течением заболевания. Также отмечается компенсаторное увеличение количества функционирующих капилляров первой линии.

ПРИМЕР №2.

Пациент С., 12 лет

Anamnesis vitae

Мальчик от физиологически протекавшей беременности. Самостоятельных родов в срок. Масса тела при рождении - 3610, длина тела – 57 см. Закричал сразу. Раннее психомоторное развитие по возрасту. Привит по календарю, без реакций. Реакция Манту 2017г.- пап. 9 мм.. Перенесенные заболевания: с 2х лет –ОРВИ. Наблюдается ЛОР-врачом с 4х лет – аденоиды II ст., с 2016г.- аллергический риносинусит. Детские инфекции: ветряная оспа (6 лет).

Семейный анамнез: у бабки по материнской линии- БА, аллергия на шерсть животных.

Аллергоанамнез: поллиноз с 1,5 лет (в мае), в виде РКС. Медикаментозной, пищевой аллергии не выявлено. Жилищные условия удовлетворительные, постельные принадлежности гипоаллергенные, дома ковров нет, влажная уборка через день, курящих дома нет. Дома собака (3 года), до этого был кот.

Anamnesis morbi

С 1,5 лет проявления аллергического ринита (со слов мамы). С 2х летнего возраста подвержен частым респираторным заболеваниям (на фоне посещения ДДУ). В 8 лет (2015г.) впервые на фоне пыления березы отмечался приступ затрудненного дыхания, заложенность носа, слезотечение. Была вызвана СМП- проведена ингаляция пульмикорт+беродуал. В последующие 2 года несколько раз весной требовалось подключение небулайзерной терапии. В анамнезе затяжные эпизоды кашля после перенесенных ОРВИ. С 2017г. кашель усиливался на фоне физической нагрузки. Лабораторно от 2017г.: показатели специфических Ig E к пыльце ольхи, березы, лещины, эпидермису и шерсти лошади – высокий, очень высокий к эпидермису и шерсти собаки и кошки. В 2017г. мальчику был выставлен диагноз: бронхиальная астма, аллергическая, средней степени тяжести. Аллергический ринит. Лабораторно: Ig E общий 466 МЕ/мл. В качестве базисной терапии назначен серетид 50/250 мкг/сут, сингуляр 5 мг/сут. Состояние было стабильным. В последующем обострения заболевания возникали на фоне респираторных заболеваний и при контакте с причинно-значимыми аллергенами. В качестве терапии получал короткими курсами низкие дозы комбинированных препаратов (ИГКС+ДДББ), с положительным эффектом. В 2009г. появилось усиление кашля при физической и эмоциональной нагрузке.

Status praesens

На момент осмотра состояние мальчика удовлетворительное. Вес 61,8 кг, рост 154 см. Кожа бледная, чистая от сыпи. Зев не гиперемирован, задняя

стенка глотки рыхлая. Лимфатические узлы не увеличены. Язык с белым налетом у корня. ЧД 19 в мин. АД 115/60 мм.рт.ст., ЧСС 80 в мин. Перкуторно звук над легкими с коробочным оттенком. При аускультации в легких дыхание жесткое, выслушивается одинаково во всех отделах, не постоянные единичные сухие свистящие хрипы при форсированном дыхании. Тоны сердца звучные, ритмичные. Живот мягкий, симметричный, безболезненный. Печень и селезенка не увеличены.

1. Клинический анализ крови:

Эрит.х10 ⁹ /л	Нв г\л	Тромб.х10 ⁹ /л	Лейк.х10 ⁹ /л	Эоз.%	Баз.%	Пя %	С/я %	Лимф. %	Мон.%	СОЭмм\ч
4,83	133	350	5,9	1	-	1	50	40	8	4

2. Общий IgE: более 450 МЕ/мл (норма до 60)

3. Специфический IgE: 2+ к пыльце ольхи, березы, лещины, эпидермису и шерсти лошади, 4 + к эпидермису и шерсти собаки и кошки.

4. Спирограмма: ЖЕЛ 93 %,ОФВ1 93%, ИТ 100%, ПСВ 64%, МОС50 79%, МОС75 70%. После 200 мкг вентолина прирост показателей: ОФВ1+2%.
Заключение: параметры бронхиальной проходимости в пределах нормы. Проба с сальбутамолом (200 мкг) отрицательная.

6. Рентгенография органов грудной клетки: Легочный рисунок усилен за счет сосудистого компонента, также в легочных полях отмечаются единичные лобулярные вздутия

7. Консультация ЛОР-врача: Аллергический ринит, интермиттирующего течения.

8. ЛДФ-грамма исходно: ПМ-21,10 пф.ед, δ ПМ-2,21пф.ед., Kv ПМ-10,9%. Амплитуда колебаний факторов регуляции: $A/3\delta(\text{Э})=1,37$, $A/3\delta(\text{Н})=1,42$, $A/3\delta(\text{М})=1,10$, $A/3\delta(\text{Д})=0,29$, $A/3\delta(\text{С})=0,58$.

10. ЛДФ-грамма через 3 месяца: ПМ-23,50 пф.ед, δ ПМ-2,51пф.ед., Kv ПМ-11,1%. Амплитуда колебаний факторов регуляции: $A/3\delta(\text{Э})=1,16$, $A/3\delta(\text{Н})=1,12$, $A/3\delta(\text{М})=0,82$, $A/3\delta(\text{Д})=0,37$, $A/3\delta(\text{С})=0,60$

10. ЛДФ-грамма: через 6 месяцев: М ПМ-25,12 пф.ед, δ ПМ-2,7 пф.ед., Kv ПМ-12,3%. (Рис. 18). Амплитуда колебаний факторов регуляции: $A/3\delta(\text{Э})=0,79$, $A/3\delta(\text{H})=0,82$, $A/3\delta(\text{M})=0,47$, $A/3\delta(\text{Д})=0,30$, $A/3\delta(\text{С})=0,55$.

