

УДК 616.1+616.61+616-018.2-07-08-084-053.3/6
№ держреєстрації: № держреєстрації 0117U001083
Інв. № 19.00.0001.17

Міністерство охорони здоров'я України
Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького (ЛНМУ)
79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69
тел. (032) 275-78-17

ЗВІТ
ПРО НАУКОВО - ДОСЛІДНУ РОБОТУ
Удосконалення методів діагностики, лікування і профілактики
найпоширеніших захворювань дитячого віку
ХАРЧОВА АЛЕРГІЯ ДО БІЛКІВ КОРОВ'ЯЧОГО МОЛОКА.
АЛЕРГЕН-СПЕЦИФІЧНА ІМУНОТЕРАПІЯ ПРИ БРОНХІАЛЬНІЙ
АСТМІ У ДІТЕЙ. ВІДКРИТА АРТЕРІАЛЬНА ПРОТОКА, МЕТОДИ
КОРЕКЦІЇ. ДИХАЛЬНА ПІДТРИМКА ТА
ВНУТРІШНЬОШЛУНОЧКОВІ КРОВОВИЛИВИ У НЕДОНОШЕНИХ
НОВОНАРОДЖЕНИХ
(заключний)

Керівник НДР, зав. кафедри педіатрії №2
д. мед. н., професор

01.11.2121

Беш Л.В.

Нормоконтролер

01.11.2121

Пилипенко А.А.

РЕФЕРАТ

Звіт про НДР: 175 сторінок, 324 джерела, 21 таблиця, 16 рисунків, 2 додатка

ХАРЧОВА АЛЕРГІЯ ДО БІЛКІВ КОРОВ'ЯЧОГО МОЛОКА. ІНДУКЦІЯ ОРАЛЬНОЇ ТОЛЕРАНТНОСТІ. СЕНСИБІЛІЗАЦІЇ І АЛЕРГЕН-СПЕЦИФІЧНА ІМУНОТЕРАПІЯ ПРИ АЛЕРГІЇ ДО ПОБУТОВИХ КЛІЩІВ. ВІДРИТА АРТЕРІАЛЬНОЇ ПРОТОКИ У НЕДОНОШЕНИХ ДІТЕЙ. МЕТОДИ ДИХАЛЬНОЇ ПІДТРИМКИ ТА ВНУТРІШНЬОШЛУНОЧКОВІ КРОВОВИЛИВИ У НЕДОНОШЕНИХ НОВОНАРОДЖЕНИХ

Об'єкт дослідження – харчова алергія до білків коров'ячого молока, оральна толерантність, сенсibilізація, алерген-специфічна імунотерапія, бронхіальна астма, відкрита артеріальна протока, дихальна підтримка, внутрішньошлуночкові крововиливи.

Мета роботи - удосконалити методи діагностики, лікування і профілактики найпоширеніших захворювань дитячого віку.

У звіті наведений аналіз літературних даних про роль білків коров'ячого молока у розвитку харчової алергії у дітей раннього віку. Описана методика елімінаційного та орального провокаційного тестів в залежності від віку дитини та статусу грудного вигодовування. Представлені результати дозволяють індукувати оральну толерантність до білків коров'ячого молока.

Досліджено і порівняно метод специфічної сублінгвальної імунотерапії у дітей із бронхіальною астмою і сенсibilізацією до кліщових алергенів. Виявлено особливості реакції імунної системи на сублінгвальне та парантеральне введення алергенів.

Визначено прогностичну цінність концентрації NT-proBNP у сироватці крові значно недоношених немовлят щодо гемодинамічної значущості відкритої артеріальної протоки. Описано передумови виникнення ранніх та пізніх внутрішньошлуночкових крововиливів у недоношених новонароджених із дуже малою масою тіла.

Важкість респіраторного дистресу у дітей із дуже малою масою не залежить від потреби інтубації трахеї і штучної вентиляції легень у перші хвилини життя, а після первинної екстубації глибоко недоношених новонароджених в перші 3 дні життя застосування неінвазивної вентиляції не має очевидних клінічних переваг в якості методу вторинної дихальної підтримки порівняно із самостійним диханням під постійним позитивним тиском.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,.....	7
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	7
ВСТУП.....	10
1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	14
1.1 Діагностика алергії до білків коров'ячого молока та індукція оральної толерантності	14
1.1.1 Молекулярні та імунологічні аспекти алергії.....	14
1.1.2 Специфічна оральна індукція толерантності.....	23
1.2 Алерген-специфічна імунотерапія в лікуванні бронхіальної астми у дітей	30
1.3 Тактика допомоги значно недоношеним новонародженим з відкритою артеріальною протокою: сучасні контрверсії і рекомендації	37
1.3.1 Застосування ліків для фармакологічного закриття відкритої артеріальної протоки	41
1.3.2 Профілактичне призначення інгібіторів простагландинів	44
1.3.3 Лікування відкритої артеріальної протоки до появи її клінічних ознак.....	46
1.3.4 Лікування відкритої артеріальної протоки після появи клінічних симптомів	48
1.4 Раннє застосування постійного позитивного тиску у дихальних шляхах для профілактики та лікування респіраторного дистрес-синдрому у недоношених новонароджених.....	54
2 IGE-ЗАЛЕЖНА АЛЕРГІЯ ДО БІЛКІВ КОРОВ'ЯЧОГО МОЛОКА У ДІТЕЙ: ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ, ПЕРЕБІГУ, ПРОФІЛАКТИКИ І ЛІКУВАННЯ.....	61
2.1 Матеріали і методи	61
2.2 Результати та їх обговорення.....	67
2.2.1 Структура харчової гіперчутливості і ризик її виникнення....	67

2.2.2 Особливості експресії поверхневих рецепторів еозинофілів та особливості генотипів і алелів інтерлейкінів при харчовій алергії.	70
2.2.3 Індукція толеранції до білків коров'ячого молока	74
3 ЕФЕКТИВНІСТЬ АЛЕРГЕН-СПЕЦИФІЧНОЇ ІМУНОТЕРАПІЇ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ У ДІТЕЙ ШКІЛЬНОГО ВІКУ, СЕНСИБІЛІЗОВАНИХ ДО КЛІЩІВ ДОМАШНЬОГО ПОРОХУ	79
3.1 Матеріали і методи	79
3.2 Результати та їх обговорення.....	85
3.2.1 Динаміка структури сенсibilізації дітей м. Львова, хворих на бронхіальну астму та алергія до кліщів домашнього пилу	85
3.2.3 Динаміка показників ІL-13 та ІFγ у дітей, хворих на бронхіальну астму, на фоні застосування алерген-специфічної імунотерапії	94
4 ПРОГНОСТИЧНА ЦІННІСТЬ КОНЦЕНТРАЦІЇ NT-PROBNP У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЗНАЧНО НЕДОНОШЕНИХ НЕМОВЛЯТ ЩОДО ГЕМОДИНАМІЧНОЇ ЗНАЧУЩОСТІ ВІДКРИТОЇ АРТЕРІАЛЬНОЇ ПРОТОКИ	96
4.1 Матеріали і методи	96
4.2.1 Клінічна характеристика сформованих груп	98
4.2.2 Сироваткові концентрації NT-proBNP залежно від стану артеріальної протоки	103
5 ПЕРЕДУМОВИ ВИНИКНЕННЯ РАННІХ ТА ПІЗНІХ ВНУТРІШНЬОШЛУНОЧКОВИХ КРОВОВИЛИВІВ У НЕДОНОШЕНИХ НОВОНАРОДЖЕНИХ З ДУЖЕ МАЛОЮ МАСОЮ ТІЛА.....	106
5.1 Матеріали і методи	106
5.2 Результати та їх обговорення.....	107
6 ДИХАЛЬНА ПІДТРИМКА У НЕДОНОШЕНИХ НОВОНАРОДЖЕНИХ.....	115
6.1 Матеріали і методи	115

6.2 Результати та їх обговорення.....	116
7 ОСОБЛИВОСТІ ВЕНТИЛЯЦІЇ ЛЕГЕНЬ НЕДОНОШЕНИХ НОВОНАРОДЖЕНИХ.....	121
7.1 Матеріали і методи	121
7.2 Результати та їх обговорення.....	122
ВИСНОВКИ	128
ДОДАТОК А.1	132
ДОДАТОК А.2.....	135
ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ.....	137

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

ANOVA	однофакторний дисперсійний аналіз
FiO ₂	концентрація кисню у дихальній газовій суміші
GINA	глобальна ініціатива з астми
GM-CSF	гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор
HDM	house dust mites
ICON	international consensus on pediatric asthma
INF- γ	інтерферон-гамма
LISA	введення сурфактанту за допомогою катетера
NK	природні кілери
NT-proBNP	N-terminal pro B type natriuretic peptide
PGG ₂	простагландин G ₂
PGH ₂	простагландин H ₂
PGHS	простагландин-синтетазний комплекс
PIP/PEEP	максимальний тиск на вдиху/позитивний тиск наприкінці видиху
POX	пероксидазна ділянка PGHS-комплексу
PRACTALL	practical allergology
ROC	receiver operating characteristic
SD	стандартне відхилення
SERPIN B 10	Serpin family B number 10
SUCRA	середня площа під кумулятивною кривою
TGF- β	трансформуючий фактора росту β
Th0	наївні Т-хелпери
Th1	Т-хелпери 1 типу
Th2	Т-хелпери 2 типу
Tregs	Т-регуляторні клітини

АБКМ	алергія до білків коров'ячого молока
АГ	артеріальна гіпотензія
АКТ	астма-контроль тест
АП	артеріальна протока
АПК	антигенпрезентуюча клітина
АСІТ	алерген-специфічна імунотерапія
БА	бронхіальна астма
БЛД	бронхолегенева дисплазія
ВАП	відкрита артеріальна протока
ВІТН	відділення інтенсивної терапії новонароджених
ВШК	внутрішньошлуночкові крововиливи
гзВАП	гемодинамічно значуща відкрита артеріальна протока
ДІ	довірчий інтервал
ДП	дихальна підтримка
ЕВ	емоційний вплив
ЕД	еліменаційна дієта
ЖЄЛ	життєва ємність легень
ЗВСП	зважена відмінність середніх показників
ЗВУР	затримка внутрішньоутробного розвитку плода
ІКС	інгаляційні кортикостероїди
кКСШ	контрольований коефіцієнт співвідношення шансів
КСШ	коефіцієнт співвідношення шансів
ЛРА	логістичний регресійний аналіз
МОШ ₂₅	миттєва об'ємна швидкість 25 % ФЖЄЛ
МОШ ₅₀	миттєва об'ємна швидкість 50 % ФЖЄЛ
МОШ ₇₅	миттєва об'ємна швидкість 75 % ФЖЄЛ
НВ	неінвазивна вентиляція
НДП	неінвазивна дихальна підтримка
НЕК	некротизуючого ентероколіту

НПЗЗ	нестероїдні протизапальні засоби
НСГ	нейросонографія
ОПП	оральна провокаційна проба
ОФВ ₁	об'єм форсованого видиху за першу секунду
ОФВ ₁ /ЖЄЛ	Відношення ОФВ ₁ до ФЖЄЛ
ПГС	простагландин синтетаза
ПМВ	постменстуальний вік
ПОШ _{вид}	пікова об'ємна швидкість видиху, л/с
ПШАСІТ	підшкірна антиген-спесифічна імунотерапія
РДС	респіраторний дистрес синдром
РК	ранні крововиливи
РН	ретинопатія недоношених
СВ	скоригований вік
СЛАСІТ	сублінгвальна алерген-специфічна імунотерапія
СОД	соціальні та дієтичні обмеження
СОІТ	специфічна оральна індукція толерантності
СОШ ₂₅₋₇₅	середня об'ємна швидкість на ділянці від 25 % до 75 % ФЖЄЛ
СРАР	дихання під постійним позитивним тиском на видосі
ТІ	тривогау, пов'язана з їжею
ФЖЄЛ	форсована життєва ємність легень
ФЗД	функції зовнішнього дихання
ФЗЄЛ	функціональна залишкова ємність легень
ХА	харчова алергія
ХГ	харчова гіперчутливість
ЦОГ	циклооксигеназа
ЧВ	частота вентиляції
ЧСС	частота серцевих скорочень
ШВЛ	штучна вентиляція легень

ВСТУП

Поширеність ХА в педіатричній популяції становить 2–7 %. Найбільш значущим у структурі сенсibiliзації до харчових алергенів у дітей раннього віку є коров'яче молоко. Алергія до білків коров'ячого молока (АБКМ) спостерігається у 2–3 % немовлят, в основі її патогенезу найчастіше лежить ІgЕ-залежний механізм розвитку алергічних реакцій. Слід зазначити, що сьогодні не використовуються усі наявні можливості лікування АБКМ. Це стосується обмеженого застосування специфічної оральної індукції толерантності (СОІТ) – єдиного методу медичного втручання, який може впливати на природний перебіг алергічного захворювання і сприяти не лише ефективному полегшенню симптомів, але й запобігати прогресуванню хвороби. Тривала елімінаційна дієта (ЕД), в свою чергу, є ризиком важких реакцій у зв'язку з потраплянням в організм прихованих алергенів і дефіцитом поживних речовин з подальшим порушенням фізичного розвитку дитини. Остаточо не встановлені критерії вибору методу дієтичної корекції у пацієнтів із урахуванням індивідуальних показань, ризиків і прогнозованої ймовірності формування толерантності. Одним із напрямків наукових досліджень є пошук комплексу тестів, які б дозволили забезпечити різносторонню оцінку ефективності СОІТ і включали не лише клінічні показники, але й контроль нутритивного статусу, моніторинг імунологічних показників і оцінку якості життя пацієнтів. В Україні застосування цього методу лікування ХА є дуже обмеженим. Викладені вище нез'ясовані проблеми визначали актуальність і мету нашого дослідження.

Бронхіальна астма – актуальна медична і соціальна проблема, яка сьогодні потребує все більшої уваги не лише через постійне зростання захворюваності, але й через зниження якості життя пацієнтів. Серед дитячого населення бронхіальна астма залишається одним із найпоширеніших захворювань респіраторної системи, що асоційовані з ризиком інвалідизації і смертності. Незважаючи на розширення уявлень стосовно сутності даної

патології та методів її терапії, реальні результати лікування хворих сьогодні залишаються недостатніми. Згідно із сучасними уявленнями, бронхіальна астма є гетерогенним захворюванням, що характеризується хронічним запальним процесом дихальних шляхів, і саме запальний характер зумовлює особливі підходи до діагностики та лікування цієї хвороби. Виходячи з даної концепції, запропоновані різні способи лікування бронхіальної астми, однак у значної кількості пацієнтів не використані всі існуючі терапевтичні можливості. Зокрема, це стосується і недостатнього призначення алерген-специфічної імунотерапії (АСІТ). Водночас доказова база ефективності застосування АСІТ у лікуванні бронхіальної астми протягом останніх років суттєво розширилася. Отримані на сьогодні дані довели, що проведення такого лікування дозволяє змінити склад представництва цитокінових маркерів, знизити чутливість респіраторного каналу до експозиції алергену, запобігти розширенню спектра причинно-значущих алергенів, сповільнити прогресування алергічного процесу, зменшити потребу в медикаментах. Згідно з декларацією Європейської академії алергології та клінічної імунології, прийнятої у 2011 році, саме АСІТ визнана єдиним методом медичного втручання, який може впливати на природній перебіг алергічного захворювання і сприяти не лише ефективному полегшенню симптомів алергії, але й зумовлювати тривалу дію після завершення лікування та запобігати прогресуванню хвороби. Однак відношення до АСІТ неоднозначне, відсутні чіткі рекомендації щодо конкретного способу застосування АСІТ, тривалості її проведення та ведеться активний пошук нових можливостей моніторингу її ефективності.

Гемодинамічно значущу відкриту артеріальну протоку (гзВАП) виявляють у більш ніж 30 % недоношених новонароджених з терміном гестації < 32 тиж. Значний скид крові зліва направо через відкриту артеріальну протоку (ВАП) призводить до зменшення системного кровоплину, в результаті чого розвивається системна гіперперфузія, та збільшення легеневого кровоплину, що може спричинити набряк легень і

дихальну недостатність. BNP та NT-proBNP синтезуються кардіоміоцитами шлуночків у відповідь на перевантаження камер серця тиском та надмірним об'ємом крові. У недоношених немовлят концентрація NT-proBNP у сироватці крові в першу добу життя є значно вищою, ніж у здорових доношених новонароджених. Систематичний огляд і мета-аналіз виконаних досліджень засвідчив, що чутливість та специфічність рівня NT-proBNP у діагностиці гЗВАП становить є достатньо високою. Однак, ці дослідження відрізнялися за методологією, методами визначення пептиду, прогностичними пороговими значеннями, а також за терміном гестації і віком дітей на момент тестування. Зокрема, уточнення потребують прогностичні значення цього біомаркера у вітчизняній популяції значно недоношених немовлят.

Внутрішньошлуночкові крововиливи (ВШК) часто ускладнюють перебіг неонатального періоду у значно недоношених (термін гестації < 32 тижнів) новонароджених і належать до найважчих перинатальних уражень головного мозку. Їх розвиток асоціюється з високою смертністю і може бути важливою незалежною причиною віддалених неврологічних і пізнавальних порушень у немовлят, які вижили.

Приблизно половина випадків крововиливів у дітей з дуже малою масою трапляються протягом перших 6 год життя, а 38% – після 24 год життя. ВШК, які виникли в перші 72 год життя немовлят, вважають ранніми, а після 72 год – пізніми.

Висока поширеність ВШК у групі найменш зрілих новонароджених дітей, асоціація цього ускладнення з високим рівнем смертності, загрозою розвитку важких довгострокових наслідків й інвалідизації визначають важливість вивчення чинників ризику ВШК і можливих механізмів їх виникнення.

У звіті наведені дані спостереження за 92 глибоконедоношеними новонародженими з респіраторним дистрес-синдромом. Встановлено, що важкість останнього у дітей з дуже малою масою при народженні не

залежить від потреби інтубації трахеї і штучної вентиляції легень в перші хвилини життя. Застосування неінвазивної дихальної підтримки у цієї категорії пацієнтів запобігає розвитку важких стадій синдрому та скорочує тривалість використання штучної вентиляції легень, не зменшуючи частоти бронхолегеневої дисплазії та смертності. Серед підгрупи 80 глибоконедоношених дітей з масою тіла при народженні ≤ 1500 гр, додатково порівнювали ефективність неінвазивної вентиляції і створення постійного позитивного тиску в дихальних шляхах після екстубації внаслідок синдрому дихальних розладів. Застосування неінвазивної вентиляції після первинної екстубації глибоконедоношених новонароджених в перші 3 дні життя не має очевидних клінічних переваг порівняно з екстубацією на самостійне дихання під постійним позитивним тиском. Вентиляція легень є важливою складовою надання допомоги передчасно народженим немовлятам. Удосконалення апаратів штучної вентиляції легень для новонароджених у 50-ті роки минулого століття започаткувало сучасну еру неонатальної медицини. Штучна вентиляція легень зробила революцію в неонатології, оскільки була першим ефективним методом лікування важкої дихальної недостатності у новонароджених та збільшила шанси їх виживання. Водночас, застосування цього методу дихальної підтримки стало одним з провідних чинників ураження незрілих легень і відповідно ризику розвитку бронхолегеневої дисплазії. Доведення цього факту стимулювало розробку і впровадження у клінічну практику лікування недоношених новонароджених з дихальними розладами різних методів неінвазивної дихальної підтримки, що стало предметом системного аналізу літературних даних.

1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Діагностика алергії до білків коров'ячого молока та індукція оральної толерантності

1.1.1 Молекулярні та імунологічні аспекти алергії

Розвиток ХА у дітей залежить від впливу генетичних факторів, характеру харчування, впливу довкілля, соціальних факторів, зовнішнього догляду. З позиції клінічної генетики ХА трактується як мультифакторне полігенне захворювання [1]. На сьогодні встановлено, що успадковується не окрема нозологічна форма ХА, а схильність до їх розвитку [2, 3].

Протягом останніх років проведено досить багато досліджень, які вивчали генетичні маркери алергічної патології. Результати досліджень, проведених протягом останніх років, виділяють п'ять локусів ДНК, які найчастіше зустрічаються у дітей з АБКМ. Зокрема, на першій хромосомі є ген філагрину, який приймає участь у формуванні захисного епітеліального бар'єру. Мутації в даному гені дозволяють пояснити механізми запальних захворювань шкіри та зниженої імунної відповіді, що частіше зустрічаються у дітей з ХА та atopічним дерматитом [4].

Сьогодні доведено, що на довгому плечі п'ятої хромосоми відбувається регуляція генів цитокінів, залучених до алергічного процесу, а саме ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-6, ІЛ-9, ІЛ-12, ІЛ-13 [5]. Цитокіни є важливими посередниками міжклітинних взаємодій, які регулюють імунну відповідь, клітинний цикл, беруть участь в численних фізіологічних та патологічних процесах. Безумовно, провідну роль відіграють гени ІЛ-4 та ІЛ-13, які приймають участь у розвитку запальної реакції під час загострення алергії, залучаючи роботу регуляторних Т-клітин слизових оболонок і шкіри [6].

Одинадцята хромосома може містити однонуклеотидну заміну, яка згідно з літературними даними, спостерігається значно частіше у дітей з АБКМ, зумовлену ІgЕ-незалежними механізмами [7].

Існують дані про те, що на короткому плечі вісімнадцятої хромосомі є ділянка генів, які синтезують білки SERPIN B 10 (Serpin family B number 10), що мають зв'язок з ХА. Два найчастіші однонуклеотидні поліморфізми знаходяться в регуляторних ділянках генів, які регулюють роботу Т-хелперів 2 типу (Th2). Слід зазначити, що на сьогоднішній день активно вивчають даний білок, оскільки залишається не до кінця з'ясованою його функція. Білки SERPIN викликають велике зацікавлення науковців, оскільки припускають, що вивчення механізму їхньої експресії на шкірі та слизових оболонках може пролити нове світло на патогенез та розуміння ХА [8].

Раніше дуже багато говорили про зв'язок людських лейкоцитарних антигенів шостої хромосоми з ХА, але станом на сьогоднішній день цю інформацію підтвердили лише у разі розвитку алергії до арахісу [9].

Вивчення генетичних чинників розвитку ХА залишається актуальною проблемою сьогодення. Активно аналізуються різні генетичні поліморфізми, оскільки вони найбільше впливають на синтез загального та специфічних IgE, продукцію прозапальних цитокінів, експресію рецепторів до IgE на імунокомпетентних клітинах [10,11].

Довкілля, у свою чергу, відіграє важливу роль у формуванні сенсibilізації до різних груп алергенів (побутових, епідермальних, грибкових, пилкових) [12].

Визначальним є також харчування, зокрема вибір, якість харчових продуктів, органічність, особливості зберігання, обробки, спосіб приготування, наявність штучних додатків [13 14]. У багатьох дослідженнях вивчаються ключові фактори, які необхідні для запуску клінічно значущих алергічних реакцій [15].

Впродовж останніх років суттєво розширилися уявлення стосовно механізмів розвитку ХА, в яких провідну роль відіграють IgE-опосередковані, тобто atopічні реакції [16]. З точки зору патофізіології існує рання та пізня фази atopічних реакцій [17,18]. Активність ранньої фази пов'язана з розвитком гострих проявів алергії, підвищенням проникності слизової оболонки кишок та подальшого наростання рівня сенсibilізації, що запускається гістаміном,

вивільненим базофілами тканин та крові [19]. Алергічне запалення визначає суть пізньої фази алергічної реакції та пов'язане з активацією опасистих клітин, макрофагів, Т-лімфоцитів, еозинофілів та вивільненням великої кількості прозапальних цитокінів [20]. Таким чином, у патогенезі ХА велике значення має клітинний компонент імунної системи [21].

Травний канал є основним місцем контакту з харчовими алергенами і найбільшим джерелом імунних клітин в організмі [22]. Цікавим є факт, що кишкові коменсальні бактерії (*Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*) зумовлюють захисні та регуляторні реакції, що підтримують мутуалізм з мікроорганізмами хазяїна, а імунна система слизової оболонки відіграє вирішальну роль, захищаючи травний канал від вторгнення патогенних мікроорганізмів [23]. Клітини епітелію, що відповідають за відокремлення слизової частини імунної системи від просвіту кишок, виділяють низку факторів, які сприяють бар'єрній функції, включаючи муцини [24,25]. Імунні клітини, розташовані всередині пейєрових бляшок, включають ефекторні та регуляторні Т клітини, В-клітини, макрофаги та дендритні клітини [26]. Завдяки дендритним клітинам у мезентеріальних лімфатичних вузлах активізується рух та розвиток Т-регуляторних клітин (Tregs) з наївних Т-клітин, а також секреція трансформуючого фактора росту β (TGF- β) [27, 28]. Лімфоїдна тканина, асоційована з кишечником відокремлює потенційно шкідливі патогени від нешкідливих антигенів. Тому можна спостерігати активацію захисної імунної реакції або "вимкнений" стан Т-клітини через функціонально інактивацію лімфоцитів після контакту з антигеном [29]. Таким чином, мікробіота кишечника бере участь не лише у процесі травлення, а й відіграє ключову роль в захисті від патогенів [30,31]. Важлива роль відводиться виробництву інтерлейкіну ІЛ-18, який є важливим для підтримання гомеостазу кишечника та епітеліальної цілісності шляхом забезпечення відновлення та виживання клітин в стресових станах [32].

Діагностика ХА може бути достатньо простою, якщо дитина має стійкі або рецидивні симптоми, які пов'язані з прийомом певного харчового продукту [33]. Однак доволі часто вона є ускладненою, тому що клінічні прояви, які

спостерігаються у дитини, можуть мати різноманітні причини. Крім того, самі симптоми мають тенденцію змінюватися з віком дитини, їх можуть викликати різні харчові продукти, що потребує проведення поглибленої діагностики [34,35,36].

Діагностику ХА слід починати з детального збору сімейного алергологічного анамнезу, зокрема врахування інформації щодо родичів I та II рівнів спорідненості [37]. Доцільним є ведення харчового щоденника матері, якщо вона годує грудьми або дитини, якщо немовля перебуває на змішаному чи штучному вигодовуванні. Такий щоденник може істотно допомогти лікарю встановити найбільш ймовірні продукти, на які у дитини виникають небажані реакції [38,39]. У разі розвитку алергічної реакції необхідно оцінювати можливість розвитку супутніх симптомів інших захворювань в дитини або членів сім'ї (гарячка, інфекція) [40]; проведення медичних маніпуляцій (візит до стоматолога, щеплення) [41]; прийом медикаментів дитиною (вітаміни, гомеопатичні препарати, трави, сиропи тощо) [42]; застосування ліків для полегшення симптомів алергії (назва і ефективність) [43]; стрес (дратівливість, хвилювання) [44]; фізична активність; погодні умови й інші зовнішні впливи (спека, мороз, дощ, контакт з багаттям, палінням листя тощо); вплив тютюнокуріння; контакт з тваринами (перебування у помешканні з тваринами, відвідування цирку, зоопарку) [45]; ремонт у квартирі; гострі запахи (парфуми, хімічні засоби тощо); зміна умов і місця проживання [46]. Аналізуючи результати харчового щоденника, лікар може приймати рішення щодо потреби елімінувати певні продукти та провести оцінку відповідності калоражу і збалансованості нутритивного статусу [47,48,49].

Діагностика ХА включає клінічні та параклінічні методи. До клінічних методів належить опитування; огляд; оцінка фізичного розвитку, елімінаційні дієти; відкритий провокаційний харчовий тест [50]. Параклінічні методи включають прик-тести з харчовими алергенами; специфічні IgE до екстрактів і молекул (компонентів) алергенів [51].

Сьогодні доведено, що визначення специфічних IgE є малоінформативним для дітей віком до шести місяців, оскільки в переважній більшості випадків немовлята не здатні виробляти IgE у такій кількості, щоб їх визначення давало достовірні результати і було підставою для формування рекомендацій в дієті та побуті [52,53]. Дуже часто на практиці призначаються невиправдано виснажливі, інвазивні методи дослідження [54]. Проведення внутрішньошкірних тестів з харчовими алергенами не рекомендується, зважаючи на більший ризик розвитку системних побічних ефектів.

Найбільш надійним способом довести наявність алергії на певний харчовий продукт є проведення ОПП [55], при чому будь-які механізми (IgE-опосередковані та не-IgE-опосередковані).

Можливість верифікації профілю сенсibiliзації, зумовлені IgE-залежними механізмами, значно розширюються з відкриттям можливостей молекулярної (компонентної) алергодіагностики, запропонованої професором Рудольфом Валентою [56]. Вивчення молекулярного профілю сенсibiliзації дозволяє виявити причиннозначимі компоненти алергії та прогнозувати ефективність СОІТ у дітей з АБКМ [57,58]. Компонентна діагностика дозволяє вивчити склад молекул і оцінити їхні характеристики [59].

Важливими складовими молока є казеїн (Bos d 8), β -лактоглобулін (Bos d 5), α -лактальбумін (Bos d 4), бичачий сироватковий альбумін (Bos d 6). Знання характеристик окремих компонентів молока є важливими для оцінки ризику розвитку анафілаксії та прийняття рішення щодо подальших діагностичних і терапевтичних заходів.

Казеїн (Bos d 8) – стабільний білок, який не змінює своєї конфігурації під впливом високої температури та дії соляної кислоти. Є основним молочним білком (складає 75 – 80 %), входить до складу молока всіх ссавців, а отже при алергії на нього перехресна алергічна реакція може розвиватись на молоко всіх інших видів [60].

Казеїни утворюють основну білкову фракцію коров'ячого молока (80 %) і складаються з: α S1- (Bos d 9), α S2- (Bos d 10), β - (Bos d 11) та κ -казеїнів

(Bos 12), що становлять 40 %, 13 %, 37 % та 10 % відповідно. Усі складові сімейства казеїнів мають різну первинну структуру і функції. Три з них (α S1-казеїн, α S2-казеїн, β -казеїн) є кальцій чутливими, в той час κ -казеїн такої властивості не має. Залежно від сенсibilізації до різних компонентів казеїну, існує специфічність та інтенсивність клінічної відповіді. Сенсibilізація до α S1-казеїну та α S2-казеїну є у всіх пацієнтів з алергією, κ -казеїну – 91,7 % ; β -казеїну – 66,7 % [61,62].

В останні роки доведено, що діти, які мають стійку алергію до молока, мають значно вищий рівень специфічних антитіл IgE до лінійних епітопів α S1-казеїну і β -казеїну, ніж діти із набутою толерантністю до молочних білків. Казеїн – білок, який дозволяє в переважній більшості випадків віддиференціювати персистуючу та транзиторну форму алергії [63].

Усе більше наукових даних підтверджують, що казеїни відіграють значну роль у підтриманні здоров'я людини. Біологічна функція казеїнів полягає в тому, щоб переносити кальцій (запобігаючи кальцифікації молочної залози); забезпечити імунологічний захист немовлят [64]. Казеїн є джерелом незамінних амінокислот, необхідних мінералів та ліпідів [65].

Сучасна модель вивчення білків коров'ячого молока, в тому числі казеїну, показує що діти з однаковим рівнем антитіл до казеїну можуть зовсім по-різному формувати толерантність. Цьому є багато пояснень, зокрема важливий вплив має амінокислотна послідовність. Сьогодні трактують, що основною фракцією казеїну є α S1-казеїн (40 %), який в свою чергу складається з однієї великої та однієї другорядної субодиниці [66,67]. Згідно Chianese та співавт., α S1-казеїн містить дві загальні ізоформи (A, B) і може змінювати послідовність амінокислот у положенні 178, де лейцин (A) змінює послідовність на серин (B). Сенсibilізація особливо часто відбувається щодо α S1-казеїну, викликаючи сильні негайні або уповільнені алергічні реакції [68].

Загалом α S1-казеїн складається з 199 амінокислот з великою кількістю залишків проліну та відсутністю дисульфідних зв'язків [69]. Соссо та ін.

встановили, що денатурований α -казеїн може зв'язувати IgE з однаковою здатністю зв'язування, порівняно з нативним α -казеїном [70].

α S2-казеїн охоплює до 13 % казеїнів у коров'ячому молоці, є гідрофобною та найбільш фосфорильованою фракцією казеїну [71].

β -казеїн становить близько 35-37 % (209 амінокислот) казеїнів. Плазмін може розкласти β -казеїн на фрагменти [72,73]. β -казеїн складається з двох ізоформ: A1 і A2, які відрізняються амінокислотою послідовністю (гістидин в A1 і пролін в A2) [74].

κ -казеїн становить лише 10 % казеїнів [75]. Виявлено дев'ять різних ізоформ (від А до J) κ -казеїну. Основні ізоформи (А і В) відрізняються за положенням 136 (ізолейцин переходить в треонін) і 148 (аланін замінюється на аспарагін). κ -казеїн сприяє стабільності молока завдяки своїй здатності забезпечувати електростатичне відштовхування [76].

Визначено, що навіть після нагрівання казеїни не зазнають значних структурних змін [77]. Однак казеїни чутливі до деградації за допомогою різних протеїназ. Казеїни мають різні первинні структури та функціональні властивості [78].

Біологічна функція казеїнів полягає в передачі харчових компонентів від матері до новонародженого [79]. Завдяки своїм колоїдним властивостям їх також додають у велику кількість харчових продуктів, зокрема до дитячого харчування.

β -лактоглобулін (Bos d 5) – один з основних алергенів коров'ячого молока, належить до родини ліпокаліни. За своїми характеристиками β -лактоглобулін являє собою невеликий білок з молекулярною масою 18,3 кДа, складає до 50 % усіх білків сироватки та 10 % білків цільного молока, але він практично відсутній у людському молоці. Молекула має багато зв'язуючих епітопів, деякі мають коротку лінійну послідовність, а інші – крупні фрагменти з тьохвимірною структурою. Виділено три групи основних епітопів, які мають високу зв'язувальну здатність. Більша кількість епітопів є маркером персистуючої АБКМ [80].

β -лактоглобулін є відносно стійким до дії кислотного гідролізу і кишкових протеаз, у зв'язку з чим частина білка може залишатися інтактною і проникати через кишкову стінку. Термічна обробка знижує зв'язуючу здатність пропорційно до ступеня нагрівання. Проте в денатурованих білках в процесі хімічної реакції можуть формуватися нові антигенні компоненти, які недоступні для зв'язування в нативній молекулі. Після гідролізу зв'язуюча здатність білка значною мірою може зберігатися, тому реакція може виникати і після споживання ферментованих кисломолочних продуктів [81].

β -лактоглобулін переважно є чутливим до теплової денатурації. Пацієнти мають високий ризик реакції при споживанні свіжого молока та значно нижчий ризик у разі термічно обробленого молока.

Крім того, цей білок також ефективно зв'язує багато гідрофобних молекул, про що свідчить його активна роль у їх транспорті [82,83]. Вивчення β -лактоглобуліну показало, що він містить близько 8 % α -спіралей, 45 % β -листів та 47 % випадкових клубків [84,85]. Він складається з 162 амінокислот і зустрічається у трьох варіантах (А, В і С) з двома дисульфідними зв'язками та однією вільною сульфгідрильною групою, захованою в структурі білка. Ці три варіанти А, В та С, які були вивчені зовсім нещодавно, містять дві різні точкові мутації. Хоча структура варіантів А та В майже однакова, вони відрізняються амінокислотою послідовністю у положенні 64 аспарагін (А) змінюється на гліцин (В), а у положенні 118 валін (А) переходить у аланін (В) [86]. На підставі результатів експериментальних досліджень ці амінокислотні зміни зумовлюють різну інтенсивність та тривалість ІgЕ-опосередкованої реакції [87]. Більше того, було висловлено припущення, що структура варіанту А є більш гнучкою порівняно з варіантом В. Однак варіант В є більш термостабільним, ніж варіанти А і С.

Таким чином, β -лактоглобулін є одним із основних алергенів, які розпізнаються за специфічним ІgЕ у понад 50 % пацієнтів з АБКМ. Молекула містить кілька епітопів ІgЕ, які розташовані на її поверхні.

Згідно з літературними даними, існує різна кількість IgE-зв'язуючих епітопів у різному віці. Зокрема, виявлено, що у дорослих пацієнтів з IgE-опосередкованою АБКМ було сім IgE- та шість IgG-зв'язуючих епітопів, тоді як у дитячій популяції лише три з IgE-зв'язуючих епітопів. У цьому випадку велика кількість епітопів β -лактоглобуліну може бути маркером стійкої АБКМ [88].

α -лактальбумін (Bos d 4) – кальційзв'язуючий мономерний глобулярний білок білок, 14,2 кДа (рН 4-5), який становить 25 % сироватки і 5 % від всього білка коров'ячого молока. Належить до родини гідролаз. Складається з амінокислот, розташованих в двох структурних ділянках (α і β домени), сполучених чотирьма дисульфідними мостиками. У нативній молекулі білка існують трьохвимірні (конформаційні) епітопи для зв'язування імуноглобуліну. Проте під впливом денатуруючих агентів визначаються лінійні епітопи з високою зв'язуючою здатністю, які в свою чергу підвищують стійкість білка [89]. α -лактальбумін є видоспецифічним білком, тому коли алергія до молока пов'язана лише з ним, то перехресної реакції на молоко інших ссавців може не бути. Проте зберігається висока ймовірність алергії до м'яса [90]. Пацієнти мають високий ризик реакції при споживанні свіжого молока та низький ризик у разі термічно обробленого молока [91].

α -лактальбумін посідає друге місце після β -лактоглобуліну за вмістом у сироватці, становить 20-25 % білків сироватки, або 2-5 % загальної кількості білка. α -лактальбумін має дві позиції зв'язування іонів кальцію і багато дослідників використовують цей білок як модель зв'язування кальцію [92]. Він має антибактеріальні та імуностимуляційні властивості, що робить його білком з високою харчовою цінністю загалом та особливо для немовлят. В амінокислотному складі переважають лейцин, лізин та ізолейцин [93]. Слід також зазначити, що чотири залишки цистеїну дозволяють утворювати дисульфідні містки, і він може виділятися в результаті перетравлення і з'являтися в крові як дисульфідний цистеїн або як вільний цистеїн.

Бичачий сироватковий альбумін (Bos d6) – білок сімейства сироваткових альбумінів, присутній в молоці і м'ясі. Досить часто може бути причиною алергії на телятину та яловичину. Може свідчити про перехресну реактивність з тваринами – собакою (Can f3) та котом (Fel d2) [94].

Сироватковий альбумін – основний білок крові ссавців, присутній у молоці та м'ясі. Він присутній у молоці до 5 % від загальної кількості білків сироватки (67 кДа). Bos d 6 описується як білок із сильною здатністю зв'язування ліганду. Він не тільки зв'язує жирні кислоти, але також і ароматичні сполуки та іони металів. Як зазначалося вище, концентрація Bos d 6 у молоці низька, і бичачий сироватковий альбумін мало впливає на фізико-хімічні властивості концентратів білка сироватки та ізолятів сироваткового білка [95].

Бичачий сироватковий альбумін містить 584 амінокислоти. Білок складається з дев'яти петель, з'єднаних 17 дисульфідними зв'язками. Bos d 6 є алергеном, який зв'язує IgE менше, ніж у 50 % у хворих на АБКМ. Було описано, що пацієнти з алергією на яловичину, сенсibiliзовані до Bos d 6, розвивають перехресну реакцію на молоко [96].

1.1.2 Специфічна оральна індукція толерантності

Незважаючи на зростання знань щодо оральної толерантності, сучасним стандартом дієтичної корекції ХА згідно з міжнародними рекомендаціями залишається строга елімінаційна дієта [97]. Водночас, елімінація має ряд недоліків. По-перше, ризик важких системних реакцій через наявність прихованих алергенів у продуктах харчування, незважаючи на всі зусилля щодо уникання харчових алергенів [98,99]. По-друге, уникнення певних продуктів може призвести до дефіциту поживних речовин та порушення росту, особливо якщо продукт є базовим компонентом звичайного раціону [100]. По-третє, випадкове потрапляння шкідливого харчового інгредієнту чи його слідів є щоденним ризиком, що значно знижує якість життя дитини та усіх членів її сім'ї [101]. СОІТ запобігає формуванню atopічного маршу [102]. Тому,

враховуючи зростаючу поширеність ХА із значним впливом на здоров'я дітей, спроби модифікувати імунну реакцію на продукти є необхідним вибором сьогодення [103].

СОІТ є відносно новим, перспективним методом лікування ІgЕ-залежної форми харчової алергії, що полягає в регулярному введенні продукту від менших доз до більших впродовж тривалого часу (специфічна імунотерапія) з метою досягнення повної толеранції продукту і призначення ліберальної дієти. Перші повідомлення про успішну сесенсибілізацію, проведену у пацієнта з алергією на куряче яйце, датуються 1908 роком, а до кінця 1990-х років було зареєстровано лише кілька спорадичних випадків з використанням різних ХА, в тому числі коров'ячого молока [104]. Застосування підшкірного шляху введення алергену було пов'язано з високим ризиком розвитку важких системних реакцій і від нього швидко відмовились. Впродовж останніх двадцяти років у літературі повідомляється про зростання кількості досліджень щодо СОІТ, а дані про її ефективність у лікуванні ХА є пріоритетним напрямком досліджень в алергології за останні п'ять років [105,106]. Таким чином, через століття після першої доповіді міжнародні наукові товариства зацікавилися формуванням оральної толерантності, знайшли цьому наукове обґрунтування, а тепер і практичне застосування [107].

Ще до сьогодення існують розбіжності на фундаментальному рівні щодо розуміння механізмів розвитку оральної толерантності, що призводить до дискусій на різних рівнях [108,109,110].

Термін “толерантність” означає стан ареаактивності імунної системи на специфічний антиген. Існує дві класифікаційні форми толерантності: клінічна та імунна [111,112].

Клінічна толерантність – це втрата реактивності до антигену або алергену, при якій повторюваний вплив антигену не призводить до розвитку алергічної реакції [113].

Під імунною толерантністю розуміють стан ареаактивності імунної системи щодо антигенів. Її індукує попередній контакт із цим антигеном. Механізми

толерантності функціонують постійно та необхідні для запобігання розвитку імунної відповіді на нешкідливі антигени. Найважливішою є толерантність до власних антигенів організму, втрата якої призводить до розвитку автоімунних захворювань. Здатність імунної системи запобігати виникненню імунних реакцій проти власних тканин є активно набутою властивістю клітин імунної системи, яка розвивається в онтогенезі. Окрім цього, імунна толерантність необхідна для підтримки гомеостазу.

Харчова толерантність – це стан активної імунної ареактивності до антигену при ентеральному шляху його введення [114]. Власне внаслідок порушеної толерантності до харчових алергенів розвивається ХА.

Толерантність до власних антигенів індукується на різних етапах розвитку й активації лімфоцита. Вона класифікується на центральну (індукція толерантності в центральних лімфоїдних органах при розпізнаванні власних антигенів незрілими лімфоцитами) та переферичну (індукція ареактивності в переферичних лімфоїдних органах внаслідок “зустрічі” зрілих лімфоцитів із власними антигенами за певних умов).

Процес толерантності відбувається з допомогою Т- і В-лімфоцитів. Зокрема, Т-хелери регулюють відповідь на білкові антигени, а В-клітинна толерантність – на полісахариди та гліколіпіди, які можуть безпосередньо індукувати її у В-лімфоцитів.

Властивості власних антигенів, які сприяють толерогенності: концентрація антигену в центральних органах; розпізнавання антигену без додаткової стимуляції; персистенція власних антигенів; вид і сила сигналу [115]. Центральна толерантність формується під час “зустрічі” з антигеном незрілих лімфоцитів. Слід зазначити, що незрілі лімфоцити більше здатні до індукції толерантності, ніж зрілі клітини. У центральних лімфоїдних органах (у тимусі – Т-лімфоцити, у кістковому мозку – В-лімфоцити) клітини “зустрічаються” переважно з власними антигенами, оскільки чужорідні антигени із зовнішнього середовища транспортуються у вторинні лімфоїдні органи (лімфатичні вузли та

селезінку). Незрілі Т- і В-лімфоцити, які мають рецептори, що здатні розпізнавати власні антигени, при “зустрічі” із цими антигенами знищуються. Цей процес має назву негативної селекції, а механізм розвитку толерантності – клональної делеції аутореактивних незрілих лімфоцитів. Як наслідок, із центральних органів імунної системи в периферичні органи прямують зрілі лімфоцити, які не здатні реагувати з власними антигенами. Оскільки не всі власні антигени представлені в тимусі та кістковому мозку, необхідні також додаткові механізми, які контролюють толерантність на рівні периферичних органів імунної системи.

Периферична толерантність набувається різними лімфоцитами при “зустрічі” з власними антигенами за певних умов, які сприяють формуванню толерантності, а не активації клітин. Окрім експозиції антигену в розвитку периферичної толерантності велике значення має регуляція відповіді лімфоцитів.

Після дозрівання в тимусі Т-лімфоцити проникають у кров і периферичні лімфоїдні органи, де представлені двома основними субпопуляціями – CD4+ у 60-70 % та CD8+ в 30-40 %. Більшість Т-лімфоцитів-хелперів (CD4+) у стані спокою продукують невелику кількість цитокінів. Після стимуляції антигеном та антигенпрезентуючі клітини (АПК) наївні Т-хелпери (Th0) продукують IL-2 і диференціюються на дві основні категорії –та Th2. Th1 характеризуються здатністю до продукції IL-2, інтерферону-гамма (INF- γ) і активації клітинно-опосередкованої імунної відповіді [116]. Вони стимулюють макрофаги, природні кіллери (НК-клітини) і цитотоксичні Т-лімфоцити для знешкодження внутрішньоклітинних мікроорганізмів і клітин, інфікованих вірусом.

Th2 відповідають за активацію гуморальної імунної відповіді, а саме продукують IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, та гранулоцитарно-макрофагальний колоніестимулюючий фактор (GM-CSF) [117], які в свою чергу регулюють продукцію антитіл і беруть участь у механізмах гіперчутливості.

Протягом останніх років з’явилися дані про існування інших різновидів Т-хелперів. Сьогодні окрім основних субпопуляцій Th1 та Th2 диференціюють Th9, Th17 і Tregs. Індукція Th17 відбувається внаслідок дії IL-6 та TGF- β . Th17

продукують прозапальні цитокіни IL-17, IL-25 [118], відповідають за адаптивну імунну відповідь на піогенні бактерії, посилюють залучення нейтрофілів до вогнища запалення та знешкодження бактерій [119].

