МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

ХАРКІВСЬКІЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

ХАРКІВСЬКІЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова

праця на правах рукопису

**МАЛАХОВА ВАЛЕРІЯ МИХАЙЛІВНА**

УДК: 616.248-053.2:616.24-078:57.086(043.3)

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**ОПТИМІЗАЦІЯ ДІАГНОСТИКИ ТА ПРОГНОЗУВАННЯ ФОРМУВАННЯ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ У ДІТЕЙ З УРАХУВАННЯМ СТАНУ АЕРОГЕМАТИЧНОГО БАР'ЄРУ ЛЕГЕНЬ**

Спеціальність 228 «Педіатрія»

спеціалізація (педіатрія)

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ В.М. Малахова

Науковий керівник: Макєєва Наталія Іванівна,

доктор медичних наук, професор

Харків-2020

#  АНОТАЦІЯ

*Малахова В.М.* Оптимізація діагностики та прогнозування формування бронхіальної астми у дітей з урахуванням стану аерогематичного бар’єру легень. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 228 «Педіатрія» спеціалізація (Педіатрія) – Харківський національний медичний університет, Харків, 2020.

За данимиекспертів Всесвітньої організації охорони здоров’я близько 330 мільйонів людей у світі страждають на бронхіальну астму. Поширеність цієї патології становить 5-9% серед дорослого населення та 8-12% у дитячій популяції. Дебют захворювання припадає саме на дитячий вік, та майже у 50% пацієнтів хвороба дебютує до 6-ти річного віку. Діагностування бронхіальної астми у пацієнтів цієї вікової групи здебільшого ґрунтується на анамнестичних даних, та останніми роками впроваджується дослідження вмісту оксиду азоту у повітрі, що видихається. За світовими показниками бронхіальна астма входить до складу найпоширеніших хронічних станів у дітей віком від 5 до 14 років, що призводять до інвалідізації. Смертність дітей від бронхіальної астми коливається від 0,0 до 0,7% на 100 000 осіб. Загострення бронхіальної астми потребують частих госпіталізацій, які спричиняють значні витрати охорони здоров’я. Третину госпіталізованих із загостренням захворювання складають саме діти. Несвоєчасне діагностування та відсутність бажаного контролю над перебігом бронхіальної астми свідчить про актуальність цієї проблеми в галузі охорони здоров’я.

Метою дослідження було удосконалення діагностики та прогнозування формування бронхіальної астми у дітей із повторними епізодами бронхообструктивного синдрому шляхом вивчення стану епітеліального та ендотеліального компонентів аерогематичного бар'єру легень, ураховуючи рівні прозапальних, протизапальних цитокінів, загальних фосфоліпідів, фактору Віллебранда.

До першого етапу дослідження було залучено 305 дітей віком від 1 до 18 років, що мали в анамнезі повторні епізоди бронхообструкції. Усі пацієнти проходили анкетування для виявлення несприятливих чинників формування бронхіальної астми. 122 дитини (74 хлопчика та 43 дівчинки) віком від 1,5 до 7 років із повторними епізодами бронхообструктивного синдрому та бронхіальною астмою у різні періоди захворювання продовжили участь у дослідженні. Дітей було відібрано згідно критеріям включення та виключення. Обов’язковим критерієм відбору було підписання батьками інформованої згоди на участь дитини у дослідженні. Критерії включення: вік дітей від 1,5 до 7 років; поточний третій та більше епізод бронхообструктивного синдрому при обстеженні. Критерії виключення: вроджені та хронічні вади серцево-легеневої системи, неврологічні захворювання; спадкові захворювання, що призводять до змін у роботі дихальних шляхів, включаючи муковісцидоз; доведений або ймовірний імунодефіцит; доведена або підозрювана гостра або хронічна бактеріальна інфекція, включаючи інфекцію ротової порожнини та дихальних шляхів; передбачувані або підтверджені дані про гастроезофагальний рефлюкс; пацієнти із передбачуваною або підтвердженою пневмонією, попереднє лікування антилейкотрієновими препаратами або системними кортикостероїдами, обстеження пацієнтів до проведення терапії вазоактивними препаратами у складі парентерального введення глюкокортикоїдів та ксантинів, можливість обстеження після 48-72 годин після проведення вазоактивної терапії, хвороба Віллебранда. Залежно від встановленого діагнозу та кількості епізодів бронхообструкції в анамнезі пацієнти були розподілені на три групи. До 1-ої групи (n=40) увійшли діти, що мали в анамнезі три епізоди бронхообструкції дихальних шляхів; до 2-ої групи (n=56), що мали чотири – п’ять епізодів бронхообструкції, та до 3-ої групи (n=26) увійшли пацієнти із середньо-тяжким персистуючим перебігом бронхіальної астми. До третього етапу дослідження перейшли пацієнти 1-ої та 2-ої груп другого етапу, котрим повторно було проведено визначення відповідності критеріям включення та виключення. Батьки пацієнтів підписали інформовану згоду на продовження участі дітей у дослідженні. Проводилось динамічне спостереження за пацієнтами до часу встановлення діагнозу бронхіальної астми. На цьому етапі серед 96 дітей із повторними епізодами бронхообструкції виділено дві групи: до І групи (n=15) увійшли пацієнти, яким за період дослідження було встановлено діагноз бронхіальної астми, до ІІ групи (n=81) –діти, які мали повторні епізоди бронхообструктивного синдрому транзиторного характеру. Обстеження пацієнтів проводилось у перші дні розгорнутих проявів бронхообструктивного синдрому та в динаміці після зникнення клінічних проявів бронхообструкції. 25 практично здорових дітей увійшли до групи контролю. Для визначення стану пошкодження аерогематичного бар’єру легень у дітей у різні періоди захворювання визначалися рівні загальних фосфоліпідів, протизапальних цитокінів: інтерлейкіну-4, інтерлейкіну-13 у конденсаті повітря, що видихається, та концентрації γ-інтерферону у сироватці крові. Для оцінки ступеня пошкодження ендотеліального компоненту аерогематичного бар’єру легень вивчались показники фактору Віллебранда в плазмі крові.