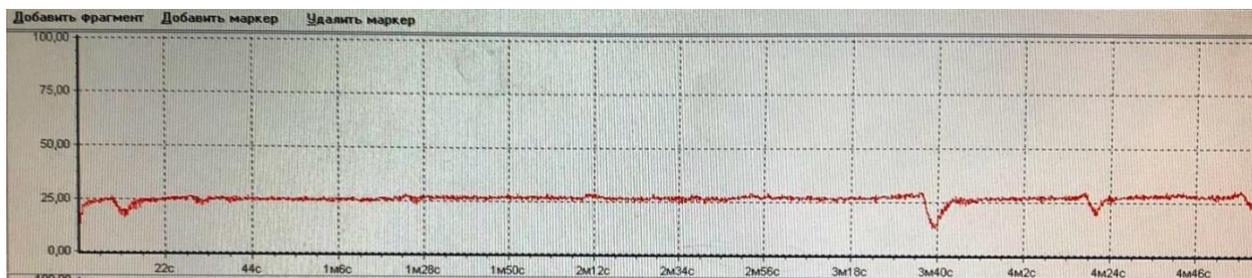


Рисунок 18 ЛДФ-грамма пациента с среднетяжелой БА через 6 месяцев наблюдения.

11. Капилляроскопия ногтевого ложа: количество функционирующих капилляров - 13,0 шт, периваскулярная зона - 100 мкм, диаметр артериального отдела - 11,2 мкм, диаметр переходного отдела - 14,5 мкм, диаметр венозного отдела - 12,3 мкм. (Рис.19)



Рисунок19 Капилляроскопия ногтевого ложа

Клинический диагноз: Бронхиальная астма, аллергическая, средней степени тяжести. Аллергический риносинусит, интермиттирующего течения, ремиссия.

Лечение: средние дозы ИГКС+бронхолитики, монтелукаст 5 мг.

Состояние ребенка с положительной динамикой: кашля отмечено не было, обострения бронхиальной астмы не было. Аускультативно хрипов нет, положительная динамика по спирограмме, потребности в бронхолитиках за время наблюдения не отмечалось.

На основании данных анамнеза, физикального, лабораторных и инструментальных исследований исходно у ребенка диагноз трактовался как бронхиальная астма, средней степени тяжести. Исходно через 4-6 недель после перенесенного обострения на ЛДФ-грамме отмечено снижение уровня перфузии по сравнению с контрольной группой. За время наблюдения через 3 месяца отмечалось увеличение показателей микроциркуляции с полным их восстановлением через 6 месяцев наблюдения. В данной клинической ситуации мы обнаружили увеличение амплитуды колебаний миогенного, нейрогенного и эндотелиального факторов регуляции. Нормализация данных факторов отмечалась через 5-6 месяцев после перенесенного обострения на фоне адекватно подобранной комбинированной терапии препарата (ИГКС+ β_2 агонист длительного действия) и подтверждает необходимость пролонгированного приема базисной терапии бронхиальной астмы. Дыхательный и сердечный факторы регуляции оставались неизменными. По данным капилляроскопии значимых изменений капилляров первой линии отмечено не было.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ (ЗАКЛЮЧЕНИЕ).

Бронхиальная астма одно из самых распространенных хронических заболеваний дыхательных путей у детей и взрослых. Во всех странах мира, в том числе и в Российской Федерации БА относится к социально значимым заболеваниям. По данным международного исследования ISSAC (International Study of Asthma and Allergies in Childhood) отмечается рост распространенности симптомов БА у детей 6-7 лет 11,1% - 11,6%, среди подростков 13-14 лет 13,2% - 13,7%. На прогноз течения БА влияет своевременная и адекватная терапия, повышение эффективности которой является одной из важнейших проблем современной педиатрии.

Актуальность работы определяется тем, что несмотря на достижения современных методов обследования выбор неинвазивных способов диагностики уровня контроля течения заболевания БА ограничен.

БА является гетерогенным заболеванием, характеризующееся наличием хронического аллергического воспаления в нижних отделах дыхательных путей. При атопической БА происходит активация эндотелиальных протеинов адгезии (ICAM-1 и VCAM-1). Эти белки связываются со специфическими рецепторами на нейтрофилах, эозинофилах и лимфоцитах, что увеличивает их концентрацию в дыхательных путях. Далее эти клетки выделяют различные ферменты и белки, повреждающие дыхательный эпителий и поддерживающие воспалительный процесс в дыхательных путях. В связи с активацией миофибробластов, гиперплазии бокаловидных клеток, гиперпродукции слизи, утолщения стенок бронхов, усиления коллагенообразования, отложения коллагена в стенках бронхов в конечном итоге, при длительном течении заболевания, может возникнуть фиброз и необратимая бронхиальная обструкция. Происходит изменение архитектоники микроциркуляторно тканевых систем: в виде деформации капилляров [74, 65,35,79,71].

В связи с тем, что изменения микроциркуляторно-тканевых систем при БА играют немаловажную роль, как в патогенезе заболевания, так и в его течении, в настоящее время большой интерес вызывает выявление маркеров воспаления со стороны микроциркуляторно-тканевых систем, как интегральных показателей предрасполагающих к развитию бронхиальной обструкции [48]. В ряде исследований была продемонстрирована связь ремоделирования стенки бронхов и васкуляризацией, эпителиальной гиперплазией и изменениями в подслизистой оболочке. Предположена корреляционная связь между расстройствами МЦ и течением БА. Отмечаются более выраженные изменения МЦ по мере утяжеления и длительности заболевания от функциональных нарушений до появления сладж-феномена, зон запустевания (уменьшения количества функционирующих капилляров) и морфологических изменений в микрососудах. При тяжелом течении заболевания рядом авторов [12] отмечается редукция сосудистого русла (десквамация интимы сосудов). При легком течении заболевания отмечалась тенденция к нормализации параметров эндотелиальной системы, с более медленной нормализации данных показателей у пациентов со среднетяжелым течением. Опубликованные работы посвященные данной проблеме относятся преимущественно к взрослой популяции.

В работе Лозко Н.И. с соавт. посвященной этой проблеме у детей описано явное снижение ПМ у детей при обострении БА легкого и среднетяжелого течения. Нашей задачей было изучения длительности сохранения данных изменений МЦ после ликвидации признаков обострения, в том числе и у детей с тяжелым течением заболевания.

В проведенном нами исследовании впервые осуществлена комплексная оценка микроциркуляторно-тканевых-систем с помощью современных неинвазивных методов обследования в комплексе с оценкой параметров функции внешнего дыхания у детей с БА различной степени тяжести вне обострения.

Использованные нами методы обследования отличались своей простотой выполнения, неинвазивностью, доступностью объекта исследования, моментальной визуализацией МЦ, безболезненностью (что особенно важно в педиатрической практике), а также возможностью ранней доклинической диагностики некоторых патологических изменений [84,46,25,85,66,98].

