

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ СОФИЯ

Катедра по педиатрия

Ръководител: проф. д-р Иван Литвиненко, дм

Д-р Снежина Михайлова Лазова

АВТОРЕФЕРАТ

КЛИНИЧНО ЗНАЧЕНИЕ НА ФУНКЦИОНАЛНОТО
ИЗСЛЕДВАНЕ НА ДИШАНЕТО И АТОПИЧНИЯ СТАТУС ПРИ
ДЕЦА С АСТМА

Научен ръководител

Проф. д-р Пенка Илиева Переновска, дм.

СОФИЯ, 2017г.

Дисертационният труд е написан на 168 стандартни печатни страници, онагледен с 58 графики, 9 фигури и 80 таблици. Библиографията съдържа 329 заглавия, от които 42 на кирилица и 287 на латиница.

Във връзка с дисертационния труд са реализирани 4 публикации и 5 участия в научни форуми.

Дисертационният труд е обсъден на заседание на научния съвет към Катедра по педиатрия – Медицински Университет – София на 12.01.2017 г. и е насочен за официална защита пред научно жури в състав:

Официални рецензенти:

1. Проф. д-р Ваня Недкова Недкова-Коларова, дм
2. Проф. д-р Благой Иванов Маринов, дм

Становища:

1. Проф. д-р Пенка Илиева Переновска, дм
2. Проф. д-р Иван Олгович Литвиненко, дм
3. Проф. д-р Коста Василев Костов, дм

Материалите по защитата са на разположение в деловодството на Катедра по педиатрия и в Отдел наука на МФ, Медицински университет, София (Комисия за текущо атестиране на академичния състав (КТААС) на МФ, МУ-София).

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 03.05.2017г. от 14:00 часа в Аудиторията на “Специализирана болница за активно лечение по детски болести - проф. д-р Иван Митев” ЕАД – София.

Въведение.....	6
ЦЕЛ И ЗАДАЧИ.....	7
МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ.....	8
Клиничен материал.....	8
Дизайн на проучването.....	8
1.1.1 Клинична част	8
1.1.2 Инструментална част	8
1.1.3 Лабораторна част – биологичен материал	9
МЕТОДИ НА ИЗСЛЕДВАНЕ	9
1.1.4 Анамнестични данни	9
1.1.5 Определянето на нивото на контрол на астмата	10
1.1.6 Функционално изследване на дишането – изходна спирометрия, бронходилататорен тест	11
1.1.7 Оценка на назалната еозинофилия	13
1.1.8 Серологично изследване за определяне на атопичния статус – определяне на специфични и общи IgE.....	13
1.1.9 Статистически методи за обработка на данните	14
РЕЗУЛТАТИ.....	16
Демографска характеристика на групите	16
Задача 1 Клинично значение на показателите от изходната спирометрия	19
Задача 2 Клинично значение на БДО	26
Задача 3 Интерпретация на резултатите от спирометрията	35
Задача 4 и 5 Дефиниране на атопичния статус и връзката му с белодробната функция, контрола и тежестта на астмата и наличието на съпътстващ АР.	38
Задача 6 Сравнителен анализ на ImmunoCAP Phadiatop/fx5 и Euroimmun pediatric имуноблот	48
Задача 7 Клъстерен анализ.....	51
Задача 8 Коморбидност и белодробна функция	53
ОБСЪЖДАНЕ	55
ИЗВОДИ	75
ПРИНОСИ.....	79
Приноси с оригинален характер	79
Приноси с потвърдителен характер.....	79
Приноси с приложен характер	80
ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	81
Публикации във връзка с дисертационния труд:.....	81
Участия в научни форуми във връзка с дисертационния труд:	81
Резюмета от участия в научни форуми, публикувани в научни списания в чужбина:.....	82

Често използвани съкращения:

ФИД - Функционално изследване на дишането

МДОК – Максимална дебитно-обемна крива

БДО – Бронходилататорен отговор

БДТ – Бронходилататорен тест

БХР – Бронхиална хиперреактвност

FEV₁ - Форсиран експираторен обем за 1 секунда

FEV₁% pred. - FEV₁ % от предвидената стойност

FVC - Форсиран витален капацитет

FEV₁/FVC – Коефициент на Тифно

FEF₂₅₋₇₅/FEF₇₅ – Форсиран експираторен дебит (Максимален среден експираторен дебит)

PEF - Върхов експираторен дебит (ВЕД)

SAD – Small airway disease (болест на малките ДП)

SAO – Small airway obstruction (обструкция на малките ДП)

FeNO – Фракция на издишан азотен оксид

ВМІ – Индекс на телесната маса

БА – Бронхиална астма

АД – Атопичен дерматит

АР – Алергичен ринит, риносинусит

ДП - Дихателни пътища

ИКС – Инхалаторни кортикостероиди

MDI – Дозиран аерозол инхалер

LABA– Бета-агонисти с дълго действие

SABA –Бета- агонисти с бързо действие

АСQ – Въпросник за контрола на астмата

АСQ-IA - Интервю-базирана версия на въпросник за контрола на астмата

АСТ – Asthma control test (тест за контрол на астмата)

С-АСТ – Childhood asthma control test (детски тест за контрол на астмата)

GINA – Global Initiative for Asthma (Световна инициатива за астма)
GINA ръководство - Global Strategy For Asthma Management And Prevention
(Глобална стратегия за превенция и управление на астмата)
ERS – European Respiratory Society
ATS – American Thoracic Society
BTS – British Thoracic Society
GLI – Global lung function initiative

КАП – Кожно-алергични проби
IgE – Имуноглобулини клас E
sIgE – Специфични имуноглобулини клас E
CCD - Cross-reactive carbohydrate determinant (кръстосано реагиращ
въглехидратен детерминант)

LLN – Lower limit of the normal – долна граница на нормата
ROC - Receiver Operating Characteristic Analysis
AUC – Area under the curve (стойността на площта под кривата)
PPV- Positive predictive value – позитивна предиктивна стойност
NPV – Negative predictive value – отрицателна предиктивна стойност
OR – Odds ratio – вероятност, риск
HR – Hazard ratio - вероятност, риск

Въведение

Детската астма представлява значимо бреме за пациента, неговото семейство и обществото. Тя е най-честото хронично заболяване сред децата в развитите страни, засягайки 5 до 20% от децата в училищна възраст в Европа. Въпреки голямата честота на астмата, поставянето на диагнозата и класифицирането на тежестта и контрола в детска възраст, са изключително трудни.

Белодробните функционални тестове са важна част от изследването на белодробните заболявания при деца. Спирометрично изследване е „златен стандарт“ при диагностицирането и проследяването на пациенти с бронхиалната астма. Поради припокриването на измерванията на белодробната функция между здрави деца и такива със „свиркане“/астма диагностичната точност на изходната спирометрия е ниска. Съществуват убедителни данни, че децата с астма често имат нормална белодробна функция (изходният FEV₁% от предвиденото в нормални граници) извън пристъп, а 80% от астматичните пристъпи настъпват при деца с нормален FEV₁. Въпреки че FEV₁ е много популярен показател в клинични проучвания и в практиката, той дава частична информация от комплексния процес на форсирано издишване през обструктивни дихателни пътища. Бронходилаторният отговор (БДО) - подобренето на FEV₁ след инхалиране на β_2 -адренергичен агонист, е важен астма-свързан фенотип и може да бъде полезен в характеризиране на астмата, независимо от изходната спирометрия в детска възраст.

Утвърждаването на адаптирани за детската възраст спирометрични критерии би подобрило съществено диагностицирането и лечението на астмата. Рутинното измерване на дихателната функция и в частност демонстрирането на обратимост на функционалните нарушения допълват оценката на клиничните симптоми и физикалното изследване. Приложени заедно те повишават диагностичната сигурност, подобряват контрола, взимането на правилни терапевтични решения и идентифицирането на риска от прогресивна загуба на белодробна функция.

Определянето на атопичния статус увеличава вероятността за наличие на астма при пациенти с респираторни симптоми. Количеството на тоталните IgE и наличието на алерген-специфични IgE антитела в серум са важни биомаркери за дефиниране фенотипа на пациенти със симптоми на астма.

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Целта на дисертационния труд е: Да се изследва клиничното значение на функционалното изследване на дишането и на атопичния статус в комплексния процес на диагностика и оценка на тежестта и контрола на астмата в детска възраст.

За постигане на целта си поставихме следните задачи:

1. Да се определи и оцени клиничното значение на показателите от изходната спирометрия – FEV_1 , FEV_1/FVC и индексите за периферна обструкция – $FEV_{25/75}$, FEV_{50} , FEV_{75} и да се потърси корелация между тях и оценката на клиничния контрол и тежест на астмата.
2. Да се определи клиничното значение на БДТ като се изчисли неговата чувствителност и специфичност за различните дефиниции и прагове в процеса на диагностициране и мониториране на детската астма.
3. Да се приложи референтното уравнение GLLI 2012 към основните белодробни функционални показатели на българска популация деца с астма и да се сравни интерпретацията им при използване на фиксиран cut-off с долна граница на нормата (LLN) и метода z-скор.
4. Да се определи атопичният статус на изследваната популация деца с бронхиална астма със/без съпътстващ АР.
5. Да се потърси корелация между атопичния статус, белодробната функция и контрола и тежестта на астмата.
6. Да се сравни чувствителността на два лабораторни метода за серологична оценка на атопичния статус („златния стандарт“ мултискринингов тест ImmunoCAP Phadiatop/fx5 и Euroimmun pediatric имуноблот).
7. Да се дефинират клъстерни групи в изследваната популация деца с астма според възрастта, пола, ВМІ, показателите от ФИД, атопичният статус и нивото на контрол на астмата.
8. Да се проучи влиянието на ВМІ и наличието на съпътстващ АР върху показателите на белодробната функция и нивото на контрол на астмата.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Клиничен материал

В настоящата работа за период от две години (от октомври 2013 г. до декември 2015 г.) са включени 211 деца с бронхиална астма, хоспитализирани в Клиника по педиатрия на УМБАЛ „Александровска“ по повод екзацербация на основното заболяване или проследявани амбулаторно в Клиниката, по повод рутинен преглед или влошен контрол на астмата. Част от децата с бронхиална астма са проследени клинично за период от шест месеца след първоначалното изследване. В клиничното наблюдение и изследване е включена и контролна група от 46 здрави деца.

Дизайн на проучването

Преди включване в изследванията по дисертационния труд всички родители и децата над 12 години подписаха писмено Информирано съгласие, съгласно изискванията на Комисията по етика на научните изследвания към МУ-София. Личните данни и резултатите от изследването са съхранявани, обработвани и представяни в съответствие със Закона за защита на личните данни и Кодекс на професионалната етика.

1.1.1 Клинична част

На всички пациенти бе снета детайлна анамнеза от родителите/настойниците за началото и хода на основното заболяване, наличието на коморбидност, стъпало на контролиращото лечение на астмата до момента на изследването, проведени тестове за алергия (ако има такива). Нивото на контрол на астмата се оцени посредством попълване на въпросник ACQ за децата от 10-18 години (111 деца) и версия на въпросника – интервю за децата от 6-10 години (75 деца). При останалите 25 деца с астма контролът се оцени по скалата на GINA (update 2016).

1.1.2 Инструментална част

При всички деца (общо 257 – с астма и здрави контроли) се проведе функционално изследване на дишането (изходна спирометрия и бронходилататорен тест). 175 от децата с астма и всичките 46 здрави деца, включени в контролната група, изпълниха успешно пре- и постбронходилататорната спирометрия съгласно ATS/ERS критериите за качество и репродуктивност на резултатите. При 16 деца (7.6%), всички на

възраст под 7 години, опитът за изпълнение на форсирана експираторна маневра не отговаряше на критериите за качество, а 20 деца изпълниха само изходната, преbronходилататорна спирометрия.

1.1.3 Лабораторна част – биологичен материал

От 110 деца с бронхиална астма се взе серум за изследване на атопичния статус и назален секрет за определяне на назална еозинофилия. Материалът бе вземан, надписван, картотекиран и съхраняван според изискванията за Добра медицинска и лабораторна практика и според инструкциите на търговските китове.

МЕТОДИ НА ИЗСЛЕДВАНЕ

1.1.4 Анамнестични данни

1. фамилна обремененост за бронхиална астма и алергии по майчина, бащина линия или по първа линия (братя и сестри);
2. давност на астмата: анамнеза за началото и хода на заболяването (екзацербации/хоспитализации в предходните 12 месеца);
3. собствен атопичен терен: наличие на АР, конюнктивит, атопичен дерматит, хранителна/медикаментозна/инсекталергия или други форми на алергия;
4. проведени тестове за алергия (серологични/ КАП - ако има такива);
5. анамнеза за вредни навици (тютюнопушене) на родителите/пациентите;
6. стъпало на контролиращото лечение по GINA през последните 8 седмици преди изследването: без контролиращо лечение (SABA при нужда), лечение с ИКС и/или LTRA, комбинирана терапия (ИКС + LABA) с/без LTRA.

Децата с астма се разделиха на следните групи:

1. Контролно наивни: децата без контролираща терапия (или Вентолин при нужда);
2. ИКС наивни: децата без терапия (или Вентолин при нужда) и тези на лечение с LTRA;
1. на лечение с ИКС – ИКС с/без LTRA, комбиниран препарат (ИКС + LABA)

Тежестта на астмата се дефинира: според стъпалото на контролиращото лечение по GINA, според изходната спирометрия, според степента на наличие

на астма симптомите извън пристъп (дневни, нощни, нужда от спасителен медикамент, ограничение във физическата активност, взети в 7-степенната скала от ACQ). (таблица 1)

Класификация на тежестта		GINA стъпало	Според изходната спирометрия	Според симптомите извън пристъп
Интермитентна		Само SABA	FEV ₁ >100%	Няма
Лека	Персистираща	Стъпало 1 и 2	FEV ₁ >80%	1-2
Умерена		Стъпало 2 и 3	FEV ₁ 60-80%	3-4
Тежка		Стъпало 4 и 5	FEV ₁ < 60%	5-6

Таблица 1 Използвани методи за класификация на тежестта на астмата според стъпалото на контролиращото лечение, изходната спирометрия и тежестта на симптомите

1.1.5 Определянето на нивото на контрол на астмата

При всички деца се оцени нивото на контрол на астмата (добре контролирана, контролирана и лошо контролирана). При 111 деца на възраст от 10 до 18 години контролът на астмата се оцени посредством попълване на въпросник – Asthma control questionnaire (QOL TECHNOLOGIES Ltd 2003, Professor Elizabeth Juniper, www.goltech.co.uk), валидизиран български превод. При 75 деца на възраст от 6-10 години се проведе интервю-версия на въпросника (interviewer-administered version – ACQ-IA). Родителите на децата под 6-годишна възраст (N 25) бяха интервюирани. Нивото на контрол на астмата се оцени и по скалата на GINA за оценка на клиничния контрол на симптомите (update 2016). (таблица 2)

Контрол на астмата	ACQ6/ ACQ7	GINA скор
Добър контрол	Под 0.75	Нито един
Частичен контрол	0.75-1.5	1-2
Неконтролирана астма	Над 1.5	3-4

Таблица 2 Критерии за класифициране на контрола на астмата според ACQ скор и GINA скор

Въпросникът ACQ, както и ACQ-IA, са предоставени за ползване в настоящия дисертационен труд с изричното писмено разрешение на проф. Elizabeth Juniper и QOL TECHNOLOGIES Ltd 2003, притежаващи авторските права за ползването им.

При попълване на въпросника пациентите отговаряха на първите шест въпроса по 7-точкова скала (0 - без нарушение, 6- максимално нарушение), имайки предвид тяхното състояние през предходната седмица (нощни

събуждания, симптоми при събуждане, ограничение на физическата активност, задух, „свиркане“ и употреба на медикамент при нужда – краткодействащ бета-агонист). След попълването на въпросника и проверка дали на всички въпроси е отговорено се нанесе резултата за преbronходилататорния FEV₁%pred. във въпрос номер 7, по подобна - точкова скала. При попълване на въпросника ACQ се спазваха стриктно инструкциите за приложение. За децата на възраст от 6 до 10 години въпросникът се попълни под формата на интервю. Пакетът ACQ-IA (interviewer-administered version) се състои от подробна инструкция за провеждане на интервюто, въпросник (с по две интерпретации – основна и алтернативна за всеки от 6-те въпроса; седмият се попълва от изследователя), лист за отговори (0-6) и карта за отговор.

Всеки един от въпросите има еднаква тежест при изчисляване на резултата, който представлява средната от отговорите на 7-те въпроса. По този начин числовият резултат (скор) е от 0 (контролирана астма) до 6 (изключително слабо контролирана астма). При използването на 7-точковата скала, минималната значима разлика (Minimal Important Difference - MID) за ACQ е близка до 0.5 точки. В настоящия труд се използва праг 1.50 за „добър контрол“. При пациентите с липсваща спирометрия (16 деца) се приложи съкратената версия на ACQ с 6 въпроса (ACQ6).

На всички изследвани деца се снеса антропометричните показатели – ръст и тегло и бе изчислен индекса на телесната маса (ИТМ/ВМІ). Измерването на ръста се проведе с ръстомер, по стандартизирана методика – с глава в т.нар. Frankfort хоризонтална равнина. Измерването на теглото се осъществи с медицинска везна.

1.1.6 Функционално изследване на дишането – изходна спирометрия, бронходилататорен тест

При всички деца се проведе опит за преbronходилататорна спирометрия. При 195 от децата с астма, изпълнили успешна преbronходилататорна спирометрия, както и при всички здрави деца от контролната група, се проведе и постbronходилататорна спирометрия с оценка на БДО (Δ FEV₁) при постъпването в Клиниката или амбулаторно. Всички здрави деца, използвани като контролна група и 175 от децата с астма изпълниха преbronходилататорна спирометрия с БДТ, които отговарят на критериите за повторемост и

репродуктивност, съгласно световните стандарти ATS (1995) и ERS (1993). Постбронходилататорната спирометрия се проведе по утвърдения в Клиниката протокол, съобразен със световните стандарти и възрастта на изследваните пациенти: 15 мин след прилагането на 200µg (две впръсквания дозиран аерозол с обемна камера) Salbutamol (Ventolin) или 0.02 ml/kg от същия медикамент, приложени инхалаторно с компресорен небулизатор с маска. БДО се оцени по класически метод като процент от промяната на FEV₁ в сравнение с изходната измерена стойност и като абсолютната промяна в mL. По критериите на ATS/ERS БДО се отчете като сигнификантен при $\Delta\text{FEV}_1 \geq 12\%$ и/или 200 ml. БДО се изчисли и по алтернативни формули: като процент от предвидената стойност за FEV₁ и по формулата на Костянев и сътр. За изпълнението на задача 2 се приложиха три алтернативни прага за позитивен (клинично значим) БДО: $\geq 11\%$, $\geq 9\%$ и $\geq 8\%$ от изходния FEV₁, чиято чувствителност и специфичност спрямо „класическия“ ERS/ATS критерий се оцени с ROC криви (AUC – area under the curve).

Спирометриите се проведеха в Клиниката по педиатрия, УМБАЛ „Александровска“ ЕАД с апарат Masterscreen Pneumo spirometer '98 (Jager®, Wuerzburg, Germany), с изчертаване на кривите в реално време и автоматична корекция (BTPS). Бяха спазени стриктно разписаните технически инструкции за работа, почистване и дезинфекция на апаратурата и функционалния кабинет.

Резултатите от спирометрията бяха представени като процент от предвидената стойност според референтното уравнение на Zapletal, заложено в софтуера на Masterscreen Pneumo, съгласно утвърдения в Клиниката протокол.

За решаването на задача 3 към данните от изходната спирометрия на 172 от изследваните деца се приложиха и референтните уравнения, включени в GLL-2012 Desktop Software for Data Sets (<http://lungfunction.org>). Нормалните стойности бяха представени като фиксиран cut-off ($\geq 80\%$) и като долна граница на нормата (LLN), отговаряща на 5-ти перцентил или -1.64 z-score. Това позволи да се сравни интерпретацията на изходната спирометрия при използване на различните методи за оценка.

Контролната група здрави деца се избра след изключване от анамнезата на фамилна обремененост за астма, както и предшествващи прояви на бронхиална обструкция и АР при децата. Пре- и постбронходилататорните спирометрии се проведеха полево с портативен ултразвуков спирометър Easy

One Plus Diagnostic spirometer (nidd Medical Technologies®), включен към РС с възможност за изобразяване на стимулираща анимация и изчертаване на кривите в реално време. За всяко дете се използваше индивидуална спирета. Бронходилататорният тест се проведе с повторна спирометрия 15 min след 2 впръсквания Ventolin от по 100 µg с обемна камера (спейсър).