При проведенні анкетування виявлено несприятливі анамнестичні чинники щодо формування бронхіальної астми у дітей із повторними епізодами бронхообструктивного синдорму. Було з’ясовано, що такі чинники як перебіг вагітності у першому та другому триместрах на тлі супутньої бронхо-легеневої патології у матері, часті гострі респіраторні захворювання на першому році життя (5 та більше разів на рік), прийом 2-х та більше курсів антибактеріальної терапії у віці до 1 року, дебют бронхообструкції на першому році життя, обтяжений сімейний алергоанамнез, наявність супутньої алергопатології та дебют атопічного дерматиту на першому році життя підвищують ризик формування бронхіальної астими.

На другому етапі дослідження визначено статистично значуще підвищення рівнів загальних фосфоліпідів у конденсаті повітря, що видихається, у хворих усіх груп, порівняно з групою контролю як у періоді розгорнутих клінічних проявів бронхообструктивного синдрому (усі р<0,05), так і після зникнення симптомів бронхообструкції (усі р<0,05). Підвищення концентрацій загальних фосфоліпідів у конденсаті повітря, що видихається, відображає наявність пошкодження мембрани клітин бронхів за рахунок запалення. Встановлено, що концентрації загальних фосфоліпідів у конденсаті повітря, що видихається, залежать від кількості перенесених епізодів бронхообструктивного синдрому як у періоді розгорнутих клінічних проявів бронхообструктивного синдрому (Н=84,99533, р=0,0000), так і у періоді зникнення проявів бронхообструкції (Н=73,34209, р=0,0000). Проведений аналіз з’ясував, що найвищі показники загальних фосфоліпідів були у пацієнтів 3-ої групи. Вочевидь, це свідчить про масштабність руйнування клітин епітелію бронхо-легеневої системи у хворих на бронхіальну астму. Під час проведення третього етапу дослідження найвищі показники загальних фосфоліпідів у конденсаті повітря, що видихається, були зафіксовані у пацієнтів, які в подальшому сформували бронхіальну астму (p1-2=0,0000).

У проведеному дослідженні визначено що у дітей із повторними епізодами бронхообструктивного синдрому у розпалі клінічних проявів у конденсаті повітря, що видихається, вірогідно підвищувалися рівні інтерлейкіну-4 у хворих усіх груп, порівняно із групою контролю (усі р<0,05), а інтерлейкіну-13 – лише у пацієнтів 2-ої та 3-ої груп (pk-2=0,0000, pk-3=0,0000, відповідно). Показники інтерлейкіну-13 дітей 1-ої групи та групи контролю достовірно не відрізнялися (pk-1=0,3709). Статистичний аналіз визначив, що після зникнення клінічних проявів бронхообструкції рівні інтерлейкіну-4 у пацієнтів усіх груп залишаються вірогідно підвищеними, у порівнянні з групою контролю (усі р<0,05). Концентрації інтерлейкіну-13 статистично значуще підвищеними залишались тільки у пацієнтів 2-ої та 3-ої груп (pk-1= 0,0402; pk-2= 0,0059; pk-3= 0,0000). Показники інтерлейкіну-4 (Н=73,88092, р=0,0000), інтерлейкіну-13 (Н=54,5795, р=0,0000) у періоді розгорнутих клінічних провів бронхообструкції та інтерлейкіну-4 (Н=56,81314, р=0,0000), інтерлейкіну-13 (Н=45,53887, р=0,0000) після зникнення клінічних симптомів залежали від кількості перенесених епізодів бронхообструктивного синдрому. Найвищі показники як при розгорнутих проявах бронхообструкції, так і після зникненні клінічних симптомів зафіксовано у пацієнтів 3-ої групи. На третьому етапі дослідження виявлено, що найвищі концентрації інтерлейкіну-4 та інтерлейкіну-13 були у пацієнтів І групи (p1-ІІ= 0,0001; pІ-ІІ= 0,0000, відповідно). Отримані у дослідженні дані свідчили про підвищення рівнів цитокінів алергійного запалення у вогнищі патологічного процесу. Збереження підвищених концентрацій інтерлейкіну-4 та інтерлейкіну-13 у конденсаті повітря, що видихається, пацієнтів із бронхіальною астмою після зникнення клінічних симптомів свідчило про алергійне запалення в бронхо-легеневій системі, що триває.

