

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**АНДРУЩЕНКО ВІРА ВІТАЛІЇВНА**

УДК 616.248-053.2-018.74-078-037:612.017(043.3)

**ДИСЕРТАЦІЯ**  
**«ОПТИМІЗАЦІЯ ДІАГНОСТИКИ ТА ПРОГНОЗУВАННЯ ПОРУШЕНЬ**  
**ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ ТА ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ФУНКЦІЇ У ДІТЕЙ,**  
**ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ»**

за спеціальністю 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.В. Андрущенко

Науковий керівник: Макєєва Наталія Іванівна,

доктор медичних наук, професор

Харків-2023

## АНОТАЦІЯ

*Андрущенко В.В.* Оптимізація діагностики та прогнозування порушень імунної відповіді та ендотеліальної функції у дітей, хворих на бронхіальну астму. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 228 «Педіатрія» спеціалізація «Педіатрія» – Харківський національний медичний університет, Харків, 2024.

Згідно даним Всесвітньої організації охорони здоров'я більш ніж 330 мільйонів людей у світі страждають на бронхіальну астму. Поширеність цієї патології серед дитячого населення сягає 8-12%. Дебют цього захворювання припадає саме на дитячий вік, та майже у 50% пацієнтів хвороба дебютує до 6-ти річного віку. За світовими показниками бронхіальна астма входить до складу найпоширеніших хронічних станів у дітей віком від 5 до 14 років та є причиною інвалідизації, як у дитячому віці, так і у дорослому. Смертність дітей від бронхіальної астми коливається від 0,0% до 0,7% на 100 000 осіб. Загострення бронхіальної астми потребують частих госпіталізацій, наслідком чого є значні витрати охорони здоров'я. Серед госпіталізованих із загостренням захворювання третину складають діти.

Проблема несвоєчасного діагностування та поширена відсутність бажаного контролю над перебігом бронхіальної астми свідчить про актуальність цієї проблеми в галузі охорони здоров'я.

Метою дослідження було удосконалення діагностики та прогнозу прогресування тяжкості бронхіальної астми у дітей на підставі вивчення маркерів ендотеліального пошкодження, цитокінового профілю та імунної відповіді.

До дослідження була залучена 81 дитина віком від 5 до 17 років (48 хлопчиків та 33 дівчинки), з встановленим діагнозом персистуюча бронхіальна астма (БА), частково контрольована, в періоді загострення.

Хворих з бронхіальною астмою було розділено на 3 групи, в залежності від тяжкості захворювання. Перша група – це хворі з легким персистуючим перебігом БА (n=59), друга група – з середньотяжким перебігом (n=10), третя група – з тяжким перебігом захворювання (n=12). До дослідження були залучені пацієнти, тривалість клінічних проявів у яких не перевищувала 1-2 доби та при наявності в них задишки, кашлю, аускультативних даних обструкції дихальних шляхів.

Дітей було відібрано згідно критеріїв включення та виключення.

Критерії включення: діти віком від 5 до 17 років з встановленим діагнозом бронхіальна астма, персистуюча легка, середньої тяжкості, тяжка (2 – 4 ступенів важкості), частково контрольована, в періоді загострення; на 1-2 добу загострення; діти, в яких підписана згода обома батьками, а при досягненні 14 років і самими пацієнтами. Критерії виключення: діти віком молодше 5 років; діти віком до 17 років, батьки яких не дали письмової згоди на проведення дослідження; пацієнти віком 14 років та старше без письмової згоди на проведення дослідження; пацієнти з гострим бронхітом простим, гострим обструктивним бронхітом, інтермітуючою бронхіальною астмою, пневмонією; пацієнти з діагнозом бронхіальна астма в періоді ремісії та контрольованою БА; з підтвердженою внутрішньоклітинною інфекцією (*Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, toxocariasis); з вродженими і хронічними серцево-легеневими або неврологічними захворюваннями; спадковими захворюваннями, що призводять до змін у функціонуванні дихальних шляхів, у тому числі кистозний фіброз; доведена імунна недостатність; хворі з тяжким соматичним станом та декомпенсацією вітальних функцій; підозрюване або підтверджене захворювання шлунково-стравохідного тракту; хворі з новоутвореннями будь-якої локалізації; хвороба Віллебранда; вагітні дівчата.

Усім дітям проводилось обстеження та лікування згідно протоколів лікування дітей із БА № 868 від 08.10.2013 р. «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної

допомоги при бронхіальній астмі». До групи контролю було включено 13 практично здорових дітей, подібних за віком та статтю, які зверталися до медичного закладу для планового обстеження чи вакцинації. Ці діти не мали скарг, клінічних та лабораторних ознак будь-якого захворювання впродовж останніх 3 місяців та не мали хронічних захворювань. У обстежених дітей були проведені детальний збір анамнезу, стандартні та специфічні лабораторні методи обстеження. Для вирішення завдань дослідження використовувалися наступні методи: клініко-анамнестичні, лабораторні та статистичні. Методом імуноферментного аналізу визначалися рівні ІЛ-2, ІЛ-4,  $\gamma$ -інтерферону та фактору Віллебранда (ФВ) у сироватці крові. Імунофенотипування методом проточної цитометрії використовували для визначення рівнів активних форм кисню (АФК) у гранулоцитах та відсотку некротизованих гранулоцитів у крові. Проводилась статистична обробка даних, що дозволило зробити обґрунтовані висновки.

При зборі анамнезу у дітей виявлені несприятливі анамнестичні чинники щодо формування тяжкого ступеня бронхіальної астми у дітей. Було з'ясовано, що такі чинники дебют бронхообструктивного синдрому на першому році життя (у 8,6 разів), обтяжений сімейний алергологічний анамнез (у 3,2 рази), наявність супутньої алергопатології у дитини (у 5,8 разів), наявність у близьких родичів бронхіальної астми (у 6,5 разів), порушення мікробіоти кишківника (у 4,6 рази) підвищують ризик формування тяжкої бронхіальної астми.

Множинне порівняння за допомогою тесту Краскла-Уоліса виявило наявність високих достовірних Н-критеріїв для ІЛ-2 ( $H=69,4637$ ;  $p<0,001$ ), ІЛ-4 ( $H=69,4627$ ;  $p<0,001$ ) та IFN- $\gamma$  ( $H=69,1081$ ;  $p<0,001$ ), що дозволило зробити висновки про наявність достовірної різниці цих показників у групах, а їх рівень залежить від приналежності до тієї чи іншої групи.

У нашому дослідженні виявлене паралельне підвищення рівнів ІЛ-2, як прозапального інтерлейкіна, та рівнів ІЛ-4, як протизапального, у пацієнтів хворих на БА, у порівнянні із групою контролю (усі  $p < 0,05$ ) з

максимально високими рівнями при тяжкій БА, що свідчить про те, що цитокіни можуть впливати один на одного. Виявлене зниження рівнів  $\gamma$ -інтерферону у дітей з бронхіальною астмою у порівнянні з групою контролю (усі  $p < 0,05$ ), вірогідно вказує на порушення процесу Th1-індукованих сигналів в інгібуванні диференціювання клітин Th2. Найнижчі показники виявлені у пацієнтів з тяжкою астмою. Негативний кореляційний зв'язок між рівнями IL-4 та IFN- $\gamma$  ( $r = - 0,879$   $p < 0,001$ ) у сироватці крові дітей з бронхіальною астмою, характеризує погіршення в системі пригнічення алергійного запального процесу.

Рівні співвідношень IL-2/ IL-4 та  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4 у пацієнтів, хворих на БА, вірогідно знижені у порівнянні із групою контролю (усі  $p < 0,05$ ), з найнижчими результатами у пацієнтів з тяжкою астмою, а рівень цих параметрів залежить від тяжкості бронхіальної астми ( $H_{IL\ 2/IL4} = 50,4387$ ,  $p < 0,001$  та  $H_{\gamma\ Int/IL4} = 69,4602$ ,  $p < 0,001$ ). Такий результат може свідчити про порушення балансу Th1/Th2 у субпопуляціях CD4<sup>+</sup> Th клітин.

Достовірно збільшення рівнів фактору Віллебранда у пацієнтів, хворих на БА, з найвищими показниками при тяжкій БА ( $p < 0,05$ ), доводить, що поглиблення ендотеліальної дисфункції при формуванні хронічного запалення, залежить від ступеня тяжкості захворювання ( $H = 69,4612$ ,  $p < 0,001$ ).

У пацієнтів, хворих на бронхіальну астму, виявлено погіршення імунної відповіді, за рахунок змін, що відбулися з боку клітинної, гуморальної та фагоцитарної ланок імунітету, а саме зі сторони клітинної ланки імунітету знижений IRI та підвищені CD3, абс., CD4, абс., CD8, абс., CD16, абс. ( $p < 0,05$ ); гуморального імунітету – знижений IgG та підвищені IgE, CD22, абс. ( $p < 0,05$ ); фагоцитарної імунної ланки – знижені НФ, ФЧ, ІАН, ЛКБ, NST-тест та підвищений МП ( $p < 0,05$ ). Імунна відповідь дітей з тяжкою бронхіальною астмою зазнала найістотніших змін всіх показників ( $p < 0,05$ ) порівняно з групою контролю та легкою бронхіальною астмою. У підтвердження порушення в системі неспецифічного імунного захисту, за

рахунок фагоцитарної ланки імунітету, виявлені статистично достовірно знижені рівні АФК, які продукуються нейтрофілами ( $p < 0,05$ ), а також вірогідне зменшення відсотку загиблих шляхом некрозу нейтрофілів ( $p < 0,05$ ), порівняно з групою контролю, що вказує на знижені резервні можливості нейтрофілів на тлі тривалого запального процесу.

При проведенні кореляційного аналізу показників у кожній групі було виявлено збільшення кількості кореляційних зв'язків в залежності від тяжкості БА. У пацієнтів першої групи наявні сильні кореляційні зв'язки між ІЛ-2 та ІЛ-4 (прямий) та ІЛ-2 і ІFN- $\gamma$  та ІЛ-4 і ІFN- $\gamma$  (зворотній) (усі  $p < 0,05$ ). У хворих другої групи проведений кореляційний аналіз виявив подібні зв'язки та позитивну кореляційну залежність між рівнями АФК та % некротизованих нейтрофілів (усі  $p < 0,05$ ). У дітей третьої групи крім вищеперерахованих зв'язків було виявлена кореляційна залежність між показниками фагоцитарної ланки імунітету та рівнями АФК та % некротизованих нейтрофілів, рівнями ФВ та ІЛ-4 і ІFN- $\gamma$  (усі  $p < 0,05$ ).

Для визначення показників із найкращою прогностичною силою був використаний ROC-аналіз. В результаті були визначені високі рівні специфічності і чутливості у таких показників, як рівні АФК у нейтрофілах, % некротизованих гранулоцитів (нейтрофілів), ІЛ-2, ІЛ-4,  $\gamma$ -ІН в сироватці крові, співвідношення ІЛ-2/ІЛ-4 та  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4 та рівні ФВ у сироватці крові. Найвищі рівні специфічності та чутливості мали рівні ІЛ-4, ФВ у сироватці крові та АФК у нейтрофілах.

Для діагностики формування важкого ступеня бронхіальної астми у дітей рекомендується використовувати такі показники: у сироватці крові, підвищення рівня ІЛ-2 понад 25,36 пг/мл, рівня ІЛ-4 понад 24,55 пг/мл, рівня фактору Віллібранда понад 24.007 нг/мл, зниження рівнів  $\gamma$ -ІН нижче ніж 80,02 пг/мл, зниження співвідношення ІЛ-2/ІЛ-4 нижче ніж 1,072,  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4 нижче ніж 3,036; у лейкоконцентраті, зниження рівнів АФК, що продукуються нейтрофілами нижче ніж 285 у.о, % некротизованих гранулоцитів нижче ніж 4,5 %.

**Ключові слова:** бронхіальна астма, респіраторна система, імунна відповідь, цитокіни, ендотеліальна дисфункція, діти.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

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

1. Andrushchenko V.V. The level of reactive oxygen species as a marker of asthma severity in children / Nataliia I. Makieieva, Vira V. Andrushchenko, Valeriia M. Malakhova, Anton S. Tkachenko, Anatolii I. Onishchenko, Valentin V. Polyakov, Ludmyla A. Vygivska // *Wiadomości Lekarskie Medical Advances*, VOLUME LXXVI, ISSUE 1. - 2023, p. 205 – 212. (Здобувач особисто провів літературний огляд, виконав підбір хворих, провів діагностичні дослідження маркерів, статистично опрацював та проаналізував дані, підготував статтю до друку).

2. Andrushchenko V.V. Imbalance between il-2, il-4 and ifn- $\gamma$  as a marker of sustainability of partly controlled asthma in children/ Makieieva N. I., Andrushchenko V. V.// *Bulletin of problems in biology and medicine* – 2023 – Issue 3 (170), p. 433-438. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, провів визначення цитокінів у обстежених, проаналізував та узагальнив дані, підготував статтю до друку).

3. Andrushchenko V.V. The von Willebrand factor as a marker of partially controlled asthma severity in children. /Makieieva NI, Andrushchenko VV. // (2023). *Modern Pediatrics. Ukraine*. 5(133): 31-38. doi 10.15574/SP.2023.133.31.

(Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, провів визначення ендотеліальної дисфункції у обстежених, проаналізував та узагальнив дані, підготував статтю до друку).

## Праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

4. Андрущенко В.В. Особливості окислювального стресу у дітей з бронхіальною астмою / Н.І. Макєєва, В.В. Андрущенко, В.В. Поляков // Науково-практичної онлайн-конференції з міжнародною участю «Проточна цитометрія в експериментальній та клінічній медицині», Харків, 29-30 квітня 2021 р / ХНМУ. – Харків, 2021. – С.17.6. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, статистично опрацював, проаналізував й узагальнив дані).

5. Андрущенко В.В. Вклад нейтрофілів в окислювальний стрес при бронхіальній астмі у дітей / Андрущенко В.В., Макєєва Н.І., Поляков В.В // «Актуальні проблеми в педіатрії». Матеріали XV конгресу педіатрів України, Київ, 12-13 жовтня 2021 року / Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології - 2021 Том14 №1 с 7-8. (Здобувачем зроблено підбір хворих, статистичне обчислення, аналіз й узагальнення даних).

6. Андрущенко В.В. Роль фактору Віллебранда при бронхіальній астмі у дітей / В.В. Андрущенко // „Актуальні питання клінічної медицини” Матеріали XVI Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених, Запоріжжя, 24-25 листопада / ЗМАПО. – Запоріжжя, 2022, С. 9-11. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, статистично опрацював, проаналізував й узагальнив дані).

7. Андрущенко В.В. Внесок нейтрофільних гранулоцитів в запальний процес при бронхіальній астмі у дітей / В.В. Андрущенко // „Актуальні питання клінічної медицини” Матеріали XVI Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених, Запоріжжя, 24-25 листопада / ЗМАПО. – Запоріжжя, 2022, С. 11 - 13. (Здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, статистичну обробку та аналіз отриманих даних, сформульовані висновки).

8. Andrushchenko V.V. Factors on the formation of asthma in children / Andrushchenko Vira // online International Scientific Interdisciplinary Conference

ISIC-2022 for medical students and young scientists Kharkiv National Medical University, Kharkiv, 23th-24th November / Kharkiv National Medical University. – Kharkiv, 2022, p. 199-200. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, статистично опрацював, проаналізував й узагальнив дані).

9. Andrushchenko V.V. Necrosis of neutrophil granulocytes in children with asthma. / Andrushchenko Vira // online International Scientific Interdisciplinary Conference ISIC-2022 for medical students and young scientists Kharkiv National Medical University, Kharkiv, 23th-24th November / Kharkiv National Medical University. – Kharkiv, 2022, p. 200-201. (Здобувачем проведено відбір та клінічне обстеження хворих, статистичну обробку та аналіз отриманих даних).

10. Andrushchenko V.V. Significance of von Willebrand factor in children asthma. / Andrushchenko Vira // Фестиваль молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття» Харківського національного медичного університету, Харків, 13 – 15 лютого / ХНМУ. – Харків, 2023, с. 278 – 279. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, статистично опрацював, проаналізував й узагальнив дані).

11. Andrushchenko V.V. Clinical possibilities of flow cytometry in the study of asthma. / Andrushchenko V.V., Makieieva N.I., Herasymenko Y.V. // Всеукраїнська науково-практична Internet-конференції з міжнародною участю "Клінічна фармація в Україні та світі", присвячена 30-річчю заснування кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету, Харків, 16-17 березня / НФУ. – Харків, 2023 р, с.147 – 148. (Здобувачем проведено відбір та клінічне обстеження хворих, набір клінічного матеріалу, статистичну обробку та аналіз отриманих даних, опрацювання інформаційних джерел).

12. Andrushchenko V.V. IL-4 in blood serum of children with transient wheezing and asthma / Andrushchenko V.V.// «ІПП-2023:Інтернаціональна платформа інтегративної педіатрії» пам'яті академіка В.Г. Майданника: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю//Ukrainian

scientific medical youth journal, Supplement No1 (137) 2023 (19-20 квітня 2023 р. м. Київ, Україна). Харків, 2023 р, С.36. (Здобувачем проведено опрацювання інформаційних джерел, набір клінічного матеріалу, статистичну обробку та аналіз отриманих даних, було підготовано стендову доповідь).

13. Андрущенко В.В. Порухення фагоцитарної ланки імунітету у дітей з бронхіальною астмою / В.В. Андрущенко // Науково-практична конференція з міжнародною участю "V Полтавські перинатальні читання ім. Н.М.Максимовича-Амбодика: «Новітні технології в перинатальній практиці, педіатричній службі, медичній освіті та виклики сьогодення". (Здобувачем проведено опрацювання інформаційних джерел, набір клінічного матеріалу, статистичну обробку та аналіз отриманих даних, підготовано стендову доповідь).

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

14. Andrushchenko V.V. Levels of il-4 and  $\gamma$ - interferon in children's blood serum as predictors of asthma formation./ N. I. Makieieva, V. V. Andrushchenko, V. M. Malakhova, V. M. Tsymbal, N. P. Alieksieieva// Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина, 8(3(49)), 52–58. <https://doi.org/10.24061/2413-4260.XIII.3.49.2023.7> (Здобувач особисто провів аналіз сучасних інформаційно-літературних джерел, дослідив маркери порушення імунної відповіді, провів статистичний аналіз та узагальнив результати, підготував статтю до друку).

15. Andrushchenko V.V. Peculiarity of the pediatrician's work in children with asthma. / Andrushchenko Vira// leadership school for PhD Students Regional Innovations - 2, 2021. – P. 40-41.

(Здобувач особисто провів аналіз сучасних інформаційно-літературних джерел).

## ABSTRACT

*Andrushchenko V.V.* Optimisation of diagnostics and prognosis of immune response and endothelial function disorders in children with asthma - 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, 2024.

### Abstract content

According to the World Health Organisation, more than 330 million people worldwide suffer from asthma. The prevalence of this pathology among children reaches 8-12%. The disease debuts in childhood, and almost 50% of patients develop the disease before the age of 6. According to global figures, asthma is among the most common chronic conditions in children aged 5 to 14 years and is a cause of disability in both childhood and adulthood. The mortality rate of children from asthma ranges from 0.0 to 0.7% per 100,000 people. Exacerbations of asthma require frequent hospitalisations, resulting in significant healthcare costs. Among those hospitalised with an exacerbation of the disease, one third are children. The problem of untimely diagnosis and the widespread lack of desired control over the course of asthma demonstrates the urgency of this healthcare issue.

The aim of the study was to improve the diagnosis and prognosis of asthma progression in children based on the study of markers of endothelial damage, cytokine profile and immune response.

The study involved 81 children aged 5 to 17 years (48 boys and 33 girls) with a diagnosis of persistent asthma (PA), partially controlled, in the period of exacerbation. Patients with asthma were divided into 3 groups, depending on the severity of the disease. The first group consisted of patients with mild persistent asthma (n=59), the second group - with moderate asthma (n=10), the third group - with severe asthma (n=12). The study included patients with clinical

manifestations lasting less than 1-2 days and with dyspnoea, cough, and auscultatory evidence of airway obstruction.

Children were selected according to inclusion and exclusion criteria.

Inclusion criteria: children aged 5 to 17 years with a diagnosis of asthma, persistent mild, moderate, severe (2-4 severity), partially controlled, in the period of exacerbation; on the 1-2 day of exacerbation; children with signed consent from both parents, and at the age of 14 years, by the patients themselves. Exclusion criteria: children under 5 years of age; children under 17 years of age whose parents have not given written consent to the study; patients aged 14 years and older without written consent to the study; patients with acute bronchitis simple, acute obstructive bronchitis, intermittent asthma, pneumonia; patients with a diagnosis of asthma in remission and controlled asthma; with confirmed intracellular infection (*Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, toxocariasis); congenital and chronic cardiopulmonary or neurological diseases; hereditary diseases leading to changes in the functioning of the respiratory tract, including cystic fibrosis; proven immune deficiency; patients with severe somatic conditions and decompensation of vital functions; suspected or confirmed gastrointestinal diseases; patients with neoplasms of any location; Willebrand's disease; pregnant women.

All children were examined and treated in accordance with the protocols for the treatment of children with asthma No. 868 of 08.10.2013 "On approval and implementation of medical and technological documents for the standardisation of medical care in asthma". The control group included 13 practically healthy children of similar age and gender who visited the healthcare facility for routine examination or vaccination. These children had no complaints, clinical and laboratory signs of any disease in the last 3 months and no chronic diseases. A detailed medical history, standard and specific laboratory tests were performed on the examined children. The following methods were used to solve the study objectives: clinical and anamnestic, laboratory and statistical. The levels of IL-2, IL-4,  $\gamma$ -interferon and von Willebrand factor (VWF) in the blood serum were

determined by enzyme-linked immunosorbent assay. Immunophenotyping by flow cytometry was used to determine the levels of reactive oxygen species (ROS) in granulocytes and the percentage of necrotic granulocytes in the blood. The data were statistically processed, which allowed us to draw reasonable conclusions.

During the history taking in children, unfavourable anamnestic factors for the formation of severe asthma in children were identified. It was found that such factors as the debut of bronchial obstructive syndrome in the first year of life (8.6 times), a burdened family allergic history (3.2 times), the presence of concomitant allergic pathology in the child (5.8 times), the presence of asthma in close relatives (6.5 times), and gut microbiota disorders (4.6 times) increase the risk of severe asthma.

Multiple comparisons using the Kruskal-Wallis test revealed the presence of high reliable H-criteria for IL-2 ( $H=69.4637$ ;  $p<0.001$ ), IL-4 ( $H=69.4627$ ;  $p<0.001$ ) and IFN- $\gamma$  ( $H=69.1081$ ;  $p<0.001$ ), which allowed us to conclude that there was a significant difference in these indicators in the groups, and their level depends on belonging to one group or another.

In our study, we found a parallel increase in the levels of IL-2, as a proinflammatory interleukin, and IL-4, as an anti-inflammatory interleukin, in patients with asthma compared with the control group (all  $p < 0.05$ ) with the highest levels in severe asthma, indicating that cytokines can affect each other. The detected decrease in the levels of  $\gamma$ -interferon in children with asthma compared with the control group (all  $p < 0.05$ ) probably indicates a violation of the process of Th1-induced signals in inhibiting the differentiation of Th2 cells. The lowest values were found in patients with severe asthma. The negative correlation between the levels of IL-4 and IFN- $\gamma$  ( $r = - 0.879$ ,  $p < 0.001$ ) in the blood serum of children with asthma characterises deterioration in the system of suppression of the allergic inflammatory process.

The IL-2/IL-4 and  $\gamma$ -IN/IL-4 levels ratios in patients with asthma were significantly reduced compared with the control group (all  $p < 0.05$ ), with the lowest results in patients with severe asthma, and the level of these parameters

depends on the severity of asthma ( $H_{IL\ 2/IL4} = 50.4387$ ,  $p < 0.001$  and  $H_{\gamma\ Int/IL4} = 69.4602$ ,  $p < 0.001$ ). This result may indicate an imbalance of Th1/Th2 balance in CD4<sup>+</sup> Th cell subpopulations.

A significant increase in the levels of von Willebrand factor in patients with asthma, with the highest levels in severe asthma ( $p < 0.05$ ), proves that the deepening of endothelial dysfunction in the formation of chronic inflammation depends on the severity of the disease ( $H = 69.4612$ ,  $p < 0.001$ ).

In patients with asthma, a deterioration of the immune response was revealed due to changes in the cellular, humoral and phagocytic immune systems, namely, in the cellular immune system - decreased IRI and increased CD3, abs, CD4, abs., CD8, abs., CD16, abs. ( $p < 0.05$ ); humoral immunity - decreased IgG and increased IgE, CD22, abs. ( $p < 0.05$ ); phagocytic immune system - decreased NF, FF, IAN, LCB, NST test and increased MP ( $p < 0.05$ ). The immune response of children with severe asthma underwent the most significant changes in all indicators ( $p < 0.05$ ) compared with the control group and mild asthma. In confirmation of the disruption of the system of non-specific immune defence, due to the phagocytic link of immunity, statistically significantly reduced levels of ROS produced by neutrophils were found ( $p < 0.05$ ), as well as a significant decrease in the percentage of neutrophils killed by neutrophil necrosis ( $p < 0.05$ ), compared with the control group, indicating reduced reserve capacity of neutrophils against the background of a prolonged inflammatory process.

The correlation analysis of indicators in each group revealed an increase in the number of correlations depending on the severity of asthma. In patients of the first group, there were strong correlations between IL-2 and IL-4 (direct) and IL-2 and IFN- $\gamma$  and IL-4 and IFN- $\gamma$  (inverse) (all  $p < 0.05$ ). In patients of the second group, the correlation analysis revealed similar relationships and a positive correlation between ROS levels and % of necrotic neutrophils (all  $p < 0.05$ ). In children of the third group, in addition to the above relationships, a correlation was found between the phagocytic immunity and ROS levels and % of necrotic neutrophils, levels of FV and IL-4 and IFN- $\gamma$  (all  $p < 0.05$ ).

ROC analysis was used to determine the indicators with the best predictive power. As a result, high levels of specificity and sensitivity were determined for such indicators as ROS levels in neutrophils, % necrotic granulocytes (neutrophils), IL-2, IL-4,  $\gamma$ -IN in serum, the ratio between IL-2/IL-4 and  $\gamma$ -IN/IL-4, and serum FV levels. The highest levels of specificity and sensitivity were observed for IL-4, serum FV and neutrophil ROS levels.

For the diagnosis of severe asthma in children, it is recommended to use the following indicators: in serum, an increase in IL-2 levels over 25.36 pg/ml, IL-4 levels over 24.55 pg/ml, and Willibrand factor levels over 24.007 ng/ml, decrease in  $\gamma$ -IN levels below 80.02 pg/ml, decrease in IL-2/IL-4 ratio below 1.072,  $\gamma$ -IN/IL-4 below 3.036; in leukoconcentrate, decrease in ROS produced by neutrophils below 285 u.s., % of necrotised granulocytes below 4.5%.

**Key words:** asthma, respiratory system, immune response, cytokines, endothelial dysfunction, children.

## ЗМІСТ

ЗМІСТ.....	16
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	18
ВСТУП.....	21
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	31
1.1. Актуальність проблеми алергічних захворювань у сучасному світі. ....	31
1.2. Проблеми в діагностиці бронхіальної астми у дітей. ....	32
1.3. Сучасне вчення про етіологію та патогенез бронхіальної астми. ..	34
1.4. Імунологічний дисбаланс у хворих з бронхіальною астмою. ..	38
1.5. Сучасний погляд на ендотеліальну дисфункцію при бронхіальній астмі. ....	39
1.6. Роль цитокінів при хронічному алергічному запаленні. ....	42
Висновки до розділу 1. ....	43
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ....	45
2.1. Дизайн дослідження ....	45
2.2. Методи дослідження ....	47
2.3. Методи статистичного аналізу ....	54
2.4. Схематичний дизайн дослідження ....	56
РОЗДІЛ 3. КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ДІТЕЙ ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ ....	59
3.1 Загальна характеристика хворих. ....	59
3.2 Клініко-лабораторна характеристика дітей обстежуваних груп. ...	74
Висновки до розділу 3. ....	79
РОЗДІЛ 4. РОЛЬ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ІМУННОЇ СИСТЕМИ У ФОРМУВАННІ І ПРОГРЕСУВАННІ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ У ДІТЕЙ .....	82
4.1. Характеристика стану імунної системи пацієнтів з бронхіальною астмою в періоді загострення. ....	83

4.2. Характеристика фагоцитарної функції нейтрофілів у дітей з бронхіальною астмою. ....	93
4.3. Діагностично-прогностичні показники формування тяжкого ступеня бронхіальної астми у дітей. ....	100
4.4. Особливості функціонування та взаємодії кореляційних систем показників стану імунітету, ендотеліальної функції та анамнестичними даними. ....	101
Висновки до розділу 4. ....	105
<b>РОЗДІЛ 5. ЦИТОКІНОВИЙ ПРОФІЛЬ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ</b>	
<b>У ДІТЕЙ</b> ....	107
5.1. Рівні цитокінів у сироватці крові дітей з бронхіальною астмою. ...	108
5.2. Співвідношення між Th-1 та Th-2 клонами лімфоцитів (IL-2/IL-4, $\gamma$ -ІН/IL-4) ....	112
5.3. Стан ендотелію у хворих на бронхіальну астму. ....	115
5.4. Діагностично-прогностичні показники формування тяжкого ступеня бронхіальної астми у дітей. ....	120
Висновки до розділу 5. ....	125
<b>АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ</b> ....	131
<b>ВИСНОВКИ</b> ....	127
<b>ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ</b> ....	129
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b> ....	130

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

Абс.	– абсолютне значення
АД	– атопічний дерматит
АФК	– активні форми Кисню
АР	– алергічний риніт
БА	– бронхіальна астма
БОС	– бронхообструктивний синдром
ГРЗ	– гостре респіраторне захворювання
ЕК	– ендотеліальні клітини
ІАН	– індекс активності нейтрофілів
ІІ–2	– інтерлейкін - 2
ІІ–4	– інтерлейкін -4
ЛКБ	– лізосомальні катіонні білки
МОШ25	– максимальна об’ємна швидкість 25% форсованої життєвої ємкості легень
МОШ50	– максимальна об’ємна швидкість 50% форсованої життєвої ємкості легень
МОШ75	– максимальна об’ємна швидкість 75% форсованої життєвої ємкості легень
МП	– мієлопіроксидаза
НФ	– нейтрофіли фагоцитуючі
НГ	– нейтрофільні гранулоцити
ОФВ1	– об’єм форсованого видиху за 1 сек.
ПГА	– пауцигранулоцитарна астма
ФВ	– фактор Віллебранда

ФЖЕЛ	– форсована життєва ємкість легень
ФЗД	– функція зовнішнього дихання
ФЧ	– фагоцитарне число
ЦК	– циркулюючі імунні комплекси
ЧД	– частота дихання
ЧСС	– частота серцевих скорочень
ШВЛ	– штучна вентиляція легень
ШОЕ	– швидкість зсідання еритроцитів
$\gamma$ -ІН	– $\gamma$ -інтерферон 95% CI AUC– довірчий інтервал AUC.
95% CI RR	– довірчий інтервал RR
$\chi^2$	– критерій оцінки значущості відмінностей
AUC	– площа, обмежена ROC-кривої
CD3	– Т-лімфоцити загальні
CD4	– Т-хелпери
CD8	– Т-супресори
CD16	– натуральні кілери-клітини
CD22	– В-лімфоцити
H	– критерій Краскла-Уолліса
Ig A	– імуноглобулін А
Ig E	– імуноглобулін Е
Ig G	– імуноглобулін G
Ig M	– імуноглобулін M
IRI	– імунорегуляторний індекс
KW	– дисперсійний аналіз Краскла-Уолліса

Lq	– нижній кuartиль
Me	– Медіана
MW	– статистичний метод попарного порівняння Манна-Уїтні тетразолію
P	– рівень статистичної значущості
p%	– вибіркова частка, яка виражена у відсотках
RR	– відносний ризик
PI	– пульсаційний індекс, або індекс пульсації;
R	– коефіцієнт множинної кореляції
ROS	–reactive oxygen species
RI	– індекс периферичного опору, або індекс резистивности
SD	– систолодіастолічне співвідношення
sVCAM-1	– молекула міжклітинної адгезії судинного ендотелію-1
Se,%	– чутливість методу ROC аналізу
Sp,%	– специфічність методу ROC аналізу
Uq	– верхній кuartиль
T	– непараметричний критерій Вілкоксона

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Захворювання органів дихання займають одне з провідних місць у структурі загальної захворюваності дитячого віку [1]. Паралельно із гострою патологією дихальних шляхів значну частину в структурі цих захворювань складають рецидивуючі та хронічні хвороби, найпоширенішим серед яких лишається бронхіальна астма (БА) [2,3]. Дитяча бронхіальна астма є вагомим медикосоціальною проблемою для педіатрії, що спричинено її суттєвим впливом на якість життя хворих та значними економічними витратами [4-7]. Незважаючи на численні наукові здобутки, щодо виявлення нових лікарських препаратів, підвищення освіченості лікарів і хворих, створення спеціальних програм ВООЗ, не вдається взяти під контроль захворюваність на БА [8-10]. За даними епідеміологічних досліджень, рівень поширеності БА у світі коливається в межах від 1% до 18%, а серед дітей - від 5% до 10% [11-14]. Особливу значимість проблемі БА в дітей надає положення, згідно з яким, рецидивні хвороби органів дихання у дитячому віці накладають відбиток на хронічну бронхолегеневу патологію дорослого періоду життя [15-17].

Бронхіальна астма-глобальна проблема, яка є актуальною в усьому світі та її значущість динамічно зростає [2]. «Глобальна ініціатива по бронхіальній астмі» (Global Initiative For Asthma, GINA), прийнята ВООЗ і визнана урядами багатьох країн, у тому числі й Україною, визначає БА як проблему світового масштабу і регулярно пропонує рекомендації із діагностики та лікування, які постійно оновлюються. Дослідники вважають, що майже 300 мільйонів хворих у всьому світі страждають на БА. Передбачається, що ця кількість зросте ще на 100 мільйонів до 2025 року [2].

Прогнозування формування та діагностування БА у дитячому віці мають певні труднощі, тому продовжується пошук нових підходів для вивчення цієї проблеми. Вивчення біомаркерів–новий перспективний напрям у медицині останніх років. За визначенням Національної медичної бібліотеки

США (1996), біологічні маркери-це кількісно визначені біологічні параметри, що як індикатори показують стан здоров'я, ризик захворювання, ефекти довкілля, діагностику захворювання, метаболічні процеси, епідеміологію тощо.

Нові, прогресивні шляхи вивчення бронхіальної астми (БА) вказують, що морфологічною основою бронхіальної гіперреактивності є хронічне запалення дихальних шляхів [8]. Таке запалення характеризується інфільтрацією тканин запальними клітинами (еозинофілами та/або нейтрофілами) та напрацюванням продуктів життєдіяльності живих клітин (Активні форми Кисню (АФК)/Reactive oxygen species, ROS). Це обґрунтовує можливість використання рівня АФК як маркера активності запалення при бронхіальній астмі у дітей [18-20]. Вимірювання АФК у нейтрофілах може стати не тільки біомаркером алергічного запалення при астмі, але й може дозволити чітко уявити роль цих клітин в імунній відповіді на захворювання. А це, в свою чергу, допоможе розробити індивідуальний обґрунтований підхід до прогнозування тяжкості перебігу бронхіальної астми, запобігання ускладнень та розробки індивідуальної лікувальної тактики.

Під час запального процесу відбувається ураження ендотелію судин, системи згортання крові, системи комплементу, та іншого [21-23]. Виникнення патологічних станів (пошкодження/запалення) ендотелія приводить до швидкої реакції, сприяючи тромбоутворенню та уможливаючи спрямовану трансміграцію запальних клітин. Одним із загальноприйнятих маркерів ендотеліальної дисфункції є фактор Вільбранда, бо його синтез відбувається безпосередньо ендотелієм судин, а відхилення від норми впливають на його концентрацію у сироватці крові [24-26].

Також невід'ємними учасниками запального процесу є цитокіни, першими з яких починають синтезуватися прозапальні інтерлейкіни (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , GM-CSF), а потім і протизапальні інтерлейкіни (IL-4, IL-10, IL-13, TGF- $\beta$ ) [27,28]. Серед великої кількості цитокінів найбільшу

цікавість викликають ті, що є медіаторами саме імунного запалення -  $\gamma$ -інтерферон ( $\gamma$ -ІН) та ІЛ-2 та протизапальні (імуносупресорні) - інтерлейкін-4 (ІЛ-4) [29-32].

Порушення в системі регуляції функцій ендотелію, дисбаланс цитокінового профілю та відхилення у функціонуванні імунної системи можуть формувати патологічний ланцюг та сприяти прогресуванню проявів запалення, а разом з тим і захворювання в цілому. Роль цих механізмів у дітей, які страждають на бронхіальну астму, до кінця не вивчена та потребує подальшого ретельного дослідження.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, темами**

Робота виконувалась відповідно до комплексної науково-дослідної роботи кафедр педіатрії Харківського національного медичного університету (ХНМУ) за темою: «Медико-біологічна адаптація дітей із соматичною патологією в сучасних умовах» (№ державної реєстрації 0118U000925). Здобувачем здійснено аналіз вітчизняної та зарубіжної літератури за темою, проведено інформаційно-патентний пошук та аналіз наукової літератури, проведено обстеження й формування груп дітей із бронхіальною астмою, виконано систематизацію та аналіз отриманих результатів.

Тема дисертації затверджена Проблемною комісією за фахом «Педіатрія» АМН та МОЗ України (протокол № 9 від 26.09.2019 р.) та на засіданні Вченої ради ХНМУ (протокол № 9 від 17.10.2019 р.).

**Мета дослідження.** Удосконалення діагностики та прогнозу прогресування тяжкості бронхіальної астми у дітей на підставі вивчення маркерів ендотеліального пошкодження, цитокінового профілю та імунної відповіді.

Для виконання поставленої мети були визначені наступні **завдання**:

1. Визначити фактори ризику формування тяжкої бронхіальної астми у дітей.
2. Оцінити ступінь ендотеліальної дисфункції у дітей з бронхіальною астмою в періоді загострення шляхом вивчення рівнів фактора Віллебранда у сироватці крові.
3. Проаналізувати вміст прозапальних та протизапальних цитокінів (IL-2, IL-4,  $\gamma$ -ІН) та їх співвідношення (IL-2/IL-4,  $\gamma$ -ІН/IL-4) у дітей з бронхіальною астмою в періоді загострення.
4. Дослідити функціональність імунної відповіді дітей, хворих на бронхіальну астму, шляхом визначення стану клітинної, гуморальної та фагоцитарної ланок імунітету.
5. Провести аналіз участі нейтрофілів в імунній регуляції запального процесу при бронхіальній астмі у дітей з урахуванням рівнів активних форм кисню (АФК) у нейтрофілах та вивчення відсотку некротизованих форм грагулоцитів.
6. Оцінити діагностичну та прогностичну значущість маркерів формування тяжкого перебігу бронхіальної астми у дітей.

**Об'єкт дослідження:** бронхіальна астма у дітей.

**Предмет дослідження:** функціональний стан ендотелію судин, імунної системи та цитокінового профілю у дітей з бронхіальною астмою.

**Методи дослідження:** загально-клінічні, інструментальні, біохімічні, імуноферментні, імунофлюоресцентні та статистичні.

Для вирішення поставлених задач використані наступні методи дослідження:

- виявлення несприятливих анамнестичних чинників методом опитування пацієнтів та батьків;
- визначення показників ІЛ-2,  $\gamma$ -ІН, ІЛ-4 та ФВ у сироватці крові імуноферментним методом з використанням комерційних наборів реагентів;
- визначення рівнів активних форм кисню (АФК) у гранулоцитах (нейтрофілах) та некротизованих форм нейтрофілів з використанням імунофенотипування методом проточної цитометрії ;
- обробка отриманих результатів за допомогою методів параметричної та непараметричної статистики, математичного моделювання з використанням елементів логіко-ймовірного аналізу.

### **Наукова новизна одержаних результатів**

У дослідженні проаналізовано та розширено наукові дані щодо факторів ризику формування тяжкого перебігу бронхіальної астми, якими визнані обтяжений сімейний анамнез на наявність алергійних захворювань, наявність у близьких родичів бронхіальної астми, дебют бронхіальної обструкції у віці до одного року, наявність супутньої алергопатології у дітей, хворих на бронхіальну астму (алергічний риніт, atopічний дерматит), наявність порушень мікрофлори кишківника у ранньому віці).

Доповнено наукові дані щодо функціонального стану ендотелію у дітей з бронхіальною астмою в періоді загострення шляхом виявлення підвищення рівнів фактора Віллібранда у сироватці крові. Визначено, що рівні фактору Віллібранда у сироватці крові дітей, хворих на бронхіальну астму, у періоді загострення, статистично значуще підвищувалися, у порівнянні із групою контролю ( $p < 0,05$ ), із найвищими показниками у пацієнтів із тяжкою бронхіальною астмою ( $p < 0,05$ ), що вказувало на поглиблення ендотеліальної дисфункції в залежності від тяжкості хронічного запалення.

Набули подальшого розвитку дані щодо участі про та протизапальних цитокінів у формуванні хронічного запалення у пацієнтів з бронхіальною астмою, що підтверджується зростанням рівнів IL-2, IL-4 та зниженням рівнів  $\gamma$ -ІН у сироватці крові (IL-4 та IFN- $\gamma$   $r = -0,975$   $p < 0,001$ ; IL-2 та IFN- $\gamma$   $r = -0,957$   $p < 0,001$ ), а також зміною співвідношенням між Th-1 та Th-2 клонами лімфоцитів (IL-2/IL-4,  $\gamma$ -ІН/IL-4) у бік зниження показників, порівняно з групою контролю.

У дослідженні поглиблені дані щодо зміни імунної відповіді, що проявляється у порушенні стану клітинної (знижений IRI та підвищені CD3, абс., CD4, абс., CD8, абс., CD16, абс. ( $p < 0,05$ )), гуморальної (знижений IgG та підвищені IgE, CD22, абс. ( $p < 0,05$ )) та фагоцитарної ланок імунітету (знижені НФ, ФЧ, ІАН, ЛКБ, NST-тест та підвищений МП ( $p < 0,05$ )). Поглиблено дані стосовно участі фагоцитарної ланки імунітету у патологічному процесі при БА у дітей, за рахунок вивчення продукції АФК нейтрофілами та загибель нейтрофілів шляхом некрозу. Встановлено, що при тяжкому хронічному алергійному запаленні відбувається зниження рівнів АФК у нейтрофілах та зменшується відсоток загиблих нейтрофілів шляхом некрозу, що вказує на зниження функціональних можливостей нейтрофілів при участі процесі неспецифічного імунного захисту.

Визначено додаткові діагностичні та прогностичні маркери формування тяжкого перебігу у дітей з БА з високим рівнем чутливості та специфічності, а саме: у сироватці крові підвищення рівня IL-2 понад 25,36 пг/мл з чутливістю 83,3% та специфічністю 100,0%; підвищення рівня IL-4 понад 24,55 пг/мл з чутливістю 100,0% та специфічністю 100,0%; підвищення рівня фактору Віллібранда понад 24,007 нг/мл з чутливістю 100,0% та специфічністю 100,0%; зниження рівнів  $\gamma$ -ІН нижче ніж 80,02 пг/мл з чутливістю 91,7% та специфічністю 92,8%; зниження рівня співвідношення IL-2/IL-4 нижче ніж 1,072 з чутливістю 91,7% та специфічністю 92,8%; зниження рівнів співвідношення  $\gamma$ -ІН/IL-4 нижче ніж 3,036 з чутливістю 83,3% та специфічністю 91,3%; у лейкоконцентраті, зниження рівнів АФК,

що продукуються нейтрофілами нижче ніж 285 у.о. з чутливістю 100,0% та специфічністю 100,0 %; зниження % некротизованих гранулоцитів нижче ніж 4,5 % з чутливістю 100,0% та специфічністю 84,2%.