Перевагою СОІТ є унікальна терапевтична дія, яка поширюється на усі етапи алергічної відповіді і не притаманна жодному фармакологічному препарату. При застосуванні СОІТ після введення алергену відбуваються активація алерген-специфічних Tregs клітин та інгібування надмірної активації Th2. Було встановлено, що Tregs клітини у відповідь на вплив харчових алергенів виробляються IL-10 і TGF- β . Ці субкласи T-регуляторних лімфоцитів (CD4+CD25+) були позначені як Th3-клітини. Tregs клітини, індуковані активацією толл-подібних рецепторів (TLR), здатні продукувати в основному IL-10 із невеликою кількістю INF- γ [120]. Терміни формування Tregs клітинної генерації в процесі проведення СОІТ обчислюються кількома тижнями, але значне зниження рівня алергенспецифічних IgE відбувається протягом року. Причина ймовірно пов'язана з кумулятивною кількістю білка коров'ячого молока, яка є індивідуальною для кожної дитини [121].

В результаті СОІТ відбувається інгібування надмірної активації Th-2 за рахунок індукування T-клітинної імунологічної толерантності та регуляції формування специфічного ізотипу плазматичних клітин зі зміною профілю високоспецифічної відповіді на алерген з IgE-залежної на IgG4 домінуючу імунологічну відповідь [122].

Впродовж останніх років доведено, що застосування СОІТ призводить до зміни співвідношення між хелперними популяціями T-лімфоцитів на користь Th1. Відомо, що маркерними цитокінами Th1 є IL-2, IL-10, IL-12, INF- γ , водночас для Th2 — IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 [123].

При попаданні в організм пацієнта алерген взаємодіє з АПК, відбуваються активація Tregs клітин, виділення IL-10, IL-12 та TGF- β . IL-12 індукує Th1-відповідь, збільшується продукція INF- γ , який стимулює розвиток імунної відповіді за Th1-типом та водночас пригнічується активність клітинної

Th2-відповіді [124]. Під впливом Th1 відбувається переключення синтезу антитіл з IgM на IgG, IgA.

Згідно з даними досліджень встановлено, що СОІТ модифікує перебіг алергічної патології і викликає стійку імунологічну та клінічну толерантність до причинного харчового алергену [125]. Однак, і на сьогоднішній день не вдалося до кінця розшифрувати механізми її впливу на перебіг алергічних процесів. Така ситуація породжує зростання наукового зацікавлення СОІТ, що супроводжується постійним пошуком біомаркерів її ефективності.

Вивчення особливостей функціонування регуляторних клітин Tregs дозволяє зрозуміти процес формування оральної толерантності, оскільки відбувається продукція супресивних цитокінів IL-10 та TGF- β , які гальмують імунну відповідь. Регуляторні клітини поділяють на дві групи. У першій групі клітин регуляторна функція формується у тимусі, вони відомі як натуральні клітини Tregs. Друга група клітин диференціює в периферичних лімфоїдних органах з наївних CD4⁺ Т-лімфоцитів у відповідь на стимуляцію специфічними антигенами, тому отримали назву індукованих Tregs клітин. Власне останні є надзвичайно важливими у підтримці імунної толерантності та запобіганні розвитку аутоімунних реакцій та алергії.

Алергічна імунна реакція спрямована на різні алергени навколишнього середовища. Існує припущення, що тенденція до розвитку імунної реакції Th2 є вираженою в atopічних пацієнтів під впливом генів та мікросередовища. Підтипи імунних та запальних клітин взаємодіють через цитокіни. Ключові цитокіни, відповідальні за алергічну реакцію, включають інтерлейкін IL-4 та IL-13. Специфічне розпізнавання антигенних вирішальних факторів (епітопів) алергенів лімфоцитами Т і В викликає імунну реакцію. Розпізнавання контролюється вузькоспеціалізованими клітинами, презентують антиген, розташованими у стратегічних місцях, таких як поверхні слизової оболонки (слизова оболонка шлунково-кишкового тракту та епітелій дихальних шляхів) та дерма. Обробка та подання алергенних епітопів до Т-хелперних лімфоцитів у присутності відповідних костимулюючих цитокінів, хемокінів, сигналів, вітамінів, малих

молекул, подібних до гістамін-аденозину, та інших клітин мікросередовища формують імунну реакцію. Особливо у присутності ІЛ-4, наївні Т-клітини, активовані АПК, диференціюються в клітини Th2. У присутності ІЛ-4 та ІЛ-13 відбувається переключення класів у В-клітинах сприяє синтезу антитіл ІgЕ. Алергенспецифічні антитіла ІgЕ зв'язуються з високоафінними рецепторами ІgЕ (FCεRI), які експресуються на базофілах. Повторний контакт з сенсibiliзуючим алергеном активує базофіли для вироблення та вивільнення біогенних медіаторів (гістаміну, протеаз та новостворених ліпідних медіаторів, таких як лейкотрієни та цитокіни), які відповідають за симптоми та ознаки алергічних реакцій гіперчутливості І типу. Під час реакції у фазі сповільненої гіперчутливості, через 6-12 годин після контакту з алергеном, відбувається процес, який керується клітинами, в результаті чого еозинофіли, нейтрофіли, базофіли, Т-лімфоцити та макрофаги інфільтруються і вивільняють додаткові медіатори запалення та цитокіни, назавжди зберігаючи прозапальну реакцію. Характерною ознакою цієї фази є підвищена роль ІЛ-5, відповідального за активацію, виживання та накопичення еозинофілів в тканинах. Вважається, що ця реакція у фазі сповільненої гіперчутливості відповідає за постійні хронічні ознаки та симптоми алергічних захворювань [126,127,128].

Розвиток імунологічної толерантності важливий не лише для запобігання формування аутоімунних реакцій, але й для попередження розвитку імунної відповіді проти алергенів навколишнього середовища або умовно-патогенних мікроорганізмів [129,130,131].

Вважається, що зазвичай клінічна толерантність залежить від імунологічної, проте в основі даних процесів можуть лежати різні механізми [132]. Наприклад, в основі клінічної толерантності можуть бути зміни з боку як вродженої, так і адаптивної імунної системи, водночас механізми імунологічної толерантності передбачають залучення тільки адаптивної імунної системи [133,134].

Клінічна толерантність може бути природною та індукованою (наприклад, викликаної СОІТ) [135]. У більшості людей клінічна толерантність розвивається

природним шляхом. Варто відзначити, що природна толерантність може розвинутися на тлі вже наявної сенсibiliзації [136,137].

Оральну толерантність можна визначити як антиген-специфічну супресію клітинної та гуморальної імунної відповіді після попереднього впливу антигену пероральним шляхом [138,139]. Попередній вплив антигену через травний канал часто призводить до зниження реактивності до наступних місцевих або системних впливів того ж антигену. В цьому щодо застосування терміну мукозальна (а не оральна) толерантність, оскільки більш чітко відображає значення мукозальної імунної системи для даного процесу [140].

Протягом останніх років активно дискутуються питання лікування IgE-опосередкованої харчової АБКМ, зокрема її дієтична корекція. На жаль, елімінаційна дієта, яка переважно застосовується сьогодні, часто не вирішує проблему. Водночас сьогодні існує унікальна можливість проводити цілеспрямовану дієтичну корекцію шляхом обґрунтованого впливу на імунні механізми на підставі застосування методу СОІТ. Отримані на сьогодні дані довели, що застосування такого методу лікування дозволяє змінити склад представництва цитокінових маркерів, знизити чутливість шкіри, слизових оболонок респіраторної системи в травного каналу до експозиції алергену, сповільнити і навіть зупинити прогресування «атопічного маршу». Однак СОІТ потребує формування особливих навиків і у лікаря, і у пацієнта та членів його родини, і напевне саме тому дуже рідко використовується в практичній педіатрії. Водночас саме цей метод лікування виглядає найбільш перспективним і потребує поглибленого вивчення і ширшого впровадження в педіатричну практику.

1.2 Алерген-специфічна імунотерапія в лікуванні бронхіальної астми у дітей

Згідно з сучасними уявленнями, бронхіальна астма є гетерогенним захворюванням, що характеризується хронічним запальним процесом дихальних шляхів, і саме запальний характер зумовлює особливі підходи до

діагностики та лікування цієї хвороби [141,142]. Бронхіальна астма суттєво знижує якість життя пацієнтів, оскільки вона не лише впливає на фізичні, психічні та соціальні аспекти життя хворого, але й морально і фінансово виснажує всіх членів його сім'ї. У дітей бронхіальна астма залишається одним із найпоширеніших захворювань респіраторної системи, що асоційовані з ризиком інвалідизації і смертності [143, 144,145].

Протягом останніх десятиліть опрацьовано ряд міжнародних керівництв щодо стратегії лікування бронхіальної астми, однак базовою залишається Глобальна ініціатива з астми (GINA). Її було ініційовано ще в 1993 році з метою надати рекомендації щодо ведення астми, засновані на наявній на той час найдостовірнішій інформації. Перший робочий рапорт NHLBI/WHO: Глобальна ініціатива з стратегії ведення та попередження астми був опублікований в 1995 році, після чого постійно оновлюється. Останній перегляд GINA запропонований у 2020 році. З метою перегляду стандартів надання медичної допомоги дітям, хворим на алергічну патологію, в Україні працює група експертів, яка, аналізуючи міжнародні клінічні рекомендації і вітчизняний досвід, розробляє нові протоколи і клінічні настанови щодо діагностики і лікування бронхіальної астми. 8 жовтня 2013 року Наказом Міністерства охорони здоров'я України № 868 затверджений уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги при бронхіальній астмі. Міжнародними прототипами для створення національного протоколу були такі документи: Global Initiative for Asthma (GINA, 2006–2011); Global strategy for the diagnosis and management of asthma in children 5 years and younger, 2009; PRACTALL (Practical Allergology) Pediatric Asthma Group, 2008; ICON (International consensus on Pediatric Asthma), 2012 [146,147]. На підставі адаптації найновіших міжнародних клінічних рекомендацій та вітчизняного досвіду робоча група експертів практично щороку оновлює національний протокол лікування бронхіальної астми в дітей. Сьогодні доведено, що фармакотерапія бронхіальної астми може ефективно контролювати її симптоми і впливати на запальний процес. Однак вона не може

впливати на специфічну імунну відповідь, і в разі припинення прийому ліків симптоми хвороби можуть повертатися. Єдиним методом лікування, що може змінити природний перебіг алергії, є АСІТ, яка дозволяє зменшити чутливість організму дитини до «винного» алергену та знизити активність хронічного запалення. На сьогодні це єдиний метод лікування, що модифікує перебіг алергічної патології [148,149,150]. Багаторічний досвід його застосування довів високу клінічну ефективність методу, яка проявляється тривалим утриманням ремісії бронхіальної астми, запобіганням трансформації легких варіантів захворювання в тяжкі, зменшенням обсягу базисного лікування [151,152,153]. Водночас на сьогодні не вистачає досліджень щодо порівняння ефективності імунотерапії і фармакотерапії бронхіальної астми [154].

АСІТ проводять, застосовуючи очищені водно-сольові екстракти алергенів або виділені з них окремі алергенні компоненти. Цей метод лікування зазвичай передбачає підшкірне або сублінгвальне введення поступово зростаючих кількостей «винних» алергенів до досягнення дози, яка є ефективною в індукції імунологічної толерантності до алергенів [155,156]. Імунотерапія ефективна в дітей і переважно добре переноситься, однак протягом останнього часу активно дискутується питання щодо можливості її застосування в дітей різних вікових груп. В Україні традиційний підшкірний метод АСІТ використовується в дітей після досягнення 5-річного віку, причому його має право проводити лише лікар-алерголог у спеціально обладнаному кабінеті або алергологічному відділенні лікарні. Водночас доведено, що діти віком до 6 років можуть погано переносити імунотерапію та ін'єкції, і тому лікарі повинні зважити ризики та переваги такої терапії в цій популяції пацієнтів. Можливості більш раннього (із трьох років) застосування альтернативної сублінгвальної АСІТ активно обговорюються на різного рівня вітчизняних симпозиумах і конференціях, однак однозначної відповіді на це питання сьогодні не існує. Водночас існують суперечливі докази щодо того, який метод АСІТ є більш ефективним. Зокрема, Chelladurai et al. показали незначну різницю в ефективності лікування в порівнянні обох методів [157].

Разом із цим існують дані, які доводять, що сублінгвальна імуноterapia є безпечнішою для дітей. Зокрема, у дослідженні, в якому брали участь 193 дитини, які отримували сублінгвальну АСИТ через алергічний риніт з астмою або без неї, зареєстровано 500 легких/місцевих побічних реакцій і лише одну системну реакцію (тяжкий напад астми) [158]. Основними місцевими побічними реакціями були свербіж порожнини рота/горла і набряк, які з'являлися на початку лікування і проходили протягом декількох днів або тижнів без будь-якого медичного втручання. Для проведення АСИТ застосовують лише ті алергени, етіологічна роль яких підтверджена на підставі специфічної алергодіагностики. Сьогодні її можливості суттєво розширилися від анамнестичних даних, шкірних скарифікаційних та прик-тестів, специфічної алергодіагностики *in vitro* з визначенням специфічних IgE до компонентної (молекулярної) діагностики алергії (нової концепції діагностики алергії — діагностики на підставі компонентів алергенів) [159,160].

Упродовж останніх років виявлено й охарактеризовано велику кількість компонентів алергенів із різних джерел, і цей перелік постійно зростає. Зокрема, виділено багато молекулярних компонентів алергенів кліщів домашнього пороку. Найбільші алергенні властивості мають мажорні компоненти *Dermatophagoides pteronyssinus* (Der p1, Der p2), *Dermatophagoides farinae* (Der f1, Der f2) і мінорні компоненти Der p10 і Der f10 — тропоміозини [161].

Der p1 і Der p2 володіють здатністю вивільняти нітрит азоту з альвеолярних макрофагів, так як цим алергенам притаманна ферментативна активність. Так, ферментативна активність Der p1 призводить до підвищення проникності епітеліальних клітин, стимулює вивільнення IL-6, IL-8 и GM-CSF з епітеліальних клітин дихальних шляхів [162]. Останнім часом виділений новий компонент алергену кліщів домашнього пороку з високою алергенною властивістю — Der p23 [163]. Білок Der p23 разом з Der p1 є наявний на частинках екскрементів кліща, які зустрічаються у повітрі, у той час як Der p2 виявляють здебільшого в тілі кліща. Доведено, що в переважній більшості

пацієнтів, сенсibilізованих до кліщів домашнього пороку, Der p23 однаково зв'язує sIgE, як і Der p1 та Der p2 і володіє високою активністю в тестах базофільної дегрануляції. Водночас існують дані про те, що окремі пацієнти показали зв'язування sIgE з Der p23 без зв'язування Der p1 чи Der p2. Більше того, в окремих дослідженнях з'ясовано, що серед пацієнтів з алергією до кліщів домашнього пороку в 4-6% може спостерігатися моносенсibilізація до Der p23. Така ситуація потребує визначення sIgE до Der p23 у пацієнтів з відсутністю sIgE до Der p1 та Der p2 [164].

Отже, окреслення індивідуального профілю сенсibilізації пацієнта є важливим для визначення оптимального лікування АСІТ. Значення молекулярної діагностики алергії для оптимізації відбору пацієнтів для проведення АСІТ сьогодні активно обговорюється і наразі є до кінця не визначеним.

Лікувальні екстракти кліщів домашнього пороку (HDM – House dust mites), які сьогодні є доступними в Україні для проведення АСІТ, є стандартизованими лише для алергенів Der p1 та Der p2 [165,166]. Нещодавно у вітчизняну педіатричну практику були впроваджені стандартизовані алергени HDM для сублінгвальної АСІТ, у яких співвідношення Der p1: Der p2 приблизно 1:1 [167]. Поруч із цим продовжує активно застосовуватися і лікування ін'єкційними вітчизняними алергенами. Така ситуація диктує потребу проведення порівняльної оцінки ефективності різних способів проведення АСІТ.

АСІТ проводиться лише дітям, які хворіють на atopічну бронхіальну астму легкого та середньоважкого перебігу (при досягненні контролю), і лише лікарем-дитячим алергологом чи імунологом або спеціально підготовленою медичною сестрою під наглядом лікаря в амбулаторних умовах, в обладнаному для цього кабінеті або в умовах спеціалізованого стаціонару (початковий етап, прискорений метод парентеральної АСІТ). Причому АСІТ може проводитися за будь-якою схемою, але згідно з існуючими рекомендаціями, серед яких найбезпечнішою є класична схема введення алергенів. Використання

прискореного методу можливе лише після отримання результатів щодо задовільної толерантності АСІТ пацієнтом і переважно в умовах стаціонару.

Відбір дітей для проведення АСІТ має бути обґрунтований, а склад вакцини для її проведення повинен обиратися перш за все на підставі результатів прик-тестування у поєднанні з анамнестичними даними (вказівка на загострення при контакті з конкретним алергеном). Водночас сьогодні для цього широко застосовується компонентна алергодіагностика *in vitro*, яка дозволяє підвищити ймовірність успіху АСІТ шляхом полегшення правильної ідентифікації «винного» алергену [168,169].

АСІТ при бронхіальній астмі найчастіше використовується в разі сезонної пилкової алергії та високої сенсibiliзації до кліщів домашнього пороку. Лікування проводиться одним або декількома (при полівалентній сенсibiliзації) алергенами [170,171,172]. Якщо у хворого виявлено сенсibiliзацію до алергенів різних груп, наприклад: кліщових та пилкових, то алергени вводяться окремо в різні кінцівки, краще в різні дні або послідовно. Ефективність мультиалергенної імунотерапії в контексті індукції імунологічної толерантності до сьогодні вивчена недостатньо. Більше того, існують суперечливі результати щодо ефективності застосування сумішей алергенів [173,174]. Результати АСІТ проявляються в тривалому утриманні ремісії бронхіальної астми, запобігання трансформації легких варіантів захворювання в тяжкі, зменшенні обсягу базисного лікування. Кокранівський огляд 75 рандомізованих контрольованих досліджень, які вивчали застосування алерген-специфічної імунотерапії при лікуванні астми, підтвердив її ефективність у зниженні гостроти симптомів астми та потреб у ліках, а також показав зниження гіперчутливості дихальних шляхів [175]. Найкращі результати АСІТ реєструються за умови проведення тривалого лікування протягом 3–5 років [176,177]. Однак слід пам'ятати, що таке лікування не завжди є безпечним для хворого. Існують чіткі покази і протипокази для його використання, тому рішення про проведення такого лікування приймає тільки лікар-алерголог. І навіть за умови наявності чітких показів до АСІТ ризик виникнення небажаних

реакцій при її проведенні залишається, тому важливо розрізняти безпечну місцеву реакцію, реакцію шокового органа (бронхообструкція) та гострі, загрозливі для життя стани (анафілактичний шок), які потребують організації невідкладних заходів. Найпоширенішими побічними ефектами сублінгвальної імунотерапії є місцеві реакції, такі як свербіж у роті, подразнення горла та свербіж вуха [178]. Нещодавно проведений метааналіз, що узагальнив понад 80 рандомізованих подвійних сліпих плацебо-контрольованих випробувань і декілька оглядів (як для дорослих, так і для дітей), показав, що в більшості досліджень загальна кількість системних побічних ефектів не відрізнялася від плацебо [179]. Водночас, безліч досліджень доводять більшу безпеку СЛАСІТ [180,181,182].

Проведене довгострокове дослідження протягом 20 років після отримання пацієнтами АСІТ при алергії на кліщі домашнього порошку та пилок, яке розглядало ризик неоплазії та аутоімунної патології у пацієнтів, які отримали АСІТ. Результати цього довгострокового обсерваційного дослідження вказують на відсутність значної поширеності нових випадків новоутворень та аутоімунних захворювань, що свідчить про те, що АСІТ у довгостроковій перспективі є безпечним методом лікування [183,184].

Метою проведення АСІТ є, по суті, відновлення порушеної толерантності до алергенів. Перевагою АСІТ є унікальна терапевтична дія, яка поширюється на усі етапи алергічної відповіді і не притаманна жодному фармпрепарату. При застосуванні АСІТ після введення алергену відбуваються активація алерген-специфічних Treg1 клітин і відповідно, інгібування надмірної активації Т-хелперів 2-го типу. Було встановлено, що Treg клітини у відповідь на вплив алергенів кліщів домашнього порошку або пилку берези на слизових оболонках верхніх дихальних шляхів виробляють IL-10 і TGF- β . Ці субкласи T-регуляторних клітин (CD4⁺ CD25⁺) були позначені як Th3-клітини. Treg1 клітини, індуковані активацією Toll-Like рецепторів, здатні продукувати в основному IL-10 із невеликою кількістю IF γ [185]. Терміни формування Treg1 клітинної генерації в процесі проведення АСІТ обчислюються кількома днями,

але значне зниження рівня алергенспецифічних IgE відбувається протягом року. Причина, ймовірно, пов'язана з певним періодом напіврозпаду в концентрації специфічних антитіл. Значна частина часу при проведенні серій АСІТ, ймовірно, йде на виснаження клону довгоживучих алергенспецифічних плазматичних клітин.

У результаті цього відбувається інгібування надмірної активації Т-хелперів 2-го типу за рахунок індукування Т-клітинної імунологічної толерантності та регуляції формування специфічного ізотипу плазматичних клітин зі зміною профілю високоспецифічної відповіді на алерген з IgE-залежної на IgG4- домінуючу імунологічну відповідь.

Протягом останніх років доведено, що застосування АСІТ сприяє зміні співвідношення між хелперними популяціями Т-лімфоцитів на користь Th1 (Th1 > Th2). Відомо, що маркерними цитокінами Th1 є IF γ та IL-12, водночас для Th2 — інтерлейкіни -4, -5, -10 і -13 [186,187].

Під час попадання в організм пацієнта алерген взаємодіє з антиген-презентуючими клітинами (дендритними клітинами тощо); відбуваються активація Treg клітин, виділення інтерлейкінів -10, -12, -27 та TGF- β . Інтерлейкін-12 індукує Th1-відповідь, збільшується продукція інтерферону- γ , який стимулює розвиток імунної відповіді за Th1-типом і, відповідно, інгібує клітинну Th2-відповідь [188].

Згідно з даними найсучасніших досліджень, встановлено, що АСІТ модифікує перебіг алергічної патології і викликає стійку імунологічну та клінічну толерантність до причинного алергену [189,190]. Однак і до сьогодні не вдалося до кінця розшифрувати механізми її впливу на перебіг алергічних процесів. Така ситуація породжує зростання наукового зацікавлення методом АСІТ, що супроводжується постійним пошуком біомаркерів його ефективності, їх ідентифікації й оцінки динаміки під час лікування.

1.3 Тактика допомоги значно недоношеним новонародженим з відкритою артеріальною протокою: сучасні контрверсії і рекомендації

Артеріальна протока (АП) відіграє важливу роль у фетальному кровообігу, проте у доношених дітей перестає функціонувати невдовзі після народження. Водночас, ця судина залишається відкритою приблизно у 70 % передчасно народжених немовлят з терміном гестації < 30 тиж в одномісячному віці [191,192]. За таких умов через АП відбувається постійний скид крові з аорти у легеневу артерію, що може призводити до значних порушень гемодинаміки, спричинюючи мезентеріальну, ниркову та церебральну гіперперфузію, а також набряк легень [193,194].

Відомо, що в передчасно народжених дітей наявність відкритої артеріальної протоки (ВАП) асоціюється з вищими частотою ранньої артеріальної гіпотензії, внутрішньошлуночкових крововиливів (ВШК), некротизуючого ентероколіту (НЕК), ретинопатії недоношених (РН), легневих кровотеч, бронхолегеневої дисплазії (БЛД), а також смертністю [195]. Проте, існуючі методи лікування ВАП не зменшують частоти зазначених захворювань. Досі залишається чимало суперечливих та невирішених питань стосовно потреби і тактики лікування ВАП, а саме, кому і в якому віці розпочинати лікування, яким препаратом та чи необхідне втручання взагалі. На сьогодні розрізняють п'ять можливих варіантів допомоги передчасно народженим немовлятам з ВАП: 1) профілактичне призначення інгібіторів ЦОГ/ПГС незалежно від наявності ВАП; 2) лікування ВАП до появи її клінічних ознак; 3) лікування ВАП після появи клінічних симптомів; 4) очікувальну тактику і 5) консервативну допомогу. Метою цього огляду є обговорення наявних наукових доказів щодо переваг і недоліків кожного з варіантів із практичними рекомендаціями щодо їх можливого застосування.

Відомо, що одним з механізмів підтримання АП відкритою є збільшення вмісту простагландинів у крові, що обґрунтовує відповідні фармакологічні втручання [196]. Нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) (індометацин та ібупрофен) гальмують перетворення арахідонової кислоти у простагландин G2 (PGG2), пригнічуючи функції циклооксигеназної (ЦОГ) ділянки

простагландинсинтетазного (PGHS) комплексу. На відміну від ібупрофену й індометацину парацетамол діє на пероксидазну (POX) ділянку PGHS-комплексу, блокуючи синтез простагландину H₂ (PGH₂), який є основним попередником простагландинів з вазоактивною дією (рисунок 1.1).

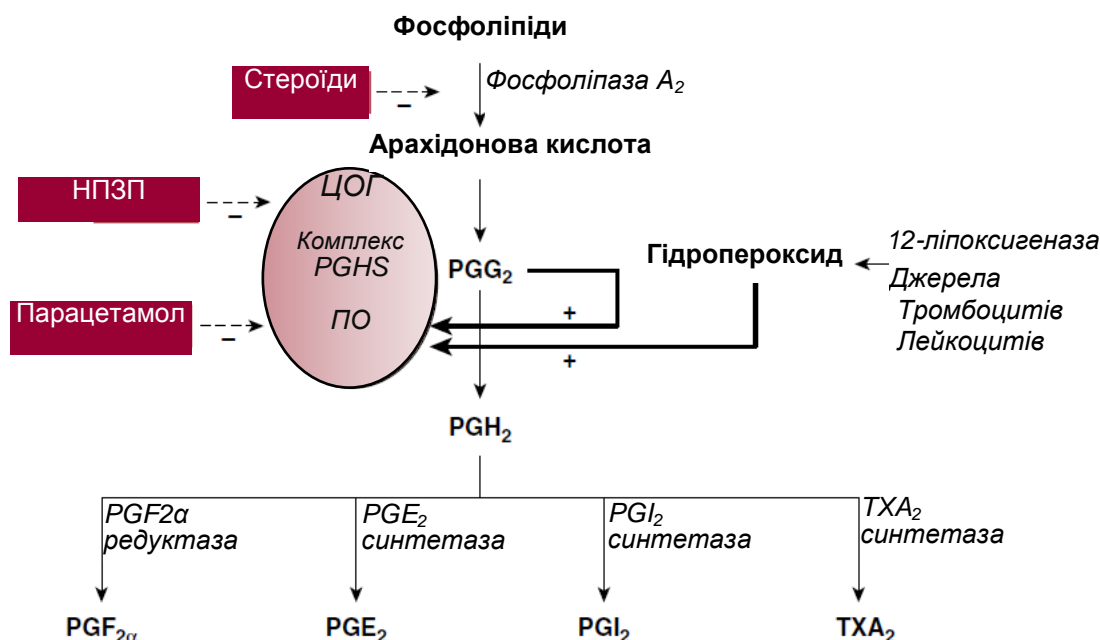


Рисунок 1.1 Вплив нестероїдних протизапальних засобів (НПЗП), парацетамолу й ендогенних сполук на метаболізм арахідонової кислоти [207].

Примітки: ЦОГ, циклооксигеназа; PG, простагландин (PG підтипів G₂, H₂, F_{2α} та I₂); PGHS комплекс, простагландинсинтетазний комплекс; ПО, пероксидаза; TX, тромбоксан (TX підтип A₂).

Підхід до надання допомоги передчасно народженим немовлятам з ВАП історично відрізнявся у різних країнах і регіонах світу, змінюючись з плином часу. Так, наприкінці 90-х років минулого століття 89 % канадських неонатологів для закриття ВАП обмежували рідину та призначали індометацин, тоді як хірургічну перев'язку АП застосовували лише у немовлят, які не реагували на таке лікування або в яких були протипоказання до застосування індометацину. Майже через десятиліття у Сполучених Штатах Америки (США) чверть лікарів-респондентів застосовувати індометацин

профілактично для зменшення частоти ВШК, а 9 % використовували цей препарат для лікування ВАП до появи її клінічних ознак [197]. У випадках стійкої ВАП близько 75 % немовлят отримували більше одного курсу індометацину, з них майже половині призначали два або три курси. Більшість центрів у США у цей час розпочинали лікування в перші 2 тиж життя і використовували ехокардіографічні критерії для визначення показань і контролю ефективності терапії.

Результати опитування 19 європейських асоціацій неонатології та перинатології у 2009 р. [198] засвідчили, що більшість неонатальних центрів Європи (71 %) застосовували індометацин внутрішньовенно, 36 % використовували системний ібупрофен, а 29 % призначали цей препарат внутрішньо. Приблизно половина медичних центрів у випадках стійкої ВАП призначали другий курс, а чверть – третій курс фармакотерапії. Майже всі (96 %) неонатологічні центри в Європі лікували гемодинамічно значущу ВАП (гзВАП), однак 25 % могли лікувати навіть гемодинамічно незначущу ВАП. Лише в одному медичному центрі застосовували хірургічну перев'язку ВАП як початкове втручання.

Irmesi та співавт. [199] нещодавно порівняли дані рандомізованих досліджень, які вивчали ефективність різних варіантів допомоги передчасно народженим немовлятам з ВАП. Автори дійшли висновку, що фармакологічне лікування ВАП індометацином та ібупрофеном найчастіше застосовували у США та Канаді, тоді як у Європі препаратом вибору був ібупрофен. За даними останнього опитування [200] від 11 % до 87 % медичних центрів лікували ВАП незалежно від наявності клінічних ознак, ґрунтуючись лише на ЕхоКГ даних (11 % в Канаді; 13 % в Іллінойсі; 20 % в Ізраїлі; 33 % у Швеції; 41 % в Іспанії; 50 % у Швейцарії; 58 % в Австралії та Новій Зеландії; 75 % у Фінляндії; 75 % у Тоскані, Італія; і 87 % в Японії). Парацетамол використовували як препарат першої лінії лише в дев'яти центрах (по одному в Австралії/Новій Зеландії та Канаді, два центри в Іллінойсі і п'ять в Ізраїлі).

Отже, найважливішими сучасними тенденціями у наданні допомоги значно недоношеним новонародженим з ВАП є частіше застосування ібупрофену порівняно з індометацином [201], стає зменшення загальної частки дітей, яких лікували з приводу ВАП [202], а також зменшення частки хірургічних утручань [203] з відповідним зростанням відсоткової кількості немовлят щодо яких застосовували очікувальну тактику або консервативні заходи. Сучасний відсоток новонароджених ≤ 31 тиж гестації, які отримують лікування з приводу ВАП у країнах Євросоюзу, коливається від 10 % до 39 % і не залежить від перинатальних особливостей пацієнтів. Водночас відмінності у підходах до лікування ВАП не асоціюються з кінцевими результатами виходжування таких новонароджених [204].

1.3.1 Застосування ліків для фармакологічного закриття відкритої артеріальної протоки

Індометацин є неселективним інгібітором ЦОГ і найбільш вивченим фармакологічним препаратом, який використовувався для закриття ВАП [205]. Найпоширеніший шлях введення індометацину є внутрішньовенний, хоча можливе також введення препарату перорально, ректально або внутрішньоартеріально. Однак, ці шляхи є менш дослідженими і майже не використовуються у клінічній практиці через ймовірний негативний вплив індометацину на цілість слизової оболонки шлунково-кишкового тракту, особливо клубової кишки. Більшість проведених досліджень використовували три стандартні дози індометацину з розрахунку від 0,1 до 0,2 мг/кг/дозу через 12 і 24 год відповідно [207]. Стандартна тривалість одного курсу лікування ВАП індометацином становить від 48 до 72 год. Частота закриття АП після першого курсу індометацину у недоношених новонароджених коливається від 48 % до 98,5 % залежно від дози, тривалості та шляху введення. У випадках неефективності першого курсу терапії або повторного відкриття АП показаний другий курс, ефективність якого становить приблизно 40-50 % [206]. Застосування третього курсу лікування ВАП індометацином не

рекомендується, оскільки це асоціюється з високим ризиком розвитку ПВЛ. Невідомо, які патологічні механізми відіграють провідну роль у цій асоціації, проте тривале зниження мозкового кровообігу, ймовірно, може спричинити цю патологію [207]. Залежно від концентрації у крові індометацин може порушувати мозковий, нирковий та мезентеріальний кровообіг і зменшувати агрегацію тромбоцитів [207]. Одночасне введення індометацину та стероїдів асоціюється із збільшенням частоти перфорації шлунково-кишкового тракту/НЕК. Однак, незважаючи на найгірший профіль безпеки цього препарату порівняно з ібупрофеном і парацетамолом, які також використовують для фармакологічного закриття ВАП, будь-які порушення функції нирок, пов'язані з призначенням індометацину, є тимчасовими, а вплив на ризик виникнення НЕК або клінічно важливих кровотеч залишається теоретичним.

Ібупрофен також є неселективним інгібітором ЦОГ, який не знижує мозковий та мезентеріальний кровообіг і порівняно з індометацином значно менше впливає на ниркову перфузію [208]. Ібупрофен можна призначати перорально (внутрішньо), внутрішньовенно або ректально. Внутрішній шлях уведення ібупрофену такий же ефективний, як і довенний. Кокрейнівський огляд 39 рандомізованих контрольованих досліджень (n=2842) [209] продемонстрував, що ібупрофен не менш ефективний, ніж індометацин, і на сьогодні є препаратом вибору, оскільки він має значно кращий профіль безпеки й асоціюється із зниженням ризику виникнення НЕК, олігурії та підвищеного рівня креатиніну сироватки. Рекомендована стандартна доза ібупрофену становить 10 мг/кг у 1-й день та по 5 мг/кг у 2-й й 3-й день, відповідно. Нещодавній систематичний огляд і мета-аналіз рандомізованих досліджень [210] засвідчив, що вища внутрішня доза ібупрофену (20/10/10 мг/кг) асоціюється з вищою ймовірністю закриття гЗВАП порівняно зі стандартними внутрішньовенними дозами ібупрофену, індометацину або парацетамолу. Загальна частота успішного закриття ВАП ібупрофеном після першого та другого курсу істотно не відрізняється від індометацину, - 70% та 50%,

відповідно. Основними побічними ефектами застосування ібупрофену є олігурія, підвищення рівня білірубину, виникнення шлунково-кишкових кровотеч та легеневої гіпертензії. Відповідно протипоказаннями до призначення НПЗП [211] вважають наявність активних кровотеч, особливо шлунково-кишкових або внутрішньочерепних, тромбоцитопенію ($< 50 \times 10^9/\text{л}$) та/або порушення згортання крові, НЕК або підозра на наявність НЕК, виражені порушення функції нирок (підвищення рівня креатиніну > 120 мкмоль/л або наявність олігурії $< 0,5$ мл/кг/год).

Як зазначалось вище, парацетамол діє на пероксидазну (POX) ділянку PGHS-комплексу, блокуючи синтез простагландину H₂ (PGH₂), який є основним попередником простагландинів з вазоактивною дією. Цей препарат не впливає на тонус периферичних судин, через що він має перевагу над інгібіторами ЦОГ та може бути ефективною й безпечною альтернативою індометацину та ібупрофену у спробі фармакологічного закриття ВАП, особливо якщо є протипоказання до застосування інгібіторів ЦОГ [207]. Фармакокінетика парацетамолу у лікуванні ВАП, включаючи спосіб та дозу введення, залишається недостатньо вивченою порівняно з індометацином та ібупрофеном. У більшості проведених досліджень використовували внутрішню форму парацетамолу, однак його також можна вводити парентерально і ректально. Рекомендована доза парацетамолу становить 15 мг/кг кожні 6 год протягом 3 днів. Кокрейнівський огляд 8 рандомізованих досліджень (n – 916) [212] засвідчив, що парацетамол настільки ж ефективний у закритті ВАП, як ібупрофен та індометацин. Загальна частота успішного закриття ВАП парацетамолом коливається від 70,5% до 100%, однак у більшості досліджень цей препарат використовували у новонароджених з терміном гестації > 28 тиж, тому ефективність та побічні ефекти парацетамолу у популяції екстремально недоношених немовлят залишаються невідомими. Автори іншого нещодавнього мета-аналізу 7 рандомізованих контрольованих досліджень (n= 861) [213] продемонстрували, що загальна частота успішного закриття ВАП після першого курсу фармакологічного лікування не відрізнялась між групами

немовлят, які отримали інгібітори ЦОГ та парацетамол (ВР – 0,90; 95% ДІ: 0,72-1,13). Між групами також не виявлено статистично істотних відмінностей за смертністю, потребою у хірургічному закритті протоки, частотою НЕК, БЛД, РН та легневих кровотеч. Натомість, лікування ВАП парацетамолом асоціювалось з тенденцією до зниження ризику розвитку ниркової недостатності (ВР – 0,20; $p = 0,07$) та шлунково-кишкової кровотечі (ВР – 0,28; $p = 0,009$). Водночас, у групі парацетамолу порівняно з групою ібупрофену діагностували значно вищі показники тромбоцитів і добового об'єму сечі. До побічних ефектів парацетамолу відносять гепатотоксичність, а також гемодинамічні і термодинамічні ефекти. Отже, парацетамол може бути ефективною і безпечною альтернативою інгібіторам ЦОГ, тому потрібно більше рандомізованих досліджень, які би оцінили ефективність і безпеку цього препарату в екстремально недоношених новонароджених, включаючи віддалені наслідки у віці 18-24 міс через можливий зв'язок антенатального застосування парацетамолу та розвитку аутизму у дітей.

1.3.2 Профілактичне призначення інгібіторів простагландинів

Щоб уникнути персистенції або відкриття артеріальної протоки у значно недоношених новонароджених, інгібітори ЦОГ (індометацин або ібупрофен) або інгібітор ПГС (парацетамол) призначають профілактично в перші 12-24 год життя незалежно від наявності ВАП.

Профілактичне використання індометацину вивчено найкраще, оскільки його застосовували у найбільшій кількості рандомізованих контрольованих досліджень – 19, в які було залучено 2872 немовлят [214]. Мета-аналіз цих досліджень засвідчив декілька короткострокових переваг профілактичного призначення індометацину передчасно народженим немовлятам, зокрема, зменшення частоти розвитку симптоматичної ВАП, виникнення важких і будь-яких ВШК, потреби у хірургічній перев'язці протоки тощо.

Мета-аналіз 2 масштабних сучасних обсерваційних досліджень ($n=11289$) засвідчив, що профілактичне застосування індометацину у популяції

новонароджених з терміном гестації < 29 тиж не впливало на сумарну частоту БЛД/смерті (контрольований коефіцієнт співвідношення шансів [кКСШ] – 0,93; 95 % ДІ: 0,76-1,13) та частоту БЛД серед тих, хто вижив (кКСШ – 0,94; 95% ДІ: 0,78-1,12), проте, могло супроводжуватись зменшенням смертності (кКСШ – 0,81; 95% ДІ: 0,66-0,98) [215]. На думку авторів цього мета-аналізу, залишається невідомим, чи цей результат є наслідком невизначеної помилки, випадковості або свідчить про дійсну користь. Щоб підтвердити позитивний вплив профілактичного призначення індометацину на смертність значно недоношених немовлят у сучасних умовах, потрібно залучити у дослідження понад 3500 таких дітей [227].

Водночас, незважаючи на зменшення частоти ВШК, профілактичне застосування індометацину не покращувало довгострокових неврологічних результатів [216]. Ці дані стали підґрунтям для формування різних підходів до профілактичного застосування індометацину в реальній клінічній практиці. Окремі підгрупи пацієнтів, як-от значно недоношені хлопчики і новонароджені з гестацією менше 27 тиж, могли бути потенційними кандидатами для профілактичного застосування індометацину. Крім того, відділення з вищою частотою ВШК могли використовувати цей підхід, оскільки за таких умов переваги, ймовірно, переважали ризики, пов'язані з профілактичним призначенням індометацину [207].

Кокрейнівський огляд 2019 р. [220] включив 9 рандомізованих контрольованих випробувань (n = 1070) профілактичного застосування ібупрофену у порівнянні з плацебо або профілактичним застосуванням індометацину. За даними мета-аналізу профілактичне призначення ібупрофену зменшувало частоту ВАП, потребу у додатковому лікуванні інгібіторами ЦОГ і хірургічному закритті протоки. Проте, у групі ібупрофену порівняно із групою плацебо або групою без утручань значно частіше виявляли олігурію і підвищення рівня креатиніну в сироватці крові. Внутрішнє застосування ібупрофену значно частіше супроводжувалось шлунково-кишковою кровотечею. Водночас, профілактичне призначення ібупрофену достовірно

зменшувало ризик виникнення важких ВШК без статистично істотних відмінностей за смертністю і частотою БЛД у хронологічному віці 28 днів або постменструальному віці 36 тиж, частотою НЕК або віком на момент досягнення повного об'єму ентерального харчування. Частота самовільного закриття протоки на 3-4 день життя в контрольній групі становила 58 % [220].

Останній кокрейнівський систематичний огляд [212] двох невеликих рандомізованих контрольованих досліджень (n=80) засвідчив, що профілактичне призначення парацетамолу тривалістю 4-5 днів зменшувало частоту ВАП порівняно із групою плацебо або групою без утручань. Проте, профілактичне застосування цього препарату у популяції новонароджених з терміном гестації < 27 тиж суттєво не впливало на закриття ВАП (p = 0,63) і половина з цих немовлят потребували подальшого лікування ВАП. Результати ретроспективного дослідження [217] із залученням 190 значно недоношених новонароджених продемонстрували, що профілактичне застосування парацетамолу зменшувало частоту ВАП із 31 % (27/88) до 15 % (15/102) (p = 0,008) та потребу подальшого лікування ібупрофеном без збільшення частоти несприятливих віддалених наслідків.

Таким чином, профілактичне призначення інгібіторів ЦОГ або парацетамолу в перші 12-24 год життя всім значно недоношеним немовлятам фактично означає потенційно необґрунтоване застосування фармакологічних препаратів із серйозною побічною дією у більшості таких пацієнтів, оскільки таке втручання покращує лише деякі короткострокові результати, не впливаючи на смертність і хронічну або віддалену захворюваність. Отже, рутинне профілактичне призначення інгібіторів ЦОГ/ПГС на сьогодні не рекомендується. Водночас, зниження частоти ВШК, пов'язане з профілактичним застосуванням індометацину й ібупрофену, може обґрунтовувати відповідну клінічну практику у відповідних ситуаціях високого ризику.

1.3.3 Лікування відкритої артеріальної протоки до появи її клінічних ознак

Таке лікування, як правило, розпочинають в перші 3-5 днів життя. Кров може шунтуватися через протоку в перші дні після народження, але відповідні клінічні ознаки найчастіше виявляють пізніше, у середньому, через 2 дні [218,219]

Кокрейнівський систематичний огляд 3 невеликих рандомізованих контрольованих досліджень (n=97) засвідчив, що призначення індометацину недоношеним немовлятам з ВАП, яка не мала клінічних ознак, не впливало на смертність (ВР – 1,32; 95 % ДІ: 0,45-3,86), частоту БЛД (ВР – 0,91; 95 % ДІ : 0,62-1,35), ВШК (ВР – 1,21; 95 % ДІ: 0,62-2,37) і РН (ВР – 0,68; 95 % ДІ: 0,26-1,78), а також тривалість штучної вентиляції легень (зважена відмінність середніх показників (ЗВСП) – (-7) днів; 95% ДІ: -17,33; 3,34) [220]. Проте, це утручання значно зменшувало частоту симптоматичної ВАП (ВР – 0,36; 95 % ДІ: 0,19-0,68) і тривалість кисневої терапії (ЗВСП – (-12,5); 95 % ДІ: -23,8; 1,26), особливо в немовлят з масою тіла при народженні < 1000 г [221].

Нещодавній систематичний огляд і мета-аналіз [222] 7 рандомізованих досліджень, у які було залучено 466 новонароджених з терміном гестації < 32 тиж і масою тіла при народженні < 1500 г, підтвердив висновки згаданого вище кокрейнівського огляду, засвідчивши, що раннє лікування ВАП, яка не мала клінічних ознак, інгібіторами ЦОГ (індометацин або ібупрофен) не впливає на смертність (ВР – 0,85; 95 % ДІ: 0,50-1,43; 6 досліджень; 442 новонароджених). Водночас, призначення відповідних препаратів порівняно з групою плацебо істотно зменшувало загальну частоту симптоматичної ВАП (ВР – 0,39; 95 % ДІ: 0,21-0,73; 3 дослідження; 97 новонароджених), а також потребу застосовувати в подальшому фармакологічне та хірургічне лікування. Інші результати ефективності та безпеки суттєво не відрізнялись між групами. Це, ймовірно пов'язано з тим, що після раннього лікування АП стає менш гемодинамічно значущою [223,224].

Отже, ця тактика теоретично може бути обґрунтованою у надзвичайно недоношених немовлят з терміном гестації 23-25 тиж, враховуючи високу ймовірність формування гЗВАП, яка в подальшому буде потребувати лікування

[225]. Тому доцільність і безпека раннього фармакологічного лікування немовлят з ВАП потребує подальших досліджень, оскільки існують потенційні ризики, пов'язані з таким утручанням.

1.3.4 Лікування відкритої артеріальної протоки після появи клінічних симптомів

У випадку симптоматичного лікування передбачається можливість спонтанного закриття протоки. Лікування розпочинають лише тоді, коли з'являються клінічні симптоми, ймовірно, пов'язані з розвитком ВАП. Цей клінічний підхід використовують найчастіше, оскільки він мінімізує ризики, пов'язані з умовно необґрунтованим лікуванням, внаслідок побічної дії насамперед інгібіторів ЦОГ. Проте, недоліками пізнішого втручання є менша ефективність щодо закриття ВАП та підвищений ризик ускладнень, пов'язаних з персистенцією гЗВАП (легеневі кровотечі, важкі ВШК, БЛД, потенційні порушення мозкового кровообігу та серцева недостатність) [226], оскільки частина з цих ускладнень виникають в перші 24 год життя дитини [227].