На первом этапе работы были определены показатели микроциркуляторно-тканевых систем у здоровых детей с целью использования их в качестве опорных показателей. Достоверно значимых различий параметров микроциркуляторного русла по данным капилляроскопии у детей разного возраста получено не было. Однако установлено, что диаметры всех отделов капилляра и ширина периваскулярной зоны ($p \leq 0,05$) имеют тенденцию к увеличению с возрастом. Также с возрастом отмечается увеличение числа функционирующих капилляров первой линии. Полученные данные полностью согласуются с данными других исследователей [99,25].

При оценки базовых показателей микроциркуляции оценка сатурации SO_2 крови осуществляется методом оптической тканевой оксиметрии в микроциркуляторном русле (в состав которого входят артериолы с оксигемоглобином, капилляры с окси- и дезоксигемоглобином и вены с дезоксигемоглобином), т.е. осуществляется оценка смешанной крови. Данным фактом и объясняется полученное нами низкое значение SO_2 , среднее значение которого равно $85,81 \pm 4,6$ пф.ед.

При оценке основных параметров микроциркуляции у детей с БА методом ЛДФ было выявлено, что у детей с легкой БА через 3-4 недели после обострения имелись незначительные изменения ПМ, которые в динамике быстро нормализовались.

У детей со среднетяжелой БА через 3-4 недели после обострения показатели ПМ были достоверно снижены. В течение 3-6 месяцев эти изменения восстанавливались до нормы, но обращает на себя внимание более медленное восстановление при БА средней тяжести по сравнению с

легкой БА. К 6 месяцу после обострения у всех детей показатели соответствовали норме. Наиболее выраженные изменения ПМ отмечались у детей с тяжелой БА. А у 2/3 пациентов данный показатель не восстановился и через 6 месяцев наблюдения.

При детальном анализе микроциркуляции исходное снижение ПМ отмечалось у пациентов с неконтролируемым течением БА различной степени тяжести, у которых последнее обострение БА было менее месяца назад. Контроль заболевания не был достигнут у 13% детей с легкой БА, у 22% со среднетяжелой и у 40% тяжелой БА. У 1/3 пациентов с тяжелой БА и у 1/4 пациентов со среднетяжелой БА показатели микроциркуляции оставались ниже нормальных показателей. По-видимому, это было связано: 1) с более тяжелым течением заболевания 2) с недостаточно адекватно подобранной базисной терапией 3) с низким комплаенсом и 4) наличием коморбидных заболеваний.

Показатель микроциркуляции (ПМ) можно расценивать в качестве дополнительного критерия оценки эффективности проводимой терапии и комплаенса пациента.

В микроциркуляторном русле кровотока подвержен постоянным колебаниям, связанным с различными активными и пассивными факторами регуляции. При анализе амплитудно-частотного спектра ЛДФ нами был оценен вклад каждого из этих факторов в модуляцию кровотока у детей с БА различной степени тяжести.

При легкой БА в динамике отмечается нормализация показателей нейрогенного, дыхательного, сердечного и миогенного факторов регуляции. Что касается эндотелиального фактора регуляции, в динамике у части пациентов он восстанавливается уже через 3 месяца, однако части требуется более длительная терапия. Вероятно это связано с тем, что при легкой БА отмечаются менее выраженные изменения в структуре и функции микрососудов.

При среднетяжелой БА нормализация показателей эндотелиального фактора происходит медленнее, чем при легкой БА. Что может служить начальным признаком эндотелиальной дисфункции и является показанием для более длительного базисной терапии. Нарушение морфофункциональной организации клеток крови и эндотелия коррелируется с периодом и тяжестью течения БА, что отмечается рядом исследователей.

В группе детей со среднетяжелой БА полученные нами данные о нормализации миогенного фактора, через 3 месяца подтверждают необходимость длительного приема комбинированного приема (ИГКС+ β_2 агонистами длительного действия).

У детей с тяжелой БА в связи с истощением компенсаторных механизмов и более выраженных изменений в стенках сосудов амплитуда колебаний эндотелиального, миогенного и дыхательного факторов регуляции статистически значимо не отличаются от контрольной группы. Также нами выявлен значительный разброс показателя сердечного компонента (исходно - $0,51 \pm 0,1$ пф.ед., через 3 месяца $0,74 \pm 0,3$ пф.ед. и через 6 месяцев $0,69 \pm 0,5$ пф.ед.), вероятнее всего, связанный с длительным приемом β -агонистов длительного действия или метилксантинов в этой группе пациентов.

При оценке данных микроциркуляции по параметрам капилляроскопии у детей с БА различной степени тяжести нами были подтверждены ранее выявленные в экспериментальных исследованиях увеличение ширины периваскулярной зоны в зависимости от возраста [7]. Также нами было выявлена корреляция степени тяжести БА с увеличением диаметра артериального отдела капилляра. Это может быть объяснено наличием отека и воспаления у детей с хроническим заболеванием легких. У детей с тяжелой БА в динамике показатели капилляроскопии существенно не изменились, что может быть связано с тяжестью заболевания и снижением компенсаторных возможностей организма. Также отмечается увеличение числа функционирующих капилляров у детей с тяжелой БА, что может быть

связано с компенсаторной задействованностью коллатералей в процессе микроциркуляции.

Исходя из функциональной роли внутриклеточного NADH и диагностического потенциала в качестве естественного биомаркера окислительно-восстановительных реакций в клетках, энергетического метаболизма и митохондриальных аномалиях в различных патофизиологических условиях нами были изучены изменения его уровня в корреляции со степенью контроля БА различной степени тяжести. За счет того что данный кофермент является аутофлуорофором мы смогли оценить его уровень с помощью лазерной флоуметрии.

Нами получены достоверные данные о значимом снижении этого показателя у детей с обострением бронхиальной астмы. Это может свидетельствовать об увеличении затрат данного кофермента организмом для устранения гипоксии. При обострении БА происходит увеличение концентрации NO в просвете бронхов [14], что ведет к свободнорадикальному перекисному окислению липидов, в предотвращении которого принимает участие ферментативная система NADH.