### **Практичне значення одержаних результатів.**

Для оптимізації раннього виявлення формування важкого ступеня бронхіальної астми у дітей рекомендується ввести проведення опитування пацієнтів та їх батьків з визначенням несприятливих чинників в анамнезі, а саме: обтяжений сімейний анамнез на наявність алергійних захворювань, наявність у близьких родичів бронхіальної астми, дебют бронхіальної обструкції у віці до одного року, наявність супутньої алергопатології у дітей (алергічний риніт, атопічний дерматит), наявність порушень мікрофлори кишечника у ранньому віці.

Обґрунтовано доцільність, з метою більш раннього прогнозування хронічного запалення бронхо-легеневої системи у дітей, хворих на бронхіальну астму, або при наявності складнощів визначення ступеня бронхіальної астми, до стандартів комплексного обстеження додати визначення показників стану ендотелію, шляхом визначення концентрацій фактора Віллебранда у сироватці крові; цитокінового профілю (ІЛ-2, ІЛ-4 та  $\gamma$ -ІН у сироватці крові); імунної відповіді (активні форми кисню та % некротизованих гранулоцитів (нейтрофілів) у лейкоконцентраті).

Для прогнозування формування важкого ступеня бронхіальної астми у дітей рекомендується використовувати наступні показники:

підвищення рівнів

- ІЛ-2 сироватки крові  $> 25,36$  ng/ml ( чутливість - 83,3%; специфічність -100,0%),
- ІЛ-4 сироватки крові  $> 24,55$  ng/ml (чутливість -100,0%; специфічність -100,0%),

- фактор Віллебранда у сироватці крові  $>24.007$  ng/ml (чутливість - 100,0%; специфічність -100,0 %),

зниження рівнів

- $\gamma$ -ІН сироватки крові  $< 80,02$  ng/ml (чутливість -91,7%; специфічність -92,8%),
- ІЛ-2/ІЛ-4  $< 1$ , (чутливість -91,7%; специфічність -92,8%),
- $\gamma$ -ІН/ІЛ-4  $< 3,036$  (чутливість -83,3%; специфічність -91,3%),
- АФК у лейкоконцентраті  $< 285$  у.о (чутливість -100,0%; специфічність -100,0%),
- % некротизованих гранулоцитів (нейтрофілів)  $< 4,5\%$  (чутливість -100,0%; специфічність -84,2%).

Результати дослідження впроваджено в практичну діяльність КНП "Тернопільська обласна дитяча клінічна лікарня" ТОР м. Тернопіль (акти впровадження від 05.10.2023 р. ) КНП «Дитяча клінічна лікарня святої Зінаїди» міста Суми (акти впровадження від 20.10.2023 р.), КП «Міська дитяча клінічна лікарня» Полтавської міської ради (акти впровадження від 07.10.2023 р.), КП «Регіональний медичний центр родинного здоров'я » ДОР» (акти впровадження від 03.11.2023 р.)

### **Особистий внесок здобувача**

Автор особисто провів аналіз вітчизняної та закордонної літератури, патентно-інформаційний пошук. Здобувачем самостійно проведено клінічний етап роботи (відбір та опитування хворих, документальне оформлення інформації стосовно анамнезу життя та захворювання пацієнтів). Здобувачем сформовані групи пацієнтів, проаналізовані результати клінічних та біохімічних лабораторних досліджень. Особисто виконано формування бази

даних обстежених дітей та проведено їх статистичну обробку, проаналізовано отриманий матеріал та узагальнено результати дослідження, сформульовано висновки та практичні рекомендації. На підставі кінцевих результатів, написані розділи дисертації.

### **Апробація роботи**

Матеріали та результати дисертаційної роботи представлені на всеукраїнських та міжнародних конференціях, конгресах та форумах:

Науково-практичній онлайн-конференції з міжнародною участю «Проточна цитометрія в експериментальній та клінічній медицині» (Харків, 29-30 квітня 2021 р.), XV конгресі педіатрів України «Актуальні проблеми в педіатрії» (Київ, 12-13 жовтня 2021 р.), XVI Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених „Актуальні питання клінічної медицини” (Запоріжжя, 24-25 листопада 2022 р), online International Scientific Interdisciplinary Conference ISIC-2022 for medical students and young scientists Kharkiv National Medical University (Харків, 23-24 листопада 2022 р.), Фестивалі молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття» (Харків, 13 – 15 лютого 2023 р.), Всеукраїнській науково-практичній Internet-конференції з міжнародною участю "Клінічна фармація в Україні та світі", присвячена 30-річчю заснування кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету (Харків, 16-17 березня 2023 р.), науково-практичній конференції з міжнародною участю «ІПП-2023:Інтернаціональна платформа інтегративної педіатрії» пам'яті академіка В.Г. Майданникам (Київ, 19-20 квітня 2023 р.), науково-практичній конференції з міжнародною участю "V Полтавські перинатальні читання ім. Н.М.Максимовича-Амбодика: «Новітні технології в перинатальній практиці, педіатричній службі, медичній освіті та виклики сьогодення».

## **Публікації**

За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових праць, із них 4 статті, у тому числі 1 стаття в науковому закордонному виданні, яке індексується у базі Scopus, 2 статті в наукових українських виданнях, які індексуються у базі Scopus та 1 стаття у фаховому науковому виданні; 10 тез у матеріалах конференцій, конгресів та форумів, 2 стендові доповіді.

## **Обсяг і структура дисертації**

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 172 сторінках (120 основного тексту) машинопису й складається з анотації, вступу, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків та практичних рекомендацій. Роботу ілюстрована 17 рисунками, 18 таблицями, додатками. Перелік використаної літератури містить 164 джерела, із яких – 13 кириличною графікою і 151 – латинською графікою, що нараховує 20 сторіно.

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1. Актуальність проблеми алергічних захворювань у сучасному світі

Поширеність алергічних захворювань зростає в усьому світі. На сучасному етапі алергопатологія претендує на провідне місце в структурі захворюваності [5,33,34]. За даними Всесвітньої організації з алергії (WAO), в ході епідеміологічного обстеження щодо алергічних захворювань було виявлено, що 22% населення в 30 країнах світу мають той чи інший тип алергічного захворювання [35]. Складність і тяжкість алергічних захворювань включають небезпечну для життя анафілаксію, ангіоневротичний набряк, кропив'янку, дерматит, кон'юнктивіт, риніт, харчову алергію, деякі форми астми, а також алергію на ліки та комах, що продовжує загострюватись, особливо в дітей та молодих людей, які несуть найбільший тягар цих тенденцій [35-40].

Важливим також є те, що особи з алергічними захворюваннями, особливо з астмою, більш сприйнятливі до респіраторних вірусних інфекцій, які є провідними причинами загострень алергічних захворювань [41-43].

Хронічна патологія у скомпроментованої алергією людини має більше ускладнень та важчий перебіг [44,45].

Будучи такими розповсюдженими, алергічні захворювання призводять не тільки до високих витрат системи охорони здоров'я, а і до погіршення якості життя [46,47].

Алергопатологія може виникнути у будь-якому віці, але все ж таки частіше у дитячому [48-50]. Та як би рано вона не виникла, наслідки можна очікувати на будь-якому етапі дорослого життя [51-53].

Алергічні захворювання вражають більш ніж 15% дитячого населення [5,54,55]. Відбувається інтенсивне зростання кількості алергічного риніту та

атопічного дерматиту серед дітей [56-59]. Також науковці відмічають зростання захворюваності на бронхіальну астму (БА), як серед дорослих, так і серед дітей [2,3,12,14].

БА залишається однією з найактуальніших медико-соціальних проблем сучасного світу, що, в першу чергу, зумовлено надзвичайно високою поширеністю цього захворювання. За даними ВООЗ, на бронхіальну астму страждає близько 340 млн. хворих у світі. За підрахунками міжнародних експертів (The Global Asthma Report), на БА страждають приблизно 5% жителів нашої планети, та серед дітей і молодих дорослих поширеність значно вища (14% та 8,6% відповідно) [12,60]. В Україні на 2021 рік, згідно даних Міністерства охорони здоров'я, зареєстровано понад 200 тисяч людей з таким діагнозом. Крім того, у науковій літературі відображається тенденція до збільшення кількості хворих із важким і ускладненим перебігом БА, що призводить до інвалідизації хворих і зростання летальності [12]. Проблема є доволі поширеною та складною, адже астма–хронічне захворювання, з яким треба навчитися жити повноцінним життям.

## **1.2. Проблеми в діагностиці бронхіальної астми у дітей**

Дебют БА, зазвичай припадає на вік до 6 років [48-50]. Дуже часто її клінічні прояви розцінюють як іншу патологію, що призводить до гіподіагностики цього патологічного стану [61,62]. Спостерігається різниця між розповсюдженістю БА в Україні (від 0,56% до 0,60%) та в світі (від 1% до 18%). Це можна пояснити тим, що початкові прояви БА мають клінічну схожість із бронхообструктивним синдромом (БОС), який може бути у складі різноманітних захворювань [63]. Перші епізоди бронхообструкції можуть з'являтися у віці до одного року, але їхню подальшу долю складно визначити наперед: БОС можуть не мати атопічного підґрунття, а бути пов'язаними із

респіраторними захворюваннями; БОС, що має транзиторний характер; БОС, що розвивається на тлі різних хронічних захворювань (метаболічні порушення, захворювання серця, судин, легень); БОС, як прояв дебюту БА [64-67]. Проведення диференційної діагностики БОС вже під час перших епізодів викликає великі труднощі [2,46,65]. Як епізоди БОС, так і загострення БА, частіше за все викликані вірусами [41-43,65]. Клінічні, лабораторні та інструментальні (рентгенологічне дослідження) показники при БА та БОС є схожими. Схожа клінічна з БА картина може супроводжувати бронхолегеневу дисплазію чи муковісцидоз, що приводить до помилкового діагностування респіраторного алергозу, тобто гіпердіагностики [68,69]. У медичній практиці не поодинокі випадки встановлення БА при наявності сторонніх тіл дихальних шляхів [69]. У дітей із складними деформаціями грудної клітини, наприклад у дітей з ДЦП, проблематично правильно інтерпретувати клінічну картину з боку легень [70]. Тому так складно лікарям першої ланки, а іноді, й респіраторним спеціалістам вірно та своєчасно встановити діагноз.

Маючи витоки у ранньому дитинстві, діагностика астма стикається з низкою труднощів. По-перше, це пов'язано із віковими обмеженнями. «Золотим стандартом» діагностування БА є дослідження функції зовнішнього дихання (ФЗД), яке не дає змоги провести фізична та психічна незрілість дитини цього віку, бо успішне виконання маневру форсованого видиху залежить від віку [2]. Хоча спірометрія посідає центральне місце в діагностиці астми, її може бути недостатньо для підтвердження або виключення діагнозу [71]. По-друге, лабораторні та функціональні методи пов'язані з великими фінансовими витратами [46,47,60,61]. У пріоритеті для встановлення діагнозу залишаються клініко-анамнестичні дані (клінічні симптоми, несприятливі чинників щодо розвитку захворювання) [2]. Існують моделі, для діагностування ризику виникнення астми у дітей з повторними БОС, які базуються на виявленні малих та великих діагностичних критеріїв: «Asthma Predictive Index» (API), «Clinical Asthma Prediction Score» (CAPS),

«The Preschool Asthma Risk Factor Scale» (PS-ARFS) [72,73,74]. В основі цих тестів лежить виявлення у пацієнтів, які мали 3 та більше епізоди БОС, несприятливих чинників алергоанамнезу (CAPS також приймає до уваги рівень Ig E). Таким чином, розглядаються лише анамнестичні дані та сенсебілізація організму. Виходячі з усього вищеперерахованого, прогностичні шкали не охоплюють критеріями діагностики усі «фенотипи» БОС. Тому виявлення «дебюту» БА серед великої кількості нозологічних форм залишається проблемою.

### **1.3. Сучасне вчення про етіологію та патогенез бронхіальної астми**

Астма це одне з найбільш розповсюджених неінфекційних захворювань, яке суттєво впливає на якість життя [54,75]. Вона може призводити до вагомих обмежень у фізичному, емоційному, соціальному аспектах життя людини [46,47]. Бронхо-легенева система щомиті піддається впливу різноманітних зовнішніх та внутрішніх чинників, які негативно впливають на її функціонування. Саме тому, науковці продовжують поглиблювати знання в цьому напрямі. До ендогенних факторів відносять забруднення навколишнього середовища, а що більш важливо – забруднення повітря в середині приміщення та транспорту: летючі органічні сполуки або тверді частинки [76-78]. Існує безліч летючих органічних сполук, що викидаються із сучасних побутових виробів: фарби, лаки, рідини для чищення, меблі, копіювальні апарати, клей, адгезиви або перманентні маркери, засоби особистої гігієни, будівельні матеріали та викиди транспортних засобів. Джерелами твердих частинок є тютюнопаління, приготування їжі, опалення, свічки та інсектициди, тоді як джерелами великих часток є домашні тварини, робота по дому та переміщення людей. Також важливо приймати до уваги вплив різноманітних інфекцій (вірусних, грибкових) [78,79]. Генетичну схильність розглядають як одну із

надважливих причин виникнення астми [80]. Сучасні дослідники взначають важливу роль порушення мікробіоти кішківника, як фактора формування хронічних респіраторних захворювань [81]. Існують наукові праці, які відзначають, що патологічний перебіг антенатального періоду призводить до формування вроджених аномалій органів дихальної системи та легень [82,83].

Також важливу роль має стан здоров'я на першому році життя дитини. Це й перенесені ним ГРЗ, ранні епізоди бронхообструкції, використання антибактеріальної терапії та інші [2,69,84,85].

Початок захворювання у дитинстві запускає механізм перебудови дихальних шляхів, який має назву—ремоделювання бронхо-легеневої системи [86]. Далі під впливом несприятливих екзо- та ендочинників індукується гіперреактивність дихальних шляхів [87]. Запуск цього патологічного механізму призводить до обструкції бронхів, результатом якої є формування клінічних проявів притаманних БА, а саме: відчуття утруднення в грудях, задишка, шумне свистяче дихання, кашель [2,88]. Комбінація набряку, інфільтрації запальними клітинами, гіперсекреції слизу, скорочення гладких м'язів і епітеліальної десквамації призводять до прогресування бронхіальної астми, в результаті чого формується хронічне запалення [2,54]. Поступово відбуваються структурні зміни у дихальних шляхах та втрата їх еластичності [89].

БА є гетерогенним захворюванням, тому для кращого розуміння її патофізіологічних механізмів науковці розділили астму на кілька фенотипів і ендотипів, які відрізняються різними клінічними та патологічними проявами, а також різними відповідями на фармакологічне лікування [90].

Розрізняють наступні фенотипи: еозинофільний, нейтрофільний, змішаний, паугранулоцитарний [90,91]. Найбільш вивченим є еозинофільний тип запалення [91]. Це ендотип, при якому еозинофіли відіграють центральну ефекторну роль у розвитку фізіологічних аномалій. Давно відомо, що еозинофільне запалення дихальних шляхів може бути пов'язане як з

алергічною, так і з неалергічною астмою, а також із тяжким та фатальним перебігом захворювання [92]. У пацієнтів із еозинофільною астмою еозинофіли накопичуються в бронхіальному тракті, де вони вивільняють цитотоксичні білки, ліпідні медіатори, цитокіни та хемокіни, які значною мірою сприяють запаленню та ремоделюванню дихальних шляхів. Еозинофільна астма характеризується високим рівнем еозинофілів в індукваному мокротинні та периферичній крові. І хоча даний фенотип бронхіальної астми характеризують, як такий, що має сприятливий перебіг і хорошу відповідь на протизапальну терапію інгаляційними глюкокортикостероїдами, останнім часом з'являється все більше наукових робіт щодо тяжкої еозинофільної астми [93,94].

Нейтрофільний тип запалення асоціюється з накопиченням нейтрофілів у слизовій оболонці дихальних шляхів, що сприяє їх тривалому звуженню. Кількість нейтрофілів підвищена через посилення хемотаксису та зниження апоптозу, останній відбувається раніше, ніж у еозинофілів, що призводить до нейтрофільного запалення дихальних шляхів. Нейтрофіли можуть виробляти еластазу, мієлопероксидазу, нейтрофільні позаклітинні пастки, хемокіни та цитокіни, які беруть участь у виникненні та розвитку астми. Цей ендотип пов'язаний із резистентністю до кортикостероїдів, загостреннями астми, обмеженням швидкості повітряного потоку і дисбіозом дихальних шляхів. Хоча нейтрофільну астму діагностують лише у 5%-20% випадків, вона споживає понад 50%-80% медичних ресурсів, пов'язаних з астмою, і характеризується вищими показниками госпіталізації та смертності [91,95]. Коли переплітаються нейтрофільний та еозинофільний механізми розвитку запалення, можна говорити про змішаний фенотип БА [96].

Пауцигранулоцитарна астма є найлегшою формою астми, що характеризується переважанням макрофагів. Вона характеризується рівнем еозинофілів у мокротинні <1%-3% і рівнем нейтрофілів у мокротинні <60%. Точні характеристики і патобіологію пауцигранулоцитарної астми до кінця не вивчено. В деяких випадках вона, мабуть, є попереднім еозинофільним

фенотипом із хорошою відповіддю на протизапальне лікування, а в інших залишається неконтрольованою і пацієнти відчують астматичні симптоми і загострення, незалежно від низького ступеня запалення дихальних шляхів [97,98].

Загально відомо, що бронхіальна астма - це хронічне запальне захворювання дихальних шляхів [2]. Запалення при БА має системний характер, що проявляється порушенням метаболізму оксиду азоту, окислювальним стресом, дисфункцією ендотелію, продукцією цитокінів [99]. Одну з надважливих ролей у запаленні відіграє кисень, зокрема його нестача. Гіпоксія і запалення взаємопов'язані на молекулярному, клітинному і клінічному рівнях. Дефіцит кисню впливає на хід патологічного процесу [100].

Наслідком нестачі достатньої кількості кисню є біоенергетична криза всередині клітин, що, може призвести до клітинного некрозу. Некроз неспецифічно сприяє запальному процесу за рахунок викиду внутрішньоклітинного вмісту в навколишній простір. Таким чином, ступінь гіпоксії, яку спостерігається у вогнищі імунологічної активності (імунологічній ніші), визначатиме ступінь подальшого впливу на функцію імунних клітин. Вплив гіпоксії на пошкоджені тканини може призвести до дисфункції тканин і розвитку захворювання через порушення регуляції імунних клітин [101].

Гіпоксія характерна і для патології бронхолегеневої системи, зокрема для БА, та може призводити до метаболічної активності, вивільнення цитокінів, порушувати процес фагоцитозу [102]. Обидва процеса, гіпоксія та запалення, створюють замкнуте коло, тобто взаємопідтримують та взаємостимулюють один одного [102].

Достеменно відомо, що у хворих з середньотяжким та тяжким ступенем бронхіальної астми з неконтрольованим перебігом наявною є хронічна гіпоксія, яка з часом набуває прогресивного перебігу [103,104].

Хронічна гіпоксія призводить не тільки до ремоделювання дихальних шляхів, пошкодження ендотелію легень, але і до порушення функцій інших органів і систем [105,106].

Гіпоксія не є єдиним механізмом пошкодження, але звісно відіграє важливу роль у порушенні функціонування імунної системи, які є першочерговим факторами загострення БА.

#### **1.4. Імунологічний дисбаланс у хворих з бронхіальною астмою**

Формування хронічної патології призводить до трансформації імунної системи, це відіграє важливу роль в процесі регуляції клітинного гомеостазу, асоціюючи тип імунної відповіді з одним із варіантів активації лімфоцитів з переважною участю клонів Th-1 або Th-2-го типу [107]. Імунологічні механізми, що лежать в основі алергічного захворювання, являють собою експресію опосередкованих Т-лімфоцитами відповідей на загальні алергени довкілля, які зміщені у напрямку Т-лімфоцитів з активністю хелперів-2 (Th-2). Лімфоцити Th-2 вивільняють цитокіни (IL 4, IL-5, IL-9 та IL-13), що запускають синтез імуноглобуліну-Е (IgE), антитіл, які створюють умови для виникнення алергії та активують запальні клітини ( еозинофіли) [107]. Тобто, лімфоцити Th-2 вивільняють пептидні регулювальні фактори (цитокіни), як-от інтерлейкіни (IL) 4, IL-5, IL-9 та IL-13, що запускають вироблення імуноглобуліну-Е (IgE), антитіл, які сприяють алергії, та активують запальні клітини, як-от еозинофіли. Регуляція цього процесу досягається за рахунок Т-хелперів-1 (Th-1) лімфоцитів, які генерують цитокіни (IFN-gamma), що пригнічує активність Th-2. У той же час IL-4 пригнічує функцію Th-1. Група регуляторів Т-лімфоцитів пригнічує активність як Th-1, так і Th-2 шляхом міжклітинного контакту, або за рахунок вироблення трансформуючого фактору росту і IL-10. Опираючись на це, цілком імовірно, що або надмірна експресія активності Th-2, або порушення контролю з боку Th-1, або Т-

регуляторної функції призведе до вищої ймовірності розвитку алергії та алергічного запалення [108].

Порушення імунного балансу у хворих на БА за рахунок клітинного та гуморального механізмів у результаті призводить до запального процесу. Також, не останню роль в патогенезі запалення відіграє вроджений імунітет, де основними ефекторними клітинами є еозинофіли, опасисті клітини, макрофаги та базофіли. Ця група клітин бере участь у різних патологічних станах, активуючись і накопичуючись у вогнищі запалення, де вони продукують широкий спектр хімічних медіаторів запалення та цитокінів [109,110].

### **1.5. Сучасний погляд на ендотеліальну дисфункцію при бронхіальній астмі**

Хронічне запалення негативно впливає на ендотелій судин, систему згортання крові, систему комплементу, та інші [21].

Ендотелій-це більше ніж бар'єр між сполучною тканиною, кров'ю і повітрям. Ендотеліальні клітини (ЕК) є центральними та активними частинами двох основних систем організму-імунної та судинної [111]. Функції ЕК унікальні: проникність, тонус судин, керування транспорту речовин з крові в підлеглі клітини і тканини, клітинну адгезію, проліферацію гладком'язових клітин, ангіогенез і запалення судинної стінки. ЕК здатні реагувати на фізичні та хімічні пошкодження, шляхом продукції широкого спектра чинників, що регулюють ці процеси [112].

На сучасному етапі науковці приділяють особливу увагу як ендотеліальній дисфункції в механізмі розвитку та прогресування хронічних хвороб, серед яких є і бронхіальна астма, так і виникненню віддалених наслідків пошкодження ендотелію.

Виникнення різних патологічних станів (пошкодження/запалення) супроводжується швидкою реакцією ендотелію, сприяючи тромбоутворенню, проліферації та ремоделюванню судинної стінки, що має значний вплив на прогресування серцево-судинної патології [113].

Порушення функції ендотелію має місце при різних захворюваннях, а саме: атеросклероз, артеріальна гіпертензія, гіперхолестеринемія, хронічна серцева недостатність, цукровий діабет, ревматичні хвороби, а також при інфекційному ендокардиті, що є однією з головних причин кардіоваскулярних ускладнень захворювань [114-116].

Важливу роль ендотеліальні клітини також відіграють для функціонування бронхо-легеневої системи. Судинне русло легень є найбільшим судинним руслом в організмі людини, а його площа сягає  $120 \text{ м}^2$  [111]. Ендотелій покриває систему цих судин і утворює суцільний напівпроникний бар'єр між кров'ю і тканиною. Ендотеліальні клітини легень є важливим компонентом газообмінного апарату альвеол [117].

Ендотелій легень безупинно піддається впливу факторів зовнішнього середовища. ЕК легень, як життєво важлива частина дихальної системи, відіграє центральну роль у патогенезі ряду гострих і хронічних захворювань трахео-бронхіального дерева: гострому респіраторному дистрес-синдромі, хронічній обструктивній хворобі легень, легеневого фіброзі, пневмонії, автоімунних станах, легеневої гіпертензії та інші [118]. Ендотелій легневих судин бере участь у більшості гострих і хронічних захворюваннях легень або в якості первинного чинника цих хворобливих процесів, або як результат побічного ушкодження. Основними ознаками легеневої ендотеліальної дисфункції є підвищена проникність, що може проявлятися просочування судин та утворення набряку; порушенням балансу між вазоконстрикцією та вазодилатацією; набуттям прозапального фенотипу з підвищеною експресією молекул адгезії для рекрутування запальних клітин; підвищеною активацією прозапальних чинників транскрипції; вивільненням медіаторів запалення й окиснювальним стресом; протромботичним фенотипом; проліферативним і

антиапоптоичним фенотипом; неправильним сполученням зі стінками сусідніх судин.

ЕК, завдяки своїй стратегічній локалізації між кровотоком і легеневою тканиною, відіграють ключову роль в оптимізації газообміну, контролі цілісності й функції бар'єра, регуляції тонуусу легневих судин. Ендотелій легень працює як динамічна та активна рецепторно-ефекторна тканина і реагує на різні стимули (хімічні, фізичні або механічні), виділяючи правильні речовини, які в свою чергу, допомагають підтримувати вазомоторний баланс і судинно-тканинний гомеостаз.

Ендотелій легень у стані спокою створює антитромботичну, протизапальну поверхню, яка сприяє кровотоку. Однак виникнення пошкодження чи запалення ендотелію сприяє тромбоутворенню та уможлиблюючи спрямовану трансміграцію запальних клітин, а ще призводить до збільшення проникності ліпопротеїнів і порушення ліпідтранспортної системи загалом [120]. Дефект судинної стінки є важливою початковою ланкою у безперервному розвитку патології – від факторів ризику до розвитку патологічного стану та смертельного виходу. Запалення призводить до активації ендотеліальних клітин, які являються активними учасниками і регуляторами запального процесу.

За даними літератури, маркерами виявлення ендотеліальної дисфункції можуть слугувати прозапальні та протизапальні цитокіни [121,122]; вазоконстриктори (ендотелін-1, ангіотензин II та інші) і вазоділятатори (оксид азоту, простагландин 12, брадикінін та інші) [123, 124].

Одним з таких маркерів є фактор Віллебранда [125,126 ]. Плазмований мультимерний глікопротеїн фон Віллебранда (ФВ) може синтезуватися ЕК і зберігатися в характерних ендотеліальних ультраструктурних утвореннях – тільцях Вейбеля-Паладе, та синтезуватися мегакаріоцитами і локалізуватися в  $\alpha$ -гранулах тромбоцитів. При пошкодженні ЕК вивільняють ФВ за допомогою вазоактивних агентів ( брадикінін, гістамін, вазопресин, тромбін), які підвищують рівень цитоплазматичного  $Ca^{2+}$  та активують протеїнказу

С. Під час цього процесу тільця Вейбеля-Паладе зливаються з плазматичною мембраною і вивільняють фактор Віллебранда [112]. Саме тому, будь-які зміни стану ендотелію судин проявляються миттєвою зміною концентрації фактору фон Віллебранда в плазмі крові [26].

### **1.6. Роль цитокінів при хронічному алергічному запаленні**

При хронічному запаленні, яке лежить в основі БА, вивільняються різні біологічно активні речовини, які впливають на функцію дихальних шляхів [50,127]. Науковці віддають важливу роль порушенню цитокінового профілю у розвитку алергійного запалення бронхо-легеневої системи [50, 99, 128].

У першу чергу починають синтезуватися прозапальні інтерлейкіни (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , GM-CSF). Протизапальні інтерлейкіни (IL-4, IL-10, IL-13, TGF-b) синтезуються пізніше. Поява протизапальних інтерлейкінів вказує на наявність хронічного запального процесу, який призводить до ремоделювання дихальних шляхів з гіперплазією гладких м'язів бронхолегеневої системи.

В основі патогенезу БА лежить визнання провідної ролі IgE-опосередкованих алергічних реакцій, які призводять до розвитку алергічного запалення. Підвищена продукція IgE В-лімфоцитами є наслідком проліферації та активації Th2-клона алергоспецифічних Т-лімфоцитів [129].

Т-лімфоцити диференціюються на дві взаєморегулюючі підмножини: клітини Th1 та клітини Th2.

Клітини Th1 секретують інтерлейкін-2 (IL-2) та інтерферон-гамма і регулюють такі клітинно-опосередковані імунні відповіді, як гіперчутливість уповільненого типу. Клітини Th2, що секретують інтерлейкін-4 (IL-4), сприяють гуморальним імунним відповідям, зокрема продукції IgE. Надмірна активність Th1-клітин чи Th2-клітин може призвести до аутоімунного захворювання, що пошкоджує тканини [130,131].

IL-4 є центральним цитокином при алергійному запаленні [132]. Він розглядається одним з головних протизапальних цитокінів котрий регулює диференціювання В-клітин та сприяє підвищенню секреції IgE, накопиченню еозинофілів у периферичній крові, скеровує диференціацію Т-лімфоцитів у Т-хелпери 2-го типу (Th2-хелпери) [133-135]. З іншого боку IL-2, який один із перших долучається до запального процесу. Відомо що IL-2-індукована передача сигналів під час праймування Th2-клітин необхідна для підтримки підвищеної продукції IL-4 і підвищеної чутливості до IL-4, що дає змогу створити IL-4-позитивну петлю ампліфікації зі зворотним зв'язком, яка зберігає фенотип клітин Th2 [32]. Дослідження демонструють, що IL-4 та IL-2 можуть взаємодіяти між собою, використовуючи одні й ті самі білки STAT, щоб або посилювати, або заважати один одному, формуючи інший результат, тим самим демонструючи важливість розуміння того, що цитокіни можуть впливати один на одного [136].

Відомо, що  $\gamma$ -інтерферон є єдиним представником II типу інтерферонів зі специфічною, вираженою противірусною активністю [134,137], хоча є дослідження, що підтверджують продукцію В-лімфоцитами  $\gamma$ -інтерферону у відповідь на бактеріальні інфекції, сприяючи активації макрофагів [135]. Крім цього  $\gamma$ -інтерферон має властивість до інгібування секреторної активності Т-хелперів 2 класу.

Незважаючи на розуміння механізмів розвитку БА, залишається багато питань щодо цитокинового профілю та стану ендотелію у хворих на бронхіальну астму. Особливо актуальним залишається діагностика та запобігання формування важкого перебігу захворювання. Це вимагає продовження пошуку нових біомаркерів діагностики БА.

## **Висновки до розділу 1.**

Діагностика БА у дітей продовжує залишатися актуальною проблемою. Це обумовлено розповсюдженістю алергійної патології та

гострих обструктивних синдромів в ранньому віці, складністю встановлення діагнозу у пацієнтів віком до 6, різноманітністю факторів та механізмів щодо формування БА та інше. Питання механізмів патогенезу та запалення при БА залишається маловивченим і потребує подальшого наукового пошуку. Вивчення стану ендотелію, а саме оцінка ступеня запалення, використовуючи дисбаланс цитокінів та ФВ, може надати додаткову інформацію стосовно розвитку патологічного процесу та його прогресування. Представлені дані, свідчать про важливість та багатоплановість ролі порушення функціонального стану ендотелію судин у формуванні хронічного алергічного запального процесу. Неоднозначну роль у прогресуванні БА відіграють інтерлейкіни. Цікавість викликає не тільки окремо взяті цитокіни, а й їх співвідношення. Вивчаючи літературні дані не виявлено наукових робіт, які б чітко відображували всі ланки механізма формування ендотеліальної дисфункції при БА у дітей. Це спонукало нас провести це дослідження.

## РОЗДІЛ 2

### ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводилися впродовж 2020-2023 рр. в умовах пульмонологічного відділення КНП «Міської клінічної дитячої лікарні № 16», що є клінічною базою кафедри педіатрії №2 Харківського національного медичного університету та на базі центральної науково-дослідної лабораторії Харківського національного медичного університету, а також науково-дослідницького інституту експериментальної та клінічної медицини Харківського національного медичного університету.

#### 2.1. Дизайн дослідження

Набір дітей, що приймали участь у дослідженні, проводився з вересня 2020 року по січень 2021 року в умовах пульмонологічного відділення КНП «Міської клінічної дитячої лікарні № 16» ХМР базі кафедри педіатрії №2 Харківського національного медичного університету.

Дослідження було поздовжнім когортним.

До дослідження була залучена 81 дитина (48 хлопчиків та 33 дівчинки) віком від 5 до 17 років, з встановленим діагнозом персистуюча бронхіальна астма (БА), частково контрольована, в періоді загострення, яка надходила на лікування до стаціонару. Хворих з бронхіальною астмою було розділено на 3 групи, в залежності від тяжкості захворювання. Перша група – це хворі з легким персистуючим перебігом БА (n=59), друга група – з середньотяжким перебігом (n=10), третя група – з тяжким перебігом захворювання (n=12).

До дослідження були залучені пацієнти, тривалість клінічних проявів у яких не перевищувала 1-2 доби та при наявності в них задишки, кашлю, аускультативних даних обструкції дихальних шляхів.

Дітей було відібрано згідно критеріїв включення та виключення.

Критерії включення: діти віком від 5 до 17 років з встановленим діагнозом бронхіальна астма, персистуюча легка, середньої тяжкості, тяжка (2 – 4 ступенів важкості), частково контрольована, в періоді загострення (за GINA- 2020); на 1-2 добу загострення; діти, в яких підписана згода обома батьками, а при досягненні 14 років і самими пацієнтами.

Критерії виключення: діти віком молодше 5 років; діти віком до 17 років, батьки яких не дали письмової згоди на проведення дослідження; пацієнти віком 14 років та старше без письмової згоди на проведення дослідження; пацієнти з гострим бронхітом простим, гострим обструктивним бронхітом, інтермітуючою бронхіальною астмою, пневмонією; пацієнти з діагнозом бронхіальна астма в періоді ремісії та контрольованою БА; з підтвердженою внутрішньоклітинною інфекцією (*Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, toxocariasis); з вродженими і хронічними серцево-легеневими або неврологічними захворюваннями; спадковими захворюваннями, що призводять до змін у функціонуванні дихальних шляхів, у тому числі кистозний фіброз; доведена імунна недостатність; хворі з тяжким соматичним станом та декомпенсацією вітальних функцій; підозрюване або підтверджене захворювання шлунково-стравохідного тракту; хворі з новоутвореннями будь-якої локалізації; вагітні дівчата, хвороба Віллебранда.

Усім дітям проводилось обстеження та лікування згідно протоколів лікування дітей із БА № 868 від 08.10.2013 р. «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при бронхіальній астмі». Окрім стандартних методів обстеження було проведено анкетування для виявлення несприятливих анамнестичних чинників.

До групи контролю було включено 13 практично здорових дітей, подібних за віком та статтю, які зверталися до медичного закладу для планового обстеження чи вакцинації. Ці діти не мали скарг, клінічних та

лабораторних ознак будь-якого захворювання впродовж останніх 3 місяців та не мали хронічних захворювань.

Комісією з біоетики Харківського національного медичного університету (протокол №6 від 02.10.2019) схвалено, що дане дослідження відповідало етичним принципам медичного дослідження, які проводяться на людях. Робота була проведена відповідно до вимог Європейської конвенції по захисту хребетних тварин (Страсбург, 18.03.1986), директиви Ради Європейського економічного товариства по захисту хребетних тварин (Страсбург, 24.11.1986), закону України «Про лікарські засоби» (ст. 7,8,12, 1996), настанови ІСН GCP (2008), GLP (2002), «Порядку проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань» та «Типового положення про комісію з питань етики», затверджених наказами МОЗ України № 523 від 12.07.2012 та № 616 від 03.08.2012.

Дослідження виконувалося з мінімальними психологічними втратами з боку пацієнтів. Батьки пацієнтів отримали вичерпну інформацію щодо методів та об'єму досліджень.

## **2.2. Методи дослідження**

### **2.2.1. Методи верифікації діагнозу та методики стандартних обстежень при бронхіальній астмі**

Основним методом верифікації діагнозів було вивчення клінічних та анамнестичних даних, згідно рекомендаціям GINA 2020 та протоколів лікування дітей із БА № 868 від 08.10.2013 р. «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при бронхіальній астмі» [2,138].

Пацієнти проходили базисне лікування бронхіальної астми відповідно до прийнятих рекомендацій GINA 2020 [ 2 ].

Діти, які мали бронхіальну астму, персистуючу легку ( 2 ступінь тяжкості), частково контрольована в періоді загострення, загострення легкого ступеня важкості, отримували терапію згідно 2 кроку GINA (низькі дози ІКС та  $\beta$ 2-агоністи короткої дії (за потреби)) [ 2].

Діти з бронхіальною астмою, персистуючою середньої тяжкості ( 3 ступінь тяжкості), частково контрольована в періоді загострення, загострення легкого ступеня важкості, отримували лікування згідно 3 кроку GINA (комбіновані препарати (низькі дози ІКС/  $\beta$ 2-тривалої дії) та  $\beta$ 2-агоністи короткої дії (за потреби)) [ 2 ].

Діти, які переносили бронхіальну астму, персистуючу тяжку ( 4 ступінь тяжкості), частково контрольована в періоді загострення, загострення легкого ступеня важкості, отримували лікування згідно 4 кроку GINA (комбіновані препарати (середні дози ІКС/  $\beta$ 2-тривалої дії) та  $\beta$ 2-агоністи короткої дії (за потреби)) [ 2 ].

Всі пацієнти отримували базисну терапію протягом 2-3 місяців, але контроль захворювання не був досягнений.

Для оцінки контролю використовували діагностичні тести - с-АСТ, з урахуванням віку дітей. Тест для дітей віком від 4-11 років та від 12 років та підлітки [2,139,140 ]. Згідно отриманим результатам та критеріям GINA мала місце частково контрольована БА (позитивними були 2 критерії).

Було проведене ретельне вивчення анамнестичних даних, а саме: особливості перебігу вагітності (загроза переривання вагітності у різні триместри, наявність гострих або загострення хронічних захворювань респіраторного тракту у матерів під час вагітності, наявність гестозу, прееклампсії, анемії), також враховувалися час та спосіб пологів (передчасні пологи, пологи шляхом операції кесарева розтину або природнім шляхом), наявність асфіксія під час пологів, проведення ШВЛ в періоді новонародженості, тривалість природнього вигодовування (раннє штучне вигодовування), наявність закрепів (на першому році життя), старт епізодів БОС (на першому році життя чи після), наявність та дебют супутніх

алергійних захворювань (АД та АР), обтяжений сімейний анамнез щодо алергійних станів, строки встановлення діагнозу бронхіальна астма та частота загострень. Також приділялась увага соціально – побутовому анамнезу, а саме: проживання тварин в оселі, наявність тютюнопаління в родині. Вивчення анамнезу проводилось завдяки опиту батьків та хворих.

Дітям проводилось фізикальне обстеження з оцінкою фізичного розвитку, яка була виконана згідно класифікації ВООЗ із розрахунком індексу маси тіла (індекс Кетле) в модифікації Qutelet за наступною формулою: маса тіла (кг)/зріст (м<sup>2</sup>).

Клінічні дослідження крові та сечі виконувались за загальноприйнятими методиками (В.Е. Предтеченський, 1960) та з використанням гематологічного аналізатора ВС-5500 методом вимірювання фотометричним з використанням лазерної технології та кондуктометрично.

Для ідентифікації патогенної мікрофлори проводили мікробіологічне обстеження зіву. Здійснювали засів на тверді та рідкі середовища з наступним виділенням збудника (Метод: бактеріологічний, ручний. Діапазон вимірювань:  $10^3$  -  $10^8$ . Одиниця виміру: Колонієутворюючих одиниць на грам).

При імунологічному обстеженні досліджувався стану клітинної, гуморальної ланок імунітету та фагоцитозу. Визначення субпопуляції Т- і Влімфоцитів (CD3, CD4, CD8, CD16, CD22) в абсолютних та відносних величинах проводилося за допомогою діагностикума «НВЛ Гранум» (Україна). Рівні IgA, IgM, IgG сироватки крові визначалися методом G.Mancini та співавт.(1965), циркулюючі імунні комплекси (ЦІК) визначали за методом V.Naskova (1978). Показники фагоцитозу (нейтрофіли фагоцитуючі, фагоцитарне число та індекс активності нейтрофілів) досліджували за принципом здатності поліморфноядерних лейкоцитів та моноцитів периферичної крові пов'язувати на своїй поверхні, поглинати і перетравлювати мікробну тест-культуру, NSTтест - за Стюарт (1975) в модифікації Б.С. Нагоева (1983). Рівень мієлопероксидази (МП) за Грехем

Кноль (1974), лізосомально-катіонних білків (ЛКБ) за М.Г.Шубич (1974). Рівень загального IgE у сироватці крові визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу.

### **2.2.2. Методика виявлення рівнів активних форм кисню (АФК), які напрацьовані гранулоцитами та відсоток некротизованих гранулоцитів у лейкоцитарній суспензії**

#### Забір зразків крові та приготування лейкоцитарних суспензій.

Зразки крові відбирались під час рутинного обстеження дітей до проведення терапії (1-2 доба від появи клінічних ознак бронхообструкції). Матеріал - кров відбиралась у ранкові години з 7 до 9 години ранку, натще (приблизно 12 годин голодування), при мінімальній фізичній активності безпосередньо перед взяттям (протягом 20-30 хв), в положенні пацієнта, лежачи або сидячи.

Рука пацієнта лежала на твердій поверхні, була витягнута і нахилена трохи вниз так, щоб плече та передпліччя утворювали пряму лінію, у момент взяття крові кулак пацієнта був розтиснутий. Джгут накладався не більше ніж на 1-2 хвилини(тим самим забезпечувався мінімальний стаз, при якому клітини крові не ушкоджуються).

Місце венепункції дезінфікували марлевою (безворсовою) серветкою, змоченою 70° спиртом, та чекали до повного висихання антисептика (30-60 секунд).

Зразки крові пацієнтів та контрольних суб'єктів, які брали участь у дослідженні, були зібрані у стерильні вакууматори K2EDTA (IMPROVACUTER Evacuated EDTA K2 Spray DET Tubs, Гуанчжоу, Китай). Обсяг взятої крові відповідав зазначеній відмітці на пробірці. Відразу після заповнення пробірки кров'ю до вказаного на ній обсягу пробу обережно перемішали плавним перевертанням та обертанням пробірки протягом не

менше 2 хвилин (перевертання 8-10 разів). Відібрані зразки розташовували у вертикальному положенні. При транспортуванні та зберіганні зразків дотримувався температурний режим (18-23°). Протягом двох годин після збору зразків їх використовували для отримання суспензій лейкоцитів.

Коротко, 50 мкл крові лізували за допомогою робочого розчину BD Pharm Lyse™ Lysing Buffer (Becton, Dickinson and Company, BD Bioscience, Сан-Хосе, Каліфорнія, США).

Рівні АФК оцінювали в гранулоцитах з використанням фарбування H2DCFDA.

Суспензії лейкоцитів фарбували ROS-чутливим барвником 2', 7'-дихлордигідрофлуоресцеїнадіацетатом (H2DCFDA, Invitrogen™, США). Його 10 мМ вихідний розчин у диметилсульфоксиді (DMSO, Sigma-Aldrich, США) був використаний для приготування робочого розчину в PBS. Робочий розчин додавали до суспензій лейкоцитів (10 мкМ). Інкубація з H2DCFDA тривала півгодини в темряві. Одночасно до зразків додавали 10 мкл 7-аміноактиноміцину D (7AAD). Цей барвник використовується для того, щоб відрізнити життєздатні від нежиттєздатних клітин, оскільки він може проникати всередину клітин лише при порушенні цілісності клітинної мембрани. 7AAD стає флуоресцентним при зв'язуванні з ДНК. Таким чином, нежиттєздатні клітини мають 7AAD-позитив.