У періоді розгорнутих проявів бронхообструкції високі концентрації фактору Віллебранда зафіксовано у пацієнтів 2-ої та 3-ої груп (pk-2= 0,0059; pk-3= 0,0000, відповідно), які достовірно знижувались після зникнення клінічних проявів бронхообструктивного синдрому. Концентрації фактору Віллебранду у пацієнтів 2-ої групи знижувались до рівнів дітей контрольної групи, а у той самий час у хворих 3-ої групи залишались вищими, порівнянно із групою контролю (pk-1= 0,1116, pk-2= 0,5453; pk-3= 0,0000, відповідно). На третьому етапі дослідження, лише пацієнти І групи, порівняно із групою контролю, мали підвищені концентрації фактору Віллебранда в періоді зникнення клінічних проявів бронхообструкції (pk-І=0,0059; pk-ІІ=0,6846, відповідно). Підвищений вміст фактору Віллебранда вказував на наявність ендотеліальної дисфункції. Найвищі показники у пацієнтів саме 3-ої групи та збереження їх високих рівнів після зникнення клінічних проявів бронхообструкції вдають можливість вважати фактор Віллебранда маркером хронічного запалення бронхо-легеневої системи.

Дослідження вмісту у сироватці крові γ-інтерферону виявило зниження його концентрацій у пацієнтів усіх груп, порівняно з групою контролю (усі р<0,05). Після зникнення клінічних проявів бронхообструктивного синдрому рівні γ-інтерферону дітей 1-ої групи та групи контролю статистично значцще не відрізнялися (pk-1= 0,0632), а концентрації γ-інтерферону у пацієнтів 2-ої та 3-ої груп залишалися вірогідно зниженими (pк-2= 0,0001; pк-3= 0,0000, відповідно). Ступінь зниження концентрацій γ-інтерферону залежав від кількості перенесених пацієнтами епізодів бронхообструкції як у періоді розгорнутих клінічних проявів (Н=49,5548, р=0,0000), так і після проведеного лікування (Н=64,9885, р=0,0000). Низький вміст γ-інтерферону, опосередковано, вказував на наявність алергійного запалення. Найнижчі показники виявлені у пацієнтів саме 3-ої групи, що можна розглядати як прояв тривалого запалення бронхо-легеневої системи. Цю тезу підтверджено під час проведення статистичного аналізу на третьому етапі дослідження. Найнижчі концентрації γ-інтерферону в сироватці крові були визначені у пацієнтів І групи (p1-ІІ= 0,0009) як у періоді розгорнутих клінічних проявів, так і після проведеного лікування.

Наявність вірогідних прямих кореляційних зв’язків між рівнями загальних фосфоліпідів та інтерлейкіну-4 (r=+ 0,75, р<0,05) та інтерлейкіну-13 (r=+ 0,40, р<0,05) дозволяє зробити припущення про вивільнення протизапальних цитокінів, внаслідок руйнування клітин епітелію бронхо-легеневої системи. Про присутність хронічного запалення бронхо-легеневої системи у дітей та наявність взаємозв’язку між ступенем порушення цілісності мембран клітин епітеліального шару аерогематичного бар’єру легень і кількістю перенесених епізодів бронхообструктивного синдрому свідчили найвищої сили кореляції у пацієнтів 3-ої групи (загальні фосфоліпіди та інтерлейкін-4, р1-2=0,0050; р1-3=0,0044; загальні фосфоліпіди та інтерлейкін-13 р1-3=0,0020; р2-3=0,0001).

Про хронічне алергійне запалення бронхо-легеневої системи та дисфункцію ендотелію, яка підвищує проникність ендотелію судин з подальшим накопиченням маркерів запалення безпосередньо у патологічному вогнищі, свідчить наявність достовірних прямих кореляційних зв’язків між рівнями фактору Віллебранда та інтерлейкіну-4 (r=+ 0,86, р<0,05) та інтерлейкіну-13 (r=+ 0,67, р<0,05). Наявність взаємозв’язку між ступенем ураження ендотелію судин і кількістю перенесених епізодів бронхообструктивного синдрому підтверджено найвищім рівнем кореляцій фактору Віллебранда та інтерлейкіну-4 (р1-2=0,0007; р1-3=0,0001), інтерлейкіну-13 (р1-3=0,0002; р2-3=0,0001) у пацієнтів 3-ої групи.

Зниження концентрацій γ-інтерферону у пацієнтів із повторними епізодами бронхооструктивного синдрому та зворотні кореляції між рівнями γ-інтерфероном та інтерлейкіну-4 (r=-0,82, р<0,05), γ-інтерферону та інтерлейкіну-13 (r=- 0,56, р<0,05) опосередковано доводять наявність алергійного запалення. Подальший статистичний аналіз кореляцій у кожній групі окремо виявив вірогідні зв’язки між γ-інтерфероном та інтерлейкіном-4 у пацієнтів усіх груп, з поступовим зростанням їхньої сили до найвищого рівня у дітей із бронхіальною астмою (р 1-3=0,0001). Між показниками γ-інтерферону та інтерлейкіном-13 достовірний зворотній кореляційний зв’язок отримано лише у пацієнтів 3-ої групи (r= -0,94, p=0,0000), тобто у дітей із бронхіальною астмою.