Очевидно, что мониторинга одного параметра, такого как функция митохондрий или только микроциркуляторный кровоток, недостаточно для правильной оценки энергетического метаболизма тканей. Поэтому нами был использован комплексный подход для оценки функционирования микроциркуляторно-тканевых систем у детей с БА различной степени тяжести в период ремиссии с одновременным применением ряда современных неинвазивных методик, таких как капилляроскопия, ЛДФ и спектроскопия.

ВЫВОДЫ

- 1) Определены параметры отражающие состояние микроциркуляторно-тканевых систем у здоровых детей с 6-18 лет. Были определены нормальные значения активных (эндотелиальный, нейрогенный, миогенный) и пассивных (дыхательный, сердечный) факторов регуляции у здоровых детей. Полученные значения могут быть использованы в качестве опорных для оценки микроциркуляторно-тканевых систем.
- 2) Исследование микроциркуляторно-тканевого русла в течение 6 месяцев после обострения показало, что у детей с легкой БА незначительные изменения показателя микроциркуляции ($23,98 \pm 1,05$) сохраняются через 3-4 недели у 23% и нормализуются через 3-6 месяцев. При среднетяжелой БА показатели микроциркуляции ($21,15 \pm 0,66$) нарушены через 3-4 недели у 57% и восстанавливаются более медленно, а у 25% детей сохраняются и через 6 мес. При тяжелой БА отмечается выраженное снижение показателя микроциркуляции ($18,79 \pm 1,93$). У 2/3 пациентов не восстанавливаются и через 6 месяцев наблюдения.
- 3) У детей с частично контролируемым течением БА при капилляроскопии выявлены выраженные изменения, в виде увеличения периваскулярной зоны и диаметра артериального отдела капилляров в зависимости от степени тяжести. Компенсаторно увеличивается количество функционирующих капилляров у детей с тяжелой БА. Диаметр венозного и переходного отдела статистически значимо не изменялись.
- 4) При легкой и среднетяжелой БА у детей с частично-контролируемым течением увеличивается амплитуда колебания эндотелиального фактора. Отсутствие существенных изменений амплитуды колебаний факторов регуляции при тяжелой БА может иметь прогностическое значение в оценке регуляторных механизмов контроля микроциркуляторно-тканевых систем и может быть маркером снижения компенсаторных возможностей организма.

5) Изменения микроциркуляторного русла сохраняются более длительно, чем клинические проявления и нарушения параметров функции внешнего дыхания, что может быть использовано при динамическом наблюдении как дополнительный параметр степени контроля заболевания.

6) Статистически значимое снижение NADH при обострении БА, свидетельствует об увеличении затрат данного кофериента в связи с активацией окислительного метаболизма в митохондриях при развитии гипоксии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

- 1) Определенно среднее значение показателя микроциркуляции (ПМ) у детей с 6 до 18 лет. ПМ составил $25,8 \pm 2,67$ пф.ед, $SO_2 = 85,81 \pm 4,6$ и $Vr = 8,42 \pm 1,8$. Значения факторов регуляции у здоровых детей: эндотелиальный $1,17 \pm 0,48$ пф.ед., нейрогенный $1,19 \pm 0,38$ пф.ед., миогенный $0,93 \pm 0,04$ пф.ед. дыхательный $0,37 \pm 0,03$ пф.ед. и сердечный $0,67 \pm 0,03$ пф.ед.. Полученные значения могут быть использованы в качестве опорных для оценки микроциркуляторно-тканевых систем.
- 2) Достоверно значимых различий параметров микроциркуляторного русла по капилляроскопии у детей разного возраста, получено не было ($p \geq 0,5$). Однако нами установлено, что диаметры всех отделов капилляра и ширина периваскулярной зоны увеличиваются с возрастом. Данные показатели могут использоваться в качестве опорных для оценки капиллярного звена микроциркуляторно-тканевых систем.
- 3) Длительно сохраняющиеся изменения параметров микроциркуляторно-тканевых систем у детей со среднетяжелой БА свидетельствуют о необходимости пролонгированной базисной терапии ИГКС не менее 6 месяцев. При тяжелой БА мониторинг факторов регуляции может служить дополнительным критерием в подборе дозы и длительности базисной терапии.
- 4) Определение уровня NADH может быть использовано как один из критериев диагностики степени гипоксии в тканях при обострении БА у детей.

СПИСОК ОСНОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АЛР - антилейкотриеновые препараты

АР - аллергический ринит

БА - бронхиальная астма

БО – бронхиальная обструкция

ВОЗ - Всемирная организация здравоохранения

ГКС - глюкокортикостероиды

ИГКС - ингаляционные глюкокортикостероиды

КДБА -короткодействующие β_2 агонисты

ЛДФ - лазерная доплеровская флоуметрия

МЦ – микроциркуляция

МЦР- микроциркуляторное русло

ОФВ1-объем форсированного выдоха за первую секунду

ФВД- функция внешнего дыхания

ДДБА- агонисты длительного действия

GINA- Global Initiative for Asthma- Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы

Ig E- иммуноглобулины класса E

ISAAC- International Study of Asthma and Allergies in Childhood- международное исследование астмы и аллергии у детей

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1) Андрианова, Е.Н. Клинико-функциональные особенности гемоциркуляторных и респираторных нарушений при бронхиальной астме у детей (патогенетические механизмы, диагностика, прогнозирование, реабилитация): дис.... Д-ра мед. наук: 14.00.09 / Андрианова Елена Николаевна. – Иваново, 2002.- 268 с.
- 2) Андрианова, Е.Н.. Микрогемоциркуляция и активность воспаления при бронхиальной астме у детей / Е.Н. Андрианова, А.И. Рывкин // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2008. - Т.13. - №1-2 - С.17-25.
- 3) Астафьева, Н. Г. Трудности диагностики и лечения бронхиальной астмы у детей первых пяти лет жизни / Н. Г. Астафьева, И. В. Гамова, Д. Ю. Кобзев // Лечащий врач. — 2011. — № 1. — С. 21—27.
- 4) Бабошина, Н.В. Исследование микроциркуляции крови у детей 8 и 10 лет с использованием дыхательной пробы/ Н.В.Бабошина // Вестник РГМУ. – 2016. - В.3. – С. 56-62.
- 5) Белякова, А.В. Состояние системной и легочной гемодинамики и микроциркуляции при бронхиальной астме у детей / А.В. Белякова, М.И. Шишкина // Педиатрия. – 2008. – Т.87 - №4 - С. 30-33.
- 6) Бережанский, П.В. Особенности микроциркуляции детей, перенесших острый обструктивный бронхит / П.В. Бережанский, И.М. Мельникова, Ю.Л. Мизерницкий, Л.Б.Шубин // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. - 2014. – Т.12 – В.2 - С.30-36.
- 7) Бережанский, П.В. Современные представления об участии микроциркуляторных нарушений в патогенезе аллергического воспаления / П.В. Бережанский, И.М. Мельникова, Ю.Л. Мизерницкий // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2012. – Т.11. - №4(44) – С. 4-11.