#### Збір даних та аналіз після збору

Популяція гранулоцитів була розподілена за допомогою програмного забезпечення BD FACSDiva™ (Бектон Дікінсон, США) на основі розсіювання вперед та збоку. Після цього область життєздатних 7AAD-негативних гранулоцитів була закрита на основі флуоресценції 7AAD, отриманої в каналі FL3.

Відомо, що H2DCFDA перетворюється на флуоресцентний дихлорфлуоресцеїн (DCF) після розщеплення естеразами всередині клітин і

подальшої взаємодії з АФК. Флуоресценція DCF у життєздатних 7-AAD-негативних гранулоцитах була виявлена в каналі FL1 за допомогою аналізатора клітин BD FACSCanto™ II (BD Biosciences, США). Відомо, що флуоресценція DCF пропорційна внутрішньоклітинному рівню АФК. Для оцінки внутрішньоклітинних рівнів АФК середню інтенсивність флуоресценції (MFI) флуоресценції DCF у 7AAD-негативних гранулоцитах порівнювали між групами.

### **2.2.3. Методи оцінки стану ендотеліального компоненту**

Зразки крові відбирались на 1-2 добу, від початку появи клінічних проявів загострення БА, до проведення терапії та під час рутинного обстеження дітей. Матеріал (кров) відбирався у ранкові години, натще, шляхом проведення венепункції. Центрифугування для отримання сироватки крові проводилось на 2000-2500 об/хв. впродовж 15-20 хв. Для відбору сироватки крові використовувались пробірки без наповнювачів. Після центрифугування матеріали розміщували в одноразові пробірки та зберігались при температурі  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Дослідження ФВ проводилося імуноферментним методом з використанням набору Human VWF (Von Willebrand Factor) ELISA Kit, номер каталогу: A-8752 на імуноферментному аналізаторі Stat Fax 303 plus.

### **2.2.4. Методи оцінки стану цитокінового профілю**

Матеріал (кров) відбирався одномоментно з іншими дослідженнями (стандартними та специфічними), які були заплановані в даній науковій роботі. Центрифугувалась кров, для отримання сироватки, на 2000-2500 об/хв. впродовж 15-20 хв. Для відбору сироватки крові використовувались пробірки без наповнювачів. Після центрифугування матеріали розміщували в одноразові пробірки та зберігались при температурі  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Дослідження ІЛ-2, ІЛ-4, ІFN $\gamma$  проводилося імуноферментним методом з використанням наборів ІЛ-2 - Interleukin-2 ELISA-BEST номер каталогу: А-8758, Human ІЛ-4, Vector Best-Ukraine, номер каталогу: А-8754, Human  $\gamma$ -interferon, Vector Best-Ukraine, номер каталогу: А-8752 на імуноферментному аналізаторі Stat Fax 303 plus.

### **2.2.5. Методи оцінки функції зовнішнього дихання**

Оцінку функції зовнішнього дихання проводили за методом спірографії за допомогою спірографічного комплексу «СпіроКом АІНЦ.941311.005І», виробництва Національного аерокосмічного університету «ХАІ» НТЦ радіоелектронних медичних приборів та технологій «ХАІ-Медика», Харків, Україна (ТУ У 33.1-02066769-005-2002).

Визначали та оцінювали наступні параметри:

ФЖЄЛ – форсована життєва ємність легень;

ОФВ1 – об'єм форсованого видиху за 1 сек;

Індекс ОФВ1/ФЖЄЛ (індекс Генслера, або модифікований індекс Тіффно) - відношення об'єму форсованого видиху за першу секунду до форсованої життєвої ємності легень.

МОШ25, МОШ50, МОШ75 – максимальні об'ємні швидкості ФЖЄЛ.

Отримані результати розраховували з урахуванням антропометричних показників.

Дослідження проводилося сертифікованим спеціалістом з функціональної діагностики. Пацієнти були забезпечені питною водою і паперовими рушниками. Перед початком обстеженням руки пацієнтів були продезінфіковані (щоб при контакті рук з елементами спірометра останні не стали джерелом передачі інфекції). Під час дослідження пацієнти знаходилися у тихому приміщенні, сиділи у кріслі без колішат зі спинкою і підлокітниками (профілактика падінню в разі неприємності), ноги пацієнтів спиралися на підлогу. Під час процедури спина була рівною, а голова дещо

піднятою. На ніс пацієнта безпосередньо перед початком обстеження надягався затискач. Пацієнту був пояснений та продемонстрований перебіг дослідження, проведено інструктаж про методику виконання маневру форсованого видиху.

На першому етапі дослідження досліджувалося спокійне дихання пацієнта: частота дихання у спокої, дихальний об'єм та хвилинний об'єм дихання. На другому етапі дослідження виконувалась проба з форсованим видихом (для визначення основних показників функціональної спроможності дихальної системи).

При проведенні дослідження, випадків виникнення тривожних симптомів (задишка, ціаноз або порушення свідомості) не було.

### **2.3. Методи статистичного аналізу**

Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою статистичних пакетів „EXCELL FOR WINDOWS”, програми StatSoft STATISTICA Версії 7 (Tulsa, OK) та статистичного програмного забезпечення MedCalc (версії 17.2). Для проведення тесту на відповідність розподілу вибірки (закону Гауса) було використано тест Шапіро-Вілка, а також вивчено гістограму і графік q-q. Для вибірок, у яких розподіл був відмінним від закону Гауса, визначали медіану (Me) та інтерквартильний розмах ( $Lq$  – нижній квартиль;  $Uq$  – верхній квартиль). Для порівняння якісних показників використовувався  $\chi^2$ , точний критерій Фішера. Для порівняння двох незалежних вибірок використовували непараметричний U-критерій Манна-Уїтні (MW). Різницю параметрів, що порівнювали за двома точками вважали статистично значущою при  $p < 0,05$ . При порівнянні показників, які характеризувалися порівнянням більше 2 точок, використовували H критерій дисперсійного аналізу Краскла-Уолліса (KW), а відмінності вважали вірогідними з врахуванням поправки Бонферроні (при  $p^{\wedge} = p/k$ , де k – кількість парних порівнянь). При порівнянні декількох груп із

загальним контролем поправку Бонферроні обчислювали за формулою  $p' = p/m-1$ , де  $m$  – число груп в експерименті. Оцінку зв'язку між рядами показників проводили за допомогою методів рангової кореляції Спірмана ( $r$ ). Для визначення зв'язку між якісними характеристиками застосовували критерій  $\chi^2$  Пірсона (точний критерій Фішера у випадку таблиць 2x2). За допомогою нормованого значення коефіцієнту Пірсона ( $C'$ ) проведено оцінювання сили зв'язку між обраними чинниками. Інтерпретацію одержаних значень статистичних критеріїв здійснено за рекомендаціями Rea & Parker. Проводили аналіз формування відносного ризику (RR) виникнення події, визначено 95% інтервал надійності. Побудова прогностичних кривих ROC аналізу будувалася для змінних із метою визначення оптимальних значень «відсікання» для прогнозування кінцевої точки. Статистичні значення «відсікання» розраховувались шляхом мінімізації відстані між точкою зі специфічністю = 1, чутливістю = 1 та різними точками на кривій ROC. При аналізі ROC, як що площа під кривою (AUC) дорівнювала 1,0, це вказувало на ідеальну дискримінацію, тоді як площа 0,5 - на те, що тест дискримінує не краще випадковості. Точка «відсікання» кожної змінної, чутливість, специфічність, коефіцієнт позитивної ймовірності (+ LR), коефіцієнт негативної ймовірності (-LR) цієї точки «відсікання» були отримані за допомогою Youden index. Для визначення найбільш надійного інструменту скринінгу серед цих чотирьох змінних було проведено попарне порівняння цих змінних шляхом визначення відмінностей між площею під кривою методом Hanley and McNeil.

Використані різноманітні статистичні методи й показники дозволили досить детально проаналізувати багато взаємозв'язків (чи їх відсутність) із високим ступенем статистичної значущості одержаних результатів. Логіка математично-статистичного аналізу, інтерпретація конкретних кількісних параметрів базувалися на загальноприйнятих положеннях медичної та біологічної статистики.

## 2.4. Схематичний дизайн дослідження

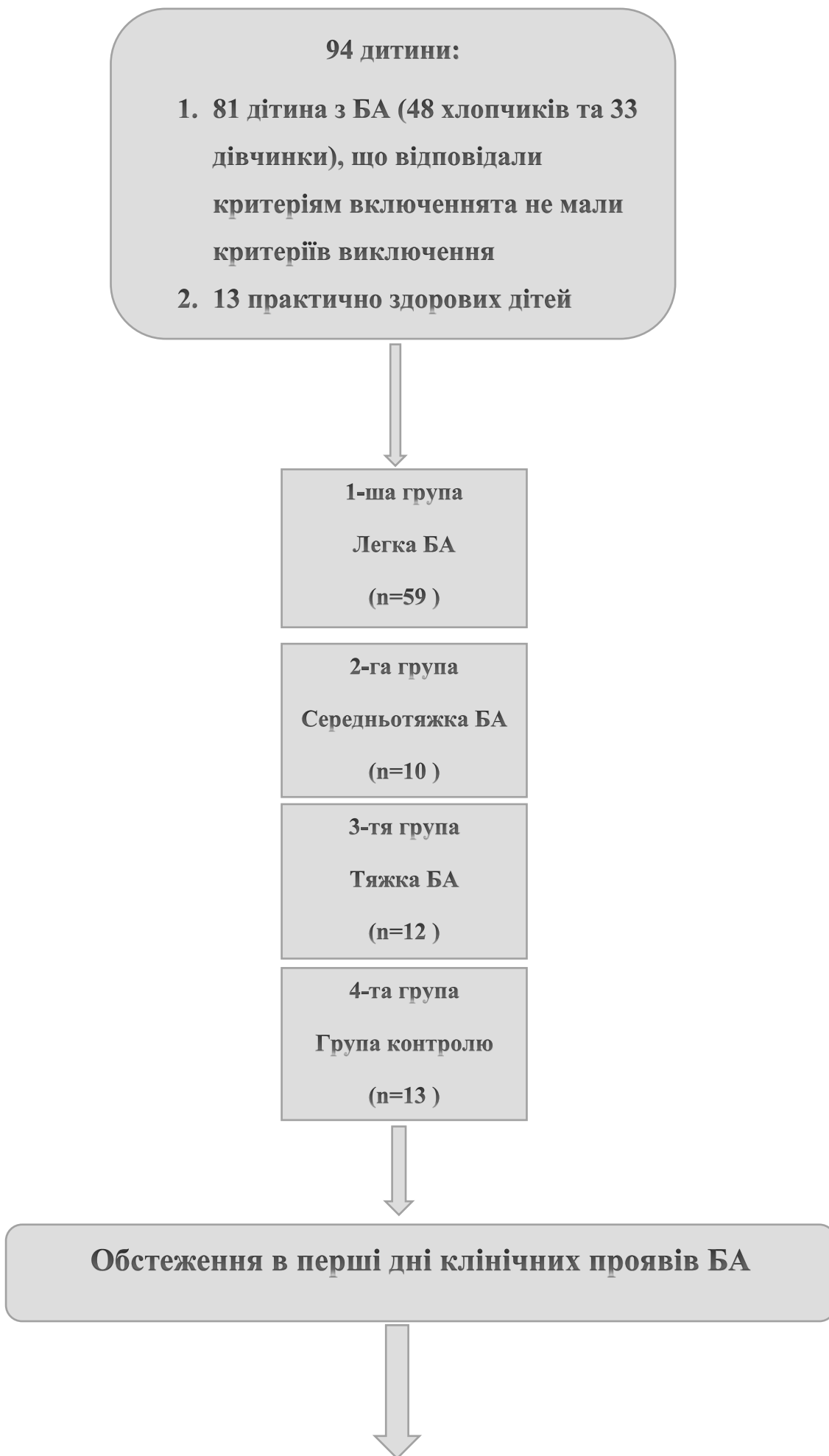
**81 ДИТИНА З БА**

```
graph TD; A[81 ДИТИНА З БА] --> B[Обстеження пацієнтів з використанням протоколів обстеження та лікування пацієнтів з БА № 868 від 08.10.2013 р. «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при бронхіальній астмі»]; B --> C[Анкетування та детальний збір анамнезу]; C --> D[Визначення відповідності критеріям включення]; D --> E[ ];
```

**Обстеження пацієнтів з використанням протоколів обстеження та лікування пацієнтів з БА № 868 від 08.10.2013 р. «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при бронхіальній астмі»**

**Анкетування та детальний збір анамнезу**

**Визначення відповідності критеріям включення**



**Проведення стандартних методів діагностики хворих з БА**

*Проведення специфічних методів діагностики БА*

- 1.Визначення рівнів ІЛ-2 у сироватці крові.
- 2.Визначення рівнів ІЛ-4 у сироватці крові.
- 3.Визначення рівнів  $\gamma$ -інтерферону у сироватці крові.
- 4.Визначення ФВ у сироватці крові
- 5.Визначення рівнів АФК у гранулоцитах крові.
- 6.Визначення відсотку мертвих некротизованих гранулоцитів у крові.
- 7.Визначення імунного статусу.
8. Оцінка функції зовнішнього дихання

**Статистична обробка даних  
дослідження**

## РОЗДІЛ 3

### КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ДІТЕЙ ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ

#### 3.1. Загальна характеристика хворих

З метою визначення клінічних особливостей бронхіальної астми (БА) на сучасному етапі був проаналізований клінічний матеріал 81 дитини з БА, віком від 5 до 17 років, із них 48 хлопчиків та 33 дівчинки.

Усім пацієнтам діагноз бронхіальної астми був встановлений респіраторним спеціалістом (пульмонологом або алергологом) на підставі клініко-анамнестичних даних, лабораторних та інструментальних досліджень з урахуванням вимог, регламентованих відповідним протоколом (наказ №868 МОЗ України від 08.10.2013р.) та рекомендаціями GINA (2020).

У обстеженні приймали участь тільки ті пацієнти, які на час дослідження мали прояви загострення бронхіальної астми тривалістю не більше двох днів.

Розподіл хворих за віком проведено з урахуванням періодизації дитячого віку (табл. 3.1).

Таблиця 3.1.

#### Розподіл пацієнтів за віком та статтю.

Вік		До 6 років 11 міс 29 днів		7 років – 11 років 11 міс 29 днів		12 років - 17 років 11 міс 29 днів		Усього	
		абс.	%	абс.	%	абс	%	абс	%
1-ша група n = 59	Дівчатка	5	45,5	10	45,5	8	30,8	23	39,0*
	Хлопці	6	54,5	12	54,5	18	69,2	36	61,0*
2-га група n = 10	Дівчатка	1	100,0	3	42,9	0	0	4	40*
	Хлопці	0	0	4	57,1	2	100,0	6	60*
3-тя група n = 12	Дівчатка	0	0	2	66,7	4	44,4	6	50*
	Хлопці	0	0	1	33,3	5	55,6	6	50*

Примітки (тут і далі в рисунках і таблицях): абс. - абсолютна кількість досліджуваних дітей; % - відсоток випадків у даній групі; \* - відсоток від загальної кількості у групі; n - кількість дітей у групі.

Було встановлено, що серед усіх хворих на бронхіальну астму, які приймали участь у дослідженні, переважають пацієнти середнього та старшого шкільного віку 69/81 (85,2%,  $p=0,0000$ ). Отримані нами результати дозволяють зробити висновок, що поширеність цієї патології переважає у хворих віком від 7 до 17 років серед загальної кількості хворих із БА. Це узгоджується з тезою, що БА у віковому аспекті найбільш поширена саме у шкільному віці [141].

Вивчаючи вікові закономірності серед досліджуваних нами дітей, зареєстровано статистично значуще зростання поширеності бронхіальної астми в дітей шкільного віку. Відмічено, що у всіх групах переважали діти середнього та старшого шкільного віку (в 1-ій групі – 81,4 %  $p=0,0001$ , в 2-ій групі – 90,0 %  $p=0,0000$ , в 3-ій групі – 100 %  $p=0,0000$ ).

При різних патологічних станах науково доведена наявність гендерних відмінностей. Різні періоди перебігу хвороби, а також ступінь тяжкості захворювання можуть асоціюватися з різним співвідношенням кількості чоловічої та жіночої статі. У ранньому віці це може бути обумовлено хромосомним набором, а в препубертатному та пубертатному періодах – впливом статевих гормонів.

З метою визначення статевих відмінностей серед хворих на БА, було проаналізовано питому вагу чоловічої та жіночої статі серед хворих усіх вікових періодів ( див.табл.3.1).

У загальній кількості пацієнтів виявлена достовірна різниця за статтю, кількісно переважала чоловіча стать 48/81 ( $p=0,0403$ ).

У першій групі обстежених була виявлена статистично значуща відмінність за статевим диморфізмом, за рахунок переважання хлопчиків 36/59 ( $p < 0,05$ ), у той же час в 2-ій та 3-ій групах статистично значущих відмінностей за статевою приналежністю не виявлено ( $p > 0,05$ ).

Проводячи пошук ймовірних джерел розвитку та прогресування БА ретельно проаналізований антенатальний період життя дітей ( табл.3.2).

Таблиця 3.2.

**Характеристика акушерського анамнезу матерів обстежених дітей,  
хворих на бронхіальну астму**

Дані анамнезу		Діти з бронхіальною астмою		
		Легка БА 1-ша група n = 59	Середньої тяжкості БА 2-га група n = 10	Тяжка БА 3-тя група n = 12
		абс (%)	абс (%)	абс (%)
1		2	3	4
Патологія ТБД у 1 половині вагітності	ГРЗ	11(18,6)	1(10)	2(16,7)
	Бронхіт	5(8,5)	-	1(8,3)
	Пневмонія	-	1(10)	1(8,3)
	Загострення БА*	4(6,8)	1(10)	2(16,7)
Патологія вагітності	Прееклампсія	2(3,4)	-	2(16,7)
	Гестоз	10(16,9)	2(20)	5(41,7)
	Загроза преривання вагітності	13(22)	3(30)	6(50)
	Анемія	6(10,2)	1(10)	3(25)
	Передчасні пологи	5(8,5)	1(10)	4(33,3)
Вплив тютюнопаління на організм вагітної жінки	Тютюнопаління матері під час вагітності	8(13,5)	3(30)	6(50)

Продовження таблиці 3.2.

	Пасивний вплив тютюнового диму на породілля	16(27,1)	2(20)	7(58,3)
Строк пологів	в строк	53(89,8)	9(90)	5(41,7)
	до 37 тижнів	5(8,5)	-	4(33,3)
	після 40 тижнів	1(1,7)	1(10)	3(25)
Маса тіла при народженні	<3000 гр	4(6,8)	2(20)	4(33,3)
	>4000 гр	3(5)	-	2(16,7)
Народжені з двійні/трійні		1(1,7)	-	2(16,7)
Пологи шляхом кесаріва розтинна		3(5)	1(10)	2(16,7)

Примітки: ТБД – трахіобронхіальне дерево; \* - загострення БА у матерів, які мали це захворювання в анамнезі; (%) - Частота патологічних чинників у % від загальної кількості обстежених у групі.

Особлива увага була приділена перебігу першого триместру вагітності у матерів – періоду закладки та розвитку легень та формування імунної системи плода. Виявлено, що 29/81 матерів (35,8 %) мали ту чи іншу патологію трахіобронхіального дерева на початку вагітності. Зафіксовано 14/81 (17,3%) випадків гострої респіраторної інфекції, без уточнення етіології, 6/81(7,4%) випадків гострого бронхіту простого та 2/81(2,5%) - пневмонії. Цікавим є той факт, що всі матері, у яких в анамнезі була бронхіальна астма, під час вагітності мали симптоми її загострення: кашель, хрипи, задишка 8/81(8,6%).

Статистично значущих міжгрупових відмінностей стосовно впливу респіраторної патології на формування респіраторного алергозу виявлено не було ( $p_{1-3} = 0,242$ ,  $p_{2-3} = 0,293$ ,  $p_{1-2} = 0,446$ ), але привертає увагу її досить високий рівень у групах (від 30% до 50%), це може бути розглянуто і як причиною, і як наслідком формування патології легень.

Виявлено, що в 67,9% матерів відзначався патологічний перебіг вагітності та/або пологів. У 61,9% матерів з обтяженим акушерським анамнезом несприятливі чинники впливали на плод в першій половині вагітності: преєклампсія 4/81 (5%), гестоз 17/81 (21%), загроза переривання вагітності 22/81 (27,1%), анемії 10/81 (12,3%). Опираючись на ці данні, можна припустити, що вплив хронічної гіпоксії на плід вже на ранніх строках вагітності, вірогідно впливає на процес формування та фізіологічного дозрівання легень.

Серед можливих чинників ризику формування БА також були розглянуті наступні: передчасне народження 10/81 (12,3%), шлях народження - кесарів розтин 6/81(7,4%), народження з двійні/трійні 3/81 (3,7%). Отримані нами дані співпадають з науковими дослідження останніх років [85].

Ще одним важливим чинником ризику формування БА наукова спільнота вважає вплив тютюнового диму на вагітну жінку, не тільки в аспекті шкідливої звички майбутньої матері, але й пасивний вплив тютюнового диму на неї. Серед матерів, обстежених нами дітей 17/81 (21%) продовжували курити під час вагітності, та на 25/81 (31%) тютюновий дим мав пасивний вплив [ 142 ].

У 18/81 (22%) дітей мала місце асфіксія під час народження, причому в 3 пацієнтів вона була тяжкого ступеня і потребувала використання ШВЛ. Ці прояви асфіксії були розцінені, як результат патологічного перебігу вагітності та пологів. Різноманітні наукові праці підтверджують безумовний вплив перебігу перинатального періоду на становлення функції та систем дитини, у тому числі й формування БА [ 143 ].

У результаті аналізу анамнестичних даних стало відомо, що 10 (12,3%) дітей народилися з низькою масою і 5 (6,2%) - із вагою, яка перевищує 4000 кг. Достовірної різниці за цього показника між групами обчислено не було, але найбільш часто відхилення ваги від норми (в той чи інший бік) зустрічалися серед хворих з тяжким ступенем БА.

Усі ці зміни та патологічні впливи, які відбуваються в пренатальному періоді, можуть призвести до віддалених наслідків, які можуть проявитися впродовж усього подальшого життя новонародженої дитини. Даний феномен має назву «пренатального програмування хронічних хвороб дорослих» [144 ].

Було розглянуто деякі чинники, які впливають на здоров'я новонародженої дитини та відіграють не останню роль у формуванні патології респіраторного тракту. Одним із таких чинників є природне вигодовування. Виявлено, що лише 28/81 (34,6%) обстежених дітей отримувала грудне молоко до 1 року. Більшість дітей 53/81 (65,4%,  $p=0,0037$ ) знаходилась на ранньому штучному вигодовуванні, в тому числі 21/81 (26,0%) були переведені на суміш у віці 1-3 місяців. При порівнянні кількості випадків раннього штучного вигодовування (до 3 місяців) між групами, виявлено статистично значуще збільшення таких серед пацієнтів із тяжким ступенем БА ( $p_{1-3}=0,0542$ ). Важливу роль у формуванні респіраторних алергозів науковці відводять порушенню мікробіоти кишківника, одним із клінічних проявів якого є схильність новонароджених до закрепів. Серед обстежених дітей 23/81 (28,4%) мали проблеми з дефекацією у віці до 1 року, що узгоджується з літературними даними [145]. Слід зазначити, що частота скарг на закреп у дітей з тяжкою астмою статистично значуще відрізнялася від відповідних ( $p_{1-3}=0,0211$ ,  $p_{2-3}=0,293$ ,  $p_{1-2}=0,2722$ ) із легкою та астмою середньої тяжкості.

Отримані результати узгоджуються з тезою, що порушення епітеліальних бар'єрів кишківника призводить до підвищеної його проникності, що дає змогу токсинам і мікробіому проникати в системний кровотік, активувати імунні відповіді Т-хелперів 2 (Th2), які потім

вивільнювати цитокіни ( IL-4, IL-5, IL-9 та IL-13), які потрапляючи в системний кровоток сприяють запаленню дихальних шляхів [146,147].

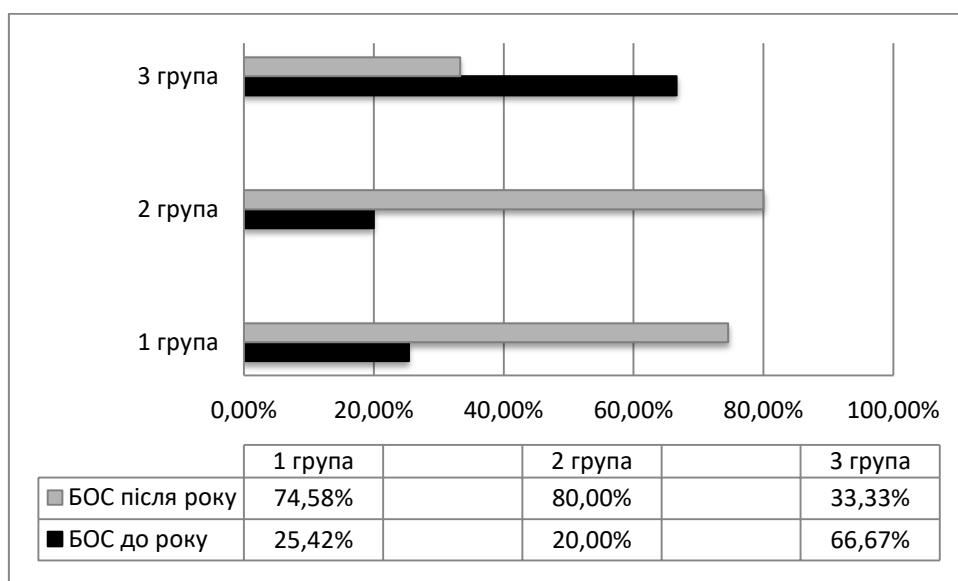


Рисунок 3.1. Частота раннього виникнення бронхообструктивного синдрому у дітей з бронхіальною астмою.

Примітка. БООС – бронхообструктивний синдром.

Одним із несприятливих чинників виникнення бронхіальної астми вважають ранній дебют бронхообструкції [148]. Саме тому, вивчаючи захворюваність пацієнтів на першому році життя було приділено особливу увагу дебюту БООС. Нами виявлено, що відносна кількість дітей, що мали перші епізоди БООС до року, серед пацієнтів із тяжким перебігом бронхіальної астми, статистично значуще більша у порівнянні із групами з легким та середньої важкості ( $p_{1-2} = 0,439$ ;  $p_{1-3} = 0,031$ ;  $p_{2-3} = 0,131$ ) (рис. 3.1.).

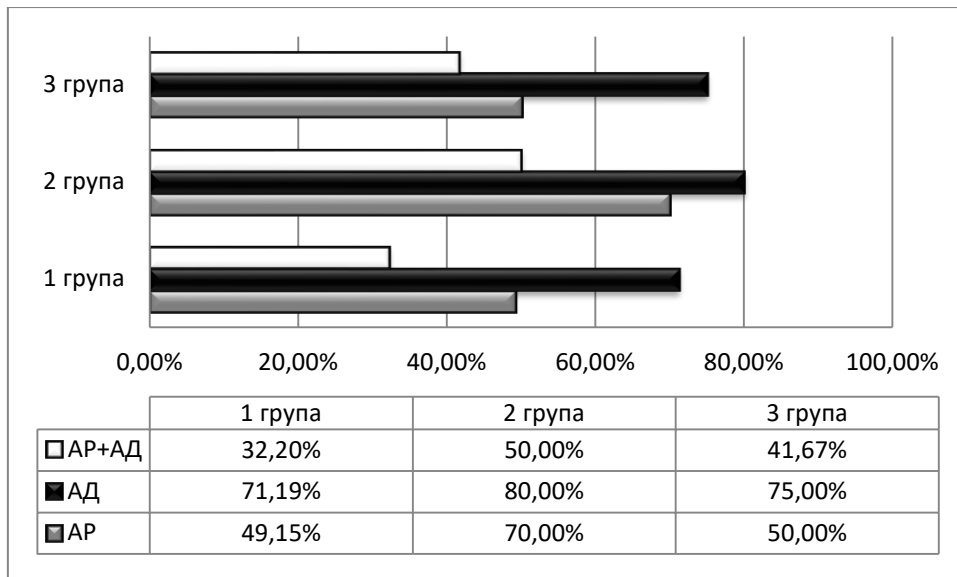


Рисунок 3.2. Частота супутньої алергопатології у дітей з бронхіальною астмою.

Примітки: АД - atopічний дерматит; АР - алергічний риніт.

У ході дослідження було виявлено, що 73/81 (90,1%) дітей мають супутню алергопатологію. Найбільшу питому вагу серед досліджених нами алергічних захворювань мав atopічний дерматит (АД) - 59/81 (72,0%) дітей, який у 46/59 (78,0%) пацієнтів маніфестував на першому році життя. Наступним за рангом був алергічний риніт (АР) - 42 дитини (51,8%). Відмічено, що у 36,0% пацієнтів мало місце поєднання atopічного дерматиту та алергічного риніту. (рис.3.2.). При порівнянні відносної кількості хворих з АД, АР чи їх поєднання між групами, виявлено не було. Розглядаючи, кількість випадків раннього старту АД ( до 1 року), була знайдена статистично достовірні різниці між представниками різних груп ( $p_{1-2} = 0,0007$ ;  $p_{1-3} = 0,0007$ ). Найвищі відсотки випадків виявлені у 2 та 3 групах (8/8 – 100,0% та 9/9 – 100,0% відповідно). Отримані нами результати дослідження, щодо наявності супутньої алергопатології відповідають тезі, що рання маніфестація алергійних проявів являє собою несприятливий чинник виникнення БА [149].

Таблиця 3.3.

**Частота спадкової обтяженості щодо алергічних захворювань у пацієнтів з БА**

	Діти з бронхіальною астмою							
	1-ша група (n=59)		2-га група (n=10)		3-тя група (n=12)		Усього	
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
Обтяжений сімейний анамнез	31	52,5	5	50,0	11	91,7	47	58,0
БА у родичів 1-ї та 2-ї лінії	23	39,0	3	30,0	9	75,0	35	43,2
БА у матері	4	6,8	1	10,0	2	16,7	7	8,6
БА у батька	9	15,2	-	-	4	33,3	13	16,0
БА у батьків матері	12	52,2	1	33,3	4	44,4	17	48,6
БА у батьків батька	5	21,7	1	33,3	2	22,2	8	23,0
Алергійні захворювання у родичів 1-ї та 2-ї лінії	10	17,0	2	20,0	4	33,3	16	19,8
АЗ у матері	6	10,2	2	20,0	1	8,3	9	11,1
АЗ у батька	5	8,5	2	20,0	3	25,0	10	12,3
АЗ у батьків матері	1	10,0	-	-	1	8,3	2	12,5
АЗ у батьків батька	1	10,0	-	-	-	-	1	6,3

Примітка: АЗ – алергічні захворювання.

Спадкова схильність до алергійних захворювань є вагомим чинником ризику розвитку респіраторного алергозу [150]. Ретельно аналізуючи алергологічний сімейний анамнез виявлено, що 58,0% дітей мали близьких родичів з алергічними захворюваннями ( атопічний дерматит, алергічний риніт, БА та інш.).

При аналізі частоти сімейної обтяженості щодо АЗ у групах хворих було визначено її зростання від 50% у дітей 1-ої та 2-ї групи, до 91,7% - у 3-ій

групі. При міжгруповому порівнянні відмінностей щодо питомої ваги сімейної обтяженості за наявності АЗ було знайдено їх статистичну значущість ( $p_{1-3} = 0,0256$ ;  $p_{2-3} = 0,0386$  - рівень статистичної значущості обраний згідно поправки Банфероні при множинному порівнянні). Отримані результати можуть опосередковано вказувати на високий рівень сенсibilізації таких дітей.

Майже 1/3 дітей має родичів 1 та 2 лінії з діагнозом бронхіальна астма. При попарному статистичному обчисленні кількості випадків бронхіальної астми в сім'ї було виявлено достовірну різницю між групою дітей з тяжкою БА по відношенню до легкої ( $p_{1-3} = 0,0385$ ).

Нами був визначений цікавий факт, що серед родичів першої лінії, що мали алергічні захворювання, є тенденція до переважання чоловічої статі, особливо в групі з важкою астмою, серед родичів другої лінії – жіночої.

Проведення статистичної обробки дало змогу виявити зв'язок між ступенем тяжкості захворювання та наявністю обтяженого сімейного анамнезу ( $C' = 0,368$ ,  $p = 0,004$ ). Такі данні підтверджені науковими дослідженнями, щодо впливу генетичної схильності на формування респіраторних алергозів.

Таблиця 3.4.

**Фактори ризику формування тяжкого ступеня  
БА у дітей (RR)**

<b>Несприятливий чинник</b>	<b>RR</b>	<b>95%ДІ RR</b>	<b>C'</b>
1	2	3	4
Дебют бронхообструктивного синдрому на першому році життя	8,6	4,087-22,444	0,713

## Продовження таблиці 3.4.

Обтяжений сімейний алергологічний анамнез	3,2	1,272-7,546	0,345
Наявність супутньої алергопатології у дитини	5,8	3,048-14,997	0,607
Наявність у близьких родичів бронхіальної астми	6,5	1,871-11,068	0,489
Порушення мікробіоти кішківника	4,6	1,982-10,786	0,432

Примітки: RR – відносний ризик; ДІ – довірчий інтервал; С' - нормоване значення коефіцієнта Пірсона.

При статистичному аналізі зв'язків між факторами ризику формування тяжкого ступеня БА у дітей та деякими несприятливими анамнестичними чинниками встановлено наступне: наявність сильного зв'язку з дебютом бронхообструктивного синдрому на першому році життя ( $C' = 0,713$ ,  $p < 0,001$ ), наявністю супутньої алергопатології у дитини ( $C' = 0,607$ ,  $p = 0,002$ ), відносно сильного зв'язку з наявністю у близьких родичів бронхіальної астми ( $C' = 0,489$ ,  $p = 0,001$ ), порушенням мікробіоти кішківника ( $C' = 0,432$ ,  $p = 0,002$ ), середньої сили зв'язків з обтяженим сімейний алергологічний анамнезом ( $C' = 0,345$ ,  $p = 0,005$ ) (таб.3.4.).

Таблиця 3.5.

## Розподіл пацієнтів за терміном встановлення діагнозу

		Діти з бронхіальною астмою							
		До 3 років		До 6 років		Старше 6 років		Усього	
		абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
1-ша група	Усього	12	20,3*	16	27,1*	31	52,5*	59	
	Дівчатка	4	33,3	6	37,5	13	41,9	23	39,0*
	Хлопчики	8	66,7	10	62,5	18	58,0	36	61,0*
2-га група	Усього	1	10,0*	5	50,0*	4	40,0*	10	
	Дівчатка	-	-	2	40,0	2	50	4	40*
	Хлопчики	1	100,0	3	60,0	2	50	6	60*
3-тя група	Усього	6	50,0*	3	25,0*	3	25,0*	12	
	Дівчатка	3	50	3	100,0	-	-	6	50*
	Хлопчики	3	50	-	-	3	100,0	6	50*
Усього		19	23,5*	24	29,6*	38	46,9*	91	100,0*

Примітка. \* - % від загальної кількості хворих.

Досліджуючи вік, в якому пацієнтам був встановлений діагноз бронхіальної астми, нами було помічено, що чим старші діти, тим кількість діагностованих астм стає більшою (до 3 років – 23,5%, до 6 років – 29,6%, старше 6 років – 46,9%).

У результаті аналізу були отримані наступні дані: серед пацієнтів з легкою та БА середньої важкості вірогідно частіше діагноз встановлювався у віці старше 3 років (в 1-ій групі – 79,7%  $p=0,0001$ , в 2-ій групі – 90,0%  $p=0,0000$ ). Пацієнти з важкою астмою мали тенденцію до переважання раннього діагностування астми (50,0%) (таб. 3.5.).

Даний факт може бути пов'язаний зі складністю діагностики цього захворювання в ранньому віці, а також з гіподіагностикою [151].

Даних за вікову різницю між дівчатками та хлопчиками в групах виявлено не було.

Таблиця 3.6.

## Розподіл пацієнтів за тривалістю бронхіальної астми

		Діти з бронхіальною астмою							
		1-3 роки		4-7 років		8 років та довше		Усього	
		абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
1-ша група	Усього	42	71,2*	6	10,2*	11	18,6*	59	
	Дівчатка	17	40,5	4	66,7	2	18,2	23	39,0*
	Хлопчики	25	59,5	2	33,3	9	81,8	36	61,0*
2-га група	Усього	6	60,0*	2	20,0*	2	20,0*	10	
	Дівчатка	4	66,7	-	-	-	-	4	40*
	Хлопчики	2	33,3	2	100,0	2	100,0	6	60*
3-тя група	Усього	3	25,0	4	33,3*	5	41,7*	12	
	Дівчатка	2	66,7	2	50	2	20,0	6	50*
	Хлопчики	1	33,3	2	50	3	100,0	6	50*
Усього		51	63,0*	12	14,8*	18	22,2*	81	100,0*

Примітка. \* - % від загальної кількості хворих.

Дані з таблиці 3.6. вказують на те, що серед усіх пацієнтів з бронхіальною астмою переважають діти з тривалістю захворювання 1-3 роки (63,0%,  $p=0,0078$ ). При міжгруповому порівнянні тривалості захворювання відмічається, що тривалість більше ніж 4 років вірогідно частіше зустрічається серед дітей з 3-ої групи, порівняно з 1-ою ( $p_{1-3}=0,0172$ ). Ці результати можуть вказувати на те, що перебіг патологічного процесу при формуванні бронхіальної астми тісно пов'язаний із тривалістю хронічного запалення.

При дослідженні причин загострень БА було встановлено наступне: у 44 (54,3%) випадках причиною став пилковий фактор, другою за частотою причиною були гострі респіраторні захворювання - 37 випадків (45,7%), третьою – контакт з побутовою хімією - 34 випадки (42,0%). Рідшими, але не менш значущими причинами загострень виявились: контакт з тваринами - 27 дітей, контакт з птахами - 22 дитини, харчовий фактор - 19 дітей, метеоумови - 3 дитини [152].

Аналізуючи дані, щодо основних скарг серед пацієнтів з БА, виявлено, що основними були кашель (91,3%) та задишка експіраторного характеру (85,2%). Дистанційні хрипи серед пацієнтів зустрічалися рідше, лише у 12,3%. Хоча ця скарга не мала достовірної різниці при міжгруповому порівнянні, її частота серед пацієнтів з тяжкою астмою була вищою ( $p < 0,05$ ). Така скарга, як кволість супроводжувалася досліджуваних усіх ступенів БА, та вірогідніше була обумовлена впливом гіпоксії. Закладеність та свербіж носу, нежить та чхання зустрічалися серед пацієнтів зі встановленим діагнозом алергічного риніту. Свербіж шкіри супроводжував алергічний висип на шкірі дітей, які мали в анамнезі atopічний дерматит (таб. 3.7.).

Таблиця 3.7.

### Характеристика скарг дітей з БА (%)

Скарги	Діти з бронхіальною астмою			p - при міжгруповому порівнянні
	1-ша група (n=59)	2-га група (n=10)	3-тя група (n=12)	
1	2	3	4	5
Кашель	93,2	90,0	83,5	$p_{1-2}=0,3757$ $p_{1-3}=0,1509$ $p_{2-3}=0,3316$
Задишка	86,4	70,0	91,6	$p_{1-2}=0,1833$ $p_{1-3}=0,2490$ $p_{2-3}=0,1193$
Дистанційні хрипи	6,7	10,0	41,6	$p_{1-2}=0,4523$ $p_{1-3}=0,1377$ $p_{2-3}=0,1611$
Кволість	33,9	40,0	50,0	$p_{1-2}=0,4102$ $p_{1-3}=0,2425$ $p_{2-3}=0,3819$
Нежить /закладеність носу	45,7	50,0	50,0	$p_{1-2}=0,4190$ $p_{1-3}=0,5000$ $p_{2-3}=0,7378$
Чхання	25,4	50,0	58,3	$p_{1-2}=0,1550$ $p_{1-3}=0,0738$ $p_{2-3}=0,3947$

Продовження таблиці 3.7.

Свербіж носа	23,7	30,0	33,4	$p_{1-2}=0,4153$ $p_{1-3}=0,3611$ $p_{2-3}=0,4680$
Свербіж шкіри	13,5	20,0	25,0	$p_{1-2}=0,4036$ $p_{1-3}=0,3213$ $p_{2-3}=0,4523$

При оцінці даних фізикального обстеження було встановлено, що серед проявів бронхообструктивного синдрому у пацієнтів виявлені: у 87,6% випадків - експіраторна задишка, у 96,3% - коробковий відтінок легеневого звук, у 95,0% - жорстке дихання, у 85,2% - посилений та подовжений видих та у 91,4% - сухі свистячі хрипи. Стан пацієнтів був розцінений як легкий або середнього ступеня важкості (таб. 3.8.).

Таблиця 3.8.

## Характеристика даних об'єктивного обстеження дітей БА (%)

Симптоми	Діти з бронхіальною астмою			p - при міжгруповому порівнянні
	1-ша група (n=59)	2-га група (n=10)	3-тя група (n=12)	
Блідий колір шкіри	-	10,0	8,3	$p_{2-3}=0,4326$
Задишка	86,4	90,0	91,6	$p_{1-2}=0,3733$ $p_{1-3}=0,2964$ $p_{2-3}=0,4388$
Коробковий відтінок перкуторного звуку	94,9	100,0	100,0	$p_{1-2}=0,2391$ $p_{1-3}=0,2579$ $p_{2-3}=0,5000$
Жорстке дихання	93,2	100,0	100,0	$p_{1-2}=0,2140$ $p_{1-3}=0,2339$ $p_{2-3}=0,5000$
Подовжений видих	79,7	100,0	100,0	$p_{1-2}=0,0744$ $p_{1-3}=0,0579$ $p_{2-3}=0,5000$
Наявність свистячих хрипів	88,1	100,0	100,0	$p_{1-2}=0,1486$ $p_{1-3}=0,1277$ $p_{2-3}=0,5000$

Оцінюючи фізичний розвиток досліджуваних виявлено, що переважна їх більшість 69/81 (85,1%) мали середній фізичний розвиток, низький фізичний розвиток визначено у 4/81 (5,0%) та вище середнього - у 8/81 (9,9%) пацієнтів. Індекс маси тіла статистично значуще не відрізнявся від норми у групах з легкою та астмою середньої тяжкості та становив: у хворих 1 групи 19,52 кг/м<sup>2</sup> ; у хворих 2 групи – 18,80 кг/м<sup>2</sup>. У хворих 3 групи індекс маси тіла склав 30,1 кг/м<sup>2</sup> , за рахунок 2 дітей, що мали надмірну вагу та однієї дитини з ожирінням 1 ступеня. Результати обстеження пацієнтів із тяжкою БА узгоджуються з науковими дослідженнями, щодо негативного впливу надмірної ваги на формування та прогресування респіраторного алергозу.

### **3.2. Клініко-лабораторна характеристика дітей обстежуваних груп**

Усі діти з БА були обстежені згідно відповідних протоколів. Їм були проведені клінічні, біохімічні та інструментальні дослідження.

При проведенні клінічного аналізу крові не було виявлено достовірної різниці між його показниками у групах. Клінічний аналіз крові показав підвищені рівні гемоглобіну у 32 досліджуваних (39,5%), що вірогідно є компенсаторним проявом роботи кісткового мозку під впливом гіпоксії та/або перспіраційних втрат при бронхообструкції. Серед пацієнтів 2-ї та 3-ї груп 2 дітей мали залізодефіцитну анемію легкого ступеня важкості. Підвищені рівні нейтрофілів у 11 хворих (13,6%). вказують на хронічний запальний процес в організмі. Наявність еозинофілії у 19 хворих (23,4%) може підтверджувати участь еозинофілів у формуванні хронічного алергічного запалення. Підвищені рівні еозинофілів зустрічалися серед пацієнтів усіх груп, але найбільш високі їх рівні зареєстровані саме серед дітей із важкою астмою . Підвищені рівні швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ) у 13 хворих (16,0%) вірогідніше за все вказували на наявність неспецифічного запального процесу (таб. 3.9.).