При провеждането на всички спирометрии се спазваха стриктно следните противопоказания: много тежък астматичен пристъп (животозастрашаващ), пневмоторакс, хемоптиза, скорошна гръдна/коремна оперативна интервенция, фебрилитет, скорошна очна хирургична интервенция, тежка глаукома, ИНПР, злоупотреба с алкохолни и психоактивни средства, активна туберкулоза.

1.1.7 Оценка на назалната еозинофилия

Осъществи се цитологично диференциране и микроскопско броене със светлинен микроскоп на еозинофилен брой в назален секрет, взет със стерилен тампон от среден носен ход, нанесен върху предметно стъкло, с последващо оцветяване с хематоксилин-еозин.

1.1.8 Серологично изследване за определяне на атопичния статус – определяне на специфични и общи IgE

Извърши се полуколичествено *in vitro* изследване на серумните нива на счовешки IgE-антитела срещу комплекс от инхалаторни и хранителни и инхалаторни алергени в серум, по две различни методики: Euroline Allergy Profile Pediatrics, Enzyme Allergo Sorbent Test (EAST) на Euroimmune® (Medizinische Labordiagnostica, AG, 2014, Germany) и Phadiatop/fx5 (мултискринингов тест за атопия) на ImmunoCAP, Phadia, Thermo Fischer Scientific Inc, (Phadia AB®, Uppsala, Sweden).

При 96 деца атопичният статус се изследва с китове EUROLINE Pediatric (комплекс от най-честите хранителни и аероалергени в детска възраст). Тестваха се допълнително още 14 деца с реактива- EUROLINE Pediatric Inhalation– кит за инхалаторни алергени. Дигиталното отчитане на резултатите се осъществи със скениращо устройство (Cannon) и лицензиран програмен продукт EUROLIneScan program.

При част от пациентите (48 деца) специфичните IgE бяха изследвани и с мултискрининговия тест за атопия на ImmunoCAP, Phadia (Thermo Fischer Scientific Inc, Phadia AB, Uppsala, Sweden), който включва Phadiatop (комплекс

от аероалергени) и fx5 (хранителен микс MultiCAP). Изследването се проведе в Клиника по имунология на УМБАЛ „Александровска“ от проф. Марта Балева, дм.

Резултатите от ImmunoCAP алергенни смеси се представят качествено (позитивни/негативни/гранични). Стойности между долната граница за детекция и 0.35 kUA/l може да означава наличие на много ниски нива на IgE. Стойности ≥ 0.35 kUA/l са индикация за наличие на sIgE антитела срещу един или повече хранителни алергени, включени в мултиалергенната смес.

При 71 деца от групата на астматиците се определиха общите IgE в серум по ELISA методика, EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostica AG. Тестовият кит съдържа микротитърна плака с гнезда, покрити с поликлонални антитела срещу човешки IgE. Определянето на концентрацията на IgE се измерва посредством калибрационна крива. Отчитането се извършва при дължина на вълната 450/630 nm с програма PGM с 4 стандарта (калибратора) 0 U/ml, 10 U/ml, 100 U/ml и 500 U/ml. Резултатите са количествени и се дават в U/ml. Нормалните стойности се определиха спрямо горната референтна граница на нормата за съответната възраст на детето. (таблица 3)

Възраст	Горна референтна граница, U/ml
1-5 години	60
6-9 години	155
10 – 15 години	199
> 16 години	100

Таблица 3 Референтни стойности за серумно ниво на sIgE

При 71 деца бяха проведени всички включени в проучването клинични, инструментални и лабораторни изследвания. Към резултатите от тази група деца се приложи клъстерен анализ за изпълнение на задача 7. (таблица 4)

Изследвана група	Общ брой	Средна възраст	Момичета	Момчета
Деца с БА	211	10.2г. (4-17.6)	77	134
Деца с БА, включени в клъстерен анализ	71	10.9 (5.3-17.7)	23	48
Здрави контроли	46	10.92 (6-16.4)	18	28

Таблица 4 Демографска структура на отделните групи изследвани лица. Данните са представени като брой (%) или средна стойност +/-SE

1.1.9 Статистически методи за обработка на данните

Статистическият анализ на суровите данни беше извършен с програма Software package for statistical analysis (SPSS®), IBM 2009, версия 19 (2010) и Excel (v. 2010). Графичните изображения, представящи статистическите данни,

са изготвени основно с помощта на Excel и на SPSS v.19. Използвахме методите на дескриптивната статистика, тестове за определяне нормалността на разпределението (Колмогоров-Смирнов, Шапиро-Уилкс), корелационен анализ (метод на χ – квадрат, Fisher’s Exact test, ANOVA). При изследване на специфичността и чувствителността на количествените диагностични тестове построихме Receiver operating characteristic (ROC) криви, които представят графично зависимостта между чувствителността (наистина положителните стойности) като функция на 1-специфичността (фалшиво положителните стойности). За най-добри cut-off points избрахме онези стойности, които са най-малко отдалечени от горния ляв ъгъл на координатна система (координати 0; 1) или стойностите с най-голяма сума на чувствителност+специфичност (модифициран индекс на Юден). За дефиниране на астма фенотиповете използвахме клъстерен анализ. При клъстерния анализ целта е n на брой обекта (в нашия случай – деца с астма) да се групират в k на брой групи, наречени клъстери, като се използват p на брой признаци (променливи – възраст, пол, ВМІ, параметри на изходната спирометрия, БДО, атопичния статус, нивото на контрол на астмата).

За ниво на значимост бе избрано $\alpha=0.05$, т.е. при стойности на $p<\alpha$, се отхвърля нулевата хипотеза.

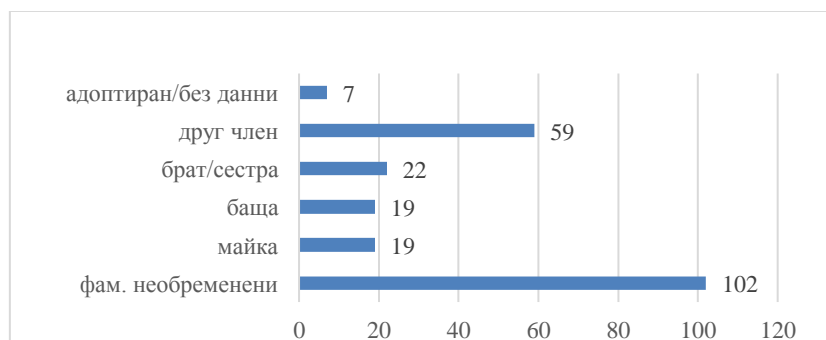
РЕЗУЛТАТИ

Демографска характеристика на групите

По-голямата част от децата са хоспитализирани по повод астма екзацербация (166 деца; 78.6%), а останалите при амбулаторно посещение в Клиниката по повод контролен преглед или влошен контрол на астмата.

От 211 включени деца с астма 77 са момичета (36%) и 134 момчета (64%) на средна възраст 10.18 години (SD 3.54) – [за момичетата 10.54 (SD 3,75) и за момчетата 9.98 (SD 3.41)]. Преобладават децата на възраст от 7 до 15 годни, 12,9 % от децата са в предучилищна възраст, а 8 % са над 15 години.

Фамилна обремененост за бронхиална астма се съобщава при почти половината деца - 48.4% (n 103), като при 25% (n 53) от децата е по първа линия (майка, баща, братя или сестри). При 16 деца има данни за бронхиална астма при повече от един член от семейството. (фигура 1)



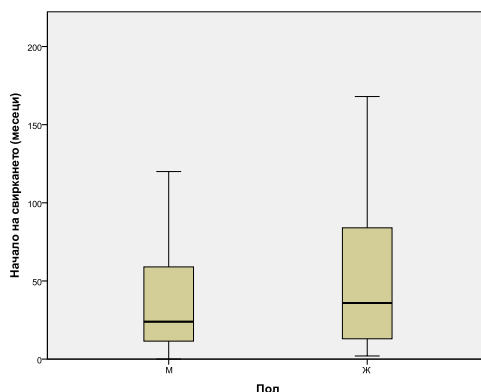
Фигура 1 Фамилна обремененост за астма

При 47.9% (n 101) от децата има анамнестични данни за собствен атопичен терен (хранителна и/или медикаментозна алергия, атопичен дерматит, следвани от алергичен конюнктивит, инсекталергия, алергия към протеините на кравето мляко, уртикария с неуточнен причинител).

При 75.8 % (n 88) от децата поне един от двамата родители е пушач, при 59.4% (n 69) това е майката. Седем деца над 15-годишна възраст (3,3%) съобщиха за активно тютюнопушене. Съпътстващ АР (сезонен/целогодишен) има при 54.9% (n 116) от децата (59% от момчетата и 48% от момичетата), по-често при по-големите пациенти. (p 0.003).

Средната възраст на началото на свиркащото дишане е 3.7 години (3.1 години за момчетата и 4.7 години за момичетата). Начало на „свиркането“ в кърмаческа възраст се регистрира по-често при момчетата 54.5% (n 73) в сравнение с момичетата 37.7% (n

29). При момчетата се установи и общо по-ранно начало на епизодите на свиркащо дишане в сравнение с момичетата, $p = 0,006$ (Графика-кутия). Средната възраст на диагностициране на бронхиална астма е 5.7 години и също е значимо по-ниска за мъжкия пол, $p = 0,006$. (графика 1)

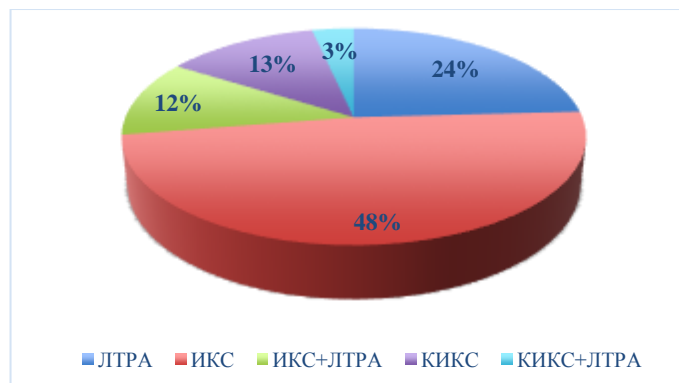


Графика 1 Графика кутия за начало на свиркащото дишане в месеци по пол, $p = 0,006$

124 деца (59%) не са провеждали системно контролиращо лечение в предходните 8 седмици. (графика 2) От тях 45 (36%) са прилагали само бързодействащ бета-агонист (Вентолин) със/без системен ИКС при по-тежки епизоди на свиркащо дишане (децата с новодиагностицирана бронхиална астма). Останалите 78 (64%) са провеждали несистемно контролиращо лечение – ИКС само при нужда или са включени в изследването в периода на „почивка“ за летните месеци и началото на есента. От 87 деца (41%), които провеждат системно контролиращо лечение, 21 (25%) са на монотерапия с ЛТРА (Монтелукаст), 42 (48%) са на ИКС (Будезонид или Флутиказон пропионат), 10 (11.5%) са на комбинация ИКС с ЛТРА, 11 (12.5%) са на комбиниран препарат (ИКС с LABA – Будезонид/формотерол или Флутиказон пропионат/салметерол) и 3 деца (3%) на комбиниран препарат с ЛТРА. (графика 3) Не се установи статистически значима разлика в контролиращото лечение между момичетата и момчетата.



Графика 2 Процентно разпределение според контролиращото лечение



Графика 3 Процентно разпределение на пациентите според контролиращия медикамент

След изписването при 59% от децата контролиращото лечение е променено – преминали са на по-високо GINA стъпало. Тази група деца е със среден БДО 16.92% и среден FEV₁ 78.6%, без статистически значима разлика от децата без корекция в терапията. От 143 деца, лекувани с Вентолин при нужда или LTRA, 68 (48%) са преминали на контролиращо лечение, включващо ИКС.

Контролът на астмата, определен с ACQ6 скор или GINA скор, не се различава статистически между момчетата и момичетата.

Установихме значимо разминаване в класифицирането на децата по тежест при използване на трите метода. Тежестта на астмата, дефинирана според стъпалото на контролиращото лечение и въз основа на симптомите, е значимо по-ниска от тази, основана на резултатите от спирометрията.

В изследваната популация деца се съобщават средно по 2 екзацербации на астмата за предходните 12 месеца и средно една хоспитализация и/или лечение с бустерни дози системен кортикостероид. За предходните 12 месеца децата са загубили средно по четири дни от училище поради влошаване на контрола на астмата. За ограничение във физическата активност съобщават 28,3%, за пристъпи при физическо натоварване – 22,3% и пристъпи при контакт с алерген при 19,5% от деца.

Групата на пациентите с астма и контролната група не се различават статистически по възраст, ръст, тегло и ВМІ, но се различават по пол. В контролната група преобладават момичетата, при децата с астма преобладава мъжкият пол. Както изходната спирометрия, така и на бронходилататорния отговор се различават значимо, както между децата с астма и здравите контроли, така и между децата с астма, групирани според степента на нарушение на изходния FEV₁ ($\geq 80\%$, $<80\% \geq 70\%$, $<70\% \geq 60\%$ и $<60\%$). В четирите групи според изходния FEV₁ се установява значима

разлика в BMI (p 0,045). Децата с най-тежко нарушение на FEV₁<60% имат по-висок BMI в сравнение с децата с по-лека бронхиална обструкция (p 0,045).

Задача 1 Клинично значение на показателите от изходната спирометрия

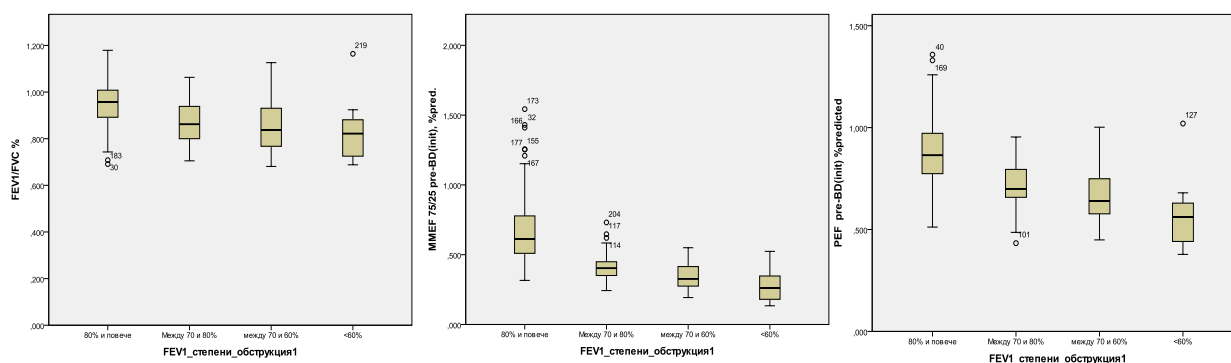
Показателите от изходната спирометрия се разделиха условно на такива, отразяващи калибъра/функцията предимно на големите ДП, а именно FEV₁ и PEFR и на такива, отразяващи калибъра/функцията предимно на малките ДП, съответно MMEF_{25/75} и MMEF₇₅. (таблица 5 и 6) Установи се, че коефициентът на Tiffeneau (FEV₁/FVC) корелира по-добре с показателите, отразяващи малките ДП (p<0,001 при коефициент на корелация Spearman's rho=0,746 за MMEF_{25/75}; 0,680 за MMEF₇₅ и 0,848 за MMEF_{25/75}/FVC (Forced expiratory decay), докато за PEFR корелационният коефициент е 0,438 и за FEV₁ съответно 0,571).

Група показател	Изходна (литри)	Изходна % от предвиденото	Пост-БД (литри)	БДО (%промяна)	p
Големи ДП					
FEV ₁	1,877 (±0,831)	86,00(±18,70%)	2,106 (±0,791)	17,78%(±13,9%)	<0,0001
PEFR	3,970 (±1,767)	80,66%(±18,60)		16,06%(±17,69)	<0,0001
Малки ДП					
MMEF _{25/75}	1,527 (±0,928)	56,47%(±25,36)	2,166 (±2,84)	57,65 (±76,5)	0,019
MMEF ₇₅	0,774 (±0,591)	58,9%(±19,54)			
MMEF ₅₀	1,771 (±0,893)	57,0% (±22,27)			
FEV ₁ /FVC		92,09 (±0,111)			

Таблица 5 Показатели на малките и големите ДП

Показател	Изходна (литри)	Изходна % от предвиденото	Пост-БД (литри)	БДО (%промяна)	p
FVC	2,39 (±1,01)	91,43%(±15,17)	2,58 (±1,06),	8,1% (±12,9%)	<0,0001

Таблица 6 Средни стойности на пре- и постбронходилататорния FVC



Графика 4 Намаляване на коефициента на Tiffeneau (FEV₁/FVC) а), на MMEF25-75 б) и на PEFR в) с увеличаване тежестта на бронхиалната обструкция

При пациентите с бронхиална обструкция ($FEV_1 < 80\%$) с увеличаване степента на обструкцията, т.е. с намаляването на $FEV_1\%$ от предвиденото, показателите FEV_1/FVC , $PEFR$, $MMEF_{25/75}$ намаляват пропорционално. (графика 4).

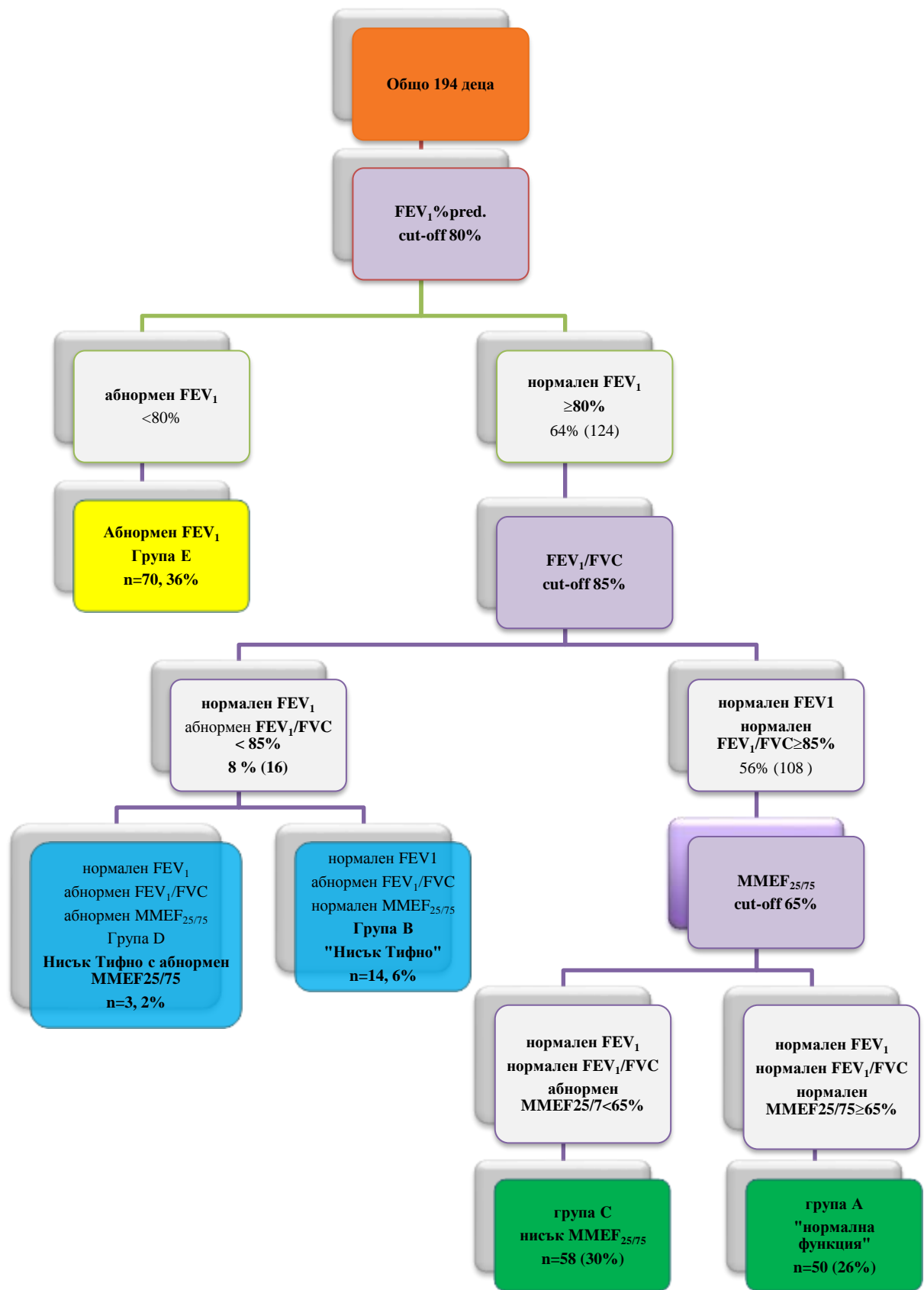
За решаването на задача 1 от дисертационния труд разделихме пациентите на следните групи:

По тежест на астмата – според стъпалото на контролиращото лечение по GINA, според изходната спирометрия и според степента на наличие на астма симптоми извън пристъп (дневни, нощни, нужда от спасителен медикамент, ограничение във физическата активност, взети в 7-степенна скала от ACQ). По степен на контрол на астмата – според ACQ_6/ACQ_7 и GINA скор за контрол на астма симптомите.