За результатами проведеного дослідження обґрунтовано доцільність ранньої діагностики формування бронхіальної астми у дітей із повторними епізодами бронхообструктивного синдрому за допомогою визначення стану епітеліального та ендотеліального компонентів аерогематичного бар’єру легень. З метою оптимізації діагностування та прогнозування бронхіальної астми рекомендовано використовувати неінвазійну методику дослідження конденсату повітря, що видихається, з подальшим оцінюванням у ньому концентрацій маркерів запалення. Визначення концентрацій загальних фосфоліпідів і протизапальних цитокінів у конденсаті повітря, що видихається, має переваги у цього контингенту хворих. Оцінювання стану ендотеліального компоненту аерогематичного бар’єру легень рекомендовано застосовувати для раннього виявлення формування хронічного запалення бронхо-легеневої системи у дітей із повторними епізодами бронхообструктивного синдрому. Одержані дані дають змогу вважати показники загальних фосфоліпідів, інтерлейкіну-4, інтерлейкіну-13, фактору Віллебранда, γ-інтерферону маркерами пошкодження аерогематичного бар’єру легень.

Для ранньої діагностики формування бронхіальної астми у дітей із повторними епізодами бронхообструктивного синдрому під час розгорнутої клінічної картини бронхообструкції рекомендується використовувати такі показники: у конденсаті повітря, що видихається, підвищення рівня загальних фосфоліпідів понад 96,18 ммоль/л, інтерлейкіну-4 понад 18,45 пг/мл, інтерлейкіну-13 понад 20,17 пг/мл; рівень фактору Віллебранда в плазмі крові понад 109,7%, зниження рівнів γ-інтерферону у сироватці крові нижче ніж 98,62ммоль/л. Після зникнення клінічних проявів інформативними діагностичними і прогностичними показниками щодо формування бронхіальної астми є у конденсаті повітря, що видихається, рівні загальних фосфоліпідів понад 117,22 ммоль/л, інтерлейкіну-4 понад 6,42 пг/мл, інтерлейкіну-13 понад 18,62 пг/мл, концентрація фактору Віллебранда в плазмі крові понад 103,0%, зниження рівнів γ-інтерферону у сироватці крові нижче ніж 36,22ммоль/л.

**Ключові слова:**бронхіальна астма, бронхообструктивний синдром, конденсат повітря, що видихається, ендотеліальна дисфункція, діти.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

**Праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації**

1. Малахова В.М. Клінічне значення рівнів фосфоліпідів у конденсаті видихуваного повітря у дітей з бронхообструктивним синдромом / В.М. Малахова, Н.І. Макєєва // *Сучасна педіатрія* 2018. № 4(92). С. 22-26. (Здобувач особисто провів літературний огляд, виконав підбір хворих, провів діагностичні дослідження активності ферментів, статистично опрацював та проаналізував дані, підготував статтю до друку).
2. Malakhova V. Is Willebrand Factor Indicative of Chronic Inflammation in Children with Asthma? / Malakhova V., Makieieva N., Vasylchenko Y., Birukova M. // Turkish Thoracic Journal 2020. – Vol. 21, №6. P. 362-366. DOI: 10.5152/TurkThoracJ.2019.19051. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, провів визначення ендотеліальної дисфункції у обстежених, проаналізував та узагальнив дані, підготував статтю до друку).
3. Malakhova V. Anamnestic risk factors for asthma development in infants / Malakhova V. // Inter Collegas. – 2020. – V.7 (№1). Р. 5-9.
4. Malakhova V. Are levels of IL-13 and IL-4 in exhaled breath condensates (EBC) predictive for the formation of chronic inflammation in children with asthma? / Malakhova V., Makieieva N., Vasylchenko Y., Tsymbal V. // Advance respiratory medicine. – 2020. – Vol. 88, № 4. – Р. 320-326. (Здобувач особисто провів аналіз сучасних інформаційно-літературних джерел, дослідив маркери пошкодження аерогематичного бар’єру легень, провів статистичний аналіз та узагальнив результати, підготував статтю до друку).

**Праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації**

1. Малахова В.М. Фактори ризику формування бронхіальної астми у дітей молодшого віку / Малахова В.М., Макєєва Н.І., Лещук І.В. // *Медицина третього тисячоліття:*  матеріали Міжвузівської конференції молодих вчених та студентів (16-18 січня, 2017 р., м. Харків, Україна). Харків, 2017. С. 259.
2. Malakhova V. Risk factors assesment of bronchial asthma formation in children / Malakhova V. Makieieva N. // 6th International medical students research congress (19-21 May 2017, Istanbul, Turkey). Turkey, 2017. P. 76. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, статистично опрацював, проаналізував й узагальнив дані, підготував стендову доповідь).
3. Малахова В.М. Фактори ризику в прогнозуванні формування бронхіальної астми у дітей / Малахова В.М., Лещук І.В. // Матеріали загально університетської конференції студентів та молодих вчених (24-26 квітня, 2017 р., м. Львів, Україна), м. Львів, 2017. С. 65. (Здобувач зробив підбір хворих, статистично опрацював, проаналізував й узагальнила дані).
4. Малахова В.М. Клінічне та прогностичне значення рівнів загальних фосфоліпідів у дітей з бронхообструктивним синдромом / Малахова В.М., Макєєва Н.І., Козлова Я.В., Костіна М.Ю., Корж О.І. // *Проблемні питання діагностики та лікування дітей з соматичною патологією:* матеріали науково-практичної конференції лікарів-педіатрів з міжнародною участю (22-23 березня, 2018 р., м. Харків). Харків, 2018, С. 140-142. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, статистично опрацював, проаналізував й узагальнив дані, підготував усну доповідь).
5. Малахова В.М. Про наболіле: бронхообструктивний синдром у дітей – що чекати у майбутньому / Малахова В.М., Макєєва Н.І., Алєксєєва Н.П., Бірюкова М.К., Цимбал В.М., Ярова К.К., Семеренко Г.І., Усова Н.В. // *Проблемні питання діагностики та лікування дітей з соматичною патологією:* матеріали науково-практичної конференції лікарів-педіатрів з міжнародною участю (22-23 березня, 2018 р., м. Харків). Харків, 2018, С. 131-137. (Здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, статистичну обробку та аналіз отриманих даних, сформульовані висновки).
6. Малахова В.М. Клінічне значення рівнів загальних фосфоліпідів у дітей з бронхообструктивним синдромом / Малахова В.М. *Медицина ІІІ тисячоліття:* матеріали міжвузівської конференції молодих вчених та студентів (22-24 січня, 2018 р., м. Харків, Україна). Харків, 2018, С. 202. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, статистично опрацював, проаналізував й узагальнив дані, підготував стендову доповідь).
7. Малахова В.М. Бронхообструктивний синдром у дітей – предиктор та наслідки / Малахова В.М., Макєєва Н.І., Ярова К.К., Алєксєєва Н.П., Бірюкова М.К., Цимбал В.М. // *Актуальні проблеми педіатрії*: матеріали XII конгресу педіатрів України (9-11 жовтня 2018 р., м. Київ, Україна). Київ, 2018, С. 44. (Здобувачем проведено відбір та клінічне обстеження хворих, статистичну обробку та аналіз отриманих даних).
8. Малахова В.М. Диференційна діагностика обструктивного бронхіту у дітей / Малахова В.М., Макєєва Н.І., Одинець Ю.В., Алєксєєва Н.П., Бірюкова М.К. // *Актуальні проблеми дитячої пульмонології* (24 жовтня 2018 р. м. Харків, Україна). (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, статистично опрацював, проаналізував й узагальнив дані, підготував усну доповідь).
9. Малахова В.М. Клінічне значення рівнів фактору Віллебранда, як маркеру ендотеліальної дисфункції у дітей з бронхообструктивним синдромом / Малахова В.М., Макєєва Н.І. // *Проблеми туберкульозу і пульмонології у дітей та дорослих:* Матеріали статей і тез науково-практичної конференції лікарів: дитячих фтизіатрів, фтизіатрів, педіатрів та сімейних лікарів (21 листопада 2018 р. м. Харків, Україна). Харків, 2018, С. 7-8. (Здобувачем проведено відбір та клінічне обстеження хворих, набір клінічного матеріалу , статистичну обробку та аналіз отриманих даних, опрацювання інформаційних джерел).
10. Малахова В.М. Антибіотикотерапія на першому році життя і ризик формування астми у дітей / Малахова В.М., Макєєва Н.І., Алєксєєва Н.П., Бірюкова М.К., Семеренко Г.І., Мірошніченко І.І. // *Проблемні питання діагностики та лікування дітей з соматичною патологією:* матеріали Української науково-практичної конференції лікарів педіатрів з міжнародною участю (19-20 березня 2019 р., м. Харків, Україна). Харків, 2019, С. 121-122. (Здобувачем проведено опрацювання інформаційних джерел, набір клінічного матеріалу , статистичну обробку та аналіз отриманих даних).
11. Малахова В.М. Patient with chronic lung pathology / Малахова В.М., Макєєва Н.І., Алєксєєва Н.П., Васильченко Ю.В., Бірюкова М.К., Цимбал В.М. // *Проблемні питання діагностики та лікування дітей з соматичною патологією:* матеріали Української науково-практичної конференції лікарів педіатрів з міжнародною участю (19-20 березня 2019 р., м. Харків, Україна). Харків, 2019, С. 9-11. (Здобувачем проведено опрацювання інформаційних джерел, набір клінічного матеріалу , статистичну обробку та аналіз отриманих даних).
12. Малахова В.М. Wheezing або астма? Сучасні підходи до діагностики та прогноз / Малахова В.М., Макєєва Н.І., Одинець Ю.В., Алєксєєва Н.П., Цимбал В.М. // *Актуальні педіатричні питання громадського здоров’я:* науково – практична конференція з міжнародною участю (31 жовтня – 1 листопада 2019 р., м. Полтава, Україна). Полтава, 2019, С. 19-20. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, статистично опрацював, проаналізував й узагальнив дані, підготував усну доповідь).
13. Малахова В.М. γ-інтерферон, як маркер хронічного запалення у дітей з бронхообструктивним синдромом / Малахова В.М., Макєєва Н.І., Васильченко Ю.В., Костіна М.Ю., Бойко О.М. // *Проблемні питання діагностики та лікування дітей з соматичною патологією:* матеріали Української науково-практичної конференції лікарів педіатрів з міжнародною участю (17-18 березня 2020 р., м. Харків, Україна). Харків, 2020, С. 113-114. (Здобувачем проведено опрацювання інформаційних джерел, набір клінічного матеріалу , статистичну обробку та аналіз отриманих даних).
14. Малахова В.М. γ-інтерферон, як маркер хронічного запалення у дітей з бронхіальною астмою / Малахова В.М., Макєєва Н.І. *Актуальні питання виявлення і лікування алергійних захворювань:* матеріали науково-практичної конференції алергологів Слобожанщини (10 квітня 2020 р., м. Харків, Україна). Харків, 2020, С 61-72.
15. Малахова В.М. Бронхообструктивний синдром та формування хронічної бронхо-легеневої патології у дітей: фактори ризику / Малахова В.М., Макєєва Н.І., Афанасьєва О.О., Алєксєєва Н.П., Ярова К.К., Одинець П.І. // *Проблемні питання діагностики та лікування дітей з соматичною патологією:* матеріали Української науково-практичної конференції лікарів педіатрів з міжнародною участю (17-18 березня 2020 р., м. Харків, Україна). Харків, 2020, С. 100-108.