Таблиця 3.9.

**Статистичні характеристики клінічного аналізу крові дітей, хворих на  
БА в періоді загострення, Me (Lq; Uq)**

Показники	Діти з БА		
	1-ша група (n=59)	2-га група (n=10)	3-тя група (n=12)
Гемоглобін крові, г/л	138 (134;150)	144 (134;150)	135 (126;149)
KW: H=1,2711, p=0,5296, MW: p <sub>1-2</sub> =0,6514; p <sub>1-3</sub> =0,13337; p <sub>2-3</sub> =0,3226.			
Еритроцити, x10 <sup>12</sup>	4,4 (4,3;4,6)	4,4 (4,3;4,6)	4,3 (4,2;4,6)
KW: H=0,7288, p=0,6946, MW: p <sub>1-2</sub> =0,8915; p <sub>1-3</sub> =0,3860; p <sub>2-3</sub> =0,6682.			
Кольоровий показник	0,94 (0,92;0,96)	0,96 (0,92;1,00)	0,93 (0,90;0,97)
KW: H=1,0054, p=0,6049, MW: p <sub>1-2</sub> =0,3800; p <sub>1-3</sub> =0,6786; p <sub>2-3</sub> =0,4098.			
Лейкоцити x10 <sup>9</sup>	5,6 (4,5;6,8)	5,7 (4,6;6,3)	5,8 (4,8;6,3)
KW: H=0,4079, p=0,8155, MW: p <sub>1-2</sub> =0,6453; p <sub>1-3</sub> =0,6126; p <sub>2-3</sub> =0,9474.			
Нейтрофіли, %	61,0 (54,0;63,0)	52,0 (42,0;67,0)	61,0 (50,0;67,0)
KW: H=2,8879, p=0,2360, MW: p <sub>1-2</sub> =0,0820; p <sub>1-3</sub> =0,8659; p <sub>2-3</sub> =0,2914.			
Лімфоцити, %	61,0 (54,0;63,0)	39,5 (33,0;40,0)	35,0 (22,0;38,0)
KW: H=3,7413, p=0,1540, MW: p <sub>1-2</sub> =0,0584; p <sub>1-3</sub> =0,9816; p <sub>2-3</sub> =0,1212.			
Еозинофіли, %	2,0 (1,0;3,0)	5,0 (1,0;7,0)	3,0 (1,0;5,0)
KW: H=2,6327, p=0,2681, MW: p <sub>1-2</sub> =0,1808; p <sub>1-3</sub> =0,3299; p <sub>2-3</sub> =0,5310.			
Моноцити,%	4,0 (3,0;6,0)	3,0 (2,0;4,0)	5,0 (2,0;7,0)
KW: H=1,4132, p=0,4933, MW: p <sub>1-2</sub> =0,2905; p <sub>1-3</sub> =0,6674; p <sub>2-3</sub> =0,3390.			
Швидкість осідання еритроцитів, мм/годину	7,0 (5,0;13,0)	7,5 (6,0;8,0)	7,0 (5,0;11,0)
KW: H=0,0032, p=0,9984, MW: p <sub>1-2</sub> =0,9728; p <sub>1-3</sub> =0,9510; p <sub>2-3</sub> =1,0000.			

Оцінка біохімічних показників крові дала змогу виявити підвищені рівні сечової кислоти у 18 хворих (22,2%), що вказує на порушення пуринового обміну, та може сприяти підтримці алергічного стану [153]. У 37 пацієнтів (45,7%) мала місце зниження вмісту кальцію в крові. При аналізі частоти гіпокальціємія у групах хворих з БА було визначено наступне: серед дітей 1-ої групи - 49 %, 2-ої групи - 30% та 3-ої групи - 42% (таб. 3.10.). Зниження рівня кальцію крові може бути викликане підвищеною проникністю судин. Була визначена достовірна різниця рівнів С-реактивного протеїну у групах. Найвищі рівні асоціювалися з тяжким ступенем БА. Підвищення цього показника говорить на користь наявності запального процесу в організмі.

Таблиця 3.10.

**Статистичні характеристики біохімічних показників крові дітей з БА,  
Me (Lq; Uq)**

Показники	Діти з БА		
	1-ша група (n=59)	2-га група (n=10)	3-тя група (n=12)
1	2	3	4
Глікопротеїд, од.	0,35 (0,28;0,44)	0,29 (0,27;0,38)	0,39 (0,35;0,53)
KW: H=2,2345, p=0,3473, MW: p <sub>1-2</sub> =0,6212; p <sub>1-3</sub> =0,1470; p <sub>2-3</sub> =0,2818.			
Сіромукоїд, од.	4,0 (3,30;5,30)	3,70 (3,30;4,20)	3,85 (3,50;4,55)
KW: H=2,2345, p=0,3473, MW: p <sub>1-2</sub> =0,6212; p <sub>1-3</sub> =0,1470; p <sub>2-3</sub> =0,2818.			
Сечова кислота, ммоль/л	0,30 (0,26;0,40)	0,25 (0,24;0,42)	0,31 (0,25;0,38)
KW: H=2,2345, p=0,3473, MW: p <sub>1-2</sub> =0,6212; p <sub>1-3</sub> =0,1470; p <sub>2-3</sub> =0,2818.			
Са, ммоль/л	2,25 (2,05;2,40)	2,16 (1,98;2,40)	2,07 (1,93;2,26)
KW: H=2,2345, p=0,3473, MW: p <sub>1-2</sub> =0,6212; p <sub>1-3</sub> =0,1470; p <sub>2-3</sub> =0,2818.			
Р, ммоль/л	1,20 (1,01;1,48)	1,31 (1,20;1,50)	1,49 (1,30;1,57)

--	--	--	--

Продовження таблиці 3.10.

KW: H=2,2345, p=0,3473, MW: p <sub>1-2</sub> =0,6212; p <sub>1-3</sub> =0,1470; p <sub>2-3</sub> =0,2818.			
C-реактивний протеїн	1,0 (0,0;3,0)	5,5 (3,0;9,0)	10,0 (3,5;12,0)
KW: H=26,4802, p=0,0000, MW: p <sub>1-2</sub> =0,0015; p <sub>1-3</sub> =0,0000; p <sub>2-3</sub> =0,0864.			

Примітки (тут і далі в рисунках і таблицях): 1. Me – медіана, 2. Lq – нижній кuartиль, 3. Uq – верхній кuartиль.

Оцінка функції зовнішнього дихання є одним із основних критеріїв діагностики БА у віці після 6 років. При проведенні оцінки результатів цього дослідження у дітей з БА нами було виявлено, що Н критерій тесту Краскла-Уолліса за такими показниками як ФЖЕЛ, ОФВ-1, ОФВ1/ФЖЕЛ, МОШ-25, МОШ-50, МОШ-75, є достовірно значущим. Враховуючи те, що розподіл по групам залежав від тяжкості БА, можна говорити, що рівні цих параметрів залежать від приналежності пацієнта до тієї чи іншої групи. Аналіз рівнів вищеперерахованих показників у групах хворих визначив їх поступове зниження від 1-ої групи до 3-ої групи, з максимально низькими рівнями у пацієнтів з тяжким перебігом БА (таб. 3.11.).

Таблиця 3.11.

**Статистичні характеристики показників функції зовнішнього дихання у дітей з БА в періоді загострення, (Me (Lq; Uq))**

Показники	Діти з БА		
	1-ша група (n=59)	2-га група (n=10)	3-тя група (n=12)
<b>1</b>	2	3	4
<b>ФЖЕЛ, %</b>	91,0 (86,0;96,0)	82,5 (79,0; 87,0)	70,0 (63,0; 80,0)
<b>KW: H=24,4576; p=0,0020 MW: p<sub>1-2</sub>=0,0028; p<sub>1-3</sub>=0,0000; p<sub>2-3</sub>=0,0191.</b>			

## Продовження таблиці 3.11

<b>ОФВ-1,%</b>	105,0 (102,0;126,0)	99,0 (90,0; 103,0)	78,0 (75,0; 80,0)
<b>KW: H=39,0877; p=0,0000 MW: p<sub>1-2</sub>=0,0005; p<sub>1-3</sub>=0,0000; p<sub>2-3</sub>=0,0000.</b>			
<b>ОФВ1/ФЖЕЛ</b>	107,0 (105,0;108,0)	101,0 (95,0; 103,0)	96,0 (89,0; 97,0)
<b>KW: H=41,7666; p=0,0010 MW: p<sub>1-2</sub>=0,0000; p<sub>1-3</sub>=0,0000; p<sub>2-3</sub>=0,0098.</b>			
<b>МОШ-25,%</b>	86,0 (80,0; 94,0)	94,5 (85,0; 98,0)	39,0 (30,0; 78,0)
<b>KW: H=20,2112; p=0,0000 MW: p<sub>1-2</sub>=0,1013; p<sub>1-3</sub>=0,0000; p<sub>2-3</sub>=0,0006.</b>			
<b>МОШ-50,%</b>	86,0 (81,0; 95,0)	90,5 (87,0; 99,0)	58,0 (43,0; 76,0)
<b>KW: H=28,6673; p=0,0004 MW: p<sub>1-2</sub>=0,1087; p<sub>1-3</sub>=0,0000; p<sub>2-3</sub>=0,0000.</b>			
<b>МОШ-75,%</b>	88,0 (83,0; 95,0)	81,5 (75,0; 89,0)	58,0 (42,0; 68,0)
<b>KW: H=27,1120; p=0,0000 MW: p<sub>1-2</sub>=0,0560; p<sub>1-3</sub>=0,0000; p<sub>2-3</sub>=0,0017.</b>			

Примітки: ФЖЕЛ - форсована життєва ємність легень; ОФВ-1 - об'єм форсованого видиху за першу секунду; ОФВ1/ФЖЕЛ - індекс Тіффно; МОШ-25, МОШ-50, МОШ-75 - максимальна об'ємна швидкість видиху.

За результатами тесту Тифно (ОФВ1/ФЖЕЛ) зниження його не перевищувало 60%, що вказувало на помірне порушення прохідності дихальних шляхів. Такі результати вказують на наявність обструктивних порушень дистальних відділів ТБД та порушення прохідності дихальних шляхів, що призвело до збільшення їхнього аеродинамічного опору.

Бактеріологічне обстеження слизової оболонки зіву хворих на бронхіальну астму виявило, що 31/81 (38,3%) дитина мала ту чи іншу патогенну чи умовнопатогенну мікрофлору у достовірних титрах (*Str.mitis*, *Str.pyogenes*, *St.aureus*, *Ent.faecalis*, *Str.pneumonia*, *Candida*): 1 група - 24 дитини (40,7%), 2 група – 3 дитини (30,0%), 3 група – 4 дитини (33,3%). Достовірної різниці позитивних мікробіологічних результатів між групами виявлено не було. Найбільш розповсюдженою мікрофлорою виявилася - *Str.pyogenes*, *Ent.faecalis*, *Str.pneumonia*.

Серед пацієнтів, що приймали участь у обстеженні 65/81 (80,2%) мали результати обстеження на алергени методом нашкірних скарифікаційних тестів, внутрішньошкірних проб або імунологічним. Серед представників 2-ї та 3-ї груп було 100% обстежених, серед пацієнтів 1-ї групи – 43/59 (72,9%). Такий обсяг обстежених, вірогідніше за все вказує на розширення діагностичного пошуку серед пацієнтів з тяжким та середньо тяжким перебігом БА. Позитивні результати алергообстеження демонстрували 27/43 (62,8%) пацієнтів 1 групи, 8/10 (80,0%) пацієнтів 2 групи та 8/12 (66,7%) пацієнтів 3 групи. Обстежені діти мали позитивні реакції на кліща домашнього пилу, епітелій кішки або собаки, шерсть кролика, березу, амброзію, альтернарію, тимофіївку, полин. Пацієнти мали реакцію на один або декілька алергенів. Серед представників 3-ї групи вірогідно частіше зустрічалися пацієнти, які мали комбінацію декількох алергенів (3-4, 5 та більше)  $p=0,0001$ .

### **Висновки до розділу 3**

Проведений аналіз клінічної характеристики обстежених дітей з БА з'ясував наступні особливості. Групові вікові закономірності серед дітей з БА I, II, III ступенів тяжкості демонструють статистично значуще зростання питомої ваги дітей шкільного віку (пре- і пубертатного) серед усіх ступенів бронхіальної астми.

Аналізуючи всіх пацієнтів з БА за половим диморфізмом виявлено достовірну різницю за чоловічою статтю ( $p=0,0403$ ).

Міжгруповий аналіз факторів преморбідного фону дітей з БА всіх ступенів тяжкості продемонстрував наявність серед цих пацієнтів різноманітні чинники ризику, що визначають можливий розвиток хронічного захворювання легень: вплив несприятливих перинатальних чинників протягом першої половини вагітності, що сприяло порушенню формування та дозрівання бронхолегеневої системи; обтяжений сімейний анамнез за рахунок алергічних захворювань; вплив тютюнового диму. Важливу роль у формуванні респіраторного алергозу також відіграли постнатальні несприятливі чинники, серед яких раннє штучне вигодовування, порушення мікробіоти кишківника, ранній дебют бронхообструктивного синдрому та наявність у дітей атопічного дерматиту та алергічного риніту. Оцінка фізичного розвитку дітей продемонструвала схильність хворих з важким перебігом астми до надмірної ваги.

Хоча жоден із вищеперахованих патологічних чинників не можна вважати основополагаючим, але в сукупності вони імовірно мають вплив на формування, перебіг та тяжкість захворювання.

Проблема гіподіагностики бронхіальної астми мала місце і в нашому дослідженні, пацієнтам з легкою астмою діагноз був встановлений у більш старшому віці. Також можна відмітити участь в запальному процесі умовнопатогенної або патогенної флори слизових оболонок зіву і носу, які можуть знижати імунологічний опір організму.

Оцінка показників лабораторного обстеження (клінічних та біохімічних) пацієнтів 1-3 груп статистично значущих відмінностей не мала, але було з'ясовано, що в групі з тяжкою бронхіальною астмою були представники, результати яких асоціювались із патологічно найвищими чи найвищим рівнями.

В результаті проведення оцінки функції зовнішнього дихання виявлено наявність обструктивних порушень дистальних відділів ТБД та порушення прохідності дихальних шляхів серед пацієнтів усіх груп, але найгірші статистично достовірні показники продемонстрували представники третьої групи.

З метою розширення діагностичного пошуку серед пацієнтів з бронхіальною астмою проводилось алергообстеження, результатом якого стало виявлення схильності дітей до позитивних реакцій на кліща домашнього пилу, епітелій кішки або собаки, шерсть кролика, березу, амброзію, альтернарію, тимофіївку, полин. Пацієнти 3 груп продемонстрували позитивні результати у 60% – 80% випадків. Крім цього серед представників 3-ї групи вірогідно частіше зустрічалися пацієнти з комбінацію із декількох алергенів (3-4, 5 та більше).

Основні результати дослідження та його положення, які викладені в цьому розділі, апробовані на конгресах та конференціях, що знайшло відображення в наступних публікаціях:

1. Andrushchenko V.V. The level of reactive oxygen species as a marker of asthma severity in children / Nataliia I. Makieieva, Vira V. Andrushchenko, Valeriia M. Malakhova, Anton S. Tkachenko, Anatolii I. Onishchenko, Valentin V. Polyakov, Ludmyla A. Vygivska // Wiadomości Lekarskie Medical Advances, VOLUME LXXVI, ISSUE 1. - 2023, p. 205 – 212. (Здобувач особисто провів літературний огляд, виконав підбір хворих, провів діагностичні дослідження маркерів, статистично опрацював та проаналізував дані, підготував статтю до друку).

2. Andrushchenko V.V. Imbalance between il-2, il-4 and ifn- $\gamma$  as a marker of sustainability of partly controlled asthma in children/ Makieieva N. I., Andrushchenko V. V.// Bulletin of problems in biology and medicine – 2023 – Issue 3 (170), p. 433-438. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного

матеріалу, провів визначення цитокінів у обстежених, проаналізував та узагальнив дані, підготував статтю до друку).

3. Andrushchenko V.V. The von Willebrand factor as a marker of partially controlled asthma severity in children. /Makieieva NI, Andrushchenko VV. // (2023). *Modern Pediatrics. Ukraine*. 5(133): 31-38. doi 10.15574/SP.2023.133.31.

(Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, провів визначення ендотеліальної дисфункції у обстежених, проаналізував та узагальнив дані, підготував статтю до друку).

4. Andrushchenko V.V. Factors on the formation of asthma in children / Andrushchenko Vira // online International Scientific Interdisciplinary Conference ISIC-2022 for medical students and young scientists Kharkiv National Medical University, Kharkiv, 23th-24th November / Kharkiv National Medical University. – Kharkiv, 2022, p. 199-200. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, статистично опрацював, проаналізував й узагальнив дані).

## РОЗДІЛ 4

### РОЛЬ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ІМУННОЇ СИСТЕМИ У ФОРМУВАННІ І ПРОГРЕСУВАННІ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ У ДІТЕЙ

Розвиток та перебіг бронхіальної астми (БА) являє собою багатофакторний механізм, який складається з наявності генетичної схильності, впливу навколишнього середовища, імунних та нейрогенних ланок неспецифічної і специфічної гіперреактивності, впливу вірусно-мікробних чинників, та вимагає врахування кожного додаткового компонента, здатного впливати на перебіг БА. Механізм формування БА характеризується “дисбалансом” нормальних регуляторних механізмів у відповідь на потенційно патогенні, а нерідко і фізіологічні стимули, які обмежують патологічну активацію імунної системи.

В основі патогенетичних змін при бронхіальній астмі лежить персистуюче хронічне запалення дихальних шляхів, яке тісно пов'язане із змінами імунологічної реактивності організму. Як самі клітини імунної системи, так і зв'язки між ними відіграють важливу роль у формуванні запального процесу при БА. Зміни, що відбуваються в імунній системі, сприяють сенсibiliзації організму та формуванню цього запалення.

Адаптивно-компенсаторна захисна система організму людини включає в себе фактори неспецифічного захисту (фагоцитарна система) в тісній взаємодії з клітинною (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+) та гуморальною (CD19-22, CD19+, CD20, CD21, CD22, Ig A, M, G, D, E) ланками специфічного захисту імунитету.

#### 4.1. Характеристика стану імунної системи пацієнтів з бронхіальною астмою в періоді загострення

Ураховуючи, що, в першу чергу, саме неспецифічні форми захисту, як найбільш ранні та давні, приймають участь в формуванні захисної відповіді на подразника, розпочнемо з характеристики фагоцитарної ланки імунної відповіді на антигенні фактори в розвитку загострення та перебігу бронхіальної астми у дітей. (таб. 4.1)

**Таблиця 4.1.**

**Статистичні характеристики показників стану фагоцитарного ланцюгу імунітету у дітей у періоді загострення БА (Me (Lq; Uq))**

Показники	Діти з БА			Група контролю (n=13)
	1-ша група (n=59)	2-га група (n=10)	3-тя група (n=12)	
1	2	3	4	5
НФ, %	67,0 (60,0; 82,0)	73,5 (71,0; 89,0)	58,0 (49,5; 66,0)	83,0 (79,0; 86,0)
<b>KW: H=21,1649, p=0,0001, MW: p<sub>1-2</sub>=0,0507; p<sub>1-3</sub>=0,0101; p<sub>2-3</sub>=0,0013; p<sub>K-1</sub>=0,0021; p<sub>K-2</sub>=0,1363; p<sub>K-3</sub>=0,0004</b>				
ФЧ	3,2 (2,8;3,5)	3,7 (3,4;4,8)	2,8 (2,5;3,0)	4,5 (3,9;4,9)
<b>KW: H=37,2907, p=0,0000, MW: p<sub>1-2</sub>=0,0050; p<sub>1-3</sub>=0,0135; p<sub>2-3</sub>=0,0002; p<sub>K-1</sub>=0,0000; p<sub>K-2</sub>=0,0667; p<sub>K-3</sub>=0,0000</b>				
ІАН	0,86 (0,79; 1,00)	0,88 (0,80; 1,00)	0,80 (0,66; 0,91)	1,08 (1,00; 1,14)

Продовження таблиці 4.1.

<b>KW: H=18,5204, p=0,0001, MW: p<sub>1-2</sub>=0,6881; p<sub>1-3</sub>=0,1689; p<sub>2-3</sub>=0,1759;</b> <b>p<sub>K-1</sub>=0,0000; p<sub>K-2</sub>=0,0166; p<sub>K-3</sub>=0,0012</b>				
МП (СЦК)	2,41 (2,32; 2,55)	2,32 (2,28; 2,46)	2,75 (2,41; 2,83)	2,56 (2,55; 2,58)
<b>KW: H=12,2179, p=0,0067, MW: p<sub>1-2</sub>=0,2323; p<sub>1-3</sub>=0,0403; p<sub>2-3</sub>=0,1134;</b> <b>p<sub>K-1</sub>=0,0040; p<sub>K-2</sub>=0,0153; p<sub>K-3</sub>=0,0236</b>				
ЛКБ (СЦК)	1,18 (1,03; 1,23)	1,20 (1,19; 1,27)	1,10 (0,92; 1,28)	1,23 (1,22; 1,24)
<b>KW: H=10,9486, p=0,0120, MW: p<sub>1-2</sub>=0,0832; p<sub>1-3</sub>=0,3372; p<sub>2-3</sub>=0,0555;</b> <b>p<sub>K-1</sub>=0,0058; p<sub>K-2</sub>=0,3499; p<sub>K-3</sub>=0,0336</b>				
NST -тест, %	7,0 (5,0;11,0)	6,5 (3,0;9,0)	4,5 (2,5;6,0)	9,0 (7,0;11,0)
<b>KW: H=13,7280, p=0,0033, MW: p<sub>1-2</sub>=0,2177; p<sub>1-3</sub>=0,0018; p<sub>2-3</sub>=0,1533;</b> <b>p<sub>K-1</sub>=0,2897; p<sub>K-2</sub>=0,0706; p<sub>K-3</sub>=0,0007</b>				

Примітка: НФ – нейтрофіли фагоцитуючи; ФЧ – фоґоцитарне число; ІАН – індекс активності нейтрофілів; МП (СЦК) - металопротеїназіа; ЛКБ (СЦК) - лізосомальні катіонні білки; NST –тест – фаґоцитарна активність нейтрофілів.

Статистичний аналіз отриманих результатів продемонстрував зниження показників фаґоцитарного ланцюга у пацієнтів з бронхіальною астмою в періоді загострення. Такі результати узгоджуються з літературними даними, згідно яких порушення імунної системи при бронхіальній астмі

проявляються дисфункцією фагоцитуючих клітин, а саме: зниження або активація поглинальної активності, збільшення кисневого залежного метаболізму.

У результаті дослідження отримано знижені рівні нейтрофілів фагоцитуючих (НФ) та фагоцитарного числа (ФЧ) – у всіх хворих БА з найнижчими вірогідно достовірними показниками у пацієнтів з тяжкою астмою. Індекс активності нейтрофілів (ІАН) у всіх пацієнтів із тяжкою астмою має достовірно низькі рівні у порівнянні з групою контролю.

Одержані дані, як видно, свідчать про компрометацію показників фагоцитозу, починаючи з ініціальної його фази, ознакою чого являється зниження значень індексу активності нейтрофілів та рівнів фагоцитуючих нейтрофілів. Під час оцінки якості фагоцитозу ще більше значення після активації фагоцитозу, процесів формування фагосоми має стан процесів кіллінга (перетравлення) в фагосомі чужерідного агента. Під час реалізації цих процесів мають значення киснево-незалежні та киснево-залежні механізми фагоцитозу. Результати стану киснево-незалежних механізмів фагоцитозу, які ми оцінювали за показниками лізосомальних катіонних білків (ЛКБ), демонструють зниження рівнів СЦК ЛКБ у дітей 1-ої та 3-ої груп. Це безумовно патогенетично значимо, бо дефензини – це катіонні білки, які стимулюють макрофаги та тучні клітини до продукції TNF- $\alpha$ . Крім того, їх відносять до алармінів, які попереджують імунну систему про загрозу бактеріальної інфекції. Дефензини виконують різні функції, в то числі вони є сильними хемоатрактантами для Т-лімфоцитів та дендритних клітин.

Разом з тим, роль киснево-незалежних механізмів в процесах кіллінга фагосоми менш значуща, а суттєве значення в перетравленні складових фагосоми належить киснево-залежним механізмам, зокрема металопротеїнази та особливо активним формам кисню, які оцінюють по значенням СЦК МП і NST –тесту відповідно. Як свідчать одержані у нашому дослідженні дані, показники СЦК МП вірогідно знижені у дітей, хворих на БА, 1-ої та 2-ої

груп, що може вказувати на зниження функціональних можливостей механізмів природної «самооборони» і адаптаційних процесів в системі неспецифічної резистентності. [154].

Відомо, що резервні можливості мієлопероксидази в реалізації киснево-залежних механізмів фагоцитозу обмежені, тому лідируюче значення в оцінці мають показники активних форм кисню (значення NST – тесту). Показово низькі значення NST –тесту у хворих на БА у 1-ої, 2-ої і особливо 3-ої груп, демонструють суттєве зниження ефекторного, заключного потенціалу фагоцитів та порушення в системі неспецифічного захисту. Оскільки під час їх активації та порушеннях починається індукція фагоцитозом специфічних ланок імунітету, були проаналізовані рівні показників стану гуморального та клітинного імунітету (таб. 4.1. та 4.2.).

Таблиця 4.2.

**Статистичні характеристики показників стану гуморального імунітету у дітей із БА, (Me (Lq; Uq))**

Показники	Діти з БА			Група контролю (n=13)
	1-ша група (n=59)	2-га група (n=10)	3-тя група (n=12)	
1	2	3	4	5
CD22, абс. x10 <sup>9</sup> /л	0,8 (0,5;0,9)	0,8 (0,7;1,1)	0,78 (0,6;1,05)	0,4 (0,4;0,6)
KW: H=18,2244, p=0,0004, MW: p <sub>1-2</sub> =0,1645; p <sub>1-3</sub> =0,4224; p <sub>2-3</sub> =0,5506; p <sub>к-1</sub> =0,0001; p <sub>к-2</sub> =0,0004; p <sub>к-3</sub> =0,0025				
CD22,%	24,0 (18,0; 27,0)	27,0 (21,0; 30,0)	28,0 (26,0; 31,0)	17,0 (14,0; 19,0)
KW: H=23,6419, p=0,0000, MW: p <sub>1-2</sub> =0,1562; p <sub>1-3</sub> =0,0033; p <sub>2-3</sub> =0,3898; p <sub>к-1</sub> =0,0007; p <sub>к-2</sub> =0,0031; p <sub>к-3</sub> =0,0000				

## Продовження таблиці 4.2.

IgG г/л	10,6 (8,0;12,5)	6,45 (5,9;10,5)	5,95 (5,6;7,8)	10,48 (8,16;12,32)
KW: H=18,9888, p=0,0003, MW: p <sub>1-2</sub> =0,0186; p <sub>1-3</sub> =0,0001; p <sub>2-3</sub> =0,3909; p <sub>к-1</sub> =0,7640; p <sub>к-2</sub> =0,0255; p <sub>к-3</sub> =0,0013				
IgA г/л	2,0 (1,35; 2,5)	1,95 (0,9;2,6)	1,27 (0,75;2,25)	1,23 (0,97;1,62)
KW: H=11,5972, p=0,0089, MW: p <sub>1-2</sub> =0,6945; p <sub>1-3</sub> =0,0640; p <sub>2-3</sub> =0,3220; p <sub>к-1</sub> =0,0011; p <sub>к-2</sub> =0,2876; p <sub>к-3</sub> =0,9133				
IgM г/л	2,1 (1,7;2,5)	1,55 (1,2;2,3)	2,0 (1,4;2,2)	1,03 (0,85;1,12)
KW: H=27,1367, p=0,0000, MW: p <sub>1-2</sub> =0,0506; p <sub>1-3</sub> =0,2428; p <sub>2-3</sub> =0,4662; p <sub>к-1</sub> =0,0000; p <sub>к-2</sub> =0,1068; p <sub>к-3</sub> =0,0002				
IgE МЕ/мл	195,0 (50,0; 389,0)	430,0 (257,0;572,0)	552,0 (301,0;1275,0)	-
KW: H=11,3297, p=0,0035, MW: p <sub>1-2</sub> =0,0345; p <sub>1-3</sub> =0,0038; p <sub>2-3</sub> =0,3913.				

Оцінка стану гуморального імунітету у пацієнтів з астмою в періоді загострення показала наступне, рівні абсолютних та відсоткових CD22 достовірно підвищувалися у пацієнтів 1-ої, 2-ої та 3-ої груп (p<0,05), у порівнянні з показниками групи контролю. Статистичної різниці між показниками у пацієнтів різних груп виявлено не було, що може вказувати на загальну тенденцію до підвищення показників гуморального імунітету (табл.4.2.).

Наявність вірогідного кореляційного зв'язку між рівнями CD22 абс. та CD4 абс., у дітей 1-ї (r<sub>1</sub>=+0,56 p<0,05) та 2-ої груп (r<sub>2</sub>=+0,45p<0,05) може

вказувати на працездатність імунної системи та активний синтез імуноглобулінів під впливом Т- лімфоцитів (CD4) у пацієнтів цих груп. У пацієнтів 3-ої групи проведений кореляційний аналіз дозволив відзначити відсутність подібних зв'язків ( $r_3 = -0,03$   $p < 0,05$ ), що вказує на знижені можливості імунної відповіді.

Хоча достовірної різниці між кореляційними зв'язками у досліджуваних із різних груп виявлено не було, звертає на себе увагу їх динамічне зниження від 1-ої до 3-ої групи. Такі результати можуть бути трактовані, як зниження функціональних можливостей імунної системи дітей, хворих на бронхіальну астму, залежно від тяжкості захворювання.

Рівні циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у дітей 1-ої, 2-ої та 3-ої груп були вірогідно підвищені з максимальними результатами у пацієнтів з тяжкою астмою: 1-ша група - 93,0 (80,0;106,0), у.о.; 2-га група - 88,5 (79,0;98,0), у.о.; 3-тя група - 126 (101,5;146,0), у.о.; група контролю - 25,0 (19,0;35,0), у.о. Достовірну різницю між групами демонструє результат обчислення тесту Краскла-Уолліса  $H=42,2192$ ,  $p=0,0000$ , що вказує на залежність рівнів ЦІК від приналежності пацієнта до тієї чи іншої групи, тобто знаходження у відповідній залежності від тяжкості чи активності захворювання. При міжгруповому порівнянні була встановлена достовірна різниця між пацієнтами з БА та дітьми з групи контролю ( $p_{к-1} < 0,001$ ;  $p_{к-2} < 0,001$ ;  $p_{к-3} < 0,001$ ). MW Test продемонстрував достовірну різницю між групами пацієнтів з астмою ( $p_{1-3}=0,0008$ ;  $p_{2-3}=0,0050$ ) окрім  $p_{1-2}=0,7394$ .

Визначення рівнів ЦІК в крові дозволяє оцінити не тільки активність захворювання, але й є маркером порушень захисної реакції імунної системи, що також узгоджується із дослідженням Лагода Д. О. (2019).

У обстежених 1-ої, 2-ої та 3-ої груп встановлено підвищення рівнів IgA, IgM та зниження рівнів IgG у пацієнтів 2-ї та 3-ї груп, що, скоріш за все, вказує на зміни у системі імунорегуляції. Допустимо, що підвищення рівнів IgA являється компенсаторною відповіддю, спрямованою на підвищення захисної реакції слизових оболонок дихальних шляхів під впливом

респіраторних алергенів, з урахуванням функції IgA. IgM вважається маркером первинної імунної відповіді, бо саме він належить до класу антитіл, які в процесі еволюції з'явилися першими та першими синтезуються у відповідь на первинну антигенну стимуляцію. Тому можна припустити, що у пацієнтів які були обстежені, не спостерігається порушення імунної відповіді на первинний контакт з подразником.

IgG відноситься до класу антитіл, які приймають участь у нейтралізації бактеріальних токсинів, стимуляції фагоцитозу, антитілозалежній клітинній цитотоксичності, зв'язуванні білків системи комплементу та є головною складовою вторинної імунної відповіді. Зниження рівнів IgG розцінюється науковою спільнотою, як прояв транзиторного імунодефіцитного стану, що ймовірно має місце у пацієнтів з бронхіальною астмою, як один із проявів хронічного запального процесу.

У обстежених дітей усіх груп з БА виявлені високі рівні IgE. Максимально високі рівні IgE у обстежених із групи з тяжкою астмою. При міжгруповому порівнянні встановлено достовірну різницю між пацієнтами з тяжкою БА та легкою і середньої тяжкості ( $p_{1-2}=0,0345$ ;  $p_{1-3}=0,0038$ ).

Високий рівень показників IgE підтверджує ступінь алергічної сенсibilізації організму, алергічну спрямованість захворювання з активацією домінуючого впливу Th2 клітин на імунну відповідь при астмі.

У результаті дослідження було виявлено вагомні аргументи причетності гуморальної ланки імунітету до формування патогенетичної ланки бронхіальної астми по типу гіперергічної реакції з участю відповідних класів імуноглобулінів, синтез яких ініціюється відповідними алергенами внаслідок активації фагоцитозу. Але індукція фагоцитозом гуморальної ланки імунітету дасть синтез специфічних антитіл тільки в разі впливу на В-лімфоцити відповідних Т-лімфоцитів клітинної ланки імунітету. Одержані нами дані стану клітинної ланки імунітету представлені в таблиці 4.3.

Таблиця 4.3.

**Статистичні характеристики показників стану клітинного імунітету у дітей в періоді загострення БА, (Me (Lq; Uq))**

Показники	Діти з БА			Група контролю (n=13)
	1-ша група (n=59)	2-га група (n=10)	3-тя група (n=12)	
1	2	3	4	5
CD3, абс. x10 <sup>9</sup> /л	2,2 (1,8;2,8)	2,4 (2,1;2,7)	2,45 (2,05;3,0)	1,6 (1,4;1,8)
KW: H=17,4347 p=0,0006, MW: p <sub>1-2</sub> =0,1690; p <sub>1-3</sub> =0,1484; p <sub>2-3</sub> =0,8170; p <sub>к-1</sub> =0,0017; p <sub>к-2</sub> =0,0001; p <sub>к-3</sub> =0,0003				
CD3,%	69,0 (62,0; 75,0)	71,0 (69,0; 74,0)	63,0 (59,5; 65,5)	70,0 (67,0;73,0)
KW: H=12,6848 p=0,0054, MW: p <sub>1-2</sub> =0,5050; p <sub>1-3</sub> =0,0031; p <sub>2-3</sub> =0,0015; p <sub>к-1</sub> =0,7693; p <sub>к-2</sub> =0,4186; p <sub>к-3</sub> =0,0004				
CD4, абс. x10 <sup>9</sup> /л	1,4 (1,0;1,8)	1,7 (1,5;2,1)	1,35 (1,15;1,6)	0,9 (0,8;1,0)
KW: H=19,8500 p=0,0002, MW: p <sub>1-2</sub> =0,0813; p <sub>1-3</sub> =0,9264; p <sub>2-3</sub> =0,1554; p <sub>к-1</sub> =0,0001; p <sub>к-2</sub> =0,0018; p <sub>к-3</sub> =0,0001				
CD4,%	48,0 (39,0; 52,0)	43,5 (40,0; 47,0)	38,0 (35,5; 40,5)	37,0 (35,0; 39,0)
KW: H=21,7516 p=0,0001, MW: p <sub>1-2</sub> =0,1666; p <sub>1-3</sub> =0,0014; p <sub>2-3</sub> =0,0318; p <sub>к-1</sub> =0,0003; p <sub>к-2</sub> =0,0089; p <sub>к-3</sub> =0,4599				
CD8, абс. x10 <sup>9</sup> /л	1,0 (0,8;1,1)	1,1 (1,0;1,3)	1,45 (1,07;1,75)	0,7 (0,7;0,8)

## Продовження таблиці 4.3.

KW: H=24,6228, p=0,0000, MW: p <sub>1-2</sub> =0,1139; p <sub>1-3</sub> =0,0011; p <sub>2-3</sub> =0,0683; p <sub>K-1</sub> =0,0016; p <sub>K-2</sub> =0,0008; p <sub>K-3</sub> =0,0001				
CD8,%	32,0 (29,0; 36,0)	29,5 (27,0; 33,0)	35,0 (29,5; 38,5)	30,0 (28,0; 32,0)
KW: H=7,6175, p=0,0546, MW: p <sub>1-2</sub> =0,0553; p <sub>1-3</sub> =0,3133; p <sub>2-3</sub> =0,0596; p <sub>K-1</sub> =0,0766; p <sub>K-2</sub> =0,7086; p <sub>K-3</sub> =0,0716				
CD4/CD8 (IRI)	1,4 (1,25; 1,7)	1,54 (1,25; 1,8)	1,02 (0,9;1,14)	1,2 (1,12; 1,25)
KW: H=25,0246, p=0,0000, MW: p <sub>1-2</sub> =0,3264; p <sub>1-3</sub> =0,0000; p <sub>2-3</sub> =0,0037; p <sub>K-1</sub> =0,0011; p <sub>K-2</sub> =0,0099; p <sub>K-3</sub> =0,0337				
CD16,абс. x10 <sup>9</sup> /л	0,5 (0,4;0,6)	0,7 (0,6;0,8)	0,55 (0,45;0,8)	0,28 (0,21;0,32)
KW: H=31,6830, p=0,0000, MW: p <sub>1-2</sub> =0,0047; p <sub>1-3</sub> =0,1765; p <sub>2-3</sub> =0,2160; p <sub>K-1</sub> =0,0000; p <sub>K-2</sub> =0,0000; p <sub>K-3</sub> =0,0000				
CD16,%	17,0 (12,0; 20,0)	19,5 (16,0; 22,0)	21,0 (18,5; 24,0)	12,0 (10,0; 14,0)
KW: H=23,6840, p=0,0000, MW: p <sub>1-2</sub> =0,1854; p <sub>1-3</sub> =0,1765; p <sub>2-3</sub> =0,2202; p <sub>K-1</sub> =0,0010; p <sub>K-2</sub> =0,0017; p <sub>K-3</sub> =0,0000				

Такі показники як CD3 абс., CD4 абс., CD8 абс., CD16 та IRI при проведенні статистичної обробки за допомогою тесту Краскла-Уолліса демонструють статистичну значущу різницю між групами. Та при проведенні міжгрупових порівнянь показники істотно відрізняються у пацієнтів всіх

груп з астмою у порівнянні з групою контролю, але майже не відрізняються між собою.

Такі результати вказують на загальне збільшення показників клітинного імунітету у пацієнтів з БА не залежно від приналежності до тієї чи іншої групи.

Розглядаючи кожний із досліджених показників стану клітинного імунітету у дітей з БА, було виявлено підвищення рівнів CD3 абс. у дітей всіх груп з БА по відношенню до групи контролю. Беручи до уваги, що CD3 характеризує загальну популяцію Т-лімфоцитів, їх підвищення може свідчити про гіперактивність імунітету, яке зустрічається при гострих чи хронічних процесах в організмі. Встановлене у пацієнтів з БА збільшення Т-хелперів (CD4) ( $p < 0,05$ ) та Т-супресорів (CD8) ( $p < 0,05$ ), свідчить про збільшення напруженості імунітету. Ураховуючи те, що субпопуляція CD4 є індуктором імунної реактивності, яка регулює силу імунної відповіді на подразник, можна припустити, що їх збільшення сприяє більш вираженій імунній відповіді за рахунок збільшення продукції імуноглобулінів. У той же самий час, збільшення CD8 перешкоджає розвитку адекватної клітинної імунної відповіді (специфічної і неспецифічної), чим можна пояснити більшу вираженість патологічного процесу (найвищі рівні CD8 у пацієнтів з важкою астмою).

Важливим показником оцінки функціонального стану імунної системи є імунорегуляторний індекс (IRI), який являє собою співвідношення між CD4 та CD8 (CD4:CD8). Завдяки IRI можна зрозуміти, який різновид Т-клітин найбільш активний. При підвищеному функціонуванні активності Т-супресорів виникає зниження імунітету, а при переважанні активності Т-хелперів - аутоімунні реакції проти власних тканин організму. У результаті розрахунку виявлено збільшення IRI у пацієнтів 2 групи ( $p < 0,05$ ) та зменшення – у пацієнтів 3 групи ( $p < 0,05$ ). Депресія імунорегуляторного індексу у пацієнтів з важкою астмою вказує на наявність вторинного імунодефіциту на тлі хронічного запалення та тривалого прийому великих

доз глюкокортикостероїдів, а його підвищення у пацієнтів з середньо важкою астмою – на активність запального процесу.

Підвищення рівнів абсолютних та відсоткових CD16 у пацієнтів всіх груп з бронхіальною астмою, розцінено нами як прояви активності запального процесу.

#### **4.2. Характеристика фагоцитарної функції нейтрофілів у дітей з бронхіальною астмою**

Окисно-відновні реакції, до яких відноситься травлення, дихання, відіграють чи не найважливішу роль при утворенні власних полімерних компонентів, забезпечуючи організм структурними складовими та енергією. У результаті цих реакцій в організмі безперервно проходить утворення активних форм кисню (АФК) — вільні оксигеновмісні радикали:  $\cdot\text{O}-\text{O}^-$  — надоксидний радикал,  $\text{HO}\cdot$  — гідроперосидний радикал,  $\cdot\text{OH}$  — радикал гідроксилу, гідрогену пероксид —  $\text{H}_2\text{O}_2$  та синглетний кисень —  $^1\text{O}_2$  [155]. АФК відіграють важливу роль у різноманітних біохімічних та фізіологічних процесах: регуляції тонуусу судин, клітинній проліферації, синтезі простагландинів, передачі сигналів від міжклітинних сигнальних молекул на регуляторні системи, які контролюють експресію генів, мікробоцидній дії фагоцитів. Основними генераторами АФК у людини є фагоцитуючі клітини: гранулоцити, моноцити, макрофаги, нейтрофіли, еозинофіли. Мембрани фагоцитів містять ферментативний комплекс - НАДФН-оксидазу (нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат-оксидазу).

Активація НАДФН-оксидази у фагоцитах відбувається під впливом прозапальними цитокінами ( $\text{IFN-}\gamma$ ,  $\text{TNF-}\alpha$ ,  $\text{TGF-}\beta$ ,  $\text{IL-1}$ , 7) та деяких ростових факторів, і супроводжується надлишкового утворення  $\text{O}_2^-$ , так званім «кисневим/респіраторним вибухом». У нейтрофілах 90% кисню відновлюється до  $\text{O}_2^-$ . Утворений  $\text{O}_2^-$  є попередником широкого спектру реакційно здатних оксидантів, які є потужними противірусними,

протибактерійними і протипухлинними чинниками. Науці відомо, що АФК, індукують різні біологічні процеси, включаючи загибель клітин.

Для покращення знань щодо порушення імунної відповіді у дітей з БА та поглибленого дослідження фагоцитарної ланки імунітету, а саме фагоцитарної функції нейтрофілів, було обстежено 35 дітей (26 пацієнтів зі встановленим діагнозом бронхіальної астми (БА) різних ступенів тяжкості та 9 практично здорових дітей з групи контролю ).

Відомо, що нейтрофіли або нейтрофільні гранулоцити (НГ)— це один з видів лейкоцитів , які відіграють одну з ключових ролей у запаленні дихальних шляхів та складають першу лінію неспецифічного імунного захисту, завдяки ролі фагоцитуючих клітин. Здатність нейтрофілів генерувати АФК характеризує функціональну активність і можливість здійснення саме завершеного фагоцитозу [20].

В останні роки приділяється велика увага ролі нейтрофілів при астмі, і як показнику тяжкості та стероїдорезистентності (науковці в своїх роботах демонструють пропорційне збільшення нейтрофілів відносно ступеню тяжкості астми), і як маркеру функціональних можливостей неспецифічного імунітету [50].