Дефинирахме т.нар. **рисков домейн** – брой хоспитализации (≥ 1), брой екзацербации (≥ 1) за предходните 12 месеца, анамнестични данни за пристъпи при контакт с алерген, за пристъпи при физическо натоварване, за отсъствие от училище заради астмата през последните 12 месеца (≥ 1), липса на контрол на астмата (ACQ скор ≥ 1.5), атопия (позитивни sIgE), съпътстващо затлъстяване и/или AP, много нисък изходен $FEV_1 < 60\%$. Като **риск** се определи наличие на поне едно от следните: ≥ 1 хоспитализация през предходната година, ≥ 1 екзацербация през предходната година, данни за пристъпи, провокирани от физическо усилие, за пристъпи, провокирани от контакт с алерген (алергенна експозиция), данни за ограничаване на физическата активност.

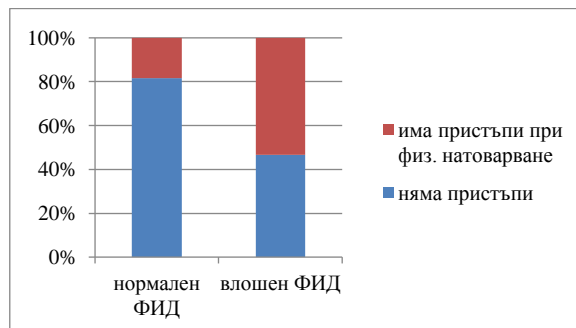
Според резултатите от изходната спирометрия разделихме децата на две големи групи: с нормална функция („нормален $FEV_1 \geq 80\%$ “) и група с нарушена функция („абнормен $FEV_1 < 80\%$ “). (Фигура 4) Децата с нормален $FEV_1 \geq 80\%$ се разпределиха в 4 подгрупи в зависимост от изходния FEV_1/FVC и изходния $MMEF_{25/75}$: **група А – деца с „нормална функция“** – (с нормален $FEV_1/FVC \geq 85\%$, нормален $MMEF_{25/75} \geq 65\%$), **група В - деца с „нисък Tiffeneau“** ($FEV_1/FVC < 85\%$, $MMEF_{25/75} \geq 65\%$), **група D - деца с „нисък Tiffeneau и абнормен $MMEF_{25/75}$ “** ($FEV_1/FVC < 85\%$, $MMEF_{25/75} < 65\%$), **група С - деца с изолирано „нисък $MMEF_{25/75}$ “** ($FEV_1/FVC \geq 85\%$, $MMEF_{25/75} < 65\%$) (Виж фигура 4)

Дефинира се и група деца със SAO (Small Airways Obstruction; периферна обструкция) – при нормален изходен $FEV_1 (\geq 80\%)$ и намален $MMEF_{25-75} (< 65\%)$, независимо от изходния коефициент на Tiffeneau (FEV_1/FVC).



Фигура 2 Разпределение на децата в групи според изходните FEV₁, FEV₁/FVC и MMEF₂₅₋₇₅

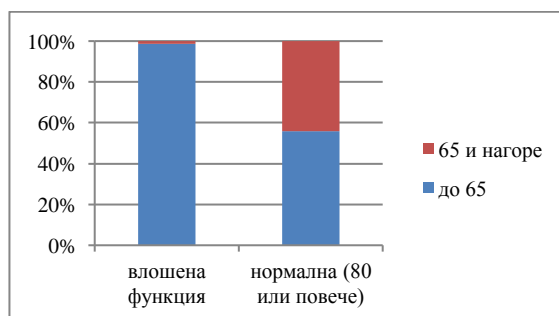
При групиране на децата с нормален изходен $FEV_1 \geq 80\%$ в три групи (група А, В, D от Фигура 4) се установи, че наличието на периферна обструкция увеличава вероятността за пристъпи при физическо натоварване 5,08 пъти (OR 5.079, 95% CI 1.461-17.653). (графика 5)



Графика 5 Процентно разпределение на децата със и без пристъпи на физическо натоварване в групите с нормален и намален ФИД (нормален FEV_1 и $FEV_1 < 80\%$)

Децата с периферна обструкция група SAO ($FEV_1 \geq 80\%$, $MMEF_{25/75} < 65\%$) имат сигнификантно по-ниски стойности за FEV_1 , FEV_1/FVC , $PEFR$, $MMEF_{25/75}$, както и сигнификантно по-висок БДО ($\Delta FEV_1\%init.$ и $\Delta MMEF_{75/25}\%init.$), в сравнение с тези с нормална функция ($FEV_1 > 80\%$, $MMEF_{25/75} \geq 65\%$) ($p < 0,0001$). Не се установи значима разлика в заболеваемостта (риск и рисков домейн) - хоспитализации, екзацербации в предходната година, пристъпи при физическо натоварване, при контакт с алерген, ограничение във физическата активност, както и разлика в BMI и наличието на придружаващ AP между двете групи ($p < 0,05$).

Сравни се процентното разпределение на децата с намален $MMEF_{25-75}$ ($< 65\%$) в групите деца с нормален и намален изходен FEV_1 . Доказа се значима разлика в двете групи, като 55,9% от децата с нормален изходен FEV_1 и 98,5% от децата с намален изходен FEV_1 демонстрират наличие на периферна обструкция ($MMEF_{25-75} < 65\%$). (графика 6)

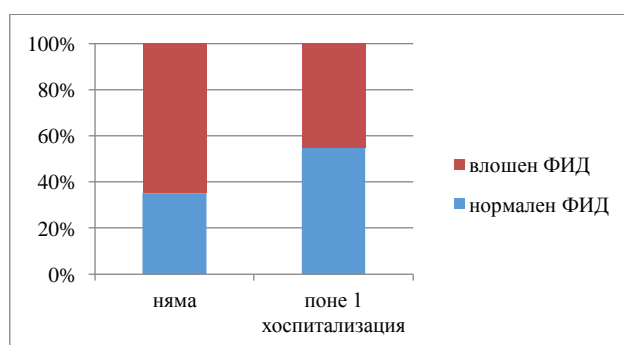


Графика 6 Процентно разпределение на децата с периферна обструкция в зависимост от изходния FEV_1

Установи се, че децата с периферна обструкция (SAO, $FEV_1 \geq 80\%$ и $MMEF_{25/75} < 65\%$) имат 2,388 пъти по-голям риск от проява на някой от елементите на рисковия домейн (OR 95% CI 1.077-5.294). Децата от тази група имат 3,736 пъти (OR 95% CI 1.007-13.860) по-висока вероятност да демонстрират понижени стойности на $FEV_1/FVC < 85\%$ (коефициент на Tiffeneau), 3,857 пъти (OR 95% CI 1,518-9,801) по-голяма вероятност за нисък PEF $< 80\%$. Установи се също, че тази група деца имат 5,9 пъти (OR 95% CI 2,487-13,998) по-голяма вероятност за позитивиране на БДО за $MMEF_{25/75}$ и цели 6,171 пъти (OR 95% CI 2,523-15,096) за ΔFEV_1 над 12%, в сравнение с децата с нормален изходен $FEV_1 \geq 80\%$, без наличие на периферна обструкция ($MMEF_{25-75} \geq 65\%$). И с логистична регресия се потвърди, че при стойности на $MMEF_{25-75} < 65\%$ (периферна обструкция, независимо от изходния FEV_1) вероятността от изява на рисков домейн се увеличава 2,27 пъти (HR 95% CI 1,120-4,603).

Установи се значима разлика в средните стойности на основните показатели от изходната спирометрия, БДО (ΔFEV_1 и $\Delta MMEF_{25-75}$), както и на показателя FEF_{25-75}/FVC , отразяващ формата на ДОК в групите деца с периферна обструкция (SAO) и тези с нормална функция. Децата със SAO имат значимо по-ниски стойности на всички изследвани индекси ($p < 0,0001$).

От общо 128 деца с нормална изходна спирометрия ($FEV_1 \geq 80\%$ и $FEV_1/FVC \geq 85\%$), симптоми на астмата извън пристъп изпитват 35 (27%). (графика 7)



Графика 7 Изходен FEV_1 при децата със и без хоспитализации за предходните 12 мес.

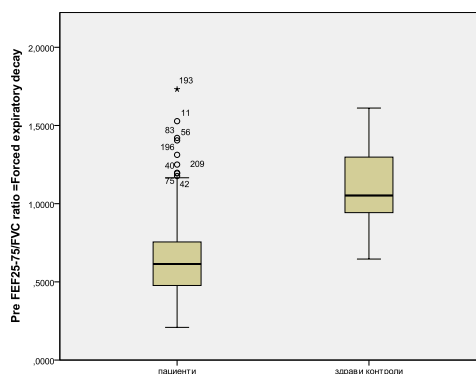
Установи се значимо по-висок процент на децата, отсъждали от училище повече от 5 дни за предходната година заради астмата в групата деца с нисък изходен FEV_1 (нарушена функция), $p = 0,014$. Наблюдава се и значимо по-голям процент на децата със сенсibiliзация към двата микроакара в домашна прах

(*D.farinae* и *D. pteronyssimus*) в групата деца с периферна обструкция (SAO), в сравнение с децата с нормална функция, $p=0,037$.

Децата с поне една хоспитализация за предходните 12 месеца в по-голям процент имат нисък изходен FEV₁ (< 80% от предвиденото).

Изчислихме индекса FEF₂₅₋₇₅/FVC (информативен за формата на ДОК) пре- и постбронходилататорно в групата деца с астма и в групата от здрави контроли. При съотношение приблизително равно на 1.0, формата на кривата е линейна (нормална), а при съотношение <1, формата е обструктивна.

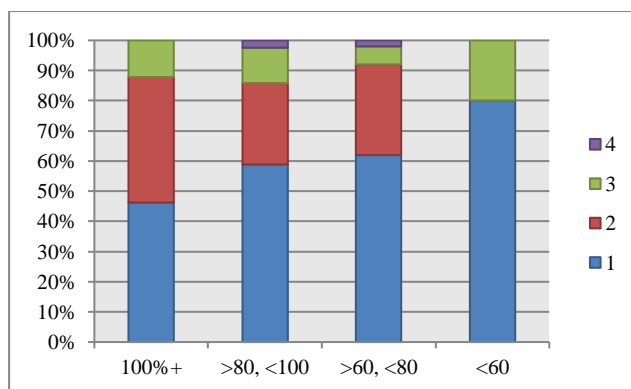
Установи се статистически значима разлика между медианата на индекса FEF₂₅₋₇₅/FVC на здравите деца и на тези с астма ($p<0.0001$). При децата с астма кривата е подчертано обструктивна, независимо от стойността на изходния FEV₁. (графика 8)



Графика 8 Графика-кутия: индекс FEF₂₅₋₇₅/FVC здрави контроли и деца с астма (медиана, IQR)

В групата на децата с астма се установи значима разлика във формата на ДОК (FEF₂₅₋₇₅/FVC) в отговор на приложението на бронходилататор ($p<0,0001$). Дори след провеждането на БДТ формата на кривата при децата с астма запазва своя подчертано обструктивен характер (FEF₂₅₋₇₅/FVC е под 1,0 - 0,75, IQR 0,57-0,91).

Не се доказва корелация между тежестта на астмата, определена чрез стъпалото на контролиращо лечение по GINA и тежестта, определена според изходната спирометрия. (графика 9)

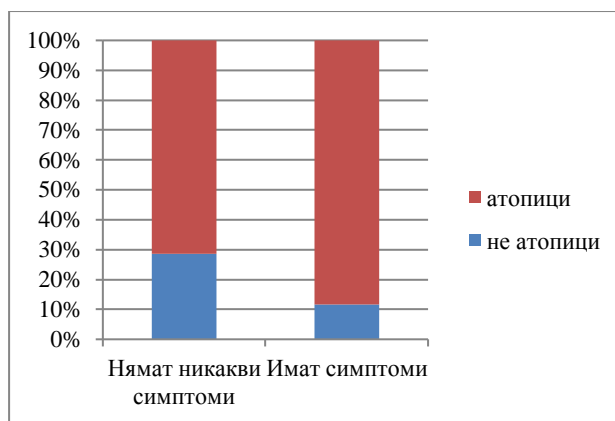


Графика 9 Дялово разпределение на децата с различно стъпало на контролиращо лечение по групи деца според нивото на изходния FEV₁

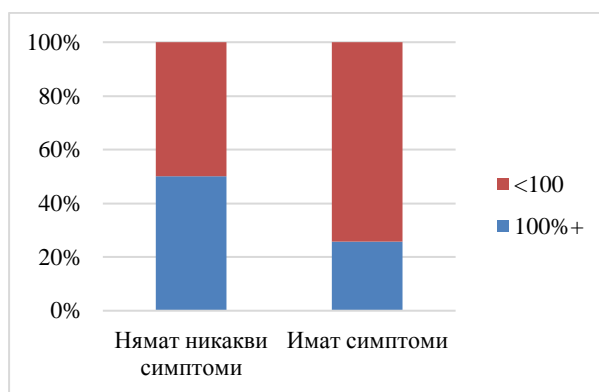
Резултатите, макар и статистически незначими, показват тенденция спрямо очакваното: пациентите без контролиращо лечение показват по-лоша спирометрия (по-нисък изходен FEV₁).

В групата деца с интермитентна и лека персистираща астма по GINA между 20 и 30% съобщават за наличие на астма симптоми между пристъпите (на поне един от въпросите от ACQ са дали отговор 1 или повече), а при 56,7% се установи граничен и лош контрол на астмата. В тази група деца 65,3% (109 деца) имат нормален изходен FEV₁ ≥ 80%, почти една трета от тях (59 деца; 35,3%) имат данни за периферна обструкция (SAO). 60,5% от децата имат позитивен БДО (ΔFEV₁%init.) над 12%, а 72% над 9%. Сред всички пациенти, независимо от тежестта на астмата, делът на тези със SAO е 33,6% (71 деца).

Дефинирахме група на децата, които са отговорили с нула на всички въпроси от ACQ6, т.е. не са изпитвали никакви симптоми в предходните 7 дни, тоест би следвало да не изпитват симптоми между епизодите на екзацербация на астмата. Установи се тенденция децата, които имат симптоми на астмата между епизодите на бронхиална обструкция, да имат атопична сенсibiliзация (позитивиране на sIgE) в по-голям процент, в сравнение с тези, които не изпитват никакви междинни симптоми (ACQ=0). (p=0,067) и да имат в по-малък процент изходен FEV₁ ≥ 100%, без тази зависимост да достига статистическа значимост (вероятно поради малката бройка на децата, които попадат в отделните групи. (графики 10 и 11) Не се установи разлика в процента на децата с придружаващ AP в двете групи.



Графика 10 Процентно разпределение на атопичния статус сред децата със и без симптоми от ACQ



Графика 11 Процентно разпределение на децата с изходен FEV1 над 100% сред децата със и без симптоми от ACQ

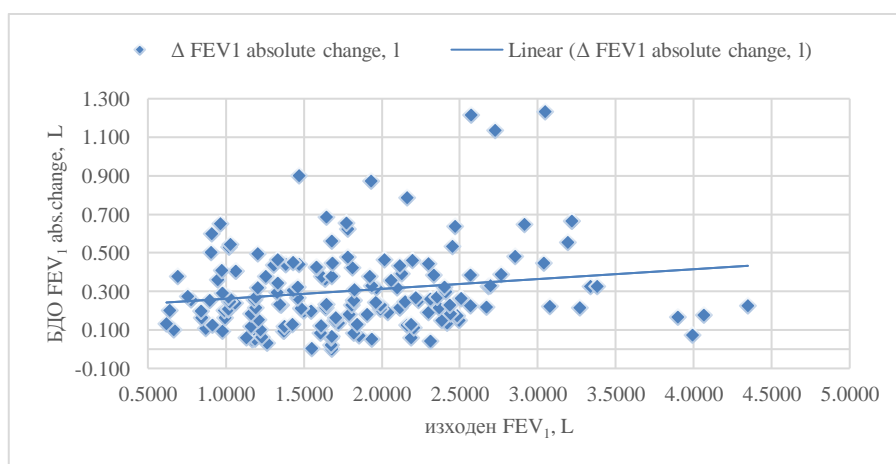
Показателите от изходната спирометрия, както и БДО (ΔFEV_1 за всички прагове), не показват добра чувствителност и специфичност в разкриването на децата с лош клиничен контрол (ACQ6). Показателите FEV_1 , PEF_R, MMEF_{25/75} и MMEF₅₀, но не и FEV_1/FVC и БДО (ΔFEV_1 за всички прагове), корелират с резултата от ACQ7, в който е включен въпрос за стойността на изходния FEV_1 . Намаленият показател корелира с по-лош контрол на астмата (по-висок ACQ скор). Сред пациентите с „нормална“ белодробна функция ($FEV_1 \geq 80\%$) не може да се направи категоричен извод за разлика в контрола на астмата, според ACQ6/ACQ7 скор в групите деца със и без периферна обструкция (с нормален и с нисък MMEF₂₅₋₇₅) ($p = 0,051$), но тенденцията е децата с периферна обструкция да имат лош контрол на астмата.

Задача 2 Клинично значение на БДО

За изследваната популация деца с астма изчислихме бронходилататорната промяна на FEV_1 по трите основни формули – като процент от изходната стойност ($\Delta FEV_1\% \text{init.}$), като процент от предвидената стойност ($\Delta FEV_1\% \text{pred.}$)

и абсолютната промяна в литри ($\Delta FEV_1 \text{ abs. change, L}$). Установи се много добра корелация и между трите формулировки. Най-широко използваната в клиничната практика формула - $\Delta FEV_1\%$ от изходната стойност, показва отлична корелация с $\Delta FEV_1\%$ от предвидената стойност (Spearman's rho 0,859, p=0, 000) в изследваната популация, поради което тя ще бъде използвана в настоящия дисертационен труд.

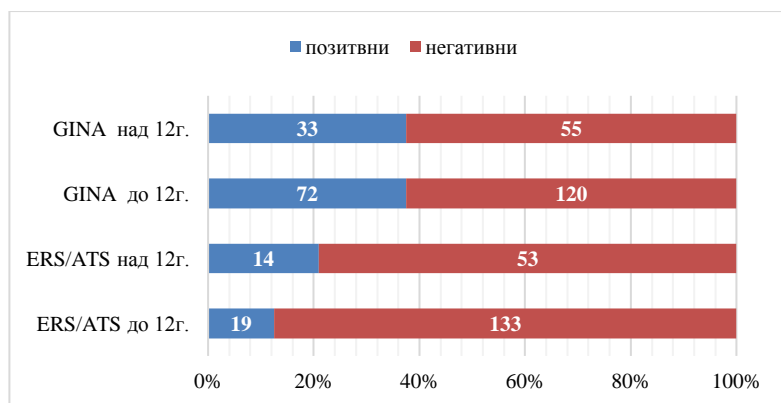
Установи се умерено силна обратна корелация на изходния FEV_1 и с трите формулировки за БДО, като % от изходната стойност ($\Delta FEV_1 \text{ \%init.}$) най-силно се влияе от изходния $FEV_1\% \text{ pred.}$ (Spearman's rho=-0,567). (графика 12)



Графика 12 Зависимост между БДО ($\Delta FEV_1 \text{ abs. change}$) и изходния FEV_1 L.

В изследваната популация деца се установи слаба, но значима корелация на БДО, изчислена като абсолютна промяна (в mL) с възрастта, ръста, теглото и BMI (Spearman's rho~0.3).