**Праці, які додатково відображають наукові результати дисертації**

1. Спосіб прогнозування формування бронхіальної астми у дітей до 6 років з повторними епізодами бронхообструктивного синдрому / Малахова В.М., Макєєва Н.П., Алєксєєва Н.П., Яворович М.В., Бірюкова М.К. // патент України на винахід № 118517 МПК G01N 33/497 (2006.01), МПК G01N 21/00 (2006.01) Україна номер заявки - а 201710781, дата пріоритету 25.01.2019, бюл. № 2 25.01.2019. (Здобувачу належить ідея винаходу, проведено аналітичний огляд, відбір хворих та аналіз результатів обстеження, сформульована формула винаходу).
2. «Анкета-опитувальник визначення ризику формування бронхіальної астми у дітей із повторними епізодами бронхообструктивного синдрому (додаток до медичної карти стаціонарного хворого або історії розвитку дитини) / Малахова В.М., Макєєва Н.І., Алєксєєва Н.П., Бірюкова М.К. // науковий твір № 84304,номер заявки 86690 від 08.01.2019; дата пріоритет 14.01.2019. - Свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір 14.01.2019 р.
3. Спосіб прогнозування формування бронхіальної астми у дітей до 6 років з повторними епізодами бронхообструктивного синдрому / Малахова В.М., Макєєва Н.П., Алєксєєва Н.П., Яворович М.В., Бірюкова М.К. // патент на корисну модель № 124872, UA, МПК G01N 33/497 (2006.01), МПК G01N 21/00. Україна номер заявки - u201711074, дата пріоритету 13.11.2017, бюл. № 8 25.04.2018. (Здобувачу належить ідея корисної моделі, проведено аналітичний огляд, відбір хворих та аналіз результатів обстеження, сформульована формула корисної моделі).
4. Спосіб прогнозування формування бронхіальної астми у дітей віком до 6 років з повторними епізодами бронхообструктивного синдрому / Малахова В.М., Макєєва Н.І., Васильченко Ю.В., Цимбал В.М. // патент на корисну модель № 135351, МПК G01N 33/48 (2006.01). Україна номер заявки u201900768, дата пріоритету 24.01.2019, бюл. 12 25.06.2019. (Здобувачу належить ідея корисної моделі, проведено аналітичний огляд, відбір хворих та аналіз результатів обстеження, сформульована формула корисної моделі).
5. Пристрій для збору конденсата, що видихається / Малахова В.М., Макєєва Н.І., Головачова В.О, Губар С.О // патент на корисну модель № №108795 МПК G01N 33/497 (2006.01). Україна номер заявки
u201602007, дата пріоритету 01.03.2016, бюл. 14 25.07.2016. (Здобувачу належить ідея корисної моделі, проведено аналітичний огляд, відбір хворих та аналіз результатів обстеження, сформульована формула корисної моделі).

**ABSTRACT**

*V.M. Malakhova* Optimization of diagnostic and prognosis of asthma in children according to the aerohematic barrier of the lungs. - Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The dissertation for a scientific degree of the Doctor of Philosophy in specialty 228 “Pediatrics” specialization (Pediatrics) - Kharkiv National Medical University, Kharkiv, 2020

**Abstract content.**

According to experts from the World Health Organization, about 330 million people worldwide suffer from asthma and the prevalence of this pathology is 5-9% of the adult population and 8-12% of children. The onset of the disease occurs in childhood and in almost 50% of patients the disease debuts before the age of 6 years. The diagnosis of asthma in patients of this age group is mostly based on history data and in recent years a study of nitric oxide in exhaled air has been introduced. According to world indicators, asthma is one of the most common chronic conditions in children aged 5 to 14 years, leading to disability. Mortality in the world from asthma in children ranges from 0.0 to 0.7% per 100,000 subjects. Exacerbations of asthma require frequent hospitalizations, which require significant health care costs. One third of hospitalizations associated with exacerbations are children. Untimely diagnosis and lack of desired control over the course of asthma indicate the urgency of this problem in the field of health care.

The aim of the study was to improve the diagnosis and prediction of asthma in children with recurrent episodes of wheezing at the level of the aerohematic barrier, taking into account the levels of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines, total phospholipids, and Willebrand factor.