Проводячі дисперсійний аналіз статистичних характеристик показників функціональної активності нейтрофілів у сироватці крові хворих на бронхіальну астму було з'ясовано, що критерій Краскла-Уолліса (H) за такими параметрами як, MFI of DCF, 7-AAD-negative granulocytes (кількість АФК, продукованих життєздатними нейтрофілами, у.о.) (H= 15,85; p= 0,0012 ) та 7-AAD positive granulocytes (відсоток некротизованих нейтрофілів) (H= 13,54; p= 0,0036) високо значущий (табл. 4.4, рис.4.1). Це дає можливість стверджувати, що статистичні характеристики даних показників у різних групах статистично значуще відрізняються між собою, а їх рівень залежить від належності пацієнтів до тієї чи іншої групи, тобто від тяжкості БА.

Таблиця 4.4.

**Статистичні характеристики показників функціональної активності  
нейтрофілів у хворих на бронхіальну астму,  
Me (Lq; Uq)**

Показники	Діти з бронхіальною астмою			Контроль (Група 4) n = 9
	Легка астма (група 1) n = 12	Середньотяжка астма (група 2) n = 7	Тяжка астма (група 3) n = 7	
MFI of DCF, 7-AAD- negative granulocytes, y.o.	393,0 (353,0; 457,0)	355,0 (290,0; 411,0)	274,0 (204,0; 283,0)	416,0 (389,5; 443,5)
KW: H= 15,85; p= 0,0012 MW: p <sub>1-3</sub> – 0,0003; p <sub>2-3</sub> – 0,0017; p <sub>3-к</sub> – 0,0150.				
7-AAD positive granulocytes , %	8,40 (4,65; 23,55)	9,80 (9,30; 14,90)	2,40 (1,10; 1,30)	9,00 (3,95; 18,50)
KW: H= 13,54; p= 0,0036 MW: p <sub>1-3</sub> – 0,0009; p <sub>2-3</sub> – 0,0017; p <sub>3-к</sub> – 0,0177.				

Примітка: KW — Kruskal-Wallis test; Me (Lq; Uq) — median (lower quartile; upper quartile); MW— Mann-Whitney test; p significant with the Bonferroni correction.

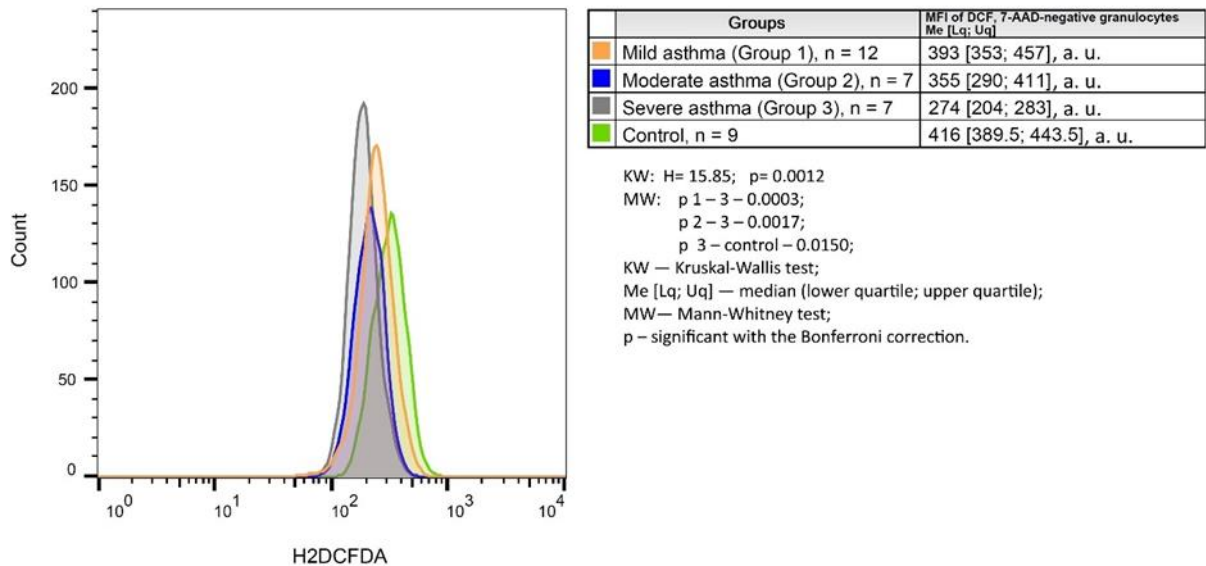


Рисунок 4.1. Репрезентативні гістограми, що демонструють флуоресценцію дихлорфлуоресцеїну (DCF) у закритій популяції життєздатних гранулоцитів, отриманих від пацієнтів з легкою, помірною та тяжкою астмою, а також здорових осіб. Астма асоціюється зі зменшенням флуоресценції DCF у гранулоцитах, що свідчить про зниження внутрішньоклітинних рівнів активних форм кисню (АФК).

У дослідженні виявлено, що пацієнти групи контролю демонструють найвищі показники продукції АФК гранулоцитами.

При порівнянні рівнів АФК у гранулоцитах у дітей групи з тяжким перебігом БА та легким, середньої тяжкості і контролем було визначено вірогідне їх зменшення (див.таб. 4.4., див.рис.4.1.). Між рівнями цього показника у пацієнтів з легким та середньо тяжким ступенями БА достовірної різниці не було ( $p > 0,05$ ).

Результатом статистичного аналізу стало виявлення достовірного зниження відсотка некротизованих гранулоцитів (нейтрофілів) у пацієнтів з тяжкою персистою БА, у порівнянні з групою контролю ( $p < 0,05$ ) (рис.4.2.).

При порівнянні зазначеного показника у пацієнтів з легкою БА та середньої тяжкості з контролем та між собою статистично достовірної різниці виявлено не було (усі  $p > 0,05$ ). Отримані результати, враховуючи те, що нейтрофіли є одними із представників фагоцитуючих клітин, нами було розцінено, як імовірний показник порушення процесів фагоцитозу НГ. Наслідком дисфункції фагоцитозу є погіршення процесів утилізації пошкоджених хронічним запальним процесом тканини легень та гальмування процесів відновлення.

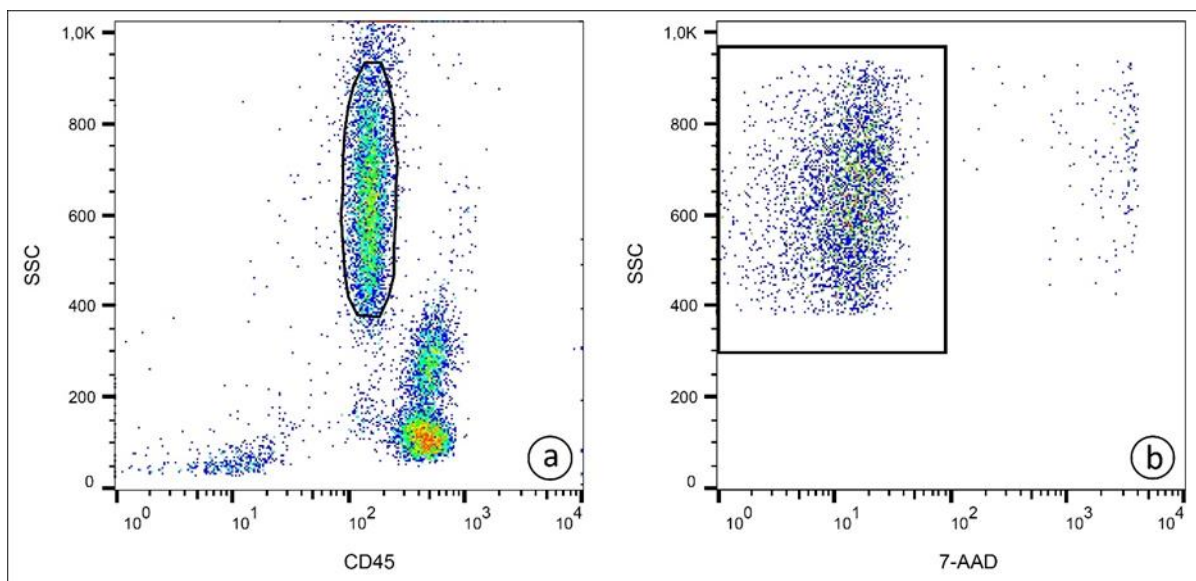


Рисунок.4.2. Репрезентативні зображення, які показують стратегію гейтингу, що використовується для виділення субпопуляції гранулоцитів у популяції CD45-позитивних клітин (SSC/FL6 дотплот, панель а) та життєздатних клітин, негативно забарвлених ДНК-інтеркалятором 7-аміноактиноміцином D (панель b).

Підтвердженням цієї тези можна вважати те, що при проведенні оцінки результатів функції зовнішнього дихання, яка є одним із основних критеріїв діагностики БА, у обстежених дітей з БА, достовірно значущім був Н критерій тесту Крaskла-Уолліса за такими показниками як ФЖЕЛ, ОФВ-1,

ОФВ1/ФЖЕЛ, ПШВ, МОШ-25, МОШ-50, МОШ-75 (таб.4.5.). Ураховуючи розподіл по групам в залежності від тяжкості БА, можна говорити, що рівні цих параметрів залежать від приналежності пацієнта до тієї чи іншої групи. Максимально низькі рівні вищеперерахованих показників асоціювалися з тяжчим перебігом БА. Такі результати вказують на наявність обструктивних порушень дистальних відділів трахіобронхіального дерева. Також відмічалась позитивна кореляційна залежність між рівнями АФК у 7AAD-негативних гранулоцитах та ОФВ-1, ОФВ1/ФЖЕЛ, ПШВ: ОФВ-1 ( $r = 0,6394$ ,  $p < 0,05$ ); ОФВ1/ФЖЕЛ ( $r = 0,7322$ ,  $p < 0,050$ ); ПШВ ( $r = 0,6387$ ,  $p < 0,050$ ); відсотком мертвих некротичних гранулоцитів та ОФВ-1, ПШВ: ОФВ-1 ( $r = 0,5209$ ,  $p < 0,05$ ); ПШВ ( $r = 0,6538$ ,  $p < 0,050$ ). Отримані дані вказують на зв'язок між легшим ступенем бронхіальної астми, збереженою функцією легень та високими рівнями АФК у гранулоцитах і відсотками мертвих гранулоцитів. Подібні результати були висвітлені у наукових працях щодо контрольованої та неконтрольованої тяжкої БА [156].

Таблиця 4.5.

**Статистичні характеристики показників функції зовнішнього дихання у дітей з БА (Me (Lq; Uq))**

Показники	Діти з БА		
	1-ша група (n=12)	2-га група (n=7)	3-тя група (n=7)
1	2	3	4
ФЖЕЛ,%	92,0 (86,0;100,0)	82,0 (76,0; 87,0)	71,0 (62,0; 89,0)
KW: H= 7,751; p= 0,0207 MW: p <sub>1-2</sub> – 0,0343; p <sub>1-3</sub> – 0,0179; p <sub>2-3</sub> – 0,4062.			
ОФВ-1,%	104,0 (101,0; 122,5)	100,0 (89,0; 104,0)	78,0 (73,0; 78,0)
KW: H= 16,286; p= 0,0003 MW: p <sub>1-2</sub> – 0,0684; p <sub>1-3</sub> – 0,0003; p <sub>2-3</sub> – 0,0026.			

## Продовження таблиці 4.5.

ОФВ1/ФЖЕЛ	107,5 (106,5; 110,5)	102,0 (95,0; 104,0)	92,0,0 (89,0; 97,0)
KW: H= 16,696; p= 0,0002 MW: p <sub>1-2</sub> – 0,0060; p <sub>1-3</sub> – 0,0004; p <sub>2-3</sub> – 0,0350.			
ПШВ,%	106,0 (104,5; 118,5)	104,0 (80,0; 109,0)	61,0 (42,0; 69,0)
KW: H= 14,674; p= 0,0007 MW: p <sub>1-2</sub> – 0,2892; p <sub>1-3</sub> – 0,0004; p <sub>2-3</sub> – 0,0040.			
МОШ-25,%	86,0 (78,0; 95,5)	93,0 (80,0; 98,0)	39,0 (29,0; 87,0)
KW: H= 7,0420; p= 0,0296 MW: p <sub>1-2</sub> – 0,3738; p <sub>1-3</sub> – 0,0383; p <sub>2-3</sub> – 0,0149.			
МОШ-50,%	81,5 (78,5; 90,5)	91,5 (87,0; 99,0)	67,0 (45,0; 79,0)
KW: H= 13,302; p= 0,0013 MW: p <sub>1-2</sub> – 0,0515; p <sub>1-3</sub> – 0,0076; p <sub>2-3</sub> – 0,0017.			
МОШ-75,%	85,0 (81,0; 91,0)	81,0 (75,0; 103,0)	61,0 (56,0; 82,0)
KW: H= 8,503; p= 0,0142 MW : p <sub>1-2</sub> – 0,3094; p <sub>1-3</sub> – 0,0058; p <sub>2-3</sub> – 0,0474.			

Примітки: ФЖЕЛ - форсована життєва ємність легень; ОФВ-1 - об'єм форсованого видиху за першу секунду; ОФВ1/ФЖЕЛ - індекс Тіффно; МОШ-25, МОШ-50, МОШ-75 - максимальна об'ємна швидкість видиху.

### 4.3. Діагностично-прогностичні показники формування тяжкого ступеня бронхіальної астми у дітей

З метою детального дослідження зв'язків між рівнями АФК і % некротизованих нейтрофілів та розвитком тяжкого ступеня БА у дітей використано процедуру ROC-аналізу. Визначали рівні АФК та відсоток некротизованих нейтрофілів у лейкоконцентраті з позиції ймовірного формування тяжкого ступеня БА у дітей. Метою, при побудові характеристичних кривих, було визначити, ті рівні АФК та відсотку некротизованих нейтрофілів, які достовірно передбачають формування тяжкого ступеня захворювання у дітей, хворих на бронхіальну астму.

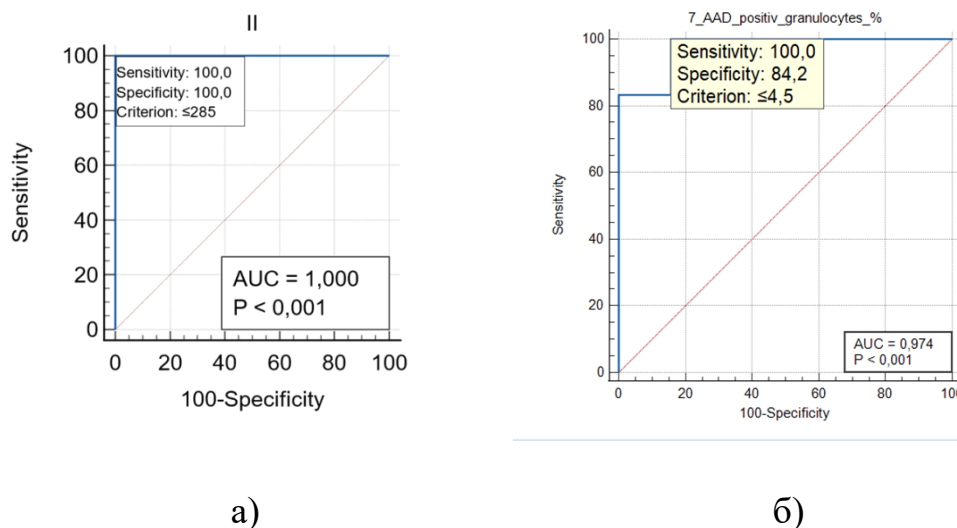


Рисунок. 4.3. Характеристична крива для рівнів АФК (а) та відсотку некротизованих нейтрофілів (б) у пацієнтів, хворих на бронхіальну астму.

Примітки: (тут та далі в таблицях і рисунках) Sensitivity – чутливість методу; Specificity – специфічність методу.

У результаті аналізу виявлено, що рівні АФК та відсоток некротизованих нейтрофілів у пацієнтів в періоді загострення БА нижче ніж: АФК - 285 у.о та % некротизованих гранулоцитів 4,5% передбачають

формування тяжкого ступеня БА з чутливістю 100,0% та специфічністю 100,0% і чутливістю 100,0% та специфічністю 84,2% відповідно (рис. 4.3.).

При побудові характеристичних кривих у ROC-моделі виявлено, що вони не перетинають контрольну діагональ та забезпечувала чутливість та специфічність на рівні понад 50%, мають відмінну якість моделі ( $AUC_{АФК} = 1,000$ ,  $AUC_{\%HH} = 0,974$ ) та рівень статистичної значущості  $p < 0,001$ . У підсумку можна сказати, що рівні АФК, які продукуються нейтрофілами, та відсоток некротизованих гранулоцитів у пацієнтів, хворих на БА в періоді загострення нижчі за 285 у.о та 4,5 % відповідно можна використовувати для прогнозування формування тяжкого ступеня БА у дітей.

#### **4.4. Особливості функціонування та взаємодії кореляційних систем показників стану імунітету, ендотеліальної функції та анамнестичними даними**

При аналізі кореляційних зв'язків між рівнями АФК у гранулоцитах з показниками клітинної, гуморальної та фагоцитарної ланок імунітету імунітету було виявлено наступне (рис.4.4.).

Високі рівні АФК мають середньої сили прямий кореляційний зв'язок з фагоцитарним числом (ФЧ) ( $r = 0,532$ ,  $p < 0,05$ ), яке є одним із основних показників при оцінці фагоцитарної активності нейтрофілів. Такі результати демонструють залежність рівня «оксидативного стресу» від активної участі нейтрофілів в процесі фагоцитозу.

Прямий, середньої сили кореляційний зв'язок рівнів АФК з індексом активності нейтрофілів (ІАН) вірогідно вказує на зниження напрацювання АФК нейтрофілами на тлі зниження їх активної участі в процесі фагоцитозу ( $r = 0,604$ ,  $p < 0,05$ ).

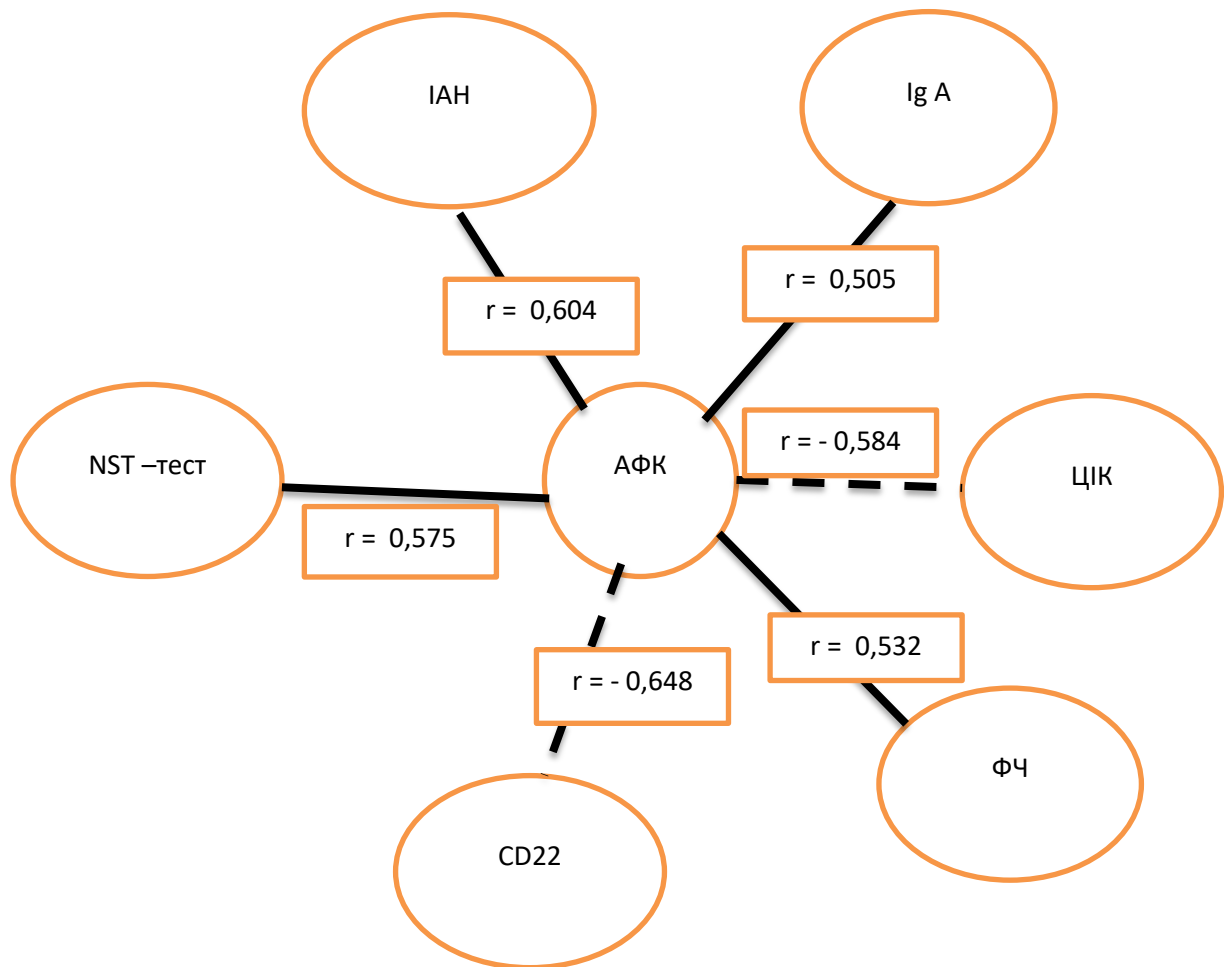


Рисунок 4.4. Кореляційний зв'язок між рівнями АФК у гранулоцитах з показниками клітинної, гуморальної та фагоцитарної ланок імунітету.

Низькі значення NST –тесту у хворих на БА демонструють кореляційний зв'язок зі зниженими рівнями АФК, що вірогідно вказує на зниження здатності нейтрофілів до заключного фагоцитозу та порушення неспецифічного захисту ( $r = 0,575$ ,  $p < 0,05$ ).

Виявлена пряма кореляційна залежність середньої сили між рівнями АФК та Ig A демонструє те, що контакт слизових оболонок ТБД з подразником відповідає адекватною імунною відповіддю, за рахунок напрацювання підвищеного рівня Ig A, а також характеризується активним напрацювання АФК нейтрофілами ( $r = 0,505$ ,  $p < 0,05$ ).

Зворотній кореляційний зв'язок між CD22 та рівнем АФК у гранулоцитах, демонструє вірогідну залежність активності стану гуморального імунітету у дітей, хворих на БА, за рахунок виявленої загальної тенденція до підвищення його показників, від функціональної активності нейтрофілів ( $r = -0,648$ ,  $p < 0,05$ ).

Кореляційний аналіз між рівнями ЦК та АФК виявив зворотню середньої сили залежність між ними, що, беручи до уваги те, що ЦК в крові є маркером порушень захисної реакції імунної системи дозволяє стверджувати про активну участь нейтрофілів у процесах захисту організму ( $r = -0,584$ ,  $p < 0,05$ ).

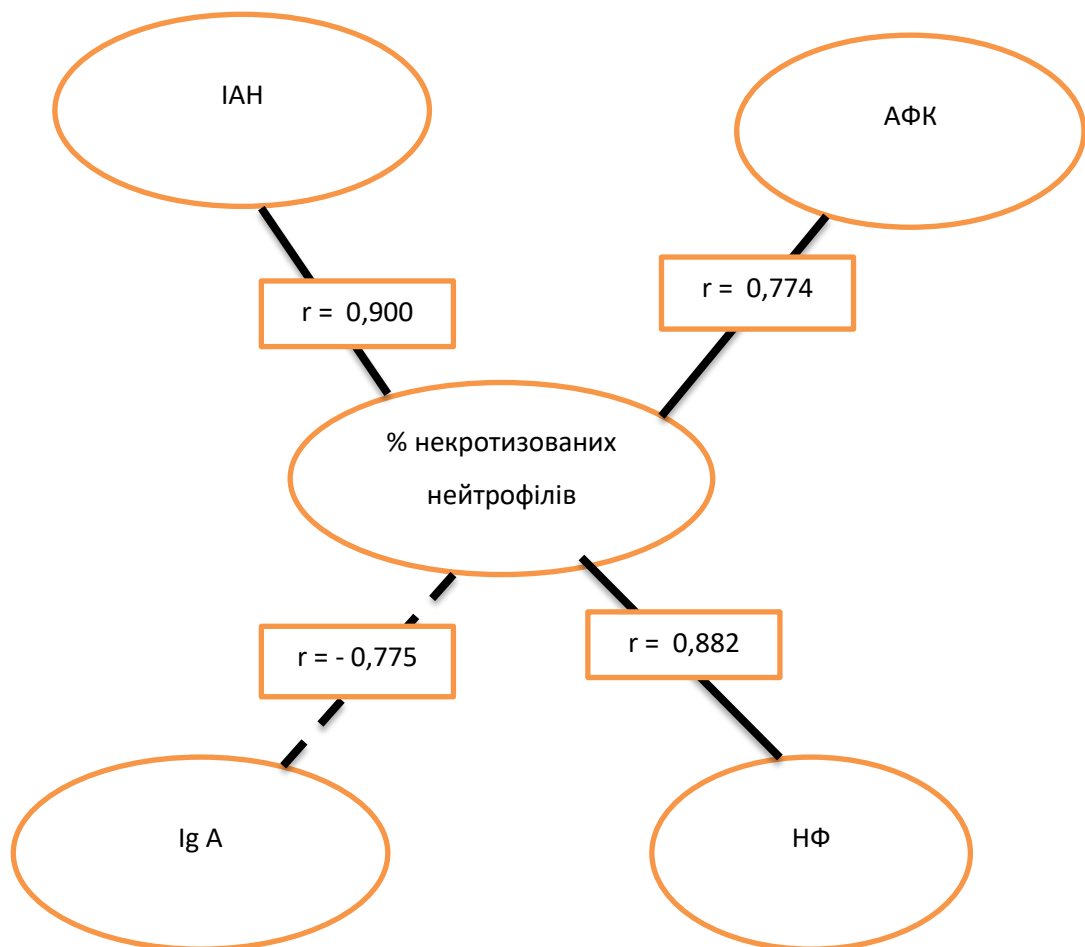


Рисунок 4.5. Кореляційний зв'язок між відсотком мертвих некротичних гранулоцитів (нейтрофілів) клітинної, гуморальної та фагоцитарної ланок імунітету.

При обчисленні кореляційних зв'язків між відсотком мертвих некротичних гранулоцитів (нейтрофілів) клітинної, гуморальної та фагоцитарної ланок імунітету було виявлено наступне (рис.4.5.).

Прямий кореляційний зв'язок між відсотком мертвих некротичних гранулоцитів та рівнями АФК ( $r = 0,774$ ,  $p < 0,05$ ). імовірно вказує на те, що високі рівні обох показників характерні для нормального перебігу «оксидативного стресу» та утилізації пошкоджених клітин шляхом некрозу та тлі початкових рівнів запального процесу.

Прямі сильні кореляційні зв'язки між відсотком мертвих некротичних гранулоцитів та НФ ( $r = 0,882$ ,  $p < 0,05$ ) і ІАН ( $r = 0,900$ ,  $p < 0,05$ ), достовірно демонструють збереження функціональної активності нейтрофілів в процесі імунного захисту та фагоцитозу.

Відсоток некротизованих нейтрофілів асоціюється зі зниженням захисних можливостей слизових оболонок ТБД, про що свідчить зворотній кореляційний зв'язок з рівнем Іg А ( $r = - 0,775$ ,  $p < 0,05$ ).

Аналіз кореляцій виявив вірогідні зв'язки між рівнями АФК та ФВ, ІL 2, ІL4, ІFN- $\gamma$  у пацієнтів, хворих на бронхіальну астму.

Виявлений негативний кореляційний зв'язок між рівнями АФК та ФВ у сироватці крові дітей з бронхіальною астмою ( $r = - 0,599$ ,  $p < 0,05$ ). Такі дані дають змогу припустити, що пошкоджені клітини судинної стінки, про що сигналізують високі рівні ФВ, асоціюються із погіршенням кисневозалежних захистих механізмів імунної системи.

Процес поглиблення хронічного алергічного захисту, про свідчать підвищені рівні ІL4, відображені у негативному кореляційному зв'язку з функціональною можливістю нейтрофілів напрацьовувати АФК ( $r = -0,575$ ,  $p < 0,05$ ).

Прямий кореляційний зв'язок між такими показниками, як ІFN- $\gamma$  та АФК ( $r = 0,627$ ,  $p < 0,05$ ), імовірно вказую на залежність порушення у системі Th-1 лімфоцитів.

## Висновки до розділу 4

Імунологічне дослідження є паспортом імунного статусу хворого. Правильна інтерпретація показників імунограми дозволяє встановити характер і ступінь порушень імунних відповідей у пацієнта, виявити вагомні маркерні показники, а це, в свою чергу, дозволить вірно призначити терапію.

Проведення імунологічного обстеження пацієнтів виявило значні зміни стану клітинного, гуморального імунітету та фагоцитарної імунної ланки, як серед пацієнтів всієї вибірки (81 дитина з БА), так і серед пацієнтів з поглибленим вивчення фагоцитарної ланки імунітету (26 дітей з БА). Із найбільш скомпроментованим імунним статусом виявилися хворі з тяжким перебігом БА.

Проведене оцінювання гуморальної ланки імунітету дозволило визначити: загальну тенденцію до підвищення показників гуморального імунітету (CD22 абс.); серед пацієнтів 1-ої та 2-ої груп збережена здатність до імунної відповіді; виражену гостроту запального процесу у пацієнтів з важкою астмою (за рівнями ЦІК), збереження імунної відповіді при первинному контакті з подразником (IgM) у всіх хворих на БА; наявність транзиторного імунодефіциту у пацієнтів з важкою астмою (IgG).

Дослідження виявило, що виявлені зміни у клітинній ланці імунітету, особливо знижені рівні імунорегуляторного індексу, вказують на наявність у пацієнтів з тяжкою астмою проявів вторинного імунодефіциту на тлі хронічного запалення та тривалого прийому великих доз глюкокортикостероїдів. У пацієнтів із середньотяжкою астмою підвищені рівні імунорегуляторного індексу, вказують на рівень активності запального процесу.

Аналіз оцінки показників фагоцитарної ланки імунітету виявив ознаки зниження функціональності неспецифічного імунного захисту, проявом

якого стало зниження кількості фагоцитуючих клітин та їх здатності до завершеного фагоцитозу.

Для поглибленого вивчення функціонального стану фагоцитарної ланки імунітету були обрані нейтрофільні гранулоцити (НГ), а саме їх здатність до продукції АФК та загибель шляхом некрозу. Дані які було одержано виявилися дискутабельними враховуючи, що більшість літературних даних описує поглиблення оксидативного стресу на тлі підвищеної продукції АФК нейтрофілами та збільшення кількості некротизованих нейтрофілів у пацієнтів з тяжкою астмою. Наші ж дані виявилися координально протилежними – ці показники виявилися найвищими у групи контролю, та найнижчими у обстежених з тяжким перебігом БА.

Із одного боку отримані результати вказували на дисфункції фагоцитозу та погіршення процесів утилізації пошкоджених хронічним запальним процесом тканини легень та гальмування процесів відновлення, демонстрували зв'язок з функцією легень та рівнем фагоцитуючих нейтрофілів, а з іншого боку не було виявлено підтвердження, що саме за рахунок цих фагоцитуючих клітин порушена фагоцитарна ланка імунітету.

Все вищеперераховане, безумовно, потребує подальшого та більш детального вивчення.

Основні результати дослідження та його положення, які викладені в цьому розділі, апробовані на конгресах та конференціях, що знайшло відображення в наступних публікаціях:

1. Andrushchenko V.V. The level of reactive oxygen species as a marker of asthma severity in children / Nataliia I. Makieieva, Vira V. Andrushchenko, Valeriia M. Malakhova, Anton S. Tkachenko, Anatolii I. Onishchenko, Valentin V. Polyakov, Ludmyla A. Vygivska // Wiadomości Lekarskie Medical Advances, VOLUME LXXVI, ISSUE 1. - 2023, p. 205 – 212. (Здобувач особисто провів

літературний огляд, виконав підбір хворих, провів діагностичні дослідження маркерів, статистично опрацював та проаналізував дані, підготував статтю до друку).

2. Андрущенко В.В. Особливості окислювального стресу у дітей з бронхіальною астмою / Н.І. Макєєва, В.В. Андрущенко, В.В. Поляков // Науково-практичної онлайн-конференції з міжнародною участю «Проточна цитометрія в експериментальній та клінічній медицині», Харків, 29-30 квітня 2021 р / ХНМУ. – Харків, 2021. – С.17.6. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, статистично опрацював, проаналізував й узагальнив дані).

3. Андрущенко В.В. Вклад нейтрофілів в окислювальний стрес при бронхіальній астмі у дітей / Андрущенко В.В., Макєєва Н.І., Поляков В.В // «Актуальні проблеми в педіатрії». Матеріали XV конгресу педіатрів України, Київ, 12-13 жовтня 2021 року / Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології - 2021 Том14 №1 с 7-8. (Здобувачем зроблено підбір хворих, статистичне обчислення, аналіз й узагальнення даних).

4. Андрущенко В.В. Внесок нейтрофільних гранулоцитів в запальний процес при бронхіальній астмі у дітей / В.В. Андрущенко // „Актуальні питання клінічної медицини” Матеріали XVI Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених, Запоріжжя, 24-25 листопада / ЗМАПО. – Запоріжжя, 2022, С. 11 - 13. (Здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, статистичну обробку та аналіз отриманих даних, сформульовані висновки).

5. Andrushchenko V.V. Necrosis of neutrophil granulocytes in children with asthma. / Andrushchenko Vira // online International Scientific Interdisciplinary Conference ISIC-2022 for medical students and young scientists Kharkiv National Medical University, Kharkiv, 23th-24th November / Kharkiv National Medical University. – Kharkiv, 2022, p. 200-201. (Здобувачем проведено відбір та клінічне обстеження хворих, статистичну обробку та аналіз отриманих даних).

6. Andrushchenko V.V. Clinical possibilities of flow cytometry in the study of asthma. / Andrushchenko V.V., Makieieva N.I., Herasymenko Y.V. // Всеукраїнська науково-практична Internet-конференції з міжнародною участю "Клінічна фармація в Україні та світі", присвячена 30-річчю заснування кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету, Харків, 16-17 березня / НФУ. – Харків, 2023 р, с.147 – 148. (Здобувачем проведено відбір та клінічне обстеження хворих, набір клінічного матеріалу, статистичну обробку та аналіз отриманих даних, опрацювання інформаційних джерел).

7. Андрущенко В.В. Порушення фагоцитарної ланки імунітету у дітей з бронхіальною астмою / В.В. Андрущенко // Науково-практична конференція з міжнародною участю "V Полтавські перинатальні читання ім. Н.М.Максимовича-Амбодика: «Новітні технології в перинатальній практиці, педіатричній службі, медичній освіті та виклики сьогодення". (Здобувачем проведено опрацювання інформаційних джерел, набір клінічного матеріалу, статистичну обробку та аналіз отриманих даних, підготовано стендову доповідь).

## РОЗДІЛ 5

### ХАРАКТЕРИСТИКА СТАНУ ЦИТОКІНОВОГО ПРОФІЛЮ ТА ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ФУНКЦІЇ У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ

Невід'ємною часткою патогенетичного механізму бронхіальної астми (БА) є хронічний запальний процес, який зумовлений неспецифічними чи специфічними імунологічними (сенсibiliзація та алергія) механізмами. Формування запалення обов'язково пов'язане з дією цитокінів. Прозапальні інтерлейкіни починають синтезуватися першими (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , GM-CSF). Протизапальні інтерлейкіни (IL-4, IL-10, IL-13, TGF- $\beta$ ) приєднуються до запального процесу пізніше, і їх поява характеризує хронічний запальний процес, що призводить до ремоделювання дихальних шляхів з гіперплазією гладких м'язів бронхолегеневої системи.

Провідну роль у патогенезі БА сучасні науковці віддають IgE-опосередкованим алергічним реакціям, які призводять до розвитку алергічного запалення. Виникаюча під дією алергенів у хворих на БА підвищена продукція IgE В-лімфоцитами є наслідком проліферації та активації Th2-клона алергоспецифічних Т-лімфоцитів. Науковці вважають, що БА спричиняється аутоімунною відповіддю типу Th-2. Однак Т-лімфоцити диференціюються не тільки на Th2- клітини, а ще й Th-1. Ці дві складові є взаєморегулюючими.

Клітини Th1 секретують інтерлейкін-2 (IL-2) та інтерферон-гамма і регулюють класичні клітинно-опосередковані імунні відповіді (гіперчутливість уповільненого типу). Клітини Th2, що секретують інтерлейкін-4 (IL-4), сприяють гуморальним імунним відповідям, зокрема продукції IgE. Надмірна активність Th1-клітин чи Th2-клітин може призвести до аутоімунного захворювання, що пошкоджує тканини. Саме

тому, на сучасному етапі наукову спільноту цікавить не окремо взятий цитокін, а їх злагоджена взаємодія.

Відомо, що ІЛ-2-індукована передача сигналів під час раннього диференціювання клітин Th2 необхідна для підтримки підвищеної продукції ІЛ-4 і підвищеної чутливості до ІЛ-4, що дає змогу створити ІЛ-4-позитивну петлю ампліфікації зі зворотним зв'язком, яка зберігає фенотип клітин Th2.

Дослідження показують, що два цитокіни (ІЛ-4 та ІЛ-2) можуть взаємодіяти між собою, використовуючи одні й ті самі білки STAT, щоб або посилювати, або заважати один одному, формуючи інший результат, тим самим демонструючи важливість розуміння того, що цитокіни можуть впливати один на одного.

Тому залишається важливим продовження вивчення ролі цитокінів у процесі формування БА.

### **5.1. Рівні цитокінів ІЛ-2, ІЛ-4 та ІFN- $\gamma$ у сироватці крові дітей з бронхіальною астмою**

Множинне порівняння за допомогою тесту Краскла-Уоліса виявило наявність високих достовірних Н-критеріїв для ІЛ-2 (H=69,4637;  $p<0,001$ ), ІЛ-4 (H=69,4627;  $p<0,001$ ) та ІFN- $\gamma$  (H=69,1081;  $p<0,001$ ), що дозволило зробити висновки про наявність достовірної різниці цих показників у групах, а їх рівень залежить від приналежності до тієї чи іншої групи. Ураховуючи, що розподіл по групам проводився за ступенем тяжкості бронхіальної астми, можна зробити припущення, що рівні ІЛ-2, ІЛ-4 та ІFN- $\gamma$  залежать від ступеня тяжкості бронхіальної астми. При попарному порівнянні за допомогою тесту Манна-Уїтні визначено підвищення рівнів ІЛ-2, ІЛ-4 у дітей з бронхіальною астмою, у порівнянні з групою контролю, із максимальними рівнями у дітей з тяжкою астмою (усі  $p<0,001$ ). Розраховуючи відмінності рівнів ІFN- $\gamma$  між групами визначено зниження цього показника у дітей з бронхіальною

астмою, порівняно з групою контролю, із мінімальними рівнями у дітей з тяжкою астмою ( усі  $p < 0,001$ ) (таб. 5.1.).

Таблиця 5.1.

**Статистичні характеристики  
рівнів протизапальних та протизапальних цитокінів у дітей, хворих на  
бронхіальну астму, у періоді загострення (Me (Lq; Uq))**

Показники	Діти з БА			Контроль (Група 4) n = 12
	Легка астма (група 1) n = 59	Середньо тяжка астма (група 2) n = 10	Тяжка астма (група 3) n = 12	
IL-2, пг/мл	13,04 (11,15;16,17)	20,62 (20,05;22,06)	27,92 (27,22;29,94)	5,37 (5,15;5,64)
KW: H=69.4637; $p < 0.001$ MW: $p_{1-2} < 0,001$ ; $p_{1-3} < 0,001$ ; $p_{2-3} < 0,001$ ; $p_{1-c} < 0,001$ ; $p_{2-c} < 0,001$ ; $p_{3-c} < 0,001$ .				
IL-4, пг/мл	7,11 (6,14;9,34)	19,01 (18,15;20,06)	30,61 (27,38;32,92)	3,20 (2,96;3,71)
KW: H=69.4627; $p < 0.001$ MW: $p_{1-2} < 0,001$ ; $p_{1-3} < 0,001$ ; $p_{2-3} < 0,001$ ; $p_{1-c} < 0,001$ ; $p_{2-c} < 0,001$ ; $p_{3-c} < 0,001$ .				
IFN- $\gamma$ , пг/мл	86,12 (83,96;89,72)	80,59 (79,05;81,50)	68,15 (59,25;77,92)	125,15 (124,70;130,10)
KW: H=69.1081; $p < 0.001$ MW: $p_{1-2} < 0,001$ ; $p_{1-3} < 0,001$ ; $p_{2-3} < 0,001$ ; $p_{1-c} < 0,001$ ; $p_{2-c} < 0,001$ ; $p_{3-c} < 0,001$ .				

Примітка: (тут і далі в рисунках і таблицях): Me – медіана, Lq – нижній кватиль, Uq – верхній кватиль.

Таким чином, одержані, під час дослідження рівнів IL-2, IL-4 та IFN- $\gamma$  у сироватці крові пацієнтів, хворих на бронхіальну астму, в періоді загострення, відображають наявність порушень стану цитокінового профіля.

Виявлені підвищені рівні IL-2 у сироватці крові дітей з різними ступенями частково контрольованої бронхіальної астми в періоді загострення, у порівнянні з контрольною групою, із найвищими рівнями у дітей з тяжкою астмою (всі  $p < 0,001$ ). Ураховуючи, що IL-2 це прозапальний інтерлейкін, який одним із перших долучається до запального процесу, можна припустити, що рівень вираженості запалення залежить від ступеня тяжкості бронхіальної астми. Найвищі показники IL-2 у сироватці крові було отримано у дітей при тяжкому ступені БА, що свідчить про найбільш виражене запалення саме у цих дітей. Подібні результати були отримані науковцями у дорослих при порівнянні тяжкої та середньотяжкої БА з легкою [157,158].

У нашому дослідженні було виявлене підвищення рівню IL-4 у сироватці крові дітей, хворих на бронхіальну астму, порівняно з групою контролю ( $p < 0,001$ ). Беручи до уваги здатність IL-4 стимулювати підвищену продукцію IgE можна припустити, що підвищені рівні IL-4 у пацієнтів з бронхіальною астмою вказують на алергічний характер хронічного запалення, а ступінь запалення залежить від ступеня тяжкості БА [129,133].

Під час дослідження визначені знижені рівні  $\gamma$ -інтерферону у дітей, хворих на бронхіальну астму, із найнижчими показниками при тяжкій бронхіальній астмі, порівняно з групою контролю (усі  $p < 0,001$ ). Беручи до уваги те, що  $\gamma$ -інтерферон відіграє важливу роль у регуляції Th1-індукованих сигналів при інгібуванні диференціювання клітин Th2, його вірогідне зниження вказує на погіршення в системі пригнічення алергійного запального процесу. Найбільш глибокі порушення цього процесу спостерігаються у пацієнтів з тяжкою астмою.

Статистичне опрацювання отриманих даних встановило наявність кореляційних зв'язків між рівнями прозапальних та протизапальних цитокінів (рис. 5.1.).

У дітей з бронхіальною астмою виявлений позитивний кореляційний зв'язок

між рівнями IL-2 та IL-4 у сироватці крові та тривалістю хвороби ( $r = + 0,740$   $p < 0,05$ ), що відображує участь IL-2 у ранньому диференціюванні Th2-клітин, у результаті чого підвищується продукція IL-4. Подібні дані висвітлені у роботі Занг, 2021.