При прилагане на ERS/ATS критериите за значим БДО, а именно $\Delta FEV_1 \text{ \%init.} \geq 12\%$ и $\geq 200 \text{ mL}$, се разкриха по-малък брой позитивни пациенти, подчертано за възрастовата група под 12 години в сравнение с прилагането на критериите на GINA 2016 - $\Delta FEV_1 \text{ \%init.} \geq 12\%$, без условието за значим праг на абсолютната промяна $\geq 200 \text{ mL}$ за деца под 12 години. (графика 13)



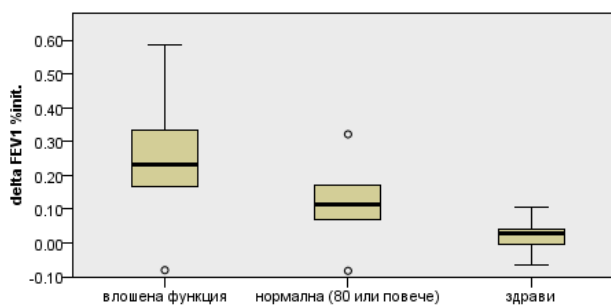
Графика 13 Класифициране на децата с позитивен/негативен БДО съгласно критериите на ERS/ATS и GINA 2016

Установи се значима разлика в бронходилататорния отговор на децата с астма и на контролната група здрави деца. ($p < 0,0001$) (таблица 7)

BDR ΔFEV_1 %init.			$p < 0,0001$
Деца с астма	Персентили	Медиана, ИКР	14,25% (8,52-23,37)
Здрави контроли	Персентили	Медиана, ИКР	3,00 % (-0,25-4,00)

Таблица 7 Сравнение на стойността на БДО при деца с астма и здрави контроли

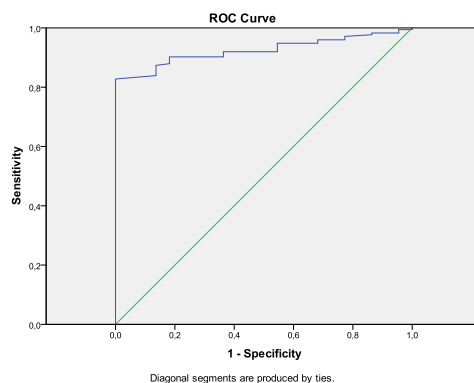
При сравняване на БДО (ΔFEV_1) на здравите деца с този на пациентите с астма, съответно с влошена и „нормална“ белодробна функция според изходния FEV_1 , се доказва значима разлика както между трите групи, така и между всяка двойка от тях. (графика 14)



Графика 14 БДО в три групи - деца с астма и нормален/намален изходен FEV_1 и група на здравите контроли (Independent-Samples Kruskal-Wallis Test)

Приложихме метода на ROC кривите, за да дефинираме оптималния праг за позитивен БДО (ΔFEV_1 %init.), който разграничава децата с астма от здравите контроли при най-добро съчетание между чувствителност и специфичност. (графика 15) Даден тест се счита за дискриминативен (диагностично полезен) при площ под кривата (AUC) над 0.70. За БДО (ΔFEV_1 %init.) изчислената площ под кривата е 0,924 (95% CI 0,887-0,961). Праг 6,15% за позитивен БДО (ΔFEV_1 %init.) показва най-добро съчетание между чувствителност (82,8%) и

специфичност (100%) при разграничаване на здравите контроли от децата с астма.



Графика 15 ROC крива за определяне на чувствителност и специфичност на cut-off за позитивен БДО $\geq 12\%$ за разграничаване на децата с астма от здравите

За „класическия“ праг за позитивен БДО (ERS/ATS;GINA) $\geq 12\%$, се изчисли по-ниска чувствителност - 60,9% при 100% специфичност. За изследваната популация деца праг $\geq 9\%$ е по-добър от праг $\geq 12\%$, със 73% чувствителност и 100% специфичност.

Позитивирането на БДО при праг за $\Delta FEV_1\% \text{init.} \geq 8\%$ се асоциира с 2,369 (95% CI 1.077-5.213) пъти по-висок риск от поне 1 хоспитализация през предходната година и 2,871 (95% CI 1,239-6, 653) пъти по-висок риск за отсъствие от училище (повече от 5 дни/годишно) заради астмата. Тази зависимост, макар и по-слаба, се запазва и при праг за БДО $\geq 9\%$ и $\geq 11\%$, съответно 2,282 пъти и 2,159 пъти за риска от хоспитализации. Установи се, че децата с БДО $\Delta FEV_1\% \text{init.} \geq 10\%$ имат три пъти по-голяма вероятност за проява на пристъпи при физическо натоварване с OR 3.09 (CI 1.101-8.674) в сравнение с децата с БДО $\Delta FEV_1\% \text{init.} < 10\%$. Класическият праг за БДО $\geq 12\%$ не може да предскаже риска от хоспитализации, но се асоциира с 3,142 (95% CI 1,505-6,562) по-голяма вероятност за отсъствие от училище заради астмата.

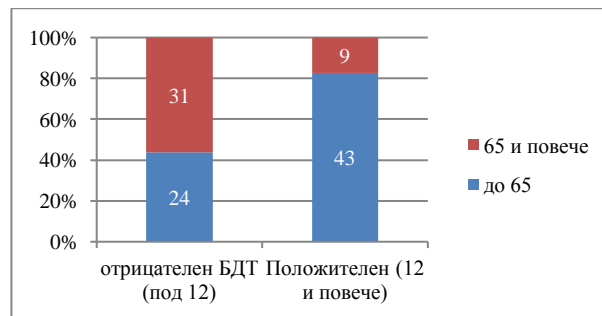
В групата на ИКС наивните деца с нормален изходен $FEV_1 \geq 80\%$ **БДО може да разкрие децата с риск при използване на cut-off 12% и 11%**, но не и при използване на по-нисък праг за значим БДО. С логистична регресия се доказва, че сред стероидно наивните пациенти наличието на БДО над 12% увеличава вероятността от изява на поне един от елементите на рисковия домейн 2,66 пъти (95%CI 1,08-6,669). (таблица 8)

		B	S.E.	Wald	df	p	Exp(B)	95% CI EXP(B)
Стъпка 1 ^a	Риск (1)	0,981	0,460	4,546	1	0,033	2,667	1,082-6,569
	Константа	0,348	0,267	1,707	1	0,191	1,417	

Таблица 8 Логистичен регресионен анализ за връзка между БДО (>12%) и излявата на рисков домейн

При стероидно наивните деца се установи и обратно пропорционална връзка между изходния MMEF_{75/25}%pred. и ΔFEV₁%init., но не и между тези два показателя и наличието на хоспитализация. Тази обратна връзка се запазва и при всички пациенти с астма, без разделянето им на стероидно наивни и на такива, лекувани с ИКС.

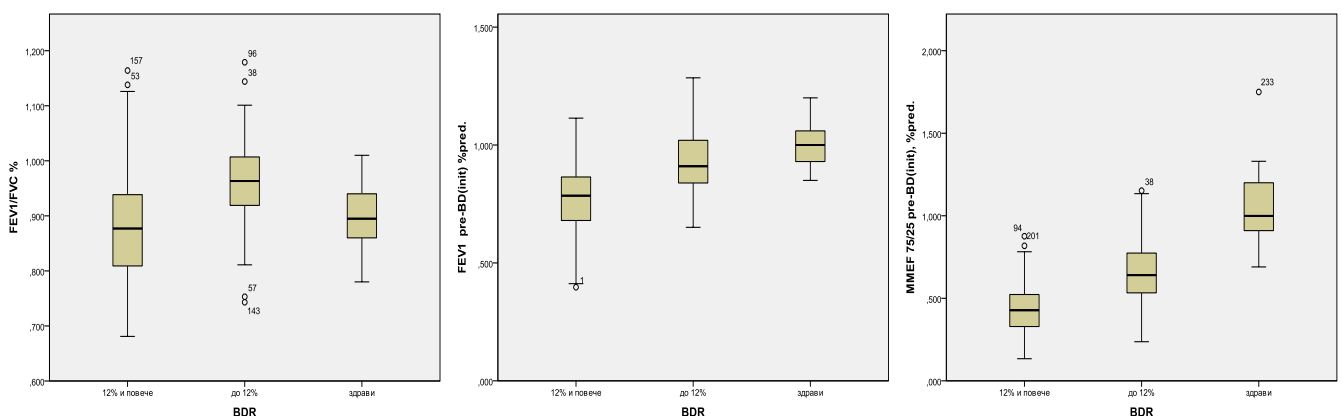
За решаването на задача 2 разделихме пациентите в две групи според БДО, изчислен като процент от изходната стойност – група с положителен при ΔFEV₁% init.≥12% и група с отрицателен БДО при ΔFEV₁% init.<12%. (графика 16)



Графика 16 Дялово разпределение на пациенти с MMEF25-75 над и под 65% сред пациентите с положителен и отрицателен БДТ

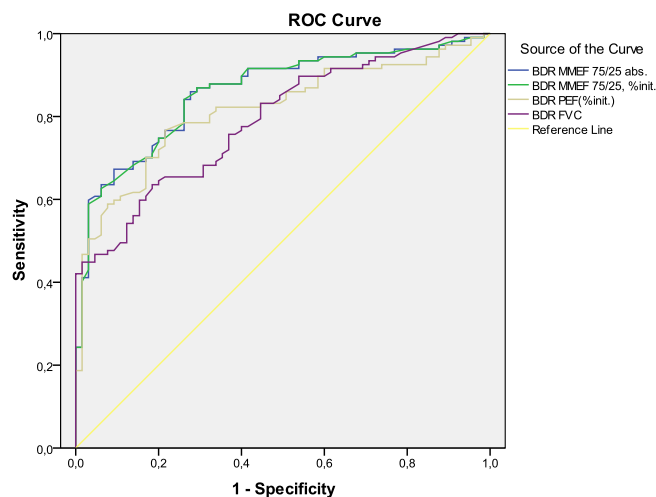
В групата с положителен БДО преобладават децата с периферна обструкция (MMEF₂₅₋₇₅<65%) - 65,2%, спрямо 22,5% с нормален MMEF₂₅₋₇₅. (p<0,0001).

В графичен вид са представени средните на показателите от изходната спирометрия– FEV₁/FVC, FEV₁, MMEF₂₅₋₇₅, с доверителен интервал (медиана, интерквартилен размах) в трите групи деца – деца с астма с положителен и отрицателен БДО и здравите контроли. (графика 17)



Графика 17 Графика кутия - средна, CI за FEV₁/FVC, за FEV₁ и за MMEF 25-75 в трите групи - болни с положителен и отрицателен БДО и здрави контроли

Чрез метода на ROC кривите тествахме диагностичната точност на четири нови (алтернативни) критерия за БДО спрямо класическия – $\Delta FEV_1\%init.\geq 12\%$), а именно $\Delta MMEF_{25/75}\%init.$, $\Delta MMEF_{25/75}abs.$, $\Delta FVC\%init.$ и $\Delta PEF\%init.$ И трите тествани показателя (MMEF_{25/75}, FVC, PEF) демонстрираха добри дискриминативни качества в разкриването на децата с позитивен БДО по класическите критерии, с площ под кривата по-голяма или равна на 0,7 (AUC \geq 0.7) (графика 18, таблица 9)



Графика 18 ROC крива за четири алтернативни критерия за БДО

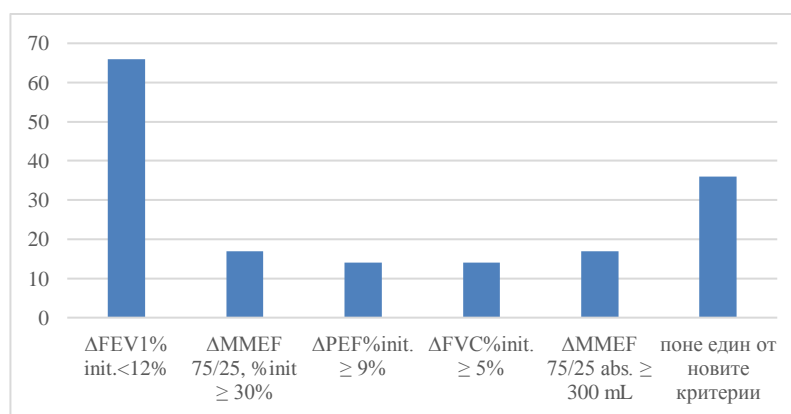
Алт. критерий	AUC	Ст. греш	p	95% CI	праг	Чувств. в.	Спец.	ППС	НПС
$\Delta MMEF_{75/25}, \%init.$	0,859	0,028	0,000	0,804-0,915	29.5	84.1	73.8	84	73.9
$\Delta PEF\%init.$	0,816	0,032		0,753-0,879	9.35	76.6	78.5	85.4	70
$\Delta FVC\%init.$	0,792	0,033		0,726-0,857	5.8	65.4	78.5	83.3	60.2
$\Delta MMEF_{75/25} abs.$	0,860	0,028		0,804-0,915	0.296	84.1	73.8	80.4	73.9

Таблица 9 Характеристика на алтернативните критерии за позитивен БДО

С най-голяма площ под кривата (AUC=0,956, 0,860) е бронходилататорната промяна на показателя MMEF₂₅₋₇₅, изчислен като процент от изходната стойност и като абсолютна разлика. Представянето на БДО като абсолютна разлика има редица недостатъци в детска възраст поради зависимостта на този показател от възрастта, респективно от размерите на белия дроб. Най-добър праг за позитивен БДО на показателя $\Delta MMEF_{75/25}, \%init.$ е 29,9% (30%), който показва 84,1% чувствителност и 73,8% специфичност, с позитивна предиктивна стойност (PPV) 84 и негативна предиктивна стойност (NPV) 73,9.

Промяната във формата на кривата (FEF₂₅₋₇₅/FVC индекс (Forced expiratory decay) след приложение на Вентолин корелира силно (Spearman's rho=0,848) с бронходилататорната промяна на MMEF₂₅₋₇₅ и слабо (Spearman's rho=0,375 и 0,314) с бронходилататорния отговор на FEV₁ и PEF.

Тествахме децата, които демонстрираха отрицателен БДО, по класическите критерии (non-responders- n 66 деца) с новите критерии за БДО и установихме, че 36 от тях са положителни по поне 1 от новите критерии. С показателя $\Delta\text{MMEF}_{75/25}\% \text{init} \geq 30\%$ се разкриват нови 17 деца (25,8%) от non-responders групата с позитивен БДО. (графика 19)



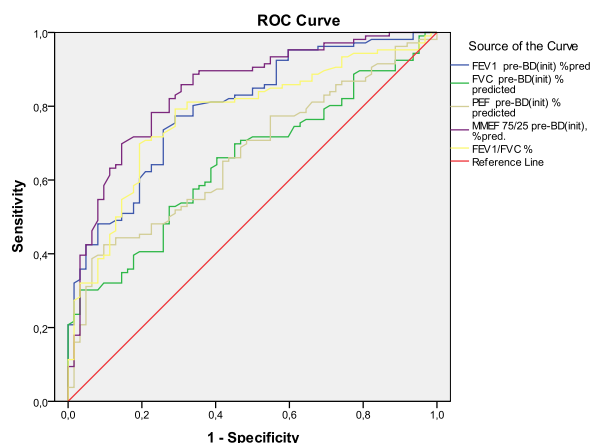
Графика 19 Деца от non-responders групата, които са с позитивен БДО според новите критерии за позитивен БДО и по поне един от тях.

За да се определи дали новите критерии са диагностично полезни като алтернатива на $\Delta\text{FEV}_1\% \text{init.} \geq 12\%$ и при деца с лека астма ($\text{FEV}_1 \geq 80\%$), проведохме същия анализ само за децата с нормален изходен FEV₁. Определиха се същите прагове за позитивност, като всички тествани показатели показаха добра дискриминативна сила (AUC>0,7). С поне един от новите критерии се разкриват допълнително 30 деца с позитивен БДО от групата на non-responders децата с нормален изходен FEV₁.

В групата с нормален изходен $\text{FEV}_1 \geq 80\%$ се установи умерено силна обратна корелация (Spearman's rho=-0,543, p<0.0001) между изходния MMEF₂₅₋₇₅%init. и БДО на същия показател MMEF₂₅₋₇₅ (колкото е по-нисък MMEF₂₅₋₇₅, толкова е по-голям бронходилататорният му, подобно на зависимостта, установена при FEV₁). Същата корелация се установи и между MMEF₂₅₋₇₅%init. и БДО за FEV₁ (Spearman's rho=-0,573, p<0.0001).

Чрез метода на ROC кривите се оцени чувствителността и специфичността на основните показатели от изходната спирометрия за

предсказване на позитивен БДО по класическите критерии ($\Delta FEV_1\% \text{ init.} \geq 12\%$). (графика 20) За показателя $MMEF_{25/75}$ се определи най-силна диагностична сила с площ под кривата 0,843 AUC (CI 0,781-0,845). И по двата приложени метода за най-добър cut-off, съчетаващ максимална чувствителност и специфичност (77,8%, респективно 78,8%) за конкретната популация пациенти, се определи стойността за $MMEF_{25-75}$ под **58,1%**, която е близка до тази по литературни данни (60%, 65%). Праг за $MMEF_{25/75} < 65\%$ показва висока чувствителност 82,7%, но по-ниска специфичност 54,5%.



Графика 20 ROC крива за предиктивната способност на показателите от изходната спирометрия за разкриване на позитивен БДО ($\Delta FEV_1\% \text{ init.} \geq 12\%$).

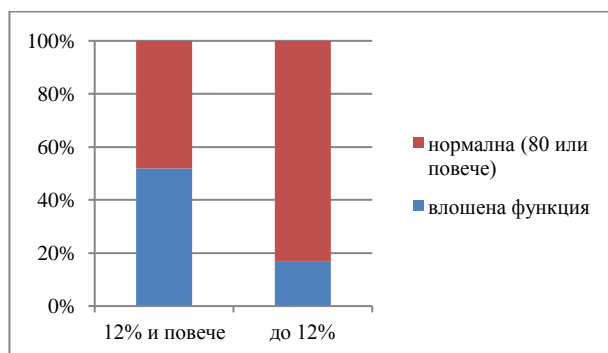
Изходният FEV_1 , както и коефициентът на Tiffeneau (FEV_1/FVC) също показаха добра диагностична сила (AUC над 0,7) - 0,796 и съответно 0,773. (таблица 10)

Показател	Праг	Чувств	Специф.	PPV	NPV	Площ под кривата	Ст. грешка
Преди бронходилататор							
FEV_1	87,05	77,8	69,7	80,1	63,2	,796	,035
FEV_1/FVC	91,7	70,4	75,8	82,7	61,9	,773	,031
$MMEF_{25/75}$	52,65	77,8	78,8	85,7	71,5	,843	,037
След бронходилататор							
$\Delta MMEF_{75/25}\% \text{ init.}$	29.5	84.1	73.8	84	73.9	,859	,028
$\Delta FVC\% \text{ init.}$	9.35	76.6	78.5	85.4	70	,816	,032
$\Delta PEF\% \text{ init.}$	5.8	65.4	78.5	65.4	78.5	,792	,033
$\Delta MMEF_{75/25} \text{ abs.}$	0.296	84.1	73.8	84.1	73.8	,860	,028

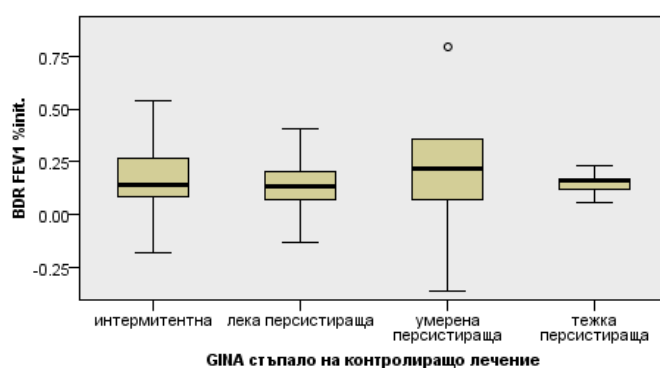
Таблица 10 Характеристика на определените прагове за показателите от изходната спирометрия и алтернативните критерии за позитивен БДО

Установи се, че в групата деца с позитивен БДО (по класически критерии $FEV_1\% \text{ init.} \geq 12\%$) е по-голям относителният дял на децата с намален изходен

FEV₁ в сравнение с групата с отрицателен БДО, където преобладават децата с нормален изходен FEV₁ (p<0,0001). (графика 21)



Графика 21 Процентно разпределение на децата с нормален и намален изходен FEV₁ в двете групи според БДО -позитивен и негативен ($\Delta FEV_1\% \text{init.} \geq 12\%$). (p<0,0001)



Графика 22 Графика кутия - ДБО (медиана, ИКР) в четирите групи по тежест според стъпалото на контролиращото лечение (Independent-Samples Kruskal-Wallis Test)

Не се установи значима разлика в средната стойност на БДО (медиана, ИКР) сред децата с различна по тежест астма, дефинирана според стъпалото на контролиращото лечение. (графика 22) Но се обективизира значима разлика в средните стойности на БДО при трите групи персистираща астма според тежестта на симптомите. (p<0,0001) (таблица 11)

	Тежест на персистиращата астма според симптомите			p
	Лека	Умерена	Тежка	
	Медиана, ИКР	Медиана, ИКР	Медиана, ИКР	
$\Delta FEV_1\% \text{init.}$	12% (7-26)	14% (10-27)	16% (7-38)	<0,0001

Таблица 11 Сравнителен анализ на средните стойности за БДТ в четирите групи на тежест на астмата, класифицирана според тежестта на симптомите

Сравнихме изходния FEV₁ и БДО ($\Delta FEV_1\% \text{init.}$) между децата, които са провеждали лечение с ИКС през предходните 8 седмици и ИКС наивните. В контраст с очакваното не установихме значими разлики в процента на децата с нормален и намален FEV₁, както и на тези с положителен и отрицателен БДО, в зависимост от лечението с ИКС. Установи се статистически незначима разлика

в средните стойности на изходния FEV₁ (p 0,052), като децата лекувани с ИКС показват тенденция за по-висок изходен FEV₁%pred.