Нещодавнє контрольоване мультицентрове рандомізоване дослідження (PDA-TOLERATE Trial) [228], у яке були включені 202 новонароджених немовлят з гестаційним віком < 28 тиж, порівняло раннє фармакологічне лікування (індометацином, ібупрофеном або парацетамолом) у немовлят із середнім або великим діаметром АП, які наприкінці першого тижня життя потребували «вище мінімального» рівня дихальної підтримки, з очікувальною тактикою, яка ґрунтувалась на попередньо визначених респіраторних та гемодинамічних показаннях для призначення лікування. Автори дослідження дійшли висновку, що раннє фармакологічне лікування ВАП у надзвичайно недоношених новонароджених, які потребували дихальної підтримки у віці між 6 і 14 добою життя, не зменшувало частоти ВАП на момент виписки або потреби у її хірургічній перев'язці та не покращувало жодних із попередньо визначених вторинних показників ефективності (частота НЕК, БЛД, БЛД або смерті, смертність та тривалість дихальної підтримки). Натомість, таке

лікування подовжувало період часу до досягнення повного об'єму ентерального харчування й асоціювалось з вищими частотою пізнього сепсису та смертністю у підгрупі немовлят з терміном гестації ≥ 26 тиж. Водночас, у групі раннього фармакологічного лікування симптоматичної ВАП порівняно з очікувальною тактикою значно меншими були ризик розвитку гзВАП (ВР – 0,51; 95% ДІ: 0,40-0,66; $p < 0,001$) і потреба повторного лікування ВАП (ВР – 0,38; 95 % ДІ: 0,24-0,60; $p < 0,001$).

У дослідженні Gudmundsdottir та співавт. [229] в когорті новонароджених з гестаційним віком < 27 тиж порівнювали результати фармакологічного лікування ВАП у різному віці – в перші 2 дні життя, у віці 3-6 днів або пізніше (≥ 7 днів). Не встановлено відмінностей між віком на момент початку фармакологічного закриття ВАП і ризиком наступного хірургічного втручання або смерті. В іншому дослідженні, яке залучало немовлят з гестаційним віком 23-32 тиж, призначення ібупрофену для закриття гзВАП у середньому віці 3 діб істотно не впливало на виникнення БЛД, ризик смерті, БЛД або смерті, частоту НЕК, важких ВШК і ПВЛ порівняно з відстроченим лікуванням у середньому віці 11 днів [230].

Нещодавній систематичний огляд і мета-аналіз 68 рандомізованих досліджень ($n = 4802$) [222] порівняв ефективність фармакологічного закриття гзВАП з використанням ібупрофену, індометацину, парацетамолу та плацебо / відсутність лікування. Загальна частота успішного закриття гзВАП становила 67,4 % (2867 із 4256 немовлят). Порівняно з використанням стандартних внутрішньовенних доз ібупрофену й індометацину внутрішнє призначення більших доз ібупрофену (20/10/10 мг/кг) асоціювалось з істотно вищою ймовірністю закриття гзВАП (КСШ – 3,59; 95 % ДІ: 1,64-8,17 для ібупрофену і 2,35; 95 % ДІ: 1,08-5,31 для індометацину; абсолютна відмінність ризиків – на 199 (95 % ДІ: 95-258) і 124 (95 % ДІ: 14-188) більше випадків закриття протоки з розрахунку на 1000 немовлят відповідно).

Отже, внутрішнє застосування високих доз ібупрофену є найефективнішим фармакологічним методом лікування гзВАП, який

забезпечує найвищу ймовірність закриття протоки і достовірно зменшує потребу у хірургічному втручанні.

Очікувальна тактика полягає у динамічному спостереженні за дітьми з ВАП без застосування будь-яких специфічних лікувальних заходів. Такий підхід до надання медичної допомоги передчасно народженим немовлятам з ВАП набуває все більшого поширення, оскільки у значної частини таких пацієнтів ВАП закривається спонтанно [191,192], а доказів на користь медичного лікування недостатньо [231,232]. Лише у третини надзвичайно недоношених немовлят з гестаційним віком < 28 тиж або масою тіла при народженні < 1000 г, АП закривається протягом першого тижня життя, однак, до кінця першого року протока закривається у 75 % дітей [233].

Багатоцентрове ретроспективне дослідження, яке залучило 28025 дітей з дуже малою масою тіла (<1500 г) при народженні, засвідчило, що щорічна кількість пацієнтів, які не отримували лікування щодо ВАП (n = 12002), збільшилась із 60,5 % у 2008 р. до 78,3 % у 2014 р., тоді як щорічна кількість немовлят, які отримували фармакологічне лікування ВАП, зменшилась із 30,5 % до 15,7 %, відповідно [234].

Нещодавній систематичний огляд і мета-аналіз рандомізованих досліджень [210] засвідчив, що очікувальна тактика у наданні допомоги значно недоношеним немовлятам з ВАП (середня площа під кумулятивною кривою [SUCRA]: 0,50; SD – 0,19) асоціювалась з меншою частотою розвитку НЕК порівняно з використанням внутрішньовенних стандартних (SUCRA: 0,42; SD – 0,4) або високих (SUCRA: 0,30; SD – 0,31) доз ібупрофену та стандартних доз індометацину (SUCRA: 0,21; SD – 0,11). Автори дослідження також дійшли висновку, що відсутність лікування гзВАП порівняно з лікуванням ібупрофеном, індометацином та парацетамолом не асоціюється з вищою частотою ВІПК та смертністю.

Rolland та співавт. [235] описали спонтанне закриття ВАП у середньому віці 61 ± 37 днів у 60 % немовлят, народжених при терміні гестації від 24 до 25 тиж й у 80 % дітей з гестаційним віком 26-27 тиж. Дослідження Herrman та

співавт. [236] продемонструвало, що у 86 % (18/21) немовлят з дуже малою масою тіла при народженні спостерігалась персистенція ВАП до моменту виписки, проте у більшості дітей АП закрилась до досягнення постменструального віку 48 тиж і лише у двох випадках була потреба хірургічного втручання у віці 11 міс. Semberova та співавт. [237] навели дані про спонтанне закриття ВАП у 83 % передчасно народжених дітей з масою тіла при народженні < 1500 г в постменструальному віці 36 тиж й у 85 % – на момент виписки.

Дослідження Sung та співавт. [238] засвідчило, що у 95 % надзвичайно недоношених немовлят (23-26 тиж гестації) гзВАП спонтанно закрилась у середньому віці $44 \pm 30,1$ днів. Порівняно з фармакологічним та хірургічним закриттям у групі немовлят без лікування значно рідше діагностували БЛД, проте, як і в інших вище згаданих дослідженнях між групами не було виявлено відмінностей за смертністю, частотою ВШК та НЕК.

Результати контрольованого мультицентрового рандомізованого дослідження не продемонстрували відмінностей між очікувальною тактикою та раннім фармакологічним лікуванням щодо частоти ВАП на момент виписки або потреби у її хірургічній перев'язці, частоти НЕК, БЛД, БЛД або смерті, смертності та тривалості дихальної підтримки. Водночас, надзвичайно недоношені новонароджені, які не отримували лікування ВАП, значно швидше досягали повного об'єму ентерального харчування (120 мл/кг/добу), а також рідше хворіли на пізній сепсис та помирали, якщо мали термін гестації ≥ 26 тиж.

На сьогодні чимало рандомізованих досліджень не продемонстрували статистично значущого зменшення смерті, частоти БЛД або неврологічної захворюваності у передчасно народжених дітей після фармакологічного або хірургічного закриття ВАП. Очікувальна тактика не асоціюється з вищим ризиком смерті, НЕК або ВШК порівняно з будь-якою іншою тактикою лікування. Отже, відповідь на запитання, чи дійсно активне фармакологічне закриття гзВАП покращує клінічні результати, залишається невідомою.

Консервативна допомога немовлятам з ВАП передбачає застосування неспецифічних лікувальних заходів, які підвищують ймовірність закриття протоки. Такі заходи включають призначення менших об'ємів рідини, застосування діуретиків, за можливості мінімальне використання додаткового кисню, профілактику анемії, а також підтримку прийнятної гіперкапнії [239].

Мета-аналіз п'яти досліджень продемонстрував, що обмежене введення рідини (≤ 130 мл/кг/добу) недоношеним немовлятам супроводжувалось більшими втратами маси тіла, проте, значно знижувало частоту ВАП та НЕК [240]. Водночас, спостерігалась тенденція до підвищення ризику зневоднення та зменшення ймовірності виникнення БЛД, ВШК та смерті, але ці тенденції не були статистично значущими. Одне з досліджень виявило, що обмеження рідини (від 145 до 108 мл/кг/добу) не покращувало легеневої та системної гемодинаміки у недоношених дітей, натомість, зменшувало кровоплин у верхній порожнистій вені та викид з лівого шлуночка, що свідчило про негативний вплив на системний кровообіг [241].

Результати дослідження Расіфісі [216] засвідчили, що застосування фуросеміду у недоношених дітей з гзВАП асоціюється з вищим ризиком невдалого закриття ВАП та призводить до гіпонатріємії і підвищення рівня креатиніну у сироватці крові.

Вуглекислий газ впливає на судинну стінку як легеневий вазоконстриктор і системний вазодилататор. Дослідження Mariani та співавт. [242] не виявило достовірних відмінностей за частотою ВАП у групі недоношених немовлят, в яких толерували вищий рівень P_aCO_2 (45-55 мм рт. ст.) порівняно із групою дітей з нормакапнією (35-45 мм рт. ст.). Хоча метою цього дослідження не було встановити вплив гіперкапнії на частоту закриття ВАП і її гемодинамічні ефекти, проте, інших даних, які описують асоціації між гіперкапнією і ВАП, немає.

Результати ретроспективного дослідження із залученням 263 новонароджених [243] засвідчили, що порівняно з вищим (91-95 %) нижчий (83-89 %) рівень насичення гемоглобіну киснем асоціюється з вищою частотою

ВАП. Натомість, мета-аналіз п'яти рандомізованих досліджень (n=4911) не виявив достовірних відмінностей за частотою ВАП між групами немовлят з нижчим і вищим рівнями насичення гемоглобіну киснем. Проте, у групі немовлят з нижчим рівнем насичення гемоглобіну киснем були значно вищі показники смертності [244].

Консервативна тактика допомоги немовлятам з ВАП у нещодавньому дослідженні Borràs-Novell та співавт. [245] включала корекцію неінвазивної дихальної підтримки з підтриманням вищого позитивного тиску наприкінці видиху (6-8 см H₂O), обмеженням об'єму введеної рідини протягом перших 4 тиж життя до 135-150 мл/кг/добу, забезпеченням оптимального споживання енергії на рівні щонайменше 120 ккал/кг/добу, уникненням швидкого струминного введення розчинів та корекцією анемії (підтримання гематокриту > 35 %). Результати цього дослідження дозволили авторам дійти висновку, що консервативна тактика допомоги передчасно народженим немовлятам (\leq 30 тиж) з ВАП дозволяє уникнути медикаментозних та хірургічних утручань, не впливаючи на смертність та якість виживання (частота БЛД, РН, НЕК, ВШК). Однак дві третини недоношених дітей з терміном гестації до 26 тиж таки потребували медикаментозного або хірургічного лікування.

Отже, результати кількох досліджень [246] свідчать, що неспецифічні консервативні лікувальні заходи, спрямовані на закриття ВАП, дозволяють уникнути медикаментозних та хірургічних утручань та їх потенційних побічних ефектів лише у значно недоношених новонароджених з терміном гестації > 26 тиж, не впливаючи на смертність та якість виживання. Тому на сьогодні рутинне застосування консервативної тактики допомоги немовлятам з ВАП не рекомендується через потенційні ризики, пов'язані з таким утручанням, а саме підвищення ймовірності зневоднення, розвитку гіпонатріємії і підвищення рівня креатиніну у сироватці крові. Потрібно більше рандомізованих контрольованих досліджень, які би оцінили ефективність і безпеку консервативних лікувальних заходів.

1.4 Раннє застосування постійного позитивного тиску у дихальних шляхах для профілактики та лікування респіраторного дистрес-синдрому у недоношених новонароджених

Дихальна підтримка (ДП) є важливою складовою надання допомоги передчасно народженим немовлятам. Удосконалення апаратів штучної вентиляції легень (ШВЛ) для новонароджених у 50-ті роки минулого століття започаткувало сучасну еру неонатальної медицини. ШВЛ зробила революцію в неонатології, оскільки була першим ефективним методом лікування важкої дихальної недостатності у новонароджених та збільшила шанси їх виживання. Водночас, застосування цього методу ДП стало одним з провідних чинників ураження незрілих легень і відповідно ризику розвитку бронхолегеневої дисплазії (БЛД). Доведення цього факту стимулювало розробку і впровадження у клінічну практику лікування недоношених новонароджених з дихальними розладами різних методів неінвазивної дихальної підтримки (НДП). Саме з методом створення постійного позитивного тиску у дихальних шляхах (СРАР) на початку 70-х років минулого століття було вперше пов'язано підвищення ефективності лікування респіраторного дистрес-синдрому (РДС) [247]. Однак, розробка й удосконалення технологій апаратної вентиляції легень новонароджених на кілька наступних десятиріч зробили саме штучну вентиляцію легень та сурфактантну терапію стандартом лікування новонароджених з дихальними розладами. Частота використання СРАР відповідно зменшувалась [248]. Проте, окремі центри продовжували надавати перевагу НДП, і в 1987 р. Avery та співавт. [249] описали достовірно нижчу захворюваність на БЛД на тлі таких самих показників виживання значно недоношених новонароджених у лікарнях, де широко використовували СРАР. На сьогоднішній день СРАР є одним з найбільш вживаних методів ДП передчасно народжених дітей у всьому світі.

Забезпечити постійний позитивний тиск у дихальних шляхах протягом дихального циклу без інтубації трахеї можна за допомогою кількох методів від простої «бульбашкової» системи, в якій позитивний тиск створюється завдяки

видиху під воду (звичайне СРАР), до складних механічних систем (апаратне СРАР або генератор СРАР у відкритих системах).

Тиск СРАР створюється переважно за допомогою двох механізмів: змінним або постійним потоком газової суміші. Розрізняють 2 системи СРАР – напіввідкриті (постійний потік газу) і відкриті (змінний потік газу). Величина тиску у напіввідкритих системах регулюється за допомогою клапана/потіку, а у відкритих системах – за допомогою генератора газового потоку [250]. Відмінність за ефективністю між пристроями зі змінним та постійним потоком є незначною. Вибір більше залежить від можливостей, зручності, уподобань, досвіду і звичок персоналу і відділень, ніж від особливостей конкретної системи СРАР [251].

Застосування СРАР забезпечує реалізацію декількох важливих фізіологічних ефектів: покращує газообмін, збільшує функціональну залишкову ємність легень і дихальний об'єм, стабілізує грудну клітку та дихальні шляхи, стимулює розвиток альвеол, зменшує резистентність дихальних шляхів і дихальні зусилля [252].

Вплив раннього застосування СРАР після народження на створення функціональної залишкової ємності легень (ФЗЄЛ) передчасно народжених дітей, запобігає розвитку важких стадій РДС [253,254]. У декількох дослідженнях було продемонстровано, що майже половина значно недоношених немовлят, які після народження перебували на СРАР, пізніше не потребували введення екзогенного сурфактанту або ШВЛ, а їх стан можна було стабілізувати виключно за допомогою цього методу НДП [254,255,256,257]. Отже, сучасні дані визначають пріоритетність СРАР як ефективного методу початкової ДП значно недоношених новонароджених в пологовому залі й у лікуванні РДС [258].

Згідно з даними мета-аналізу застосування СРАР відразу після народження зменшує сумарну частоту БЛД або смерті та потребу ШВЛ у недоношених новонароджених з терміном гестації < 32 тижнів порівняно з інтубацією трахеї і наступною ШВЛ [259]. Мета-аналіз досліджень із залученням дітей

< 30 тижнів гестації також встановив зниження сумарної частоти БЛД або смерті у разі уникнення інтубації трахеї [260].

Водночас, для найбільш незрілих немовлят з масою тіла при народженні < 1000 г були застереження щодо використання СРАР для початкової стабілізації стану та лікування РДС, оскільки такі діти часто мають недостатні дихальні зусилля і нестабільність гемодинаміки. Традиційно у таких випадках надавали перевагу інтубації трахеї та ШВЛ з профілактичним введенням сурфактанту. Проте, чимало дітей з масою тіла < 1000 г і гестаційним віком < 28 тижнів після народження можуть дихати самостійно і потребувати для стабілізації стану лише СРАР [261].

У двох мультицентрових дослідженнях, в яких порівнювали ефективність СРАР з інтубацією після народження або інтубацією в поєднанні з уведенням сурфактанту, встановлено, що раннє застосування СРАР у значно недоношених новонароджених зменшує потребу використання механічної вентиляції, однак, вірогідно не запобігає БЛД у постменструальному віці (ПМВ) 36 тижнів, а також не забезпечує істотно кращих показників виживання [254,257]. Проте, якщо об'єднати результати всіх виконаних досліджень, в яких раннє застосування СРАР порівнювали з початковим використанням ШВЛ, НДП таки знижувала частоту БЛД у ПМВ 36 тижнів, сумарну частоту БЛД або смерті, потребу у механічній вентиляції та сурфактантній терапії [262]. Також встановлено переваги раннього застосування СРАР у поєднанні з лікувальним уведенням сурфактанту щодо зниження частоти БЛД, ВШК, сепсису, синдромів витоку повітря та зменшення потреби ШВЛ [263,264]. Згідно з останніми американськими й європейськими рекомендаціями застосування СРАР одразу після народження з наступним вибірково лікувальним уведенням сурфактанту у недоношених немовлят можна розглядати як ефективну і безпечну альтернативу рутинній інтубації з профілактичним або раннім введенням сурфактанту. Якщо виникає потреба ШВЛ, то раннє введення сурфактанту з наступною швидкою екстубацією має переваги порівняно з тривалішою вентиляцією [265, 266].

Однак, у частини дітей застосування СРАР після народження таки є неефективним, особливо у групі надзвичайно недоношених новонароджених (термін гестації менше 28 тижнів). Близько 50 % немовлят з терміном гестації 25-27 тижнів, які перебували на СРАР після народження, можуть вимагати інтубації протягом перших 72 год життя [267].

У декількох дослідженнях було встановлено зв'язок між неуспішним застосуванням СРАР та зростанням ризику розвитку пневмотораксу, ВШК, БЛД та смерті порівняно з дітьми, в яких застосування СРАР було ефективним [268, 269, 270, 271].

Тому для покращення результатів лікування найменших передчасно народжених дітей важливо забезпечувати максимальну ефективність початкового СРАР зі своєчасним використанням додаткових методів лікування, насамперед, введенням сурфактанту.

Встановлено, що неефективність раннього СРАР вірогідно пов'язана з неповною антенатальною стероїдопрофілактикою, народженням шляхом кесарського розтину та нижчими оцінками стану новонароджених за шкалою Апгар протягом перших 5 хв. [267]. До демографічних чинників, наявність яких підвищує ймовірність невдалого застосування СРАР, належать незрілість (з кожним наступним тижнем гестації зростає ймовірність успішного застосування СРАР) [267], мала маса тіла при народженні та чоловіча стать. Але більше значення мають клінічні параметри, зокрема, киснева залежність в перші години життя. Встановлено, що немовлята, які потребували реанімаційних заходів з $FiO_2 > 30\%$ [272], застосування протягом перших годин життя СРАР з $FiO_2 > 25\%$, $\geq 30\%$ [273] або 40% [272] і тиском ≥ 5 см H_2O з вірогідно вищою ймовірністю в подальшому бути заінтубованими та переведеними на ШВЛ, особливо за наявності додаткових демографічних чинників ризику. Найбільш інформативним для прогнозування неефективності СРАР в перші години життя виявився показник $FiO_2 > 30\%$. Підвищує шанси неефективності СРАР також наявність рентгенологічних ознак важкого РДС [271].

Дієвою передумовою підвищення ефективності СРАР є використання початкового тиску не менше 6 см H₂O [265]. Важливо дотримуватись Європейських рекомендацій з надання допомоги передчасно народженим дітям з РДС, згідно з якими у разі погіршення стану немовляти на СРАР, незважаючи на застосування FiO₂ > 30 % і тиску принаймні 6 см H₂O, показане введення сурфактанту менш інвазивним методом [265]. Це може запобігти інтубації та підвищити ймовірність стабілізації стану немовляти на НДП. Потреба вводити сурфактант переважно є передвісником подальшого погіршення функції легень, що може вимагати переведення дитини на ШВЛ. Відповідно своєчасне введення сурфактанту може запобігти такому розвитку подій, підвищивши ефективність СРАР завдяки підтриманню і покращенню газообміну у легенях з одночасною профілактикою їх подальшого ураження.

Згідно з даними систематичного огляду 30 досліджень, який оцінював порівняльну ефективність усіх наявних стратегій ДП і сурфактантної профілактики або терапії після народження, найефективнішим у зниженні сумарної частоти БЛД або смерті у ПМВ 36 тижнів було менш інвазивне введення сурфактанту за допомогою катетера (LISA). Але ці дані були обмеженими низькою якістю доказів та браком досліджень з високою доказовістю [274]. Водночас, результати останнього мета-аналізу підтвердили вплив LISA на зниження сумарного показника БЛД або смерті, а також потреби у застосуванні ШВЛ в перші 72 год життя [275].

Для забезпечення ефективного використання СРАР важливим є вибір оптимального назального пристрою. Короткі біназальні канюлі продемонстрували більшу ефективність порівняно з назальною трубкою, оскільки вони створюють менший опір у дихальних шляхах та мають незначну інвазивність [276,277]. Під час застосування будь-якого назального пристрою є витік повітря з рота і носа, а тому важливо застосовувати пристрій відповідного розміру і підтримувати рот закритим [278]. Встановлено також, що частота травматизації не відрізняється під час застосування маски або канюль, але локалізація ураження може бути різною [279].

Інша теоретична можливість підвищення ефективності початкової НДП передбачала застосування у комплексі реанімаційних заходів після народження вищого початкового постійного позитивного тиску замість неінвазивної вентиляції легень під позитивним тиском. Теоретичні міркування й експериментальні дані вказували на те, що таке подовжене наповнення (sustained inflation) незрілих легень газом після народження може допомогти ефективніше звільнити легені від рідини, забезпечити формування ФЗЄЛ і полегшити постнатальну респіраторну адаптацію передчасно народженої дитини у випадках пригнічення або відсутності самостійного дихання [280,281]. За даними декількох невеликих досліджень таке втручання зменшувало потребу застосування ШВЛ в перші 72 год життя [282,283]. Однак, результати Кокрейнівського систематичного огляду не виявили істотних переваг застосування подовженого наповнення легень порівняно з періодичною вентиляцією після народження [284]. Водночас, проміжні результати останнього масштабного міжнародного рандомізованого дослідження не довели ефективності подовженого наповнення легень в комплексі реанімаційних заходів щодо зниження частоти БЛД та ризику смерті в екстремально недоношених дітей у ПМВ 36 тижнів. Це дослідження було припинено достроково у зв'язку з достовірно вищими показниками смертності протягом перших 48 год життя у групі немовлят, де застосовувалось таке втручання [285]. Отже, сьогодні подовжене наповнення легень не рекомендується в комплексі заходів початкової допомоги передчасно народженим дітям в пологовому приміщенні [265].

Оскільки однією з причин інтубації трахеї та переведення на ШВЛ є недостатні дихальні зусилля або часті/глибокі апное, раннє призначення метилксантинів має важливе значення для стимуляції самостійного дихання, покращення дихальних функцій і підвищення ефективності СРАР. Встановлено, що використання кофеїну цитрату скорочує тривалість ШВЛ, зменшує хронічну захворюваність (БЛД, ретинопатія недоношених, неврологічне ураження тощо) та покращує віддалені результати лікування

[286,287]. Зростання позитивного впливу на зменшення тривалості ШВЛ, частоти БЛД і відкритої артеріальної протоки, а також віддалених неврологічних наслідків спостерігалось за умови раннього використання кофеїну цитрату (до 2-3 доби життя) [287,288]. Отже, раннє застосування кофеїну цитрату є важливим компонентом сучасної стратегії підвищення ефективності НДП у передчасно народжених дітей.

Підвищити ефективність НДП у недоношених дітей з пригніченим або слабким самостійним диханням також можна за допомогою неінвазивної ШВЛ. Неінвазивна вентиляція (НВ) є методом ДП, який забезпечує періодичне збільшення постійного позитивного тиску у дихальних шляхах без інтубації трахеї, що дозволяє не лише покращити оксигенацію, але і підтримати вентиляцію [289]. НВ може синхронізуватись із самостійним диханням пацієнта (для цього використовують спеціальні датчики) або бути асинхронною [290]. Дані останнього Кокрейнівського огляду засвідчили, що порівняно із СРАР початкова асинхронна НВ є ефективнішою у профілактиці важкої дихальної недостатності і зменшенні потреби інтубації та ШВЛ у недоношених дітей з РДС. Водночас, автори огляду зазначають, що для підтвердження цих результатів потрібні додаткові дослідження [291]. Також встановлено переваги НВ порівняно із СРАР у лікуванні апное недоношених [292,293]. Отже, застосування НВ може зменшити ризик інтубації і наступної ШВЛ за наявності чинників ризику неуспішного застосування СРАР і недостатнього ефекту від менш інвазивного введення сурфактанту.

2 IGE-ЗАЛЕЖНА АЛЕРГІЯ ДО БІЛКІВ КОРОВ'ЯЧОГО МОЛОКА У ДІТЕЙ: ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ, ПЕРЕБІГУ, ПРОФІЛАКТИКИ І ЛІКУВАННЯ

2.1 Матеріали і методи

Дослідження проводилося в чотири етапи (рисунок 2.1).

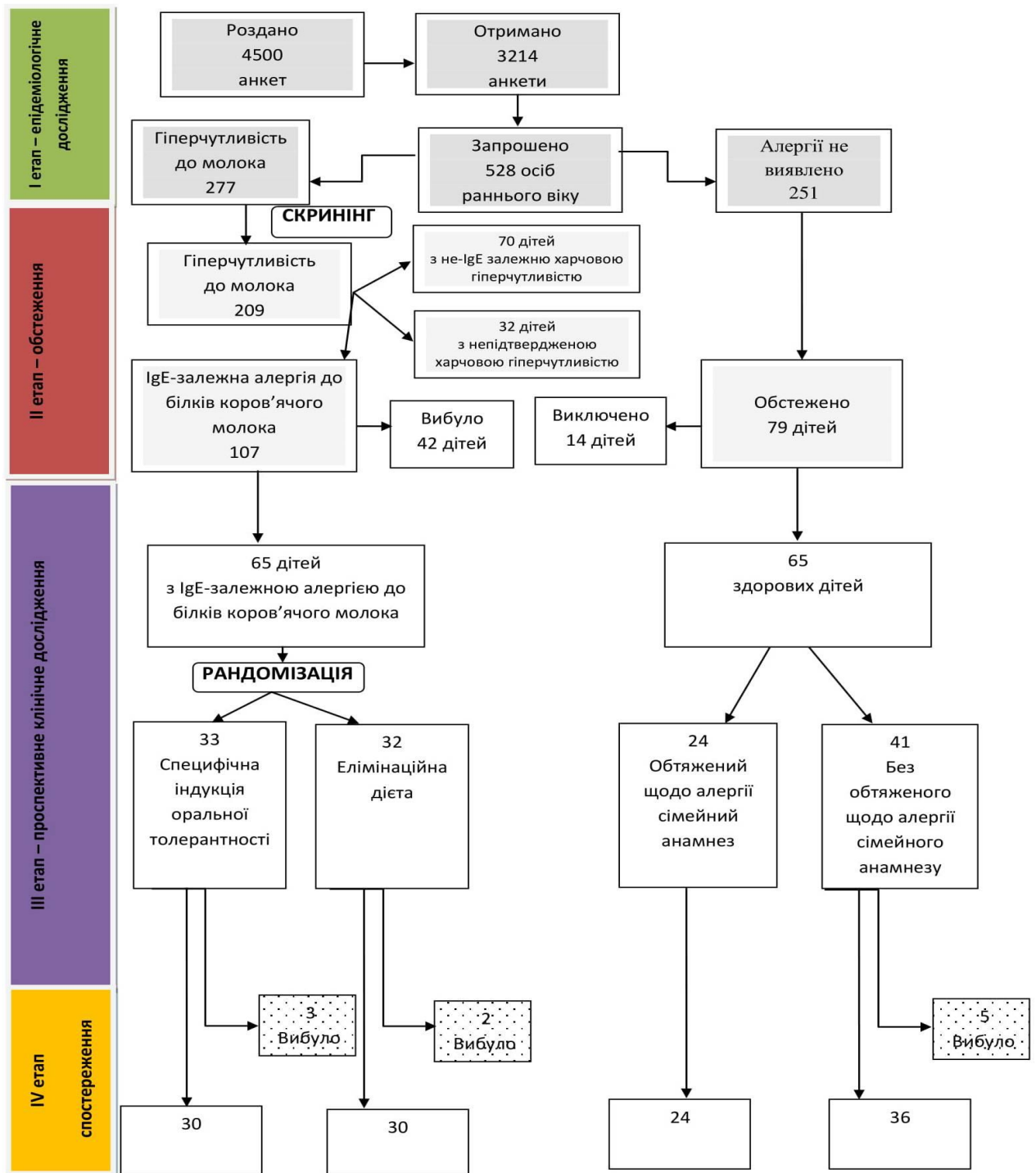


Рисунок 2.1. Структура груп і схема організації дослідження.

На першому етапі (епідеміологічне дослідження) для вивчення поширеності ХГ у дітей раннього віку було роздано 4500 анкет у дошкільних установах і поліклініках у “Дні здорової дитини” в м. Львові та області (2017 р.). Отримано відповіді від 3267 (72,6 %) респондентів. Детальному аналізу підлягало 3214 анкет (71,42 % від загальної кількості розданих).

Другий етап дослідження (діагностичний пошук) передбачав відбір дітей із першого етапу і полягав у проведенні розширеної діагностики ХГ та виокремлення із широкої групи захворювань ІgЕ-залежної АБКМ. Із 3214 респондентів на другий етап було запрошено 528 осіб раннього віку, з них 277 дітей, батьки яких вказали на наявність гіперчутливості до молока під час заповнення анкетних даних, і 251 рандомно обраних респондентів, батьки яких вказали про наявність повного здоров'я у їхніх дітей. Погодилося на участь в дослідженні 288 дітей, з яких 209 з гіперчутливістю до молока та 79 кваліфіковані батьками як “здорові”. У процесі проведених обстежень у групі дітей зі вказаною гіперчутливістю до молока (n=209 у 107 було підтверджено ІgЕ-залежну АБКМ (65 з них дали згоду для проведення наступного етапу досліджень), у 70 діагностовано не-ІgЕ-залежну ХГ і у 32 ХГ не підтверджено.

З групи “здорових” дітей (n=79) було виключено 14, оскільки в процесі збору анамнезу в 12 виявлені дані про захворювання, які батьки не вказали в анкеті, а в 2 дітей діагностовано безсимптомну сенсibiliзацію до молока. Таким чином, у подальшому дослідженні взяли участь 65 здорових дітей.

У третій етап (проспективне клінічне дослідження) залучали дітей для апробації різних схем дієтичної корекції у разі ІgЕ-залежної АБКМ та порівняння із здоровими однолітками. Включено 130 дітей, з яких 65 з АБКМ сформували основну групу і 65 здорових склали групу порівняння. Дітей основної групи рандомізовано для призначення різних схем дієтичної корекції, з них 33 обрано для застосування СОІТ, 32 – ЕД. Групу порівняння склали 65 здорових дітей раннього віку, з яких 24 з обтяженим щодо алергії анамнезом і 41 без обтяженого анамнезу.

Четвертий етап (катамнестичний) полягав у проведенні трирічного спостереження за дітьми. У процесі проведення дослідження вибуло 10 дітей, з них 5 із основної групи і 5 з групи порівняння. Усі діти вибули невдовзі після початку дослідження, тому узагальнення клінічних показників і результатів лабораторних тестів проводилися у 120 дітей, які завершили дослідження повністю (60 з основної групи і 60 з групи порівняння).

Критеріями включення в основну групу дослідження були: діти віком 6 міс – 3 роки, позитивний нашкірний тест до молока (папула ≥ 3 мм методом прик) та рівень специфічних IgE до молока $\geq 0,35$ МО/мл, позитивна ОПП з молоком. У дослідження не залучали пацієнтів, у яких в анамнезі була анафілаксія, наявні важкі супутні або автоімунні захворювання, протипоказання до проведення ОПП. Усі відібрані пацієнти (їх батьки чи опікуни) дали письмову згоду на участь у дослідженні. Критеріями включення у групу порівняння були здорові діти віком 6 міс – 3 роки, батьки чи опікуни яких дали письмову згоду на участь у дослідженні. Усім хворим проводили комплексне клінічне обстеження з урахуванням скарг, даних анамнезу, об'єктивних і додаткових методів дослідження згідно із загальноприйнятими стандартами, зокрема наказ МОЗ України №767 від 27.12.2005 року «Про затвердження протоколів діагностики та лікування алергологічних хвороб у дітей», №670 від 04.07.2016 року “Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої), третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги “Атопічний дерматит” та міжнародних настанов: “Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines” (The European Academy of Allergy and Clinical Immunology, 2014); “Diagnostic Approach and Management of Cow’s-Milk Protein Allergy in Infants and Children: ESPGHAN GI Committee Practical Guidelines” (The European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition Guidelines, 2012). Для оцінки ефективності дієтичної корекції проводилося детальне вивчення в динаміці особливостей перебігу АБКМ у дітей та порівняння стану їх здоров’я із здоровими однолітками впродовж трьох років, що передбачало 5 візитів у клініку: на початку дослідження (візит 1), через 6 (візит 2), 12 (візит 3), 24

(візит 4) та 36 місяців (візит 5). Дітям з АБКМ на кожному візиті проводилися визначення толерованої кумулятивної кількості білка коров'ячого молока шляхом проведення ОПІ з молоком (за методом, розробленим професоркою Antonella Muraro на базі Університетської лікарні м. Падуя, Італія) та оцінка якості життя (за допомогою особисто валідизованого українською мовою опитувальника авторки Bertine Flokstra-de Blok, м. Гролінгер, Нідерланди).

Для вивчення генетично детермінованої схильності до АБКМ був проведений аналіз поліморфізму генів IL-4 T589C (rs2243250 = C-590T, промотор, T>C) та IL-13 R130Q (rs20541, Ехон 4, G>A, Arg130Gln) у всіх дітей, які брали участь у дослідженні (n=120). Генетичні дослідження виконані в рамках грантового проекту Bohdan Malaniak CSMC – RECOOP Young Scientists Research Grant 2018 –2020 “Polymorphic variants of interleukin-13 R130Q and interleukin-4 T589C in children with and without cow's milk allergy” на базі Словацького медичного університету (м. Братислава, Словаччина) з використанням термоциклера C1000 („BioRad Laboratories”, США), олігонуклеотидних праймерів та набору реагентів для ампліфікації (“Thermo Fischer Scientific”, США).

Імунологічні дослідження з визначенням рівнів IL-4 (“Thermo Fisher Scientific Human IL-4 ELISA Kit”, США) та IL-13 (“Thermo Fisher Scientific Human IL-13 ELISA Kit”, США) у сироватці крові проводилися тричі в дітей основної групи (на початку дослідження, через 12 та 36 міс) і двічі в групі порівняння (через 12 та 36 міс з моменту включення в дослідження) в рамках грантового проекту Bohdan Malaniak CSMC – RECOOP Young Scientists Research Grant 2018–2020 “Polymorphic variants of interleukin-13 R130Q and interleukin-4 T589C in children with and without cow's milk allergy” на базі КНП “МДКЛ м. Львова”. Визначення рівнів інтерлейкінів проводилося методом імуноферментного аналізу за допомогою апарата StatFax 303 plus (“Awareness Technology”, США).

Дослідження рівня кальцію в сироватці крові проводилося в університеті Святого Іштвана (м. Будапешт, Угорщина) в рамках грантового проекту Bohdan

Malaniak CSMC – RECOOP Young Scientists Research Grant №9 2018–2020 “Polymorphic variants of interleukin-13 R130Q and interleukin-4 T589C in children with and without cow's milk allergy”. Динаміку рівня кальцію в сироватці крові визначали двічі (на початку і на момент завершення дослідження) у всіх дітей, які брали участь у дослідженні за допомогою імуноферментного набору “VWR International Ltd” (США).

Для поглибленого вивчення показань до проведення СОІТ і прогнозування її ефективності у дітей основної групи було здійснено молекулярну алергодіагностику з визначенням специфічних ІgЕ до компонентів алергенів молока та перехресно-реактивних альбумінів, а саме до Bos d 8, Bos d 5, Bos d 4, Bos d 6, Fel d 2 та Can f 3 у рамках грантової програми на кафедрі патофізіології та алергологічних досліджень Віденського медичного університету (м. Відень, Австрія).

Статистичний аналіз здійснювали на персональному комп'ютері за допомогою пакета прикладних програм Excel 2010 (Microsoft, USA), RStudio v. 1.1.442 та R Commander v.2.4-4 та Prism 9.1.2 (серійний номер GPS-2158197-TGSV-68E7F). Використовувалися описова статистика, кореляційний аналіз, параметричний аналіз Стюдента. Під час статистичної обробки отриманих результатів, що відповідали нормальному (гаусовському) розподілу, застосовували загальноприйняті в медицині методи варіаційної статистики. У процесі статистичної обробки даних за допомогою параметричних критеріїв перевірено отримані результати на вірогідність та надійність, що дало можливість об'єктивізувати інформацію, узагальнити окремі положення роботи, розробити відповідні висновки та пропозиції. Цифрові дані опрацьовані методом варіаційної статистики з вирахуванням достовірності чисельних відмінностей. Проводився розрахунок середнього (ХМ), мінімального (Min) і максимального (Max) значень, медіани (M), середньоквадратичного відхилення (SD), похибки середньої арифметичної (m), критичного рівня достовірності нульової гіпотези (p) або рівня значущості (P). Для визначення значущості окремих факторів і їх впливу на інші показники використовували дисперсійний

аналіз. Отримані коефіцієнти кореляції (r) між параметрами у пацієнтів, що піддавалися обстеженню.

Для перевірки нормальності розподілення кількісних показників використовували критерій Шапіро-Уїлка. Кількісні дані з нормальним характером розподілу були представлені у вигляді $M \pm SD$, де M – середнє значення, SD – стандартне відхилення. Кількісні дані з розподілом, що відрізнялись від нормального, були представлені у вигляді $Me [25\%; 75\%]$, де Me – медіана, 25% – 25-й перцентиль, 75% – 75-й перцентиль.

Категорійні (якісні) ознаки були представлені у вигляді кількості пацієнтів, що мали ознаку, й у відсотках наявності ознаки в групі. Розраховувався 95% довірчий інтервал за методами Вальда та кутового перетворення Фішера. Для перевірки значущості різниці між групами категорійних (якісних) ознак використовували таблиці частот (таблиці 2×2) та критерій χ^2 Пірсона. Для перевірки значущості різниці між групами кількісних даних, що мали нормальний розподіл, використовували двосторонній t -критерій для непов'язаних груп. Для перевірки значущості різниці між групами кількісних даних, розподіл яких відрізнявся від нормального, використовували U -критерій Манна-Уїтні. Оцінка достовірності різниці більше ніж двох непов'язаних параметрів, розподіл яких відрізнявся від нормального, проводилася за допомогою H -критерія Крускала-Уолліса.

Аналіз взаємозв'язку між параметрами проводився за шляхом розрахунку парних коефіцієнтів кореляції Пірсона та Спірмена. Для виокремлення чинників, які при поєднаній дії мають достовірний вплив на формування ХГ та толерантності до білків коров'ячого молока у дітей з алергією, було застосовано покроковий метод логістичної регресії з прогресивною селекцією (Forward). Отримані коефіцієнти моделі аналізувалися за допомогою критерію ксі-квадрат (Chi-square). Для визначення тої частки дисперсії, яку можна пояснити за допомогою включених у регресійну модель чинників, аналізувався R -квадрат Нагелькерке (Nagelkerke R Square). Для оцінки якості отриманої моделі використовували ROC-аналіз. У результаті ROC-аналізу, окрім графіка

ROC-кривої, аналізували показники площі під кривою (AUC), чутливості, специфічності та точності моделі. Відмінності вважали достовірними за рівня статистичної значущості $p < 0,05$. Для кожного з параметрів визначали рівень достовірності, використовували три градації рівнів достовірності: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

2.2 Результати та їх обговорення

2.2.1 Структура харчової гіперчутливості і ризик її виникнення

Проведення епідеміологічного етапу дозволило виявити частоту ХГ у дітей раннього віку Львівської області за даними анкетування, що становить 25,20 % від загальної кількості респондентів, з них 8,60 % – гіперчутливість до молока. Встановлено розподіл виявлення ХГ у різних клімато-географічних зонах Львівської області: м. Львів (36,3 %), Лісостеп (28,5 %), Полісся (24,3 %), Передкарпати (20,7 %), Карпати (16,3 %). Визначено структуру ХГ у дітей раннього віку Львівської області, в якій перше місце займає коров'яче молоко (34,24 %), друге – куряче яйце (28,31 %), третє – пшениця (23,49 %). У структурі ХГ практично у всіх клімато-географічних зонах перше місце займало коров'яче молоко. Отримані дані співпадають із літературними даними і результатами метааналізів про те, що у дітей раннього віку прояви симптомів ХГ пов'язані із споживанням молока та яйця (рисунок 2.2). У різних клімато-географічних зонах були різні звички у харчуванні, що пов'язані з територіальними та культуральними особливостями. У Карпатах виявлено більшу кількість гіперчутливості до риби (27,27 %) і меду (22,22 %), а гіперчутливість до сої виявлена практично лише у жителів Львова (8,52 %). У 8,78 % дітей причини ХГ з'ясувати не вдалося, причому найбільша частка припадала на Карпати (34,34 %), що можна пов'язати з браком діагностичних можливостей через географічну віддаленість від спеціалізованих медичних закладів. Встановлено, що у 83,75 % дітей раннього віку прояви ХГ були виявлені до досягнення 2-річного віку, і основна частка (51,62 %) припадала на вікову групу 1-2 роки. Аналіз

отриманих даних показав, що вибірки були репрезентативними по частках міських і сільських жителів стосовно своїх регіонів. 58,4 % респондентів були жителями міст (Львів та перевага в двох інших зонах Лісостеп і Полісся).

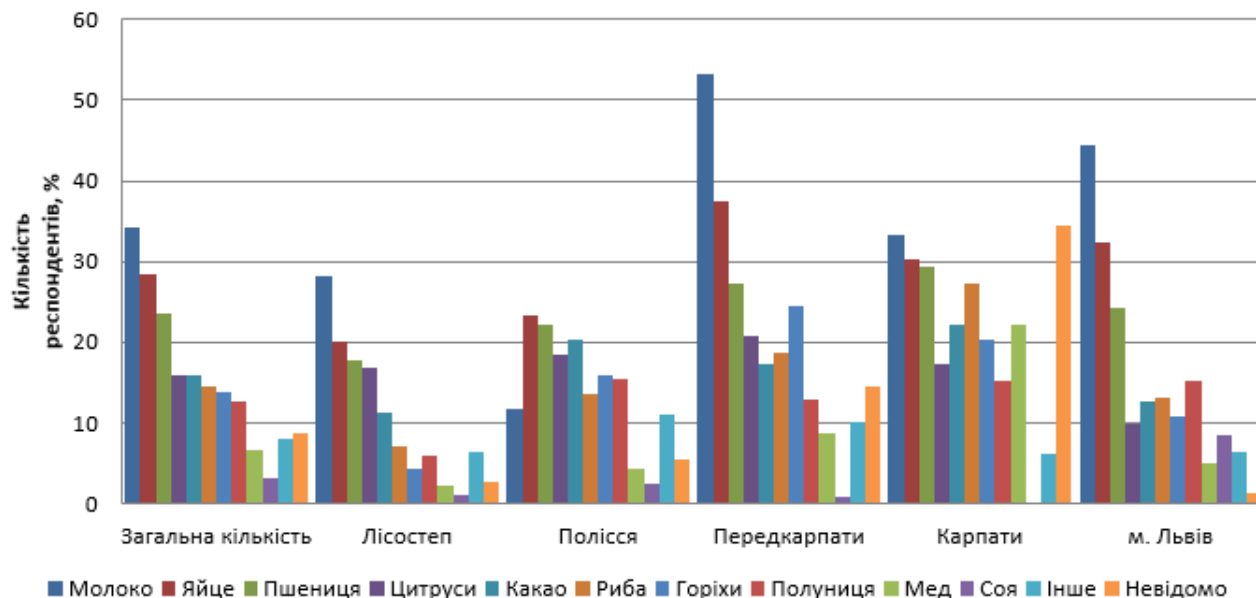


Рисунок 2.2 Структура розподілу виду харчової гіперчутливості у різних клімато-географічних зонах Львівської області.

В сімейному анамнезі домінували хвороби шлунка та 12-палої кишки – 7,7 % (n=248; min 3,0 %; max 13,5 %; p<0,001), поліноз – 3,8 % (n=121; min 0,3 %; max 6,8 %; p=0,001) та захворювання шкіри – 2,7 % (n=87; min 1,5 %; max 4,3 %; p=0,006). Фактор наявності тютюнокуріння в сім'ї був присутній у 3,5 % респондентів (n=113; min 0,7 %; max 7,9 %; p<0,001). Слід зазначити, що у Поліссі та Львові зафіксовані найнижчі цифри тютюнокуріння, а найвищі – у Передкарпатах та Карпатах. Епідеміологічний аналіз дозволив отримати зі слів батьків інформацію про анамнез та умови проживання дітей раннього віку. Проаналізовано значущість 56 потенційних чинників ризику ХГ у дітей раннього віку. Проведений статистичний аналіз дозволив серед ряду цих факторів виділили вісім ознак, що мали достовірний зв'язок з формуванням ХГ у дітей раннього віку, а саме: бронхіальна астма в родичів; поліноз у родичів; кропив'янка в родичів; захворювання шкіри в батьків (у батька та /

або матері); хвороби шлунка і дванадцятипалої кишки в родичів; наявність тютюнокуріння в сім'ї; часте споживання їжі в пунктах масового харчування; проживання в місті чи селі.

Викладені вище дані стали підставою для проведення комплексного аналізу впливу різних чинників на формування ХГ у дітей із застосуванням методу логістичної регресії (таблиця 2.1).

Таблиця 2.1 - Коефіцієнти логістичної регресії чинників ризику харчової гіперчутливості у дітей раннього віку, включених у модель

№		Умовне		
1	Константа		-1,16	<0,001
2	Бронхіальна астма в родичів	V1	0,61	0,026
3	Поліноз в родичів	V2	1,16	<0,001
4	Кропив'янка у	V3	0,67	0,020
5	Захворювання шкіри в родичів	V4	1,36	<0,001
6	Хвороби шлунка і дванадцятипалої кишки в	V5	0,21	0,280
7	Наявність тютюнокуріння в сім'ї	V6	1,06	<0,001
8	Проживання в місті	V7	-0,75	<0,001
9	Часте споживання їжі в пунктах масового	V8	0,10	0,689

Дана модель є достовірною: $p < 0,0001$ при χ^2 (ксі-квадрат) = 241. AUC (площа під ROC кривою) = 0,66; 95 % ДІ= 0,64-0,69. Чутливість 59,23 %, специфічність 66,17 %.