- 8) Геппе, Н.А. Значение национальных руководств в выборе методов лечения бронхиальной астмы у детей / Н.А. Геппе, Н.Г. Колосова // Лечащий врач. - 2013. -- №2.- С. 69-71.
- 9) Геппе, Н.А. Возрастные параметры нормы компьютерной капилляроскопии и лазерной доплеровской флоуметрии / Н.А.Геппе, Н.Г.Колосова, А.Н.Герасимов, А.Р.Денисова, А.В.Ботнева, Н.И.Лозко, В.Д.Денисова // Вопросы практической педиатрии. – 2018. Т.13. - №1. - С. 40-44.
- 10) Геппе, Н.А. Диагностика и терапия бронхиальной астмы у детей дошкольного возраста. Место небулизированных ингаляционных глюкокортикостероидов в терапии бронхиальной астмы и крупа (Консенсус по результатам совета экспертов Педиатрического респираторного общества) / Н.А. Геппе, Н.Г. Колосова, О.В. Зайцева, И.Н. Захарова, А.Л. Заплатников, Ю.Л. Мизерницкий, А.Б. Малахов, В.А. Ревякина, Е.Г. Кондюрина, С.А. Царькова, Н.А. Иванова, Е.Г. Фурман // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2018 . - 63:(3) - С. 124-130.
- 11) Глазова, Т. Г. Структурно-функциональные изменения клеток крови и эндотелия при бронхиальной астме у детей : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.08 / Глазова Татьяна Геннадьевна. — И., 2014. — 44 с.
- 12) Глазова, Т.Г. Патогенетические механизмы формирования капиллярно-трофической недостаточности при бронхиальной астме у детей / Т.Г.Глазова, А.И.Рывкин, Н.С. Побединская, Р.М. Ларюшкина, И.В. Тентелова // Медицинский альманах. – 2018. - №3 (54). – С. 56-59
- 13) Глазова, Т.Г. Структурно-метаболический статус и функциональные свойства эндотелия при бронхиальной астме у детей / Т.Г. Глазова, А.И. Рывкин, Р.М. Ларюшкина, Н.С. Побединская, Р.. Пахрова, О.А. Горохова, Т.Б. Соколова, И.В. Филина // Медицинский Альманах. – 2013. - №6(30). – 125-127. (1)

- 14) Глазова, Т.Г. Структурно-функциональные изменения клеток крови и эндотелия при бронхиальной астме у детей: дис..... д-ра мед. наук: 14.01.08 /Глазова Татьяна Геннадьевна. – Иваново, 2014 - 268с.
- 15) Грибанов, А.В. Кровообращение и дыхание у школьников в циркумполярных условиях [Электронный ресурс]: монография / А.В. Грибанов, А.Б. Гудков, О.Н. Попова, И.Н. Крайнова .— Архангельск : Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова, 2016 .— 272 с.
- 16) Гурова, О.А. Изменение показателей микроциркуляции крови у студентов в течение дня/ О.А. Гурова // Новые исследования. - 2013. - С. 66-71.
- 17) Гурова, О.А. Индивидуально-типологические особенности микроциркуляции крови у детей 4-7 лет. / О.А. Гурова// Новые исследования. - 2014. - С. 14-23
- 18) Гурова, О.А. Состояние микроциркуляции крови у молодых людей разного пола/ О.А.Гурова, С.М.Рыжакин //Новые исследования. - 2015. - С. 20-26.
- 19) Гусева, И.А. Исследование воздействия ионизирующего излучения на ткани методом лазерной флуоресцентной спектроскопии in vivo / И.А. Гусева, П.А. Куликова, О.А. Быченков, Д.А. Рогаткин, Д.А. Куликов, Ю.В. Чурсинова, М.А. Бобров // Альманах клинической медицины. – 2016. - 44(2). С. 165-171.
- 20) Дорофиенко, Н.Н. Роль сосудистого эндотелия в организме и универсальные механизмы изменения его активности (Обзор литературы)/ Н.Н. Дорофиенко // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2018. – Вып. 68. - С. 107-116.
- 21) Дремин, В.В. Возможности лазерной доплеровской флоуметрии в оценке состояния микрогемолимфоциркуляции / Дремин В.В., Козлов И.О., Жерербцов Е.А., Маковик И.Н., Дунаев А.В., Сидоров В.В., Крупаткин А.И.// Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. - 16 (4). - С. 42-49.

- 22) Иванов, К.П. Микроциркуляция в легких: некоторые особенности конструкции и динамики / К. П. Иванов [и др.] // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2010. — Т. 9. - № 3 (35). — С. 81—83.
- 23) Ковалева, М.А. Обзор прямых методов изучения микроциркуляции и оценки полученных данных / М.А. Ковалева, К.В. Жмерецкий // Журнал медико-биологических исследований.- 2020.- Т.8. – №1. – С. 79-88. (5)
- 24) Козлов В.И. ЛДФ-метрия кожного кровотока в различных областях тела. / В.И. Козлов, М.В. Морозов, О.А. Гурова // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. - 2012. – Т.1 (41). - С. 58-61.
- 25) Козлов, В.И. Капилляроскопия в клинической практике: монография / В.И. Козлов. – М.: Практическая медицина, 2015г. – 232с.
- 26) Козлов, В.И. Современные клинико-морфологические аспекты изучения расстройств микроциркуляции крови/ В.И. Козлов // Вестник РУДН, серия Медицина. – 2011. - № 3. - С.17-20.
- 27) Козлов, В.И. Система микроциркуляции крови: клинико-морфологические аспекты изучения/ В.И. Козлов // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2006. — Т. 5. — № 1. — С. 84—101.
- 28) Коровин, М.В. К вопросу фармакологической коррекции гипотестроген-индуцированной эндотелиальной дисфункции / М.В. Корокин, М.В. Покровский, Т.Г. Покровская, Е.Б. Артюшкова, М.П. Гладченко, Н. Е. Толмачев, А.М. Носов // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». - 2008. - №1. - С. 31-35.
- 29) Крупаткин, А.И. Проблема адаптации и колебательные процессы в микроциркуляторном русле / А.И. Крупаткин, В.В. Сидоров // Физиол. Человека. – 2016 .- Т.42. -№4. – С. 69.
- 30) Крупаткин, А.И. Колебания кровотока-новый диагностический язык в исследовании микроциркуляции / А.И.Крупаткин // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. - 2014. - Т.13. - №1(49). - С.83-99.