The first phase of the study involved 305 children aged 1 to 18 years with a history of recurrent episodes of bronchial obstruction. All patients were surveyed and 122 children (74 boys and 43 girls) with recurrent episodes of wheezing and astma aged 1.5 to 7 years, at different stages of the disease continued to participate in the study. Children were selected according to inclusion and exclusion criteria. The obligatory selection criterion was the signing by the parents of the informed consent of the child to participate in the study. Inclusion criteria: age of children from 1.5 to 7 years; the current episode of wheezing in the examination is the third one or more. Exclusion criteria: congenital and chronic defects of the cardiopulmonary system, neurological diseases; hereditary diseases that lead to changes in the respiratory tract, including cystic fibrosis; proven or suspected immunodeficiency; proven or suspected acute or chronic bacterial infection, including infection of the oral cavity and respiratory tract; suspected or confirmed pathologies of the gastroesophageal area; patients with acute inflammatory diseases of the lower bronchopulmonary system, except bronchitis, previous treatment with antileukotriene drugs or systemic corticosteroids, examination of patients before treatment with vasoactive drugs and the possibility of examination after 48-72 hours after vasoactive therapy. Depending on the diagnosis and the number of episodes of bronchial obstruction in the history, patients were divided into three groups. Group 1 (n = 40) included children with a history of three episodes of wheezing; Group 2 (n = 56), children with four to five episodes of wheezing, and Group 3 (n = 26) included patients with mild to moderate persistent asthma. Group 1 and 2 patients of the second stage passed to the third stage of the study, and their compliance with the inclusion and exclusion criteria was re-determined. Parents of patients signed an informed consent to continue children's participation in the study. Patients were dynamically monitored until they reached the age of 5 or until the diagnosis of asthma was made. Among 96 children who had recurrent episodes of wheezing, two groups were identified. Group I (n = 15) included patients diagnosed with asthma during the study period, and Group II (n = 81) included children who had transit wheezing. Examination of patients was performed in the first days of advanced manifestations of wheezing and in the time course after the disappearance of clinical manifestations of wheezing. Twenty-five practically healthy children were included in the control group. The in-depth study included examination of exhaled breath condensate in patients. To determine the state of damage to the aerohematic barrier of the lungs in children at different stages of the disease were determined levels of total phospholipids, anti-inflammatory cytokines: interleukin-4, interleukin-13 in exhaled breath condensate and γ-interferon concentrations in the serum. To assess the degree of damage to the endothelial component of the aerohematic barrier of the lungs, parameters of Willebrand factor in the plasma were studied.

The study revealed the following anamnestic factors: pregnancy complicated by contominant broncho-pulmonary disease in the first and second trimesters of pregnancy, acute respiratory diseases during the first year of life (5 or more times a year), taking 2 or more courses of antibacterial therapy under 1 year of life, the onset of manifistation of wheezing during first year of life, family allergy history, concomitant allergist debut atopic dermatitis during the first year of life.

The study of total phospholipids levels in exhaled breath condensate in the second stage of the study found a statistically significant increase in this indicator in patients of all groups, compared with the control group, both in the period of advanced manifestations of wheezing (all p <0.05) and in the disappearance of clinical symptoms of bronchial obstruction (p <0.05). Increased concentrations of total phospholipids in exhaled breath condensate reflect the presence of damage to the membrane of bronchial cells due to inflammation. It was found that the concentration of total phospholipids in exhaled breath condensate depended on the number of transferred episodes of wheezing, both in the period of advanced clinical manifestations of wheezing (H = 84.99533, p = 0.0000) and in the period of disappearance of clinical manifestations of wheezing (H = 73.34209, p = 0.0000). The study showed that the highest rates were in patients of Group 3, which indicated the scale of destruction of epithelial cells of the bronchopulmonary system in patients with asthma. During the third stage of the study, it was recorded that the highest rates of total phospholipids in exhaled breath condensate were observed in patients who subsequently developed asthma (p1-2 = 0.0000).

The study found that children with recurrent episodes of wheezing in the midst of clinical manifestations were likely to increase interleukin-4 levels in all groups compared with the control group (all p <0.05). The concentration of interleukin-13 was statistically significantly increased only in patients of Groups 2 and 3 respectively (pk-2=0.0000, pk-3=0.0000). The interleukin-13 index did not differ significantly in children of Group 1 compared with the control group (pk-1=0.3709). Statistical analysis showed that with the disappearance of clinical manifestations of wheezing, interleukin-4levels in all groups remained significantly elevated, compared with the control group (all p <0.05). Interleukin-13 levels remained statistically significantly elevated only in patients of Groups 2 and 3 (pk-1= 0.0402; pk-2= 0.0059; pk-3= 0.0000). Indicators of the levels of interleukin-4 (H = 73.88092, p = 0.0000), interleukin-13 (H = 54.5795, p = 0.0000) in the period of extensive clinical bronchial obstruction, and interleukin-4 (H = 56.81314, p = 0.0000), interleukin-13 (H = 45.53887, p = 0.0000) at disappearance of clinical symptoms depended on the number of episodes of wheezing, and the highest indicators, both at the developed displays of wheezing, and at disappearance of clinical symptoms was recorded in Group 3 patients. At the third stage of the study it was recorded that the highest concentrations of interleukin-4 and interleukin-13 were in Group I patients of (p1-ІІ= 0.0001; pІ-ІІ= 0.0000 respectively). The data obtained in the study indicated the concentration of cytokines of allergic depression directly in the focus of the pathological process. The persistence of elevated concentrations of interleukin-4 and interleukin-13 in exhaled breath condensate patients of Group 3 after the disappearance of clinical evidence was indicative of chronic allergic inflammation in the bronchopulmonary system.