Негативна інтеркореляція між рівнями IL-4 та IFN- $\gamma$  у сироватці крові дітей з бронхіальною астмою ( $r = - 0,879$   $p < 0,001$ ) демонструє роль IFN- $\gamma$  в якості інгібітора диференціювання Th2-клітин.

Аналогічні тенденції виявлена щодо зв'язки між рівнями IL-2 та IFN- $\gamma$  у сироватці крові дітей з бронхіальною астмою ( $r = - 0,833$   $p < 0,001$ ).

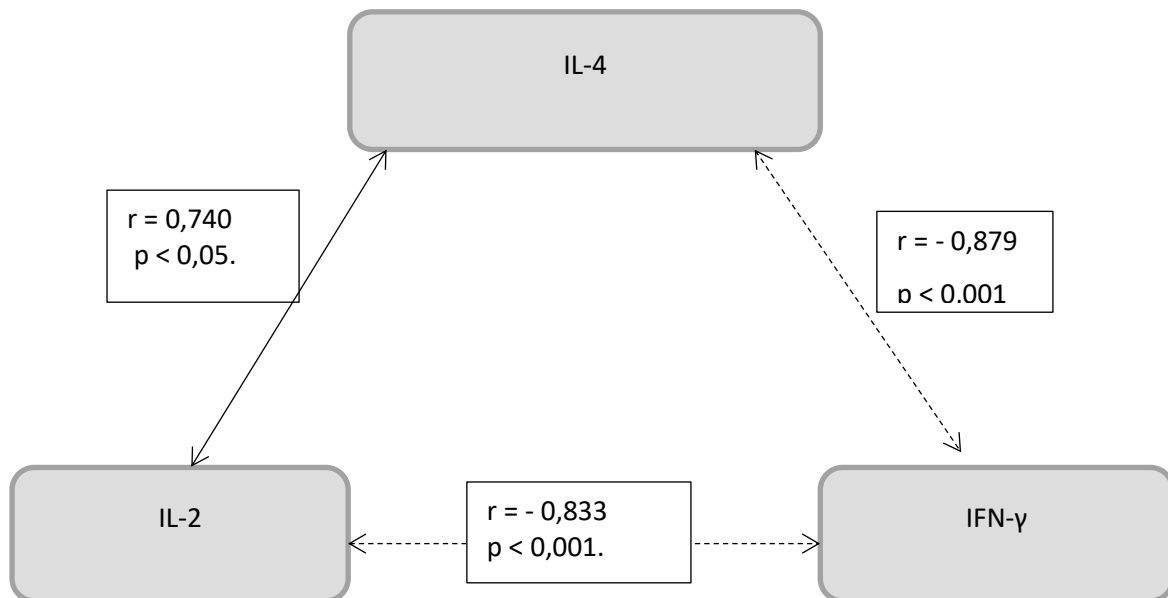


Рисунок. 5.1. Кореляційні зв'язки між показниками цитокінового профілю у дітей, хворих на бронхіальну астму в періоді загострення.

Примітки (тут і далі в рисунках): ——— прями кореляційні зв'язки,  
- - - - - зворотні кореляційні зв'язки

При обчисленні кореляційних зв'язків між рівнями цитокінів та тривалістю БА виявив наступне.

Наявний позитивний кореляційний зв'язок між рівнями ІЛ-2 у сироватці крові дітей з бронхіальною астмою та тривалістю хвороби ( $r = 0,740$ ,  $p < 0,05$ ), характеризує глибину вираженості запалення на тлі зростання рівнів прозапального цитокіна. На наш погляд, достовірний прямий кореляційний зв'язок між рівнем ІЛ-4 у сироватці крові дітей з бронхіальною астмою та тривалістю хвороби ( $r = 0,695$ ,  $p < 0,05$ ), дає можливість припустити, що тривалість хронізації запального процесу відповідає підвищеній продукції ІЛ-4.

Виявлений негативний кореляційний зв'язок між рівнем ІFN- $\gamma$  у сироватці крові дітей з бронхіальною астмою та тривалістю хвороби ( $r = -0,676$ ,  $p < 0,05$ ). Імовірно відображує зниження функціональних можливостей участі ІFN- $\gamma$  в системі регуляції імунного балансу Th1/Th2 у пацієнтів під час хронізації захворювання.

## **5.2. Співвідношення між Th-1 та Th-2 клонами лімфоцитів (ІЛ-2/ІЛ-4, $\gamma$ -ІН/ІЛ-4)**

Т-лімфоцити диференціюються на дві взаєморегулюючі підмножини.

Клітини Th1 передусім секретують інтерлейкін-2 (ІЛ-2) та інтерферон-гамма ( $\gamma$ -ІН) і регулюють класичні клітинно-опосередковані імунні відповіді. Клітини Th2, що секретують інтерлейкін-4 (ІЛ-4), сприяють гуморальним імунним відповідям, насамперед продукції ІgE. Надмірна активність Th1-клітин чи Th2-клітин може призвести до аутоімунного захворювання, що пошкоджує тканини [27,159].

Саме тому, імунологічний патогенез астми розглядається не тільки як надмірне диференціювання клітин Th2 із надмірною секрецією цитокінів Th2, а й дисбаланс Th1/Th2 у субпопуляціях CD4<sup>+</sup> Th клітин.

У нашому дослідженні, розрахунок співвідношень ІЛ-2/ ІЛ-4 та  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4 у пацієнтів, хворих на БА, виявив достовірне зниження їх у дітей з легкою, середньотяжкою та тяжкою БА у порівнянні із групою контролю, з найнижчими результатами у пацієнтів з тяжкою астмою (усі  $p < 0,001$ ) (рис. 5.2.).

Вірогідну різницю між групами демонструє результат обчислення тесту Краскла-Уолліса для співвідношення ІЛ-2/ ІЛ-4  $N = 50,4387$ ,  $p = 0,0000$ , що вказує на залежність рівнів цього показника від приналежності пацієнта до тієї чи іншої групи, тобто знаходження у відповідній залежності від тяжкості захворювання.

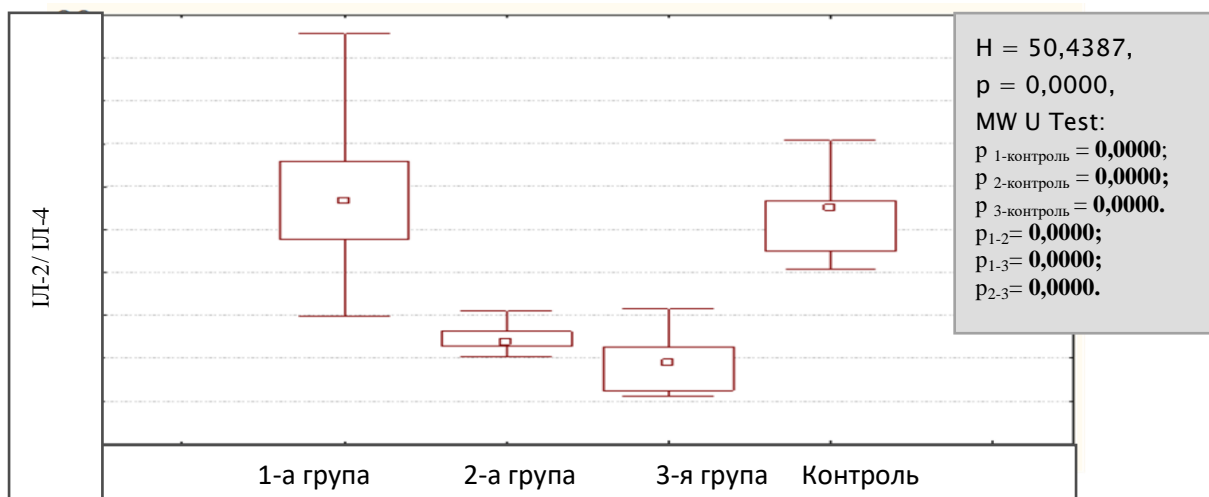


Рисунок. 5.2. Рівні ІЛ-2/ ІЛ-4 у пацієнтів, хворих на БА, та дітей групи контролю.

Примітки (тут і далі у рисунках):  $\square$  Median  $\square$  25%-75%  $\text{I}$  Non-Outlier Range

У результаті обчислення тесту Краскла-Уолліса, достовірну різницю між групами демонструє  $N = 69, 4602$ ,  $p = 0,0000$ , для співвідношення  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4, що вказує на залежність рівнів  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4 від приналежності

обстежених дітей до тієї чи іншої групи, а значить, знаходиться у відповідній залежності від тяжкості бронхіальної астми (рис. 5.3.). При міжгруповому порівнянні була встановлена достовірна різниця рівнів  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4 у пацієнтів з БА та дітьми з групи контролю (усі  $p < 0,001$ ).

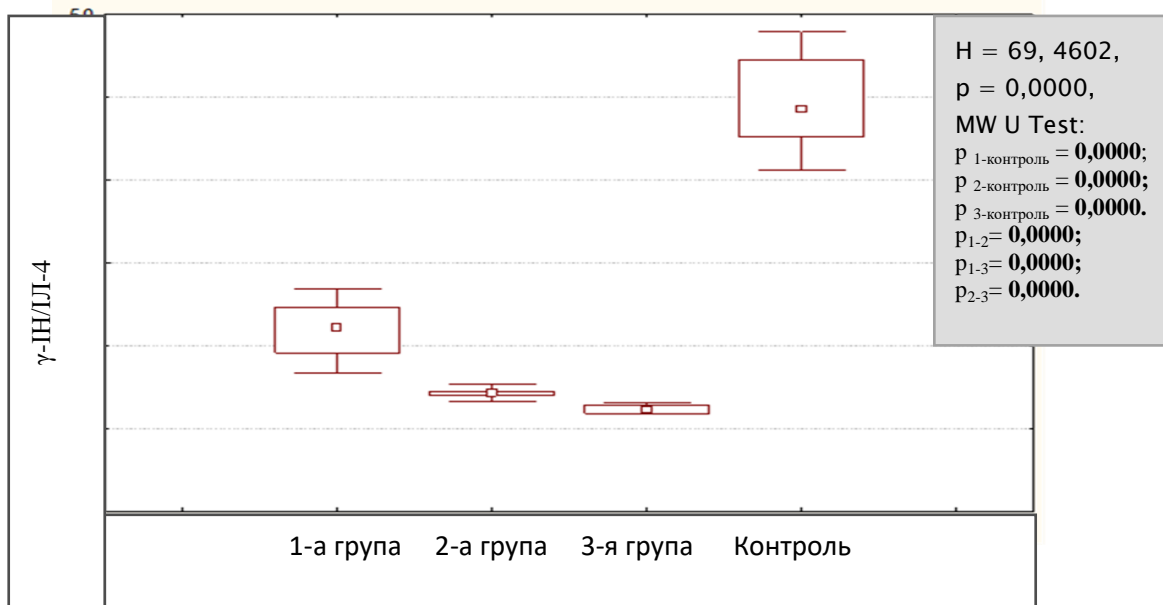


Рис. 5.3. Рівні  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4 у пацієнтів, хворих на БА, та дітей групи контролю.

Механізми дії ІЛ-2 та ІЛ-4 нарізно достатньо вивчені, але останніми роками науковців цікавить не окремо взятий цитокін, а їх злагоджена взаємодія.

Інтерлейкіни можуть взаємодіяти між собою, використовуючи одні й ті самі білки STAT, щоб або посилювати, або заважати один одному, формуючи інший результат, тим самим демонструючи важливість розуміння того, що цитокіни можуть впливати один на одного [136]. IFN- $\gamma$  бере участь не тільки в стимуляції противірусної активності, але й відзеркалює регуляторну роль Th1-індукованих сигналів в інгібуванні диференціювання клітин Th2.

У нашому дослідженні доведена важлива роль використання співвідношень Th1/Th2 у субпопуляціях CD4<sup>+</sup> Th клітин на прикладі співвідношень ІЛ-2/ ІЛ-4 та  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4 у пацієнтів, хворих на бронхіальну астму, в періоді загострення.

### **5.3. Стан ендотеліального компоненту судин у хворих на бронхіальну астму**

Обов'язковими компонентами хронічного запалення, яке має місце при БА, є ураження ендотелію судин, системи згортання крові, системи комплементу, та інші. Ендотелій активно приймає участь у метаболічних процесах та відіграє ключову роль у газообміні і обміні поживних речовин, гемостазі, ангіогенезі, у процесах, що керують запалення, перенесення лейкоцитів, судинним тонусом і ендокринною сигналізацією.

Виникнення пошкодження чи запалення ендотелію викликає його швидку реакцію, сприяючи тромбоутворенню, проліферації та ремоделюванню судинної стінки, що, в свою чергу, має значний вплив на прогресування серцево-судинної патології. Науковці вважають, що важливим є не тільки роль ендотеліальної дисфункції в механізмі розвитку та прогресуванні БА, але й виникнення віддалених наслідків пошкодження ендотеліальних клітин.

Беручи до уваги все вище перераховане, продовження пошуку індикаторів пошкодження ендотелію є надважливим.

За даними літератури, маркером виявлення ендотеліальної дисфункції може слугувати фактор Віллебранда. Плазмовий глікопротеїн фон Віллебранда (ФВ) синтезується тільки в ендотеліальних клітинах (ЕК) або мегакаріюцитах, а основна функція полягає у гемостазі. Саме тому, будь-які зміни стану ендотелію судин проявляються миттєвою зміною концентрації фактору фон Віллебранда в сироватці крові.

Функціональний стан ендотеліального компоненту судинного русла дітей з персистуючою астмою у перші дні загострення хвороби вивчали за рівнем ФВ у сироватці крові.

Проведення дисперсійного аналізу Краскла-Уоліса концентрації ФВ у сироватці крові хворих на бронхіальну астму в стадії загострення визначило наявність високо достовірного Н-критерію ( $H=69,461$ ,  $p < 0,001$ ). Це дозволило зробити висновки стосовно того, що рівні фактору фон Віллебранда мають достовірну різницю у групах. Ураховуючи той факт, що розподіл за групами проводився залежно від тяжкості бронхіальної астми, можна зробити припущення, що рівні фактору фон Віллебранда залежать від ступеня тяжкості бронхіальної астми.

При проведенні попарного порівняння за допомогою тесту Манна-Уїтні з'ясовано вірогідне підвищення рівнів ФВ у сироватці крові пацієнтів 1-ої, 2-ої та 3-ої груп, порівняно із групою контролю ( усі  $p < 0,001$ ). Максимальні показники було виявлено у пацієнтів 3-ої групи. Підвищені рівні ФВ у сироватці крові пацієнтів у нашому дослідженні можна оцінити як прояви ендотеліальної дисфункції, яка відображає активну відповідь організму на патологічний процес.

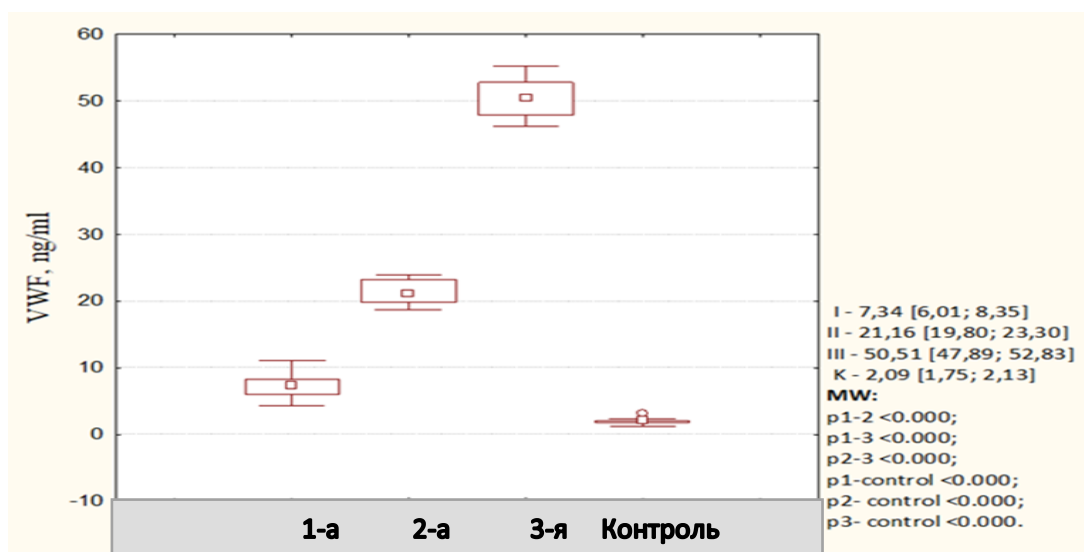


Рисунок. 5.4. Рівень фактору фон Віллебранда у сироватці крові дітей, хворих на БА, в періоді загострення та у дітей групи контролю

Наше дослідження продемонструвало, що рівні ФВ залежать від тяжкості бронхіальної астми з найвищими рівнями у пацієнтів з тяжкою астмою ( $p < 0,001$ ), що імовірно відображує різні ступені порушення функції ендотелію при формуванні хронічного запалення.

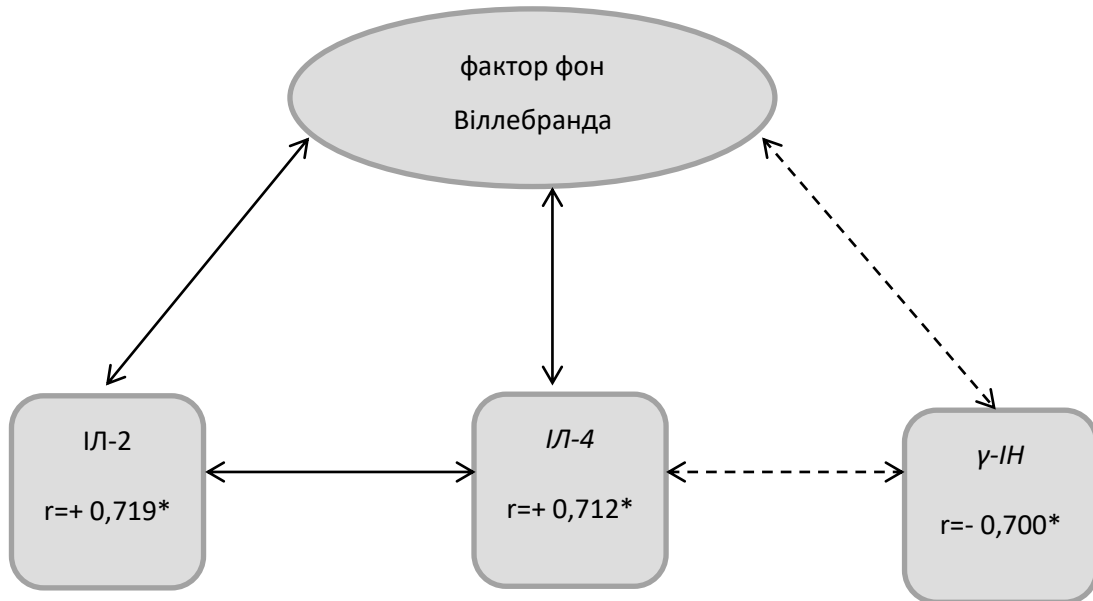


Рисунок. 5.5. Взаємозв'язки показників ФВ, ІЛ-2, ІЛ-4 та  $\gamma$ -ІН у дітей із БА. Примітка. \* -  $p < 0,05$ .

Статистичний аналіз виявив наявність прямого кореляційного зв'язку між концентрацією у сироватці крові ФВ та протизапального цитокіну ІЛ-4, та зворотнього кореляційного зв'язку між рівнем ФВ у сироватці крові та  $\gamma$ -ІН (рис. 5.5.). Наявність позитивної інтеркореляції підвищених рівнів ІЛ-4 можна пояснити тим, що цитокіни отримали можливість проникати у вогнище запалення через пошкоджені шари сидинної стінки. Подальший статистичний аналіз кореляцій у кожній групі окремо виявив вірогідно сильний зв'язок між показниками ФВ та ІЛ-4 у пацієнтів 3-ої груп ( $r_{3=+} = 0,923$ ,  $p < 0,001$ ). Це може свідчити як про наявність хронічного запалення

трахію-бронхіального дерева у дітей із БА, так і про взаємозв'язок між ступенем ураження ендотелію судин та тяжкістю БА.

Зворотній кореляційний зв'язок між рівнями ФВ та  $\gamma$ -ІН може підтверджувати тезу, щодо пригнічення останніх при хронічному алергічному процесі.

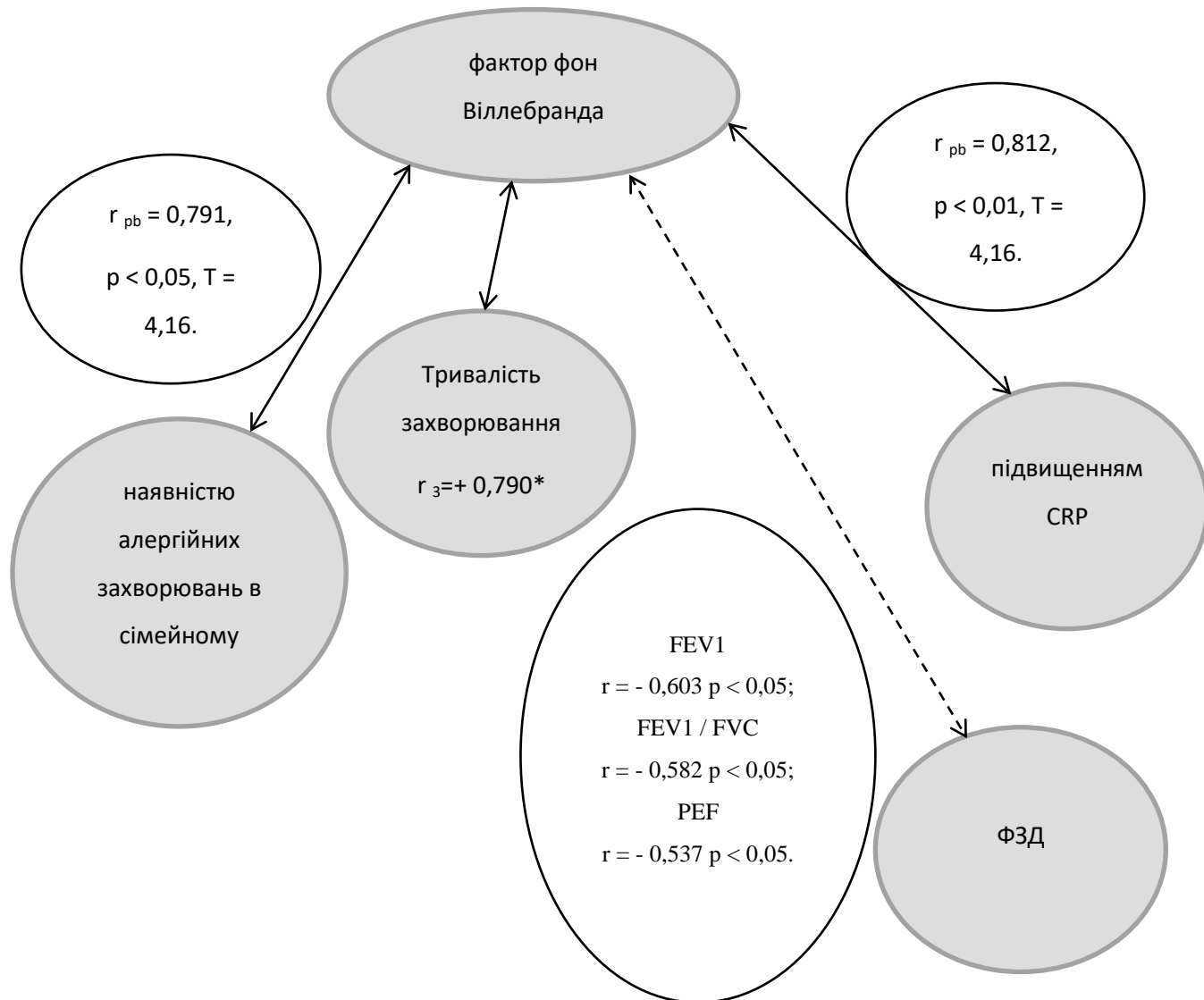


Рисунок. 5.6. Взаємозв'язки рівнів ФВ з анамнестичними даними та лабораторними показниками.

Примітка. \* - у пацієнтів 3-ої групи ( $p < 0,05$ )

Виявлений негативний кореляційний зв'язок між рівнем фактору фон Віллебранда у сироватці крові дітей та показниками функції зовнішнього дихання FEV1  $r = - 0,603$   $p < 0,05$ ; FEV1 / FVC  $r = - 0,582$   $p < 0,05$ ; PEF  $r = - 0,537$   $p < 0,05$ , демонструє залежність ступеня тяжкості БА від рівня пошкодження ендотелію.

Бісеріальна кореляція була використана для оцінки взаємозв'язку між рівнем фактору фон Віллебранда та наявністю підвищенням CRP у крові. Було визначено існування сильного зв'язку ( $r_{pb} = + 0,81$ ,  $p < 0,01$ ). Беручи до уваги, що CRP вважають маркером запалення, то й рівень ушкодження ендотеліального шару вірогідно має залежність від вираженості запального процесу в організмі.

Бісеріальна кореляція також була використана для оцінки взаємозв'язку між рівнем фактору фон Віллебранда та наявністю алергійних захворювань в сімейному анамнезі. Було визначено існування сильного зв'язку ( $r_{pb} = + 0,79$ ,  $p < 0,05$ ), який дає змогу припустити, що ступінь пошкодження ендотелію залежить від генетичної схильності до алергічних захворювань.

#### **5.4. Діагностично-прогностичні показники формування тяжкого ступеня бронхіальної астми у дітей**

Для поглиблення знань у вивченні зв'язків між цитокінами, фактором Віллебранда та розвитком тяжкої БА використовували процедуру ROC-аналізу. Визначали рівні ІЛ-2, ІЛ-4,  $\gamma$ -ІН та ФВ у сироватці крові та рівні співвідношень ІЛ-2/ ІЛ-4 та  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4 з позиції ймовірності більш раннього прогнозування формування хронічного запалення бронхо-легеневої системи у дітей із бронхіальної астми або при наявності складнощів визначення ступеня бронхіальної астми. Побудова характеристичних кривих використана з метою з'ясування рівнів ІЛ-2, ІЛ-4,  $\gamma$ -ІН, ФВ ІЛ-2/ ІЛ-4 та  $\gamma$ -

ІН/ІЛ-4, які з високою вірогідністю передбачатимуть формування тяжкого ступеня БА у дітей.

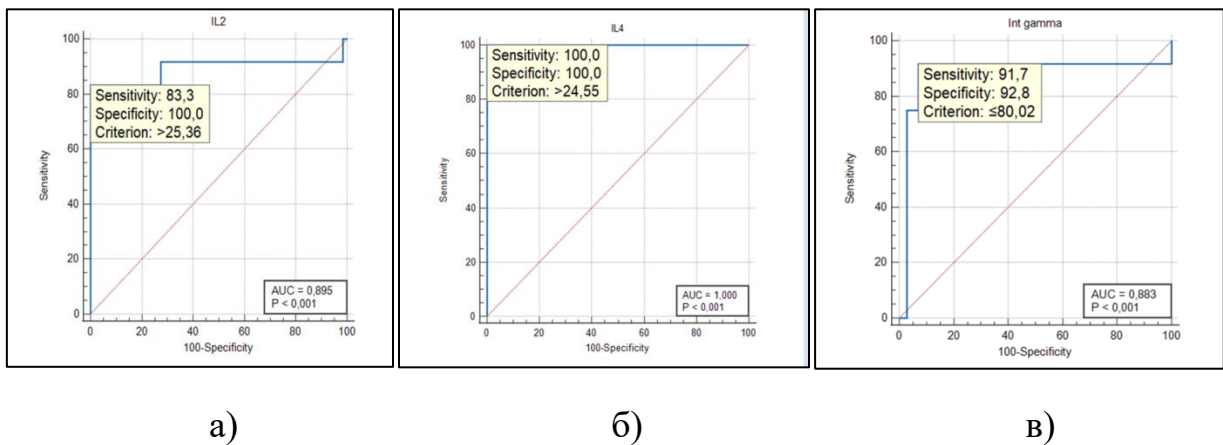


Рисунок 5.7. Характеристична крива для рівнів ІЛ-2, ІЛ-4,  $\gamma$ -ІН у сироватці крові пацієнтів, хворих на бронхіальну астму, в періоді загострення: а) рівні ІЛ-2, б) рівні ІЛ-4, в) рівні  $\gamma$ -ІН.

Примітка (тут і далі у рисунках). Sensitivity – чутливість методу; Specificity – специфічність методу.

У результаті аналізу з'ясовано, що рівень ІЛ-2 у сироватці крові пацієнтів, хворих на бронхіальну астму, у періоді загострення більший ніж 25,36 нг/мл передбачає формування тяжкого ступеня БА з чутливістю (Se) 83,3 % та специфічністю (Sp) 100,0 % (табл. 5.2., рис. 5.7.).

При побудові ROC-моделі одержана характеристична крива, яка не перетинала контрольну діагональ (див. рис. 5.7.) та забезпечувала чутливість та специфічність на рівні понад 50%, площу під кривою  $AUC = 0,895$  (відмінна якість моделі), при рівні статистичної значущості  $p < 0,001$ .

Таким чином, при дослідженні рівнів ІЛ-2 у сироватці крові пацієнтів, хворих на бронхіальну астму, в періоді загострення концентрація ІЛ-2 вища за 25,36 нг/мл може прогнозувати формування у дітей тяжкого ступеня БА.

Визначено, що рівень ІЛ-4 у сироватці крові дітей, хворих на бронхіальну астму, в періоді загострення більший ніж 24,55 нг/мл передбачає

формування тяжкої БА зі Se – 100,0% та Sp – 100,0% (див. табл. 5.2., див. рис.5.7).

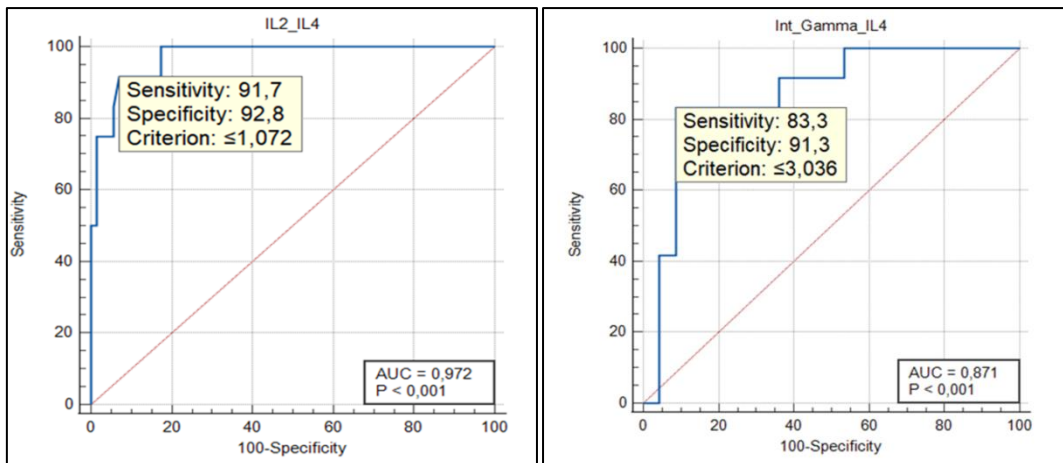
Під час процедури ROC-аналізу отримано характеристичну криву, яка не перетинала контрольну діагональ, забезпечувала Se та Sp на рівні понад 50%, площу під кривою AUC = 1,000 (відмінна якість моделі), при рівні статистичної значущості  $p < 0,001$  (див. рис. 5.7.).

При побудові характеристичних кривих з'ясовано, що показник  $\gamma$ -ІН у сироватці крові пацієнтів, хворих на бронхіальну астму, в періоді загострення із високою вірогідністю передбачає формування тяжкого ступеня БА у дітей (див. рис. 5.7.).

Результатом аналізу стало виявлення того, що рівень  $\gamma$ -ІН у сироватці крові пацієнтів, хворих на бронхіальну астму, в періоді загострення нижчий ніж 80,02 нг/мл передбачає формування тяжкої БА зі Se – 91,7% та Sp – 92,8% (див. табл. 5.2., див. рис. 5.7.).

Під час побудови ROC-моделі отримано характеристичну криву, яка не перетинала контрольну діагональ та забезпечувала чутливість та специфічність на рівні понад 50%, площу під кривою AUC = 0,883 (відмінна якість моделі), при рівні статистичної значущості  $p < 0,001$  (див. рис. 5.).

При статистичному аналізі співвідношень ІЛ-2/ ІЛ-4 та  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4 у пацієнтів, хворих на бронхіальну астму в періоді загострення, також виокремлено достовірні прогностичні критерії. Визначено, що співвідношення ІЛ-2/ ІЛ-4 у пацієнтів, хворих на БА, нижче ніж 1,072 передбачає формування тяжкого ступеня БА зі Se – 91,7% та Sp – 92,8% (див. табл. 5.2., рис. 5.8.).



а)

б)

Рисунок 5.8. Характеристична крива для співвідношень ІЛ-2/ ІЛ-4 та  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4 у пацієнтів, хворих на бронхіальну астму, в періоді загострення: а) співвідношення ІЛ-2/ ІЛ-4, б) співвідношення  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4.

Характеристична крива, яку отримано під час побудови ROC-моделі, не перетинала контрольну діагональ (див. рис. 5.8.) та забезпечувала чутливість та специфічність на рівні понад 50%, площу під кривою  $AUC = 0,972$  (відміна якість моделі), при рівні статистичної значущості  $p < 0,001$ .

Проведений розрахунок співвідношення  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4 встановив, що його рівень нижчий за 3,036 вказує на ймовірність формування тяжкої БА зі  $Se = 81,3\%$  та  $Sp = 93,3\%$  (див. табл. 5.2., див. рис. 5.8.).

Побудована характеристична крива в процесі ROC-аналізу не перетинала контрольну діагональ, забезпечуючи чутливість та специфічність на рівні понад 50%, площу під кривою  $AUC = 0,871$  (відмінна якість моделі), при рівні статистичної значущості  $p < 0,001$  (див. рис. 5.8).

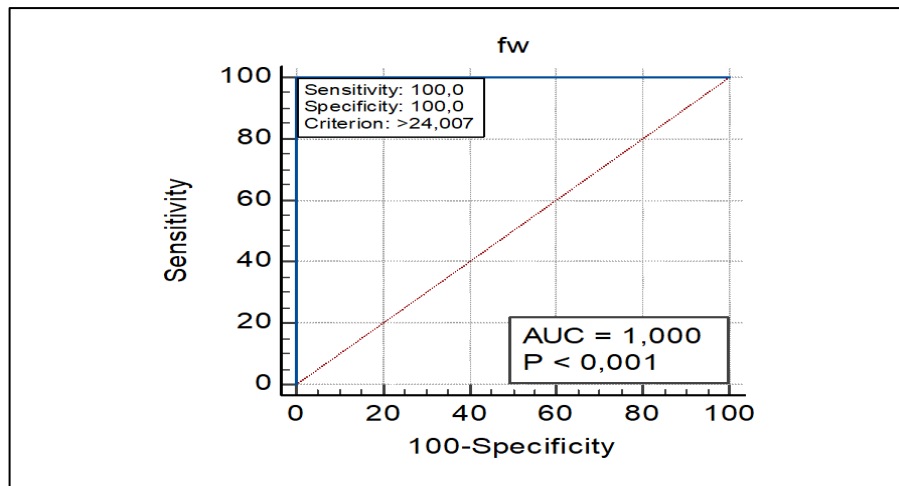


Рисунок 5.9. Характеристична крива для рівня ФВ у сироватці крові пацієнтів, хворих на бронхіальну астму, в періоді загострення.

Результати аналізу рівнів ФВ у сироватці крові пацієнтів, хворих на бронхіальну астму, в періоді загострення демонструють, що рівень ФВ більший ніж 24,007 нг/мл передбачає формування тяжкого ступеня БА у дітей зі Se – 100,0% та Sp – 100,0% (див. табл. 5.2, рис. 5.9.).

Під час побудови ROC-моделі отримано характеристичну криву, яка не перетинала контрольну діагональ та забезпечувала чутливість та специфічність на рівні понад 50%, площу під кривою AUC = 1,000 (відмінна якість моделі), при рівні статистичної значущості  $p < 0,001$  (див. рис. 5.9.).

Аналіз одержаних прогностичних моделей ROC-аналізу таких показників як рівнів ІЛ-2, ІЛ-4,  $\gamma$ -ІН, ФВ, ІЛ-2/ ІЛ-4 та  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4 (див. табл.5.2.) у хворих на бронхіальну астму в періоді загострення мали достовірність із високими показниками чутливості та специфічності. Найвищі рівні специфічності та чутливості мали рівні ІЛ-4, ФВ у сироватці крові.

Таблиця 5.2.

**Статистичні характеристики ROC-кривих показників ІЛ-2, ІЛ-4,  $\gamma$ -ІН, ІЛ-2/ІЛ-4  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4 та ФВ дітей, хворих на бронхіальну астму в періоді загострення**

Показник	AUC	«cutoff» point	Se, %	95% CI	Sp, %	95% CI
ІЛ-4	1,000	> 24,55	100,0	95,0-100,0	100,0	100,0-100,0
ФВ	1,000	> 24,007	100,0	76,8-100,0	100,0	93,2-100,0
ІЛ-2/ІЛ-4	0,972	< 1,072	91,7	68,5-92,8	92,8	70,0-94,6
ІЛ-2	0,895	> 25,36	83,3	50,0-100,0	100,0	68,12-100,0
$\gamma$ -ІН	0,883	$\leq$ 80,02	91,7	50,0-100,0	92,8	91,30-98,55
$\gamma$ -ІН/ІЛ-4	0,871	$\leq$ 3,036	83,3	33,33-100,0	91,3	28,99-98,55

Примітки: AUC (Area Under ROC Curve)-площа, обмежена ROC-кривою і віссю частки помилкових позитивних класифікацій; «cut-off» point – значення відсікання, яка має найвище значення чутливості при найменшому значенні ложно-позитивних результатів; Se-чутливість методу; Sp-специфічність методу; 95% CI – довірчий інтервал AUC.

### Висновки до розділу 5

Статистичний аналіз отриманих даних виявив зміни стану цитокінового профілю у пацієнтів із БА.

На алергійний характер запалення при бронхіальній астмі вказувало підвищення показників ІЛ-4 у пацієнтів усіх груп (усі  $p < 0,05$ ), порівняно із групою контролю. Найвищі показники були у пацієнтів із тяжкою БА ( $p_{1-2} < 0,001$ ;  $p_{1-3} < 0,001$ ;  $p_{2-3} < 0,001$ ). Рівень підвищення концентрації показника залежав від тяжкості бронхіальної астми.

Показники ІЛ-2 були достовірно високими у пацієнтів з важкою астмою ( $p < 0,05$ ), що, беручи до уваги функціональні можливості цього прозапального цитокіну, свідчить про залежність вираженості запального процесу від ступеня тяжкості БА.

Рівні  $\gamma$ -ІН виявились достовірно нижчими були у пацієнтів з важкою БА (усі  $p < 0,05$ ), що опосередковано відображає ключову роль клітин Th2 проалергійній відповіді імунної системи на патологічний процес.

Було розглянуто та статистично доведено необхідність використання у діагностиці та прогнозуванні формування тяжкого ступеня БА не тільки окремих взятих цитокінів, а їх співвідношення. Рівні співвідношень ІЛ-2/ ІЛ-4 та  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4 виявились високо прогностичними для процесу формування тяжкого ступеня БА ( ІЛ-2/ІЛ-4 Se-91,7%; Sp-92,8 %,  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4 Se-83,3%; Sp-91,3 %).

Статистичний аналіз показників стану ендотелію пацієнтів із загостренням БА виявив, що рівні маркерів пошкодження ендотеліального компоненту були статистично значуще вищими у пацієнтів 3-ї групи. Концентрації ФВ, що вказували на ступінь руйнування мембран клітин у дітей, які вже мали важку ступінь БА, були найвищими (усі  $p < 0,05$ ). Приріст їх високого рівня відображує продовження руйнування ендотелію під час динамічного розвитку хронічного захворювання.

Результати ROC-аналізу демонструють прогностичні рівні досліджуваних показників у періоді загострення бронхіальної астми, що можна використовувати для прогнозування формування тяжкості БА у дітей:

- ІЛ-2  $> 25,36$  ng/ml [Se-83,3%; Sp-100,0%], ІЛ-4  $> 24,55$  ng/ml [Se-100,0%; Sp-100,0%], фактор Віллібранда  $> 24,007$  ng/ml [Se-100,0%; Sp-

100,0%],  $\gamma$ -ІН < 80,02 ng/ml [Se-91,7%; Sp-92,8%], ІЛ-2/ІЛ-4 < 1,072 [Se-91,7%; Sp-92,8%]),  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4 < 3,036 [Se-83,3%; Sp-91,3%].

Основні результати дослідження та його положення, які викладені в цьому розділі, апробовані на конгресах та конференціях, що знайшло відображення в наступних публікаціях:

1. Andrushchenko V.V. Imbalance between il-2, il-4 and ifn- $\gamma$  as a marker of sustainability of partly controlled asthma in children/ Makieieva N. I., Andrushchenko V. V.// Bulletin of problems in biology and medicine – 2023 – Issue 3 (170), p. 433-438. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, провів визначення цитокінів у обстежених, проаналізував та узагальнив дані, підготував статтю до друку).

2. Andrushchenko V.V. The von Willebrand factor as a marker of partially controlled asthma severity in children. /Makieieva NI, Andrushchenko VV. // (2023). Modern Pediatrics. Ukraine. 5(133): 31-38. doi 10.15574/SP.2023.133.31.

(Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, провів визначення ендотеліальної дисфункції у обстежених, проаналізував та узагальнив дані, підготував статтю до друку).

3. Andrushchenko V.V. Levels of il-4 and  $\gamma$ - interferon in children's blood serum as predictors of asthma formation./ N. I. Makieieva, V. V. Andrushchenko, V. M. Malakhova, V. M. Tsybmal, N. P. Alieksieieva// Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина, 8(3(49)), 52–58. <https://doi.org/10.24061/2413-4260.XIII.3.49.2023.7> (Здобувач особисто провів аналіз сучасних інформаційно-літературних джерел, дослідив маркери порушення імунної відповіді, провів статистичний аналіз та узагальнив результати, підготував статтю до друку).

4. Андрущенко В.В. Роль фактору Віллебранда при бронхіальній астмі у дітей / В.В. Андрущенко // „Актуальні питання клінічної медицини” Матеріали XVI Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих

вчених, Запоріжжя, 24-25 листопада / ЗМАПО. – Запоріжжя, 2022, С. 9-11. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, статистично опрацював, проаналізував й узагальнив дані).

5. Andrushchenko V.V. Significance of von Willebrand factor in children asthma. / Andrushchenko Vira // Фестиваль молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття» Харківського національного медичного університету, Харків, 13 – 15 лютого / ХНМУ. – Харків, 2023, с. 278 – 279. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, статистично опрацював, проаналізував й узагальнив дані).

6. Andrushchenko V.V. IL-4 in blood serum of children with transient wheezing and asthma / Andrushchenko V.V.// «ІПП-2023:Інтернаціональна платформа інтегративної педіатрії» пам'яті академіка В.Г. Майданника: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю//Ukrainian scientific medical youth journal, Supplement No1 (137) 2023 (19-20 квітня 2023 р. м. Київ, Україна). Харків, 2023 р, С.36. (Здобувачем проведено опрацювання інформаційних джерел, набір клінічного матеріалу , статистичну обробку та аналіз отриманих даних, було підготовано стендову доповідь).

## АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

У структурі захворюваності дитячого віку захворювання органів дихання займають одне з перших місць [1]. Не тільки гостра патологія дихальних шляхів займає значну частину в структурі цих захворювань, але й також рецидивуючі та хронічні хвороби, найпоширенішим серед яких лишається бронхіальна астма (БА) [2,3]. Діти, які хворіють на бронхіальну астму є серйозною медикосоціальною проблемою для педіатрії, що спричинено її значним впливом на якість життя хворих та високими економічними витратами [4-7]. Незважаючи на численні дослідження щодо патогенезу, розробку нових лікарських препаратів, підвищення кваліфікації лікарів і освіченості хворих, створення спеціальних програм всесвітніми організаціями, не вдається взяти під повний контроль захворюваність на БА [8-10]. За даними епідеміологічних досліджень, рівень поширеності БА у дітей коливається в межах від 5% до 10% [11-14]. Важливим є твердження, згідно з яким, рецидивні хвороби органів дихання у дітей накладають відбиток на хронічну бронхолегеневу патологію дорослого періоду життя [15-17].

Актуальною проблемою у різних країнах є прогнозування формування та діагностування БА

Нові, прогресивні шляхи вивчення БА вказують, що морфологічною основою бронхіальної гіперреактивності є хронічне запалення дихальних шляхів [8]. Таке запалення характеризується інфільтрацією тканин запальними клітинами (еозинофілами та/або нейтрофілами) та напрацюванням продуктів життєдіяльності живих клітин (Активні форми Кисню (АФК)/Reactive oxygen species, ROS). Це дає можливість використовувати АФК як маркери активності запалення при бронхіальній астмі у дітей [18-20]. Визначення рівнів АФК у нейтрофілах може стати не тільки маркером алергічного запалення при БА, але й дозволить більш чітко

увияти їх роль в імунній відповіді на захворювання. Такі дані дозволять розробити обґрунтований та індивідуальний підхід до прогнозування тяжкості бронхіальної астми, запобігання ускладнень та розробки персональної лікувальної тактики.

У процесі запалення відбувається ураження ендотеліального шару судин, системи згортання крові, системи комплементу, та іншого [21-23]. Виникнення пошкодження або запалення ендотелію приводить до швидкої реакції, за рахунок тромбоутворення та уможливлення спрямованої трансміграції запальних клітин. Одним із маркерів ендотеліальної дисфункції є фактор фон Віллебранда (ФВ), так як його синтез відбувається безпосередньо ендотелієм судин, то відхилення від норми, впливають на його концентрацію у крові [24-26].

Важливими учасниками запального процесу є цитокіни: прозапальні інтерлейкіни (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , GM-CSF) та протизапальні (IL-4, IL-10, IL-13, TGF- $\beta$ ) [27,28]. Серед великої кількості цитокінів найбільшу цікавість викликають ті, що є медіаторами саме імунного запалення -  $\gamma$ -інтерферон ( $\gamma$ -ІН) та IL-2 та протизапальні (імуносупресорні) - інтерлейкін-4 (ІЛ-4) [29-32].

Порушення в системі функціонуванні імунної системи, регуляції функцій ендотелію, балансу цитокінового профілю можуть формувати патологічний ланцюг та сприяти зберіганню та прогресуванню проявів запалення. Роль цих механізмів у дітей з астмою до кінця не вивчена та потребує подальшого ретельного дослідження.

Для реалізації заявленої мети до дослідження була залучена 81 дітина (48 хлопчиків та 33 дівчинки), віком від 5 до 17 років 11міс та 29 днів з метою виявлення анамнестичних та лабораторних чинників формування тяжкого ступеня БА. Після визначення відповідності критеріям включення та виключення дітей з БА було розподілено на 3 групи залежно від ступеня тяжкості БА. До 1-ої групи увійшло 59 дітей з легкою персистуючою БА, до 2-ої - 10 дітей з БА середньої тяжкості та до 3-ї - 12 дітей з тяжкою БА.

Групу контролю склали 13 практично здорових дітей, які співвідносились за статтю та віком, які не мали скарг, клінічних та лабораторних ознак будь-якого захворювання впродовж останніх 3 місяців та не мали хронічних захворювань.

Критерії включення: діти віком від 5 до 17 років із встановленим діагнозом бронхіальна астма, персистуюча легка, середньої тяжкості, тяжка (2 – 4 ступенів важкості), частково контрольована, в періоді загострення; 1-а – 2-а доба загострення БА; діти, в яких підписана згода обома батьками, а при досягненні 14 років і самими пацієнтами.

Критерії виключення: діти віком молодше 5 років; діти віком до 17 років, батьки яких не дали письмової згоди на проведення дослідження; пацієнти віком 14 років та старше без письмової згоди на проведення дослідження; пацієнти з гострим бронхітом простим, гострим обструктивним бронхітом, інтермітуючою бронхіальною астмою, пневмонією; пацієнти з діагнозом бронхіальна астма в періоді ремісії та контрольованою БА; з підтвердженою внутрішньоклітинною інфекцією (*Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, toxocariasis); з вродженими і хронічними серцево-легеневими або неврологічними захворюваннями; спадковими захворюваннями, що призводять до змін у функціонуванні дихальних шляхів, у тому числі кистозний фіброз; доведена імунна недостатність; хворі з тяжким соматичним станом та декомпенсацією вітальних функцій; підозрюване або підтверджене захворювання шлунково-стравохідного тракту; хворі з новоутвореннями будь-якої локалізації; хвороба Віллебранда; вагітні дівчата.

У дітей, які приймали участь у дослідженні, були проведені детальний збір анамнезу, стандартні та специфічні лабораторні методи обстеження.

Для вирішення завдань дослідження використовувалися клініко-анамнестичні, лабораторні та статистичні методи.

Метод імуноферментного аналізу використовували для визначення рівнів ІЛ-2, ІЛ-4,  $\gamma$ -інтерферону та фактору Віллебранда (ФВ) у сироватці крові.

Методом імунофенотипування з виристанням проточної цитометрії визначалися рівні активних форм кисню (АФК) у гранулоцитах та відсотку некротизованих гранулоцитів у крові.

Проводилась статистична обробка даних, що дозволило зробити обґрунтовані висновки.

В ході даного дослідження були отримані дані про вагомий вплив різноманітних факторів (анте-, пре- та постанальних) на формування тяжкого перебігу бронхіальної астми.

У результаті дослідження виявили вірогідне переважання пацієнтів із легкою бронхіальною астмою ( $p < 0,05$ ), що співпадає з даними наукових джерел [2].

З метою визначення статевих відмінностей серед хворих на БА, було проаналізовано питому вагу пацієнтів чоловічої та жіночої статі. Статистично переважали хлопчики у загальній кількості пацієнтів ( $p=0,0403$ ) та серед хворих з легкою бронхіальною астмою ( $p < 0,05$ ), що узгоджується з літературними даними. [160].

Вивчаючи вік пацієнтів, хворих на бронхіальну астму, визначено, що статистично переважали діти шкільного віку, що не суперечить науковим дослідженням [2,141,161].

У комплексному обстеженні пацієнтів із захворювання бронхолегеневої системи дослідженню функції зовнішнього дихання (ФЗД) належить ключове місце [2]. Воно дозволяє верифікувати клінічний діагноз, спланувати оптимальні режими лікування, певною мірою спрогнозувати перебіг патологічного процесу. У результаті аналізу показників ФЗД у дітей, хворих на БА, нами було виявлено, що  $H$  критерій тесту Краскла-Уолліса за такими показниками як форсована життєва ємність легень ( $H=24,4576$ ;  $p=0,0020$ ), об'єм форсованого видиху за першу секунду ( $H=39,0877$ ;

$p=0,0000$ ), індекс Тіффно ( $H=41,7666$ ;  $p=0,0010$ ), максимальна об'ємна швидкість видиху ( $H_{\text{МОШ-25}} = 20,2112$ ,  $p=0,0000$ ;  $H_{\text{МОШ-50}} = 28,6673$ ,  $p=0,0004$ ;  $H_{\text{МОШ-75}} = 27,1120$ ,  $p=0,0000$ ), є достовірно значущим. Враховуючи те, що розподіл по групах залежав від тяжкості БА, можна говорити, що рівні цих параметрів залежать від приналежності пацієнта до тієї чи іншої групи. Максимально низькі рівні показників ФЗД виявлені у пацієнтів з тяжким перебігом БА порівняно з групою контролю ( $p < 0,05$ ).

Доведено сучасними науковими дослідженнями, що значущий вплив на формування БА у дітей відіграє високий рівень сенсibilізації організму та вплив різноманітних преморбідних біологічних чинників [162,163].

Важлива роль виділена перебігу першого триместру вагітності у матерів, періоду закладки і розвитку легень, а також формування імунної системи плода. Виявлено, що 35,8% матерів мали ту чи іншу патологію трахіобронхіального дерева на початку вагітності. Зафіксовано 17,3% випадків гострої респіраторної інфекції, 7,4% випадків гострого бронхіту простого та 2,5% - пневмоній. Усі матері, у яких в анамнезі була бронхіальна астма, під час вагітності мали симптоми її загострення [85].

Не останню роль у порушенні формування та фізіологічного дозрівання легень відіграють наступні патології, які мали місце у нашому дослідженні, а саме: патологічний перебіг вагітності та/або пологів (пreeклампсія 4/81 (5%), гестоз 17/81(21%), загроза переривання вагітності 22/81 (27,1%), анемії 10/81 (12,3%). передчасне народження 10/81 (12,3%), шлях народження - кесарів розтин 6/81(7,4 %), народження з двійні/трійні 3/81 (3,7 %)). Отримані нами дані співпадають з науковими дослідження останніх років [85].

Одним із чинників, які впливають на здоров'я новонародженої дитини та відіграють не останню роль у формуванні патології респіраторного тракту є порушене природне вигодовування. Вірогідна більшість дітей (65,4 %,  $p=0,0037$ ). Порівнюючи кількість випадків раннього штучного вигодовування (до 3 місяців) між групами, виявлено статистично значуще збільшення таких

серед пацієнтів із тяжким ступенем БА ( $p_{1-3} = 0,0542$ ). Важливу роль у формуванні респіраторних алергозів науковці відводять порушенню мікробіоти кішківника, одним із клінічних проявів якого є схильність новонароджених до закрепів [145]. Слід зазначити, що частота скарг на закрепи у дітей із тяжкою астмою достовірно відрізнялася від відповідних ( $p_{1-3} = 0,0211$ ,  $p_{2-3} = 0,293$ ,  $p_{1-2} = 0,2722$ ) із легкою та астмою середньої тяжкості [146,147]. Наявність порушень мікрофлори кишківника у ранньому віці вказує на підвищення ризику формування тяжкого перебігу бронхіальної астми у 4,6 разів. ( $RR = 4,6$ ,  $p < 0,001$ ).

Вивчаючи захворюваність пацієнтів на першому році життя було приділено особливу увагу ранній дебют бронхообструкції, як несприятливому чиннику виникнення бронхіальної астми [148]. Відносна кількість дітей, що мали перші епізоди БОС до року, серед пацієнтів із тяжким перебігом бронхіальної астми, статистично значуще відрізнялась у порівнянні із групами з легким та середньої тяжкості ( $p_{1-2} = 0,439$ ;  $p_{1-3} = 0,031$ ;  $p_{2-3} = 0,131$ ). Дебют бронхіальної обструкції у віці до одного року підвищував ризик формування тяжкого перебігу БА у 8,6 разів ( $RR = 8,6$ ,  $p < 0,001$ ).

У ході дослідження було виявлено, що 90,1% дітей має супутню алергопатологію (атопічний дерматит (АД), алергічний риніт (АР) чи їх поєднання). Розглядаючи, кількість випадків старту АД до 1 року, була виявлена достовірна різниця у групах ( $p_{1-2} = 0,0007$ ;  $p_{1-3} = 0,0007$ ). Найвища частота випадків виявлена у 2-ій та 3-ій групах. Одержані результати дослідження, щодо наявності супутньої алергопатології відповідають тезі, рання маніфестація алергійних проявів являє собою несприятливий чинник виникнення БА [149]. Наявна супутня алергопатологія у дітей, хворих на бронхіальну астму (алергічний риніт, atopічний дерматит) підвищує ризики формування тяжкого перебігу БА у 5,8 разів ( $RR = 5,8$ ,  $p < 0,001$ ).

Спадкова схильність до алергійних захворювань є вагомим чинником ризику розвитку респіраторного алергозу [150]. У результаті проведеного

аналізу анамнестичних даних були виділено, що обтяжений сімейний анамнез на наявність алергійних захворювань ( $RR = 3,2, p < 0,001$ ) та наявність у близьких родичів бронхіальної астми ( $RR = 6,5, p < 0,001$ ) мають вплив на формування тяжкого перебігу БА. Проведення статистичної обробки дало змогу виявити зв'язок між ступенем тяжкості захворювання та наявністю обтяженого сімейного анамнезу ( $C' = 0,368, p = 0,004$ ).

Хоча жоден із вищеперерахованих патологічних чинників не можна вважати основополагаючим, але в сукупності вони імовірно мають вплив на формування, перебіг та тяжкість захворювання.

Клініко-анамнестичні дані пацієнтів продемонстрували важливу роль у формуванні даної патології впливу шкідливих звичок їх батьків та оточуючих. [164].

При міжгруповому порівнянні тривалості захворювання виявлено, що тривалість більше ніж 4 років вірогідно частіше зустрічається серед дітей з 3-ої групи, порівняно з 1-ою ( $p_{1-3} = 0,0172$ ), що можуть вказувати на те, що перебіг патологічного процесу при формуванні бронхіальної астми тісно пов'язаний із тривалістю хронічного запалення.

Також можна відмітити участь в запальному процесі умовнопатогенної або патогенної флори слизових оболонок зіву і носу, яка може знижати імунологічний опір організму.

Важливим було проведення імунологічного обстеження дітей. Виявлені суттєві зміни в клітинній, гуморальній та фагоцитарній ланках імунітету у дітей, хворих на бронхіальну астму, в періоді загострення. При оцінці клітинної ланки імунітету було виявлено такі зміни. Підвищення рівнів CD3, що свідчить про гіперактивність імунітету, яке зустрічається при гострих чи хронічних процесах в організмі. Підвищення рівнів CD4, які характеризує силу імунної відповіді на подразник, вказує на підвищення вираженості імунної відповіді за рахунок збільшення продукції імуноглобулінів.

У той же самий час збільшення CD8 перешкоджає розвитку адекватної клітинної імунної відповіді (специфічної і неспецифічної) чим можна пояснити більшу вираженість патологічного процесу у пацієнтів з тяжкою астмою, у яких рівні CD8 були найвищі.

Депресія імунорегуляторного індексу у пацієнтів з тяжкою астмою вказує на наявність вторинного імунodefіциту на тлі хронічного запалення та тривалого прийому великих доз глюкокортикостероїдів, а його підвищення у пацієнтів з середньо тяжкою астмою – на активність запального процесу.

При оцінці стану гуморального імунітету у дітей, хворих на БА, виявлена загальна тенденція до підвищення його показників, на що вказують підвищені рівні CD22. Підвищені рівні IgA в усіх групах з бронхіальною астмою, свідчать про активацію захисної реакції слизових оболонок дихальних шляхів під впливом респіраторних алергенів. Збільшення рівнів IgM – характеризує збереження первинної імунної відповіді на контакт з подразником серед усіх пацієнтів з бронхіальною астмою. Зниження рівнів IgG у пацієнтів з тяжкою астмою було розцінено, як прояв транзиторного імунodefіцитного стану. Рівні IgE (1-а група - 195,0 (50,0; 389,0) 2-а група - 430,0 (257,0;572,0) 3-я група - 552,0 (301,0;1275,0)) вірогідно підвищуються в залежності від тяжкості бронхіальної астми ( $p_{1-2}=0,0345$ ;  $p_{1-3}=0,0038$ ).

Наявність вірогідного кореляційного зв'язку між рівнями CD22 абс. та CD4 абс. може вказувати на працездатність імунної системи та активний синтез імуноглобулінів під впливом Т- лімфоцитів (CD4) у пацієнтів 1-ї та 2-ї груп, але у пацієнтів 3-ї групи можна відзначити відсутність подібних зв'язків, що вказує на знижені можливості імунної відповіді (CD22 абс. та CD4 абс.  $r_1=+0,56$   $p<0,05$ ,  $r_2=+0,45$   $p<0,05$ ,  $r_3= - 0,03$   $p<0,05$ ).

Зниження значень індексу активності нейтрофілів та рівнів фагоцитуючих нейтрофілів, при оцінці фагоцитарної ланки імунітету, свідчать про компрометацію показників фагоцитозу, починаючи з ініціальної його фази. При оцінці киснево-залежних механізмів фагоцитозу, лідируюче місце мають показники активних форм кисню (значення NST –

тесту). Показово низькі значення NST –тесту у хворих на БА у 1-ї, 2-ї і особливо 3-ї груп, демонструють суттєве зниження ефекторного, заключного потенціалу фагоцитів та порушення в системі неспецифічного захисту.

У підтвердження порушення в системі неспецифічного імунного захисту, за рахунок фагоцитарної ланки імунітету, виявлені статистично достовірно знижені рівні АФК, які продукуються нейтрофілами ( $p < 0,05$ ), а також вірогідне зменшення відсотку загиблих шляхом некрозу нейтрофілів ( $p < 0,05$ ), що вказує на знижені резервні можливості нейтрофілів на тлі тривалого запального процесу.

Таким чином у дітей, хворих на бронхіальну астму, відмічаються суттєві розлади в системі імунорегуляції, а саме: підвищення активності клітинної ланки імунітету за рахунок зростання Т-хелперів і Т-супресорів; порушення з боку гуморальної імунної ланки, яке невідривно пов'язане з функціонуванням клітинного імунітету, на що вказують кореляційні зв'язки, а це, в свою чергу вказує на спрямованість імунної відповіді в бік алергійного запалення. Також спостерігається патологічна зміна імунних механізмів захисту, що сприяють розвитку захворювання, про що свідчить рівнів ЦІК та порушення процесів фагоцитозу. Зміна функціональних можливостей нейтрофілів, займають одну з ключових позицій у запаленні дихальних шляхів та складають першу лінію неспецифічного імунного захисту, характеризується здатність їх генерувати АФК. Відомо, що АФК виступають не тільки як фактори пошкодження але й беруть участь у ключових регуляторних механізмах живої клітини (катаболізмі старих і синтезі нових молекул), відіграючи роль сигнальної системи, то зниження їх рівнів було розглянуте з позиції знижені резервів самих нейтрофілів [32,33,34].

Всі перераховані моменти можуть не тільки сприяти розвитку патологічного процесу, а і підтримувати його.

Ендотелій судин у стані спокою відіграє важливу захисну роль в організмі, а виникнення дисфункції ендотелію – це реакція на його пошкодження [2, 22].

У нашому дослідженні були виявлені підвищені рівні фактору фон Віллебранда у всіх дітей з різними ступенями частково контрольованої бронхіальної астми в періоді загострення. Ці данні вказують на наявність ендотеліальної дисфункції.

Статистична обробка рівнів фактору фон Віллебранда за допомогою тесту Краскла-Уоліса виявила достовірну різницю у групах ( $p < 0,05$ ), а враховуючи, що групи було розподілено в залежності від тяжкості бронхіальної астми, можна зробити припущення, що рівні фактору фон Віллебранда залежать від ступеня тяжкості бронхіальної астми. Найвищі показники фактору фон Віллебранда в нашій роботі відповідають тяжкому ступеню бронхіальної астми.

Наше дослідження виявило негативну кореляційну залежність фактора Віллебранда від показників функції зовнішнього дихання. Найвищі показники рівнів фактора Віллебранда асоціювалися зі зниженою функцією легень.

Цей факт, має підтвердження в науковій практиці, з огляду на те, що одним з факторів пошкодження при астмі, що не контролюється чи погано контролюється є хронічна гіпоксія. Беручи до уваги те, що ендотеліальні клітини легень є важливим компонентом газообмінного апарату альвеол, то їх пошкодження виникає при постійній нестачі кисню [5,23].

На користь наявності запального процесу в нашому дослідженні вказують дані щодо підвищеного рівня CRP у дітей з важким ступенем бронхіальної астми. Позитивний зв'язок між фактором фон Віллебранда та CRP, у пацієнтів з важкою астмою, мав місце при бісеріальному кореляційному обчисленні. [24,26].

Цитокіни, які знаходяться у спокої, практично не утворюються клітинами імунної системи, [27-29]. Важливою особливістю цих біологічно активних білків є накопичення в крові або інших рідинах організму під час активації імунної системи різноманітними патологічними процесами [26].

Різними види цитокінів активуються в залежності від різновиду запального процесу в організмі [32].

У нашому дослідженні були виявлені підвищені рівні ІЛ-2 у сироватці крові дітей, хворих на БА, в періоді загострення у порівнянні із контрольною групою. Ці результати дають змогу припустити наявність запального процесу в організмі, опираючись на те, що ІЛ-2 одним із перших долучається до запального процесу.

Найвищі показники ІЛ-2 в нашій роботі були отримані при тяжкому ступені астми. Це може свідчити про те, що чим більше виражений запальний процес, тим вищі рівні ІЛ-2. Схожі дані демонструють науковці в своїх роботах. Одні показують різницю в рівнях ІЛ-2 при різних ступенях контролю тяжкої астми (гірший контроль асоціюється з вищими рівнями ІЛ-2), а інші демонструють високі рівні ІЛ-2 у дорослих з тяжкою астмою та середньої тяжкості у порівнянні з легкою [21,22].

Також відомо що ІЛ-2-індукована передача сигналів під час праймування Th2-клітин необхідна для підтримки підвищеної продукції ІЛ-4 і підвищеної чутливості до ІЛ-4 [130], про що в нашому дослідженні свідчать сильні позитивні кореляційні зв'язки між ІЛ-2 та ІЛ-4.

У нашому дослідженні були виявлені підвищені рівні ІЛ-4 у сироватці крові у всіх дітей з різними ступенями частково контрольованої бронхіальної астми в періоді загострення порівняно з групою контролю ( $p < 0,05$ ). Беручи до уваги здатність ІЛ-4 стимулювати підвищену продукцію ІgE, яка в свою чергу сприяє накопиченню еозинофілів у периферичній крові та тканинах, то отримані дані можна розцінити як наявність алергійного запалення [28,29]. Максимально високі рівні ІЛ-4 були у пацієнтів з важкою астмою, а беручи до уваги, що групи формувалися в залежності від ступеня тяжкості бронхіальної астми, можна припустити, що зі збільшенням тяжкості астми посилюється запальний процес.

Під час статистичного аналізу виявлений прямий кореляційний зв'язок між рівнем ІЛ-4 у сироватці крові пацієнтів, хворих на БА, та тривалістю хвороби. Це дає можливість припустити, що посилення хронізації запального процесу відповідає підвищеній продукції ІЛ-4. [131,132].

Нами визначені знижені рівні  $\gamma$ -інтерферону у дітей з астмою. Найнижчі показники асоціюються з тяжкою астмою у порівнянні з групою контролю ( $p < 0,05$ ). Отримані нами дані дають змогу припустити, що ступінь зниження  $\gamma$ -інтерферону залежить від ступеня тяжкості бронхіальної астми. Наші дані співпадають з результатами інших дослідників, які продемонстрували знижені рівні  $\gamma$ -інтерферону у дітей, що часто хворіють [24] та у мишей з астмою [30,31]. В своїх роботах вони показують, як під впливом лікарських засобів змінюються рівні  $\gamma$ -інтерферону, що призводить до покращення клінічних та лабораторних показників хворих з астмою.

Виявлений зворотній кореляційний зв'язок між рівнями ІЛ-4 та ІFN- $\gamma$  у сироватці крові дітей, хворих на БА, відзеркалює регуляторну роль Th1-індукованих сигналів в інгібуванні диференціювання клітин Th2.

Подібні результати мали відображення при дослідженні астми у тварин: науковці вивчали цю комбінацію інтерлейкінів в бронхоальвеолярному лаважі при алергійній астмі в стадії ремісії та показали, що астма асоціюється з підвищенням ІЛ-4 та одночасним зниженням ІFN- $\gamma$  [134,135,137].

Виявлений негативний кореляційний зв'язок між рівнем ІFN- $\gamma$  у сироватці крові дітей з бронхіальною астмою та тривалістю хвороби. Це вказує на зниження функціональних можливостей участі ІFN- $\gamma$  в системі регуляції імунного балансу Th1/Th2 у пацієнтів в процесі хронізації захворювання. Такі дані були нами трактовані як вірогідний прояв не просто запалення, а хронічного алергічного запалення.

Дослідження показують, що у пацієнтів з астмою імунологічним патогенезом цього захворювання є не тільки надмірне диференціювання клітин Th2 і надмірна секреція цитокінів Th2, а й дисбаланс Th1/Th2 у

субпопуляціях CD4<sup>+</sup> Th клітин. [30]. Це підтверджується ще й тим, що медикаментозна корекція дисбалансу Th1/Th2, приводить до кращого контролю астми.

Схожі данні виявлені і у нашому дослідженні, а саме рівні співвідношень ІЛ-2/ ІЛ-4 та  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4 у пацієнтів, хворих на БА, вірогідно знижені у порівнянні із групою контролю, з найнижчими результатами у пацієнтів з тяжкою астмою.

Цитокіновий профіль дітей, хворих на бронхіальну астму, в періоді загострення характеризується підвищеними рівнями ІЛ-2 та ІЛ-4 та зниженими рівнями IFN- $\gamma$  у сироватці крові. Рівні ІЛ-2, ІЛ-4 та IFN- $\gamma$  залежать від приналежності до різних груп, розподіл в які залежав від тяжкості бронхіальної астми. Таким чином було з'ясовано, що під час загострення бронхіальної астми у дітей, зі зростанням тяжкості захворювання поглиблюється дисбаланс Th1/Th2, який можна вважати маркером формування тяжкого ступеня бронхіальної астми.

При проведенні прогностичного статистичного аналізу одержаних показників маркерів формування тяжкого перебігу БА у дітей були встановлені порогові значення кожного показника. Результати ROC-аналізу демонструють, що у сироватці крові, підвищення рівня ІЛ-2 понад 25,36 пг/мл, рівня ІЛ-4 понад 24.55 пг/мл, рівня фактору Віллібранда понад 24.007 нг/мл, зниження рівнів  $\gamma$ -ІН нижче ніж 80,02 пг/мл, зниження співвідношення ІЛ-2/ІЛ-4 нижче ніж 1,072,  $\gamma$ -ІН/ІЛ-4 нижче ніж 3,036; у лейкоконцентраті, зниження рівнів АФК, що продукуються нейтрофілами нижче ніж 285 у.о, % некротизованих гранулоцитів нижче ніж 4,5 % можна використовувати для прогнозування формування тяжкого перебігу БА у дітей.

## ВИСНОВКИ

У роботі подано оновлене вирішення актуальної задачі сучасної педіатрії, а саме: удосконалення діагностики та прогнозу формування тяжкого перебігу бронхіальної астми у дітей на підставі дослідження показників стану імунної відповіді та функції ендотелію.

1. Факторами ризику формування тяжкого перебігу бронхіальної астми є обтяжений сімейний анамнез на наявність алергійних захворювань (RR = 3,2,  $p < 0,001$ ); наявність у близьких родичів бронхіальної астми (RR = 6,5,  $p < 0,001$ ); дебют бронхіальної обструкції у віці до одного року (RR = 8,6,  $p < 0,001$ ); наявність супутньої алергопатології у дітей (алергічний риніт, atopічний дерматит) (RR = 5,8,  $p < 0,001$ ); наявність порушень мікрофлори кишківника у ранньому віці (RR = 4,6,  $p < 0,001$ ).

2. Рівні фактору Віллібранда у сироватці крові дітей, хворих на бронхіальну астму, у періоді загострення, статистично значуще підвищувалися, у порівнянні із групою контролю ( $p < 0,05$ ), із найвищими показниками у пацієнтів із тяжкою бронхіальною астмою ( $p < 0,05$ ), а ступінь ендотеліальної дисфункції залежав від ступеня тяжкості бронхіальної астми ( $H = 69,4612$ ,  $p < 0,001$ ).

3. Концентрації ІЛ-2 та ІЛ-4 у сироватці крові дітей, хворих на бронхіальну астму, в періоді загострення вірогідно підвищувались порівняно з контролем ( $p < 0,05$ ), із найвищими показниками у пацієнтів з тяжкою бронхіальною астмою ( $p < 0,05$ ). Показники  $\gamma$ -ІН дітей, хворих на бронхіальну астму, були зниженими у порівнянні із групою контролю ( $p < 0,05$ ), з найнижчими рівнями у пацієнтів із тяжкою бронхіальною астмою ( $p < 0,05$ ). Ступінь підвищення ІЛ-2 ( $H_{IL2} = 69,4637$ ,  $p < 0,001$ ) та ІЛ-4 ( $H_{IL4} = 69,4627$ ,  $p < 0,001$ ) та зниження  $\gamma$  Ін ( $H_{\gamma Int} = 69,1081$ ,  $p < 0,001$ ) вірогідно залежав від ступеня тяжкості бронхіальної астми.

4. Рівні співвідношень  $IL\ 2/IL4$  ,  $\gamma\ Int/IL4$  у дітей, хворих на бронхіальну астму, порівняно з групою контролю ( $p<0,05$ ), вірогідно знижувалися з найнижчими показниками у пацієнтів із групи з тяжкою бронхіальною астмою ( $p<0,05$ ), а рівень цих параметрів залежав від тяжкості бронхіальної астми ( $H_{IL\ 2/IL4}=50,4387, p<0,001$  та  $H_{\gamma\ Int/IL4}=69,4602, p<0,001$ ).

5. У пацієнтів, хворих на бронхіальну астму, наявно змінена імунна відповідь, що проявляється у порушенні стану клітинної, гуморальної та фагоцитарної ланок імунітету, а саме зі сторони клітинної ланки імунітету знижений IRI та підвищені CD3, абс., CD4, абс., CD8, абс., CD16, абс. ( $p<0,05$ ); гуморального імунітету – знижений IgG та підвищені IgE, CD22, абс. ( $p<0,05$ ); фагоцитарної імунної ланки – знижені НФ, ФЧ, ІАН, ЛКБ, NST-тест та підвищений МП ( $p<0,05$ ). Імунна відповідь дітей з тяжкою бронхіальною астмою зазнала найістотніших змін всіх показників ( $p<0,05$ ) порівняно з групою контролю та легкою бронхіальною астмою.

6. У дітей із тяжким ступенем бронхіальної астми зниження рівнів показників фагоцитарної ланки імунітету супроводжувалось вірогідним зниженням активності оксидативного стресу у нейтрофілах за рахунок зменшення кількості функціонально активних нейтрофілів ( $p<0,001$ ) та їх здатності до продукції активних форм кисню ( $p<0,001$ ).

7. Діагностично-прогностичними показниками тяжкості захворювання у дітей, хворих на бронхіальну астму, у періоді загострення з високими показниками чутливості та специфічності ознаки є:  $IL-2$  сироватки крові  $> 25,36$  пг/мл [Se-83,3%; Sp-100,0%],  $IL-4$  сироватки крові  $> 24,55$  пг/мл [Se-100,0%; Sp-100,0%], фактор Віллібранда у сироватці крові  $> 24,007$  нг/мл [Se-100,0%; Sp-100,0 %],  $\gamma$ -ІН сироватки крові  $< 80,02$  пг/мл [Se-91,7%; Sp-92,8%],  $IL-2/IL-4 < 1,072$  [Se-91,7%; Sp-92,8%],  $\gamma$ -ІН/ $IL-4 < 3,036$  [Se-83,3%; Sp-91,3%], АФК у лейкоконцентраті  $< 285$  у.о [Se-100,0%; Sp-100,0%], % некротизованих гранулоцитів (нейтрофілів)  $< 4,5$  % [Se-100,0%; Sp-84,2%].

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для оптимізації раннього виявлення формування тяжкого ступеня бронхіальної астми у дітей рекомендується ввести проведення опитування пацієнтів та їх батьків з визначенням несприятливих чинників в анамнезі, а саме: обтяжений сімейний анамнез на наявність алергійних захворювань, наявність у близьких родичів бронхіальної астми, дебют бронхіальної обструкції у віці до одного року, наявність супутньої алергопатології у дітей (алергічний риніт, атопічний дерматит), наявність порушень мікрофлори кишківника у ранньому віці.

2. Обґрунтовано доцільність, з метою більш раннього прогнозування хронічного запалення бронхо-легеневої системи у дітей, хворих на бронхіальну астму, або при наявності складнощів визначення ступеня бронхіальної астми, до стандартів комплексного обстеження додати визначення показників стану ендотелію, шляхом визначення концентрацій фактора Віллібранда у сироватці крові; цитокінового профілю (ІЛ-2, ІЛ-4 та  $\gamma$ -ІН у сироватці крові); імунної відповіді (активні форми кисню та % некротизованих гранулоцитів (нейтрофілів) у лейкоконцентраті).

3. Для прогнозування формування тяжкого ступеня бронхіальної астми у дітей рекомендується використовувати наступні показники:

підвищення рівнів

- ІЛ-2 сироватки крові  $> 25,36$  ng/ml ( чутливість - 83,3%; специфічність - 100,0%),
- ІЛ-4 сироватки крові  $> 24.55$  ng/ml (чутливість -100,0%; специфічність - 100,0 %),
- фактор Віллібранда у сироватці крові  $>24.007$  ng/ml (чутливість - 100,0%; специфічність -100,0%),

зниження рівнів

- $\gamma$ -ІН сироватки крові  $< 80,02$  ng/ml (чутливість -91,7%; специфічність - 92,8%),

- $IL-2/IL-4 < 1$ , (чутливість -91,7%; специфічність -92,8%),
- $\gamma\text{-ИН}/IL-4 < 3,036$  (чутливість -83,3%; специфічність -91,3%),
- АФК у лейкоконцентраті  $< 285$  у.о (чутливість -100,0%; специфічність -100,0%),
- % некротизованих гранулоцитів (нейтрофілів)  $< 4,5\%$  (чутливість -100,0%; специфічність -84,2%).

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Михайловська Н. С. Реабілітація пацієнтів із захворюваннями органів дихання в практиці сімейного лікаря. / Н. С. Михайловська, О. В. Шершньова, Т.О. Кулинич, О. О. Лісова.// Навчальний посібник для студентів VI курсу медичного факультету за програмою навчальної дисципліни «Загальна практика – сімейна медицина», спеціальності «Медицина» і «Педіатрія» – Запоріжжя : ЗДМУ, 2021. – 163 с.
2. The Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Initiative for Asthma (GINA) 2020. <http://www.ginasthma.org/>.
3. Hashmi MF Asthma. / Hashmi MF, Tariq M, Cataletto ME.// StatPearls. Treasure Island (FL). 2023. PMID: 28613651 Bookshelf ID: NBK430901 Free Books & Documents
4. Огнєв В. А. Епідеміологія астми та алергії у дітей. За матеріалами міжнародної програми з вивчення астми та алергії у дітей (International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC)): монографія / В. А. Огнєв. – Харків: Щедра садиба плюс, 2015. – 336 с.
5. Hendaus MA. Allergic diseases among children: nutritional prevention and intervention / Hendaus M., Jomha F., Ehlayel M. // and Clinical Risk Management. – 2016. – Vol. 12. – p. 361– 372. doi: 10.2147/TCRM.S98100
6. Asher MI Worldwide trends in the burden of asthma symptoms in school-aged children: Global Asthma Network Phase I cross-sectional study/ Asher MI Global Asthma Network Phase I Study Group //Lancet. 2021 Oct 30;398 (10311):1569-1580. doi: 10.1016/S0140-6736(21)01450-1.
7. Soares LON Evaluating the effect of childhood and adolescence asthma on the household economy/ Soares LON, Theodoro EE, Angelelli MM, Lin LL, Carchedi GR, Silva CC et all.// J Pediatr (Rio J). 2022 Sep-Oct;98(5):490-495. doi: 10.1016/j.jpmed.2021.12.010.
8. Antipkin Y Situational analysis of primary health care of children in Ukraine / Antipkin Y, Volosovets O, Lapshin V, Marushko R, Dudina O.

//CHILD`S HEALTH (2021). 15(6), 399–408. doi.org/10.22141/22240551.15.6.2020.215525

9. The Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Initiative for Asthma (GINA) 2019. <http://www.ginasthma.org/>.

10. Suruki R.Y. Retrospective cohort analysis of healthcare claims in the United States characterising asthma exacerbations in paediatric patients / R.Y.Suruki, N. Boudiaf, H.G. Ortega //The World Allergy Organization Journal. – 2016. – Vol 9, №1. – С. 1-9.

11. Рекалова О.М. Роль фунгальної сенсibiliзації у патогенезі астми та алергічних захворювань / О.М. Рекалова, Л.В. Петренко // Астма та алергія. – 2018. – №4. – С. 37-45.

12. Ковальчук М.П. Бронхіальна астма у дітей у практиці сімейного лікаря / Ковальчук М.П. // Сімейна медицина. – 2017. – Т. 73, №5. – С. 88-91.

13. Цвіренко С. М. Особливості проявів гострих респіраторних захворювань у дітей раннього віку / С. М. Цвіренко, Н. С. Артѐмова, О. І. Ананевич, І. І. Андрущенко, О. В. Білан // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2019. – Т. 19, вип. 4 (68). – С. 38–42. 16.

14. Kalliola S. Airway hyperresponsiveness in young children with respiratory symptoms / Satu Kalliola, L Pekka Malmberg, Kristiina Malmstrom, Anna S Pelkonen, Mika J Makela // Annals of allergy, asthma & immunology. – 2019. – Vol. 122, № 5. – P. 492-497. doi: 10.1016/j.anai.2019.02.025.

15. Dharmage SC Epidemiology of Asthma in Children and Adults / Dharmage SC, Perret JL, Custovic A.// Front Pediatr. 2019 Jun 18;7:246. doi: 10.3389/fped.2019.00246.

16. Duan P Impact of early life exposures on COPD in adulthood: A systematic review and meta-analysis / Duan P, Wang Y, Lin R, Zeng Y, Chen C, Yang L et all. // Respirology. 2021 Dec;26(12):1131-1151. doi: 10.1111/resp.14144.

17. Bui DS Childhood predictors of lung function trajectories and future COPD risk: a prospective cohort study from the first to the sixth decade of life./ Bui DS, Lodge CJ, Burgess JA, Lowe AJ, Perret J, Bui MQ et al. // *Lancet Respir Med.* 2018 Jul;6(7):535-544. doi: 10.1016/S2213-2600(18)30100-0.
18. Tsai ML IL-25 Induced ROS-Mediated M2 Macrophage Polarization via AMPK-Associated Mitophagy. / Tsai ML, Tsai YG, Lin YC, Hsu YL, Chen YT, Tsai MK et al. // *Int J Mol Sci.* 2021 Dec 21;23(1):3. doi: 10.3390/ijms23010003.
19. Lin YC IL-33 regulates M1/M2 chemokine expression via mitochondrial redox-related mitophagy in human monocytes. / Lin YC, Lin YC, Tsai ML, Tsai YG, Kuo CH, Hung CH. // *Chem Biol Interact.* 2022 May 25;359:109915. doi: 10.1016/j.cbi.2022.109915.
20. To T Does early life exposure to exogenous sources of reactive oxygen species (ROS) increase the risk of respiratory and allergic diseases in children? A longitudinal cohort study./ To T, Terebessy E, Zhu J, Zhang K, Lakey PS et al. // *Environ Health.* 2022 Oct 3;21(1):90. doi: 10.1186/s12940-022-00902-7.
21. Green CE The role of the endothelium in asthma and chronic obstructive pulmonary disease [COPD]. / Green CE, Turner AM. // *Respir Res* 2017;18:20. doi: 10.1186/s12931-017-0505-1.
22. Yang X. Endothelial Dysfunction and Inflammation: Immunity in Rheumatoid Arthritis / Yang X, Chang Y, Wei W // *Mediators of Inflammation.* – 2016. – 2016:6813016. doi: 10.1155/2016/6813016. 47.
23. Fuji S. Association between endothelial function and micro-vascular remodeling measured by synchrotron radiation pulmonary micro-angiography in pulmonary arterial hypertension / Fuji S, Matsushita S, Hyodo K, Osaka M, Sakamoto H, Tanioka K et al. // *General Thoracic and Cardiovascular Surgery.* – 2016. – Vol. 64, № 10. – P. 597-603. doi: 10.1007/s11748-016-0684-6.
24. El Basset Abo El Ezz AA. The predictive value of Von Willebrand factor antigen plasma levels in children with acute lung injury / Ahmed Abd El

Basset Abo El Ezz, Maher Ahmed Abd El Hafez, Doaa Mohamed El Amrousy, Ghada Abd El Momen Suliman // *Pediatric pulmonology*. – 2017. – Vol. 52, № 1. – P. 91-97. doi: 10.1002/ppul.23518.

25. Matt S. Zinter. Early Plasma Matrix Metalloproteinase Profiles. A Novel Pathway in Pediatric Acute Respiratory Distress Syndrome / Matt S. Zinter, Kevin L. Delucchi, Michele Y. Kong, Benjamin E. Orwoll, Aaron S. Spicer, Michelle J. Lim et al. // *American journal of respiratory and critical care medicine*. – 2019. – Vol. 199, № 2. – P. 181-189. doi: 10.1164/rccm.201804-0678OC.

26. Angelika Mojzisch The Manifold Cellular Functions of von Willebrand Factor. / Angelika Mojzisch, Maria A Brehm. // *Cells*. 2021 Sep 8;10(9):2351. doi: 10.3390/cells10092351.

27. Liu C Cytokines: From Clinical Significance to Quantification. / Liu C, Chu D, Kalantar-Zadeh K, George J, Young HA, Liu G. // *Adv Sci (Weinh)*. 2021 Aug;8(15):e2004433. doi: 10.1002/advs.202004433.

28. Zubchenko S Analysis of the level of cytokines with antiviral activity in patients with allergopatology in active and latent phases of chronic persistent epstein-barr infection// Zubchenko S, Potemkina G, Havrylyuk A, Lomikovska M, Sharikadze O. // *Georgian Med News*. 2019 Apr;(289):158-162. PMID: 31215899, EID: 2-s2.0-85068482154

29. Monastero, RN Cytokines as Biomarkers and Their Respective Clinical Cutoff Levels / Monastero, RN, Pentylala, S. // *Int. J. Inflammation* 2017, 1.UNSP 4309485 DOI10.1155/2017/4309485

30. Huang M Immunoregulatory effect of mesenchymal stem cell via mitochondria signaling pathways in allergic asthma./ Huang M, Mehrabi Nasab E, Athari SS. // *Saudi J Biol Sci*. 2021 Dec;28(12):6957-6962. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.07.071.

31. Xu C Pterostilbene suppresses oxidative stress and allergic airway inflammation through AMPK/Sirt1 and Nrf2/HO-1 pathways./ Xu C, Song Y, Wang Z, Jiang J, Piao Y, Li L et al. // *Immun Inflamm Dis*. 2021 Dec;9(4):1406-1417. doi: 10.1002/iid3.490.

32. León B. Understanding the development of Th2 cell-driven allergic airway disease in early life. / León B. // *Front Allergy*. 2023 Jan 10;3:1080153. doi: 10.3389/falgy.2022.1080153.
33. Eslami M Probiotics function and modulation of the immune system in allergic diseases. / Eslami M, Bahar A, Keikha M, Karbalaei M, Kobylak NM, Yousefi B. // *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2020 Nov-Dec; 48 (6):771-788. doi: 10.1016/j.aller.2020.04.005.
34. Mvoundza Ndjindji O Allergic Diseases in Sub-Saharan Africa. / Mvoundza Ndjindji O, Djoba Siawaya JF. Mapping // *Front Allergy*. 2022 Feb 17;3:850291. doi: 10.3389/falgy.2022.850291.
35. Hu T Pathogenesis of Children's Allergic Diseases: Refocusing the Role of the Gut Microbiota. / Hu T, Dong Y, Yang C, Zhao M, He Q. // *Front Physiol*. 2021 Oct 14;12:749544. doi: 10.3389/fphys.2021.749544.
36. Sakamoto E Chemical- and Drug-Induced Allergic, Inflammatory, and Autoimmune Diseases Via Haptenation. / Sakamoto E, Katahira Y, Mizoguchi I, Watanabe A, Furusaka Y, Sekine A et al. // *Biology (Basel)*. 2023 Jan 12;12(1):123. doi: 10.3390/biology12010123. PMID: 36671815; PMCID: PMC9855847.
37. Langan SM Atopic dermatitis. / Langan SM, Irvine AD, Weidinger S. // *Lancet*. 2020 Aug 1;396(10247):345-360. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31286-1.
38. Shaker MS Anaphylaxis a 2020 practice parameter update, systematic review, and Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation (GRADE) analysis. / Shaker MS, Wallace DV, Golden DBK, et al. // *J Allergy Clin Immunol*. 2020;145:1082–1123. doi: 10.1016/j.jaci.2020.01.017.
39. Takamura E Japanese Society of Allergology. Japanese guidelines for allergic conjunctival diseases 2017./ Takamura E, Uchio E, Ebihara N, Ohno S, Ohashi Y, Okamoto S et al. // *Allergol Int*. 2017 Apr;66(2):220-229. doi: 10.1016/j.alit.2016.12.004.