- 31) Крупаткин, А.И. Руководство для врачей «Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови/ А.И.Крупаткин, В.В.Сидоров. М.: ОАО издательство «Медицина», 2005. - 125 с.
- 32) Крупаткин, А.И. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем. Руководство для врачей/ А.И.Крупаткин, В.В. Сидоров. Изд. стереотип. – М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ», 2014. – 498 с.
- 33) Куприянов, В.В. Микроциркуляторное русло / В.В. Куприянов, Я.Л. Караганов, В.И. Козлов - М.:Медицина, 1975. – 216 с.
- 34) Лапитан, Д.Г. Функциональные исследования системы микроциркуляции крови методом лазерной доплеровской флоуметрии в клинической медицине: проблемы и перспективы / Д.Г. Лапитан, Д.А. Рогаткин // Альманах клинической медицины. – 2016. - 44(2). – С. 249-259.
- 35) Луценко, М.Т. Морфофункциональная характеристика слизистой оболочки бронхов при бронхиальной астме / М.Т. Луценко // Бюллетень. - 2014. - Выпуск 53 - С. 57- 62.
- 36) Марушко, Е.Ю. Капилляроскопия ногтевого ложа в детской кардиоревматологии / Е.Ю.Марушко // Современная педиатрия. – 2012. - 7(47) - С. 137-141.
- 37) Мизерницкий, Ю. Л. Дифференциальная диагностика и принципы дифференцированной терапии бронхообструктивного синдрома при острой респираторной инфекции у детей / Ю. Л. Мизерницкий // Земский врач. — 2010. — № 3. — С. 5—10.
- 38) Минеев, В.Н. Эндотелиальная дисфункция при бронхиальной астме как отражение аллергического континуума / В.Н. Минеев, И.И. Нестерович, Ю.Д. Рабик // Медицинский академический журн. – 2006. - №2. – С.97-101.
- 39) Молотков, О.В. Микроциркуляция и функция эндотелия: теоритические основы, принципы диагностики нарушений, значение для клинической практики / Научно-методическое пособие. Под редакцией проф. О.В. Молоткова, О.В.Халепо // Смоленск, 2015г. (уже есть)

- 40) Муравьев, А.В. Микроциркуляция и гемореология: точки взаимодействия / А.В. Муравьев, П.В. Михаулов, И.А. Тихомирова // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – Т.16 - №2 (62). - С. 90-100.
- 41) Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». 5-е изд., перераб. и доп. - М.: Оригинал-макет, 2017. - 160с.
- 42) Ненашева, Н.М. Фенотипы бронхиальной астмы и выбор терапии / Н.М. Ненашева // Практическая пульмонология. - 2014. - №2 - С. 2 – 11.
- 43) Петрицкая, Е.Н. Использование флуоресцентной спектроскопии для диагностики гипоксии и воспалительных процессов в тканях / Е.Н.Петрицкая, Д.А.Куликова, Д.А.Рогаткин, И.А. Гусева, П.А.Куликова // Оптический журнал. 2015. – № 82(12). – С. 41-46.
- 44) Петрищев, Н.Н. Нарушения микроциркуляции: причины, механизмы, методы оценки / Н.Н. Петрищев // Материалы науч.-практ.конф. «Методы исследования микроциркуляции в клинике». – СПб., 2001. – С. 6-8.
- 45) Пилиева, Н.Г. Лазерная доплеровская флоуметрия в диагностике микроциркуляторных нарушений при внебольничных пневмониях и их коррекция/ Н.Г.Пилиева, Н.М.Бурдули // Вестник новых медицинских технологий. – 2016. - №2. – С. 179-186.
- 46) Подчерняева, Н.С. Оценка нарушения микроциркуляции у детей с системными заболеваниями соединительной ткани методом капилляроскопии / Н.С. Подчерняева, Н.А. Геппе, А.В. Ботнева, В.Д. Денисова, А.П. Кузнецов, М.И. Кузнецова // Научно-методическое пособие «Микроциркуляция и функция эндотелия: теоритические основы, принципы диагностики нарушений, значение для клинической практики». – Смоленск, 2015. - С. 73-82.
- 47) Покровская, Т.Г. Роль фармакологической коррекции метаболического пути L-аргинин/ NO при моделировании дефицита оксида азота/ Т.Г.

Покровская // Кубанский научный медицинский вестник. - 2008. - №4. - С 122-125.

48) Потапова, Н.Л. Значение эндотелиального фактора роста в контроле бронхиальной астмы у детей / Н.Л. Потапова, И.Н. Гаймоленко, П.П. Терешков // Доктор.Ру. - 2020. - 19(3). – С. 40–43. (6)

49) Рывкин, А. И. Состояние микрогемодиализации при бронхиальной астме у детей / А. И. Рывкин // Педиатрия. — 2005. — № 6. — С. 7—12.

50) Рывкин, А.И. Патогенетические механизмы ремоделирования бронхов при бронхиальной астме у детей / А.И. Рывкин, Т.Г. Глазова, Н.С. Побединская, Р.М. Ларюшкина, Т.Г. Решетова // Медицинский Альманах. – 2017. - №2(47). – С.56-60. (2)

51) Сидоров, В.В. Лазерные технологии для комплексной неинвазивной диагностики микрогемодинамики, транспорта кислорода и состояния обменных процессов в биоткани / В.В. Сидоров, В.М.Гусаков // Медицина и высокие технологии. - 2013. – С. 42-46.

52) Сиротин, Б.З. Микроциркуляция при сердечно-сосудистых заболеваниях: монография / Б.З. Сиротин, К.В. Жмеренецкий. - Хабаровск: Издательство ДВГМУ, 2008. - 150с. (вкладка 8 с.).