Перетворивши рівняння логістичної регресії, можна розрахувати ризик розвитку харчової гіперчутливості у конкретної дитини раннього віку. Для цього для кожної дитини з коваріантними значеннями V1-V8 потрібно обчислити:

$$Z = -1,16 + V1*0,61 + V2*1,16 + V3*0,67 + V4*1,36 + V5*0,21 + \\ + V6*1,06 - V7*0,75 + V8*0,1.$$

Тоді ймовірність розвитку ХГ оцінюється як:

$$P(z) = \frac{1}{1+2,72^{-z}} * 100 \%$$

Розроблений спосіб індивідуального розрахунку ризику розвитку ХГ у дітей раннього віку має практичне значення і може бути використаний у повсякденній клінічній практиці. Дані проведеного математичного аналізу були використані для індивідуального прогнозування розвитку ХГ у дітей і розширення групи дітей, яким потрібно застосовувати профілактичні заходи.

2.2.2 Особливості експресії поверхневих рецепторів еозинофілів та особливості генотипів і алелів інтерлейкінів при харчовій алергії

У трьох пацієнтів з АБКМ були зареєстровані епізоди харчової анафілаксії в анамнезі. Проведено вивчення змін поверхневих рецепторів еозинофілів у цих хворих і двох здорових дітей. Для мікроскопічної візуалізації клітинних мазків розраховували інтегровану оптичну щільність (площа флуоресценції, інтегрована з флуоресцентним сигналом) та середню інтенсивність флуоресценції (середній флуоресцентний сигнал у межах кожної клітини) для еозинофільних гранулоцитів, виявлених шляхом їх фарбування аніліновим синім. Кількісне визначення зображень за допомогою спектроскопії на ближньому інфрачервоному каналі показало, що кількість IgE на поверхні еозинофілів була достовірно вищою у дітей із АБКМ у порівнянні із здоровими дітьми ($p < 0,05$).

Вперше досліджено, що за умов АБКМ на еозинофілах відбувається зростання кількості зв'язаних молекул IgE та антиген-специфічних мішеней до казеїну ($p < 0,05$). Зростання інтегрованої кількості рецепторів і середнього значення флуоресценції свідчить про метаболічну активацію еозинофілів і може бути поясненням розвитку клінічних симптомів у дітей з анафілаксією в анамнезі.

Для проведення порівняльного аналізу частоти розподілу генотипів і алелів поліморфного локуса R130Q гена *IL-13*, поліморфного локуса T589C гена *IL-4* було залучено 120 дітей, з них 60 із основної групи з підтвердженою АБКМ та 60 здорових дітей групи порівняння. Проведене дослідження показало, що у дітей з АБКМ, порівняно із здоровими однолітками,

zareєстровано достовірно вищу частоту генотипів GA та AA поліморфного локуса R130Q гена *IL-13* (43,5 % проти 22,4 %; $p < 0,05$) і (8,7 % проти 0 %; $p < 0,05$). Наявна достовірно вища частота генотипу GG поліморфного локуса R130Q гена *IL-13* у здорових, порівняно з даними дітей з групи АБКМ (77,6 % проти 47,8 %; $p < 0,01$), що може свідчити про протективну дію генотипу GG відносно ризику розвитку АБКМ у дітей раннього віку.

На рисунку 2.3 показано розподіл частот генотипів і алелів поліморфного локуса R130Q гена *IL-13*.

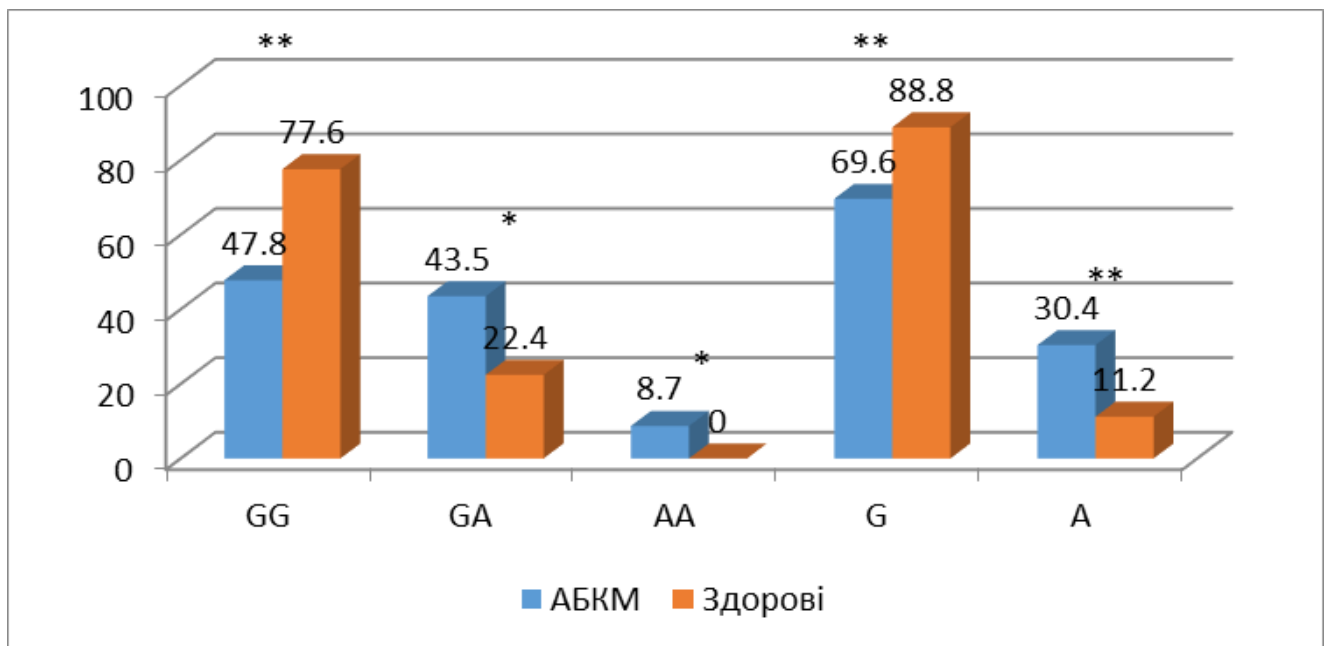


Рисунок 2.3 Розподіл частот генотипів (GG, GA, AA) і алелів (G, A) поліморфного локуса R130Q гена *IL-13*.

Примітка 1. - * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

Проведений аналіз розподілу алелів поліморфізму R130Q гена *IL-13* в обстежених групах показав, що алель G достовірно частіше ($p < 0,01$) зустрічався у здорових (88,8 %), ніж у дітей з АБКМ (69,6 %). І навпаки, алель A у три рази частіше реєструвався у групі з АБКМ (ВІШ з 95 % ДІ 3,47 (1,67–7,18); $p < 0,01$).

Аналіз молекулярно-генетичного тестування генотипів CC, CT, а також TT однонуклеотидного поліморфізму T589C гена *IL-4* показав достовірно вищу частоту генотипу CC поліморфного локуса T589C гена *IL-4* у дітей з АБКМ,

порівняно зі здоровими однолітками (92,2 % проти 58,8 %; $p < 0,01$).

Достовірно вищу частоту генотипів СТ і ТТ поліморфного локуса T589C гену IL-4 зафіксовано у здорових, порівняно із дітьми з АБКМ (25,5 % проти 7,8 %; $p < 0,05$) і (15,7 % проти 0 %; $p < 0,01$). Наведені результати вказують на протекторні властивості генотипів СТ та ТТ поліморфного локуса T589C гена IL-4 щодо ризику формування у дітей АБКМ. Проведений аналіз розподілу алелів поліморфізму T589C гена *IL-4* в обстежених групах дітей показав, що алель Т достовірно частіше ($p < 0,01$) зустрічався у здорових (28,4 %) щодо дітей з групи АБКМ (3,9 %). І навпаки, алель С достовірно частіше ($p < 0,01$) зустрічався в групі дітей з АБКМ (96,1 %) щодо здорових однолітків (71,6 %).

На рисунку 2.4 показано розподіл частот генотипів і алелів поліморфного локуса T589C гена *IL-4*.

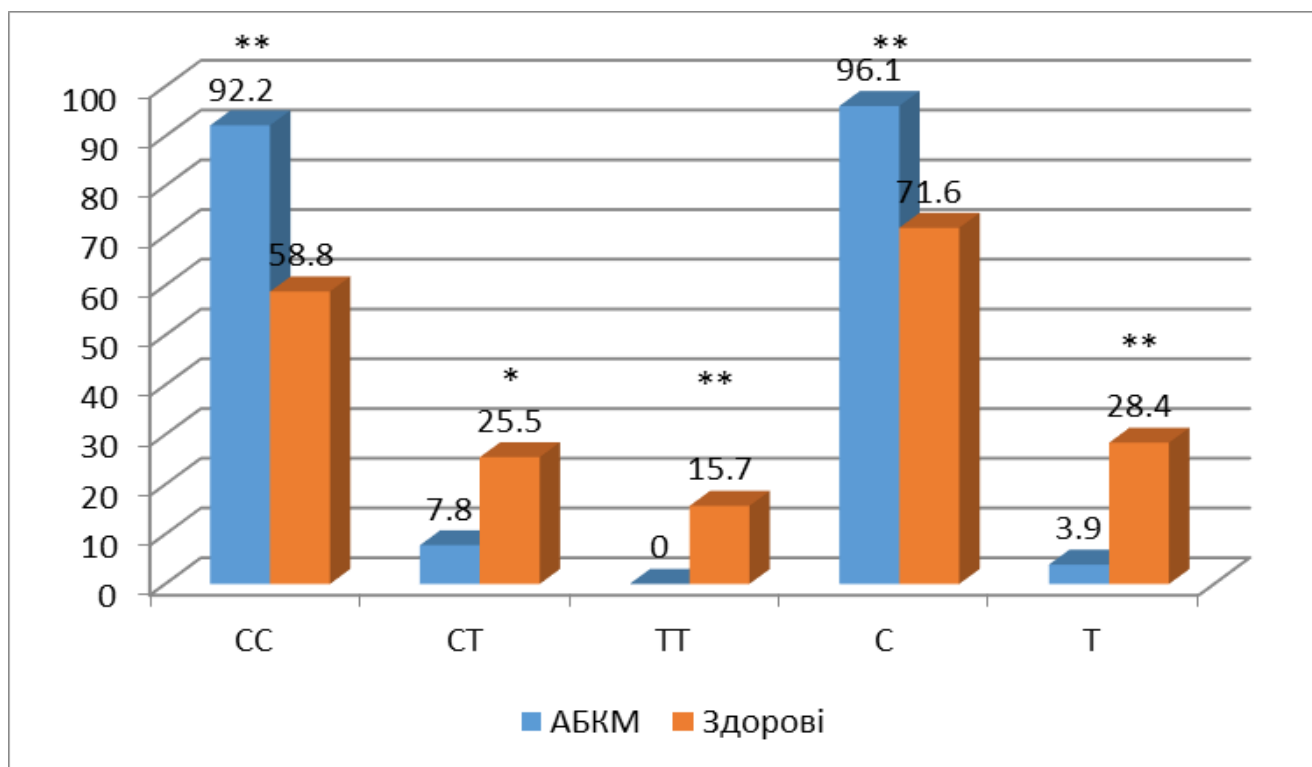


Рисунок 2.4 Розподіл частот генотипів (CC, CT, TT) і алелів (C, T) поліморфного локуса T589C гена IL-4.

Примітка 1. - * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

Внаслідок проведених імунологічних досліджень з'ясовано, що на старті спостереження рівні ІЛ-4 та ІЛ-13 були вищими у дітей з АБКМ, порівняно зі здоровими однолітками. Застосування СОІТ впродовж 36 місяців дозволило досягнути істотно кращих порівняно з елімінацією результатів, зокрема у групі СОІТ рівень ІЛ-4 зменшився у 2,7 рази, тоді як у групі ЕД зріс у 2 рази ($p < 0,01$). Рівень ІЛ-13 зменшився у 2,6 рази в групі СОІТ і зріс у 1,5 рази у групі ЕД ($p < 0,01$). Результати показали статистично достовірну відмінність ІЛ-4 та ІЛ-13 у дітей з АБКМ при різних схемах дієтичної корекції, зокрема ефективність методу СОІТ ($p < 0,01$).

Вивчення вірогідності різниці між показниками ІЛ-4 в сироватці крові в динаміці на фоні різних методів лікування, залежно від поліморфізму генів ІЛ-4 T589C, дозволило виявити, що у разі застосування СОІТ спостерігається значне зниження рівня ІЛ-4 у пацієнтів з генотипом CC ($p < 0,001$) поліморфного локуса T589C гена ІЛ-4.

Вивчення вірогідності різниці між показниками ІЛ-13 в сироватці крові в динаміці на фоні різних методів лікування, залежно від поліморфізму генів ІЛ-13 R130Q, показало, що у разі застосування СОІТ спостерігається значне зниження рівня ІЛ-13 у дітей з генотипами GA ($p = 0,03$) та GG ($p < 0,001$) поліморфного локуса R130Q гена ІЛ-13.

У дітей з АБКМ проводилася оцінка молекулярного профілю сенсibilізації, яка показала найвищі показники sIgE до трьох мажорних молекул: sIgE до Bos d 4 (2,10 в групі СОІТ та 2,00 в групі ЕД, kUa/L), sIgE до Bos d 8 (1,90 та 1,55 kUa/L відповідно) та sIgE до Bos d 5 (0,85 та 1,60 kUa/L відповідно).

Коефіцієнти кореляції Пірсона та Спірмена дозволили вивчити статистично значущі кореляційні зв'язки між різними ознаками. Встановлено, що рівень sIgE до мажорного компоненту молока казеїну (Bos d 8) має статистично значущий кореляційний зв'язок із діаметром папули ($r = 0,44$) при прик-тестуванні, sIgE Can f 3 ($r = 0,39$) та sIgE Bos d 4 ($r = 0,28$). Бичачий сироватковий альбумін (Bos d 6) має статистично значущий кореляційний

зв'язок із Fel d 2 ($r=0,64$) та Can f 3 ($r=0,44$), що свідчить про перехресну реактивність з тваринами, зокрема котом і собакою.

Вперше доведено, що незалежними предикторами, які зменшують ймовірність формування толерантності у разі застосування ЕД, є діаметр папули при прик-тестуванні понад 5 мм та sIgE до Bos d 8, Bos d 5, Bos d 4, Bos d 6 у концентрації $\geq 0,35$ kUa/L. Низька ймовірність формування толерантності методом елімінаційної терапії є рекомендацією для призначення пацієнту лікування методом СОІТ.

2.2.3 Індукція толеранції до білків коров'ячого молока

Толеранцію дитиною білків коров'ячого молока оцінювали в грамах толерованого білка і проводили на кожному візиті у дітей з АБКМ. Профіль толеранції пацієнтів поділявся на три групи: не толерує (0–0,99 г), частково толерує (1–3,99 г), повністю толерує (понад 4 г).

На початку дослідження пацієнти обох груп не могли толерувати молочних продуктів, з них 43,3 % практично не толерували, а 56,7 % частково толерували. У пацієнтів з групи СОІТ вдалося досягнути повної толерантності через 12 міс у 66,7 % ($n=20$) дітей і через 36 міс у 96,7 % ($n=29$). Лише в одного пацієнта на момент завершення дослідження утримувалася часткова толеранція білків коров'ячого молока. Слід зазначити, що даний пацієнт толерував 3,705 г білка, що дозволяло безсимптомно споживати 140 мл коров'ячого молока щоденно. У жодного пацієнта з групи ЕД через 12 міс не вдалося досягнути повної толерантності, часткова толеранція розвинулася у 96,7 % ($n=29$) дітей і в 3,33 % ($n=1$) не було толеранції молока. Через 36 міс у 83,3 % ($n=25$) спостерігалася часткова толеранція, у 16,7 % ($n=5$) – повна.

У пацієнтів, які отримували СОІТ, уже через 12 міс з моменту призначення терапії була достовірна різниця щодо часткової толеранції білка і становила 2,92 г, порівняно з групою ЕД, де показник склав 1,69 г. Слід зазначити, що середня кумулятивна кількість білка у групі СОІТ зросла на 1,82 г, порівняно із стартовим показником на початку дослідження і на 0,55 г у групі ЕД. Таким

чином, процес формування толерантності до молока відбувався значно швидше і в більшій кількості досліджуваних у групі СОІТ та прослідковувалася достовірна різниця в динаміці через 12 міс і 36 міс з моменту призначення терапії. У групах показники були порівнюваними на старті дослідження ($p > 0,05$), проте достовірно відрізнялися на момент завершення дослідження і становили 6,01 г [0,50; 6,01] в групі СОІТ та 2,66 г [1,42; 2,18] в групі ЕД ($p < 0,05$).

Оцінка якості життя включала бальну оцінку трьох шкал (від 0 до 6): емоційний вплив (ЕВ); тривогу, пов'язану з їжею (ТІ); соціальні та дієтичні обмеження (СДО). Опитування якості життя дозволило виявити, що загальний бал показників достовірно не відрізнявся на старті лікування в досліджуваних групах ($p > 0,05$). Результати показали статистично достовірну відмінність показника шкали СДО уже через 6 міс з моменту застосування СОІТ ($p < 0,05$), а ЕВ та ТІ – через 12 міс ($p < 0,05$). Загальний бал анкети достовірно не відрізнявся на старті лікування в досліджуваних групах і становив 2,64 [2,38; 3,07] в групі СОІТ та 2,54 в групі ЕД [2,16; 2,85] ($p > 0,05$). Через 6 міс з моменту лікування загальний бал становив 1,89 [1,66; 2,27] у групі СОІТ та 2,29 [2,00; 2,57] у групі ЕД ($p < 0,05$). Через рік з моменту лікування почала спостерігатися достовірна різниця оцінки якості життя у пацієнтів з різними схемами лікування: показник становив 1,29 [0,95; 1,64] в дітей, що отримували СОІТ та 2,04 [1,79; 2,36] у групі ЕД ($p < 0,05$). На 2-й рік – 0,71 [0,52; 0,86] у групі СОІТ та 1,75 [1,32; 2,05] у групі ЕД ($p < 0,05$). На 3-й рік – 0,43 [0,29; 0,50] у групі СОІТ та 1,68 [1,11; 2,04] у групі ЕД ($p < 0,05$) (рисунок 2.5).

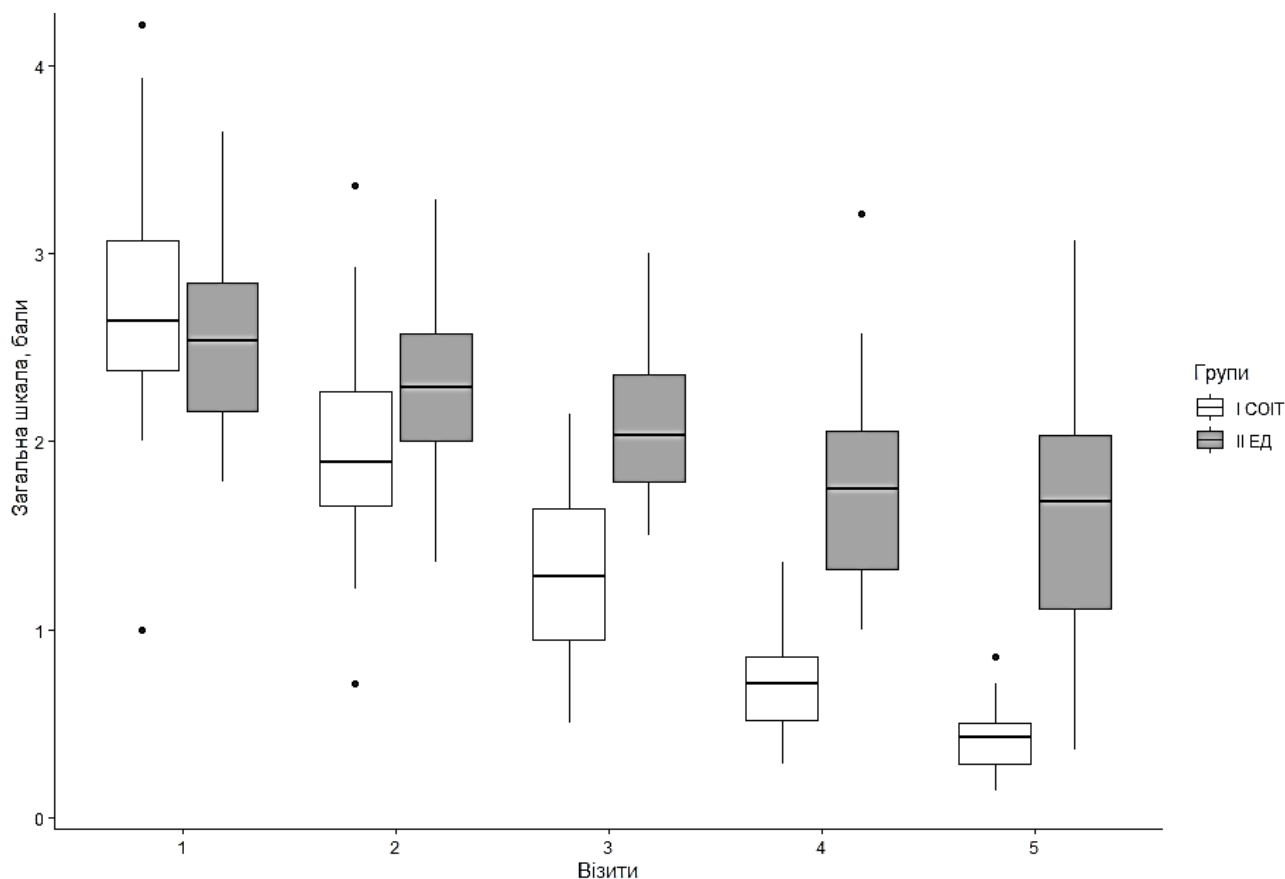


Рисунок 2.5 Динамічні зміни загальної бальної оцінки шкали якості життя дітей.

Окремо вивчалася кореляція між кумулятивною кількістю білка коров'ячого молока (г) та результатами шкал опитувальника (таблиця 2.2).

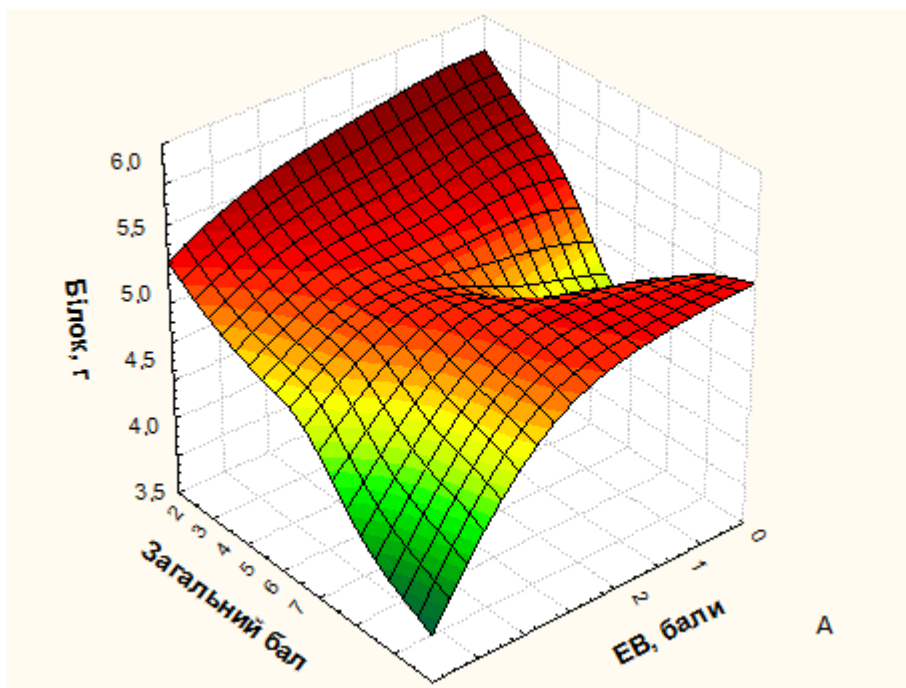
Таблиця 2.2 - Кореляція між кумулятивною кількістю білка коров'ячого молока (г) та результатами шкал опитувальника

Шкала	Візити				
	1	2	3	4	5
Емоційний вплив	-0.21	-0.13	-0.37*	-0.66*	-0.78*
Тривога, пов'язана з їжею	-0.16	-0.22	-0.4*	-0.63*	-0.75*
Соціальні та дієтичні	-0.07	-0.14	-0.41*	-0.66*	-0.74*
Загальний бал	-0.24	-0.21	-0.5*	-0.73*	-0.79*

Примітка 1. - * – $p < 0,05$.

Проведений аналіз показав, що починаючи з третього візиту (12 місяців з моменту включення в дослідження) спостерігалася достовірна різниця між кумулятивною кількістю білка коров'ячого молока (г) та результатами шкал опитувальника. У разі використання СОІТ у дітей з АБКМ простежувалося суттєве покращання шкали ТІІ пропорційно зі зростанням кумулятивної кількості білка.

Водночас, чим менша кумулятивна кількість білка (нижче 4 г), тим вища оцінка шкали ТІІ та загального балу, що свідчить про низьку якість життя (рисунок 2.6).



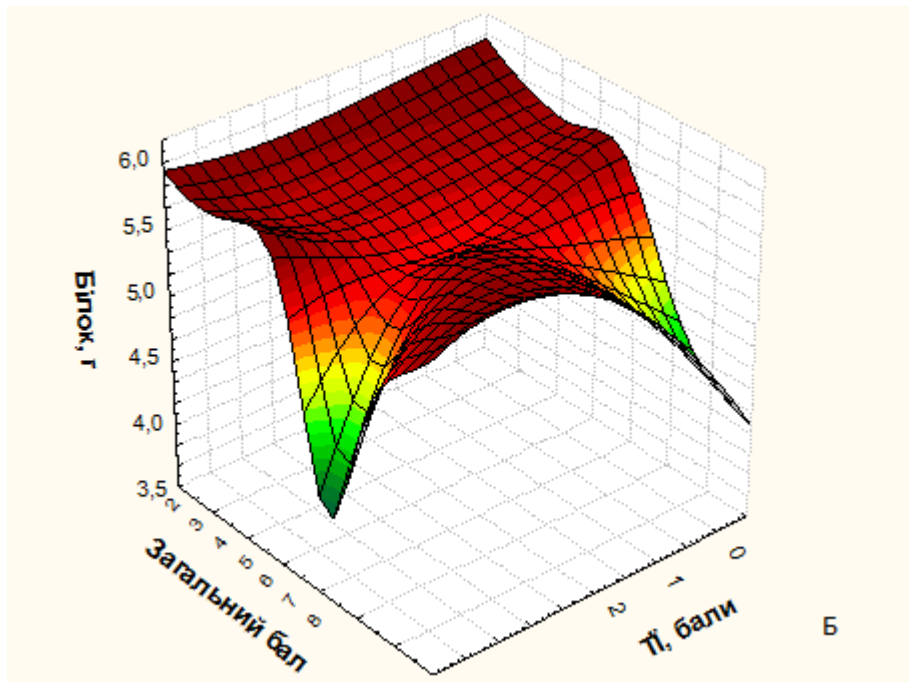


Рисунок 2.6 Взаємозв'язок поміж кумулятивною кількістю білка, загальним балом і балом тривоги, пов'язаної з їжею, у групах специфічної оральної індукції толерантності (А) та елімінаційної дієти (Б).

Таким чином, проведені дослідження дозволи встановити найвагоміші чинники, які дозволяють прогнозувати ризик розвитку ХГ і вчасно організувати профілактичні заходи. Запропонований чіткий алгоритм діагностики дозволяє виокремити ІgЕ-залежну АБКМ з великої групи ХГ. Встановлено, що ключовим елементом успішного розвитку нових персоналізованих підходів до дієтичної корекції ІgЕ-залежної АБКМ є запропонований розрахунок ймовірності формування толерантності до білків коров'ячого молока при застосуванні ЕД. У разі низької ймовірності формування толерантності повинна бути рекомендована СОІТ, яка є сучасним методом лікування АБКМ і дозволяє впродовж 36 місяців досягнути істотно кращих порівняно з елімінацією результатів за такими критеріями: зростання кумулятивної кількості білка коров'ячого молока ($p < 0,05$), зростання рівню кальцію в сироватці крові ($p < 0,05$), зниження рівнів ІL-13 та ІL-4 в сироватці крові ($p < 0,01$) та покращення показників якості життя ($p < 0,05$).

3 ЕФЕКТИВНІСТЬ АЛЕРГЕН-СПЕЦИФІЧНОЇ ІМУНОТЕРАПІЇ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ У ДІТЕЙ ШКІЛЬНОГО ВІКУ, СЕНСИБІЛІЗОВАНИХ ДО КЛІЩІВ ДОМАШНЬОГО ПОРОХУ

3.1 Матеріали і методи

Дослідження проводилося в 2 етапи. На першому етапі для оцінки частоти кліщової сенсibilізації у хворих на БА ретроспективно проаналізовано результати шкірного алерготестування 904 пацієнтів що спостерігалися впродовж 5 років (2012-2016 рр.) в умовах алергологічного центру.

У другий (проспективний) етап дослідження залучено 120 пацієнтів, які були відібрані методом вибірки з 602-х дітей, хворих на БА та сенсibilізованих до кліщів домашнього порохи і відповідали критеріям включення. Критерії включення в дослідження: вік від 6 до 17 років, діагностована інтермітуюча чи персистуюча бронхіальна астма легкого та середньоважкого перебігу (відповідно БА I, БА II, БА III), наявність загальних показів до АСІТ побутовими алергенами, тривалість анамнезу БА не менше 1 року та відсутність АСІТ в анамнезі. У дослідження не залучали хворих, у яких були протипокази до проведення АСІТ. Усі пацієнти/їх батьки чи опікуни дали письмову згоду на участь у дослідженні.

Методом вибірки із застосуванням таблиці випадкових чисел було створено дві групи, ідентичні за віком, статтю, важкістю хвороби. В основну групу увійшло 60 пацієнтів, які отримували базисне медикаментозне лікування (антилейкотрієнові препарати, інгаляційні кортикостероїди (ІКС), β_2 -агоністи пролонгованої дії) та АСІТ, яка в 30 пацієнтів проводилась із застосуванням ін'єкційних алергенів (ПШАСІТ), а в інших 30-ти пацієнтів застосовували сублінгвальні алергени (СЛАСІТ). У групу порівняння увійшло 60 пацієнтів, які отримували лише базисну фармакотерапію. Структура груп та схема організації дослідження представлена на рисунок 3.1.

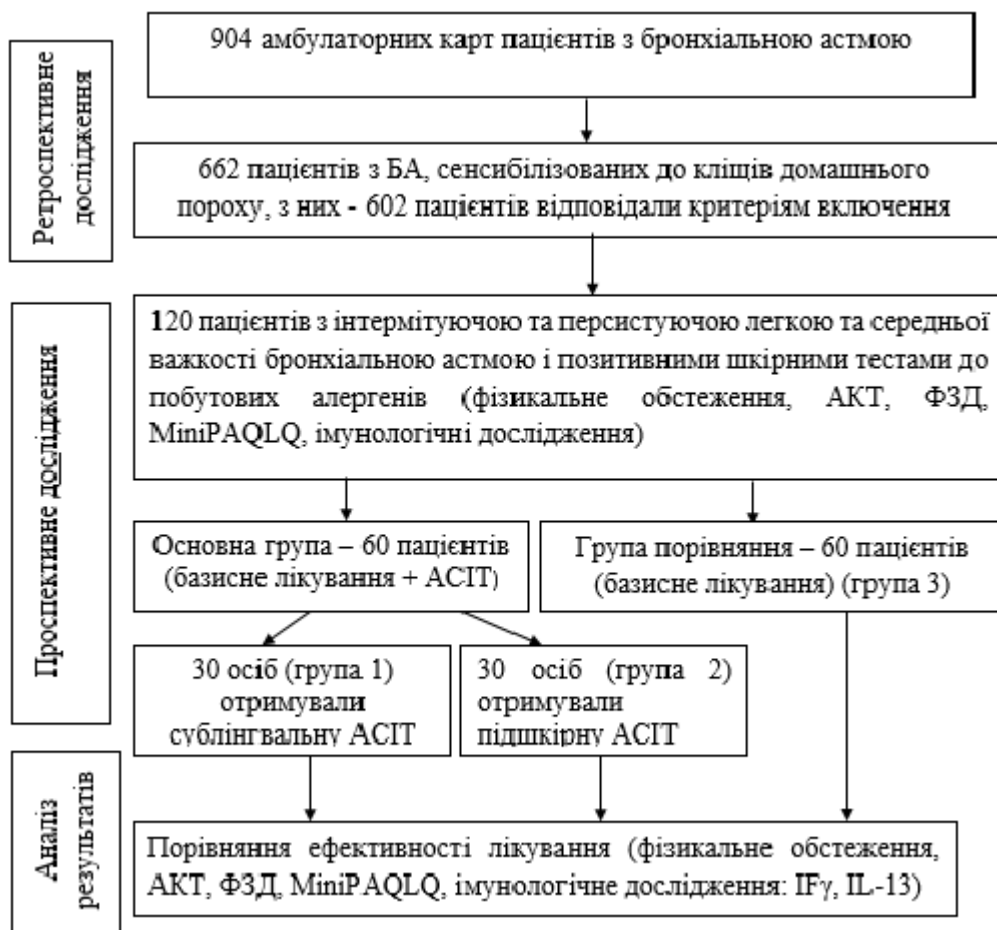


Рисунок 3.1 Структура груп і схема організації дослідження.

Специфічне алерготестування проводили за допомогою прик-тестів з набором стандартних побутових алергенів (суміш побутових алергенів та/або кліщі домашнього пороху - *Dermatophagoides pteronissinus* і *Dermatophagoides farinae*) виробництва ТОВ «Імунолог» (Україна), «Діатер» (Іспанія) [294].

У роботі використаний комплексний спосіб моніторингу ефективності лікування пацієнтів, хворих на бронхіальну астму, що охоплював оцінку контрольованості хвороби за допомогою Астма Контроль Тесту (Asthma Control Test), визначення показників зовнішнього дихання, дослідження якості життя пацієнтів.

Оцінку функції зовнішнього дихання (ФЗД) проводили за допомогою комп'ютерної спірометрії із застосуванням комп'ютерного спірометра (Sensor system Pulmowind ltd respiratory monitor ГУУ331-05417093-003:2008 Category II type BF s/n 07508106 2009. Київ.). Оцінювали об'ємні, швидкісні

характеристики та показники легеневої вентиляції: ФЖЄЛ, ЖЄЛ, ОФВ1, ОФВ1/ФЖЄЛ, СОШ25-75, ПОШвид, МОШ25, МОШ50, МОШ75. Під час проведення спірометричних досліджень у якості діагностичного критерію використовувався фармакологічний бронхолітичний тест на зворотність обструкції дихальних шляхів. [295].

Для вивчення структури акарокомплексу домашнього порошу у квітні-травні 2017 року в м. Львові обстежено 25 квартир, де проживали хворі на БА діти. Відбираючи квартири для дослідження, враховували такі характеристики: тип будинку, його площу (кількість кімнат), кількість членів сім'ї, наявність домашніх тварин і плісняви. У кожній квартирі порошок збирали в трьох біотопах: подушка, матрац та ковдра. За основу була прийнята методика збору домашнього порошу, запропонована О.В. Дубініною та Б.Д. Плетньовим [296]. Зібраний зоологічний матеріал монтували на постійні препарати з використанням суміші Фора [297].

Специфічне алерготестування ми проводили за допомогою прик-тестів з набором стандартних побутових алергенів (суміш побутових алергенів та/або кліщі домашнього порошу - *Dermatophagoides pteronissinus* і *Dermatophagoides farinae*) виробництва ТОВ «Імунолог» (Україна) та «Діатер» (Іспанія) [298].

Для проведення підшкірної АСІТ використовували алергени кліщів виробництва ТОВ «Імунолог» (Україна) та для проведення сублінгвальної АСІТ - «Діатер» (Іспанія). Специфічна імунотерапія проводилась на фоні базисної медикаментозної терапії.

Сублінгвальний метод терапії проводився стандартизованими екстрактами кліщових алергенів «Діатер» (Іспанія), що містили *Dermatophagoides pteronissinus* і *Dermatophagoides farinae* (50%/50%) - 0,15 НЕР : 0,15 НЕР (флакони С) та 0,75 НЕР : 0,75 НЕР (флакони D). Ліки приймали 1 раз на день увечері (приблизно в один і той самий час) за 30 хв до їжі. Згідно з інструкцією виробника алергенів, пацієнт міг самостійно в разі гострого захворювання чи появи симптомів алергії продовжити інтервал між прийманням чергової дози або знизити дозу алергену.

Таблиця 3.1 - Схема застосування сублінгвальних алергенів фірми Diater (Іспанія)

Флакони	кількість доз	дні
Ініціальний курс Флакони С	1	1
	1	2
	1	3
	2	4
	2	5
	2	6
	3	7
	3	8
	3	9
	4	10
	4	11
	4	12
	4	до використання флакону, або перехід на підтримуючу фазу
	Підтримуючий курс Флакони D	1
1		надалі щодня по 1 дозі

Перед початком проведення АСИТ всі пацієнти отримали письмову інструкцію щодо алгоритму дій хворого в конкретних неординарних ситуаціях (гостре захворювання, алергічна реакція тощо). З цією метою нами було розроблено «Щоденник десенсибілізації» [299].

Підшкірна АСИТ проводилася шляхом підшкірного введення розчину алергену. Початкова доза (мінімальна) поступово доводилася до підтримуючої (максимальної) дози алергену. Алерген у концентрації в 1 флаконі - 5 мл (10000 PNU/мл алергену) *Dermatophagoides pteronissinus* і *Dermatophagoides farinae* (50%/50%) вводився в концентрації від 0,01 PNU (одиниць білкового азоту) до 1 PNU в 1 мл вводили за схемою, поданою у таблиці 3.2 (щоденно, потім через день, потім з інтервалом у 7 днів), до досягнення підтримувальної дози. Надалі АСИТ у цій дозі повторювали з інтервалом у 30 днів протягом року.

Схему застосування АСІТ підшкірними алергенами, яку застосовували у пацієнтів є наведено у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2 - Схема підшкірної АСІТ побутовими алергенами

Розведення алергену	Доза в мл								Частота введення
	0.1	0.2		0.4				0.8	
10^{-8}	0.1	0.2		0.4				0.8	Щодня
10^{-7}	0.1	0.2		0.4				0.8	Щодня
10^{-6}	0.1	0.2		0.4				0.8	Щодня
10^{-5}	0.1	0.2		0.4				0.8	Через день
10^{-4}	0.1	0.2		0.4				0.8	Через день
10^{-3}	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	Через тиждень
10^{-2}	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	Через тиждень
10^{-1}	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5				1 раз на місяць

Визначали специфічні IgE до компонентів кліщових алергенів, а саме до Der p1, Der p2 та Der p10 за допомогою апарату ImmunoCAP 100 (виробник PhadiaAB, Упсала, Швеція) при температурі 37 °C [300].

Дослідження рівня інтерлейкіну 13 було проведено з допомогою набору Ray Bio Human IL-13 ELISA Kit (виробництво США) для in vitro кількісного визначення рівня інтерлейкіну 13 методом ІФА аналізу в сироватці крові.

Дослідження рівня інтерферону гама (IF γ) проводилося з допомогою набору реактивів гама-ІНТЕРФЕРОН-ІФА-БЕСТ Акціонерного товариства «Вектор-Бест» (Новосибірськ). Визначалась концентрація гама-інтерферону в сироватці крові методом твердофазного ІФА.

Для визначення ступеня контрольованості бронхіальної астми застосовували астма- контроль тест, який був розроблений у 2002 році компанією Quality Metric і рекомендований для практичного використання. [301].

Використовували опитувальник якості життя дітей, хворих на бронхіальну астму, MiniPediatric Asthma Quality of Life Questionnaire (MiniPAQLQ), наданий для користування в Україні українською мовою [302].

Комісія з питань біоетики наукових досліджень, експериментальних розробок і наукових творів у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького надала позитивний висновок щодо дотримання етичних та морально-правових принципів при проведенні наукового дослідження із залученням людини (витяги з протоколів №3 від 14.12.2016 р. та №9 від 21.12.2020 р.).

Для перевірки нормальності розподілів ознак використовувався критерій Пірсона. Альтернативна гіпотеза (про відмінність розподілу досліджуваної ознаки від нормального) приймалась, якщо p -рівень відповідної статистики був меншим, ніж 0,05. Для перевірки нормальності розподілу ознак у малих групах використовувалась модифікація Шапіро-Уїлка критерію Пірсона χ^2 . Для порівняння середніх значень нормально розподіленої ознаки у двох групах використовувався критерій Стьюдента. Альтернативна гіпотеза (про відмінність середніх значень досліджуваної ознаки в порівнюваних групах) приймалась, якщо p -рівень відповідної статистики був меншим, ніж 0,05. Для порівняння рівнів досліджуваної ознаки (з відмінним від нормального розподілом) в двох групах використовувався ранговий критерій Манна-Уїтні. Альтернативна гіпотеза (про відмінність рівнів досліджуваної ознаки в основній і контрольній групах) приймалась, якщо p -рівень відповідної статистики був меншим, ніж 0,05.

Для порівняння рівня нормально розподіленої ознаки у трьох групах використовувався однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA). Нульову гіпотезу приймали, якщо p -рівень статистики Фішера був більшим, ніж 0,05 і відхиляли у протилежному випадку. Якщо нульова гіпотеза була відхилена, то для порівняння середніх за різних значень спонукального чинника використовували статистику Шеффе.

Для порівняння рівня ознаки, розподіл якої відрізняється від нормального, у трьох групах використовувався ранговий критерій Краскела-Уоллеса. Альтернативна гіпотеза (про відмінність рівнів досліджуваної ознаки в порівнюваних групах) приймалась, якщо p -рівень відповідної статистики був меншим, ніж 0,05.

Для встановлення достовірності зсуву в значеннях нормально розподіленої досліджуваної ознаки використовувався парний тест Стюдента. Альтернативна гіпотеза (про наявність достовірних зсувів) приймалась, якщо p -рівень відповідної статистики був меншим, ніж 0,05. Для дослідження кореляційних зв'язків нормально розподілених показників використали коефіцієнт кореляції Пірсона. Для оцінки залежності між величинами, вимірними в порядкових шкалах використано ранговий коефіцієнт кореляції Спірмена. Альтернативна гіпотеза (про наявність зв'язку між величинами) приймалась, якщо p -рівень відповідної статистики був меншим, ніж 0,05.

Усі статистичні обчислення проводилися із використанням програмного забезпечення RStudio v. 1.1.442 та R Commander v.2.4-4. Для оформлення таблиць та графіків використано електронні таблиці Microsoft Excel 2010 та Statistika 8.0.

3.2 Результати та їх обговорення

3.2.1 Динаміка структури сенсibilізації дітей м. Львова, хворих на бронхіальну астму та алергія до кліщів домашнього пилу

У структурі сенсibilізації в усіх вікових групах дітей переважала побутова алергія (662 дитини – 73,23%), зокрема сенсibilізація до алергенів кліщів домашнього порошу *Dermatophagoides pteronyssinus* виявлена у 94,1% дітей з побутовою сенсibilізацією (таблиця 3.3), яка зустрічалась найчастіше, порівняно з іншими побутовими алергенами ($p < 0,01$).

Таблиця 3.3 - Частота виявлення сенсibilізації до побутових алергенів за даними шкірного алерготестування ($n = 662$)

№	Вид алергену	Кількість позитивних результатів	
		абсолютне значення	%
1	Домашній пил, збагачений <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	623	94,1
2	Домашній пил, збагачений <i>Dermatophagoides farinae</i>	483	72,9*
3	Домашній пил, збагачений <i>Dermatophagoides acarus siro</i>	235	35,5*
4	Пір'я подушки	267	40,3*

Примітка 1. - * – $p < 0,01$ порівняно з показником «Домашній пил, збагачений *Dermatophagoides pteronyssinus*».

На другому місці за частотою виявлення (52,1% – 471 пацієнт) зареєстрована сенсibilізація до епідермальних алергенів (таблиця 3.4). Рідше діагностовані грибкова (34,18% – 309 пацієнтів), пилкова (26,77% – 242 пацієнти) та харчова (19,91% – 180 пацієнтів) сенсibilізації.

Щодо грибової сенсibilізації мусимо зазначити, що у 2016 р. через ряд об'єктивних причин ми не мали достатньої кількості грибових алергенів для проведення тестування, і нам не вдалося адекватно оцінити показники. Водночас серед 309 пацієнтів з підвищеною чутливістю до грибових алергенів найчастіше реєстрували дослідники підвищену чутливість до алергенів *Alternaria alternata* (83,2% – 257 пацієнтів).

Таблиця 3.4 - Частота виявлення сенсibilізації до епідермальних алергенів за даними шкірного алерготестування (n = 471)

№	Вид алергену	Кількість позитивних результатів	
		абсолютне значення	%
1	Шерсть кота	217	46,0

2	Шерсть кроля	194	41,2*
3	Шерсть собаки	185	39,3*
4	Вовна вівці	141	29,9*

Примітка 1. - * – $p < 0,01$ порівняно з показником «шерсть kota».

Структура пилкової сенсibilізації в дітей, хворих на бронхіальну астму, характеризувалася суттєвою різноманітністю, однак серед 272 пацієнтів з позитивними тестами переважала підвищена чутливість до трав (алергени тимофіївки - 43,7%, грястиці - 39,3%, райграсу - 37,5%, костриці - 36,4%, жита - 33%).