40. Demain JG. Insect Migration and Changes in Venom Allergy due to Climate Change. / Demain JG. //Immunol Allergy Clin North Am. 2021 Feb;41(1):85-95. doi: 10.1016/j.iac.2020.09.010.

41. Izquierdo-Domínguez A Management of Allergic Diseases During COVID-19 Outbreak. / Izquierdo-Domínguez A, Rojas-Lechuga MJ, Alobid I. // Curr Allergy Asthma Rep. 2021 Feb 9;21(2):8. doi: 10.1007/s11882-021-00989-x.

42. Umanets T. R. Virus-induced asthma exacerbations in children: efficiency and tolerability of the «Esberitox» medication / Umanets T. R., Lapshyn V. F., Stepanova L. S., Rudnev A. A., Buratynska A. A., Pustovalova O. I. //Ukrainian Journal of Perinatology and Pediatrics. 2020. 1(81): 64-69; doi 10.15574/PP.2020.81.64.

43. Lee E. Management of patients with allergic diseases in the era of COVID-19. / Lee E. //Clin Exp Pediatr. 2022 Nov;65(11):529-535. doi: 10.3345/cep.2022.00759.

44. Cardet JC Nonrespiratory Comorbidities in Asthma. / Cardet JC, Bulkhi AA, Lockey RF. // J Allergy Clin Immunol Pract. 2021 Nov;9(11):3887-3897. doi: 10.1016/j.jaip.2021.08.027.

45. Denlinger LC National Heart, Lung, and Blood Institute's Severe Asthma Research Program-3 Investigators. Inflammatory and Comorbid Features of Patients with Severe Asthma and Frequent Exacerbations. / Denlinger LC, Phillips BR, Ramratnam S, Ross K, Bhakta NR, Cardet JC et al. //Am J Respir Crit Care Med. 2017 Feb 1;195(3):302-313. doi: 10.1164/rccm.201602-0419OC. Erratum in: Am J Respir Crit Care Med. 2018 Apr 1;197(7):971.

46. Hon KL Quality of Life for Children with Allergic Skin Diseases. / Hon KL, Chu S, Leung AKC. //Curr Pediatr Rev. 2022;18(3):191-196. doi: 10.2174/1573396317666210901124211.

47. Strózek J The indirect costs of allergic diseases. / Strózek J, Samoliński BK, Kłak A, Gawińska-Drużba E, Izdebski R et al. // Int J Occup Med Environ Health. 2019 Jun 14;32(3):281-290. doi: 10.13075/ijomeh.1896.01275.

48. Kulthanan K Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of atopic dermatitis. / Kulthanan K, Tuchinda P, Nitiyarom R, Chunharas A, Chantaphakul H et all. // Asian Pac J Allergy Immunol. 2021 Sep;39(3):145-155. doi: 10.12932/AP-010221-1050.

49. Licari A Asthma Endotyping and Biomarkers in Childhood Asthma. / Licari A, Castagnoli R, Brambilla I, all. // Pediatr Allergy Immunol Pulmonol 2018;31:44-55.

50. Gao H Pathological roles of neutrophil-mediated inflammation in asthma and its potential for therapy as a target./ Gao H, Ying S, Dai Y. // J Immunol Res 2017;2017:3743048.

51. Yu L Punicalagin Alleviates Aged Bronchial Asthma by Inhibiting Th2 Differentiation through IL-4/STAT6 and Jagged1/Notch Pathways. / Yu L, Li J. // J Healthc Eng. 2022 Jan 30;2022:1184677. doi: 10.1155/2022/1184677.

52. Bravo-Solarte DC Asthma in pregnancy. / Bravo-Solarte DC, Garcia-Guaqueta DP, Chiarella SE. //Allergy Asthma Proc. 2023 Jan 1;44(1):24-34. doi: 10.2500/aap.2023.44.220077.

53. Sicherer SH Food Allergy from Infancy Through Adulthood. / Sicherer SH, Warren CM, Dant C, Gupta RS, Nadeau KC. // J Allergy Clin Immunol Pract. 2020 Jun;8(6):1854-1864. doi: 10.1016/j.jaip.2020.02.010.

54. Uchida A. Epidemiology of asthma-chronic obstructive pulmonary disease overlap (ACO) / Akifumi Uchida, Kohta Sakaue, Hiromasa, Inoue // Allergology International. – 2018. Vol. 67, № 2. – P. 165-171. doi: 10.1016/j.alit.2018.02.002.

55. Шадрін О. Г. Лейкотрієнові механізми патогенезу алергічного ентероколіту в дітей раннього віку / О. Г. Шадрін, Г. А. Гайдучик // Zaporozhye medical journal. – 2018. – Vol 20. №6. – С. 817-821.

56. Hoyte FCL Recent advances in allergic rhinitis. / Hoyte FCL, Nelson HS. // F1000 Res. 2018 Aug 23;7:F1000 Faculty Rev-1333. doi: 10.12688/f1000research.15367.1.

57. Okubo K Japanese guidelines for allergic rhinitis 2020. / Okubo K, Kurono Y, Ichimura K, Enomoto T, Japanese Society of Allergology et al. // *Allergol Int.* 2020 Jul;69(3):331-345. doi: 10.1016/j.alit.2020.04.001.
58. Fishbein AB Update on Atopic Dermatitis: Diagnosis, Severity Assessment, and Treatment Selection./ Fishbein AB, Silverberg JI, Wilson EJ, Ong PY. // *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2020 Jan;8(1):91-101. doi: 10.1016/j.jaip.2019.06.044.
59. Bylund S Prevalence and Incidence of Atopic Dermatitis: A Systematic Review. / Bylund S, Kobyletzki LB, Svalstedt M, Svensson Å. // *Acta Derm Venereol.* 2020 Jun 9;100(12):adv00160. doi: 10.2340/00015555-3510.
60. Фещенко Ю. І. Нові підходи покращення лікування бронхіальної астми у світовій практиці /Фещенко Ю. І. // *Asthma and Allergy.* – 2019. Т.4. С. 56-57.
61. Duda L Comparative analysis of prevalence of the most common allergy diseases in children of the Kyiv region (Ukraine)./ Duda L, Okhotnikova O, Sharikadze O, Zubchenko S. // *Georgian Med News.* 2019 Jun;(291):53-58. EID: 2-s2.0-85071321878.
62. Hoch HE. Asthma in Children: A Brief Review for Primary Care Providers / Heather E Hoch, Paul R Houin, Paul C Stillwell // *Pediatric annals.* – 2019. – Vol. 48, №3. – P. 103-109. doi: 10.3928/19382359-20190219-01.
63. Popović-Grle S Biomarkers in Different Asthma Phenotypes. / Popović-Grle S, Štajduhar A, Lampalo M, Rnjak D. // *Genes (Basel).* 2021 May 25;12(6):801. doi: 10.3390/genes12060801.
64. Al-Shamrani A. Wheezing in children: Approaches to diagnosis and management / Abdullah Al-Shamrani, Khalid Bagais, Ayed Alenazi, Mansour Alqwaiee, Adel S. Al-Harbi // *International Journal of Pediatrics and Adolescent Medicine.* – 2019. Vol. 6. №2. – P. 68-73. doi: 10.1016/j.ijpam.2019.02.003.
65. Stokes JR Prevention and treatment of recurrent viral-induced wheezing in the preschool child. / Stokes JR, Bacharier LB. // *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2020 Aug;125(2):156-162. doi: 10.1016/j.anai.2020.05.018.

66. Padem N The infant and toddler with wheezing. / Padem N, Glick Robison R. // *Allergy Asthma Proc.* 2019 Nov 1;40(6):393-395. doi: 10.2500/aap.2019.40.4255.
67. Bacharier LB Which Wheezing Preschoolers Should be Treated for Asthma?/ Bacharier LB, Guilbert TW, Jartti T, Saglani S. // *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2021 Jul;9(7):2611-2618. doi: 10.1016/j.jaip.2021.02.045.
68. Охотнікова О.М. Помилки діагностики бронхіальної астми у дітей та сучасні підходи до визначення тяжкості загострення хвороби / Охотнікова О.М. // *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія.* – 2016. Спецвипуск № 1. С. 10-16.
69. Гончарь М.А. Предикторы развития бронхиальной астмы у детей с рецидивирующим визингом дошкольного возраста / М.А. Гончарь, О.Л. Логвинова, Е.П. Помазуновская, Д.С. Хаустов, Т.Л. Нгуен // *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія.* – 2018. № 3 (108). – С. 12-14.
70. Marpole R Evaluation and Management of Respiratory Illness in Children With Cerebral Palsy. / Marpole R, Blackmore AM, Gibson N, Cooper MS, Langdon K, Wilson AC. // *Front Pediatr.* 2020 Jun 24;8:333. doi: 10.3389/fped.2020.00333.
71. Almeshari MA Can physiological tests of small airways function help? / Almeshari MA, Stockley J, Sapey E. The diagnosis of asthma. // *Chron Respir Dis.* 2021 Jan-Dec;18:14799731211053332. doi: 10.1177/14799731211053332.
72. Yang C.L. Question 3: Can we diagnose asthma in children under the age of 5 years? / C.L. Yang,a, J.M. Gaffin,b and D. Radhakrishnanc // *Paediatric respiratory reviews.* – 2019. Vol. 29. – P. 25-30.
73. Lonneke M. Clinical asthma prediction score (CAPS): Predicting asthma in preschool children at high risk, presenting in primary healthcare / Lonneke van der Mark, Karina van Wonderen, Jacob Mohrs et all. // *European Respiratory Journal.* – 2013. Vol. 42, № 57. – P. 1146.

74. Souheil H, Clara R, Hala S, Mirna W, Pascale S. The Preschool Asthma Risk Factors Scale: A predictive tool for asthma and respiratory symptoms among preschool children in Lebanon. /Souheil H, Clara R, Hala S, Mirna W, Pascale S.// *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2021 Jul 1;49(4):38-46. doi: 10.15586/aei.v49i4.97.

75. Kawayama T. Role of Regulatory T cells in Airway Inflammation in Asthma / Tomotaka Kawayama, Takashi Kinoshita, Kazuko Matsunaga, Yoshiko Naito, Jun Sasaki, Yoshikazu Tominaga // *The Kurume medical journal*. – 2018. – Vol. 64, № 3. – P. 45-55. doi: 10.2739/kurumemedj.MS6430001.

76. RCPCCH Inside Story: Health Effects of Indoor Air Quality on Children and Young People. 2020. [(accessed on 25 February 2022)].

77. Maung TZ Indoor Air Pollution and the Health of Vulnerable Groups: A Systematic Review Focused on Particulate Matter (PM), Volatile Organic Compounds (VOCs) and Their Effects on Children and People with Pre-Existing Lung Disease. / Maung TZ, Bishop JE, Holt E, Turner AM, Pfrang C. // *Int J Environ Res Public Health*. 2022 Jul 19;19(14):8752. doi: 10.3390/ijerph19148752.

78. Murrison LB Environmental exposures and mechanisms in allergy and asthma development. / Murrison LB, Brandt EB, Myers JB, Hershey GKK. // *J Clin Invest*. 2019 Apr 1;129(4):1504-1515. doi: 10.1172/JCI124612.

79. Jartti T Role of viruses in asthma. / Jartti T, Bønnelykke K, Elenius V, Feleszko W. // *Semin Immunopathol*. 2020 Feb;42(1):61-74. doi: 10.1007/s00281-020-00781-5.

80. Ntontsi P Genetics and Epigenetics in Asthma. / Ntontsi P, Photiades A, Zervas E, Xanthou G, Samitas K. // *Int J Mol Sci*. 2021 Feb 27;22(5):2412. doi: 10.3390/ijms22052412.

81. Chunxi L The Gut Microbiota and Respiratory Diseases: New Evidence. / Chunxi L, Haiyue L, Yanxia L, Jianbing P, Jin S. // *J Immunol Res*. 2020 Jul 31;2020:2340670. doi: 10.1155/2020/2340670.

82. Polinski KJ. Maternal Obesity, Gestational Weight Gain, and Asthma in Offspring / Kristen J Polinski, Jihong Liu, Nansi S Boghossian, Alexander C McLain // Preventing chronic disease. – 2017. – Vol. 14:E109. doi: 10.5888/pcd14.170196.
83. Mansur JL. Vitamin D: Before, during and after Pregnancy: Effect on Neonates and Children. / Mansur JL, Oliveri B, Giacoia E, Fusaro D, Costanzo PR. // Nutrients. 2022 May 1;14(9):1900. doi: 10.3390/nu14091900.
84. Brittan MS Association between early childhood lower respiratory tract infections and subsequent asthma. /Brittan MS, Moss A, Watson JD, Federico MJ, Rice JD, Dempsey AF, Ambroggio L. //J Asthma. 2022 Nov;59(11):2143-2153. doi: 10.1080/02770903.2021.1999469.
85. Loewen K. Prenatal antibiotic exposure and childhood asthma: a population-based study / Keely Loewen, Barret Monchka, Salaheddin M Mahmud, Geert 't Jong, Meghan B Azad // The European respiratory journal. – 2018. – Vol. 52, № 1:1702070. doi: 10.1183/13993003.02070-2017.
86. Chan R Impaired Respiratory System Resistance and Reactance Are Associated With Bronchial Wall Thickening in Persistent Asthma. / Chan R, Duraikannu C, Thouseef MJ, Lipworth B. //J Allergy Clin Immunol Pract. 2023 May;11(5):1459-1462.e3. doi: 10.1016/j.jaip.2022.12.040.
87. Kim DI Comparison of asthma phenotypes in OVA-induced mice challenged via inhaled and intranasal routes. / Kim DI, Song MK, Lee K. // BMC Pulm Med. 2019 Dec 10;19(1):241. doi: 10.1186/s12890-019-1001-9.
88. Gunasekera KD Prevalence of asthma and its symptoms in Sri Lankan adults. / Gunasekera KD, Amarasiri WADL, Undugodage UCM, Silva HKMS, Sadikeen A, Gunasinghe W et all. // BMC Public Health. 2022 Dec 13;22(1):2330. doi: 10.1186/s12889-022-14793-3.
89. Arellano-Orden E Cellular mechanisms involved in the pathogenesis of airway remodeling in chronic lung disease. / Arellano-Orden E, Calero Acuña C, Sánchez-López V, López Ramírez C, Otero-Candelera R et all. // Eur Clin Respir J. 2022 Jul 8;9(1):2097377. doi: 10.1080/20018525.2022.2097377.

90. Chung KF. Asthma phenotyping: a necessity for improved therapeutic precision and new targeted therapies. / Chung KF. // *J Intern Med*. 2016 Feb;279(2):192-204. doi: 10.1111/joim.12382.

91. Zhang J The role of NTHi colonization and infection in the pathogenesis of neutrophilic asthma. / Zhang J, Zhu Z, Zuo X, Pan H, Gu Y et al. // *Respir Res*. 2020 Jul 3;21(1):170. doi: 10.1186/s12931-020-01438-5.

92. Menzies-Gow A Oral corticosteroid elimination via a personalised reduction algorithm in adults with severe, eosinophilic asthma treated with benralizumab (PONENTE): a multicentre, open-label, single-arm study./ Menzies-Gow A, Gurnell M, Heaney LG, Corren J, Bel EH et al. // *Lancet Respir Med*. 2022 Jan;10(1):47-58. doi: 10.1016/S2213-2600(21)00352-0.

93. Vatrella A Eosinophilic inflammation: An Appealing Target for Pharmacologic Treatments in Severe Asthma. / Vatrella A, Maglio A, Pelaia C, Ciampo L, Pelaia G, Vitale C. // *Biomedicines*. 2022 Sep 3;10(9):2181. doi: 10.3390/biomedicines10092181.

94. Van Hulst G Eosinophils as Drivers of Severe Eosinophilic Asthma: Endotypes or Plasticity? / Van Hulst G, Bureau F, Desmet CJ. // *Int J Mol Sci*. 2021 Sep 21;22(18):10150. doi: 10.3390/ijms221810150.

95. Chen F The role of neutrophils in asthma. / Chen F, Yu M, Zhong Y, Hua W, Huang H. // *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2021 Feb 25;50(1):123-130. English. doi: 10.3724/zdxbyxb-2021-0030.

96. Kuruvilla M.E. Understanding asthma phenotypes, endotypes, and mechanisms of disease. / Kuruvilla M.E., Lee F.E., Lee G.B. // *Clin. Rev. Allergy Immunol*. 2019;56:219–233. doi: 10.1007/s12016-018-8712-1.

97. Papaioannou AI Paucigranulocytic Asthma: Potential Pathogenetic Mechanisms, Clinical Features and Therapeutic Management. / Papaioannou AI, Fouka E, Ntontsi P, Stratakos G, Papiris S. // *J Pers Med*. 2022 May 23;12(5):850. doi: 10.3390/jpm12050850.

98. Dong H New insights into autophagy in inflammatory subtypes of asthma. / Dong H, Yang W, Li W, Zhu S et al. //Front Immunol. 2023 Apr 6;14:1156086. doi: 10.3389/fimmu.2023.1156086.

99. Kubo M. Innate and adaptive type 2 immunity in lung allergic inflammation / M. Kubo // Immunological reviews. – 2017. – Vol. 278, № 1. – P. 162- 172. doi: 10.1111/imr.12557.

100. Eltzschig HK Hypoxia and inflammation. / Eltzschig HK, Carmeliet P. // N Engl J Med. 2011 Feb 17;364(7):656-65. doi: 10.1056/NEJMra0910283.

101. Taylor CT Regulation of immunity and inflammation by hypoxia in immunological niches. / Taylor CT, Colgan SP. //Nat Rev Immunol. 2017 Dec;17(12):774-785. doi: 10.1038/nri.2017.103.

102. Egners A. The response of macrophages and neutrophils to hypoxia in the context of cancer and other inflammatory diseases/ A. Egners, M. Erdem, T.Cramer// Mediators of inflammation. – 2016.- [doi.org/10.1155/2016/2053646](https://doi.org/10.1155/2016/2053646).

103. Gheware A Adhatoda vasica rescues the hypoxia-dependent severe asthma symptoms and mitochondrial dysfunction. / Gheware A, Panda L, Khanna K et al. //Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2021 May 1;320(5):L757-L769. doi: 10.1152/ajplung.00511.2020.

104. Taytard J Children with uncontrolled asthma and significant reversibility might show hypoxaemia. / Taytard J, Lacin F, Nguyen TLT, Boizeau P, Alberti C, Beydon N. //Eur J Pediatr. 2020 Jun;179(6):999-1005. doi: 10.1007/s00431-020-03600-z.

105. Г. В. Єрмоєнко Особливості профібротичних маркерів та ендотеліальної дисфункції у хворих на бронхіальну астму та в коморбідності ожирінням та цукровим діабетом 2 типу / Г. В. Єрмоєнко, Т. С. Оспанова, Т. В. Бездітко //Scientific Journal «ScienceRise: Medical Science» № 7(27)2018 p 35-28. DOI: 10.15587/2519-4798.2018.148972.

106. Satta E Kidney and lung in pathology: mechanisms and clinical implications. / Satta E, Alfarone C, De Maio A et al. //Multidiscip Respir Med. 2022 Jan 18;17(2):819. doi: 10.4081/mrm.2022.819.

107. Warner JO The Foetal Origins of Allergy and Potential Nutritional Interventions to Prevent Disease. / Warner JO, Warner JA. // *Nutrients*. 2022 Apr 12;14(8):1590. doi: 10.3390/nu14081590.

108. Umanets, T. Opportunities of prevention of asthma exacerbation induced by respiratory infection in children using bacterial lysates / Umanets, T., Lapshyn, V., Rudnev O. // (2021) *CHILD'S HEALTH*, 15(5), 333–338. [doi.org/10.22141/2224-0551.15.5.2020.211451](https://doi.org/10.22141/2224-0551.15.5.2020.211451).

109. Gans MD Understanding the immunology of asthma: Pathophysiology, biomarkers, and treatments for asthma endotypes. / Gans MD, Gavrilova T. // *Paediatr Respir Rev*. 2020 Nov;36:118-127. doi: 10.1016/j.prrv.2019.08.002.

110. Lambrecht BN The immunology of the allergy epidemic and the hygiene hypothesis. / Lambrecht BN, Hammad H. // *Nat Immunol*. 2017 Sep 19;18(10):1076-1083. doi: 10.1038/ni.3829.

111. Gomez-Salineró JM, Rafii S. Endothelial cell adaptation in regeneration. / Gomez-Salineró JM, Rafii S. // *Science*. 2018 Dec 7;362(6419):1116-1117. doi: 10.1126/science.aar4800.

112. Neubauer K Endothelial cells and coagulation. / Neubauer K, Zieger B. // *Cell Tissue Res*. 2022 Mar;387(3):391-398. doi: 10.1007/s00441-021-03471-2.

113. Altamura C Migraine, endothelium, hemodynamics. / Altamura C, Paolucci M, Vernieri F. // *Neurol Sci*. 2018 Jun;39 (Suppl 1):87-89. doi: 10.1007/s10072-018-3351-0.

114. Lafoz E. The Endothelium as a Driver of Liver Fibrosis and Regeneration. / Lafoz E, Ruat M, Anton A, Oncins A, Hernández-Gea V. // *Cells*. 2020 Apr 10;9(4):929. doi: 10.3390/cells9040929. PMID: 32290100; PMCID: PMC7226820.

115. Ricard N The quiescent endothelium: signalling pathways regulating organ-specific endothelial normalcy. / Ricard N, Bailly S, Guignabert C, Simons

M. // *Nat Rev Cardiol.* 2021 Aug;18(8):565-580. doi: 10.1038/s41569-021-00517-4.

116. Triantafyllidi H Endothelium: The Trivial Fence Became a Powerful Gatekeeper of Vascular Health. / Triantafyllidi H, Benas D. // *Angiology.* 2021 Aug;72(7):601-603. doi: 10.1177/0003319721992238.

117. Manuyakorn W Blood Coagulation and Asthma Exacerbation in Children. / Manuyakorn W, Mairiang D, Sirachainan N, Kadegasem P, Kamchaisatian W, Benjaponpitak S, Chuansumrit A // *Int Arch Allergy Immunol.* 2016;170(2):75-83. doi: 10.1159/000446775.

118. Goncharova EA Update in pulmonary vascular diseases and right ventricular dysfunction 2019. / Goncharova EA, Chan SY, Ventetuolo CE, Weissmann N, Schermuly RT, et al. // *Am J Respir Crit Care Med.* 2020; 202:22–28. doi: 10.1164/rccm.202003-0576UP.

119. Huertas A Pulmonary vascular endothelium: the orchestra conductor in respiratory diseases: Highlights from basic research to therapy. / Huertas A, Guignabert C, Barberà JA, Bärtsch P, Bhattacharya J et al. // *Eur Respir J.* 2018 Apr 4;51(4):1700745. doi: 10.1183/13993003.00745-2017.

120. D'Ardes D From Endothelium to Lipids, Through microRNAs and PCSK9: A Fascinating Travel Across Atherosclerosis. / D'Ardes D, Santilli F, Guagnano MT, Bucci M, Cipollone F. // *High Blood Press Cardiovasc Prev.* 2020 Feb;27(1):1-8. doi: 10.1007/s40292-019-00356-y.

121. Poredos P Endothelial Dysfunction and Its Clinical Implications./ Poredos P, Poredos AV, Gregoric I. // *Angiology.* 2021;72(7):604-615. doi:10.1177/0003319720987752.

122. Sottile PD Neuromuscular blockade is associated with the attenuation of biomarkers of epithelial and endothelial injury in patients with moderate-to-severe acute respiratory distress syndrome. / Sottile PD, Albers D, Moss MM. // *Crit Care* 2018;22:63. doi: 10.1186/ s13054-018-1974-4.

123. Thaçi S Vasorelaxant Effects of the Vitex Agnus-Castus Extract. / Thaçi S, Krasniqi B, Dërmaku-Sopjani M, Rifati-Nixha A, Abazi S, Sopjani M. //

Evid Based Complement Alternat Med. 2022 Mar 22;2022:7708781. doi: 10.1155/2022/7708781.

124. Zhang H The Curcumin-Induced Vasorelaxation in Rat Superior Mesenteric Arteries. / Zhang H, Liu H, Chen Y, Zhang Y. //Ann Vasc Surg. 2018 Apr;48:233-240. doi: 10.1016/j.avsg.2017.09.007.

125. Manz XD, Bogaard HJ, Aman J. Regulation of VWF (Von Willebrand Factor) in Inflammatory Thrombosis. / Manz XD, Bogaard HJ, Aman J. //Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2022 Nov;42(11):1307-1320. doi: 10.1161/ATVBAHA.122.318179.

126. Zinter MS Early plasma matrix metalloproteinase profiles. A novel pathway in pediatric acute respiratory distress syndrome. / Zinter MS, Delucchi KL, Kong MY, et al. //Am J Respir Crit Care Med 2019; 199:181-9.

127. Ошлянська О.А. Особливості гуморального місцевого імунітету у дітей з недиференційованою дисплазією сполучної тканини / О.А. Ошлянська 1 , В.М. Вовк // ПЕРИНАТОЛОГІЯ І ПЕДІАТРІЯ. – 2017. – №4(72). – С. 89-94.

128. Ray A. Neutrophilic Inflammation in Asthma and Association with Disease Severity / Anuradha Ray, Jay K. Kolls // Trends in immunology. – 2017. – Vol. 38, № 12. – P. 942–954. doi: 10.1016/j.it.2017.07.003.

129. Pavord I. D. The current and future role of biomarkers in type 2 cytokine-mediated asthma management / I. D. Pavord, S. Afzalnia, A. Menzies-Gow, L. G. //Heaney Volume 47, Issue2 February 2017Pages 148-160 <https://doi.org/10.1111/cea.12881>.

130. Liu C, Chu D, Kalantar-Zadeh K, George J, Young HA, Liu G. Cytokines: From Clinical Significance to Quantification. / Liu C, Chu D, Kalantar-Zadeh K, George J, Young HA, Liu G. //Adv Sci (Weinh). 2021 Aug;8(15):e2004433. doi: 10.1002/advs.202004433.

131. Monastero, RN. Cytokines as Biomarkers and Their Respective Clinical Cutoff Levels / Monastero, RN, Pentylala, S. //Int. J. Inflammation 2017, 1.UNSP 4309485 DOI10.1155/2017/4309485.

132. Dubin C. The IL-4, IL-13 and IL-31 pathways in atopic dermatitis./ Dubin C, Del Duca E, Guttman-Yassky E. // *Expert Rev Clin Immunol*. 2021 Aug;17(8):835-852. doi: 10.1080/1744666X.2021.1940962.

133. Syabbalo, N. Biomarkers for Diagnosis and Management of Eosinophilic Asthma. *Ann.* / Dubin C, Del Duca E, Guttman-Yassky E. // *Clin. Med. Res.* 2020, 1, 1003. doi: 10.1080/1744666X.2021.1940975.

134. Alspach E. Interferon  $\gamma$  and Its Important Roles in Promoting and Inhibiting Spontaneous and Therapeutic Cancer Immunity. /Alspach E, Lussier DM, Schreiber RD. // *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2019 Mar 1;11(3):a028480. doi: 10.1101/cshperspect.a028480.

135. Muntaka S. Gamma Interferon and Interleukin-17A Differentially Influence the Response of Human Macrophages and Neutrophils to *Pseudomonas aeruginosa* Infection. / Muntaka S, Almuhan Y, Jackson D, Singh S, Afryie-Asante A et al. // *Infect Immun*. 2019 Jan 24;87(2):e00814-18. doi: 10.1128/IAI.00814-18.

136. Lin JX. Fine-Tuning Cytokine Signals. / Lin JX, Leonard WJ. // *Annu Rev Immunol*. 2019 Apr 26;37:295-324. doi: 10.1146/annurev-immunol-042718-041447.

137. Kang S. Direct Antiviral Mechanisms of Interferon-Gamma. / Kang S, Brown HM, Hwang S. // *Immune Netw*. 2018 Oct 17;18(5):e33. doi: 10.4110/in.2018.18.e33.

138. Наказ Міністерства охорони здоров'я України (МОЗ України)  
Дати: 08.10.2013 Номери: № 868 Ідентифікатор: v0868282-13.

139. Zhang J. Reliability and validity of the Chinese version of the Test for Respiratory and Asthma Control in Kids (TRACK) in preschool children with asthma: a prospective validation study. / Zhang J, Zhao L, Zhao D, Chen Z, Li S et al. // *BMJ Open*. 2019 Aug 26;9(8):e025378. doi: 10.1136/bmjopen-2018-025378.

140. Tinschert P. Prevalence of nocturnal cough in asthma and its potential as a marker for asthma control (MAC) in combination with sleep quality: protocol of a smartphone-based, multicentre, longitudinal observational study with two

stages. / Tinschert P, Rassouli F, Barata F, Steurer-Stey C, Fleisch E et all. //BMJ Open. 2019 Jan 7;9(1):e026323. doi: 10.1136/bmjopen-2018-026323.

141. Майданник В. Г. Бронхіальна астма у дітей : навчальний посібник / В. Г. Майданник, О. І. Сміян, П. І. Січненко та ін. ; за ред. проф. В. Г. Майданника та проф. О. І. Сміяна.// – Суми : Сумський державний університет, 2017. – 243 с. ISBN 978-966-657-663-0.

142. Rivas-Juesas C. Maternal smoking during pregnancy and asthma during the first year of life: a comparative study between smokers and nonsmoker mothers. / Rivas-Juesas C, Monge LF, Vicente AD, García AL, Crespo MG, Sinisterra AC.//Allergol Immunopathol (Madr). 2021 Sep 1;49(5):32-41. doi: 10.15586/aei.v49i5.439.

143. Matsyura O. ARTIFICIAL VENTILATION OF THE LUNGS IN THE NEONATAL PERIOD: LONG-TERM OUTCOMES. / Matsyura O, Besh L, Slyuzar Z, Borysiuk O, Besh O, Gutor T. //Georgian Med News. 2023 Feb;(335):17-21.

144. Burton GJ. Placental Origins of Chronic Disease. / Burton GJ, Fowden AL, Thornburg KL. //Physiol Rev. 2016;96(4):1509–65

145. Liu L. Association between constipation and the development of asthma: a meta-analysis. / Liu L, Zhang X, Jiang Z, Wang G, Wu H et all. //Allergy Asthma Clin Immunol. 2022 Aug 8;18(1):73. doi: 10.1186/s13223-022-00708-9.

146. Huang YC. The influence of constipation on asthma: A real-world, population-based cohort study. / Huang YC, Wu MC, Wang YH, Wei JC. //Int J Clin Pract. 2021 Oct;75(10):e14540. doi: 10.1111/ijcp.14540.

147. Huang YC. Do Children With Constipation Have Increased Risk of Asthma? Real-World Data From a Nationwide Population-Based Cohort Study. / Huang YC, Wu MC, Wang YH, Wei JC. //Front Pediatr. 2021 Aug 30;9:714406. doi: 10.3389/fped.2021.714406.

148. Malakhova V. Anamnestic risk factors for asthma development in infants / V. Malakhova // Inter Collegas. – 2020. – Vol. 7 (№ 1). – P. 5–9.

149. Tsuge M. Current Insights into Atopic March. / Tsuge M, Ikeda M, Matsumoto N, Yorifuji T, Tsukahara H. //Children (Basel). 2021 Nov 19;8(11):1067. doi: 10.3390/children8111067.

150. Ntontsi P. Genetics and Epigenetics in Asthma. / Ntontsi P, Photiades A, Zervas E, Xanthou G, Samitas K. //Int J Mol Sci. 2021 Feb 27;22(5):2412. doi: 10.3390/ijms22052412.

151. Zejda JE. Prevalence of and factors associated with underdiagnosis of pediatric asthma in Batumi, Georgia. / Zejda JE, Beridze V, Bakhtadze T, Beridze S, Abuladze L et al. // Allergol Immunopathol (Madr). 2020 Jan-Feb;48(1):73-77. doi: 10.1016/j.aller.2019.05.006.

152. Denlinger LC. Exacerbation-Prone Asthma. / Denlinger LC, Heymann P, Lutter R, Gern JE. //J Allergy Clin Immunol Pract. 2020 Feb;8(2):474-482. doi: 10.1016/j.jaip.2019.11.009. Epub 2019 Nov 22.

153. Tao JL, Chen YZ, Dai QG, Tian M, Wang SC, Shan JJ, Ji JJ, Lin LL, Li WW, Yuan B. Urine metabolic profiles in paediatric asthma. *Respirology*. 2019 Jun;24(6):572-581. doi: 10.1111/resp.

154. Kachkovska VV. Matrix metalloproteinases as markers of respiratory tract remodeling and potential therapeutic target in patients with bronchial asthma. / Kachkovska VV. //EUMJ. 2021;9(2):174-188 doi.org/10.21272/eumj.2021;9(2):174-188.

155. Абатуров А.Є. Активовані кисневмісні метаболіти організму людини при захворюваннях органів дихання. Генератори та генерація (частина 1) / Абатуров А.Є. Волосовець О.П., Юліш О.І., Черношова О.Є.//ЖУРНАЛ "ЗДОРОВ'Я ДИТИНИ" 1 (60) 2015 Стаття опублікована на с. 173-180.

156. Andersson CK. Intraepithelial neutrophils in pediatric severe asthma are associated with better lung function. / Andersson CK, Adams A, Nagakumar P, Bossley C, Gupta A, De Vries D, et al. //J Allergy Clin Immunol. 2017 Jun; 139(6): 1819–1829.e11.doi: 10.1016/j.jaci.2016.09.022.

157. Fitzpatrick AM. Severe Asthma Research Program. The molecular phenotype of severe asthma in children. / Fitzpatrick AM, Higgins M, Holguin F, Brown LA, Teague WG; National Institutes of Health/National Heart, Lung, and Blood Institute's //J Allergy Clin Immunol. 2010 Apr;125(4):851-857.e18. doi: 10.1016/j.jaci.2010.01.048.

158. Boonpiyathad S. Interleukin-2 levels in exhaled breath condensates, asthma severity, and asthma control in nonallergic asthma. / Boonpiyathad S, Pornsuriyasak P, Buranapraditkun S, Klaewsongkram J. //Allergy Asthma Proc. 2013 Sep-Oct;34(5):e35-41. doi: 10.2500/aap.2013.34.3680. Erratum in: Allergy Asthma Proc. 2013 Nov-Dec;34(6):561.

159. Boshtam M. Aptamers Against Pro- and Anti-Inflammatory Cytokines: A Review. / Boshtam M, Asgary S, Kouhpayeh S, Shariati L, Khanahmad H. //Inflammation. 2017 Feb;40(1):340-349. doi: 10.1007/s10753-016-0477-1.

160. Chowdhury NU. Sex and gender in asthma. / Chowdhury NU, Guntur VP, Newcomb DC, Wechsler ME. // Eur Respir Rev. 2021 Nov 17;30(162):210067. doi: 10.1183/16000617.0067-2021.

161. Lundholm C. Asthma and subsequent school performance at age 15-16 years: A Swedish population-based sibling control study. / Lundholm C, Brew BK, D'Onofrio BM, Osvald EC, Larsson H, Almqvist C. //Sci Rep. 2020 May 6;10(1):7661. doi: 10.1038/s41598-020-64633-w.

162. Е.В. Шарикадзе Особенности течения бронхиальной астмы на фоне коморбидной патологии у детей дошкольного возраста / Е.В. Шарикадзе //MODERN PEDIATRICS.UKRAINE.2019.7(103):23-28; DOI 10.15574/SP.2019.103.23.

163. Fuchs O. Asthma transition from childhood into adulthood. / Fuchs O, Bahmer T, Rabe KF, von Mutius E. //Lancet Respir Med. 2017 Mar;5(3):224-234. doi: 10.1016/S2213-2600(16)30187-4.

164. Lundholm C. Smoking and snuff use in pregnancy and the risk of asthma and wheeze in pre-schoolchildren-A population-based register study. /

Lundholm C, Gunnerbeck A, D'Onofrio BM, Larsson H, Pershagen G, Almqvist C.//Clin Exp Allergy. 2020 May;50(5):597-608. doi: 10.1111/cea.13593.

## ДОДАТКИ

### Додаток А

#### Список публікацій здобувача.

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

1. Andrushchenko V.V. The level of reactive oxygen species as a marker of asthma severity in children / Nataliia I. Makieieva, Vira V. Andrushchenko, Valeriia M. Malakhova, Anton S. Tkachenko, Anatolii I. Onishchenko, Valentin V. Polyakov, Ludmyla A. Vygivska // Wiadomości Lekarskie Medical Advances, VOLUME LXXVI, ISSUE 1. - 2023, p. 205 – 212. (Здобувач особисто провів літературний огляд, виконав підбір хворих, провів діагностичні дослідження маркерів, статистично опрацював та проаналізував дані, підготував статтю до друку).

2. Andrushchenko V.V. Imbalance between il-2, il-4 and ifn- $\gamma$  as a marker of sustainability of partly controlled asthma in children/ Makieieva N. I., Andrushchenko V. V.// Bulletin of problems in biology and medicine – 2023 – Issue 3 (170), p. 433-438. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, провів визначення цитокінів у обстежених, проаналізував та узагальнив дані, підготував статтю до друку).

3. Andrushchenko V.V. The von Willebrand factor as a marker of partially controlled asthma severity in children. /Makieieva NI, Andrushchenko VV. // (2023). Modern Pediatrics. Ukraine. 5(133): 31-38. doi 10.15574/SP.2023.133.31.

(Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, провів визначення ендотеліальної дисфункції у обстежених, проаналізував та узагальнив дані, підготував статтю до друку).

## Праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

4. Андрущенко В.В. Особливості окислювального стресу у дітей з бронхіальною астмою / Н.І. Макєєва, В.В. Андрущенко, В.В. Поляков // Науково-практичної онлайн-конференції з міжнародною участю «Проточна цитометрія в експериментальній та клінічній медицині», Харків, 29-30 квітня 2021 р / ХНМУ. – Харків, 2021. – С.17.6. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, статистично опрацював, проаналізував й узагальнив дані).

5. Андрущенко В.В. Вклад нейтрофілів в окислювальний стрес при бронхіальній астмі у дітей / Андрущенко В.В., Макєєва Н.І., Поляков В.В // «Актуальні проблеми в педіатрії». Матеріали XV конгресу педіатрів України, Київ, 12-13 жовтня 2021 року / Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології - 2021 Том14 №1 с 7-8. (Здобувачем зроблено підбір хворих, статистичне обчислення, аналіз й узагальнення даних).

6. Андрущенко В.В. Роль фактору Віллебранда при бронхіальній астмі у дітей / В.В. Андрущенко // „Актуальні питання клінічної медицини” Матеріали XVI Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених, Запоріжжя, 24-25 листопада / ЗМАПО. – Запоріжжя, 2022, С. 9-11. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, статистично опрацював, проаналізував й узагальнив дані).

7. Андрущенко В.В. Внесок нейтрофільних гранулоцитів в запальний процес при бронхіальній астмі у дітей / В.В. Андрущенко // „Актуальні питання клінічної медицини” Матеріали XVI Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених, Запоріжжя, 24-25 листопада / ЗМАПО. – Запоріжжя, 2022, С. 11 - 13. (Здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, статистичну обробку та аналіз отриманих даних, сформульовані висновки).

8. Andrushchenko V.V. Factors on the formation of asthma in children / Andrushchenko Vira // online International Scientific Interdisciplinary Conference

ISIC-2022 for medical students and young scientists Kharkiv National Medical University, Kharkiv, 23th-24th November / Kharkiv National Medical University. – Kharkiv, 2022, p. 199-200. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, статистично опрацював, проаналізував й узагальнив дані).

9. Andrushchenko V.V. Necrosis of neutrophil granulocytes in children with asthma. / Andrushchenko Vira // online International Scientific Interdisciplinary Conference ISIC-2022 for medical students and young scientists Kharkiv National Medical University, Kharkiv, 23th-24th November / Kharkiv National Medical University. – Kharkiv, 2022, p. 200-201. (Здобувачем проведено відбір та клінічне обстеження хворих, статистичну обробку та аналіз отриманих даних).

10. Andrushchenko V.V. Significance of von Willebrand factor in children asthma. / Andrushchenko Vira // Фестиваль молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття» Харківського національного медичного університету, Харків, 13 – 15 лютого / ХНМУ. – Харків, 2023, с. 278 – 279. (Здобувач зробив підбір хворих, набір клінічного матеріалу, статистично опрацював, проаналізував й узагальнив дані).

11. Andrushchenko V.V. Clinical possibilities of flow cytometry in the study of asthma. / Andrushchenko V.V., Makieieva N.I., Herasymenko Y.V. // Всеукраїнська науково-практична Internet-конференції з міжнародною участю "Клінічна фармація в Україні та світі", присвячена 30-річчю заснування кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету, Харків, 16-17 березня / НФУ. – Харків, 2023 р, с.147 – 148. (Здобувачем проведено відбір та клінічне обстеження хворих, набір клінічного матеріалу, статистичну обробку та аналіз отриманих даних, опрацювання інформаційних джерел).

12. Andrushchenko V.V. IL-4 in blood serum of children with transient wheezing and asthma / Andrushchenko V.V.// «ІПП-2023:Інтернаціональна платформа інтегративної педіатрії» пам'яті академіка В.Г. Майданника: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю//Ukrainian

scientific medical youth journal, Supplement No1 (137) 2023 (19-20 квітня 2023 р. м. Київ, Україна). Харків, 2023 р, С.36. (Здобувачем проведено опрацювання інформаційних джерел, набір клінічного матеріалу, статистичну обробку та аналіз отриманих даних, було підготовано стендову доповідь).

13. Андрущенко В.В. Порухення фагоцитарної ланки імунітету у дітей з бронхіальною астмою / В.В. Андрущенко // Науково-практична конференція з міжнародною участю "V Полтавські перинатальні читання ім. Н.М.Максимовича-Амбодика: «Новітні технології в перинатальній практиці, педіатричній службі, медичній освіті та виклики сьогодення". (Здобувачем проведено опрацювання інформаційних джерел, набір клінічного матеріалу, статистичну обробку та аналіз отриманих даних, підготовано стендову доповідь).

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

14. Andrushchenko V.V. Levels of il-4 and  $\gamma$ - interferon in children's blood serum as predictors of asthma formation./ N. I. Makieieva, V. V. Andrushchenko, V. M. Malakhova, V. M. Tsymbal, N. P. Alieksieieva// Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина, 8(3(49)), 52–58. <https://doi.org/10.24061/2413-4260.XIII.3.49.2023.7> (Здобувач особисто провів аналіз сучасних інформаційно-літературних джерел, дослідив маркери порушення імунної відповіді, провів статистичний аналіз та узагальнив результати, підготував статтю до друку).

15. Andrushchenko V.V. Peculiarity of the pediatrician's work in children with asthma. / Andrushchenko Vira// leadership school for PhD Students Regional Innovations - 2, 2021. – P. 40-41.

(Здобувач особисто провів аналіз сучасних інформаційно-літературних джерел).