От пациентите с влошена функция (FEV₁<80%) едва 16,4% (11 деца) са с отрицателен БДО (Δ FEV₁<12%). В тази група преобладават момчетата (63,6%), както и в общата популация. В 87,5% тези деца са без терапия с ИКС, в 81,8% без никакво контролиращо лечение. Сред тях преобладават децата с поднормено тегло (под 3-ти перцентил – 45,5%). Две трети от децата са с лош и граничен контрол на астмата. 37,5% са имали две или повече екзацербации през предходната година.

Задача 3 Интерпретация на резултатите от спирометрията

С помощта на софтуерен програмен продукт spirexpert (<http://www.spirxpert.com>) изходните стойности на основните спирометрични индекси се изчислиха в перцентили спрямо предвидената стойност (50-ти перцентил), по референтното уравнение на Zapletal и се изчисли долната граница на нормата за всеки показател при всички изследвани деца. Сравни се чувствителността и специфичността на показателите FEV₁, FVC и MMEF₂₅₋₇₅ за разкриване на децата с бронхиална обструкция, класифицирани като такива според коефициента на Tiffeneau (FEV₁/FVC<LLN). (таблица 12) Класическият показател FEV₁ показва най-добро съчетание между чувствителност и специфичност при разкриване на децата с бронхиална обструкция, но при използването на този индекс се „изпускат“ деца с бронхиална обструкция, които се класифицират като такива с нормална функция.

Показател спрямо FEV ₁ /FVC<LLN	Чувствителност.	Специфичност	Преваланс	PPV	NNP
FEV ₁ <LLN	75,68%	63,87%	38,34%	56,6%	80,9%
FVC <LLN	43,24%	60,50	38,34%	40,50%	63,16%
MMEF _{25/75} <LLN	100%	47%	38,74	54,41%	100%

Таблица 12 Чувствителност и специфичност на показателите в разкриване на децата с бронхиална обструкция спрямо FEV₁/FVC<LLN

Сравни се чувствителността и специфичността в разкриването на деца с обструкция между FEV₁<80% (фиксиран cut-off) и FEV₁<LLN (под 5-ти перцентил) по референтното уравнение Zapletal. (таблица 13 и 14)

<i>Zapletal</i>		FEV ₁ фиксиран cut-off		Общо
		С обструкция FEV ₁ <80%	Без обструкция FEV ₁ ≥80%	
FEV ₁ Персентили	С обструкция <LNN	62	37	99
	Без обструкция ≥LNN	5	89	94
Общо		67	126	193

Таблица 13 Крос-табулация FEV₁ фиксиран cut-off спрямо FEV₁ LLN (*Zapletal*)

Показател (<i>Zapletal</i>)	Чувствит.	Специф.	Преваланс	PPV	NNP
FEV ₁ <80% спрямо FEV ₁ <LLN	62,63%	94,68%	51,29%	92,54%	70,63%

Таблица 14 Чувствителност и специфичност на FEV₁<80% спрямо FEV₁<LLN (*Zapletal*)

От 99 пациенти, диагностицирани с обструкция според FEV₁<LLN, едва 62 са потвърдени с FEV₁<80%, т.е. 37 деца са определени с нормална функция, а в действителност имат обструкция. От друга страна, едва 5 деца без обструкция, според FEV₁<LLN, са определени като такива с влошена функция по FEV₁<80% (свр̀хдиagnostицирани).

С помощта на друг софтуерен програмен продукт *spirxpert* (<http://www.spirxpert.com>) данните от изходната спирометрия на 172 от децата с астма бяха изчислени като процент от предвидената стойност по референтното уравнение GLI 2012 (multiethnic all age reference equation; 3-95 years). Софтуерът изчислява автоматично z-скор, LLN, персентили и процент от предвидената стойност за всички основни показатели от изходната спирометрия - FEV₁, VC, FEV₁/VC, FEV_{0.75}, FEV_{0.75}/VC, FEF_{25-75%}, FEF_{75%}. Това позволи да се сравни класифицирането на децата като такива с нормална функция и с обструкция според двете референтни уравнения, както като фиксиран праг от 80% от предвиденото, така и като праг под долната граница на нормата (LNN). (таблица 15 и 16)

		FEV ₁ LLN персентили <i>Zapletal</i>		Общо
		С обструкция <LLN	Без обструкция >LLN	
FEV ₁ LLN персентили GLI 2012	С обструкция <LLN	54	22	76
	Без обструкция ≥LLN	36	57	93
Общо		90	79	169

Таблица 15 Крос-табулация FEV₁ LLN *Zapletal* спрямо GLI_2012

Показател	Чувствителност	Специфичност	Преваланс	PPV	NNP
FEV ₁ <LNN Zapletal спрямо GLI_2012	71,05%	61,29%	44,97%	60%	

Таблица 16 Чувствителност и специфичност на FEV₁<LNN Zapletal спрямо GLI_2012

При сравняване на Zapletal с GLI 2012 според долната граница на нормата Zapletal „изпуска” 22 от 76 деца с бронхиална обструкция по GLI. (таблица 17 и 18)

FEV ₁ фиксиран cut-off GLI	FEV ₁ фиксиран cut-off Zapletal		Общо
	С обструкция FEV ₁ <80%	Без обструкция FEV ₁ ≥80%	
С обструкция FEV ₁ <80%	44	29	73
Без обструкция FEV ₁ ≥80%	20	75	95
Общо	64	104	168

Таблица 17 Крос-табулация FEV₁ фиксиран cut-off Zapletal спрямо FEV₁ фиксиран cut-off GLI

Показател	Чувствит.	Специф.	Преваланс	PPV	NNP
FEV ₁ <80% Zapletal спрямо FEV ₁ <80% GLI_2012	60,27%	78,94%	43,45%	68,75%	72,11%

Таблица 18 Чувствителност и специфичност на FEV₁ фиксиран cut-off Zapletal спрямо FEV₁ фиксиран cut-off GLI

При използване на фиксиран cut-off 80% този дял се увеличава на 29 от 73 деца. От друга страна, използвайки GLI 2012 с фиксиран cut-off, в сравнение с LLN също се пропускат, но само 3 деца. (таблица 19 и 20)

FEV ₁ /FVC GLI	FEV ₁ /FVC LLN Zapletal		Общо
	С обструкция <LLN	Без обструкция >LLN	
С обструкция <LLN	51	24	75
Без обструкция ≥LLN	21	73	94
Общо	72	97	169

Таблица 19 Крос-табулация FEV₁/FVC LLN Zapletal спрямо FEV₁/FVC GLI

Показател	Чувствит.	Специф.	Преваланс	PPV	NNP
FEV ₁ /FVC LLN Zapletal спрямо FEV ₁ <LNN GLI_2012	68%%	77,66%	44,38%	70,83%	75,26%

Таблица 20 Чувствителност и специфичност на FEV₁/FVC LLN Zapletal спрямо FEV₁/FVC GLI

При децата на възраст до 6 г. или с ръст до 115 см или над 180 см чувствителността на Zapletal спада до 40% при използване на LLN метода.

Задача 4 и 5 Дефиниране на атопичния статус и връзката му с белодробната функция, контрола и тежестта на астмата и наличието на съпътстващ АР.

За решаването на задача 4 и 5 атопичният статус на децата с астма се определи по анамнестичните данни за собствен атопичен терен (клинично проявена алергия), чрез определяне на серумното ниво на общите IgE и определяне на sIgE с две имунологични методики. (Виж материали и методи) Проведе се и микроскопско изследване на назален секрет за определяне на локална лигавична еозинофилия.

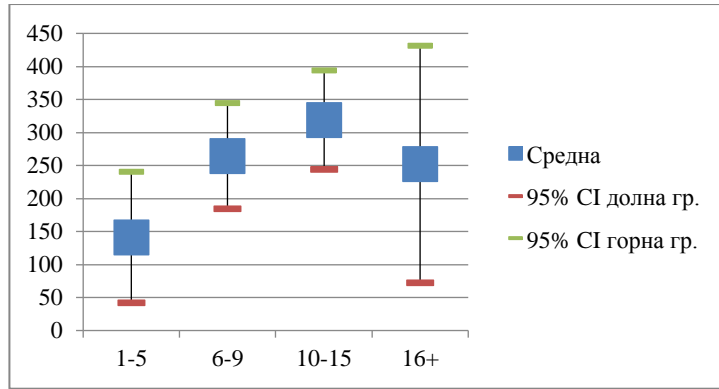
Разделихме децата на атопици– тези, които позитивират поне едно от тестваните sIgE с титър \geq 0.35. (EAST клас 1) и на не-атопици– децата, при които не се позитивира нито едно от тестваните IgE според резултатите от Euroimmun Red. Като моносенсибилизирани дефинирахме децата с позитивни sIgE спрямо поне един тестван алерген и като полисенсибилизирани - тези с позитивни sIgE спрямо два или повече алергена. Клинично значима сенсibilизация се дефинира при титър на sIgE \geq 3.5, отговарящ на EAST клас 3.

Серумите на 86 деца бяха изследвани за ниво на общи IgE, 28 момичета (33%) и 58 момчета (67%). При 64% (n=55) от децата се установиха повишени IgE над горната граница на нормата за съответната възраст: 67.8% (n=19) от момчетата и 62% (n=36) от момчетата. При 35 деца (40.1%) се установи много високо ниво на общи IgE (титър \geq 300 U/ml). (таблица 21)

ELISA, Total IgE, U/ml								
Пол	Брой	Средна	Станд. отклонение	Станд. грешка	95% дов. инт.		Мин.	Макс.
					Долна граница	Горна граница		
М	59	256,57	213,90	27,85	200,82	312,31	3,7	557,8
Ж	27	274,63	212,27	40,85	190,66	358,60	5,8	555,5
Общо	86	262,24	212,31	22,89	216,72	307,76	3,7	557,8

Таблица 21 Сравнение на средните стойности на титъра на общи IgE по пол (момичета/момчета)

Средната стойност на общите IgE при момчетата е малко по-висока от тази при момчетата, но разликата е незначима. (p<0,05)

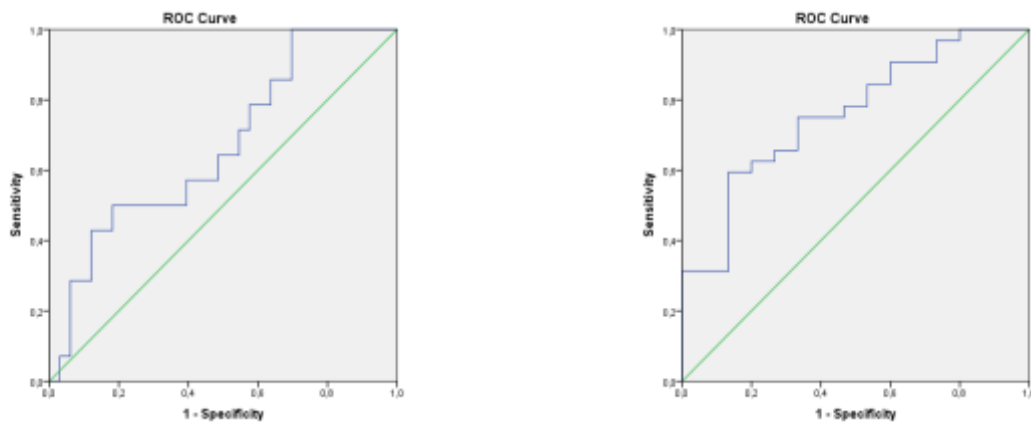


Графика 23 Серумно ниво на общи IgE в четири възрастови групи

С нарастване на възрастта значимо нараства средната стойност на общите IgE, с изключение на групата над 16 г., чийто доверителен интервал е неинформативно широк. (графика 23)

От групата деца, изследвани за общи IgE, 75 (87%) показаха повишени sIgE (EUROIMMUN Pediatric). 27 деца (32%) имаха нормални за възрастта тотални IgE антитела, но поне едно положително специфично IgE. От децата с повишени общи IgE (n=55) само 3 (5.5%) бяха негативни за изследвания панел от sIgE (хранителни и аероалергени).

Изградихме ROC крива, за да определим специфичността и чувствителността на серумното ниво на тоталните IgE при разкриването на деца с атопия, дефинирана като позитивиране на sIgE антитела. ROC кривата на тоталните IgE спрямо мултискрининговия тест за алергия ImmunoCAP Phadiatop („златен стандарт“), е с площ под кривата 0,667 (95% CI 0,500-0,834) (графика 24, таблица 22)



Графика 24 ROC крива за оценка на специфичността и чувствителността на общите IgE спрямо ImmunoCAP Phadiatop (в ляво) и на общите IgE спрямо Euroimmun pediatric (в дясно)

ELISA, Total IgE, U/ml				
ImmunoCAP Phadiatop	AUC	Ст.грешка	p	95% CI
		0,667	0,085	0,073
Euroimmun pediatrics	0,760	0,073	0,004	0,618 - 0,903

Таблица 22 Характеристики на ROC кривите за оценка на специфичността и чувствителността на общите IgE спрямо ImmunoCAP Phadiatop и спрямо Euroimmun pediatrics

При праг за тотални IgE над 368,5 U/ml методът показва съчетание на най-добра чувствителност (50,5%) и специфичност (81,8%), с 53,1 позитивна предиктивна стойност (PPV) и 86,6 негативна предиктивна стойност (NPV). Дори при такъв висок титър чувствителността остава сравнително ниска (50,5%).

ROC кривата на тоталните IgE спрямо теста Euroimmun pediatrics е с по-добри диагностични характеристики, с по-голяма площ под кривата AUC 0,760 (95% CI 0,618-0,903). Прагът за общите IgE над 142,5 съчетава най-добрата чувствителност (75%) и специфичност (66,7%) в предсказването на наличие на позитивни sIgE при позитивна предиктивна стойност (PPV) 83,2 и негативна предиктивна стойност (NPV) 51,7.

Не се установи значима разлика между средните нива на титъра на общите IgE и Phadiatop/fx5 при децата със и без данни за атопия от фамилната анамнеза ($p>0,05$). За нивото на общите IgE зависимостта е гранична с $p=0,077$. Не се установи и значима разлика в средните серумни нива на общите IgE в групите деца със и без анамнестични данни за клинично проявена алергия (собствен атопичен терен). ($p>0,05$)

В изследваната популация деца фамилната обремененост за бронхиална астма се асоциира и с такава към други атопични заболявания (контактен дерматит, медикаментозна и хранителна алергия). ($p=0.048$). Фамилната обремененост за атопия корелира с клинични прояви на собствен атопичен терен. ($p=0.000$). Фамилно обременените за атопия показват тенденция за позитивиране на sIgE антитела спрямо котка ($p=0.054$)

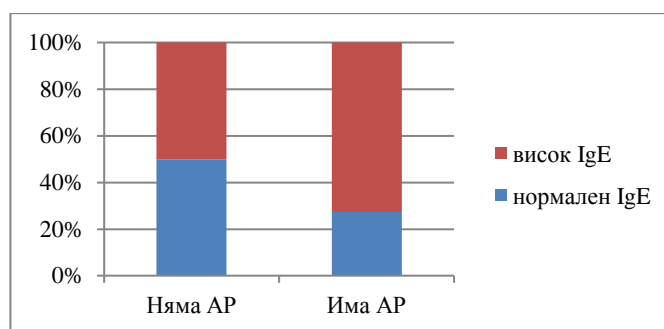
Не се установи значима разлика в честотата на собствения атопичен терен, както и наличието на придружаващ AP в двете групи деца - със и без фамилна обремененост за астма. ($p>0,05$) Обективизира се значима разлика в нивата на общите IgE в групите деца със и без AP, но не и в групите със и без собствен атопичен терен. **Средната стойност на тоталните IgE е значимо по-**

висока при децата с астма и АР в сравнение с тези без придружаващ АР. ($p=0,005$) (таблица 23)

ELISA, Total IgE, U/ml спрямо придружаващ АР (АР)			p
Няма АР	Средна	202,52	0,005
	Медиана, ИКР	102,50 (24,20-363,95)	
Има АР	Средна	316,68	
	Медиана, ИКР	261,00 (109,20-552,50)	

Таблица 23 Средни стойности на общите IgE сред децата със и без придружаващ АР

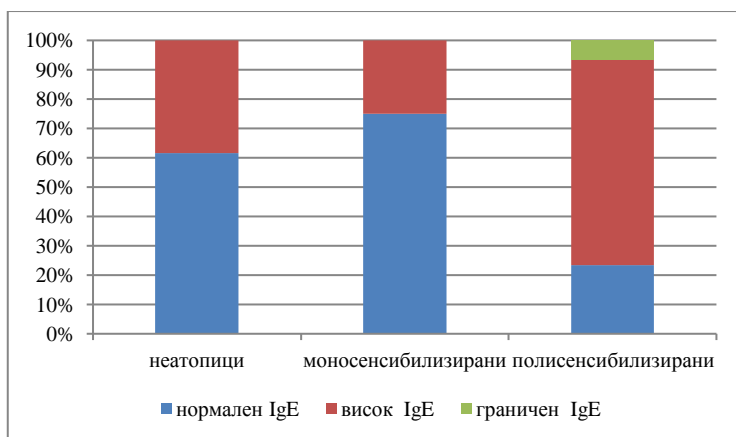
При изключване от анализа на пациентите с гранични стойности на IgE се доказва връзка между наличието на АР и повишени общи IgE: **сред пациентите с АР много по-често се наблюдават такива с висок титър на общи IgE** над горната граница на нормата за съответната възрастова група, ($p=0,037$). (графика 25)



Графика 25 Процентно разпределение на висок/нормален титър на общи IgE в групите деца с астма със и без придружаващ АР, $p=0,037$

Установи се значима разлика в средните серумни нива на общите IgE и в групата на атопиците и не-атопиците, според резултатите от Euroimmun pediatrics за sIgE. Атопиците имат значимо по-висок титър на общи IgE спрямо не-атопиците (52,4 спрямо 293), $p<0,0001$.

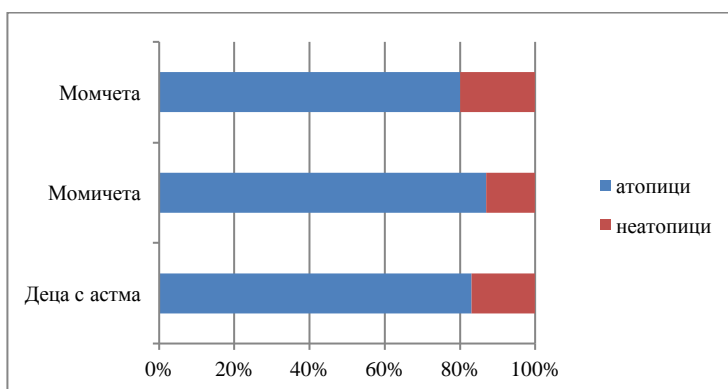
С метода хи квадрат се доказва, че сред групата на полисенсibiliзираните деца много по-често се наблюдават пациенти с висок или граничен IgE в сравнение с не-атопиците или моносенсибилизираните ($p=0,003$). (графика 26)



Графика 26 Сравнение на титъра на общи IgE в групата на не-атопиците, моно- и поли-сенситизираните пациенти, $p=0,003$

Позитивирането на специфично IgE спрямо *D. pteronyssimus* ($p<0,0001$), *D. farinae* ($p<0,0001$) за титър над 1 EAST клас, както и спрямо козината на котка с титър над 3 EAST клас, показва корелация с нивото на общите IgE ($p=0,009$).