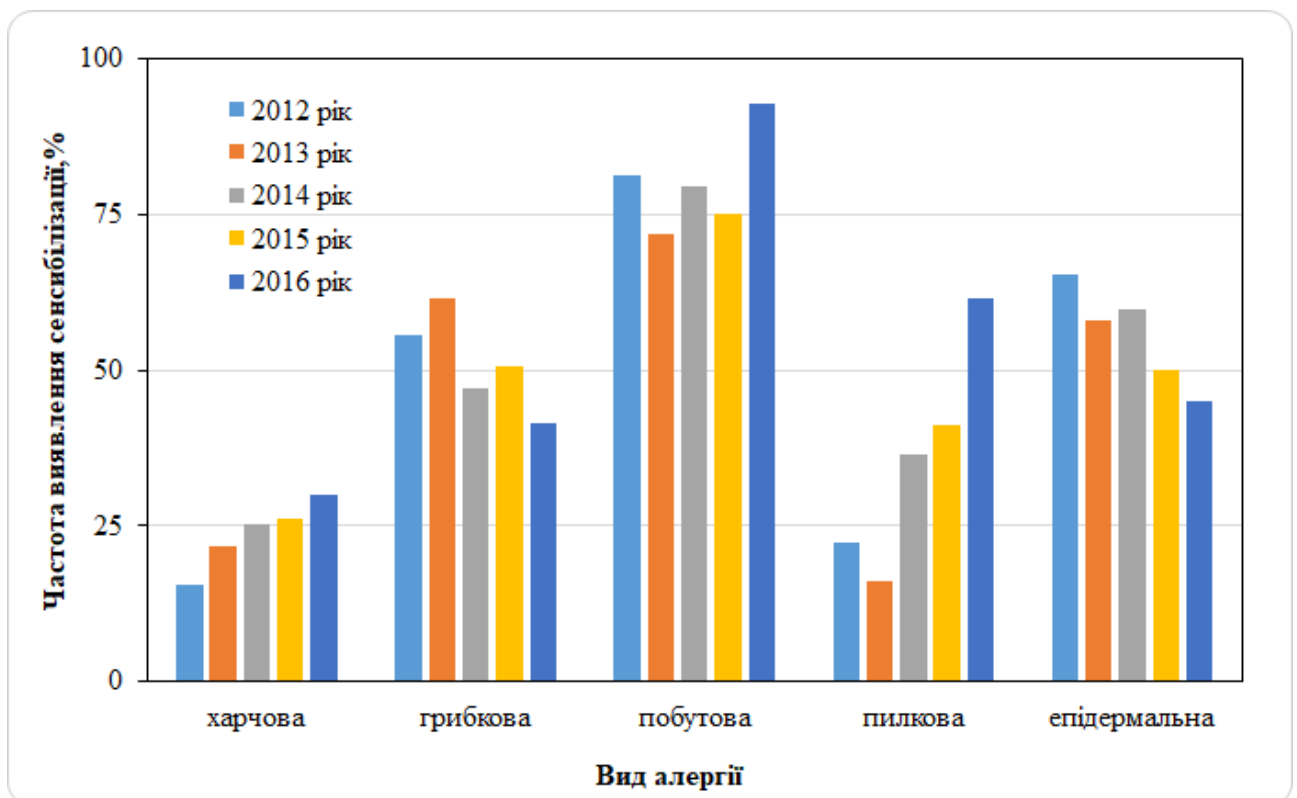


Рисунок 3.2 Динаміка структури сенсibilізації дітей протягом 2012-2016 рр.

Констатовано зростання частоти харчової, побутової, пилкової сенсibilізації та незначний спад сенсibilізації до епідермальних алергенів. Зокрема, рівень пилкової сенсibilізації стрімко зріс у 2016 році (з 22,14% у 2012 р. до 61,6% у 2016 р.). Такі показники ми пов'язуємо зі зміною погодних

умов, а саме з тим, що у 2016 р. літо було дуже жарке та вітряне. Водночас нам не вдалося адекватно оцінити динаміку грибкової сенсibilізації, оскільки у 2016 р. через ряд об'єктивних причин ми не мали достатньої кількості грибкових алергенів для проведення алергологічного тестування й отримали, відповідно, значно нижчі показники сенсibilізації.

Квартири, у яких проводили забір пороху, знаходились у державних будинках. Майже половина (46,7%) сімей мали погані житлові умови: старий будинок, підвищена вологість, загальна площа на 1 людину менше 10 м². Квартири мали центральне або автономне газове опалення. Ремонт більше 5 років тому проводили 47,8% сімей.

Кліщі було виявлено в 16 з 25 квартир (64%). Із 73 зразків домашнього пороху кліщі були виявлені в 41 пробі, причому вони були представлені одним видом – підряд *Astigmata*, сімейство *Pyroglyphidae* – *Dermatophagoides pteronyssinus* Trouessart. Чисельність кліщів залежала від біотопу. Так, у зразках пороху з матраців кількість *Dermatophagoides pteronyssinus* складала від 3 до 43 особин на грам пороху (32% квартир), у зразках, забраних з подушок, від 3 до 32 особин на грам пороху (20% квартир) та в зразках із ковдр від 3 до 38 екземплярів на 1 грам пороху (32% квартир).

Для поглибленого вивчення показів до проведення АСІТ було відібрано групу із 42 пацієнтів, яким провели молекулярну алергодіагностику із застосуванням методу ImmunoCAP з визначенням sIgE до компонентів алергенів кліщів домашнього пороху rDer p1, rDer p2, rDer p10. Підвищений рівень sIgE до мажорних алергенів rDer p1 та rDer p2 і відсутність сенсibilізації до мінорного алергену rDer p10 зареєстровано у 39 дітей. В одного пацієнта виявлений незначно підвищений рівень sIgE до мінорного алергену rDer p10, що склав 0,5 kUA/L і водночас підвищений рівень rDer p1- 24,9 kUA/L та rDer p2- 92,0 kUA/L. Оскільки рівень мінорного алергену був підвищений незначно (1 клас), пацієнт був включений для проведення АСІТ.

В однієї пацієнтки, незважаючи на позитивний результат прик-тестування (папула 6 мм до алергенів *Dermatophagoides pteronissinus* та 8 мм

до *Dermatophagoides farinae*), ми не виявили підвищення рівня sIgE до rDer p1 – 0,01 kUA/L, rDer p2- 0,01 kUA/L та rDer p10 – 0,01 kUA/L. Ще в одного пацієнта при позитивних результатах прик-тестування (папула 10 мм до алергенів *Dermatophagoides pteronissinus* та 10 мм до *Dermatophagoides farinae*) виявили лише незначне підвищення sIgE до rDer p1, що склало 1,93 kUA/L (2 клас). Цим пацієнтам АСІТ не була призначена, оскільки прогнозована ефективність такої терапії була б низькою. Отож, із 42 дітей для проведення АСІТ з поглибленим динамічним вивченням імунологічних показників (рівнів ІІ13 та Іґґ) нам вдалося відібрати 40 пацієнтів: 20 дітей, які отримували АСІТ із застосуванням сублінгвального введення алергенів, і 20 дітей, яким алергени вводили підшкірним методом.

Підвищення показників специфічних ІґЕ (вище 0,35 kUA/L) до мажорного компоненту (rDer p1) встановлене в 35 (83,3 %) пацієнтів. До того ж, у 15 (35,7%) пацієнтів рівень специфічних ІґЕ до rDer p1 перевищував 100 kUA/L, також в 11-х пацієнтів (26,1%) рівень специфічних ІґЕ до rDer p2 перевищував 100 kUA/L. Десятеро пацієнтів (23,8%) мали максимально виражену сенсibiliзацію до обидвох головних мажорних молекул одночасно.

3.2.3 Аналіз ефективності алерген-специфічної імунотерапії бронхіальної астми у дітей шкільного віку

У основній групі пацієнтів, які отримували лікування методом АСІТ (1) – відбувся вищий темп зростання показника АКТ. Якщо перед проведенням лікування показник АКТ в групі порівняння був дещо вищий, ніж у основній, то в процесі лікування він став істотно вищим у групах пацієнтів, які отримували АСІТ.

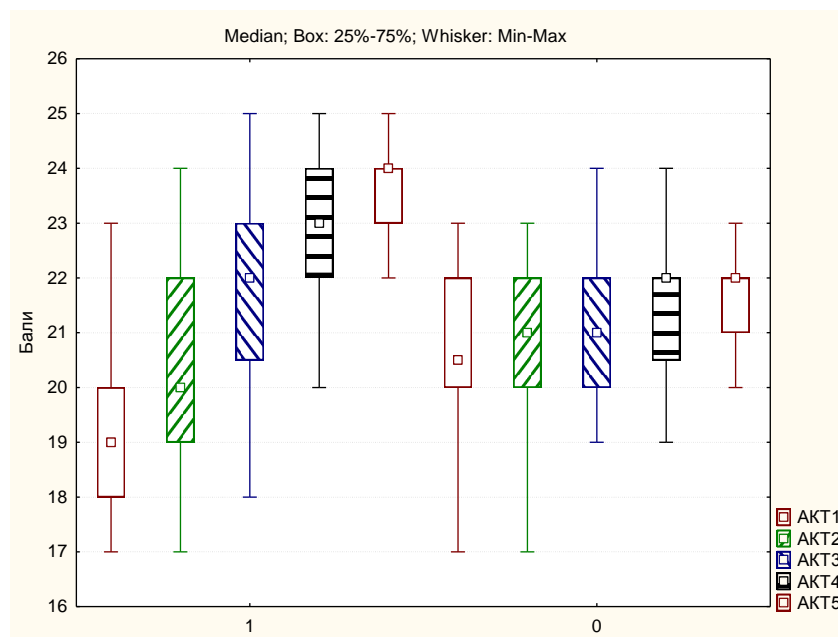


Рисунок 3.3 Динаміка показників астма-контроль тесту в ОГ і ГП.

Примітка 1. - Основна група (ОГ, отримувала АСІТ) – 1; група порівняння (ГП, не отримувала АСІТ) – 0.

Значення показників АКТ та p -рівень, за статистикою Краскела-Уоллеса, порівняння їхніх рівнів наведено в таблиці 3.5.

Таблиця 3.5 - Значення АКТ у різних групах пацієнтів

Показник	Групи			p -рівень
	сублінгвальна АСІТ (1 група)	підшкірна АСІТ (2 група)	Порівняння (3 група)	
АКТ1	19[18; 20]	19 [19; 20]	20.5[20; 22] *#	0,0003
АКТ2	20.5[20; 22]	20[19; 21]	21[20; 22]	0.0663
АКТ3	22[22; 23]	22[20; 22]	21[20; 22]*	0.0164
АКТ4	24[23; 25]	23[21; 23]*	22[20.5; 22]*#	0,0001
АКТ5	24[24; 25]	23[23; 24]*	22[21; 22]*#	0,0001

Примітка 1. - * - достовірні різниця ($p < 0,05$) при порівнянні із показником СЛАСІТ, # - достовірні різниця ($p < 0,05$) при порівнянні із показником ПШАСІТ.

Найбільший приріст АКТ відбувся у 1-й групі пацієнтів (пацієнтів, які отримували сублінгвальну АСІТ).

Як видно з рисунку 3.3, показники астма-контроль тесту протягом року у всіх трьох групах пацієнтів достовірно зростали (показники за статистикою ANOVA Фрідмана відповідно дорівнювали $K_1=101,5$, $K_2=96,6$, $K_3=70,0$, а їхні p -рівні $p<0,001$). При цьому відмічається яскрава позитивна динаміка приросту показників АКТ саме у пацієнтів, які отримували АСІТ, і особливо у групі пацієнтів, яка отримувала сублінгвальну АСІТ (1 група).

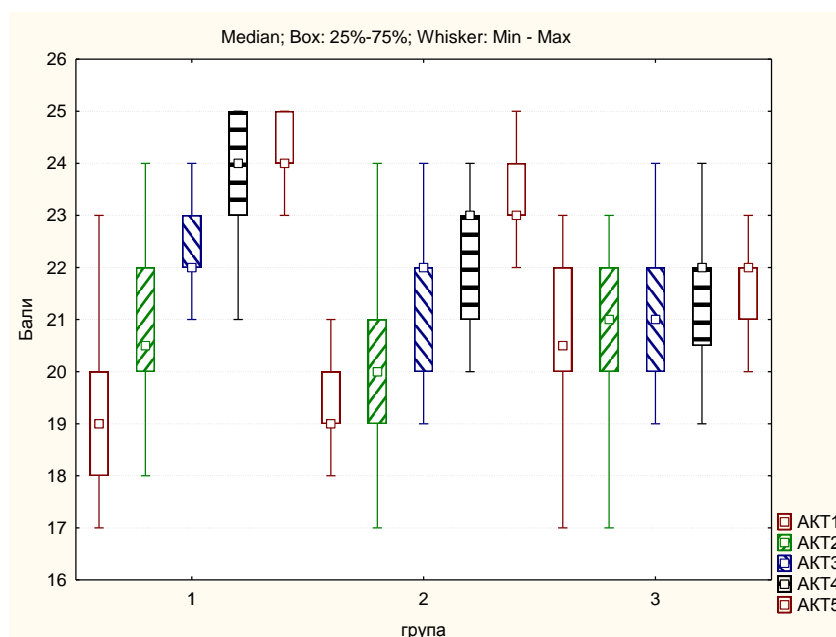


Рисунок 3.4 Динаміка показників астма-контроль тесту у трьох групах.

Примітка 1. - 1 група - СЛАСІТ; 2 група - ПШАСІТ; 3 група – ГП.

Динаміку нормально розподілених показників $ОФВ_1$ протягом року (до лікування ($ОФВ_1$ 1) і через 3 ($ОФВ_1$ 2), 6 ($ОФВ_1$ 3), 9 ($ОФВ_1$ 4) та 12 місяців ($ОФВ_1$ 5)) зображено на рисунках 3.5 і 3.6.

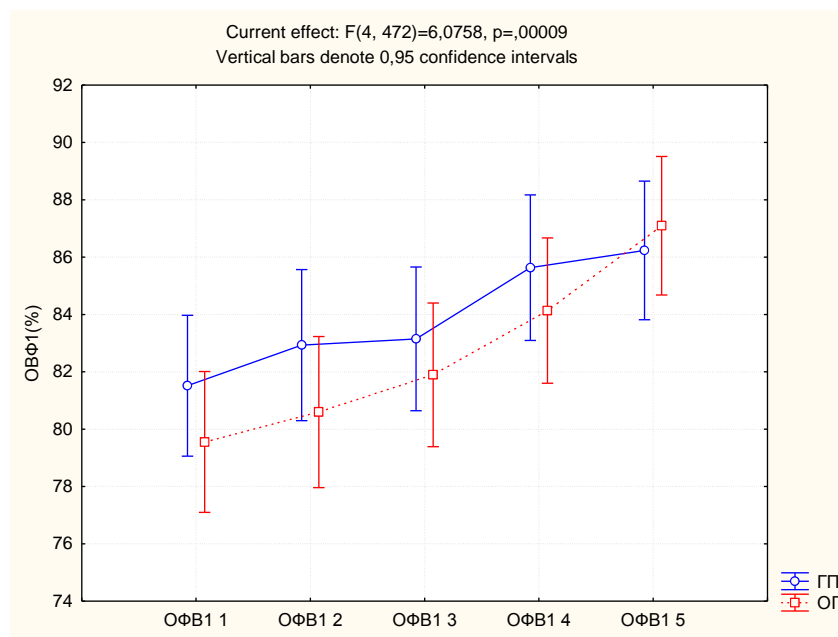


Рисунок 3.5 Динаміка показників OFV_1 в групі порівняння та в групі пацієнтів, що отримували АСІТ.

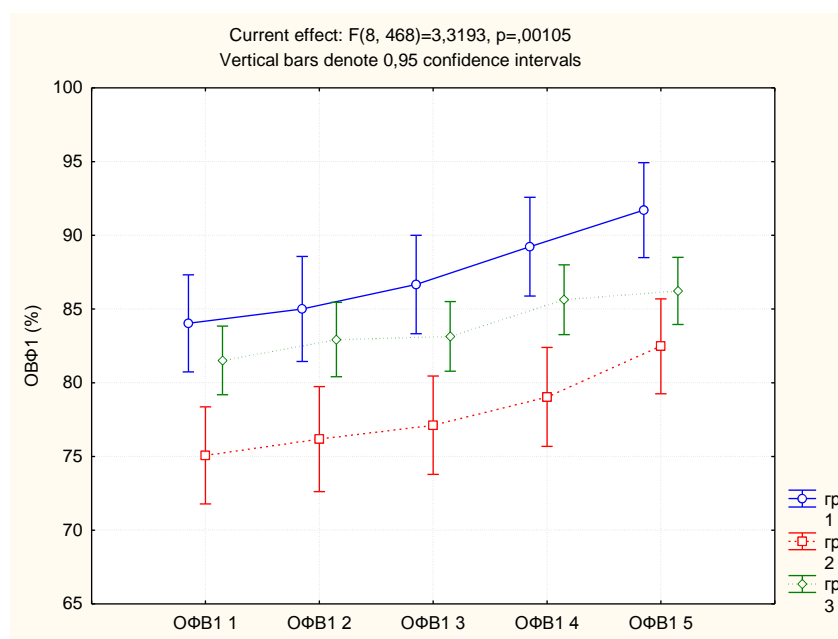


Рисунок 3.6 Динаміка показників OFV_1 .

Відображена на рисунок 3.5 порівняльна динаміка показника OFV_1 у основній групі пацієнтів, що отримували лікування методом АСІТ, та групі порівняння показує вищий темп зростання показника в основній групі. Приріст показників медіани OFV_1 склав у групі пацієнтів з СЛАСІТ (1 група) – $7,68 \pm 4,63\%$, у групі пацієнтів з ПШАСІТ (2 група) – $7,40 \pm 4,01\%$ порівняно з $4,52 \pm 4,43\%$ в групі порівняння (3 група).

Показники ПОШ_{вид} протягом року достовірно підвищилися як в обох групах пацієнтів, які отримували АСІТ (у 1-й групі відбулося зростання середнього значення показника ПОШ_{вид} на 8,04% з 81,86% до 89,9% ($p < 10^{-5}$), а у 2-й групі – на 5,23% з 71,6% до 76,83 % ($p < 10^{-5}$), так і в групі порівняння на 2,01% з 78,01% до 80,02 % ($p = 0,0001$).

Проведені дослідження показали, що найбільший приріст спірометричного показника ПОШ_{вид} відбувся в групі пацієнтів, які отримували сублінгвальну АСІТ.

Як наведено у таблиці 3.6, у групі пацієнтів, які отримували додатково сублінгвальну АСІТ (1-а група), так і в пацієнтів, які отримували додатково підшкірну АСІТ (2-а група), і також у пацієнтів, які отримували лише базисну терапію бронхіальної астми (3-а група – група порівняння), статистично достовірно покращилися всі показники якості життя через рік лікування (симптоми, емоційна функція та обмеження активності) ($p < 0,001$).

Таблиця 3.6 - Динаміка показників якості життя за допомогою парного тесту Стьюдента

Групи	Оцінка симптомів		Оцінка обмеження активності		Оцінка емоційної функції	
	Перший візит	Заключний візит	Перший візит	Заключний візит	Перший візит	Заключний візит
1-а група-сублінгвальна АСІТ	4,163	4,685	4,583	5,497	4,245	5,125
	(t = 12,12, p<0,0001)		(t = 13,43, p<0,0001)		(t = 43,71, p<0,0001)	
2-а група-підшкірна АСІТ	4,126	5,313	4,610	5,680	4,093	5,123
	(t = 13,75, p<0,0001)		(t = 11,298, p<0,0001)		(t = 32,77, p<0,0001)	
3-а група-порівняння	4,130	5,180	4,767	5,807	4,063	5,243
	(t = 13,11, p<0,0001)		(t = 15,15, p<0,0001)		(t = 19,63, p<0,0001)	

Для порівняння приростів показників якості життя (оцінки симптомів, обмеження активності та оцінки емоційної функції) у кожній з трьох груп пацієнтів використано однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA). У таблиці 6.4 представлено статистику Фішера F та її p-рівень. Результат показує статистично достовірну відмінність симптоматики ($p < 0,001$) та емоційної функції ($p < 0,001$). Відмінності в прирості показника обмеження активності статистично не відрізняються.

Внесення алерген-специфічної імунотерапії в комплекс базисного лікування бронхіальної астми дозволяє суттєво покращити якість життя пацієнтів. Надійніше підвищення показників якості життя за оцінкою симптомів бронхіальної астми відбулося у пацієнтів, які отримували сублінгвальну АСИТ. Водночас у групі пацієнтів, які поряд з базисним лікуванням отримували підшкірну АСИТ, була виразно покращена емоційна функція.

Усі пацієнти переносили АСИТ добре, під час її проведення не спостерігалось жодної важкої системної реакції на введення алергену. Місцеві реакції зареєстровані в 5 (16,6%) пацієнтів, які отримували ін'єкційну алерген-специфічну імунотерапію, і проявлялися гіперемією на місці ін'єкції до 45 мм в діаметрі, при наступному введенні алергену вводилося менше розведення. Гіперемія до 30 мм розцінювалась як безпечна для пацієнта. У 2-х (6,66%) пацієнтів після ін'єкційного введення алергену короткочасно спостерігалися сухі хрипи, які зникли однією-двома інгаляціями бронхолітиків короткої дії. Ці прояви трактувались нами як індивідуальна реакція на введення алергену і не вважались протипоказами для подальшої алерген-специфічної імунотерапії.

3.2.3 Динаміка показників IL-13 та IF γ у дітей, хворих на бронхіальну астму, на фоні застосування алерген-специфічної імунотерапії

Динаміка показників рівня IL-13 упродовж року лікування дозволила зареєструвати достовірне підвищення у всіх 40 пацієнтів, однак приріст показників був вищим серед пацієнтів, які отримували підшкірну АСИТ.

Середній рівень показника ІЛ-13 (Ме) у пацієнтів 1-ї групи на початку лікування склав 5,4 пг/мл та через рік лікування зріс до рівня 14,75 пг/мл, що є статистично достовірним підвищенням ($p < 0,01$ Wilcoxon Matched Pairs Test); у пацієнтів 2 групи також відбувся приріст даного показника з рівня 2,55 пг/мл до 15,15 пг/мл відповідно, що також є статистично відмінним ($p < 0,01$ Wilcoxon Matched Pairs Test) (рисунок 3.7).

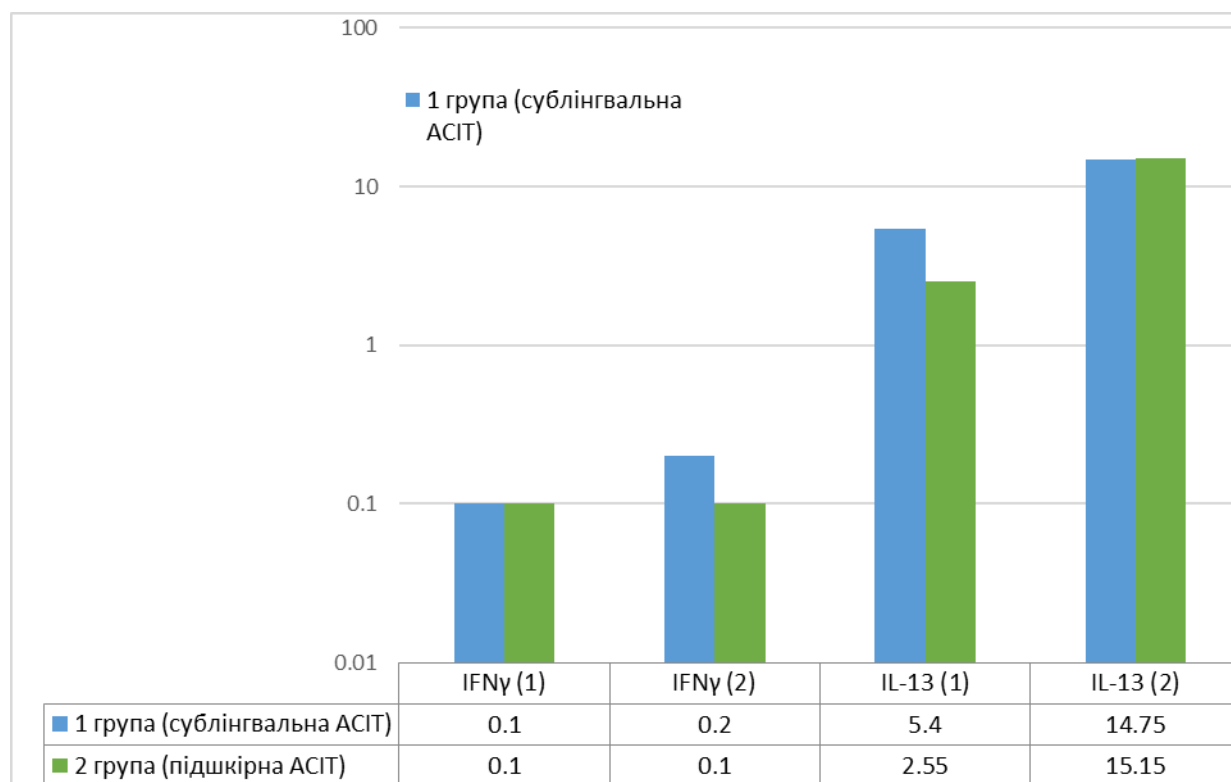


Рисунок 3.7 Динаміка рівнів ІФ γ и ІЛ-13 у пацієнтів, які отримували АСІТ.

При сублінгвальній АСІТ рівень ІЛ-13 на початку лікування становив 5,40 пг/мл, що є більшим за показник при підшкірній АСІТ – 2,55 пг/мл. Ця різниця є статистично достовірною $p = 0,041$. Можна стверджувати, що у пацієнтів, які отримували підшкірну АСІТ, відбулося більш стрімке зростання рівня ІЛ-13 – $p = 0,002$.

Отже, моніторинг імунологічних показників показав достовірне зростання ІФ γ , яке можна розцінювати, як активацію процесу перемикання імунної відповіді з Th-2 на Th-1 опосередковану, а значить ілюструє позитивний

результат впливу сублінгвальної АСІТ.

4 ПРОГНОСТИЧНА ЦІННІСТЬ КОНЦЕНТРАЦІЇ NT-PROBNP У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЗНАЧНО НЕДОНОШЕНИХ НЕМОВЛЯТ ЩОДО ГЕМОДИНАМІЧНОЇ ЗНАЧУЩОСТІ ВІДКРИТОЇ АРТЕРІАЛЬНОЇ ПРОТОКИ

4.1 Матеріали і методи

У роботі використані дані 52 передчасно народжених немовлят, залучених у рандомізоване контрольоване дослідження, метою якого є вивчення порівняльної ефективності та безпеки ранньої лікувальної й очікувальної тактики допомоги значно недоношеним немовлятам з ВАП (реєстраційний номер дослідження у *ClinicalTrials.gov* – NCT03860428). Дослідження виконується на базі неонатальних відділень Львівської обласної клінічної лікарні.

Критерії включення: маса тіла при народженні < 1500 г, термін гестації < 32 тиж, вік на момент госпіталізації у відділення інтенсивної терапії новонароджених (ВІТН) < 72 год і діаметр ВАП > 1,5 мм. Не включались у дослідження діти з масою тіла ≥ 1500 г і/або терміном гестації ≥ 32 тиж, із значними природженими аномаліями розвитку, клінічно явним геморагічним синдромом, будь-яким ВШК в перші 48 год життя або ВШК 3-4 ступеня, НЕК, тромбоцитопенією ($< 50 \times 10^{12}/л$), олігурією < 1 мл/кг/год, а також за відсутності інформованої згоди батьків. Рандомізацію здійснювали за допомогою генерованого комп'ютером випадкового ряду чисел.

Двадцять семеро дітей (52 %) після включення у дослідження отримували ібупрофен (n=13) або парацетамол (n=14). Ібупрофен призначали ректально у разовій дозі 20/10/10 мг/кг/добу протягом 3 днів, а парацетамол – внутрішньовенно, 15 мг/кг/дозу кожні 6 год протягом 3 днів. Щонайменше через 12 год після завершення першого курсу лікування здійснювали контрольну ехокардіографію і за наявності ВАП > 0,5 мм призначали повторний курс терапії. АП вважали закритою, якщо вона не виявлялась ехокардіографічно або її діаметр становив менше 0,5 мм. Очікувальну тактику

застосовували у 25 (48 %) новонароджених, які утворили контрольну групу. Ці немовлята специфічного лікування не отримували, проте клінічне спостереження за ними було таким самим, як і за дітьми, яким призначали ібупрофен або парацетамол.

За підсумками ехокардіографічного та клінічного моніторингу ретроспективно були сформовані 2 групи немовлят: у 22 (42 %) з них була гЗВАП (група гЗВАП), а у 30 (58 %) – ВАП була гемодинамічно незначущою (група ВАП).

Вміст NT-proBNP у сироватці периферичної крові визначали двічі: в перші 24-72 год життя і до призначення ібупрофену/парацетамолу та після завершення 2 курсу лікування або на 8-10 добу життя, якщо лікування не проводилось. Середній (медіана [мінімальне-максимальне значення]) вік дітей на момент першого та повторного забору крові у групах становив відповідно 2 [1-2] доби та 8 [8-9] діб. Після забору крові відразу отримували сироватку, яку заморожували і зберігали при температурі -25°C . Рівень сироваткового NT-proBNP вимірювали за допомогою імуноферментного аналізу на аналізаторі Cobas 6000 (Німеччина) з використанням тестових наборів Elecsys proBNP II (Roche, Німеччина) відповідно до рекомендацій виробника. Доступні межі вимірювань становили 5-35000 пг/мл.

Усім пацієнтам протягом перших 10 днів життя щоденно проводили ехокардіографію з контрольним обстеженням на 28 добу життя і на момент досягнення пацієнтами постменструального віку (ПМВ) 36 тиж і/або виписки. Ехокардіографічне обстеження здійснювали за допомогою апарата Samsung Medison SonoAce X8 (Південна Корея).

Гемодинамічно значущою вважали ВАП, діаметр якої перевищував 1,5 мм за наявності: необмеженого шунтування крові через ВАП зліва направо ('пульсація'): кінцевої діастолічної швидкості потоку $< 50\%$ пікової систолічної швидкості у легеневій артерії, кінцевої діастолічної швидкості потоку у легеневій артерії $> 0,3$ м/с і (або) співвідношення діаметра лівого передсердя до кореня аорти $> 1,5$ і (або) ретроградного діастолічного потоку крові у низхідній

аорті. Для встановлення діагнозу гЗВАП потрібна була також наявність щонайменше однієї з таких ознак: зростання дихальних розладів з потребою у ШВЛ, збільшення кисневої залежності, неможливість відлучення від дихальної підтримки, наявність системної гіпотензії або застійної серцевої недостатності [303,304].

До моменту досягнення пацієнтами постменструального віку (ПМВ) 36 тиж, смерті або виписки з лікарні в динаміці оцінювали наявність усіх захворювань, застосовані методи і результати лікування. У ВІТН використовували стандартні протоколи дихальної підтримки, забезпечення стабільної гемодинаміки, парентерального і мінімального ентерального харчування, призначення антибіотиків і протигрибкових препаратів, корекції анемії, метаболічних порушень тощо. У всіх дітей безперервно спостерігали за станом життєвих функцій. Важкість стану немовлят у перший день госпіталізації у ВІТН визначали за шкалою SNAPPE-II [305].

Прогностичну цінність сироваткових концентрацій NT-proBNP щодо наявності гЗВАП оцінювали за допомогою ROC-кривої, визначаючи площу під нею та розраховуючи відповідні чутливість і специфічність.

У роботі використано стандартні методи описового, порівняльного і непараметричного кореляційного аналізу із застосуванням критеріїв Стюдента, χ^2 , Мана-Уїтні, Уїлкоксона, а також коефіцієнта рангової кореляції Спірмена (r_s). Показники з нормальним розподілом представлено як середнє \pm стандартне відхилення (SD). Непараметричні дані представлено як медіану [нижній і верхній квантілі]. Усі результати вважали достовірними, якщо $p < 0,05$.

Протокол дослідження було затверджено комісією з питань етики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького

4.2 Результати та їх обговорення

4.2.1 Клінічна характеристика сформованих груп

Сформовані групи не відрізнялись за масою тіла при народженні та за частками хлопчиків, проте, діти з гЗВАП мали вірогідно менший термін

гестації. Водночас, гемодинамічно незначущу ВАП вірогідно частіше виявляли у немовлят, замалих для терміну гестації. Порівняльна перинатальна характеристика груп узагальнена у таблиця 1. Діти в обох групах в перші 3 дні життя отримували парентерально приблизно однаковий об'єм рідини й їм майже одночасно призначали повний об'єм ентерального харчування (у віці 15,5 [10,5-29] днів у групі гзВАП проти 16 [11-21] днів у групі ВАП; $p>0,05$).

Ехокардіографічний діагноз ВАП з діаметром $> 1,5$ мм був встановлений на момент досягнення пацієнтами середнього віку 2 днів. Середній вік на момент виявлення гзВАП становив 2 [2-3] доби ($p>0,05$). Середній діаметр ВАП був вірогідно більший у групі немовлят з гзВАП. Відсоткова кількість дітей, які отримали фармакологічне лікування з приводу ВАП істотно не відрізнялись у групах. Подібні частки дітей в обох групах отримували парацетамол та ібупрофен. Немовлята з гзВАП значно частіше потребували другого курсу лікування, проте статистично значущої відмінності між групами за цим показником не було. Водночас, на 8-9 добу життя лише у трьох дітей була наявна гзВАП. Середній вік на момент первинного закриття АП був майже удвічі більшим у групі дітей з гзВАП, однак відмінності від групи порівняння були недостовірними. Водночас, у немовлят з гзВАП, вірогідно рідше діагностували закриття АП в перші 10 днів життя, однак частота первинного закриття АП істотно не відрізнялась у групах. Між групами також не було виявлено статистично вірогідних відмінностей за частотою повторного відкриття та закриття АП на момент виписки. На момент виписки в усіх немовлят АП була закритою або гемодинамічно незначущою (таблиця 4.1).

Таблиця 4.1 - Порівняльна перинатальна характеристика сформованих груп

Показники	Група гзВАП (n=22)	Група ВАП (n=30)	<i>p</i>
Гестаційний вік, тиж	27 [25-28]	29 [27-31]	$<0,01$
Маса при народженні, г	945 [750-1200]	1050 [870-1350]	$>0,05$
Хлопчики	13 (59)	13 (43)	$>0,05$

Діти, замалі для терміну гестації	0	5 (17)	<0,05
Інфекційні захворювання під час вагітності	13 (59)	14 (47)	>0,05
Прееклампсія	7 (32)	14 (47)	>0,05
Передчасний розрив оболонок	5 (23)	6 (20)	>0,05
Тривалість безводного періоду, дні	5 [3,3-5,2]	3 [1,8-4,0]	>0,05
Хоріоамніоніт клінічно або температура у матері під час пологів > 38° С	2 (9)	2 (7)	>0,05
Відшарування плаценти	1 (5)	4 (13)	>0,05
Стероїди антенатально	14 (64)	22 (73)	>0,05
Кесарський розтин	6 (27)	16 (53)	>0,05
Оцінка за Апгар на 1 хв, бали	4 [4-5]	6 [5-6]	<0,01
Оцінка за Апгар на 5 хв, бали	5 [5-6]	6 [6-7]	<0,01
ШВЛ через маску після народження	9 (41)	8 (27)	>0,05
Інтубація і ШВЛ після народження	9 (41)	8 (27)	>0,05
Лікування сурфактантом	19 (86)	24 (80)	>0,05
Вік на момент першого введення сурфактанту, години	1,1 [0,5-3,3]	1,1 [1,0-3,8]	>0,05
Важкість стану за шкалою SNAPPE-II в перший день госпіталізації у ВІТН, бали	32,1±17,6	23,9±14,9	>0,05

Примітка 1. - Тут і далі зазначено медіану, у дужках – верхній і нижній квартилі.

Примітка 2. - Тут і далі зазначено кількість випадків, у дужках – відсотки.

Важкий РДС (3-4 стадії) вірогідно частіше діагностували в немовлят з гЗВАП. Водночас, в немовлят з гЗВАП вірогідно частіше діагностували

легеневі кровотечі та БЛД, однак частота помірно важкої і важкої БЛД істотно не відрізнялась у групах. Між групами не було встановлено статистично достовірних відмінностей за частотою раннього та пізнього сепсису (таблиця 3). Частота ВШК істотно не відрізнялись у групах, проте важкі ВШК (3-4 ступеня) вірогідно частіше діагностували у немовлят з гзВАП. Групи також не відрізнялись за частотою шлунково-кишкових кровотеч, НЕК, РН, ПВЛ та гострої ниркової недостатності (таблиця 4.2). Водночас, фармакологічне лікування гзВАП вірогідно не зменшувало частоти ВШК загалом (6 (55%) проти 5 (45%) у дітей, які не отримували лікування), важких ВШК (1 (9%) проти 5 (45%)), БЛД (6 (55%) проти 6 (55%)) і смертності (4 (36%) проти 2 (18%) відповідно; для всіх порівнянь $p > 0,05$).

Таблиця 4.2 - Порівняльна характеристика особливостей ВАП у сформованих групах немовлят

Показники	Група гзВАП (n=22)	Група ВАП (n=30)	<i>p</i>
Вік на момент діагностики ВАП, дні	2 [1-2] ¹	2 [1-2]	>0,05
Середній діаметр ВАП в перші 72 год життя, мм	3 [2,5-3,5]	2 [1,8-2,5]	<0,01
Фармакологічне лікування	11 (50) ²	16 (53)	>0,05
Лікування ібупрофеном	5 (23)	8 (27)	>0,05
Лікування парацетамолом	6 (27)	8 (27)	>0,05
Два курси лікування	6 (27)	3 (10)	>0,05
Наявність гзВАП на 8-9 добу життя	3 (15)	0	<0,05
Закриття АП в перші 10 днів життя	8 (36)	22 (73)	<0,05
Первинне закриття ВАП	17 (77)	28 (93)	>0,05
Вік дітей на момент первинного закриття ВАП, дні	11 [5-15]	7 [5-9,5]	>0,05
Повторне відкриття АП	3 (18)	5 (20)	>0,05

Закриття АП на момент виписки	13 (81)	25 (86)	>0,05
-------------------------------	---------	---------	-------

Примітка 1. – Тут і далі зазначено медіану, у дужках – верхній і нижній квартилі.

Примітка 2. – Тут і далі зазначено кількість випадків, у дужках – відсотки.

Таблиця 4.3 - Порівняльна частота супутньої патології та смертності у групах

Захворювання або ускладнення	Група гзВАП (n=22)	Група ВАП (n=30)	p
Важкий РДС (3-4 стадії)	7 (32) ¹	2 (7)	<0,05
Бронхолегенева дисплазія (БЛД)	12 (55)	7 (23)	<0,05
БЛД 2-3 ступеня важкості	3 (14)	2 (7)	>0,05
Легенева кровотеча	5 (23)	1 (3)	<0,05
Кровотеча із шлунково-кишкового тракту	3 (14)	2 (7)	>0,05
Ранній сепсис	10 (45)	8 (27)	>0,05
Пізній сепсис	2 (9)	3 (10)	>0,05
НЕК	2 (9)	1 (3)	>0,05
Внутрішньошлуночкові крововиливи (ВШК)	11 (50)	8 (27)	>0,05
Важкі ВШК (3-4 ступеня)	6 (27)	2 (7)	<0,05
Перивентрикулярна лейкомаляція	3 (14)	1 (3)	>0,05
Ретинопатія недоношених	6 (27)	9 (30)	>0,05
Гостра ниркова недостатність	1 (5)	0	>0,05
Померли	6 (27)	1 (3)	<0,05
Вік на момент смерті, дні	9 [7,9-15]	4,6	>0,05
Загальна тривалість госпіталізації, дні	69,5 [29-91]	67,5 [48-77]	>0,05

Примітка 1. – Тут і далі зазначено медіану, у дужках – верхній і нижній квартилі.

Примітка 2. – Тут і далі зазначено кількість випадків, у дужках – відсотки.

Загальна тривалість госпіталізації істотно не відрізнялись у групах, хоча частка померлих була вірогідно більшою серед немовлят з гзВАП. Середній вік на момент смерті був майже однаковим у групах (таблиця 3). Найчастішими причинами смерті були важкі ВШК (5 випадків у групі гзВАП (83 %) і 1 випадок (100 %) у групі ВАП). Ще одна дитина з групи гзВАП померла від НЕК (17%).

4.2.2 Сироваткові концентрації NT-proBNP залежно від стану артеріальної протоки

Сироваткові концентрації NT-proBNP у середньому віці 2 і 8 днів були вірогідно вищими у немовлят з гзВАП ($p < 0,01$). До восьмої доби життя рівень NT-proBNP значно зменшився в обох групах немовлят, проте залишався достовірно вищим у дітей з гзВАП (таблиця 4.4).

Таблиця 4.4 - Порівняльні концентрації NT-proBNP у сироватці крові у сформованих групах немовлят

Показники	Група гзВАП (n=22)	Група ВАП (n=30)	p
Рівень NT-proBNP в перші 24-72 год життя, пг/мл	22406,5 [15920-35000]	4967,5 [3257-10920]	<0,01
Рівень NT-proBNP на 8-9 добу життя, пг/мл	4705,5 [2290,5-8345,5]*	1678,5 [1254-2163]**	<0,01

Примітка 1. - Зазначено медіану, у дужках – верхній і нижній квантилі; * - динаміка показника статистично вірогідна ($p < 0,001$); ** - динаміка показника статистично вірогідна ($p < 0,01$).

Сироватковий вміст NT-proBNP достовірно асоціювався з ехокардіографічними маркерами гемодинамічної значущості ВАП в перші 3 доби та на 8-9 добу життя (таблиця 4.5).

Таблиця 4.5 - Коефіцієнт рангової кореляції Спірмена між рівнем NT-proBNP у сироватці крові та ехокардіографічними показниками у сформованих групах немовлят

Показники	Перші 3 доби життя		8-9 доба життя	
	r_s	p	r_s	p
Діаметр ВАП, мм	0,39	<0,05	0,66	<0,05
Кінцева діастолічна швидкість потоку у легеневій артерії < 50% пікової систолічної швидкості	0,54	<0,05	0,71	<0,05
Кінцева діастолічна швидкість потоку у легеневій артерії > 0,3 м/с	0,5	<0,05	0,77	<0,05
Співвідношення діаметра лівого передсердя до кореня аорти >1,5	0,54	<0,05	0,83	<0,05
Ретроградний діастолічний потік крові у низхідній аорті	0,64	<0,05	0,79	<0,05
Наявність гзВАП	0,71	<0,05	0,79	<0,05

На підставі результатів аналізу площі під ROC-кривою вміст NT-proBNP у сироватці крові на 2-3 добу життя (AUC = 0,93; [95% довірчий інтервал (ДІ): 0,86–1,0]; $p < 0,05$) дозволяв вірогідно передбачити наявність гзВАП у значно недоношених немовлят. Концентрація NT-proBNP у сироватці крові ≥ 12000 пг/мл у значно недоношених немовлят з ВАП діаметром > 1,5 мм у середньому віці 2 діб мала 100 % чутливість і 80 % специфічність для підтвердження наявності гзВАП (рисунок 1).

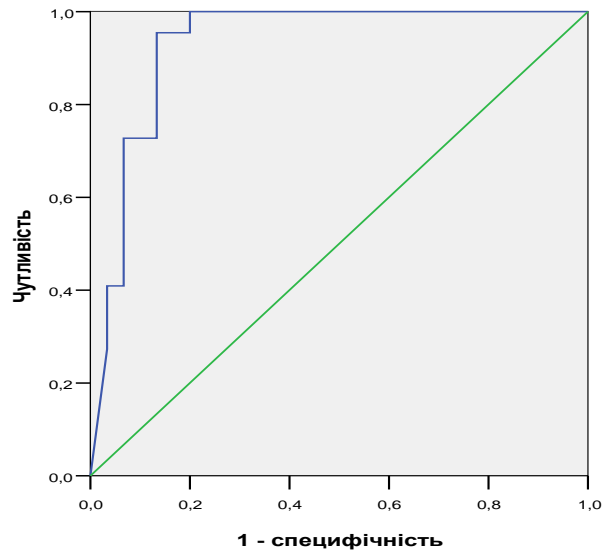


Рисунок 4.1 ROC-крива прогностичного значення сироваткових концентрацій NT-proBNP у середньому віці 2 днів щодо формування гЗВАП у вітчизняній популяції значно недоношених дітей.

5 ПЕРЕДУМОВИ ВИНИКНЕННЯ РАННІХ ТА ПІЗНІХ ВНУТРІШНЬОШЛУНОЧКОВИХ КРОВОВИЛИВІВ У НЕДОНОШЕНИХ НОВОНАРОДЖЕНИХ З ДУЖЕ МАЛОЮ МАСОЮ ТІЛА

5.1 Матеріали і методи

Під спостереженням у спеціалізованих неонатологічних відділеннях Львівської обласної клінічної лікарні (ЛОКЛ) перебувала когорта зі 111 значно недоношених немовлят масою тіла при народженні менше 1500 г. Критеріями залучення у дослідження були госпіталізація у лікарню в перші 3 дні життя і відсутність значних вад розвитку.

ВШК діагностували за допомогою нейросонографії (НСГ), яку проводили всім дітям на 3 день життя. Щоб оцінити еволюцію наявних крововиливів і діагностувати пізні ВШК, відповідно до розробленого протоколу подальші обстеження здійснювали на 5–7, 9–11, 14–16 і 24–28 доби життя, а також у скоригованому віці 36 тижнів або перед випискою дитини зі стаціонару. НСГ також проводили незалежно від віку дитини, якщо були наявні клінічні ознаки, що вказували на можливий розвиток ВШК. Використовували ультразвуковий апарат “Digitae Sonoace 5500” (Medison, Південна Корея) і конвексні датчики 5–7,5 МГц. Ступінь важкості крововиливів оцінювали, використовуючи класифікацію Papille.

Залежно від наявності крововиливу всі діти були розподілені у 2 групи. До складу основної групи увійшла 21 (19%) дитина з ВШК, діагностованими на 3 день життя, а контрольну групу утворили 90 (81%) новонароджених, в яких не було виявлено крововиливу в цьому віці. У 17 (15%) немовлят з цієї групи розвинулись пізні крововиливи (основна підгрупа), а 73 (66%) новонароджених не мали цієї патології ЦНС до виписки зі стаціонару (контрольна підгрупа).

У роботі використані стандартні методи описового, порівняльного статистичного аналізу із застосуванням критеріїв Стьюдента, Мана–Уїтні, χ^2 , а також логістичний регресійний аналіз (ЛРА). Показники, які характеризують нормальний розподіл даних, представлено як середнє \pm середнє квадратичне

відхилення. Дані з ненормальним розподілом представлено як медіану [верхній і нижній квантилі]. Усі результати вважали достовірними, якщо $p < 0,05$.

5.2 Результати та їх обговорення

Середній гестаційний вік немовлят, залучених у дослідження, становив $29,59 \pm 2,59$ тижнів. Маса тіла при народженні менше 1000 г загалом мали 17 немовлят (15%), 1000–1249 г – 32 дитини (29%) і 1250–1500 г – 62 новонароджених (56%). Середній вік дітей з основної групи на момент госпіталізації у лікарню становив 8 [3–19] год проти 10,5 [4–25] год для немовлят у контрольній групі ($p=0,51$).