53) Танканаг, А.В. Адаптивный вейвет анализ колебаний периферического кровотока кожи человека/ А.В. Танканаг, Н.К. Чемерис// Биофизика. - 2009. – Т.54. - №11ю - С.103-109.

54) Тихомирова, И.А. Возможности метода лазерной доплеровской флуометрии в оценке возрастных особенностей функционирования системы микроциркуляции / И.А. Тихомирова, Н.В. Бабошина, С.С. Терехин //Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2018. - №17(3). – С.80-86.

55) Тихонов, И.В. Исследование периферического кожного кровотока у больных с тяжелым течением бронхиальной астмы / И.В. Тихонова, А.В. Танканаг, Н.И. Косякова, Н.К. Чемерис // Фундаментальные исследования. – 2014. - №7. - С. 364-367.

- 56) Тучин, В.В. Оптическая биомедицинская диагностика / В.В.Тучин // Известия Саратовского университета Новая серия. Серия Физики. - 2005. - С. 39-52.
- 57) Федорова, О.Ф. Состояние микроциркуляции и системы гемостаза у больных с различным вариантом течения бронхиальной астмы / О.Ф. Федорова, В.Д. Петрова, М.В. Потапова, Т.И. Капланова // Бюллетень медицинских Интернет-конференций (ISSN 2224-6150). - 2016. - №6. Вып. 8. - С. 1456-1457.
- 58) Федорович, А.А. Микрососудистое русло кожи человека как объект исследования / А.А.Федорович // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. - 2017. - 16 (4) - С.11-26.
- 59) Шилова, А.А. Клинико-диагностическое значение лазерной доплеровской флоуметрии при бронхиальной астме у детей / А.А.Шилова, Б.И.Кантемирова, Н.В. Тимофеева// Астраханский медицинский журнал. – 2010. – Т.5. - №2. - С. 91-94.
- 60) Шилова, А.А. Клинико-диагностическое и прогностическое значение лазерной доплеровской флоуметрии при бронхиальной астме у детей: дис. ... к-та мед. наук : 14.01.04 / Шилова Анна Анатольевна. –Астрахань, 2010. – 165 с.
- 61) Anning, B.J. Neuronal modulation of airway and vascular tone and their influence on nonspecific airways responsiveness in asthma / B.J. Anning, S.B. Mazzone // J Allergy (Cairo). – 2012. - P.1-7.
- 62) Behrendt, D. Endothelial function. From vascular biology to clinical applications / D. Behrendt, P. Ganz // Am. J. Cardiol. - 2002. - Vol.90. - №10. - P.40-48.
- 63) Bjerregaard, A. Characteristics associated with clinical severity and inflammatory phenotype of naturally occurring virus-induced exacerbations of asthma in adults / A. Bjerregaard, I.A. Laing, N. Poulsen, V. Backer, A. Sverril, M. Fally, Siew-Kim Khoo, L. Barrett, S. Baltic, P.J. Thompson, G. Chidlow, C.

Sikazwe, D.W. Smith, Y.A. Bochkov, P. Le Souef, C. Porsbjerg // *Respiratory Medicine*. – 2017. – Vol.123. – P. 34-41.

64) Bousquet, J. Asthma: from bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling / J. Bousquet, P. K. Jeffery, W. W. Busse, M. Johnson, A. M. Vignola *American // Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. – 2000. - Vol. 161. - №. 5. - P. 1720–1745.

65) Bucantz, S.C. Ig E immediate hypersensitivity / S.C. Bucantz// *Bronchial asthma. Mechanisms and therapeutics*. - Boston: Little Brown. – 1993. - P.68-79

66) Carpentier, P. H. Current techniques for the clinical evaluation of the microcirculation / P. H. Carpentier // *J. Mal. Vasc.* — 2001. — № 26 (2). — P. 142—147.

67) Chojnowski, M. M. Capillaroscopy – a role in modern rheumatology / M. M. Chojnowski, A. Felis-Giemza, M. Olesińska // *Reumatologia*. – 2016. T.54. – Vol. 2. – P. 67–72.

68) Coleman, H.A. Endothelial potassium channels, endothelium-dependent hyperpolarization and the regulation of vascular tone in health and disease / H.A. Coleman, T. Mare, H.C. Parkington // *Clin. Exp. Pharmacol. Physio.* - 2004. - Vol. 31. - №9. - P.641-649.

69) Davignon, J. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis / J. Davignon, P. Ganz // *Circulation*. - 2004. - Vol.109. - №23 (Suppl.1). - P.27-32.

70) Dolezalova, P. Nailfold capillary microscopy in healthy children and in childhood rheumatic diseases: a prospective single blind observational study / P. Dolezalova, S. Young, P. Bacon, T. Southwood // *Ann Rheum Dis*. – 2003. - 62(5). – P. 444–449.

71) Dulin, N.O. What Evidence Implicates Airway Smooth Muscle in the Cause of BHR? / N.O. Dulin, D.J. Fernandes, M. Dowell, S. Bellam, J. McConville, O. Lakser, R. Mitchell, B. Camoretti-Mercado, P. Kogut, J. Solway // *Clinical reviews in Allergy and Immunology*.- 2003. – Vol. 24. – P. 73-84.

72) Fung, Y.C. Microcirculation: Mechanics of blood flow in capillaries / Y.C. Fung, D.W. Zweifach // *Annu Rev. Fluid Mech*. - 1971. - №3. - P. 189-210.