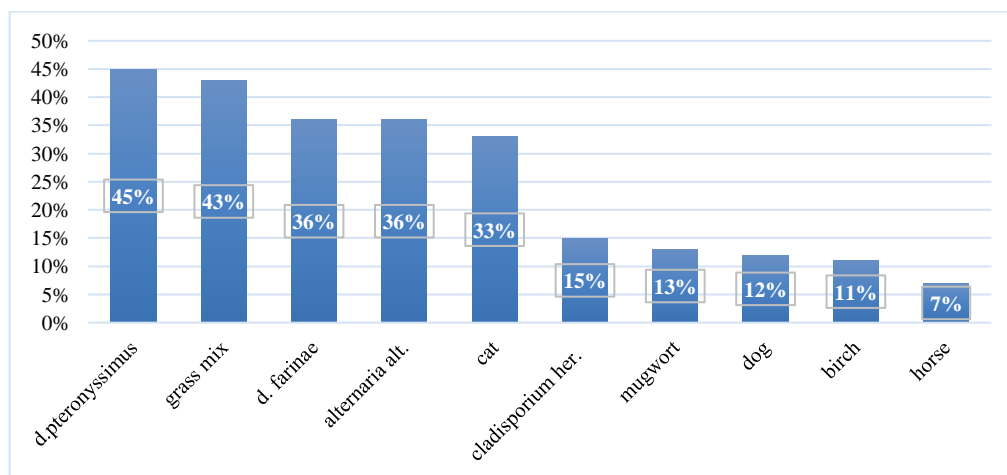
От 110 деца (71 момчета и 39 момичета), чиито серум се изследва за sIgE спрямо аероалергени, 91 (83%) са атопици (34 момичета, 87% и 57 момчета, 80%), т.е. имат положителен резултат (титър ≥ 0.35 IU/l или GRADE 1) за поне едно специфично IgE антитяло от изследвания панел. Както и за общите IgE, и тук има лек превес на атопичните момичета, без да достига значимост. ($p>0,05$) (графика 27)



Графика 27 Процентно разпределение на атопици и не-атопици (sIgE)

Най-честите аероалергени в изследваната популация деца с астма и/или АР са микроакарите в домашна прах (на първо място *D. pteronyssimus*), тревните полени, следвани от *D. farinae*, *Alternaria alt.* в мухъл и плесен и от домашните животни – котка. Висок клас по EAST системата (над 3, отговарящ на титър 3.5 kUA/l) се отчете при 41% от децата, позитивни спрямо целогодишния домашен

алерген *D. pteronyssimus*, в 45% за *D. farinae*, в 28% за тревен микс, в 60% за котка и в 15% за *Alternaria alt.* (графика 28)



Графика 28 Процентно разпределение на най-честите аероалергени сред атопичните

Деца, които са алергични към тревни полени, показват склонност към съпътстваща алергия и към котка. ($p=0,000$, корел. коеф. 0,418). Установиха се и други корелационни зависимости между позитивирането на два аероалергена при един и същи пациент. (таблица 24)

Инхалаторен алерген – позитивни IgE		Корелац. коеф.	p
Тревен микс	Котка	0,418	0.000
Cladosporium	Див пелин	0,313	0.001
Cladosporium	Aspergillus	0,305	0.001
Cladosporium	Alternaria	0,305	0.001
Котка	Кон	0,301	0.001
Dermatoph.pter.	Dermatoph.farinae	0,835	0.000

Таблица 24 Корелационна зависимост между позитивирането на аероалергени при един и същи пациент

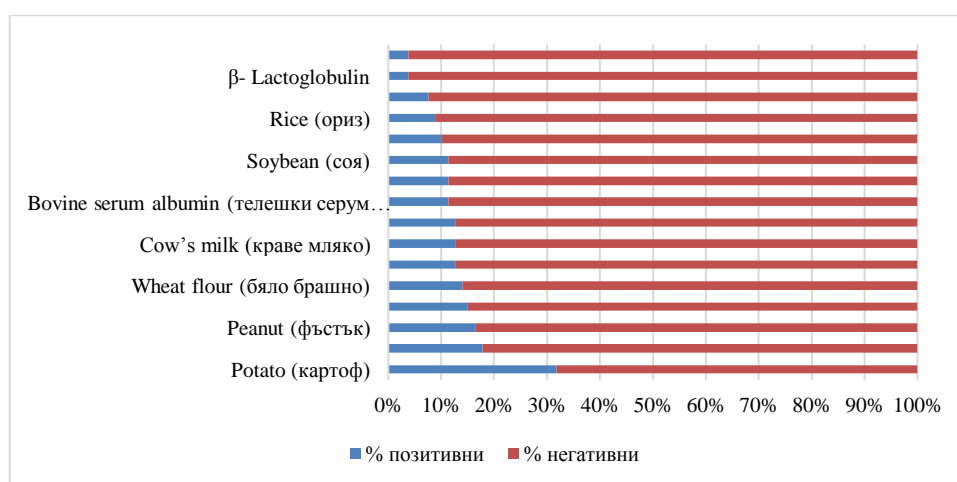
Алергията към **тревни полени** се наблюдава по-често в юношеската възраст ($p=0,000$). Тези пациенти по-често съобщават за пристъпи, провокирани от **контакт с алерген** ($p=0,006$), **ограничение** във физическата активност ($p=0,017$) и симптоми на **АР** (сезонен/целогодишен) ($p=0,003$).

От 110 изследвани за аероалергени деца при 9 (8.2%) се позитивираха sIgE антитела срещу CCD маркера. При всички от тях са отчетени поне един позитивен титър срещу хранителни алергени, а при 8 (89%) от тях и спрямо инхалаторни алергени.

Серумите на 94 от включените в разработката деца се изследваха и за наличие на sIgE спрямо хранителни алергени. Водещите хранителни алергени са картоф, ябълка, фъстък, морков. В тестваните серуми позитивирането на sIgE антитела към лешник показа значима корелация с позитивиране на sIgE

спрямо дървесния полен бреза (корел.коэф. 0,489, $p=0,000$) и тревен микс (корел.коэф. 0,301, $p=0,004$), антителата към морков с тези към бреза (корел.коэф. 0,303, $p=0,003$), и sIgE спрямо ябълка (корел.коэф. 0,301, $p=0,004$) и картоф (корел.коэф. 0,413, $p=0,000$) с гъбичната спора *Cladosporium*.

В изследваната популация деца се наблюдава атопична готовност спрямо няколко хранителни алергена при един и същи пациент – установи се значима корелация между позитивирането на sIgE спрямо мляко и соя ($p=0,000$), спрямо мляко и яйчен жълтък ($p=0,01$), спрямо мляко и фъстък ($p=0,004$), спрямо яйчен жълтък и риба ($p=0,000$), спрямо яйчен жълтък и казеин ($p=0,000$) и соя ($p=0,0000$). (графика 29)

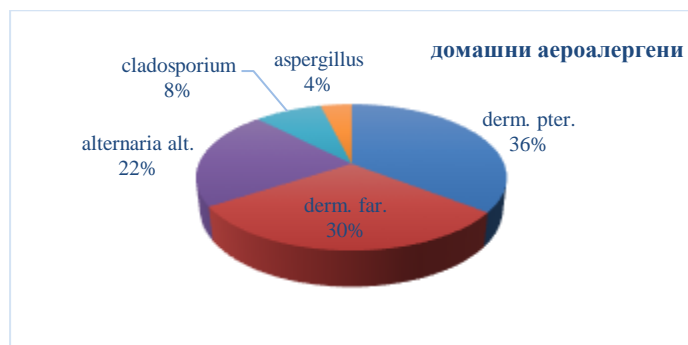


Графика 29 Процентно разпределение на най-честите хранителни алергени сред атопичите

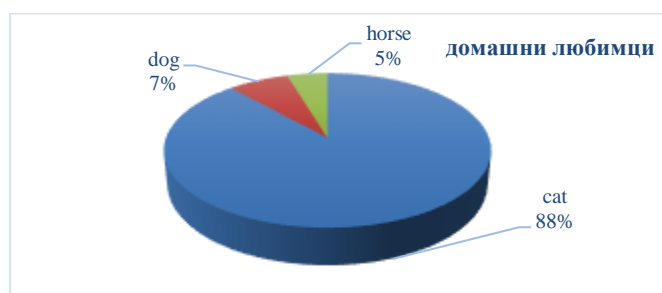
От включените 211 деца с астма 116 (54.9%) са с диагностициран съпътстващ алергичен ринит/риносинусит – сезонен и целогодишен и съответно 64 (58%) от децата, изследвани за sIgE спрямо хранителни и аероалергени. Водещите алергени сред пациентите с АР **не се различават** от тези в останалата част на изследваната популация деца с астма. (графика 30, 31, 32) В групата децата с астма и придружаващ АР се установи значимо по-голям брой пациенти, позитивни за sIgE към микроакарите в домашна прах ($p=0,042$), както и по-голям брой пациенти с положителен резултат от мултискрининговия тест за атопия ImmunoCAP Phadiatop ($p=0,027$) и с повишен титър на общи IgE ($p=0,079$). Сред децата с анамнестични данни за собствена атопична терен има значимо повече сенсibiliзирани към домашна прах ($p=0,004$).

Установи се значима корелационна зависимост между позитивирането на мултискрининговия тест за аероалергени ImmunoCAP Phadiatop, както и

позитивирането на sIgE спрямо микроакара *D. pteronyssimus*, с наличието на съпътстващ АР при децата с астма.



Графика 30 Процентно разпределение на indoor алергените - спори на гъби и микроакари в домашна прах

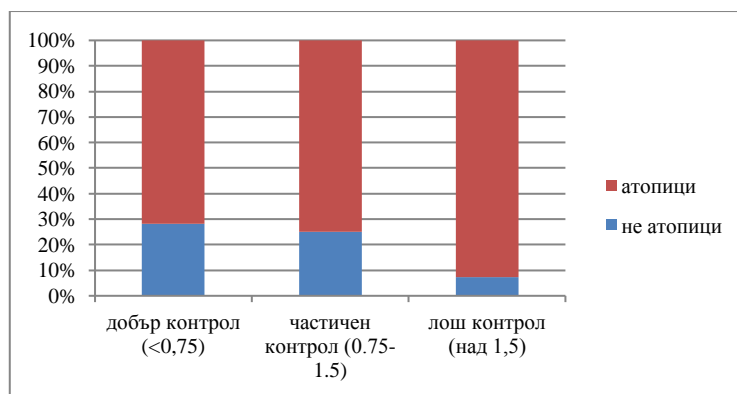


Графика 31 Дялово разпределение на аероалергените спрямо животинска козина



Графика 32 Процентно разпределение на поленовата сенсбилизация сред децата с астма и съпътстващ АР

По-голям е процентът на атопиците в групата на децата с лош контрол на астмата в сравнение с тези с граничен и добър контрол. ($p=0,023$) (графика 33)



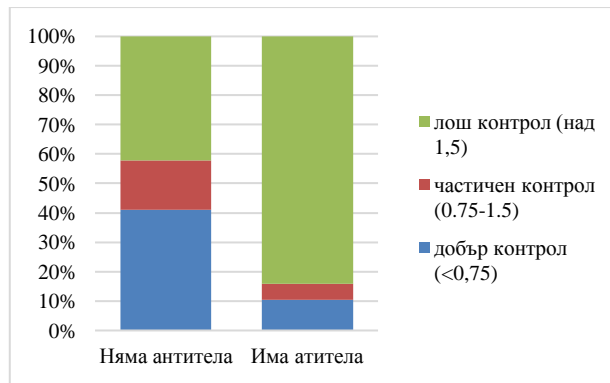
Графика 33 Процентно разпределение на атопиците и не-атопиците в трите групи по контрол на астмата (ACQ скор), $p < 0,02$

Половината от децата с АР и атопия (51%, $n = 27$) са позитивни освен за поне един от тестваните аероалергени, но и спрямо поне един от изследваните хранителни алергени.

Установи се статистически значима разлика в дела на атопиците и не-атопиците в различните групи по тежест според спирометрията, като всички деца с тежка астма според спирометрията, са атопици. ($p=0,044$; $p=0,030$). Връзката е статистически незначима между групите по тежест според нивото на симптомите ($p=0,076$), въпреки че процентът на атопиците е по-голям в групата на децата с по-чести симптоми между пристъпите.

Сред децата с персистираща астма (по GINA стъпалото – лека, умерена, тежка) не се установи разлика в честота на децата с АР, данни за собствен атопичен терен, както и повишени sIgE, в сравнение с децата с интермитентна астма. Установиха се по-високи средни нива на общите IgE в сравнение с децата с интермитентна астма, без това да достига статистическа значимост ($p > 0,05$). В групата деца с персистираща астма се установи значимо по-голям процент деца, позитивни за sIgE спрямо козината на домашни животни ($p=0,023$), на куче ($p=0,008$), спори на гъби общо ($p=0,01$) и спрямо Cladosporum ($p=0,001$) и Alternaria alt. ($p=0,012$) поотделно, при титър над 1 EAST клас ($> 0,35$). При значим титър над 3 EAST клас такава зависимост се установи при сенсibiliзираните спрямо котка ($p=0,035$) и Alternaria alt. ($p=0,012$).

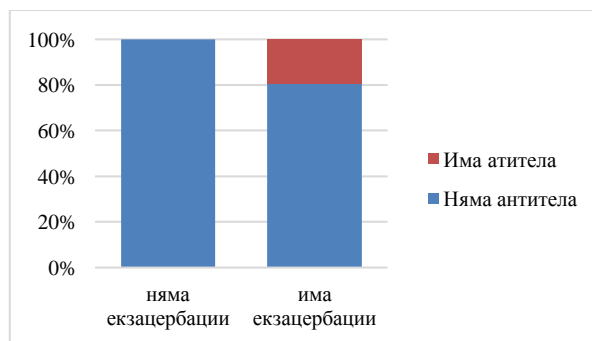
Сенсibiliзираните деца в по-голям процент демонстрират бронхиална лабилност ($\Delta FEV_1\% \text{init.} \geq 9\%$), $p=0,029$. Алергичната сенсibiliзация към домашна прах (*D. pteronyssimus* и *D. farinae*) като EAST клас не корелира с БДО.



Графика 34 Процентно разпределение на децата, сенситизирани към *D. farinae* (позитивни IgE ≥ 3 EAST клас) в трите групи според контрола на астмата, $p=0,006$

Наличието на антитела към *D. Pharinae* обаче се асоциира с по-лош контрол на астмата както при титър ≥ 1 EAST клас ($p=0,006$), така и при титър ≥ 3 EAST клас ($p=0,013$). (графика 34) Наличието на антитела към *D. pteronyssimus* също се асоциира с по-лош контрол на астмата, но само при по-голям титър (≥ 3 EAST клас), $p=0,004$.

Сенситизацията към *D. farinae* се асоциира и с наличието на екзацербации на астмата през предходните 12 месеца, при титър ≥ 3 EAST клас ($p=0,068$). (графика 35) Всички деца, които са позитивни за *D. farinae* (≥ 3 EAST клас), са имали поне една екзацербация на астмата през предходната година.

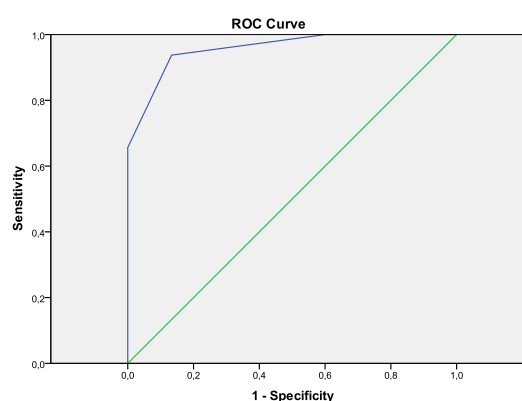


Графика 35 Процентно разпределение на децата, сенситизирани към *Derm. Pharinae* (позитивни IgE ≥ 3 EAST клас), в двете групи – без и със екзацербации на астмата в предходната година, $p=0,006$

Алергичната сенситизация към котка с титър ≥ 1 ($p=0,010$) и ≥ 3 EAST клас ($p=0,013$) и към куче с титър ≥ 1 EAST клас ($p=0,036$) се асоциират с по-голям брой екзацербации и хоспитализации през предходните 12 месеца. Децата, при които се позитивират sIgE антитела спрямо котка, куче, *Cladosporium*, *Aspergillus*, пелин от аероалергените и соя – от хранителните алергени, имат по-голям риск за хоспитализация по повод екзацербация на бронхиалната астма. ($p<0.05$) При алергична сенситизация спрямо куче връзката е несигнификантна (тенденция $p=0.052$).

Задача 6 Сравнителен анализ на ImmunoCAP Phadiatop/ fx5 и Euroimmun pediatric имуноблот

За целите на задача 6 серумите на 48 деца (18 момичета, 30 момчета, на средна възраст $10,65 \pm 4,14$) от групата, изследвани с имуноблот EUROIMMUN Pediatric (аеро- и хранителни алергени) и за ниво на тотални IgE, се тестваха и със „златния стандарт“ за определяне на атопичен статус в детска възраст – комбинацията ImmunoCAP Phadiatop (аероалергени) с ImmunoCAP fx5(хранителни алергени). За целта изградихме ROC крива, за да установим чувствителността и специфичността на EUROIMMUN pediatric аеро спрямо ImmunoCAP Phadiatop („златен стандарт“). (графика 36, таблица 25)



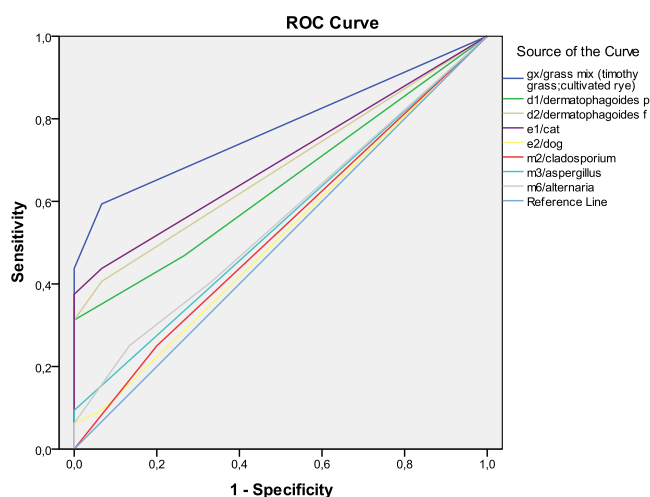
Графика 36 ROC крива за оценка на специфичността и чувствителността на Euroimmun pediatric спрямо ImmunoCAP Phadiatop

EUROIMMUN pediatric (аеро-алергени) спрямо ImmunoCAP Phadiatop				
AUC	Стандартна грешка	p	95% Доверителен Интервал	
			Долна граница	Горна граница
0,958	0,026	0,000	0,000	1,000

Таблица 25 Характеристика на ROC кривата

Резултатите показват, че при стойности на EUROIMMUN Pediatric аеро над 1 се установяват 100% чувствителност, но едва 40% специфичност (PPV 68.1%, NPV 100%), докато при стойности над 2 – 98,3% чувствителност и 87,6% специфичност (PPV 94.4%, NPV 96%).

При множествен анализ за аероалергените значими остават ROC кривите единствено за D. Faiginae, котка и тревен микс, за които са характерни ниската чувствителност (между 40 и 60%) и висока специфичност (над 80%) при стойности GRADE над 1. (графика 37, таблица 26)



Графика 37 ROC крива за оценка на специфичността и чувствителността на EUROIMMUN ped (аероалергени) спрямо ImmunoCAP Phadiator.

EUROIMMUN ped. (аеро-алергени) спрямо ImmunoCAP Phadiator					
	AUC	Станд. грешка	p	95% Доверителен интервал	
				Долна граница	Долна граница
gx/ тревен микс	0,778	0,066	0,002	0,649	0,907
d1/dermatoph. pter	0,643	0,080	0,118	0,486	0,800
d2/dermatoph. fa	0,680	0,077	0,048	0,530	0,831
e1/котка	0,698	0,075	0,030	0,551	0,845
e2/куче	0,516	0,090	0,864	0,339	0,692
m2/cladosporium	0,525	0,090	0,784	0,348	0,702
m3/aspergillus	0,547	0,088	0,608	0,374	0,720
m6/alternaria	0,555	0,088	0,545	0,384	0,727

Тестван алерген	Чувствителност	Специфичност
Тревен микс	59,5%	93,3%
Dermatoph. fa	40,6%	93,3%
Котка	43,8%	93,3%

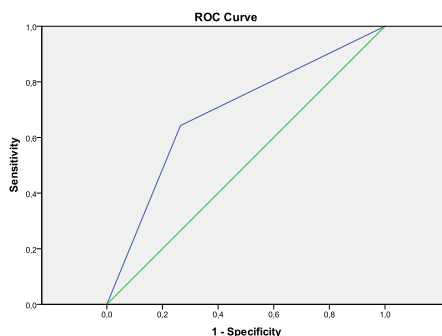
Таблица 26 Характеристика на ROC кривата

За останалите включени в панела аероалергени (куче, бреза и див пелин) EUROIMMUN няма добри предиктивни свойства. Площта под кривата е под 0,5.