Новонароджені з ранніми крововиливами (РК) мали менші гестаційний вік ($28,048 \pm 1,91$ тижнів проти $29,94 \pm 2,61$ тижнів у контрольній групі; $p=0,002$) і масу тіла при народженні ($1147,62 \pm 236,81$ г проти $1255,22 \pm 236,004$ г; $p=0,063$). Водночас, ці показники вірогідно не відрізнялись у дітей з основної і контрольної підгруп (відповідно $28,82 \pm 1,88$ тижнів проти $29,72 \pm 2,69$ тижнів; $p=0,19$; і $1204,12 \pm 284,65$ г проти $1240,43 \pm 230,95$ г; $p=0,57$). Основна група також відрізнялась від контрольної достовірно більшою часткою немовлят масою менше 1250 г (15 (71,4%) проти 34 (37,7%); $p=0,014$). Натомість, пізні крововиливи частіше траплялись у більших дітей.

Ранні ВШК вірогідно частіше були важчими, ніж пізні ($p < 0,05$) (рисунк 1), і відповідно частіше були причиною смерті дітей (9 (42,9%) випадків в основній проти 6 (6,7%) у контрольній групі; $p=0,001$).

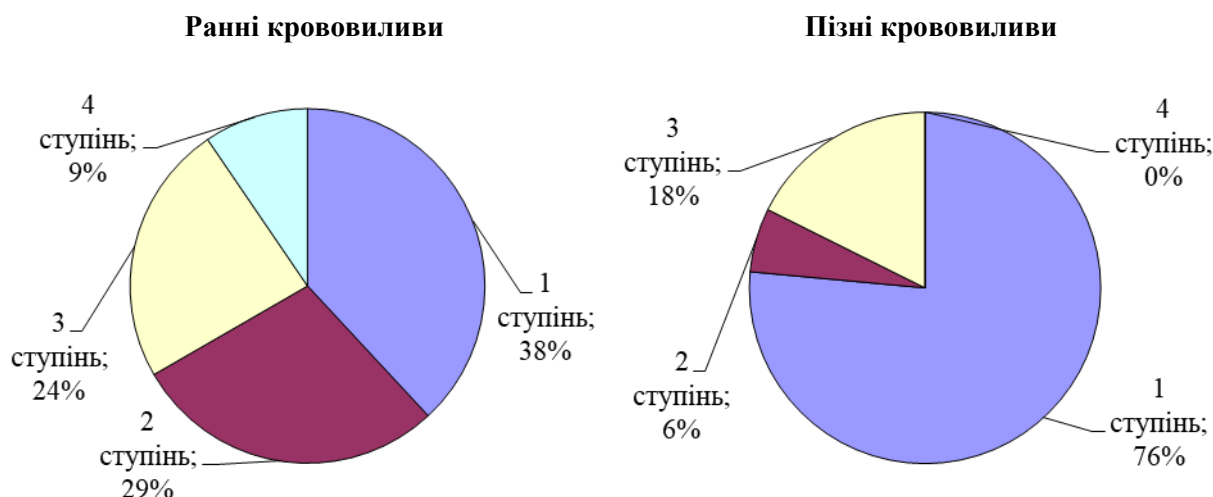


Рисунок 5.1 Порівняльний розподіл ранніх і пізніх ВШК за важкістю ($p < 0,05$).

Порівняльний аналіз медико–соціальних чинників ризику засвідчив, що матері дітей, в яких виникали ранні ВШК, вірогідно частіше мали вік до 17 років (3 (14,3%) проти 3 (3,3%) випадків; $p = 0,046$). Водночас, абсолютна більшість інших чинників ризику в анамнезі матерів дітей з ВШК не були пов'язані з виникненням обох типів крововиливів. Лише частота мертвонародження була значно вищою в анамнезі у матерів, діти яких мали пізні ВШК (відповідно 3 (17,6%) проти 1 (1,4%) випадків; $p = 0,003$).

Найбільш істотно зменшувала ризик виникнення РК антенатальна стероїдопрофілактика. Крововиливи в перші 72 год життя рідше розвивалась у дітей із затримкою внутрішньоутробного розвитку. Натомість, вірогідно частіше ранні ВШК діагностували у дітей від матерів з кровотечами в першій половині вагітності або преєклампсією (таблиця 5.1).

Ризик виникнення ранніх ВШК зростав за наявності хоріоамніоніту у матері (відповідно 6 (28,6%) проти 4 (4,4%) випадків; $p = 0,001$) або підвищення температури до фебрильних цифр під час пологів (3 (14,3%) проти 1 (1,1%) випадку; $p = 0,003$), брудних навколоплідних вод (13 (61,9%) проти 17 (18,9%) випадків; $p = 0,001$), однак, ефективна антибактеріальна терапія зменшувала цей ризик (2 (9,5%) проти 36 (40,0%) випадків; $p = 0,009$). Водночас, не було встановлено вірогідних асоціацій між інфекційними захворюваннями у матерів і виникненням пізніх ВШК у їхніх дітей. РК достовірно частіше виникали у дітей з гіпотермією, важким РДС, пневмотораксом, раннім сепсисом, клінічними ознаками відкритої артеріальної протоки (ВАП), а також у тих, хто потребували контрольованої ШВЛ або раннього призначення добутаміну (таблиця 5.1).

Таблиця 5.1 - Порівняльна частота ускладнень вагітності та пологів

Чинники ризику	Групи		p	Підгрупи		p
	Основна (n=21)	Контрольна (n=90)		Основна (n=17)	Контрольна (n=73)	
Прееклампсія	11 (52,4)	24 (26,7)	0,035	3 (17,6)	21 (28,8)	0,62
Кровотеча в першій половині вагітності	7 (33,3)	9 (10,0)	0,006	3 (17,7)	6 (8,2)	0,26
Кровотеча в останній триместр вагітності	7 (33,3)	10 (11,1)	0,098	0 (0%)	10 (13,7)	0,16
Кесарський розтин	1 (4,8)	17 (18,9)	0,13	0 (0)	1 (1,4)	0,63
Швидкі пологи	3 (14,3)	30 (33,3)	0,087	2 (11,8)	15 (20,5)	0,46
Тривалість пологів > 24 год	5 (23,8)	16 (17,8)	0,55	4 (23,5)	16 (21,9)	0,91
Відшарування плаценти	5 (23,8)	11 (12,2)	0,18	1 (5,9)	10 (13,7)	0,38
ЗВУР	0 (0)	15 (16,7)	0,052	1 (5,9)	14 (19,2)	0,22
Багатоплідна вагітність	3 (14,3)	16 (17,9)	0,71	3 (17,7)	13 (17,8)	0,99
Аntenатальна стероїдопрофілактика	6 (28,6)	63 (70,0)	0,001	14 (82,3)	49 (67,1)	0,21

Примітка 1. - Наведено кількість випадків, у дужках – відсотки. ЗВУР – затримка внутрішньоутробного розвитку плода.

У першу добу госпіталізації дітей з РК вентилювали зі значно вищим середнім тиском у дихальних шляхах ($11,14 \pm 2,57$ см водн. ст. проти $9,064 \pm 1,89$ см водн. ст.; $p=0,002$), у них також достовірно частіше виявляли ацидоз ($7,19 \pm 0,083$ проти $7,33 \pm 0,082$; $p=0,001$) і вищі показники парціального тиску CO_2 (paCO_2) ($48 [38,3-54]$ см рт. ст. проти $33 [28,4-38,9]$ мм рт. ст.; $p=0,001$).

З вищим ризиком виникнення пізніх ВШК асоціювались надання первинної реанімаційної допомоги з уведенням адреналіну і (або) непрямим масажем серця,

розвиток артеріальної гіпотензії (АГ) з потребою лікувати допаміном, наявність важкого РДС або виникнення пневмотораксу, а також лікувальне введення сурфактанту і застосування контрольованої ШВЛ (таблиця 5.2).

Таблиця 5.2 - Особливості перебігу раннього неонатального періоду і ризик виникнення ВШК у новонароджених з дуже малою масою тіла

Чинники ризику	Групи		<i>p</i>	Підгрупи		<i>p</i>
	Основна (n=21)	Контроль на (n=90)		Основна (n=17)	Контрольна (n=73)	
Інтубація і ШВЛ	6 (28,6)	29 (32,2)	0,79	7 (41,2)	22 (30,1)	0,34
Непрямий масаж серця	3 (14,3)	4 (4,4)	0,1	3 (17,6)	1 (1,4)	0,003
Уведення адреналіну	3 (14,3)	4 (4,4)	0,1	3 (17,6)	1 (1,4)	0,003
Апгар на 5 хв < 4 балів	4 (19,0)	9 (10)	0,25	1 (5,9)	8 (10,9)	0,53
ШВЛ від народження	14 (66,7)	44 (48,9)	0,16	11 (64,7)	33 (45,2)	0,17
СРАР від народження	1 (4,8)	13 (14,4)	0,23	1 (5,9)	12 (16,4)	0,26
Гіпотермія на момент госпіталізації (< 36,6° C)	20 (95,2)	6 (6,7)	0,001	0 (0)	6 (8,2)	0,22
Артеріальна гіпотензія ²	7 (33,3)	15 (16,7)	0,091	12(70,6)	3(4,1)	0,001
Добутамін ²	4 (19,1)	1 (1,1)	0,001	0 (0)	1 (1,4)	0,63
Допамін ²	6 (28,6)	14 (15,6)	0,17	12 (70,6)	2 (2,7)	0,001
Гіпотензія/допамін у віці > 3 днів	0 (0)	0 (0)	–	2 (11,8)	0 (0)	0,003

Продовження Таблиці 5.2 - Особливості перебігу раннього неонатального періоду і ризик виникнення ВШК у новонароджених з дуже малою масою тіла

Чинники ризику	Групи		<i>p</i>	Підгрупи		<i>p</i>
	Основна (n=21)	Контроль на		Основна (n=17)	Контрольна (n=73)	

		(n=90)				
Важкий РДС	14 (66,7)	29 (32,2)	0,004	17 (100)	11 (15,1)	0,001
Початкова контрольована ШВЛ	11 (52,4)	24 (26,7)	0,024	8 (47,1)	16 (21,9)	0,04
Сурфактант	8 (38,1)	18 (20,0)	0,084	7 (41,2)	11 (15,1)	0,02
Пневмоторакс у віці 1–3 днів	1 (4,8)	0 (0)	0,04	0 (0)	0 (0)	–
Пневмоторакс у віці > 3 днів	0 (0)	9 (10)	0,13	9 (52,9)	0 (0)	0,001
Клінічні ознаки ВАП у віці 1–3 днів	6 (28,6)	3 (3,3)	0,001	1 (5,9)	2 (2,7)	0,53
Ранній сепсис	13 (61,9)	2 (2,2)	0,001	0 (0)	2 (2,7)	0,49

Примітки 1. – Наведено кількість випадків, у дужках – відсотки.

Примітка 2. – Перші 24 год госпіталізації.

Примітка 3. - ВАП – відкрита артеріальна протока; СРАР – постійний позитивний тиск у дихальних шляхах.

За підсумками ЛРА встановлено, що виникнення РК було достовірно пов'язаним лише з важкістю РДС (коефіцієнт співвідношення шансів (КСШ) – 6,05; 95% довірчий інтервал (ДІ): 1,35–27,17), а на ризик виникнення пізніх крововиливів вірогідно впливала тільки АГ в перші 24 год госпіталізації (КСШ – 16,6; 95% ДІ: 2,69–102,43).

У цьому дослідженні нами було встановлено, що немовлята, в яких ВШК виникали в перші 72 год життя, вірогідно частіше народжувались від матерів, перебіг вагітностей у яких ускладнювали прееклампсія і кровотеча в першій половині вагітності. Затримка внутрішньоутробного розвитку плода зменшувала ризик виникнення цього ускладнення. Оскільки прееклампсія траплялась значно частіше у матерів дітей з ранніми крововиливами, а затримка внутрішньоутробного розвитку навпаки, можна думати, що лише важка або тривала прееклампсія може зменшувати ризик виникнення ВШК.

Отримані нами результати підтверджують відомий факт профілактичної дії стероїдів [306], призначених матері під час пологів, щодо виникнення ранніх ВШК, однак вказують на відсутність захисного ефекту щодо пізніх крововиливів. Частота ВШК цього типу не залежала від ускладненого перебігу вагітності і пологів, однак залежала від стану дитини на момент народження.

Порівняльний аналіз частоти інфекційних чинників ризику виявив імовірний зв'язок між наявністю інфекційного процесу в організмі матері напередодні і під час пологів і виникненням РК. У дослідженнях інших авторів також була встановлена асоціація між хоріоамніонітом і вищою частотою ВШК [307]. Наші результати свідчать, що ефективна антибактеріальна терапія матері може вірогідно зменшувати ризик виникнення крововиливу у новонародженого, що підтверджують дані інших авторів [308]. Водночас, ми не довели вірогідного впливу інфекційних захворювань у матерів на ризик виникнення пізніх ВШК у їхніх дітей.

За даними літератури асфіксія в пологах і використання реанімаційних заходів в пологовому залі, а також потреба ШВЛ від народження асоціюються з високим ризиком РК [309]. Діти з основної групи частіше потребували реанімаційної допомоги після народження і мали нижчі оцінки за Апгар на 5 хв, однак відмінності за частотою всіх реанімаційних утручань були невірогідними. Натомість, у немовлят, які вимагали розширеної або повної реанімації, значно частіше виникали пізні ВШК.

У нашому дослідженні діти, які не мали РК, значно частіше народжувались шляхом елективного або ургентного кесарського розтину, хоча статистично достовірних відмінностей між групами виявлено не було. Плановий кесарський розтин може мати переваги щодо профілактики ВШК у дітей з терміном гестації <30 тижнів порівняно не лише з вагінальними пологами, але і з ургентним кесарським розтином [310]. Дані мета-аналізу, які враховували всі випадки кесарського розтину, засвідчили його перевагу у запобіганні ВШК у передчасно народжених немовлят з терміном гестації < 28 тижнів, які потребували активної реанімації після народження. За умови

урахування лише випадків планового кесарського розтину, результати могли би бути кращими, оскільки потребу ургентного кесарського розтину могли визначати стани, які підвищують ризик розвитку ВШК [308].

Лікування з використанням постійного позитивного тиску у дихальних шляхах (CPAP) або ШВЛ суттєво не збільшувало ризик виникнення ВШК в перші 72 год життя, хоча початкова контрольована вентиляція виявилась вірогідним чинником ризику обох типів крововиливів. Дітей з РК вентилювали зі значно вищим середнім тиском у дихальних шляхах протягом першої доби госпіталізації, відповідно у них застосовували більший дихальний об'єм, що є чинником ризику ВШК за даними літератури [311]. Також у них достовірно частіше виявлялись ацидоз і вищі показники $p\text{CO}_2$, з чим пов'язували виникнення ВШК також інші автори [322].

РК значно частіше виникали у менших і більш незрілих дітей з гіпотермією на момент госпіталізації, важким РДС, пневмотораксом, сепсисом і клінічними ознаками ВАП (таблиця 4.2). Водночас, ми не можемо об'єктивно оцінити наявність асоціації між появою ранніх ВШК та ВАП, оскільки під час дослідження не було можливості рутинного ехокардіографічного обстеження. З вищим ризиком виникнення РК асоціювалось також призначення добутаміну.

Ризик виникнення пізніх ВШК був вірогідно пов'язаний з наданням первинної реанімаційної допомоги, яка включала уведення адреналіну і (або) непрямий масаж серця, АГ і застосуванням допаміну, розвитком важкого РДС або пневмотораксу, а також з використанням контрольованої ШВЛ і лікувальним уведенням сурфактанту (таблиця 4.2). Виникнення ВШК пов'язували з лікувальним застосуванням сурфактанту й інші автори [312], що вказує на реальність такої асоціації і в наших умовах. Вірогідні зв'язки між розвитком ВШК й АГ, застосуванням інотропних препаратів [313], наявним РДС та його ускладненнями [314] також встановлені в інших дослідженнях.

Таким чином, чинники ризику ранніх і пізніх ВШК відрізняються, що підтверджує думку про різні механізми їх виникнення. Наші дані доводять наявність вірогідного зв'язку між важкістю стану передчасно народженої

дитини, розвитком РДС, особливостями його перебігу й ефективністю лікування з виникненням ВШК не лише в перші дні після народження, але і протягом пізнього неонатального періоду. Це підкреслює важливість адекватної акушерської допомоги, раціонального застосування сурфактанту та фізіологічної дихальної підтримки відразу після народження, зокрема використання СРАР, що може запобігати розвитку важкого РДС та зменшувати потребу вводити сурфактант.

6 ДИХАЛЬНА ПІДТРИМКА У НЕДОНОШЕНИХ НОВОНАРОДЖЕНИХ

6.1 Матеріали і методи

Під спостереженням перебували 92 глибоко недоношених дитини зі встановленим діагнозом РДС. Діагноз РДС встановлювали за наявності ознак дихального дистресу, який виникав одразу або невдовзі після народження, і потреби призначити кисень, щоб підтримати рівень $PaO_2 > 50$ мм рт. ст. в комбінації з типовими рентгенографічними змінами [Помилка! Закладку не визначено.]. Критеріями включення у дослідження були маса тіла при народженні ≤ 1500 г, термін гестації ≤ 32 тиж, наявність РДС і потреба ШВЛ. Діти, яких не інтубували відразу після народження (знаходились на СРАР або отримували вільний потік кисню), але які вимагали стандартної ШВЛ в динаміці, склали основну групу дослідження (41 дитина). Новонароджені, які потребували інтубації трахеї у комплексі заходів первинної реанімаційної допомоги і відразу були переведені на апаратну ШВЛ, увійшли до групи порівняння (51 дитина).

Важкість РДС визначали за рентгенологічною стадією. Брали до уваги особливості застосування препаратів екзогенного сурфактанту. У групах порівнювали частоту найважливіших перинатальних чинників ризику, антенатального призначення стероїдів, гестаційний вік, масу тіла, стать, оцінку за шкалою Апгар на 1 і 5 хв., надання первинної реанімаційної допомоги, важкість стану після народження. Важкість загального стану в першу добу госпіталізації стандартизовано оцінювали за шкалою SNAPPE-II [315]. Враховували тривалість ШВЛ, неінвазивної дихальної підтримки (НДП) й оксигенотерапії, порівнювали частоту бронхолегеневої дисплазії (БЛД) і найважливіших захворювань (ускладнень), пов'язаних з РДС і передчасним народженням. Діагноз БЛД встановлювали згідно з консенсусними рекомендаціями Національного інституту здоров'я у модифікації Walsh та співавт. (2003), розрізняючи клінічне і фізіологічне визначення цього захворювання [316].

У всіх новонароджених використовували стандартні протоколи ДП з моніторингом газового складу крові та спостереження за станом життєвих функцій. Протягом лікування у відділенні інтенсивної терапії новонароджених здійснювався безперервний моніторинг насичення гемоглобіну киснем (SpO_2), ЧСС. Кожні 3 години або відповідно до потреби частіше вимірювали артеріальний тиск і температуру тіла, оцінювали діурез.

6.2 Результати та їх обговорення

Сформовані групи не відрізнялись за масою тіла і гестаційним віком при народженні; а також частотою антенатального призначення стероїдів і народження шляхом кесарського розтину. Діти, які увійшли до групи порівняння, мали нижчу оцінку за шкалою Апгар на 1 хв. і на момент залучення у дослідження їх загальний стан був важчим ($p < 0,01$). Вони також були госпіталізовані у відділення інтенсивної терапії у пізнішому віці ($p < 0,05$). Сурфактантну терапію частіше застосовували у немовлят, які склали основну групу, але в пізнішому віці, ніж у дітей із групи порівняння ($p < 0,05$) (таблиця 6.1).

Таблиця 6.1 - Перинатальна характеристика пацієнтів

Показник	Основна група (n=41)	Група порівняння (n=51)	p
Маса тіла, г ¹	1125,85 (178,84)	1138,03 (228,17)	>0,05
Гестаційний вік, тижні ¹	28,68 (1,54)	28,74 (2,11)	>0,05
Чоловіча стать ²	20 (48,78)	26 (50,98)	>0,05
Діти, замалі для гестаційного віку ²	2 (4,88)	5 (9,8)	>0,05
Антенатальна стероїдопрофілактика ²	22 (53,66)	31 (60,78)	>0,05
Кесарський розтин ²	23 (56,1)	28 (54,9)	>0,05
Оцінка за Апгар на 1 хв. ³	6 [2-7]	4 [1-6]	<0,01
Оцінка за Апгар < 4 балів на 5 хв. ²	1 (2,44)	3 (5,88)	>0,05

Вік на момент госпіталізації у ВІТН, год. ³	3 [1-25]	5 [1-41]	<0,05
Оцінка важкості стану за шкалою SNAPPE-II, бали ³	18 [0-41]	23 [5-75]	<0,01
РДС 3-4 стадії ²	17 (41,46)	17 (33,33)	>0,05
Тривалість початкового періоду ШВЛ, год ³	9 [1-50]	19 [5-64]	<0,01
Сурфактант (принаймні одна доза) ²	39 (95,12)	41 (80,39)	<0,05
Вік введення першої дози сурфактанту, год ³	5,5 [2-17]	4,5 [0,2-16]	<0,05

Примітка 1. - Зазначено середнє, у дужках – стандартне відхилення (SD).

Примітка 2. - Зазначено кількість випадків, у дужках – відсотки.

Примітка 3. - Зазначено медіану у дужках – [мінімальне - максимальне значення].

Повторної інтубації трахеї упродовж перших 72 год вторинної НДП потребували 16 дітей (39,02 %) в основній групі проти 11 дітей (21,57 %) у групі порівняння ($p=0,06$). Кількість повторних інтубацій не відрізнялась між групами (1 [1-4] в основній групі проти 1 [1-5] у групі порівняння; $p>0,05$). У групі порівняння тривалішим був загальний період ШВЛ (відповідно 25 [5-271] год проти 11 [1-152] год; $p<0,05$). Тривалість періоду НДП фактично не відрізнялась між групами (117 [19-645] год в основній групі проти 109 [10-576] год у групі порівняння; $p>0,05$).

Частота гострих інфекційних захворювань під час вагітності була вищою у матерів із групи порівняння (відповідно 26 (50,98 %) проти 6 (14,63 %) випадків; $p<0,01$). Крім того, лише у матерів трьох дітей (5,88 %), які увійшли до групи порівняння, було клінічно діагностовано хоріоамніоніт ($p=0,11$) та гарячку в пологах (2 випадки – 3,92 %; $p=0,19$). Проте, статистично вірогідної відмінності за частотою раннього неонатального сепсису та природженої пневмонії між групами не було виявлено (таблиця 6.2).

Таблиця 6.2 - Порівняльні параметри вентиляції під час початкової ШВЛ¹

Параметри вентиляції	Основна група (n=41)	Група порівняння (n=51)	p
FiO ₂ > 40 % ²	30 (73,17)	34 (66,67)	>0,05
FiO ₂ > 60%	3 (7,32)	11 (21,57)	>0,05
FiO ₂ = 100%	0	6 (11,76)	<0,05
PIP > 17 см H ₂ O ³	37 (90,24)	38 (74,51)	>0,05
PIP ≥ 20 см H ₂ O	11 (26,83)	13 (25,49)	>0,05

Примітка 1. - Зазначено кількість випадків, у дужках – відсотки.

Примітка 2. - FiO₂ – частка кисню у дихальній газовій суміші.

Примітка 3. - PIP – піковий тиск на вдиху.

Загальна частота ВШК, ВШК 3-4 ступеня та перивентрикулярної лейкомаляції у групах також не відрізнялась. Між ними також не було виявлено статистично вірогідних відмінностей за частотою ВАП, пневмотораксів та легеневої кровотечі в ранній неонатальний період, а також за частотою артеріальної гіпотензії і метаболічного ацидозу (рН < 7,25) в перші 3 доби життя (таблиця 6.3).

Таблиця 6.3 - Порівняльні захворюваність і смертність у групах¹

Захворювання	Основна група (n=41)	Група порівняння (n=51)	P
Внутрішньошлуночкові крововиливи	16 (39,02)	24 (47,06)	>0,05
Внутрішньошлуночкові крововиливи 3-4 ст.	5 (12,2)	3 (5,88)	>0,05
Перивентрикулярна лейкомаляція	2 (4,88)	3 (5,88)	>0,05
Ранній неонатальний сепсис	10 (24,39)	12 (23,53)	>0,05
Вроджена пневмонія	32 (78,05)	44 (86,27)	>0,05

Відкрита артеріальна протока	11 (26,83)	13 (25,49)	>0,05
Пневмоторакс	2 (4,88)	1 (1,96)	>0,05
Легенева кровотеча в ранній неонатальний період	2 (4,88)	2 (3,92)	>0,05
Частота БЛД (за фізіологічним визначенням) ¹	2 (4,88)	2 (3,92)	>0,05
Частота БЛД (за клінічним визначенням) ¹	14 (34,15)	9 (17,65)	>0,05
Сумарна частота смерті/БЛД ¹	18 (43,9)	14 (27,45)	>0,05
Померли	4 (9,76)	5 (9,8)	>0,05

Примітка. 1- кількість випадків, у дужках – відсотки.

Отже, ми не виявили істотних відмінностей за важкістю перебігу РДС у глибоко недоношених немовлят залежно від виду ДП, яку надавали після народження. На кінцеві результати лікування цих дітей у нашому дослідженні істотно не впливала і початкова важкість їхнього загального стану.

У період залучення пацієнтів у дослідження препарати екзогенного сурфактанту не завжди були в наявності, отже, не всі діти з групи порівняння мали можливість своєчасно отримати відповідну терапію, незважаючи на наявність показань. Крім того, лікувальне введення сурфактанту в пізнішому віці в основній групі було об'єктивно пов'язаним з початковим застосуванням НДП. Отже, тенденція до зростання частоти БЛД у таких дітей могла частково визначатись саме цим чинником, оскільки раннє застосування сурфактанту поєднується з нижчою частотою БЛД [317].

Неефективність початкових заходів, спрямованих на стабілізацію респіраторного статусу новонароджених у нашому дослідженні, могла бути пов'язана з тим, що майже половина – 18 дітей (43,9 %) – одразу після народження отримували вільний потік кисню, а не СРАР. П'ятеро з цих дітей в подальшому були переведені на ДП (СРАР або ШВЛ), а решта – заінтубовані. Враховуючи умови і специфіку лікувального процесу в лікарнях I і II рівня,

методика СРАР не завжди своєчасно застосовується для дітей з масою тіла при народженні < 1500 г.

Таким чином, відповідно до отриманих результатів обидва варіанти надання ДП після народження були прийнятними, але у групі дітей, які не були заінтубовані відразу після народження і в подальшому потребували ШВЛ та введення екзогенного сурфактанту, відмічалась тенденція до зростання частоти БЛД. Тому важливим є своєчасне визначення потреби застосування сурфактанту й інтенсифікації ДП. З іншого боку, початкова НДП може бути недостатньо ефективною щодо зменшення ризику БЛД у дітей, які в подальшому таки потребують ШВЛ. Водночас, наші дані свідчать, що застосування НДП після народження може зменшувати тривалість застосування інвазивної ШВЛ і пов'язані з цим ризики і видатки.

7 ОСОБЛИВОСТІ ВЕНТИЛЯЦІЇ ЛЕГЕНЬ НЕДОНОШЕНИХ НОВОНАРОДЖЕНИХ

7.1 Матеріали і методи

Під спостереженням знаходилось 80 глибоко недоношених дітей з РДС. Критеріями включення у дослідження були термін гестації ≤ 32 тиж, маса тіла при народженні ≤ 1500 г, встановлений діагноз РДС, попереднє лікування за допомогою ШВЛ й екстубація трахеї не пізніше третього дня життя. Перед екстубацією дітей рандомізовано розподіляли у дві групи: НВ – 40 дітей і СРАР – 40 дітей. Рандомізацію здійснювали з використанням непрозорих конвертів. НВ або СРАР забезпечували за допомогою апаратів Servo-i (Maquet Medical Systems, Wayne, NJ) і Leoni-2 (Heinen-Lowenstein, Germany).

Відповідно до протоколу дослідження передумовою первинної екстубації були такі параметри вентиляції: концентрація кисню у дихальній газовій суміші (FiO_2) $< 35\%$; максимальний тиск на вдиху/позитивний тиск наприкінці видиху (PIP/PEEP) $< 20/5$ см H_2O ; частота вентиляції (ЧВ) < 30 /хв., парціальний тиск CO_2 в крові ($PaCO_2$) < 60 мм рт. ст.

Враховуючи досвід інших авторів [318], у більшості дітей застосовували такі початкові параметри НДП після екстубації: НВ: позитивний тиск наприкінці видиху – 5-6 см H_2O ; максимальний тиск на вдиху – на 2-4 см H_2O $>$ тиску на стандартній ШВЛ; частота вентиляції (ЧВ) – 15-25/хв.; додатковий кисень за потребою (SpO_2 –90-95%); СРАР: позитивний тиск наприкінці видиху – 5-7 см H_2O ; додатковий кисень за потребою (SpO_2 –90-95%); із назальних пристроїв використовували довгі біназальні канюлі або назофарингеальну трубку.

Критеріями неефективності НДП (необхідність перейти на ШВЛ) були: 1) потреба $FiO_2 \geq 60\%$; $PCO_2 \geq 55$ мм рт. ст.; $pH < 7,25$; 2) значне і прогресуюче зростання важкості дихальних розладів; 3) патологічні апное (більше трьох епізодів протягом години, які поєднувались з брадикардією, або 12 задокументованих апное протягом 24 год, або один епізод апное, який вимагав

вентиляції мішком і маскою) [318]. Визначений режим ДП застосовували за протоколом мінімум 48 год. Діти могли залишатись на НВ довше двох діб, якщо це було необхідним на думку медичного персоналу.

Первинним критерієм ефективності певного методу НДП була потреба повторної інтубації упродовж 72 год після першої екстубації. У сформованих групах також порівнювали частоту БЛД у скоригованому віці (СВ) 36 тиж і частоту найважливіших захворювань (ускладнень), пов'язаних з передчасним народженням. Діагноз БЛД встановлювали згідно з консенсусними рекомендаціями Національного інституту здоров'я у модифікації Walsh та співавт. (2003), розрізняючи клінічне і фізіологічне визначення цього захворювання [319,320]. Враховували також тривалість ШВЛ, НДП й оксигенотерапії.

У групах порівнювали частоту найважливіших потенційних чинників ризику вагітності і пологів, антенатального призначення стероїдів, гестаційний вік, оцінку за шкалою Апгар на 1 і 5 хв., надання первинної реанімаційної допомоги, важкість стану після народження. Важкість загального стану в першу добу госпіталізації стандартизовано оцінювали за шкалою SNAPPE-II. Брали до уваги важкість РДС, яку визначали за рентгенологічною стадією, і терапію препаратами екзогенного сурфактанту. Діагноз відкритої артеріальної протоки (ВАП) підтверджували за допомогою доплер-ехокардіографії, наявність внутрішньошлуночкових крововиливів (ВШК) та перивентрикулярної лейкомаляції – нейросонографічно та за даними автопсії.

У роботі використано стандартні методи описової статистики і категоріального аналізу. Відмінність між безперервними показниками оцінювали за критерієм Стьюдента або у тесті Мана-Уїтні, а дискретні величини порівнювали за допомогою критерію χ^2 . Показники з нормальним розподілом представлено як середнє (стандартне відхилення)]. Усі показники вважали вірогідними, якщо $p < 0,05$.

7.2 Результати та їх обговорення

Сформовані групи не відрізнялись за масою тіла і гестаційним віком при народженні; частотою антенатального призначення стероїдів, використання кесарського розтину, інтубації після народження у комплексі заходів первинної допомоги; віком і важкістю стану на момент залучення у дослідження, частотою РДС 3-4 стадії; тривалістю початкового періоду ШВЛ (таблиця 7.1). Сурфактантну терапію частіше застосовували у групі НВ ($p < 0,05$).

Таблиця 7.1 - Порівняльна клінічна характеристика пацієнтів

Показник	Група НВ (n=40)	Група СРАР (n=40)	p
Маса тіла, грами ¹	1135,75 (196,23)	1195,00 (171,43)	>0,05
Гестаційний вік, тижні ¹	28,82 (1,86)	28,90 (1,64)	>0,05
Антенатальна стероїдопрофілактика ²	24 (60)	22 (55)	>0,05
Кесарський розтин ²	25 (62,50)	20 (50)	>0,05
Інтубація після народження ²	20 (50)	25 (62,5)	>0,05
Оцінка за Апгар на 5 хв. < 4 балів ²	1 (5)	1 (5)	>0,05
Оцінка важкості стану за шкалою SNAPPE-II, бали ³	23 [0-75]	23 [5-53]	>0,05
Тривалість початкового періоду ШВЛ, години ³	14,5 [2,5-50]	15,5 [3-64]	>0,05
Сурфактант (принаймні одна доза) ²	38 (95)	31 (77,5)	<0,05
РДС 3-4 стадії ²	17 (42,5)	14 (35)	>0,05

Примітка 1. - Зазначено середнє, у дужках – стандартне відхилення (SD)

Примітка 2. - Зазначено кількість випадків, у дужках – відсотки

Примітка 3. - Зазначено медіану у дужках – [мінімальне - максимальне значення].

Гостра інфекційна захворюваність під час вагітності у матерів в обох групах була однаковою (13 випадків – 32,5%). Проте, інші інфекційні чинники ризику частіше спостерігались у групі СРАР, хоча статистично достовірної різниці не було виявлено. Зокрема, передчасне вилиття навколоплідних вод ускладнило перебіг вагітності у 15 (37,5 %) випадках у групі НВ проти 22 (55 %) випадків у групі СРАР ($p=0,11$); фебрильну температуру під час пологів виявлено у двох матерів дітей із групи СРАР (5 %), у групі НВ таких випадків не було ($p=0,15$). Хоріоамніоніт було діагностовано у матері однієї дитини із групи НВ (2,5 %) й у двох – із групи СРАР (5 %; $p=0,55$). Призначення антибактеріальної терапії потребували матері 4 новонароджених із групи НВ і 7 немовлят із групи СРАР ($p=0,33$). Діагноз раннього неонатального сепсису було встановлено у дев'яти дітей (22,5%) із групи НВ і десяти новонароджених (25,64 %) із групи СРАР ($p>0,05$), пізнього неонатального сепсису – у десяти немовлят (25,64 %) із групи НВ та у дев'яти дітей (22,5 %) із групи СРАР ($p>0,05$).

Частота загрози переривання вагітності була майже однаковою в обох групах (19 випадків (47,5 %) у групі НВ і 20 випадків (50 %) у групі СРАР ($p>0,05$). Преєклампсія ускладнила перебіг вагітності у матерів 12 дітей із групи НВ (30 %) й у 8 (20 %) із групи СРАР ($p>0,05$). Кількість випадків відшарування плаценти (10 (25 %) у групі НВ проти 6 (15 %) у групі СРАР) та асфіксії при народженні (8 (20 %) у групі НВ проти 6 випадків (15 %) у групі СРАР) статистично не відрізнялась ($p>0,05$).

Майже однакова кількість дітей в обох групах потребували повторної інтубації трахеї упродовж перших 72 год НДП, відповідно до наведених вище критеріїв неефективності НДП (таблиця 3.2). Патологічні апное були причиною повторної інтубації у 3 випадках (27,7%) у групі НВ і в 4 (33,33%) – у групі СРАР ($p>0,05$).

Частота БЛД за клінічним визначенням статистично вірогідно не відрізнялась в обох групах (9 випадків (22,5%) у групі НВ проти 7 випадків (17,5%) у групі СРАР; $p>0,05$), а за фізіологічним визначенням була однаковою (по 1 випадку – 2,5%). Стероїди для лікування БЛД використовували в однієї дитини із групи НВ (2,5%; $p>0,05$). Випадків важкої форми БЛД не було в жодній із груп. Сумарна частота БЛД/смерті також не відрізнялась між групами. Тривалість перебування у відділенні інтенсивної терапії і загальна тривалість госпіталізації була майже однаковою (таблиця 7.2). Основною причиною смерті в обох групах було перинатальне ураження ЦНС або внутрішньо-шлуночкові крововиливи.

Таблиця 7.2 - Порівняльні результати лікування

Показник	Група НВ (n =40)	Група СРАР (n=40)	P
Потреба повторної інтубації	11 (27,5)	12 (30)	>0,05
Померли	3 (7,5)	3 (7,5)	>0,05
Частота БЛД (за фізіологічним визначенням)	1 (2,5)	1 (2,5)	>0,05
Частота БЛД (за клінічним визначенням)	9 (22,5)	7 (17,5)	>0,05
Сумарна частота смерті/БЛД	13 (32,5)	11 (27,5)	>0,05
Тривалість перебування у відділенні інтенсивної терапії, дні	9,5 [2-49]	10 [2-38]	>0,05
Загальна тривалість госпіталізації, дні	60,5 [2-119]	60 [3-82]	>0,05

Загальна частота ВШК була вищою у групі СРАР, проте ВШК 3-4 ступеня частіше виявлялись у дітей із групи НВ, хоча відмінність не була статистично достовірною. Також, у групі НВ були 2 випадки (5%) перивентрикулярної лейкомаляції. У контрольній групі такої форми ураження ЦНС не спостерігалось.

Кількість випадків відкритої артеріальної протоки була майже однаковою в обох групах, частота ретинопатії недоношених також не відрізнялась.

Знижена толерантність до ентерального харчування частіше виявлялась у групі НВ, випадків некротизуючого ентероколіту та перфорацій шлунково-кишкового тракту не було (таблиця 7.3). В однієї дитини (1,25 %) із групи НВ й у двох (2,5 %) із групи СРАР було діагностовано пневмоторакс ($p=0,55$), але у дітей із групи СРАР це ускладнення виникало під час проведення ШВЛ (один випадок - під час первинної ШВЛ, другий – під час повторної ШВЛ), а у групі НВ, коли дитина знаходилась на НВ.

Таблиця 7.3 - Порівняльна супутня захворюваність у групах

Захворювання	Група НВ (n=40)	Група СРАР (n=40)	P
Внутрішньошлуночкові крововиливи n,%	15 (37,5)	18 (45)	>0,05
Внутрішньошлуночкові крововиливи 3-4 ст.	5 (12,5)	2 (5)	>0,05
Перивентрикулярна лейкомаляція	2 (5)	0	>0,05
Відкрита артеріальна протока	10 (25)	9 (22,5)	>0,05
Знижена толерантність до харчування	18 (45)	14 (35)	>0,05
Ретинопатія недоношених	1 (1,25)	1 (1,25)	>0,05

Таким чином, у цьому дослідженні не було виявлено статистично достовірних відмінностей між двома групами дітей за потребою повторних інтубацій протягом перших 72 год вторинної НДП і загальною тривалістю ДП. Згідно з даними мета-аналізу НВ знижує випадки невдалої екстубації ефективніше за СРАР. Ця перевага є стійкою при використанні синхронізованої НВ [321]. Але можливості застосування синхронізованої вентиляції є обмеженими, оскільки лише окремі апарати ШВЛ підтримують такий режим. Також згідно з оглядовими даними не було виявлено переваги застосування синхронізованої НВ порівняно із асинхронною. В мультицентровому рандомізованому дослідженні Kirpalani та співав. не було різниці у частоті інтубацій між групами СРАР

та НВ після залучення дітей у дослідження. Як і в цьому дослідженні, нами не було встановлено переваг застосування НВ порівняно з використанням СРАР у профілактиці БЛД на тлі однакових показників смертності у групах. Водночас, у нашому дослідженні частота невдалої екстубації і рівні захворюваності на БЛД немовлят з дуже малою масою тіла при народженні не були високими. Це підтверджує переваги екстубації дітей з дуже малою масою тіла впродовж перших діб життя. Основною причиною смерті в обох групах було важке ураження ЦНС. В деяких дослідженнях застосування НВ після екстубації не наведені дані стосовно ВШК [322], згідно з даними інших досліджень не було виявлено статистичної різниці у частоті ВШК або ураження мозку між групами СРАР та НВ [323, 324]. У нашому дослідженні важкі ВШК 3-4 ступеня частіше діагностували у дітей із групи НВ, також у цій групі були випадки перивентрикулярної лейкомаляції, відсутні у групі порівняння. Проте, статистично достовірних відмінностей між двома групами за цими показниками не встановлено. Також не було виявлено статистично достовірних відмінностей між двома групами за частотою інших важливих захворювань. Тривалість перебування у відділенні інтенсивної терапії та загальна тривалість госпіталізації була майже однаковою в обох групах.

ВИСНОВКИ

1. Частота харчової гіперчутливості у дітей раннього віку у Львівській області становить 25,20 %, з них 8,60 % – гіперчутливість до коров'ячого молока. У структурі харчової гіперчутливості провідне місце займають коров'яче молоко (34,24 %), куряче яйце (28,31 %) і пшениця (23,49 %).
2. Ймовірність розвитку харчової гіперчутливості у дітей раннього віку можна розрахувати на підставі прогностичної математичної моделі ($p < 0,0001$). Ризик її розвитку зростає, якщо у родині відзначаються захворювання шкіри (коефіцієнт логістичної регресії $R = 1,36$), поліноз ($R = 1,16$), кропив'янка ($R = 0,67$), бронхіальна астма ($R = 0,61$), хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки ($R = 0,21$), а також наявність тютюнокуріння ($R = 1,06$) і частого споживання їжі в пунктах масового харчування ($R = 0,10$).
3. Зростання інтегрованої кількості рецепторів та середнього значення флуоресценції еозинофілів свідчить про метаболічну активацію даних клітин та пояснює наявність клінічних симптомів анафілаксії.
4. Вивчення рівнів специфічних IgE до мажорних і мінорних компонентів молока (Bos d 8, Bos d 4, Bos d 5, Bos d 6, Fel d 2, Can f 3) дозволяє оптимізувати діагностику IgE-залежної АБКМ і оцінити можливість перехресних реакцій. Установлено, що мажорний компонент молока казеїн (Bos d 8) має статистично значущий кореляційний зв'язок із діаметром папули ($r=0,44$) при прик-тестуванні, специфічними IgE (sIgE) до Can f 3 ($r=0,39$) та sIgE до Bos d 4 ($r=0,28$).
5. Маркером генетично детермінованої схильності до АБКМ є поліморфізм генів IL-4 T589C (rs2243250 = C-590T, промоутер, T>C) та IL-13 R130Q (rs20541, Exo 4, G>A, Arg130Gln).
6. Результати шкірного прик-тестування та оцінка молекулярного профілю сенсibilізації до білків коров'ячого молока дозволяють прогнозувати ймовірність формування харчової толерантності ($p = 0,0014$). Незалежними предикторами, які зменшують ймовірність формування толерантності при

застосуванні елімінаційної дієти (ЕД) є: діаметр папули понад 5 мм та рівень специфічних IgE до Bos d 8, Bos d 5, Bos d 4, Bos d 6 у концентрації $\geq 0,35$ kUa/L. Низька ймовірність формування толерантності є рекомендацією для призначення дієтичної корекції методом СОІТ.

7. Застосування СОІТ дозволило впродовж 36 місяців досягти істотно кращих порівняно з елімінацією результатів за такими критеріями: зростання кумулятивної кількості білка коров'ячого молока ($p < 0,05$), зростання рівню кальцію в сироватці крові ($p < 0,05$), зниження рівнів ІЛ-13 та ІЛ-4 в сироватці крові ($p < 0,01$).
8. Лікування методом СОІТ дозволило суттєво покращити якість життя дитини і її батьків, що проявлялося зниженням бальної оцінки емоційного впливу (в групі СОІТ з 3.00 [2.33; 3.50] до 0.33 [0.33; 0.50] та в групі ЕД з 2.42 [1.83; 3.13] до 1.50 [1.00; 1.83]; $p < 0,05$); тривоги, пов'язаної з їжею (відповідно з 2.33 [1.67; 3.25] до 0.33 [0.33; 0.67] та з 2.83 [2.08; 3.33] до 1.67 [1.00; 2.33]; $p < 0,05$); соціальних та дієтичних обмежень (відповідно з 2.50 [1.80; 3.35] до 0.40 [0.20; 0.60] та з 2.50 [2.05; 3.00] до 1.80 [1.05; 2.20]; $p < 0,05$).
9. За результатами шкірного алерготестування 904 школярів м. Львова, хворих на бронхіальну астму, встановлено, що у їх структурі сенсibilізації достовірно ($p < 0,05$) переважає побутова алергія (73,23%), зокрема сенсibilізація до алергенів кліщів домашнього пороку *Dermatophagoides pteronyssinus*, яка виявлена у 94,1% дітей з побутовою сенсibilізацією.
10. Акарологічний аналіз побутового пороку житла школярів, хворих на бронхіальну астму, виявив у 64% високу концентрацію кліщів, причому встановлена чисельна та видова перевага *Dermatophagoides pteronyssinus*.
11. Молекулярна діагностика алергії з визначенням високих показників специфічних IgE до мажорних компонентів алергенів *Dermatophagoides pteronyssinus* (Der p1 і Der p2) не лише підтверджує провідну роль алергенів *Dermatophagoides pteronyssinus* у розвитку кліщової алергії, але й оптимізує вибір АСІТ.

12. Застосування АСІТ дозволяє досягти впродовж 12 місячного лікування істотно кращих результатів за такими критеріями: контрольованістю астми – значення медіани (Me) АКТ у групі сублінгвальної АСІТ (1 група) зросло з 19[18;20] до 24[24;25] балів, у групі пацієнтів з підшкірною АСІТ (2 група) з 19[19;20] до 23[23;24] балів на противагу групи порівняння (3 група) з 20,5[20;22] до 22[21;22] балів ($p_{1,3}, p_{2,3} < 0,05$); показниками ОФВ₁ – приріст становив відповідно $7,68 \pm 4,63\%$, $7,40 \pm 4,01\%$ порівняно з $4,52 \pm 4,43\%$ ($p_{1,3} = 0,012$ і $p_{2,3} = 0,026$); оцінкою якості життя за симптомами (приріст склав відповідно $1,19 \pm 0,54$ балів, $1,05 \pm 0,42$ порівняно з $0,52 \pm 0,31$ ($p_{1,3}, p_{2,3} < 10^{-6}$) та емоційною функцією (відповідно $1,03 \pm 0,13$, $1,18 \pm 0,19$ порівняно з $0,88 \pm 0,35$ балів ($p_{2,3} < 10^{-4}$).
13. Застосування АСІТ дозволило знизити фармакологічне навантаження у 68,33% пацієнтів ($p < 0,05$) основної групи. Водночас 21,66% пацієнтів, які отримували виключно базисне лікування, потребували збільшення кількості та доз медикаментів.
14. Достовірне зростання IF γ на фоні застосування сублінгвальної АСІТ можна розцінювати як активацію процесу перемикання імунної відповіді з Th-2 на Th-1 опосередковану, що ілюструє позитивний вплив АСІТ.
15. Концентрація NT-proBNP у сироватці крові значно недоношених новонароджених з ВАП діаметром $> 1,5$ мм в перші 2-3 доби життя дозволяла вірогідно прогнозувати формування гзВАП.
16. Вміст NT-proBNP ≥ 12000 пг/мл у сироватці крові значно недоношених новонароджених з діаметром ВАП $> 1,5$ мм у віці 2-3 діб характеризувався 100% чутливістю і 80% специфічністю щодо прогнозування розвитку гзВАП.
17. Системні концентрації NT-proBNP у значно недоношених новонароджених вірогідно асоціювались з ехокардіографічними маркерами гемодинамічної значущості ВАП й обернено пропорційно залежали від терміну гестації немовлят.