- 73) Global Burden of Disease Study, 2014. Режим доступа: <http://www.globalasthmareport.org/burden/burden.php>
- 74) Global Strategy for Asthma Management and Prevention (GINA). Report 2018. Режим доступа: <http://ginasthma.org/2018-gina-report-global-strategy-for-asthma-management-and-prevention/>
- 75) Global Strategy for Asthma Management and Prevention (GINA). Report 2020.
- 76) Grassi W. Basic findings in capillaroscopy / W. Grassi, P. Del Medico // Atlas of capillaroscopy. – 2014. - 1 st.ed.- Italy, EDRA - P.10-25.
- 77) Halwani, R. Role of transforming growth factor-B in airway remodeling in asthma / Al-Muhsen, H. Al-Jahdali // Am J. Respir. Cell.Mol. Bio.- 2011. - №44(2). - P. 127-133.
- 78) Haraguchi, M. Morphometric analysis of bronchial cartilage in chronic obstructive pulmonary disease and bronchial asthma / M. Haraguchi, S. Shimura, K. Shirato // Am. J. Respir. Crit. Care. Med. — 1999. — № 159. — P. 1005—1013.
- 79) Hee, s P. Targeting abnormal airway vascularity as a therapeutical strategy in asthma // Hee sun PARK, Sun Young KIM, So Ri Kim, Yong Chul LEE // Respirology. – 2010. –Vol. 15. – P. 459–471.
- 80) Hengameh, H. Small Airway Targeted Therapy in Pediatric Asthma : Are We There Yet? / H. Hengameh, D. Pharm, K. Blake, D. Pharm // Pediatr Allergy Immunol Pulmonol. — 2013. — № 26 (4). — P. 204—206.
- 81) Hoff, D.A. Mucosal blood flow measurements using laser Doppler perfusion monitoring / D.A. Hoff, H. Gregersen, J.G. Hatlebakk // World Journal of Gastroenterology. - 2009.- Vol. 15(2). - P. 198-203.
- 82) Ingegnoli, F. Nailfold Capillaroscopy in Pediatrics / F. Ingegnoli, A.L. Herric // Arthritis Care & Research. – 2013.- Vol. 65. - №. 9. – P. 1393–1400.
- 83) Intaglietta, M. Capillary Flow motion / M. Intaglietta // Int. J. Microcirculation. – 2002. - Vol. 14 (suppl.1.). – P. 3-15.

- 84) Jung, P. Minireview Capillaroscopy / P. Jung, F. Trautinger // Journal of the German Society of dermatology. – 2013. - Vol. 33. – P. 36-42.
- 85) Karbalaie, A. Elliptical broken line method for calculating capillary density in nailfold capillaroscopy: Proposal and evaluation / A. Karbalaie, F. Abtahi, A. Fatemi, M. Etehadtavakol, Z. Emrani, B.E. Erlandsson // Microvasc Res.- 2017 . – Vol.113. - P.1-8.
- 86) Mahnaz, E.T. Nailfold Capillaroscopy in Rheumatic Diseases: Which Parameters Should Be Evaluated / E.T Mahnaz, F. Alimohammad, K. Abdolamir , E. Zahra, Björn-Erik Erlandsson // Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International. – 2015. - Article ID 974530. – P. 17.
- 87) Mayevsky, A. Shedding light on mitochondrial function by real time monitoring of NADH fluorescence: II: human studies / A, Mayevsky, E. Barbiro-Michaely // J Clin Monit Comput. – 2013. - 27(2). P. - 125-145.
- 88) Niimi, A. Relationship of airway wall thickness to airway sensitivity and airway reactivity in asthma / A. Niimi, H. Matsumoto, M. Takemura, T. Ueda, K. Chin, and M. Mishima // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2003. - Vol.168. - № 8. - P. 983–988.
- 89) Petry, D. G. Nailfoldcapillaroscopy in children and adolescents / D. G Petry, M. T. Terreri, C. A. Len // Acta Reumatol. Port. — 2008. — № 33 (4). — P. 395—400.
- 90) Piotto, D. Nailfold videocapillaroscopy in healthy children and adolescents: description of normal patterns / D.Piotto, J. Sekiyama, C. Kayser, M. Yamanda, C. Len, M. T. Terreri// Clin Exp Rheumatol. - 2016. - Vol. 34. - №5. - P. 0193-0199.
- 91) Pohunek, P. Markers of eosinophilic inflammation and tissue re-modelling in children before clinically diagnosed bronchial asthma / P. Pohunek et al. // Pediatric allergy and immunology. – 2005. – Vol. 16. – №. 1. – P. 43-51.
- 92) Rani, T.L. To see or not to see. A study on Capillary Refill / T.L. Rani.- Linköping, 2020.- p. 47.

- 93) Rossi, M. Assessment of skin microvascular endothelial function in patients with acute unilateral vestibular syndrome / M. Rossi, A. P. Casani, M. Pesce // *Clin. Hemorheol Microcirc.* — 2012. - P. 327—335.
- 94) Salvato, G. Quantitative and morphological analysis of the vascular bed in bronchial biopsy specimens from asthmatic and nonasthmatic subjects / G. Salvato // *Thorax.* — 2001.- Vol. 56 (12). - P. 902- 906.
- 95) Sander, O. Taschenatlas Kapillarmikroskopie. O. Sander, C. Iking-Konert, B. Ostendorf // Georg Thieme Verlag. — 2007. -Stuttgart.
- 96) Sarah, P. Non-invasive detection of microvascular changes in a paediatric and adolescent population with type 1 diabetes: a pilot cross-sectional study / P. Sarah, M. Hosking, R. Bhatia, P.A. Crock, M. Ian, R Wright, L. M. Squance, G. Reeves // *BMC Endocrine Disorders.* — 2013. -9p.
- 97) Segal, SS. Integration and modulation of intercellular signaling underlying blood flow control/ Segal S.S, J. Vasc // *Res.* — 2015. - 52 (2). — P. 136-157.
- 98) Tam, J. Noninvasive visualization and analysis of parafoveal capillaries in humans / J. Tam, J. A. Martin, A. Roorda // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2010. — № 51 (3). — P. 1691—1698.
- 99) Terreri, M.T. Nailfold capillaroscopy: normal findings in children and adolescents / M.T. Terreri, L.E. Andrade , M.L. Puccinelli [et.al.] // *Semin Arthritis Rheum.* - 1999. - Vol.29(1). - P.36-42.
- 100) Urwin, S.G. Quantification of differences between nailfold capillaroscopy images with a scleroderma pattern and normal pattern using measures of geometric and algorithmic complexity / S.G. Urwin, B. Griffiths, J. Allen // *Physiological Measurement.* — 2017. — Vol. 38. — P.32–41.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Анкета пациента

№	Вопрос	Ответ
1	Ф.И.О.	
2	Возраст пациента	
3	Пол	
4	Наследственность	
5	Аллергия (пищевая, медикаментозная)	
6	Наличие коморбидных заболеваний (аллергический ринит, атопический дерматит)	
7	Длительность ремиссии	
8	Получаемая терапия(в момент обострения/ремиссии заболевания)	
9	Возраст начала заболевания (установки диагноза)	
10.	Провокационные факторы обострения бронхиальной астмы	