Установи се умерено силна значима корелация между титъра на sIgE по методиката ImmunoCAP Phadiator и Euroimmun за аероалергените срещу котка, двата микроакара и тревен микс (корел.коэф. съответно: 0,448; 0,483, 0,565; 0,452 при $p=0,05$), както и умерено силна значима корелация между титъра на sIgE, определен с китове Immunoscap Phadiator fx5 (хранителен микс) и с Euroimmun за хранителния алерген соя (soybean) ($p=0,005$), брашно ($p=0,006$),

ориз ($p=0,090$), ябълка ($p=0,007$), така и слаба корелация за алергена фъстъци (peanut). За останалите хранителни алергени, заложи в микса fx5, не се установи статистически значима корелация при използването на двата метода.

Изградихме ROC крива, за да установим чувствителността и специфичността на EUROIMMUN Pediatric храни спрямо ImmunoCAP fx5 (златен стандарт). (графика 38, таблица 27)



Графика 38 ROC крива за оценка на специфичността и чувствителността на EUROIMMUN pediatric (хранителни алергени) спрямо ImmunoCAP fx5

EUROIMMUN pediatric (хранителни алергени) спрямо ImmunoCAP fx5				
AUC	Стандартна грешка	p	95% Доверителен Интервал	
			Долна граница	Горна граница
0,689	0,087	0,041	0,518	0,860

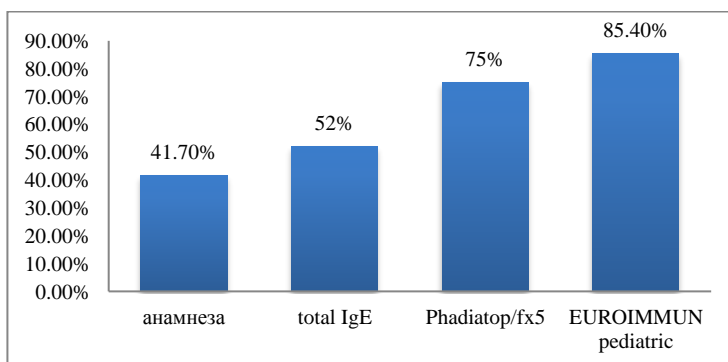
Таблица 27 Характеристика на ROC кривата

Значим титър ($>3,5$ IU/mL) на sIgE се установи само за аероалергените и по двата метода (ImmunoCAP, EUROIMMUN). Регистрираните антителата спрямо хранителни алергени бяха с титър до GRADE 2.

70 % (N 14) от децата с анамнестични данни за собствен атопичен терен са с позитивен резултат от мултискрининга за атопия ImmunoCAP Phadiatop/fx5 и 35,7% от децата без данни за атопия от анамнезата са с негативен резултат от теста.

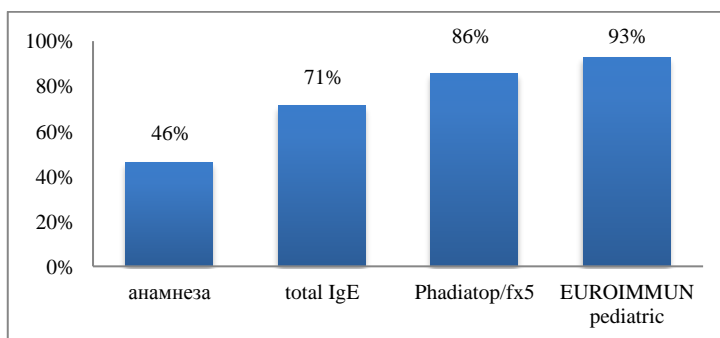
От изследваните в тази задача деца (47 общо, 75%, n 35 положителни за Phadiatop+fx5 и 85,4%, n 41 положителни за EUROIMMUN Pediatric) 52% (27) показват повишени общи IgE антитела и 3 с граничен, а едва 20 имат анамнестични данни за собствен атопичен терен (медикаментозна алергия, АПКМ, инсекталергия, хранителна алергия, уртикария, контактен дерматит, атопичен дерматит). При 2 от децата със собствен атопичен терен (10%) не се

потвърди атопия с китовете EUROIMMUN Pediatric и при 6,30% с ImmunoCAP. (графика 39)



Графика 39 Класифициране на децата с бронхиална астма като атопици/не-атопици (N=48)

В тази група деца 28 (58.3%) имат съпътстващ АР. Според анамнестичните данни за собствен атопичен терен атопиците са 46%, според определянето на общи IgE – 71%, Phadiatop+fx5 – 86% и EUROIMMUN Pediatric – 92.8%. (графика 40)



Графика 40 Класифициране на децата с бронхиална астма и АР като атопици/не-атопици (N=28)

Задача 7 Клъстерен анализ

За решаването на задача 7 проведохме клъстерен анализ с цел идентифициране на субтипове на детската астма в изследваната популация, въз основа на ключови характеристики на заболяването като - симптоми (ниво на контрол, ACQ скор), белодробна функция (изходна спирометрия), атопия (sIgE и общи IgE), затлъстяване (BMI), възраст при поставяне на диагнозата, както и характеристики на самите пациенти – възраст и пол. Използваните в анализа вариабилни се дефинираха след изключване на мултиколинearните и клинично неинформативни вариабилни. С помощта на „йерархичен“ клъстерен анализ с Ward's метод (измерване на разстоянието между клъстерите като ANOVA сума от квадрати, т.е. чрез комбиниране на информация от всички клъстерни членове) тестваната популация деца се разпредели в 5 клъстера, които се

различават достатъчно по техния кълъстерен център и ширина на квадратите. За окончателно дефиниране на кълъстерите се приложи и k-means кълъстерен метод. Характеристиките на пациентите в петте кълъстера се сравниха с one-way ANOVA и метода χ квадрат. (таблица 28)

ХАРАКТЕРИСТИКА НА КЪЛЪСТЕРИТЕ

КЪЛЪСТЕР 1 (n 10): (не-атопичен) – най-ниски нива на общи IgE level, много добър контрол (най-нисък ACQ скор) и средна възраст на астма диагноза (78 ± 24 месеца).

КЪЛЪСТЕР 2 (n 28): (смесен) с най-висок BMI, най-късна възраст на астма диагноза, с лош контрол на астмата (висок ACQ скор), значима бронхиална лабилност (БДО) и среден титър на IgE.

КЪЛЪСТЕР 3 (n 19) (атопичен) ранна диагноза (65±14), най-висок БДО, с най-лош контрол (най-висок ACQ скор), най-висок титър на общи и sIgE сред кълъстерите

КЪЛЪСТЕР 4 (n 9): (атопичен) позитивни sIgE, относително високи общи IgE, относително висок BMI и среден ACQ скор.

КЪЛЪСТЕР 5 (n 5): (не-атопичен) диагностициране на астмата в кърмаческа възраст (48±21), най-нисък BMI, с най-добър контрол на астмата (най-нисък ACQ скор), нисък титър на си среден за общите IgE, с висока бронхиална лабилност (голям БДО).

Характеристики	Кълъстер 1	Кълъстер 2	Кълъстер 3	Кълъстер 4	Кълъстер 5	p
Пациенти, брой	10	28	19	9	5	
Момчета (%)	53.84%	60%	42.42%	58.3%	71.42%	0.005
Възраст, години	10.40±3.32	10.3±3.23	12.9±2.54	13.6±2.96	9.87±3.72	0.079
Диагноза, мес.	78 ± 24	101± 53	65±14	84± 67	48± 21	0.0001
ACQ скор	0.79±0.24	2.13± 0.32	2.32±0.64	1.14±0.18	0.50±0.44	0.004
BMI	16.91±0.72	18.85±0.79	18.09±2.5	18.42±1.18	14.36±1.37	0.27
T раждане, кг	3900±589	3293±789	3630±809	2825±1102	2200±983	0.032
FEV ₁ %pred	95.24±6.34	87.50±4.62	82.28±5.84	98.21±4.88	89.0±7.52	0.002
БДО ΔFEV ₁ %	17.65±7.25	19.77 ± 7.89	26.46±13.4	14.50±5.67	22.6±8.54	0.0006
ELISA общиIgE	97.0	197.8	486.4	415.1	388.8	0.0003
СпецифичниIgE	0.209±0.042	0.160±0.081	0.269±0.12	0.404±0.27	0.124±0.07	0.009

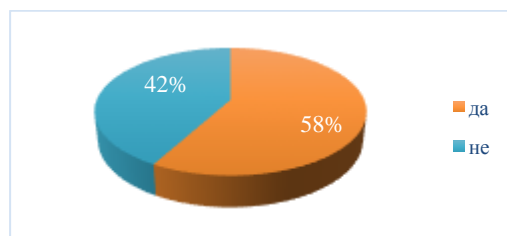
Таблица 28 Характеристика на кълъстерните групи, средна±SD

Децата с тежка астма, дефинирани според критериите на ERS/ATS task force, попадат в най-голям процент в Клъстер 3 (65% от пациентите в този Клъстер). Само едно дете с тежка астма попада в друга група – Клъстер 2.

Задача 8 Коморбидност и белодробна функция

За решаването на задача 8 на децата с астма се проведе ото-риноларингологична консултация и рентгенография на синуси по показание, с оглед диагностицирането на придружаващ АР/риносинусит. От всички включени пациенти се взе назален секрет и се определи еозинофилния брой (натривка, оцветена по Giemsa).

От включените 211 деца с астма 116 (54.9%) са с диагностициран съпътстващ алергичен ринит/риносинусит – сезонен и целогодишен. (графика 41) При децата с АР и позитивни sIgE спрямо инхалаторни алергени (целогодишни – микроакари, *Alternaria*) се установиха по-висок процент назални еозинофили в сравнение с децата без симптоми на АР и негативни sIgE – респективно $8,45\% \pm 1,34\%$ спрямо $4,32\% \pm 1,33\%$ при $p < 0,05$. В групата децата с астма и придружаващ АР се установи и значимо по-голям брой пациенти, позитивни за sIgE към микроакарите в домашна прах ($p = 0,042$), както и по-голям брой пациенти с положителен резултат от мултискрининговия тест за атопия ImmunoCAP Phadiatop, $p = 0,079$.



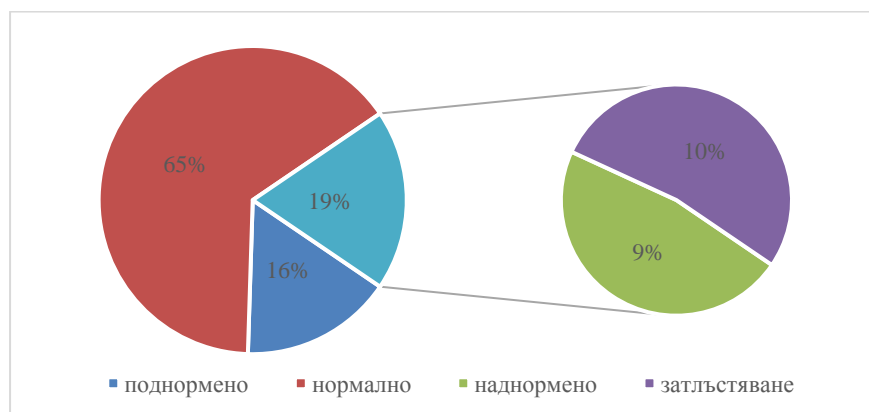
Графика 41 Процентно разпределение на децата с астма със/без придружаващ АР

Не се установи значима разлика в относителните дялове на пациентите със и без съпътстващ АР сред двете групи пациенти – със и без SAO ($FEV_1 \geq 80\%$, $MMEF_{25/75} < 65\%$) (периферна обструкция). ($p > 0,05$) Не се установи и значима връзка между наличието на придружаващ АР с нивото на клиничния контрол на астмата, както и със стъпалото на контролиращото лечение по GINA.

Децата с АР обаче по-често съобщават за пристъпи на екзацербация на астмата при контакт с алерген (треви, домашни животни, запрашени

помещения, влага, мухъл) ($p=0.001$) и по-често съобщават за затруднение във физическата активност. ($p=0.046$). AP показва тенденция да бъде рисков фактор и за по-честа хоспитализация по повод екзацербация на бронхиалната астма. ($p=0.053$).

За всички деца бе изчислен индекс на телесната маса (BMI) и децата се класифицираха като такива с поднормено, нормално, наднормено тегло и затлъстяване по метода на перцентилите. (графика 42)



Графика 42 Поцентно разпределение на децата според перцентила на BMI

Не се доказва значима връзка между BMI и контрола на астмата, изходната спирометрия, атопичния статус (собствен атопичен терен, общи и sIgE), наличието на хоспитализации, екзацербации в предходната година, пристъпи при физическо натоварване, при контакт с алерген, както и БДО ($\Delta FEV_1\%init$) общо за изследваната популация деца с астма, така и при разделяне на извадката по възраст и пол.

В четирите групи според изходния FEV_1 ($\geq 80\%$, $<80\% \geq 70\%$, $<70\% \geq 60\%$ и $<60\%$) се установява значима разлика в BMI. Децата с най-тежко нарушение на $FEV_1 < 60\%$ имат значимо по-висок BMI в сравнение с децата с по-лека бронхиална обструкция ($p=0,045$). Разликата в BMI при групиране на децата на такива с нормална спирометрия ($FEV_1 \geq 80\%$ и $MMEF_{25/75} \geq 65\%$), с нарушена функция ($FEV_1 < 80\%$) и с периферна обструкция (SAO, $FEV_1 \geq 80\%$ и $MMEF_{25/75} < 65\%$) не беше статистически значима.

В изследваната популация деца се установи слаба, но значима корелация на БДО, изчислен като абсолютна промяна (в mL) с възрастта, ръста, теглото и BMI (Spearman's rho ~0.3).

ОБСЪЖДАНЕ

Белодробните функционални тестове са важна част от изследването на респираторните заболявания при деца. Те са чувствителни и обективни в идентифицирането и оценката на тежестта на белодробната дисфункция, мониторирането на прогресията на заболяването и преценката на терапията. Изходната спирометрия дава информация за моментното състояние на белодробната функция, БДО – информация за лабилността на ДП, докато въпросниците за контрола (АСQ/АСТ) дават информация за симптомите в предходните 7 дни/един месец. Те разкриват различни аспекти и прилагани в комбинация увеличават вероятността за разкриване на деца в риск. Обект на настоящия дисертационен труд е изследване и оценка на клиничното значение на функционалното изследване на дишането, и изследването на атопичния статус в комплексния процес на диагностика и оценка на тежестта и контрола на астмата в детска възраст.

В настоящия дисертационен труд се включиха деца с астма със и без придружаващ АР, с различна тежест и ниво на контрол, както и контролна група от здрави деца с отрицателна анамнеза, без предшестваща бронхиална обструкция и АР, без фамилна обремененост за астма и алергични заболявания. В групата на децата с астма преобладават децата на възраст от 7 до 15 години, с преобладаване на мъжкия пол (изключение на възрастовата група над 15 години). Разпределението, с превес на мъжкия пол до 10-годишна възраст сред популацията на децата с астма, е в съответствие с литературните данни. Начало на „свиркането“ в кърмаческа възраст се регистрира значимо по-често при момчетата в сравнение с момичетата, като за момчетата се установи и общо по-ранно начало на епизодите на свиркащо дишане в сравнение с момичетата ($p < 0,006$). Средната възраст на диагностициране на бронхиална астма е 5.7 години и също е значимо по-ниска за мъжкия пол ($p < 0,006$). Промяната в половото разпределение на честотата на астмата по време на пубертета предполага важната роля както на калибъра на ДП, така и на хормоналните фактори.

При почти половината от децата се съобщават анамнестични данни за фамилна обремененост за астма (48,4%) и алергични заболявания (52%), данни за собствен атопичен терен при 47,9% и съпътстващ АР (сезонен/целогодишен) при 54,9%. Тези резултати са в подкрепа на данните от редица проучвания,

изучаващи генетичната предиспозиция към астма и атопични заболявания като основен рисков фактор за развитието и персистирането на астмата в детска възраст.

Почти две трети (75,8%) от изследваните деца с астма са подложени на пасивна експозиция на тютюнев дим, като в повече от половината домакинства активен пушач е майката (59,4%). Въпреки че тютюнопушенето на родителите не е първичен фактор, променящ честотата на астмата и респираторните заболявания, се счита че има значим потенциал за взаимодействие с други генетични фактори и фактори от околната среда, с което оказва индиректно влияние върху респираторната патология. Малък процент от общата група изследвани деца с астма (3,3%) съобщават за активно тютюнопушене, всичките на възраст над 15 години. Макар и само 7 на брой, те съставляват 41% от децата в тази възрастова група. Подобен процент (43%) на активните пушачи в юношеска възраст се съобщава и от Мандаджиева и сътр. в проучване на белодробната функция на здрави деца.

Повече от половината от включените в проучването деца (59%) не са провеждали контролиращо лечение през предходните 8 седмици, 36% от тях са с новодиагностицирана астма, а останалите 64% са провеждали интермитентно контролиращо лечение или системното лечение е било прекъснато. При 69% от децата контролиращата терапия включва ИКС самостоятелно или в комбинация с друг медикамент (LABA, LTRA).

Установихме значимо разминаване в класифицирането на децата по тежест при използване на трите метода. Тежестта на астмата, дефинирана според стъпалото на контролиращото лечение и въз основа на симптомите (ACQ и GINA скор), е значително по-ниска от тази, основана на резултатите от спирометрията. Тези резултати кореспондират с данните от литературата за липсата на асоциация между тежестта на симптомите, интензитета на медикаментозното лечение и стойността на FEV₁% от предвиденото.

В първата задача от дисертационния труд се определи и оцени клиничното значение на показателите от изходната спирометрия – FEV₁, FEV₁/FVC и индексите за периферна обструкция – FEV_{25/75}, FEV₅₀, FEV₇₅, и се потърси корелация между тях и оценката на клиничния контрол и тежест на астмата, както и бъдещият риск за неблагоприятен изход (екзацербации, хоспитализации, лош контрол, прогресивна загуба на белодробна функция).

При разделяне на показателите от изходната спирометрия на такива, отразяващи калибъра/функцията предимно на големите ДП, а именно FEV₁ и PEF и на такива, отразяващи калибъра/функцията предимно на малките ДП, съответно MMEF_{25/75} и MMEF₇₅, се установи по-силна корелация на коефициента на Tiffeneau (FEV₁/FVC) с показателите, отразяващи малките ДП. Установихме, че повече от половината изследвани деца (n 124, 64%) показват нормален изходен FEV₁ ≥ 80% по време на екзацербация или наличие на влошен контрол на астмата. Това потвърждава резултатите от редица проучвания при деца, според които изходният FEV₁ и PEF показват слабост в разкриването на бронхиална обструкция, а 80% от астматичните пристъпи настъпват при деца с нормален FEV₁. Аналогично на нашите наблюдения, Francisco et al. установяват слаба чувствителност на най-често използваните параметри (FEV₁, FEV_{0.5}, FVC и PEF) в разкриването на бронхиална обструкция (под -1.64 z-скор от резултата на контролната група), в сравнение със средните дебети FEF_{25/75}% и FEF₅₀%.

Децата с нормален изходен FEV₁ ≥ 80% (n 124, 64%) се разпределиха в 4 подгрупи в зависимост от изходния FEV₁/FVC и изходния MMEF_{25/75} (Виж фигура 2) При анализа matched case-control study (случай-контрола) с групиране на децата в три групи (група А, В и D) се установи, че наличието на периферна обструкция увеличава вероятността за пристъпи при физическо натоварване 5,08 пъти (OR 5.079, 95% CI 1.461-17.653). Със същия статистически анализ при 654 деца с нормален изходен FEV₁ ≥ 80% и групиране на децата в три групи Rao et al. установяват, че децата с нисък FEV₁/FVC и нисък MMEF_{25/75} (група D) имат почти 3 пъти по-голяма вероятност за нужда от системни КС (OR 2,8; p < 0,01) и 6 пъти по-голяма вероятност от астма екзацербация (OR 6,3; p < 0,01) в сравнение с децата с нормална изходна спирометрия (група А).