18. Важкість РДС у недоношеного новонародженого є провідним чинником, що достовірно і незалежно визначає ризик виникнення внутрішньо шлуночкових крововиливів (ВШК) в перші 72 год життя дитини. Додатковими чинниками, що підвищують цей ризик, є ускладнений перебіг РДС, застосування несинхронізованої ШВЛ з жорсткими параметрами, використання пресорних амінів, наявність інфекційних захворювань (ускладнень) у матері або дитини, розвиток ацидозу.
19. Зменшити частоту ранніх крововиливів можна за допомогою антенатального призначення стероїдів. Виникнення ранніх ВШК вірогідно підвищує ризик смерті дитини.
20. Пізні ВШК, які виникають після 72 год життя, є достатньо поширеною проблемою значно недоношених новонароджених. Виникнення цього ускладнення вірогідно пов'язано з порушеною гемодинамікою у ранній постнатальний період, зростанням важкості й ускладненим перебігом РДС, а також методами лікування останнього.
21. Важкість респіраторного дистресу у дітей із дуже малою масою при народженні не залежить від потреби інтубації трахеї і штучної вентиляції легень у перші хвилини життя.
22. Після первинної екстубації глибоко недоношених новонароджених в перші 3 дні життя застосування неінвазивної вентиляції не має очевидних клінічних переваг в якості методу вторинної дихальної підтримки порівняно із самостійним диханням під постійним позитивним тиском.

ДОДАТОК А.1

СОУ 74.9-02010830-002:2016

МОЗ України
Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького
Метрологічна служба

КАРТА
метрологічного забезпечення виконання
планової науково-дослідної
роботи

(планової, договірної, дисертаційної, магістерської)

Тема НДР (дисертації) Удосконалення методів діагностики, лікування і профілактики найпоширеніших захворювань дитячого віку

Науковий керівник (консультант) проф. Беш Л.В.

Відповідальний виконавець доц. Герасимов С.В.

Терміни виконання з „01”січня 2017 р. до „ 01” листопада 2021 р.

Методики вимірювань (МВ), методики досліджень, які використовувались при виконанні НДР

Назва величини (параметра), яку вимірювали (досліджували), та об'єктів досліджень	Діапазон отриманих значень фізичних величин, досягнута точність вимірювань	Назва та позначення валідованої методики вимірювань, інструкції до набору реактивів, експлуатаційної документації приладів та обладнання	Лабораторія, в якій виконувались дослідження та документ, який підтверджує компетентність лабораторії на виконання цих досліджень
1	2	3	4
Алерген-специфічні методи дослідження – ргіск-тести	негативна/ позитивна/ різко позитивна	Інструкція до реактивів, водно-сольові розчини алергенів і гістаміну ТОВ «Імунолог» Україна, ліцензія серія АВ №598034 від 05.06.2012 р.; «Діатер» Іспанія, інструкція до набору алергенів.	КНП «МДКЛ м. Львова»
Концентрація загального IgE	0,1-5000,0 МОд/мл $\delta = \pm 8 \%$	Кількісне визначення концентрації загального IgE в сироватці крові методом імуноферментного аналізу – ІФА („Гранум”, Україна), інструкція до набору реактивів	КНП «МДКЛ м. Львова»
Концентрація специфічних IgE до харчових алергенів	0,1-100,0 МО/мл $\delta = \pm 8 \%$	Кількісне визначення концентрації специфічних IgE до харчових алергенів („R-Biopharm AG”, Німеччина) у сироватці крові проводили з використанням апарату RIDASCREEN („R-Biopharm AG”, Німеччина)	КНП «МДКЛ м. Львова»

продовження Додатку А.1

1	2	3	4
Концентрація інтерлейкінів IL-4, IL-13 в сироватці крові	0,1-100,0 пг/мл $\delta = \pm 8 \%$	Визначення концентрації IL-4, IL-13 в сироватці крові методом імуноферментного аналізу – ІФА („Thermo Fisher Scientific ELISA Kit test”, США), інструкція до набору реактивів	КНП «МДКЛ м. Львова»
Визначення рівня кальцію в сироватці крові	0,1-10,0 ммоль/л $\delta = \pm 8 \%$	Визначення рівня кальцію в сироватці крові методом імуноферментного аналізу – ІФА („Thermo Fisher Scientific ELISA Kit test”), інструкція до набору реактивів	Університет Святого Іштвана (м. Будапешт, Угорщина) в рамках грантового проекту Bohdan Malaniak CSMC - RECOOP Young Scientists Research Grant №9 2018 –2020 “Polymorphic variants of interleukin-13 R130Q and interleukin-4 T589C in children with and without cow’s milk allergy”
Визначення поліморфізму генів IL-4 T589C та IL-13 R130Q	IL-4 генотип AA, GA, GG, алелі A і G; IL-13 генотип CC, CT, TT; алелі C і T	Визначення поліморфізму генів IL-4 T589C та IL-13 R130Q проводили з набором реактивів „Thermo Fisher Scientific”: олігонуклеотидні праймери, матеріали для ампліфікації (інструкція до набору реактивів). ПЛР проводили в автоматичному режимі на термоциклері C1000 („BioRad Laboratories”, США)	Словацький медичний університет (м. Братислава, Словаччина) в рамках грантового проекту Bohdan Malaniak CSMC - RECOOP Young Scientists Research Grant №9 2018 –2020 “Polymorphic variants of interleukin-13 R130Q and interleukin-4 T589C in children with and without cow’s milk allergy”
Молекулярні дослідження з метою визначення специфічних IgE до компонентів алергенів молока та перехресно-реактивних альбумінів, а саме до Bos d 8, Bos d 5, Bos d 4, Bos d 6, Fel d 2, Can f 3	0,1-100,0 kU/L $\delta = \pm 10 \%$	Молекулярні дослідження проводили фотометричним аналізом з використанням ALEX®-MADX Immunoassay (“MedTech”, Австрія)	Кафедра патологіології та алергологічних досліджень Віденського медичного університету (м. Відень, Австрія) у рамках міжнародної співпраці між університетами
Визначення профілю сенсibiliзації до 282 специфічних IgE	0,1-100,0 kUA/L $\delta = \pm 10 \%$	Визначення профілю сенсibiliзації проводили багатокомпонентним фотометричним аналізом з використанням ALEX MADX Immunoassay (“MedTech”, Австрія)	ТОВ «ЕСКУЛАБ»
Підрахунок кількості клітин	Мікроскопічні дослідження	Флуоресцентну мікроскопію проводили за допомогою флуоресцентного мікроскопа “Olympus BX5” (Японія), оснащеного набором фільтрів “Omega Filters XF407” (США) та камерою “Olympus DP30BW” (Японія) для візуалізації ближнього інфрачервоного сигналу флуоресценції. Для зображень використовувались об’єктиви 40x 0,75NA та 90x 1,0NA водний.	Лабораторія кафедри гістології, цитології та ембріології ЛНМУ

Дослідження методом УЗД	1-300 мм ± 3 %	Ультразвукове дослідження внутрішніх органів, експлуатаційна документація до приладу УЗД SSA-660A	МДКЛ
Дослідження методом УЗД	1-300 мм ± 3 %	Ультразвукове дослідження шлуночків головного мозку, експлуатаційна документація до приладу УЗД SonoAce X8, Samsung Medison CO., LTD	ЛОКЛ
Статистична обробка матеріалу здійснюватиметься за допомогою програмного забезпечення «Excel» (Microsoft, США) та «STATISTICA» 6.0. («Statsoft», США), RStudio v. 1.1.442 та R Commander v.2.4-4 та Prism 9.1.2 (серійний номер GPS-2158197-TGSV-68E7F).			Орлов А. И. Математика случая: Вероятность и статистика – основные факты : учебное пособие / А. И. Орлов. – М. : МЗ-Пресс, 2004. – 110 с.

ДОДАТОК А.2

Засоби вимірювальної техніки, випробувальне та допоміжне обладнання, які використовувались при виконанні НДР

Назва, тип, модель	Зав. №, рік випуску	Назва величин (параметрів), що вимірювалися (досліджувалися, задавалися),	Основні метрологічні характеристики		Дати повірок, метрологічного контролю в період виконання досліджень	Місцезнаходження приладів, обладнання
			границі вимірювань	клас точності, похибка		
1	2	3	4	5	6	7
Аналізатор хемілюмінесцентний	UA/37/18090 4/001150	Визначення концентрації сироваткових специфічних імуноглобулінів Ig E до rDer p1, rDer p2, rDer p10 в сироватці крові	0-100 kUA/l	±1%	30/08/2017 30/08/2018	ТОВ «МЛ»ДІЛА», м.Київ, 01103, вул. проф. Підвисоцького ба.
Аналізатор імуноферментний StatFax 303 plus	10833	Концентрація	0 – 2,5 Б	±1%	Св. №35/17-5981 від 29.09.2017 до 29.09.2018 Св.№35/08-383 від 25.09.18 до 25.09.19.	КНП «МДКЛ»
Аналізатор імуноферментний SUNRISE Tecan	0390004650	Концентрація	0-3 Б	± 2 %	ДП св.№36/18-9841 13.11.2018 р.	Імунологічна лабораторія кафедри імунології та алергології ЛНМУ
Вага торсійна BT-500	3408	Маса речовини	0-500 мг	± 2 мг	ДП св.№5154 24.11.2017 р.	Лабораторія кафедри гістології, цитології та ембріології ЛНМУ
Дозатори піпеткові 100-1000	YL6G188978 YL6G188968	Об'єм	100-1000 мкл 100-1000 мкл	± 2 % ± 2 %	ДП св.№2714 11.05.2018 р.	Лабораторія кафедри гістології, цитології та ембріології ЛНМУ
Мірний посуд	-		0,01-1000 мл	2 кл.	-	Лабораторія кафедри гістології, цитології та ембріології ЛНМУ

продовження Додатку А.2

1	2	3	4	5	6	7
Іономір універсальний рН-150	1005	рН	-1 - 19 рН	± 0,05 рН	ДП св.№35/18-10565 03.12.2018 р.	Лабораторія кафедри гістології, цитології та ембріології ЛНМУ
Автоматичний гематологічний аналізатор ABX Micros-60	91067	Концентрація	0-3 Б	± 2,5 %	15.0.2019	МДКЛ
Апарат УЗД SSA-660A	LGA07365	Лінійний розмір	1-300 мм	± 3 %	21.05.2019	МДКЛ
Апарат УЗД SonoAce X8, Samsung Medison CO., LTD	9018, 2010 р.	Лінійні розміри, напрямок шунтування, градієнт тиску.	0 – 300 мм	± 0,03 L	26.12.17	ЛОКЛ

Науково-дослідна робота завершена „01” листопада 2021 р.

Науковий керівник (консультант) проф. Беш Л.В. „01” листопада 2021 р.

Відповідальний виконавець доц. Герасимов С.В. „01” листопада 2021 р.

Метрологічна експертиза проведена, про що зроблено запис в журналі за № _____

Головний метролог А.А. Пилипенко _____ ” _____ 2021 р.

Нормоконтроль звіту про НДР (рукопису дисертації) проведений, про що зроблено запис в журналі за № _____

Нормоконтролер А.А. Пилипенко _____ ” _____ 2021 р.

ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ

1. Liu AH, Jaramillo R, Sicherer SH, Wood RA, Bock SA, Burks AW [et al.]. National prevalence and risk factors for food allergy and relationship to asthma: Results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2005-2006. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Oct;126(4):798-806.e13. DOI: 10.1016/j.jaci.2010.07.026.
2. Blazowski L, Majak P, Kurzawa R, Kuna P, Jerzynska J [et al.]. Food allergy endotype with high risk of severe anaphylaxis in children-Monosensitization to cashew 2S albumin *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2019 Oct;74(10):1945-55. DOI: 10.1111/all.13810.
3. Eggesbø M, Botten G, Stigum H, Nafstad P, Magnus P. Is delivery by cesarean section a risk factor for food allergy? *J Allergy Clin Immunol*. 2003 Aug;112(2):420-6. DOI: 10.1067/mai.2003.1610.
4. De Waard-van der Spek FB, Darsow U, Mortz CG, Orton D, Worm M, Muraro A [et al.]. EAACI position paper for practical patch testing in allergic contact dermatitis in children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2015 Nov;26(7):598-606. DOI: 10.1111/pai.12463.
5. Matsyura O. Polymorphic variants of interleukin-13 R130Q and interleukin-4 T589Q in children with and without cow's milk allergy. Project Interim Report II. In: Materials of 13th RECOOP Annual Project Review Meeting; 2018 Apr 12-15; Zagreb, Croatia. Zagreb; 2018. P. 90-3.
6. Ashley S, Tan T, Dang T, Ellis J, Saffery R, Allen KJ [et al.]. Skin Barrier Function and Candidate Genes IL-13 & SPINK5 in Food Allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2015; 135(2): AB384.
7. Burks AW, Tang M, Sicherer S, Muraro A, Eigenmann PA, Ebisawa M [et al.]. ICON: food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Apr;129(4):906-20. DOI: 10.1016/j.jaci.2012.02.001.
8. James JM. Food allergy / James M. John, Wesley Burks, Philippe Eigenmann; Elsevier Inc. 2012. P. 113 – 127, 143 – 204.

-
9. Sun J, Hui X, Ying W, Liu D, Wang X. Efficacy of allergen-specific immunotherapy for peanut allergy: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Allergy Asthma Proc.* 2014 Mar-Apr;35(2):171-7. DOI: 10.2500/aap.2014.35.3730.
 10. Ahrens B, Schulz G, Bellach J, Niggemann B, Beyer K. Chemokine levels in serum of children with atopic dermatitis with regard to severity and sensitization status. *Pediatr Allergy Immunol.* 2015 Nov;26(7):634-40. DOI: 10.1111/pai.12431.
 11. Garcia-Ara C, Boyano-Martinez T, Diaz-Pena JM, Martin-Munoz F, Reche-Frutos M, Martin-Esteban M. Specific IgE levels in the diagnosis of immediate hypersensitivity to cow's milk protein in the infant. *J Allergy Clin Immunol.* 2001 Jan;107(1):185-90. DOI: 10.1067/mai.2001.111592.
 12. Мацюра ОІ, Беш ЛВ, Слюзар ЗЛ, Беш ОМ. Гіпоалергенний побут: пам'ятка / ЛНМУ імені Данила Галицького. Львів; 2020. 10 с.
 13. Охотнікова ОМ, Гладуш ЮІ, Бондаренко ЛВ, Мелліна КВ, Федущка ГМ, Підвишенна ТВ [та ін.]. Гастроінтестинальна форма харчової алергії у дітей - актуальна проблема сучасності. *Здоровье ребенка.* 2015; 1 (60): 29-35.
 14. Ревякина ВА. Пищевая аллергия, гастроинтестинальные проявления. *Лечащий врач.* 2013; 4: 13-17.
 15. Urry Z, Chambers ES, Xystrakis E, Dimeloe S, Richards DF, Gabryšová L [et al.]. The role of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 and cytokines in the promotion of distinct Foxp3 + and IL-10 + CD4 + T cells. *Eur J Immunol.* 2012; 42 (10): 2697-708. doi.org/10.1002/eji.201242370.
 16. Meglio P, Giampietro PG, Gianni S, Galli E. Oral desensitization in children with immunoglobulin E-mediated cow's milk allergy-follow-up at 4 yr and 8 months. *Pediatr Allergy Immunol.* 2008 Aug;19(5):412-9. DOI: 10.1111/j.1399-3038.2007.00670.x.
 17. Draaisma E, Garcia-Marcos L, Mallol J, Solé D, Pérez-Fernández V, Brand PL; EISL Study Group. A multinational study to compare prevalence of atopic dermatitis in the first year of life. *Pediatr Allergy Immunol.* 2015 Jun;26(4):359-66. DOI: 10.1111/pai.12388.

-
18. Fiocchi A, Pecora V, Valluzzi RL, Fierro V, Mennini M. Use of biologics in severe food allergies. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2017 Jun;17(3):232-8. DOI: 10.1097/ACI.0000000000000357.
 19. Matsyura O, Besh L. Differential diagnosis of skin allergies in children. In: *Materials of RECOOP 14th Bridges in Life Sciences*; 2019 Apr 10-14; Bratislava, Slovak Republic. Bratislava; 2019. P. 156.
 20. Dioszeghy V, Mondoulet L, Puteaux E, Dhelft V, Ligouis M, Plaquet C [et al.]. Differences in phenotype, homing properties and suppressive activities of regulatory T cells induced by epicutaneous, oral or sublingual immunotherapy in mice sensitized to peanut. *Cell Mol Immunol.* 2017 Sep; 14(9): 770-82. DOI.org/10.1038/cmi.2016.14.
 21. Fleischer DM, Perry TT, Atkins D, Wood RA, Burks AW, Jones SM [et al.]. Allergic reactions to foods in preschool-aged children in a prospective observational food allergy study. *Pediatrics.* 2012 Jul;130 (1):e25-e32. DOI: 10.1542/peds.2011-1762.
 22. Koletzko S, Heine RG. Non-IgE mediated cow's milk allergy in EuroPrevall. *Allergy.* 2015 Dec;70(12):1679-80. DOI: 10.1111/all.12681.
 23. Tsuda M, Hosono A, Yanagibashi T, et al. Prior stimulation of antigenpresenting cells with *Lactobacillus* regulates excessive antigen-specific cytokine responses in vitro when compared with *Bacteroides*. *Cytotechnology.* 2007 Nov; 55 (3): 89-101.
 24. Berin MC, Sampson HA. Mucosal immunology of food allergy. *Curr Biol.* 2013 May 6; 23(9): R389-R400. DOI: 10.1016/j.cub.2013.02.043.
 25. Macia L, Tan J, Vieira AT, Leach K, Stanley D, Luong S [et al.]. Metabolite-sensing receptors GPR43 and GPR109A facilitate dietary fibre-induced gut homeostasis through regulation of the inflammasome. *Nat Commun.* 2015 Apr;6:6734. DOI: 10.1038/ncomms7734.
 26. Negoro T, Orihara K, Irahara T, Nishiyama H, Hagiwara K, Nishida R [et al.]. Influence of SNPs in cytokine-related genes on the severity of food allergy and atopic eczema in children. *Pediatr Allergy Immunol.* 2006 Dec;17(8):583-90. DOI: 10.1111/j.1399-3038.2006.00463.x.

-
27. Ismail FW, Abid S, Awan S, Lubna F. Frequency of food hypersensitivity in patients with Functional Gastrointestinal Disorders. *Acta Gastroenterol Belg.* 2018 Apr-Jun; 81 (2):253-6.
28. Rifkin DB. Latent transforming growth factor-beta (TGF-beta) binding proteins: orchestrators of TGF-beta availability. *J Biol Chem.* 2005 Mar 4;280(9):7409-12. DOI: 10.1074/jbc.R400029200.
29. Nowak-Węgrzyn A, Katz Y, Mehr SS, Koletzko S. Non-IgE-mediated gastrointestinal food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2015 May;135(5):1114-24. DOI: 10.1016/j.jaci.2015.03.025.
30. Sampson HA. Food allergy: past, present and future. *Allergol Int.* 2016 Oct;65(4):363-9. DOI: 10.1016/j.alit.2016.08.006.
31. Syriou E, Angelakopoulou A, Zande M, Panagiotou I, Roma E, Pitsios C. Allergy-test-driven elimination diet is useful in children with eosinophilic esophagitis, regardless of the severity of symptoms. *Pediatr Allergy Immunol.* 2015 Jun;26(4):323-9. DOI: 10.1111/pai.12389. PMID: 25845555.
32. Taylor A, Verhagen J, Akkoc T, Wenig R, Flory E, Blaser K, et al. IL-10 suppresses CD2-mediated T cell activation via SHP-1. *Mol Immunol.* 2009 Feb;46(4):622-9. DOI: 10.1016/j.molimm.2008.07.031.
33. Уманець ТР, Шадрін ОГ та ін. (2015). Основні положення настанов з ведення хворих з алергією до коров'ячого молока. *Современная педиатрия.* 3 (67):20–28. <https://doi.org/10.15574/SP.2015.67.20>
34. Беш ЛВ, Мацюра ОІ, Бобик ВП. Оральні провокаційні проби в педіатрії: показання, ризики та власний досвід. *Здоровье ребенка.* 2017; 12 (7):797-802. DOI: 10.22141/2224-0551.12.7.2017.116185.
35. Гариб В. Молекулярный риск развития анафилаксии. В: *Материалы XV Междунар. науч.-практ. конгр. Астма и аллергия; 2015 Апр 24-25; Алматы, Казахстан.* Алматы; 2015.

-
36. Дитяча імунологія: підруч. / Л.І. Чернишова, А.П. Волоха, Л.В. Костюченко, Д.В. Самарін, А.В. Бондаренко, В.П. Чернишов [та ін.]; за ред. проф. Л.І. Чернишової, А.П. Волохи. К.: Медицина; 2013. 720 с.
37. Wang J, Sampson HA. Food allergy. *J Clin Investig.* 2011 Mar;121(3):827-35. doi.org/10.1172/JCI45434.
38. Беш ЛВ, Мацюра ОІ. Харчова анафілаксія: аналіз протокольних стандартів, літературних даних і власний клінічний досвід. *Астма та алергія.* 2017; 4: 26-31.
39. Skypala IJ, Venter C, Meyer R, deJong NW, Fox AT, Groetch M [et al.]. The development of a standardised diet history tool to support the diagnosis of food allergy. *Clin Transl Allergy.* 2015 Feb;5:7. DOI: 10.1186/s13601-015-0050-2.
40. Lack G. Update on risk factors for food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2012 May;129(5):1187-97. DOI: 10.1016/j.jaci.2012.02.036.
41. Koletzko S, Niggemann B, Arato J, Dias JA, Heuschkel R, Husby S [et al.]. Diagnostic approach and management of cow's-milk protein allergy in infants and children: ESPGHAN GI Committee practical guidelines. *Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012 Aug; 55(2): 221-9. DOI: 10.1097/MPG.0b013e31825c9482.
42. Silverberg JI, Simpson EL. Association between severe eczema in children and multiple comorbid conditions and increased healthcare utilization. *Pediatr Allergy Immunol.* 2013 Aug;24(5):476-86. DOI: 10.1111/pai.12095.
43. Nelson HS, Lahr J, Rule R, Bock A, Leung D. Treatment of anaphylactic sensitivity to peanuts by immunotherapy with injections of aqueous peanut extract. *J Allergy Clin Immunol.* 1997 Jun;99(6 Pt 1):744-51. DOI: 10.1016/s0091-6749(97)80006-1.
44. Panesar SS, Javad S, de Silva D, Nwaru BI, Hickstein L [et al.]. The epidemiology of anaphylaxis in Europe: a systematic review. *Allergy.* 2013 Nov; 68(11):1353-61. DOI: 10.1111/all.12272.

-
45. Stiemsma LT, Reynolds LA, Turvey SE, Finlay BB. The hygiene hypothesis: current perspectives and future therapies. *Immunotargets Ther.* 2015 Jul 27;4:143-57. DOI: 10.2147/ITT.S61528. eCollection 2015.
46. Aguilar A, Serra J. When a patient with suspected food intolerance has to be studied. *Aten Primaria.* 2020 Mar; 52(3):140-1. DOI: 10.1016/j.aprim.2020.02.002. [In Spanish].
47. Marth K, Focke-Tejkl M, Lupinek C, Valenta R, Niederberger V. Allergen Peptides, Recombinant Allergens and Hypoallergens for Allergen-Specific Immunotherapy. *Curr Treat Options Allergy.* 2014 Feb; 1 (1): 91-106. doi.org/10.1007/s40521-013-0006-5.
48. Sinai T, Goldberg MR, Nachshon L, Amitzur-Levy R, Yichie T, Katz Y [et al.]. Reduced final height and inadequate nutritional intake in cow's milk-allergic young adults. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2019 Feb;7(2):509-515. DOI: 10.1016/j.jaip.2018.11.038.
49. Smith SJ, Abrams EM, Kozyrskyj A, Becker A, Protudjer JL. Food allergy and growth from late childhood to early adolescence. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2020 Oct;125(4):483-5. DOI: 10.1016/j.anai.2020.05.030.
50. Беш ЛВ, Мацюра ОІ. Оральні провокаційні проби в педіатричній практиці. *Алергія у дитини.* 2017; 21-22: 35-8.
51. Fiocchi A, Brozek J, Schu H [et al.]. World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA) Guidelines. 2010; P. 57–161.
52. Балаболкин ИИ. Аллерген-специфическая иммунотерапия детей с аллергическими заболеваниями. *Фарматика.* 2014; 4: 21-6.
53. Майданник ВГ, Беш ЛВ, Колоскова ОК, Сміян ОІ. Бронхіальна астма в дітей: нові клінічні рекомендації. *Міжнар. журн. педіатрії, акушерства і гінекології.* 2018; 12(1):28-42.

-
54. Уманец ТР. Детская аллергология: от науки к практике. Здоров`я України. 2015; 1: 11-3.
55. Мацюра ОІ, Беш ЛВ, Слюзар ЗЛ, Беш ОМ. Елімінаційно-провокаційний тест / ЛНМУ імені Данила Галицького. Львів; 2020. 16 с.
56. Valenta R, Karaulov A, Niederberger V, Gattinger P, van Hage M, Flicker S, Linhart B, Campana R, Focke-Tejkl M, Curin M, Eckl-Dorna J, Lupinek C, Resch-Marat Y, Vrtala S, Mittermann I, Garib V, Khaitov M, Valent P, Pickl WF. Molecular Aspects of Allergens and Allergy. *Adv Immunol.* 2018;138:195-256. DOI: 10.1016/bs.ai.2018.03.002. Epub 2018 Apr 26. PMID: 29731005.
57. Охотнікова ОМ. Гастроінтестинальна форма харчової алергії у дітей - актуальна проблема сучасності. *Здоровье ребенка.* 2015; 1(60):29-35.
58. Bauer A, Ekanayake Mudiyansele S, Wigger-Alberti W, Elsner P. Oral rush desensitization to milk. *Allergy.* 1999;54(8):894-5.
59. Chafen JJ, Newberry SJ, Riedl MA, Bravata DM, Maglione M, Suttorp MJ [et al.]. Diagnosing and managing common food allergies: A systematic review. *JAMA.* 2010 May 12;303(18):1848-56. DOI: 10.1001/jama.2010.582.
60. Fiocchi A, Brozek J, Schunemann HJ, Bahna SL, von Berg A, Beyer K [et al.]. World allergy organization (WAO) diagnosis and rationale for action against Cow's milk allergy (DRACMA) guidelines. *World Allergy Organ J.* 2010 Apr;3(4):57-161. DOI: 10.1097/WOX.0b013e3181defeb9.
61. Campana R, Dzoro S, Mittermann I, Fedenko E, Elisyutina O, Khaitov M, Karaulov A, Valenta R. Molecular aspects of allergens in atopic dermatitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2017 Aug;17(4):269-277. DOI: 10.1097/ACI.0000000000000378. PMID: 28622169; PMCID: PMC6392175.
62. Fiocchi A, Schunemann HJ, Brozek J, Restani P, Beyer K, Troncone R [et al.]. Diagnosis and rationale for action against cow's milk allergy (DRACMA): a summary report. *J Allergy Clin Immunol.* 2010 Dec;126(6):1119-28.e12. DOI: 10.1016/j.jaci.2010.10.011.

-
63. De Silva D, Halcken S, Singh Ch, Muraro A, Angier E, Arasi S [et al.]. Preventing immediate-onset food allergy in infants, children and adults: Systematic review protocol. *Pediatr Allergy Immunol.* 2020; 31 (3):243-9. doi.org/10.1111/pai.13177.
64. Robbins KA, Wood RA, Keet CA. Milk allergy is associated with decreased growth in US children. *J Allergy Clin. Immunol.* 2014 Dec;134:1466-8. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.08.037.
65. Shokouhi Shoormasti R, Fazlollahi MR, Barzegar S, Teymourpour P, Yazdanyar Z, Lebaschi Z [et al.]. The Most Common Cow's Milk Allergenic Proteins with Respect to Allergic Symptoms in Iranian Patients. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2016 Apr;15(2):161-5.
66. Van den Hoogen SC, van de Pol AC, Meijer Y, Toet J, van Klei C, de Wit NJ. Suspected cow's milk allergy in everyday general practice: a retrospective cohort study on health care burden and guideline adherence. *BMC Res Notes.* 2014 Aug;7:507. DOI: 10.1186/1756-0500-7-507.
67. Wahn U. Allergic children need more than diets, drugs and creams. *Pediatr Allergy Immunol.* 2015 Apr; 26 (3): 188-9. doi.org/10.1111/pai.12378.
68. Jansen PR, Petrus NCM, Venema A, Posthuma D, Mannens MMM, Sprikkelman AB [et al.]. Higher polygenetic predisposition for asthma in cow's milk allergic children. *Nutrients.* 2018 Oct;10(11):1582. DOI: 10.3390/nu10111582.
69. Turner PJ. Persistent allergy to cow's milk: of greater a clinical concern than other food allergies. *Pediatr Allergy Immunol.* 2013 Nov;24(7):624-6. DOI: 10.1111/pai.12148.
70. Bila G, Schneider M, Peshkova S, Krajnik B, Besh L, Lutsyk O, Matsyura O, Bilyy R. Novel approach for discrimination of eosinophilic granulocytes and evaluation of their surface receptors in a multicolor fluorescent histological assessment. *Ukr Biochem J.* 2020 Mar-Apr; 92 (2): 99-106. DOI: <https://doi.org/10.15407/ubj92.02.099>.

-
71. Woods RK, Stoney RM, Raven J, Walters EH, Abramson M, Thien FC. Reported adverse food reactions overestimate true food allergy in the community. *Eur J Clin Nutr*. 2002 Jan;56(1):31-6. DOI: 10.1038/sj.ejcn.1601306.
72. Воробьева ОВ, Гущин ИС. Контролируемое исследование эффективности и безопасности аллергенспецифической иммунотерапии: исторический аспект. *Рос. аллергол. журн*. 2011; 4: 3-15.
73. Turner PJ, Baumert JL, Beyer K, Boyle R, Chan CH, Clark A [et al.]. Can we identify patients at risk of life-threatening allergic reactions to food? *Allergy*. 2016 Nov;71:1241-55. DOI: 10.1007/s10616-007-9104-1.
74. Ashley S, Tan T, Dang T, Ellis J, Saffery R, Allen KJ [et al.]. Skin Barrier Function and Candidate Genes IL-13 & SPINK5 in Food Allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2015; 135(2): AB384.
75. Yamamoto-Hanada K, Futamura M, Takahashi O, Narita M, Kobayashi F, Ohya Y [et al.]. Caregivers of children with no food allergy-their experiences and perception of food allergy. *Pediatr Allergy Immunol*. 2015. Nov;26(7):614-7. DOI: 10.1111/pai.12442.
76. Spergel JM. From atopic dermatitis to asthma: the atopic march. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2010 Aug;105(2):99-106; quiz 107-9, 117. DOI: 10.1016/j.anai.2009.10.002.
351. Spergel JM. Natural history of cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131:813-4. DOI: 10.1016/j.jaci.2013.01.027.
77. Romantsik O, Bruschetti M, Tosca MA, Zappettini S, Della Casa Alberighi O, Calevo MG. Oral and sublingual immunotherapy for egg allergy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014 Nov;18 (4):CD010638. DOI: 10.1002/14651858.CD010638.pub3.
78. Venter C, Brown T, Meyer R, Walsh J, Shah N, Nowak-Węgrzyn A [et al.]. Better recognition, diagnosis and management of non-IgE-mediated cow's milk allergy in infancy: iMAP—an international interpretation of the MAP (Milk Allergy in Primary

Care) guideline. Clin Transl Allergy. 2017 Aug; 7 (1): 26. doi.org/10.1186/s13601-017-0162-y.

79. Tsai HJ, Kumar R, Pongracic J, Liu X, Story R, Yu Y [et al.]. Familial aggregation of food allergy and sensitization to food allergens: A family-based study. Clin Exp Allergy. 2009;39:101-9. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2008.03111.x.

80. Patriarca G, Schiavino D, Nucera E, Schinco G, Milani A, Gasbarrini GB. Food allergy in children: results of a standardized protocol for oral desensitization. Hepato-Gastroenterology. 1998;45:52-8.

81. Kurzawa R. Anafilaksja – nie jedno ma imię. Alergia Astma Immunologia. 2017; 22 (2-3): 30-2.

82. Patriarca G, Nucera E, Roncallo C, Pollastrini E, Bartolozzi F, De Pasquale T [et al.]. Oral desensitizing treatment in food allergy: clinical and immunological results. Aliment Pharmacol Ther. 2003 Feb;17(3):459-65. DOI: 10.1046/j.1365-2036.2003.01468.x.

83. Rautava S, Isolauri E. Cow's milk allergy in infants with atopic eczema is associated with aberrant production of interleukin-4 during oral cow's milk challenge. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2004 Nov; 39(5): 529-35. DOI: 10.1097/00005176-200411000-00015.

84. Гайдучик ГА. Характеристика спектра сенсibiлізації дітей раннього віку з гастроінтестинальною харчовою алергією та коморбідними алергічними захворюваннями. Перинатология и педиатрия. 2019; 1 (77): 58-62.

85. Patriarca G, Nucera E, Pollastrini E, De Pasquale T, Lombardo C, Buonomo A [et al.]. Oral rush desensitization in peanut allergy: a case report. Dig Dis Sci. 2006 Mar;51(3):471-3. DOI: 10.1007/s10620-006-3157-4.

86. Wang J, Godbold JH, Sampson HA. Correlation of serum allergy (IgE) tests performed by different assay systems. J Allergy Clin Immunol. 2008 May;121 (5):1219-24. DOI: 10.1016/j.jaci.2007.12.1150.

-
87. Nowak-Węgrzyn A, Chehade M, Groetch ME, Spergel JM, Wood RA, Allen K [et al.]. International consensus guidelines for the diagnosis and management of food protein-induced enterocolitis syndrome: executive summary- workgroup report of the adverse reactions to foods committee, American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J Allergy Clin Immunol*. 2017 Apr;139(4):1111-26.e4. DOI: 10.1016/j.jaci.2016.12.966.
88. Ludman S, Shah N, Fox AT. Managing cow's milk allergy in children. *BMJ*. 2013 Sep;347:f5424. DOI: 10.1136/bmj.f5424.
89. Venter C, Brown T, Shah N, Walsh J, Fox AT. Diagnosis and management of non-IgE-mediated cow's milk allergy in infancy – a UK primary care practical guide. *Clin Transl Allergy*. 2013 Jul 8;3(1):23. DOI: 10.1186/2045-7022-3-23.
90. Yeung JP, Kloda LA, McDevitt J, Ben-Shoshan M, Alizadehfar R. Oral immunotherapy for milk allergy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012 Nov 14;11(11):CD009542. DOI: 10.1002/14651858.CD009542.pub2.
91. Knibb RC, Semper H. Impact of suspected food allergy on emotional distress and family life of parents prior to allergy diagnosis. *Pediatr Allergy Immunol*. 2013 Dec;24(8):798-803. DOI: 10.1111/pai.12176.
92. Walsh J, O'Flynn N. Diagnosis and assessment of food allergy in children and young people in primary care and community settings: NICE clinical guideline. *Br J Gen Pract*. 2011 Jul;61(588):473-5. DOI: 10.3399/bjgp11X583498.
93. Giovannini M, D'Auria E, Caffarelli C, Verduci E, Barberi S, Indinnimeo L [et al.]. Nutritional management and follow up of infants and children with food allergy: Italian Society of Pediatric Nutrition/Italian Society of Pediatric Allergy and Immunology Task Force Position Statement. *Ital J Pediatr*. 2014 Jan 3;40:1. DOI: 10.1186/1824-7288-40-1.
94. Besh L, Muraro A, Matsyura O, Bonaguro R. Experience in diagnostics and treatment of milk allergy in children in Padua (Italy). *Asthma Allergy*. 2017;3:1-6.

-
95. Luyt D, Ball H, Makwana N, Green MR, Bravin K, Nasser SM [et al.]. BSACI guideline for the diagnosis and management of cow's milk allergy. *Clin Exp Allergy*. 2014;44(5):642-72. DOI: 10.1111/cea.12302.
96. Knowledge Summaries [Internet]. 2019 [cited 2019 Mar 11]. Available from: <http://www.cks.nice.org.uk/cows-milk-protein-allergy-in-children>.
97. Meyer R, et al. (2016) The impact of the elimination diet on growth and nutrient intake in children with food protein induced gastrointestinal allergies. *Clin Transl Allergy* 6: 25. DOI:10.1186/s13601-016-0115-x.
98. Fiocchi A, Burks W, Bahna SL, Bielory L, Boyle RJ, Cocco R [et al.]. WAO special committee on food allergy and nutrition. Clinical use of probiotics in pediatric allergy (CUPPA): a world allergy organization position paper. *World Allergy Organ J*. 2012 Nov;5(11):148-67. DOI: 10.1097/WOX.0b013e3182784ee0.
99. Silva R, Gomes E, Cunha L, Falcão H. Anaphylaxis in children: a nine years retrospective study (2001-2009). *Allergol Immunopathol*. 2012 Jan-Feb;40(1):31-6. DOI: 10.1016/j.aller.2010.12.012.
100. Sinai T, Goldberg MR, Nachshon L, Amitzur-Levy R, Yichie T, Katz Y [et al.]. Reduced final height and inadequate nutritional intake in cow's milk-allergic young adults. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019 Feb;7(2):509-515. DOI: 10.1016/j.jaip.2018.11.038.
101. Otani IM, Bégin P, Kearney C, Dominguez T, Mehrotra A, Bacal LR [et al.]. Multiple-allergen oral immunotherapy improves quality of life in caregivers of food-allergic pediatric subjects. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2014 May;10(1):25. DOI: 10.1186/1710-1492-10-25. eCollection 2014.
102. Caminati M, Durić-Filipović I, Arasi S, Peroni DG, Živković Z, Senna G. Respiratory allergies in childhood: Recent advances and future challenges. *Pediatr Allergy Immunol*. 2015 Dec; 26 (8): 702-10. DOI: 10.1111/pai.12509.

-
103. Celakovská J, Ettlrová K, Ettler K, Vaněčková J, Bukač J. Food hypersensitivity in patients suffering from atopic dermatitis and sensitization to soy. *Indian J Dermatol*. 2014 Jan-Feb; 59(1): 106. DOI: 10.4103/0019-5154.123545.
104. Охотнікова ОМ, Усова ОІ. Історія алергології: міст з минулого в майбутнє. *Клін. імунологія. Алергологія. Інфектологія*. 2017; 2 (99): 87-93.
105. Grimshaw KE, Bryant T, Oliver EM, Martin J, Maskell J, Kemp T, Clare Mills EN, Foote KD, Margetts BM, Beyer K, Roberts G. Incidence and risk factors for food hypersensitivity in UK infants: results from a birth cohort study. *Clin Transl Allergy*. 2015 Jan 26;6:1. DOI: 10.1186/s13601-016-0089-8. eCollection 2015.
106. Jones SM, Burks AW, Keet C, Vickery BP, Scurlock AM, Wood RA [et al.]. Longterm treatment with egg oral immunotherapy enhances sustained unresponsiveness that persists after cessation of therapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Apr;137(4):1117-27.e10. DOI: 10.1016/j.jaci.2015.12.1316.
107. Couto M, Silva D, Piedade S, Borrego L, Flokstra-de Blok B, Galvin AD [et al.]. Translation to Portuguese and cultural adaptation of Food Allergy Quality of Life Questionnaire - Parent Form (FAQLQ-PF). *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2016 May;48(3):82-7.
108. Leonard SA, Martos G, Wang W, Nowak-Węgrzyn A, Berin MC. Oral immunotherapy induces local protective mechanisms in the gastrointestinal mucosa. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Jun;129(6):1579-87.e1. DOI: 10.1016/j.jaci.2012.04.009.
109. Santos A, Dias A, Pinheiro JA. Predictive factors for the persistence of cow's milk allergy. *Pediatr Allergy Immunol*. 2010 Dec;21 (8):1127-34. DOI: 10.1111/j.1399-3038.2010.01040.x.
110. Takahashi M, Taniuchi S, Soejima K, Hatano Y, Yamanouchi S, Kaneko K. Two-weeks-sustained unresponsiveness by oral immunotherapy using microwave heated cow's milk for children with cow's milk allergy. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2016 Aug;12(1):44. DOI: 10.1186/s13223-016-0150-0. eCollection 2016.

-
111. Salvilla SA, Dubois AE, Flokstra-de Blok BM [et al.]. Disease-specific health-related quality of life instruments for IgE-mediated food allergy. *Allergy*. 2014 Jul;69(7):834-44. DOI: 10.1111/all.12427.
112. Fiocchi A, Schunemann H, Ansotegui I, Assa'ad A, Bahna S, Canani RB [et al.]. The global impact of the DRACMA guidelines cow's milk allergy clinical practice. *World Allergy Organ J*. 2018 Jan; 11 (1): 2. DOI: 10.1186/s40413-017-0179-7.
113. Paasilta M, Salmivesi S, Maki T, Helminen M, Korppi M. Children who were treated with oral immunotherapy for cows' milk allergy showed long-term desensitisation seven years later. *Acta Paediatr*. 2016 Feb;105(2):215-9. DOI: 10.1111/apa.13251.
114. Venter C, Arshad SH. Epidemiology of food allergy. *Pediatr Clin N Am*. 2011 Apr;58(2):327-49, ix. DOI: 10.1016/j.pcl.2011.02.011.
115. Ward C, Greenhawt M. Differences in caregiver food allergy quality of life between a tertiary care, specialty clinic, and a caregiver reported food allergic populations. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016 Mar-Apr;4(2):257-64.e3. DOI: 10.1016/j.jaip.2015.07.023
116. Wood RA, Kim JS, Lindblad R, Nadeau K, Henning AK, Dawson P [et al.]. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of omalizumab combined with oral immunotherapy for the treatment of cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Apr;137(4):1103-10.e11. DOI: 10.1016/j.jaci.2015.10.005.
117. Koike Y, Takahashi N, Yada Y, Kawama R. Selectively High Level of Serum Interleukin 5 in a Newborn Infant With Cow's Milk Allergy. *Pediatrics*. 2011; 127 (1): e231-4. DOI: 10.1542/peds.2009-2318.
118. Panesar SS, Javad S, de Silva D, Nwaru BI, Hickstein L. [et al.]. The epidemiology of anaphylaxis in Europe: a systematic review. *Allergy*. 2013 Nov;68(11):1353-61. DOI: 10.1111/all.12272.

-
119. Wölbing F, Biedermann T. Anaphylaxis: opportunities of stratified medicine for diagnosis and risk assessment. *Allergy*. 2013 Dec; 68(12): 1499-508. doi.org/10.1111/all.12322.
120. World Health Organization, UNICEF. WHO child growth standards and the identification of severe acute malnutrition in infants and children. Geneva:World Health Organization; 2009. P. 1-12.
121. Vieira MC, Morais MB, Spolidoro JV, Toporovski MS, Cardoso AL, Araujo GT [et al.]. A survey on clinical presentation and nutritional status of infants with suspected cow' milk allergy. *BMC Pediatr*. 2010 Apr;10:25.
122. Taylor-Black S., Wang J. The prevalence and characteristics of food allergy in urban minority children. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2012 Dec;109(6):431-7. DOI: 10.1016/j.anai.2012.09.012.
123. Venter C. Food hypersensitivity: diagnosing and managing food allergies and intolerances. *J Allergy (Cairo)*. 2012 Nov; 2012:576017. doi.org/10.1155/2012/576017.
124. Matsyura O, Borysiuk O, Besh L, Zubchenko S, Lukyanenko N, Gutor T [та ін.]. Translation, adaptation and initial validation of the food allergy quality of life questionnaire - child form (8 - 12 years) in Ukrainian language. *CEUR Workshop Proceedings*. 2020; 2753:311-22
125. Yanagida N, Sato S, Asaumi T, Okada Y, Ogura K, Ebisawa M. A single-center, case-control study of low-dose-induction oral immunotherapy with Cow's milk. *Int Arch Allergy Immunol*. 2015;168(2):131-7. DOI: 10.1159/000442157
126. Escudero C, Rodriguez Del Rio P, Sanchez-Garcia S, Perez-Rangel I, Perez-Farinos N, Garcia-Fernandez C [et al.]. Early sustained unresponsiveness after short-course egg oral immunotherapy: a randomized controlled study in egg-allergic children. *Clin Exp Allergy*. 2015 Dec;45(12):1833-43. DOI: 10.1111/cea.12604.
127. Gocki J, Kołodziejczyk J, Przybyszewski M, Bartuzi Z. Food hypersensitivity in patients with pollen allergy. *Przegl Lek*. 2016; 73(12):809-12.