Based on the analysis of the results of the study, it was found that in the period of extensive manifestations of wheezing, high concentrations of Willebrand factor were found in patients of the Groups 2 and 3 (pk-2= 0,0059; pk-3= 0,0000 respectively), which significantly decreased after the disappearance of clinical manifestations of wheezing. Willebrand factor concentrations of Group 2 patients decreased to the levels of the control group, and in children of the 3rd group. Remained higher compared to the control group (pk-1= 0.1116, pk-2= 0.5453; pk-3= 0.0000 respectively). In the third stage of the study, only Group I patients compared with the control group had elevated concentrations of Willebrand factor in the period of disappearance of clinical manifestations of wheezing (pk-І=0.0059; pk-ІІ=0.6846 respectively). Changes in Willebrand factor concentrations indicated the presence of endothelial dysfunction. The presence of the highest rates in Group 3 patients and persistence of high levels after the disappearance of clinical manifestations of wheezing indicated that Willebrand factor can be regarded as a marker of chronic inflammation of the bronchopulmonary system.

The study of serum concentrations of γ- interferon revealed a decrease in the concentrations of the indicator in patients of all groups compared with the control group (all p <0.05). At the same time at disappearance of clinical displays of wheezing indicators of Group 1 had no differences from the control group (pk-1= 0.0632 respectively), and the concentrations of γ- interferon in Group 2 and 3 patients remained reduced and had significant differences from the control group (pк-2= 0.0001; pк-3= 0.0000 respectively). The decrease in γ- interferon concentrations depended on the number of wheezing episodes experienced by patients, both in the period of detailed clinical manifestations (H = 49.5548, p = 0.0000) and in the time course after treatment (H = 64.9885, p = 0.0000) The lowest indicators were found in Group 3 patients, which can be indirectly considered as a manifestation of allergic inflammation in children with chronic inflammation of the broncho-pulmonary system. Statistical analysis at the third stage of the study showed that Group I patients had the lowest concentrations of γ- interferon in the serum (p1-II = 0.0009).

The probable direct correlations between the indicators of total phospholipids and interleukin-4 (r = + 0.75, p <0.05) and interleukin-13 (r = + 0.40, p <0.05) can be used to make an assumption concerning the release of anti-inflammatory cytokines in the bronchopulmonary system due to the destruction of epithelial cells of the bronchopulmonary system. The presence of chronic inflammation of the bronchopulmonary system in children and the relationship between the degree of violation of the integrity of the cell membranes of the epithelial layer of the lung aerohematic barrier and the number of episodes of wheezing showed the highest correlation in Group 3 patients (total phospholipids and interleukin-4, p1-2 = 0.0050; p1-3 = 0.0044; total phospholipids and interleukin-13 p1-3 = 0.0020; p2-3 = 0.0001).

Chronic allergic inflammation of the broncho-pulmonary system and endothelial dysfunction, which increases the permeability of vascular endothelium with subsequent accumulation of markers of inflammation directly in the pathological focus is evidenced by the presence of significant direct correlations between Willebrand factor and interleukin-4 (r=+ 0.86, p< 0.05) and interleukin-13 (r = + 0.67, p <0.05). The highest correlation between Willebrand factor and interleukin-4 (p1-2 = 0.0007; p1-3 = 0.0001) and interleukin-13 (p1-3 =) indicated the relationship between the degree of vascular endothelial damage and the number of transferred episodes of wheezing (р1-3=0.0002; р2-3=0.0001) in Group 3 patients.

Decreased γ - interferon levels in patients with recurrent episodes of wheezing and intercorrelations between γ - interferon and interleukin-4 (r = -0.82, p <0.05) and γ - interferon and interleukin-13 (r = - 0.56, p <0.05) indirectly proved the presence of allergic inflammation. Further statistical analysis of the correlations in each group separately revealed probable associations between γ- interferon and interleukin-4 in patients of all groups, with a gradual increase in their strength to the highest level in children with asthma (p1-3 = 0.0001). Regarding the correlations between γ- interferon and interleukin-13, significant intercorrelations were obtained only in Group 3 patients (r = -0.94, p = 0.0000), i.e. in children with asthma.

The study showed the expediency of early diagnosis of asthma formation in children with recurrent episodes of wheezing by determining the status of the function of the aerohematic barrier of the lungs. In order to optimize the diagnosis and prediction of asthma, it is recommended to use a non-invasive method of exhaled breath condensate testing with subsequent assessment of the concentration of inflammatory markers. Determination of concentrations of total phospholipids and anti-inflammatory cytokines in exhaled breath condensate has advantages in the use of this group of patients. Determining the state of the endothelial component of the pulmonary airborne barrier is recommended for early detection of the formation of chronic inflammation of the bronchopulmonary system in children with recurrent episodes of wheezing. The obtained data prove the possibility of using the concentrations of these indicators as markers of damage to the aerohematic barrier of the lungs.

For early diagnosis of asthma in children with recurrent episodes of wheezing, it is recommended to use the following indicators: increased levels of total phospholipids in exhaled breath condensate ˃ 96.18 mmol / l, interleukin-4 in exhaled breath condensate ˃18.45 pg / ml, interleukin-13 in exhaled breath condensate ˃20, 17 pg / ml, Willebrand factor in blood plasma ˃109.7%, γ- interferon in serum <98.62 mmol / l with a detailed clinical presentation of wheezing; and levels of total phospholipids in exhaled breath condensate ˃ 117.22 mmol / l, interleukin-4 in exhaled breath condensate ˃6.42 pg / ml, interleukin-13 in exhaled breath condensate ˃18.62 pg / ml, Willebrand factor in blood plasma ˃103.0%, γ- interferon in blood serum ≤36,22mmol / l at disappearance of clinical manifestations of wheezing.

**Key words:** asthma, wheezing, exhaled breath condensate, endothelial dysfunction, and children.