-
128. Strinnholm Å, Hedman L, Winberg A, Jansson SA, Lindh V, Rönmark E. Health Related Quality of Life among schoolchildren aged 12-13 years in relation to food hypersensitivity phenotypes: a population-based study. *Clin Transl Allergy*. 2017 Jul;7:20. DOI: 10.1186/s13601-017-0156-9. eCollection 2017.
129. Мацюра ОІ, Беш ЛВ, Слюзар ЗЛ, Беш ОМ. Пелюшковий дерматит у дітей: особливості діагностики, принципи профілактики та лікування / ЛНМУ імені Данила Галицького. Львів; 2020. 12 с.
130. Besh L, Matsyura O, Besh O, Troyanovska O, Zubchenko S, Slyuzar Z [i in.]. Wyprysk opryszczkowy u niemowlęcia – opis przypadku. *Pediatr Med Rodz*. 2020; 16 (3): 320-4. DOI: 10.15557/PiMR.2020.0059.
131. Besh LV, Matsyura OI, Houmani F. Optimization of external care in children of early age with skin symptoms of food allergy. *Asthma Allergy*. 2019; 1: 31-5. DOI: 10.31655/2307-3373-2019-1-31-35.
132. Kusunoki T, Morimoto T, Nishikomori R, Yasumi T, Heike T, Mukaida K [et al.]. Breastfeeding and the prevalence of allergic diseases in schoolchildren: does reverse causation matter? *Pediatr Allergy Immunol*. 2010 Feb;21(1 Pt 1):60-6. DOI: 10.1111/j.1399-3038.2009.00982.x.
133. Feldman LY, Thacher JD, van Hage M, Kull I, Melén E, Pershagen G [et al.]. Early-life secondhand smoke exposure and food hypersensitivity through adolescence. *Allergy*. 2018; 73(7):1558-61.
134. Godwin H, Dziubak R, Meyer R, De Koker C, Shah N. The quality of life of children with food protein induced gastrointestinal allergies. In: The 46th Annual Meeting of The European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition; 2013 May 8-11; London, England. *JPGN*. 2013; 56 Suppl 2: 5.
135. Kuzume K, Kusu M. Before-birth climatologic data may play a role in the development of allergies in infants. *Pediatr Allergy Immunol*. 2007 Mar; 18 (4): 281-7. doi.org/10.1111/j.1399-3038.2006.00526.x

-
136. Høst A. Cow's milk protein allergy and intolerance in infancy. Some clinical, epidemiological and immunological aspects. *Pediatr Allergy Immunol.* 1994;5 Suppl 5:1-36. DOI: 10.1111/j.1399-3038.1994.tb00352.x.
137. Jakobsen MD, Braaten T, Obstfelder A, Abelsen B. Self-reported food hypersensitivity: Prevalence, characteristics, and comorbidities in the Norwegian Women and Cancer Study. *PLoS One.* 2016 Dec 16;11(12):e0168653. DOI: 10.1371/journal.pone.0168653. eCollection 2016.
138. Excellence NifHaC. NICE: quality standard for food allergy. NICE Quality Standard 118 [Internet]. 2016 [cited 2019 Apr 22]. Available from: <http://www.nice.org.uk/guidance/qs118>.
139. Frischmeyer-Guerrero PA, Masilamani M, Gu W, Brittain E, Wood R, Kim J [et al.]. Mechanistic correlates of clinical responses to omalizumab in the setting of oral immunotherapy for milk allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2017 Oct;140(4):1043-53.e1-e8. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.03.028.
140. Weisse K, Winkler S, Hirche F, Herberth G, Hinz D, Bauer M [et al.]. Maternal and newborn vitamin D status and its impact on food allergy development in the German LINA cohort study. *Allergy.* 2013 Feb;68(2):220-8. DOI: 10.1111/all.12081.
141. Майданник ВГ, Сміян ОІ, Сищенко ПІ, Попов СВ, Романюк ОК, Горбач ВА. Бронхіальна астма у дітей: навч. посіб. Суми: СумДУ; 2017. 243 с.
142. Рёкен М, Греверс Г, Бургдорф В. Наглядная аллергология. Лысиков ЮА, Мосолова ТП, редакторы; Горенкова НА, переводчик с англ. М.: Бином. Лаборатория знаний; 2009. 238 с.
143. Беш ЛВ. Бронхіальна астма у дітей. *Здоровье ребенка.* 2012; 8 (43):8-10.
144. Кайдашев ІП, Драннік ГМ. Теоретичні основи сублінгвальної специфічної імунотерапії та окремі аспекти її практичного застосування: метод. рек. К.; 2007. 27 с.

-
145. Makatsori M, Pfaar O, Leonart R, Calderon MA. Recombinant allergen immunotherapy: clinical evidence of efficacy. A review. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2013 Aug;13(4): 371-80. DOI: 10.1007/s11882-013-0359-7.
146. Беш ЛВ, Ласиця ТС, Беш ОМ. Бронхіальна астма в практиці сімейного лікаря. Львів: Простір-М; 2018. 116 с.
147. Беш ЛВ, Слюзар ЗЛ, Беш ОМ. Аккарологический портрет жилья детей города Львова, больных бронхиальной астмой. Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии. Материалы науч.-практ. конгр. с междунар. участием; 2017 окт. 24-25. *Рос. вестн. перинатологии и педиатрии.* 2017; 62 (4).
148. Клименко ВА, Романова АС. Почему не удается достигнуть контроля бронхиальной астмы: коморбидные состояния. *Клініч. імунологія. Алергологія. Інфектологія.* 2012; 2: 8-10.
149. Кузнецова ЛВ, Бабаджан ВД, Фролов ВМ, редактори. *Клінічна та лабораторна імунологія.* К.: ООО Полиграф плюс; 2012. 922 с.
150. Курбачева ОМ, Павлова КС. Высокодозная сублингвальная иммунотерапия: целесообразность и безопасность. *Рос. аллергол. журн.* 2014; 3: 63-7.
151. EAACI Guideline on Allergen Immunotherapy allergic asthma V 4.0 / +04 June 2017. 2.
152. Eifan AO, Shamji MH, Durham SR. Long-term clinical and immunological effects of allergen immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2011 Dec; 11 (6):586-93. DOI: 10.1097/ACI.0b013e32834cb994.
153. Jutel M, Bartkowiak-Emeryk M, Bręborowicz A, Cichocka-Jarosz E, Emeryk A, Gawlik R et al. Sublingual immunotherapy (SLIT) indications, mechanism, and efficacy: Position paper prepared by the Section of Immunotherapy, Polish Society of Allergy. *Ann Agric Environ Med.* 2016 Mar 23;23(1):44-53. DOI: 10.5604/12321966.1196851.

-
154. Eifan O, Akkoc T, Yildiz A, Keles S, Ozdemir C, Bahceciler NN [et al.]. Clinical efficacy and immunological mechanisms of sublingual and subcutaneous immunotherapy in asthmatic/rhinitis children sensitized to house dust mite: an open randomized controlled trial. *Clin Exp Allergy*. 2010; 40: 922-932. doi.org/10.1111/j.1365-2222.2009.03448.x.
155. Fiore F, Cox L. Allergen Immunotherapy: Best Practices. *JAMA*. 2013; 309: 1278-88.
156. Nelson HS, Harold S. Allergy immunotherapy: Future directions for the 2020s. *J Allergy Asthma Proc*. 2020 Sep 1; 41(5):314-25. DOI: 10.2500/aap.2020.41.200041.
157. Yukselen A, Kendirli SG, Yilmaz M, Altintas DU, Karakoc GK. Effect of one-year subcutaneous and sublingual immunotherapy on clinical and laboratory parameters in children with rhinitis and asthma: a randomized, placebo-controlled, double-blind, double-dummy study. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013; 160 (1): 37-46. DOI: 10.1159/000327566.
158. Seidenberg J, Pajno GB, Bauer CP, La Grutta S, Sieber J. Safety and tolerability of seasonal ultra-rush, high-dose sublingual swallow immunotherapy in allergic rhinitis to grass and tree pollens: an observational study in 193 children and adolescents. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009;19(2):125-31.
159. Bachert C, Larche M, Bonini S, Canonica GW, Kündig Th, Larenas-Linnemann D et al. Allergen immunotherapy on the way to product-based evaluation WAO statement. *World Allergy Organ J*. 2015 Sep 16;8(1):29. DOI: 10.1186/s40413-015-0078-8.
160. Sastre J. Molecular diagnosis in allergy. *Clin Exp Allergy*. 2010 Oct;40(10):1442-60. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2010.03585.x.
161. Resch Y, Weghofer M, Seiberler S, Horak F, Scheibelhofer S, Linhart B [et al.]. Molecular characterization of Der p 10: a diagnostic marker for broad sensitization in house dust mite allergy. *Clin Exp Allergy*. 2011 Oct;41(10):1468-77. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2011.03798.x.

-
162. Корицька ІВ. Алергія та алергенспецифічна імунотерапія. Клін. імунологія. 2013; 4: 73 5.
163. Weghofer M, Grote M, Resch Y, Casset A, Kneidinger M, Kopec J [et al.]. Identification of Der p 23, a peritrophin-like protein, as a new major *Dermatophagoides pteronyssinus* allergen associated with the peritrophic matrix of mite fecal pellets. *J Immunol.* 2013 Apr 1; 190(7): 3059–67. DOI: 10.4049/jimmunol.1202288.
164. Jiménez-Feijoo R, Pascal M, Moya R, Riggioni C, Domínguez O, Lózano J [et al.]. Molecular diagnosis in house dust mite allergic patients suggests clinical relevance of Der p23 in asthmatic children. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2020Apr 24;30(2):127 32. DOI: 10.18176/jiaci.0431.
165. Akdis CA, Barlan IB, Bahceciler N, Akdis M. Immunological mechanisms of sublingual immunotherapy. *Allergy.* 2006; 61 Suppl 81:11 4. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2006.01159.x.
166. Van Ree R. Analytical aspects of standardization of allergenic extracts. *Allergy.* 1997 Aug; 52(8):795 805. DOI: 10.1111/j.1398-9995.
167. Akdis CA, Akdis M. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy and immune tolerance to allergens. *World Allergy Organ J.* 2015; 14, 8 (1): 17. DOI: 10.1186/s40413-015-0063-2.
168. Casset A, Mari A, Purohit A, Resch Y, Weghofer M, Ferrara R [et al.]. Varying allergen composition and content affects the in vivo allergenic activity of commercial *Dermatophagoides*
169. Casset A, Valenta S, Vrtala R. Allergen content and in vivo allergenic activity of house dust mite extracts. *Int Arch Allergy Immunol.* 2013; 161 (3): 287–8. DOI: 10.1159/000347047.
170. Bahceciler NN, Galip N, Cobanoglu N. Multiallergen-specific immunotherapy in polysensitized patients: where are we? *Immunotherapy.* 2013 Feb; 5 (2):183–90. DOI: 10.2217/imt.12.161.

-
171. Lu Y, Xu L, Xia M, Li Y, Cao L. The efficacy and safety of subcutaneous immunotherapy in mitesensitized subjects with asthma: a meta-analysis. *Respir Care*. 2015 Feb;60(2):269-78. DOI: 10.4187/respcare.03399.
172. Van de Veen W, Wirz OF, Globinska A, Akdis M. Novel mechanisms in immune tolerance to allergens during natural allergen exposure and allergen-specific immunotherapy. *Curr Opin Immunol*. 2017 Oct; 48: 74–81. DOI: 10.1016/j.coi.2017.08.012.
173. Scadding GW, Calderon MA, Bellido V, Koed GK, Nielsen NC, Lund K et al. Optimisation of grass pollen nasal allergen challenge for assessment of clinical and immunological outcomes. *J Immunol Methods*. 2012 Oct 31;384(1-2):25–32. DOI: 10.1016/j.jim.2012.06.013.
174. Tsabouri S, Mavroudi A, Feketea G, Guibas GV. Subcutaneous and Sublingual Immunotherapy in Allergic Asthma in Children. *Front Pediatr*. 2017 Apr 21;5:82. DOI: 10.3389/fped.2017.00082. eCollection 2017.
175. Ye Z, Huang Y, Wang Y [et al.]. Effect of house dust mite vaccine on pulmonary function and inhaled corticosteroid doses in children with allergic asthma. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2012; 32: 1632–5.
176. Недельська СМ, Ярцева ДО, Марчук НМ, Даценко ОМ. Новий погляд на механізми індукції ремісії алергічних захворювань при лікуванні алергенами. *Здоров'я ребенка*. 2013; 8: 27–32.
177. Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги. Бронхіальна астма: № 868 від 08 жовтня 2013 р. / МОЗ України [Інтернет]. 2013 [цитовано 2016 Бер. 14]. Доступно: <http://www.moz.gov.ua>.
178. Small P, Keith PK, Kim H. *Allergy, Asthma Clin Immunol*. 2018 Sept; 2018; 14(2): S31–4151(14). doi.org/10.1186/s13223-018-0280-7.
179. Passalacqua G, Garelli V, Scilifò F, Canonica GW. Sublingual immunotherapy for allergic rhinitis and conjunctivitis. *Immunotherapy*. 2013; 5 (3): 257–64.

-
180. Muraro A, Roberts G, Halken S, Agache I, Angier E, Fernandez-Rivas M et al. EAACI guidelines on allergen immunotherapy: executive statement. *Allergy*. 2018Apr;73(4):739-43. DOI: 10.1111/all.13420.
181. Moed H, Röder E, Bindels R. Efficacy of sublingual immunotherapy. *JAMA*. 2013 Aug 14; 310(6): 644-6. DOI: 10.1001/jama.2013.7643.
182. Tabatabaian F, Casale TB. Selection of patients for sublingual immunotherapy (SLIT) versus subcutaneous immunotherapy (SCIT). *Allergy Asthma Proc*. 2015 Mar Apr;36(2):100-4. DOI: 10.2500/aap.2015.36.3830.
183. Bozek A, Kozłowska R, Jarzab J. The safety of specific immunotherapy for patients allergic to house-dust mites and pollen in relation to the development of neoplasia and autoimmune disease: a long-term, observational case-control study. *Int Arch Allergy Immunol*. 2014;163(4): 307-12. DOI: 10.1159/000361022.
184. Gentile DA. Sublingual immunotherapy improves symptoms of allergic rhinoconjunctivitis and asthma. *Evid Based Med*. 2014 Feb;19(1): 34-5.
185. Деркач МІ, Чоп'як ВВ. Алергенспецифічна імунотерапія: історія, сучасні погляди та проблеми. Актуальні питання клінічної ендокринології, імунології та алергології. Матеріали наук.-практ. конф.; 2013 жовт 24-25; Чернівці. Чернівці; 2013. Міжнар. ендокринол. журн. 2013; 6: 144-50.
186. Tosca MA, Licari A, Olcese R, Marseglia G, Sacco O, Ciprandi G. Immunotherapy and asthma in children. *Front Pediatr*. 2018 Aug; 6: 231. DOI: 10.3389/fped.2018.00231.
187. Hatami H, Ghaffari N, Ghaffari J, Rafatpanah H. Role of Cytokines and Chemokines in the Outcome of Children With Severe Asthma. *J Pediatr Rev*. 2019; 7(1): 17-28
188. Tosca M, Sivestri M, Accogli A, Rossi GA, Ciprandi G. Serum-specific IgE and Allergen Immunotherapy in Allergic Children. *Immunotherapy*. 2014; 6(1):29-33. DOI:10.2217/imt.13.145.

-
189. La Rosa M, Lionetti E, Leonardi S, Salpietro A, Bianchi L, Salpietro C et al. Specific immunotherapy in children: the evidence. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2011 Oct;24, Suppl 4:69-78. doi.org/10.1177/039463201102405413.
190. Licari A, Manti S, Castagnoli R, Marseglia A, Foiadelli T, Brambilla I et al. Immunomodulation in Pediatric Asthma. *Front Pediatr.* 2019; 7: 289. DOI: 10.3389/fped.2019.00289.
191. Koch J, Hensley G, Roy L, Brown S, Ramaciotti C, Rosenfeld CR. Prevalence of spontaneous closure of the ductus arteriosus in neonates at a birth weight of 1000 grams or less. *Pediatrics* 2006;117:1113–21.
192. Clyman RI, Couto J, Murphy GM. Patent ductus arteriosus: are current neonatal treatment options better or worse than no treatment at all? *Semin Perinatol.* 2012;36(2):123–9.
193. Lemmers PM, Benders MJ, D'Ascenzo R, Zethof J, Alderliesten T, Kersbergen KJ, et al. Patent Ductus Arteriosus and Brain Volume. *Pediatrics.* 2016;137(4):e20153090. <https://doi.org/10.1542/peds.2015-3090>.
194. Tosse V, Pillekamp F, Verde P, Hadzik B, Sabir H, Mayatepek E, et al. Urinary NT-proBNP, NGAL, and H-FABP may predict hemodynamic relevance of patent ductus arteriosus in very low birth weight infants. *Neonatology.* 2012;101(4):260–6.
195. Sellmer A, Bjerre JV, Schmidt MR, et al. Morbidity and mortality in preterm neonates with patent ductus arteriosus on day 3. *Archs Dis Childh Fetal Neonatal Ed.* 2013;98:F505–10.
196. Shah PS. Pharmacologic management of patent ductus arteriosus in the very preterm neonate. In: *Hemodynamics and cardiology: neonatology questions and controversies* / [edited by] I. Seri, M. Kluckow; RA. Polin. Third edition. Philadelphia, PA: Elsevier, Inc., 2019;411-25.
197. Amin SB, Handley C, Carter-Pokras O. Indomethacin use for the management of patent ductus arteriosus in preterms: a web-based survey of practice attitudes

among neonatal fellowship program directors in the United States. *Pediatr Cardiol.* 2007 May-Jun;28(3):193-200. DOI:10.1007/s00246-006-0093-1

198. Guimaraes H, Rocha G, Tome T, Anatolitou F, Sarafidis K, Fanos V. Non-steroid anti-inflammatory drugs in the treatment of patent ductus arteriosus in European newborns. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009;22 Suppl 3:77-80. DOI: 10.1080/14767050903198314.

199. Irmesi R, Marcialis MA, Anker JV, Fanos V. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in the management of patent ductus arteriosus (PDA) in preterm infants and variations in attitude in clinical practice: a flight around the world. *Curr Med Chem.* 2014;21(27):3132-52. DOI:10.2174/0929867321666140304095434

200. Variations in management of patent ductus arteriosus and use of echocardiography in preterm neonates <29 weeks gestation: an international survey. *Pediatric Academic Societies Meeting.* May 6-9, 2017.

201. El Hassan NO, Bird TM, King AJ, Ambadwar PB, Jaquiss RD, Kaiser JR, et al. Variation and comparative effectiveness of patent ductus arteriosus pharmacotherapy in extremely low birth weight infants. *J Neonatal Perinatal Med.* 2014 Jan 1;7(3):229-35. DOI: 10.3233/NPM-14814015.

202. Hagadorn JI, Brownell EA, Trzaski JM, Johnson KR, Lainwala S, Campbell BT, et al. Trends and variation in management and outcomes of very low-birth-weight infants with patent ductus arteriosus. *Pediatr Res.* 2016 Dec;80(6):785-792. DOI: 10.1038/pr.2016.166.

203. Lokku A, Mirea L, Lee SK, Shah PS. Canadian Neonatal Network. Trends and outcomes of patent ductus arteriosus treatment in very preterm infants in Canada. *Am J Perinatol.* 2017 Apr;34(5):441-450. DOI: 10.1055/s-0036-1593351.

204. Edstedt Bonamy AK, Gudmundsdottir A, Maier RF, Toome L, Zeitlin J, Bonet M, et al. Patent ductus arteriosus treatment in very preterm infants: a European population-based cohort study (EPICE) on variation and outcomes. *Neonatology.* 2017. 111: 367–75.

-
205. Pacifici GM. Clinical pharmacology of indomethacin in preterm infants: implications in patent ductus arteriosus closure. *Paediatr Drugs*. 2013 Oct;15(5):363-76. DOI: 10.1007/s40272-013-0031-7.
206. Godambe S, Newby B, Shah V, Shah PS. Effect of indomethacin on closure of ductus arteriosus in very-low-birthweight neonates. *Acta Paediatr*. 2006 Nov;95(11):1389-93. DOI:10.1080/08035250600615150
207. Sangem M, Asthana S, Amin S: Multiple courses of indomethacin and neonatal outcomes in premature infants. *Pediatr Cardiol*. 2008 Sep;29(5):878-84. DOI:10.1007/s00246-007-9166-z
208. Ohlsson A, Shah SS. Ibuprofen for the prevention of patent ductus arteriosus in preterm and/or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019 Jun;6:CD004213. DOI: 10.1002/14651858.CD004213.pub4.
209. Ohlsson A, Walia R, Shah SS. Ibuprofen for the treatment of patent ductus arteriosus in preterm or low birth weight (or both) infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018 Sep 28;9:CD003481. DOI: 10.1002/14651858.CD003481.pub7.
210. Mitra S, Florez ID, Tamayo ME, Mbuagbaw L, Vanniyasingam T, Veroniki AA, et al. Association of placebo, indomethacin, ibuprofen, and acetaminophen with closure of hemodynamically significant patent ductus arteriosus in preterm infants: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2018 Mar;319(12):1221-38. DOI: 10.1001/jama.2018.1896.
211. Hundscheid T, Onland W, van Overmeire B, Dijk P, van Kaam AHLC, Dijkman KP, et al. Early treatment versus expectative management of patent ductus arteriosus in preterm infants: a multicentre, randomised, non-inferiority trial in Europe (BeNeDuctus trial). *BMC Pediatr*. 2018 Aug 4;18(1):262. DOI: 10.1186/s12887-018-1215-7.
212. Ohlsson A, Shah PS. Paracetamol (acetaminophen) for patent ductus arteriosus in preterm or low-birth-weight infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020 Jan 27;1:CD010061. DOI: 10.1002/14651858.CD010061.pub4.

-
213. Huang X, Wang F, Wang K. Paracetamol versus ibuprofen for the treatment of patent ductus arteriosus in preterm neonates: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018 Aug;31(16):2216-22. DOI: 10.1080/14767058.2017.1338263.
214. Fowlie PW, Davis PG, McGuire W. Prophylactic intravenous indomethacin for preventing mortality and morbidity in preterm infants. *The Cochrane database of systematic reviews.* 2010;7:CD000174.
215. Jensen EA, Foglia EE, Schmidt B. Association between prophylactic indomethacin and death or bronchopulmonary dysplasia: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Semin Perinatol.* 2018 Jun;42(4):228-34. DOI: 10.1053/j.semperi.2018.05.005.
216. Schmidt B, Roberts RS, Fanaroff A, Davis P, Kirpalani HM, Nwaesei C, et al. Indomethacin prophylaxis, patent ductus arteriosus, and the risk of bronchopulmonary dysplasia: further analyses from the Trial of Indomethacin Prophylaxis in Preterms (TIPP). *J Pediatr.* 2006 Jun;148(6):730-4. DOI: 10.1016/j.jpeds.2006.01.047
217. Aikio O, Härkin P, Saarela T, Hallman M. Early paracetamol treatment associated with lowered risk of persistent ductus arteriosus in very preterm infants. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2014 Aug;27(12):1252-6. DOI: 10.3109/14767058.2013.854327.
218. Alagarsamy S, Chhabra M, Gudavalli M, Nadroo AM, Sutija VG, Yugrakh D. Comparison of clinical criteria with echocardiographic findings in diagnosing PDA in preterm infants. *J Perinat Med.* 2005;33(2):161-4
219. McNamara PJ, Sehgal A. Towards rational management of the patent ductus arteriosus: the need for disease staging. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2007;92(6):F424-7.
220. Cooke L, Steer P, Woodgate P. Indomethacin for asymptomatic patent ductus arteriosus in preterm infants. *The Cochrane database of systematic reviews.* 2003;2:CD003745.

-
221. Knight DB. The treatment of patent ductus arteriosus in preterm infants. A review and overview of randomized trials. *Semin Neonatol*. 2001;6:63-73.
222. Farooqui MA, Elsayed YN, Jeyaraman MM, Dingwall O, Tagin M, Zarychanski R. Pre-symptomatic targeted treatment of patent ductus arteriosus in preterm newborns: A systematic review and meta-analysis. *J Neonatal Perinatal Med*. 2019;12(1):1-7. DOI: 10.3233/NPM-17130.
223. Kluckow M, Jeffery M, Gill A, Evans N. A randomised placebo-controlled trial of early treatment of the patent ductus arteriosus. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2014;99(2):F99-104
224. Narayanan M, Cooper B, Weiss H, Clyman RI. Prophylactic indomethacin: Factors determining permanent ductus arteriosus closure. *Journal Pediatr*. 2000;136(3): 330-7.
225. Dani C, Bertini G, Corsini I, Elia S, Vangi V, Pratesi S, et al. The fate of ductus arteriosus in infants at 23-27 weeks of gestation: from spontaneous closure to ibuprofen resistance. *Acta Paediatr*. 2008;97:1176-80.
226. Su BH, Lin HY, Huang FK, Tsai ML. Pulmonary hemorrhage in very-low-birth-weight infants. *Pediatr Neonatol* 2014;55:326e7.
227. Su BH, Lin HY, Huang FK, Tsai ML, Huang YT. Circulatory management focusing on preventing intraventricular hemorrhage and pulmonary hemorrhage in preterm infants. *Pediatr Neonatal* 2016;57:453e62.
228. Clyman RI, Liebowitz M, Kaempf J, Erdeve O, Bulbul A, Håkansson S, et al. PDA-TOLERATE trial: an exploratory randomized controlled trial of treatment of moderate-to-large patent ductus arteriosus at 1 week of age. *J Pediatr*. 2019 Feb;205:41-8.e6. DOI:10.1016/j.jpeds.2018.09.012.
229. Gudmundsdottir A, Johansson S, Håkansson S, Norman M, Källen K, Bonamy AK. Timing of pharmacological treatment for patent ductus arteriosus and risk of secondary surgery, death or bronchopulmonary dysplasia: a population-based cohort study of extremely preterm infants. *Neonatology*. 2015 Feb;107:87–92. Available from: <https://doi.org/10.1159/000367887>

-
230. Sosenko IRS, Fajardo MF, Nelson N, Bancalari E. Timing of patent ductus arteriosus treatment and respiratory outcome in premature infants: a double-blind randomized controlled trial. *J Pediatr.* 2012;160:929–35. DOI: 10.1016/j.jpeds.2011.12.031
231. Benitz WE, Committee on F, Newborn A AoP. Patent Ductus Arteriosus in Preterm Infants. *Pediatrics.* 2016 Jan;137(1). DOI: 10.1542/peds.2015-3730.
232. Sallmon H, Koehne P, Hansmann G. Recent advances in the treatment of preterm newborn infants with patent ductus arteriosus. *Clin Perinatol.* 2016;43(1):113–29.
233. Jhaveri N, Moon-Grady A, Clyman RI. Early surgical ligation versus a conservative approach for management of patent ductus arteriosus that fails to close after indomethacin treatment. *J Pediatr.* 2010;157(3):381-7, 387.e1. DOI:10.1016/j.jpeds.2010.02.062.
234. Ngo S, Profit J, Gould JB, Lee HC. Trends in patent ductus arteriosus diagnosis and Management for Very low Birth Weight Infants. *Pediatrics.* 2017;139(4):e20162390.
235. Rolland A, Shankar-Aguilera S, Diomandé D, Zupan- Simunek V, Boileau P. Natural evolution of patent ductus arteriosus in the extremely preterm infant. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2015 Jan;100(1):F55–8. DOI: 10.1136/archdischild-2014-306339.
236. Herrman K, Bose C, Lewis K, Laughon M. Spontaneous closure of the patent ductus arteriosus in very low birth weight infants following discharge from the neonatal unit. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2009 Jan;94(1):F48-50. DOI: 10.1136/adc.2007.129270.
237. Semberova J, Sirc J, Miletin J, Kucera J, Berka I, Sebkova S, et al. Spontaneous Closure of Patent Ductus Arteriosus in Infants \leq 1500 g. *Pediatrics.* 2017 Aug;140(2). pii: e20164258. DOI:10.1542/peds.2016-4258.

-
238. Sung SI, Chang YS, Chun JY, Yoon SA, Yoo HS, Ahn SY, et al. Mandatory Closure Versus Nonintervention for Patent Ductus Arteriosus in Very Preterm Infants. *J Pediatr*. 2016 Oct;177:66-71.e1. DOI: 10.1016/j.jpeds.2016.06.046.
239. Smith A, McNamara PJ, El-Khuffash AF. Non-pharmacological management of a hemodynamically significant patent ductus arteriosus. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2018 Aug;23(4): 245-9. DOI: 10.1016/j.siny.2018.03.008.
240. Bell EF, Acarregui MJ. Restricted versus liberal water intake for preventing morbidity and mortality in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;(12):CD000503.
241. De Buyst J, Rakza T, Pennaforte T, Johansson AB, Storme L. Hemodynamic effects of fluid restriction in preterm infants with significant patent ductus arteriosus. *J Pediatr* 2012;161:404–8.
242. Mariani G, Cifuentes J, Carlo WA. Randomized trial of permissive hypercapnia in preterm infants. *Pediatrics* 1999;104(5 Pt 1):1082–8.
243. Noori S, Patel D, Friedlich P, Siassi B, Seri I, Ramanathan R. Effects of low oxygen saturation limits on the ductus arteriosus in extremely low birth weight infants. *J Perinatol*. 2009 May;29(8):553-7
244. Saugstad OD, Aune D. Optimal oxygenation of extremely low birth weight infants: a meta-analysis and systematic review of the oxygen saturation target studies. *Neonatology*. 2014;105(1):55-63. DOI: 10.1159/000356561.
245. Borràs-Novell C, Riverola A, Aldecoa-Bilbao V, Izquierdo M, Domingo M, Iriondo M. Clinical outcomes after more conservative management of patent ductus arteriosus in preterm infants. *J Pediatr (Rio J)*. 2018 Nov;pii: S0021-7557(18)30819-2. DOI:10.1016/j.jpeds.2018.10.004.
246. Wickremasinghe AC, Rogers EE, Piecuch RE, Johnson BC, Golden S, Moon-Grady AJ, et al. Neurodevelopmental outcomes following two different treatment approaches (early ligation and selective ligation) for patent ductus arteriosus. *J. Pediatr*. 2012 Dec;161(6):1065-72. DOI:10.1016/j.jpeds.2012.05.062
247. Gregory GA, Kitterman JA, Phibbs RH, Tooley WH, Hamilton WK. Treatment of

the idiopathic respiratory-distress syndrome with continuous positive airway pressure. *N Engl J Med.* 1971;284:1333–40.

248. Ramanathan R. Nasal respiratory support through the nares: its time has come. *J Perinatol.* 2010;30:67–72.

249. Avery ME, Tooley WH, Keller JB, Hurd SS, Bryan MH, Cotton RB. Is chronic lung disease in low birth weight infants preventable? A survey of eight centers. *Pediatrics.* 1987;79:26–30.

250. Pillow JJ. Which continuous positive airway pressure system is best for the Preterm Infant with respiratory distress syndrome? *Clin Perinatol.* 2012;39:483–96.

251. Gupta S, Donn SM. Continuous positive airway pressure: physiology and comparison of devices. *Sem Fetal Neonat Med.* 2016;21:204–11.

252. Winter JP, Vries MAG, Zimmermann LJI. Noninvasive respiratory support in newborns. *Eur J Pediatr.* 2010;169:777–82.

253. Pickerd N, Kotecha S. Pathophysiology of respiratory distress syndrome. *Paediatrics and Child Health.* 2009;19:153–7.

254. Morley CJ, Davis PG, Doyle LW, Brion LP, Hascoet JM, Carlin JB. Nasal CPAP or intubation at birth for very preterm infants. *N Engl J Med.* 2008;358:700–8.

255. Verder H, Albertsen P, Ebbesen F, Greisen G, Robertson B, Bertelsen A. Nasal continuous positive airway pressure and early surfactant therapy for respiratory distress syndrome in newborns of less than 30 weeks' gestation. *Pediatrics.* 1999;103:e24.

256. Dunn MS, Kaempf J, de Klerk A, de Klerk R, Reilly M, Howard D. Randomized trial comparing 3 approaches to the initial respiratory management of preterm neonates. *J Pediatrics.* 2011;128:1069-76.

257. Finer NN, Carlo WA, Walsh MC, Rich W, Gantz MG, Laptook AR. Early CPAP versus surfactant in extremely preterm infants. *N Engl J Med.* 2010;362:1970–9.

258. Hillman N, Jobe AH. Noninvasive strategies for management of respiratory problems in neonates. *NeoReviews.* 2013;14:227–36.

-
259. Schmölzer GM, Kumar M, Pichler G, Aziz K, O'Reilly M, Cheung PY. Non-invasive versus invasive respiratory support in preterm infants at birth: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2013;347: f5980.
260. Fischer HS, Bühler C. Avoiding endotracheal ventilation to prevent bronchopulmonary dysplasia: a meta-analysis. *Pediatrics*. 2013;132:1351–60.
261. Ammari A, Suri MS, Milisavljevic V, Sahni R, Bateman D, Sanocka U. Variables associated with the early failure of nasal CPAP in very low birth weight infants. *J Pediatr*. 2005; 147:341–7.
262. Subramaniam P, Ho JJ, Davis PG. Prophylactic nasal continuous positive airway pressure for preventing morbidity and mortality in very preterm infants. *Cochrane Database Systematic Reviews* [Internet] 2016 Jun [cited 2020 Feb 12];6:CD001243. Available from: DOI: 10.1002/14651858.CD001243.pub3).
263. Perez LA, Gonzalez DM, Alvarez KM, Diaz-Martinez LA. Nasal CPAP versus mechanical ventilation in 28 to 32-week preterm infants with early surfactant administration. *Biomedica*. 2014; 34:612–23.
264. Stevens TP, Harrington EW, Blennow M, Soll RF. Early surfactant administration with brief ventilation vs. selective surfactant and continued mechanical ventilation for preterm infants with or at risk for respiratory distress syndrome. *Cochrane Database Systematic Reviews* [Internet] 2007 Oct [cited 2020 Feb 16]; 4: CD003063. Available from: https://www.cochrane.org/CD003063/NEONATAL_early-surfactant-administration-with-brief-ventilation-vs.-selective-surfactant-and-continued-mechanical-ventilation-for-preterm-infants-with-or-at-risk-for-respiratory-distress-syndrome
DOI: 10.1002/14651858.CD003063.pub3.
265. Sweet DG, Carnielli VC, Greisen G, Hallman M, Ozek E, Te Pas A. European consensus guidelines on the management of neonatal respiratory distress syndrome in preterm infants – 2019 Update. *Neonatology*. 2019;115:432–50.
266. Carlo WA, Polin RA. Respiratory support in preterm infants at birth. *Pediatrics*.

2014;133:171–4.

267. Dargaville PA, Gerber A, Johansson S, De Paoli AG, Kamlin COF, Orsini F. Incidence and outcome of CPAP failure in preterm infants. *Pediatrics*. 2016;138:e20153985.

268. Aly H, Massaro AN, Patel K, El Mohandes AA. Is it safer to intubate premature infants in the delivery room? *Pediatrics*. 2005; 115:1660–5.

269. Fuchs H, Lindner W, Leiprecht A, Mendler MR, Hummler HD. Predictors of early nasal CPAP failure and effects of various intubation criteria on the rate of mechanical ventilation in preterm infants of <29 weeks gestational age. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2011; 96:F343–47.

270. De Jaegere AP, van der Lee JH, Cante C, van Kaam AH. Early prediction of nasal continuous positive airway pressure failure in preterm infants less than 30 weeks gestation. *Acta Paediatr*. 2011;101:374–9.

271. Dargaville PA, Aiyappan A, De Paoli AG, Dalton RGB, Kuschel CA, Kamlin COF et al. Continuous positive airway pressure failure in preterm infants: incidence, predictors and consequences. *Neonatology* 2013;104:8–14.

272. Rocha G, Flor-de-Lima F, Proenca E, Carvalho C, Quintas C, Martins T. Failure of early nasal continuous positive airway pressure in preterm infants of 26 to 30 weeks gestation. *J of Perinatol*. 2012 Aug;33: 297–301.

273. Kakkilaya V, Wagner S, Mangona KLM, Brown LS, Jubran I, He H. Early predictors of continuous positive airway pressure failure in preterm neonates. *J of Perinatol*. 2019 May 14;39:1081–88.

274. Isayama T, Iwami H, McDonald S, J. Beyene J. Association of noninvasive ventilation strategies with mortality and bronchopulmonary dysplasia among preterm infants a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2016 Aug 9; 316: 611–24.

275. Barkhuff WD, Soll RF. Novel Surfactant Administration Techniques: Will they change outcome? *Neonatology*. 2019 Apr 11; 115: 411-22.

276. De Paoli AG, Davis PG, Faber B, Morley CJ. Devices and pressure sources for

administration of nasal continuous positive airway pressure (NCPAP) in preterm neonates. Cochrane Database Systematic Reviews [Internet] 2008 Jan [cited 2020 Feb 14];1: CD002977. Available from: https://www.cochrane.org/CD002977/NEONATAL_devices-and-pressure-sources-for-administration-of-nasal-continuous-positive-airway-pressure-ncpap-in-preterm-neonates DOI: 10.1002/14651858.CD002977. pub2.

277. De Paoli AG, Morley CJ, Davis PG, Lau R, Hingeley E. In vitro comparison of nasal continuous positive airway pressure devices for neonates. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2002 Jul 1;87:42–5.

278. Roberts CT., Davis PG., Oven LS. Neonatal non-invasive respiratory support: synchronised NIPPV, non-synchronised NIPPV or Bi-level CPAP: what is the evidence in 2013? *Neonatology.* 2013 Aug;104:203-9.

279. Yong SC, Chen SJ, Boo NY. Incidence of nasal trauma associated with nasal prong versus nasal mask during continuous positive airway pressure treatment in very low birthweight infants: a randomised control study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2005 Jun 7;90:480-3.

280. Te Pas AB, Siew M, Wallace MJ, Kitchen MJ, Fouras A, Lewis RA. Establishing functional residual capacity at birth: the effect of sustained inflation and positive end-expiratory pressure in a preterm rabbit model. *Pediatric research.* 2009 May;65(5):537–41.

281. Te Pas AB, Siew M, Wallace MJ, Kitchen MJ, Fouras A, Lewis RA. Effect of sustained inflation length on establishing functional residual capacity at birth in ventilated premature rabbits. *Pediatric research.* 2009 Sep;66(3):295–300.

282. Lista G, Boni L, Scopesi F, Mosca F, Trevisanuto, Messner H. Sustained lung inflation at birth for preterm infants: a randomized clinical trial. *Pediatrics.* 2015 Feb;135:e457–64.

283. Te Pas AB, Walther FJ. A randomized, controlled trial of delivery-room respiratory management in very preterm infants. *Pediatrics.* 2007 Aug;120:322–9.

-
284. Bruschetti M, O'Donnell CPF, Davis PG, Morley CJ, Moja L, Zappettini S. Sustained versus standard inflations during neonatal resuscitation to prevent mortality and improve respiratory outcomes. *Cochrane Database Systematic Review* [Internet]. 2017 Jul [cited 2020 Mar 5]; 7: CD004953. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6483306/>
DOI:10.1002/14651858.CD004953.pub3.
285. Foglia EE, Owen LS, Thio M, Ratcliffe SJ, Lista G, te Pas A. Sustained aeration of infant lungs (SAIL) trial: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2015 Mar;16:95.
286. Schmidt B, Roberts RS, Davis P, Doyle LW, Barrington KJ, Ohlsson A et al. Caffeine therapy for apnea of prematurity. *N Engl J Med* 2006 May 18;354:2112–21.
287. Lodha A, Entz R, Synnes A, Creighton D, Yusuf K, Lapointe A. Early caffeine administration and neurodevelopmental outcomes in preterm infants. *Pediatrics*. 2019 Jan; 143(1): e20181348.
288. Lodha A, Seshia M, McMillan DD, Barrington K, Yana J, Lee SK. Association of early caffeine administration and neonatal outcomes in very preterm neonates. *JAMA Pediatr*. 2015 Jan;169:33-8.
289. Waitz M, Mense L, Kirpalani H, B. Lemyre B. Nasal intermittent positive pressure ventilation for preterm neonates: synchronized or not? *Clin. Perinatol*. 2016 Dec;43:799–816.
290. Cummings JJ, Polin RA. Noninvasive Respiratory Support. *Pediatrics*. 2016 Jun;137:e20153758.
291. Lemyre B, Laughon M, Bose C, Davis PG. Early nasal intermittent positive pressure ventilation (NIPPV) versus early nasal continuous positive airway pressure (NCPAP) for preterm infants. *Cochrane Database Systematic Reviews* [Internet]. 2016 Dec [cited 2020 Mar 2];12: CD005384. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6463790/>
DOI: 10.1002/14651858.CD005384.pub2

-
292. Soll R. A review on noninvasive ventilation: The Cochrane Systematic Reviews 2006. *J Perinatol*. 2007 May;27:21–5.
293. Bhandari V. Nasal intermittent positive pressure ventilation in the newborn: review of literature and evidence-based guidelines. *J. Perinatol*. 2010;30:505–12.
294. Van der Valk JPM, Gerth van Wijk R, Hoorn E [et al.]. Measurement and interpretation of skin prick test results. *Clin Transl Allergy*. 2016 Feb; 6 (8). DOI 10.1186/s13601-016-0092-0.
295. Адаптована клінічна настанова, заснована на доказах. «Бронхіальна астма»: Настанова НАМН України: вид. офіц./ уклад.: Фещенко ЮІ, Яшина ЛО, Бойко ДМ, Гаврисюк ВК, Крахмалова ОО, Матюха ЛФ та ін. К.: НАМН України; 2020. 128 с.
296. Беш ОМ, Павліченко ВІ. Акарофауна житла та сенсibiliзація до алергенів кліщів домашнього пилу серед хворих на бронхіальну астму. *Астма та алергія*. 2015; 12: 23-7.
297. Потапов МБ, Кузнецова НА. Методы исследования сообществ микроартропод. Москва: КМК; 2011. 84 с.
298. Heinzerling L, Adriano M, Bergmann KCh, Bresciani M, Burbach G, Darsow U et al. The skin prick test - European standards. *Clin Translat Allergy*. 2013, 3: 3. doi.org/10.1186/2045-7022-3-3.
299. Слюзар ЗЛ, Беш ЛВ. Брошура «Щоденник сенсibiliзації», авторське право №94413, 03.12.2019.
300. Cramer R. In vitro allergy diagnosis – Allergen-specific IgE. In: Akdis C.A.; Agache I. EAACI Global Atlas of Allergy. Zurich: European Academy of Allergy and Clinical Immunology, 2014.
301. Nathan RA, Sorkness CA, Kosinski M, Schatz M, Li JT, Marcus P, Murray JJ, Pendergraft TB. Development of the asthma control test: A survey for assessing asthma control. *J Allergy Clin Immunol* 2004 (113): 59-65;

-
302. Juniper EF, Guyatt GH, Willan A, Griffith LE. Determining a minimal important change in a disease-specific quality of life questionnaire. *J Clin Epidemiol* 1994; 47(1): 81-87
303. Arlettaz R. Echocardiographic Evaluation of Patent Ductus Arteriosus in Preterm Infants. *Front Pediatr*. 2017 Jun 21;5:147. DOI:10.3389/fped.2017.00147.
304. Zonnenberg I, de Waal K. The definition of a haemodynamic significant duct in randomized controlled trials: a systematic literature review. *Acta Paediatr*. 2012 Mar;101(3):247-51. DOI: 10.1111/j.1651-2227.2011.02468.x.
305. Richardson DK, Corcoran JD, Escobar GJ, Lee SK. SNAP-II and SNAPPE-II: simplified newborn illness severity and mortality risks cores. *J Pediatr*. 2001 Jan;138(1):92-100. DOI: 10.1067/mpd.2001.109608.
306. Roberts D, Brown J, Medley N, Dalziel SR. Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane Database Systematic Reviews*. 2017; 3: CD004454. DOI: 10.1002/14651858.CD004454.pub3
307. Khanafer-Larocque I, Soraisham A, Stritzke A, Al Awad E, Thomas SI. Intraventricular hemorrhage: risk factors and association with patent ductus arteriosus treatment in extremely preterm neonates. *Front. Pediatr*. 2019; 7:408. DOI: 10.3389/fped.2019.00408.
308. Grabovac M, Karim JN, Isayama T, Korale Liyanage, McDonald SD. What is the safest mode of birth for extremely preterm breech singleton infants who are actively resuscitated? A systematic review and meta-analyses. *BJOG* 2018; 125: 652–63.
309. Kapadia VS, Wyckoff MH. Epinephrine use during newborn resuscitation. *Front Pediatr*. 2017; 5: 97. DOI: 10.3389/fped.2017.00097.
310. Humberg A, Härtel C, Paul P, Hanke K, Bossung V, Hartz AI. Delivery mode and intraventricular hemorrhage risk in very–low–birth–weight infants: observational data of the German Neonatal Network. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2017; 212: 144–49.

-
311. Mian Q, Cheung PY, O'Reilly M, Barton SK, Polglase GRI. Impact of delivered tidal volume on the occurrence of intraventricular hemorrhage in preterm infants during positive pressure ventilation in the delivery room. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2019; 104(1): 57–62.
312. Badiie Z. Intraventricular hemorrhage in very low birth weight infants. Associated risk factors in Isfahan, Iran. *Saudi Med.* 2007; 28(9): 1362–66.
313. Noori S, Seri I. Hemodynamic antecedents of peri/intraventricular hemorrhage in very preterm neonates. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2015; 20 (4): 232–37.
314. Pishva N, Parsa G, Saki F, Saki M, Saki MR. Intraventricular hemorrhage in premature infants and its association with pneumothorax. *Acta Med Iran.* 2012;50 (7): 473–76.
315. Richardson DK, Corcoran JD, Escobar GJ, Lee SK. SNAP-II and SNAPPE-II: Simplified newborn illness severity and mortality risks cores. *J. Pediatr.* 2001;138: 92-100.
316. Jobe AH. Bronchopulmonary dysplasia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001;163 (7):1723-29.
317. Bahadue FL, Soll R. Early versus delayed selective surfactant treatment for neonatal respiratory distress syndrome. *Cochrane Database Systematic Reviews.* 2012; 14(11). CD001456. DOI: 10.1002/14651858.
318. NHFOV versus NCPAP to prevent extubation failure. Lemyre B, Devis PG, De Paoli AG, Kirpalani H [http://clinicaltrials.gov/show/ NCT01852916](http://clinicaltrials.gov/show/NCT01852916).
319. Jobe AH. Bronchopulmonary dysplasia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 163 (7): 1723-29.
320. Walsh MC, Wilson-Costello D, Zadell A [et al.]. Safety, reliability, and validity of a physiologic definition of bronchopulmonary dysplasia. *J. Perinatol.* 2003; 23: 451-6.
321. Lemyre B, Devis PG, De Paoli AG, Kirpalani H. Nasal intermittent positive pressure ventilation (NIPPV) versus nasal continuous positive airway pressure

(NCPAP) for preterm neonates after extubation. Cochrane Database Systematic Reviews. 2014. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25188554>.

322. Barrington KJ. Randomized trial of nasal synchronized intermittent mandatory ventilation compared with continuous positive airway pressure after extubation of very low birth weight infants. *Pediatrics*. 2001; 107: 638-41.

323. Khalaf MN, Brodsky N [et al.]. A prospective randomized, controlled trial comparing synchronized nasal intermittent positive pressure ventilation versus nasal continuous positive airway pressure as modes of extubation. *Pediatrics*. 2001; 108: 13-17.

324. O'Brien K, Campbell C, Brown L [et al.]. Infant flow biphasic nasal continuous positive airway pressure (BP- NCPAP) vs. infant flow NCPAP for the facilitation of extubation in infants' $\leq 1,250$ grams: a randomized controlled trial. Available from: <http://bmcpediatr.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2431-12-43>.