В изследваната група деца с нормален изходен FEV₁ едва 8% демонстрираха намален FEV₁/FVC, поради което добавихме четвърта група С на децата с изолирано „нисък MMEF₂₅₋₇₅” (n 58, 30%). При анализ с 4 групи установихме, че наличието на хоспитализация, обратно на очакванията, се явява слаб протективен фактор по отношение на дихателната функция (OR 0,449, 95% CI 0,206-0,978). Това би могло да се обясни, от една страна, с индикациите за хоспитализация на децата с астма – при наличие на изразена симптоматика се хоспитализират деца с нормална спирометрия. От друга страна, при хоспитализираните деца се оценява контролът на астмата, провежда се ФИД и

се оптимизирана контролиращото лечение, което води до тяхната по-добра белодробна функция.

Доказахме, че децата с периферна обструкция (SAO, $FEV_1 \geq 80\%$ и $MMEF_{25/75} < 65\%$, независимо от изходния коефициент на FEV_1/FVC) имат 2,388 пъти по голям риск от проява на някой от елементите на рисковия домейн (OR 95% CI 1.077-5.294). Същия резултат получихме и с логистична регресия (HR 2,27 95% CI 1,120-4,603). Децата от тази група имат 5,9 пъти (OR 95% CI 2,487-13,998) по-голяма вероятност за позитивиране на БДО за $MMEF_{25/75}$ и цели 6,171 пъти (OR 95% CI 2,523-15,096) за ΔFEV_1 над 12%, в сравнение с децата с нормален изходен $FEV_1 \geq 80\%$, без наличие на периферна обструкция ($MMEF_{25-75} \geq 65\%$). Доказахме и тенденция децата с периферна обструкция да имат лош контрол на астмата.

Няколко проучвания свързват функцията на малките ДП със симптомите при астма. В изследваната популация деца с персистираща астма 79% показаха нормален $FEV_1 \geq 80\%$ и 63% $FEV_1/FVC \geq 80\%$. Gibb et al. създават логистичен регресионен модел при 693 деца с нормален изходен $FEV_1 (\geq 80\%)$, с който доказват, че децата с $FEF_{25-75} < 60\%$ имат 2.50 пъти по-голяма вероятност да са били хоспитализирани в предходната година (OR 2.50, CI 1.17-5.35) в сравнение с тези с $FEF_{25-75} \geq 60\%$.

Подобно Tosca et al., които доказват корелация между FEF_{25-75} и sIgE за домашна прах, установихме значимо по-голям процент на децата, сенсibiliзирани към двата микроакара в домашна прах (*D. farinae* и *D. pteronyssimus*) в групата деца с периферна обструкция (SAO), в сравнение с децата с нормална функция ($p=0,037$), което предполага вероятна директна връзка между маркерите на алергично възпаление и SAO.

Оценката на ДОК в процеса на интерпретация на спирометрията включва и визуална инспекция на формата на кривата. Показателят FEF_{25-75}/FVC (сурогатен маркер за съотношението между размера на ДП спрямо размера на белия дроб) дава информация за формата на МДОК. Конкавността на МДОК при пациенти с обструкция се дължи на пропорционално по-голямата редукция на дебитите в средната част на VC в сравнение с редукцията на FVC. Нашите резултати показаха статистически значима разлика между индекса FEF_{25-75}/FVC на здравите деца и на тези с астма ($p < 0.0001$). Според очакванията при децата с

астма кривата е подчертано обструктивна, независимо от стойността на изходния FEV₁. В групата с астма се установи и значима разлика във формата на ДОК (FEF₂₅₋₇₅/FVC) в отговор на приложението на бронходилататор (p<0,0001). Дори след провеждането на БДТ формата на кривата при децата с астма запазва своя подчертано обструктивен характер (FEF₂₅₋₇₅/FVC е 0,75; IQR 0,57-0,91).

Установи се значима разлика в средните стойности на основните показатели от изходната спирометрия, БДО (Δ FEV₁ и Δ MMEF₂₅₋₇₅), както и на показателя FEF₂₅₋₇₅/FVC, отразяващ формата на ДОК в групите деца с периферна обструкция (SAO) и тези с нормална функция. Децата със SAO имат значимо по-ниски стойности на всички изследвани индекси и по-висок БДО (p<0,0001).

Има една малка, но важна група астматици, с нормална изходна стойност за FEV₁ и абнормен MMEF₂₅₋₇₅, които имат повишен риск от неблагоприятен изход (екзацербации, хоспитализации, прогресивно намаляване на белодробната функция, персистиращ БДО) и вероятно се нуждаят от преминаване на по-високо GINA стъпало на контролиращото лечение, след внимателна оценка на придържането към терапевтичния план и оценка на инхалаторната техника.

Изходният ФИД и ACQ скорът корелират слабо, но ако се комбинират могат да разкрият по-добре децата с риск от загуба на контрол, екзацербация и прогресивно влошаване на белодробната функция.

Във втората задача от дисертационния труд се направи оценка на клиничното значение на БДТ и се изчисли чувствителността и специфичността на различните дефиниции и прагове за БДО в процеса на диагностициране и мониториране на детската астма.

„Идеалната“ формула за експресия на БДО трябва да бъде независима от изходния FEV₁ и да отразява истинския отговор към медикамента, да корелира добре с клиничния отговор, да позволява сравнение между субекти с различна изходна стойност и да дава информация за тежестта на постбронходилататорната обструкция. При проведения корелационен анализ установихме отлична правопрпорционална зависимост между Δ FEV₁, като процент от изходната стойност и Δ FEV₁, като процент от предвидената стойност (Spearman's rho 0,859, p=0, 000), аналогично на литературните данни. Най-широко използваната формула за изчисление на БДО - Δ FEV₁%init. зависи значително от изходната стойност за FEV₁. Това се потвърди и в нашето изследване - Δ FEV₁%init. най-силно се влияе от изходния FEV₁%pred.

(Spearman's $\rho = -0,567$). Представянето на БДО като абсолютна разлика има редица недостатъци в детска възраст поради зависимостта на този показател от възрастта, респективно от размерите на белия дроб. Това се потвърди и от нашия анализ, при който установихме слаба, но значима корелация на БДО, изчислен като абсолютна промяна (в mL) с възрастта, ръста, теглото и BMI (Spearman's $\rho \sim 0,3$).

При прилагане на ERS/ATS критериите ($\Delta FEV_1 \% \text{init.} \geq 12\%$ и ≥ 200 mL) се разкриха по-малък брой деца с позитивен БДО, подчертано за възрастовата група под 12 години, в сравнение с прилагането на критериите на GINA 2016 - $\Delta FEV_1 \% \text{init.} \geq 12\%$, без условието за значим праг на абсолютната промяна ≥ 200 mL за деца под 12 години. Придържането към актуализираните критерии на GINA 2016 би повишило разкриваемостта на децата с бронхиална лабилност, подчертано за възрастта под 12 години.

Валидността на най-често използваната дефиниция за БДО ($\Delta FEV_1 \geq 12\%$) остава спорна в детската възраст. Този праг за клинично значим БДО се основава предимно на проучвания при възрастни пациенти с астма и здрави контроли. За изследваната популация деца с астма и контролна група здрави деца изчислихме площ под кривата 0,924 (95% CI 0,887-0,961) за БДО ($\Delta FEV_1 \% \text{init.} \geq 12\%$). Праг 6,15% за позитивен БДО ($\Delta FEV_1 \% \text{init.}$) показва най-доброто съчетание между чувствителност (82,8%) и специфичност (100%), при разграничаване на здравите контроли от децата с астма. За „класическия“ праг за позитивен БДО (ERS/ATS;GINA) $\geq 12\%$ се изчисли по-ниска чувствителност - 60,9% при 100% специфичност. Най-широко дискутираният и проучван праг за клинично значим БДО при деца $\geq 9\%$ е с чувствителност 73%, при 100% специфичност, която е близка до съобщаваната в литературата за специфичността и по-висока за чувствителността. По-високата стойност на изчислената чувствителност би могла да се обясни със стриктния подбор на контролната група деца – само такива с отрицателна анамнеза за предшестващи прояви на бронхиална обструкция и АР.

Както отбелязват и авторите, разработващи проучвания за БДО при деца, преди да бъде наложен 9% праг за БДО като диагностичен тест за астма в детска възраст, е необходимо провеждане на проспективно неселектирано кохортно проучване на този показател, т.к. диагностичната му стойност може да варира в

зависимост от честотата на „свиркането“/астмата в изследваната популация.

Galant et al. изследват връзката между БДО при различни прагове и лошият контрол на астмата. Чрез мултивариабилен регресионен анализ установяват, че БДО $\geq 10\%$ и $\geq 12\%$ се асоциира с лош контрол на астмата и атопия, с нощни симптоми при момичета (OR 3,4; 3,8; $p < 0,01$), нужда от $\beta 2$ -агонисти (OR 1,7; 2,8; $p < 0,01$), ограничение във физическата активност (OR 2,2; 2,5; $p < 0,01$) само в групата на стероидно наивните. Праг $\geq 10\%$ дава сходни резултати с класическия $\geq 12\%$, но с по-висока чувствителност, **но само за такива без контролиращо лечение в последните 6-8 седмици**. Праг $\geq 8\%$ (над естествената вариабилност) също е показател за лош контрол и възпаление на ДП с висока чувствителност, но по-ниска специфичност.

За да оценим клиничното значение на БДО при различни прагове за позитивност и връзката му с клиничния контрол на симптомите и факторите от рисковия домейн, приложихме логистичен регресионен анализ и анализ тип case-control study. Получените резултати се доближават до тези от литературата. При деца с диагностицирана астма, независимо от изходния FEV₁ и контролиращата терапия, праг за $\Delta FEV_1\% \text{init.} \geq 8\%$ се асоциира с 2,369 (95% CI 1.077-5.213) пъти по-висок риск от поне 1 хоспитализация през предходната година и 2,871 (95% CI 1,239-6, 653) пъти по-висок риск за отсъствие от училище заради астмата. Тази зависимост, макар и по-слаба, се запазва и при праг за БДО $\geq 9\%$ и $\geq 11\%$, съответно 2,282 пъти и 2,159 пъти за риска от хоспитализации. Децата с БДО $\Delta FEV_1\% \text{init.} \geq 10\%$ имат три пъти по-голяма вероятност за проява на пристъпи при физическо натоварване с OR 3.09 (CI 1.101-8.674). Класическият праг за БДО $\geq 12\%$ не може да предскаже риска от хоспитализации, но се асоциира с 3,142 (95% CI 1,505-6,562) пъти по-голяма вероятност за отсъствие от училище заради астмата. В изследваната популация не открихме връзка между БДО и атопичния статус на децата (основните групи аероалергени).

Подобно на Galant et al. в групата на децата, лекувани с ИКС, установихме, че **БДО може да разкрие децата с висок риск при използване на cut-off 12% и 11%**, но не и при използване на по-нисък праг за значим БДО. При стероидно наивните пациенти доказахме, че БДО над 12% увеличава

вероятността за изява на поне един от елементите на рисковия домейн 2,66 пъти (95% CI 1,08-6,669).

Липсата на консенсус за формулата и показателят, който да отразява БДО, води до редица проучвания при деца и възрастни, проведени в търсене както на идеалния праг, така и на „идеалния“ параметър. Castro et al. провеждат сравнителен анализ на четири алтернативни критерия за оценка на БДО [ΔPEF %; ΔFEF_{25-75} %, $\Delta sGaw$, $\Delta FEF_{25-75}(l)$] при възрастни, с лека към умерена бронхиална обструкция. Три от алтернативните критерия показват $AUC > 0.070$ с праг на значим отговор много близък до изчисления от нас: $\Delta PEF \geq 8\%$; $\Delta FEF_{25-75} \geq 27\%$, $\Delta sGaw \geq 25\%$, което потвърждава полезността им като критерии за позитивен БДО. За най-добър праг за $\Delta MMEF_{75/25}, \% \text{init.}$ **определихме 29,9%** (30%), който показва 84,1% чувствителност и 73,8% специфичност, с позитивна предиктивна стойност (PPV) 84 и негативна предиктивна стойност (NPV) 73,9. За $\Delta PEF \% \text{init.}$ дефинирахме праг **9,35%** с оптимално съотношение на чувствителност и специфичност (76,6%, респективно 85,4%). Viložni et al. демонстрират чувствителност на постбронходилататорното нарастване на $\Delta FEF_{25-75} \geq 18.2\%$ над 91.6%, дори при деца с лека астма. Позитивният отговор за FEF_{25-75} корелира с тежестта на обструкцията при всички тежести на астмата. Авторите определят праг 9.2% за ΔFEV_1 и 18.5% за ΔFEF_{25-75} като клинично значим БДО. Отново при деца в предучилищна възраст Passerini et al. установяват, че БДО $\Delta FEF_{25-75} \geq 25\%$ разграничава най-добре децата с астма от здравите с чувствителност 41% и специфичност 80%. Най-добро съотношение за позитивна вероятност според авторите дава прагът за $\Delta FEV_{0.5} > 11\%$ (чувствителност 30% и специфичност 90%).

Голям е интересът към БДО при деца с нормална изходна спирометрия. Simon et al. определят праг за FEF_{25-75} 68% с 95% чувствителност и 63% специфичност за детекция на 20% увеличение на FEV_1 , след инхалиране на Albuterol. Cut-off между 60% и 70% за FEF_{25-75} е най-добър в предсказването на позитивен БДО ($\Delta FEV_1 \geq 12\%$), при нормален изходен $FEV_1 \geq 80\%$. Близки до тези резултати получихме и при нашия анализ на чувствителността и специфичността на основните показатели от изходната спирометрия за предсказване на позитивен БДО по класическите критерии ($\Delta FEV_1 \% \text{init.} \geq 12\%$). Най-голяма диагностична сила (AUC 0,843 CI 0,781-0,845) демонстрира

MMEF_{25/75} с най-добър cut-off, съчетаващ максимална чувствителност и специфичност (77,8%, респективно 78,8%) под **58,1%**, която е близка до долната граница на нормата за този показател, съобщавана по литературни данни (60%, 65%). Праг MMEF_{25/75}<65% в изследваната популация показва висока чувствителност 82,7%, но по-ниска специфичност 54,5%.

Съществуват доказателства за развитие на процеси на ремоделиране на ДП още от ранна детска възраст, в това число и съпътстваща гладкомускулна хипертрофия Липсата на значим БДО може да бъде израз на ремоделиране на ДП. В изследваната група деца с астма идентифицирахме малка група деца, едва 16,4%, с нисък изходен FEV₁<80% и отрицателен БДО (Δ FEV₁%init. \geq 12%). Характерно за тази група е високият процент деца без контролираща терапия (81,8%) и лошият и граничен контрол на астмата с две и повече екзацербации и хоспитализации през предходната година. Почти половината от децата с необратима или частично бронхиална обструкция (45,5%) са изненадващо с поднормено тегло (под 3-ти перцентил).

При проследяване на децата с позитивен БДО, лекувани една година с ИКС за период до една година, при 22% установихме персистиране на положителен БДО (Δ FEV₁%pred. \geq 12%) със статистически значимо по-ниски средни стойности на FEV₁% pred, FEV₁/FVC, MMEF₅₀%pred, MMEF_{25/75}%pred. в сравнение с децата с отрицателен БДО (p <0.05). При всички деца доминираше подобрен контрол (ACQ) в сравнение с изходната оценка (p> 0.005), но се установи по-голяма вероятност за положителен БДО при децата, които са били хоспитализирани през последните 12 месеца.

БДТ е широко използван при потвърждаване на диагнозата астма, но може да бъде и надежден метод за проследяване контрола на деца с астма. При децата с персистиращ позитивен БДО, въпреки наличието на добър клиничен контрол (ACQ), вероятно е необходимо преминаване на по-високо стъпало на контролиращото лечение, след внимателна оценка на комплайнса и на инхалаторната техника. Утвърждаването на адаптирани за детската възраст спирометрични критерии, в допълнение към оценката на клиничните симптоми и физикалното изследване, би подобрило съществено контрола на астмата, взимането на правилни терапевтични решения и идентифициране на риска от прогресивна загуба на белодробна функция.

В задача 3 се приложи референтното уравнение GLI 2012 към основните белодробни функционални показатели на българската популация деца с астма и се сравни интерпретация на резултатите от спирометрията, при използване на фиксиран cut-off, с долната граница на нормата (LLN) и метода z-скор.

GLI 2012 (Quanjer P.H., Stanojevic S.) е първото референтно уравнение за изчисление на предвидените стойности на спирометричните индекси, в което са обобщени данни за възрасти от 3 до 95 години и етнически и географски групи от 26 страни. Включването на голям брой здрави деца и подрастващи позволява да се създадат предвидени стойности, които осигуряват по-плавно преминаване от подрастващите към възрастните, в сравнение с уравнения, в които са използвани данни само от здрави възрастни или само здрави деца. Така например съотношението FEV_1/FVC намалява постепенно до юношеството поради по-бързото нарастване на FVC, в сравнение с TLC и FEV_1 , когато тази тенденция се обръща и съотношението започва да нараства. При прилагането на GLI 2012 към база данни за изследван контингент от здрави български деца на възраст 7-18 години, Мандаджиева и кол. демонстрират, че „получените предвидени стойности за основните спирометрични показатели са в рамките на ± 2 z-скор, което от своя страна означава, че тези уравнения са подходящи за приложение в тази популация и съответно възрастов диапазон.“

С помощта на софтуерен програмен продукт Spirxpert (<http://www.spirxpert.com>) данните от изходната спирометрия на 172 от децата с астма бяха изчислени като процент от предвидената стойност по референтното уравнение GLI 2012. Това позволи да се сравни класифицирането на децата като такива с нормална функция и с обструкция според двете референтни уравнения. Срвани се интерпретацията на данните, както като фиксиран праг от 80% от предвиденото, така и като праг под долната граница на нормата (LNN). При сравняване на FEV_1 LLN (под 5-ти перцентил) по Zapletal с FEV_1 LLN (под 5-ти перцентил) по GLI 2012 се установи, че при изчисление на предвидената стойност по Zapletal се „изпускат“ 22 от 76 деца с бронхиална обструкция по уравнението GLI 2012. При използване на фиксиран cut-off 80%, вместо LLN (5-ти перцентил), този дял се увеличава на 29 от 73 деца. От друга страна, използвайки GLI 2012 с фиксиран cut-off, в сравнение с LLN (5-ти перцентил) по Zapletal, също се пропускат, но само 3 деца.

При интерпретацията на спирометрията даден резултат се счита за патологичен, когато е извън границата на нормата, която обичайно се дефинира от средната $\pm 2SD$ (по-точно 1,96), което отговаря на интервала между 2,5-ти и 97,5-ти перцентил на разпределението. Както ERS, така и AST препоръчват използването на 5-ти перцентил за дефиниране на долната граница на нормата (LLN), който отговаря на -1,64 z-скор. Индексът z-скор показва на колко стандартни отклонения се намира измерената стойност от предвидената. При използването му, за разлика от % от предвиденото, се избягва грешка, която може да възникне в резултат на различия в пола, възрастта, ръста и етническата принадлежност. В клиничната практика най-често за LLN се използва 80% от предвидената стойност. Истинската LLN, изразена чрез % от предвиденото, обаче варира значително с възрастта. Използването на 80% от предвиденото, като фиксирана LLN за FEV₁, води до висок процент фалшиво положителни сред по-възрастните пациенти (над 70 години), докато използването на <0,7, като праг за абнормен FEV₁/FVC, води до подценяване на диагностицирането на бронхиалната обструкция в детската възраст и я свръхдиагностицира при възрастните.

В изследваната популация деца (Zapletal) дори при използването на по-висок праг за нормален FEV₁/FVC (препоръчвания от NAEPF 85% от предвиденото), вместо 70% (0,7), бронхиална обструкция се диагностицира при 45 деца. С прилагането на LLN (под 5-ти перцентил) се разкриват допълнително 20 деца с FEV₁/FVC под LLN, т.е. с бронхиална обструкция. При децата на възраст до 6 год. или с ръст до 115 cm и над 180 cm чувствителността на Zapletal спрямо GLI 2012 спада до 40% при използване на LLN метода.

Резултатите от тази задача демонстрират важността на използвания референтен източник при интерпретирането на спирометричните резултати, особено в предучилищна възраст и във възрастта на преход от юношество в зряла възраст.

В **задача 4** се определи атопичният статус на изследваната група деца с астма и се потърсиха корелации с белодробната функция, тежестта и контрола на астмата и наличието на съпътстващ AP.

В епидемиологичните проучвания атопията и алергията неизменно се асоциират като рисков фактор за бронхиална хиперреактивност и астма при деца и възрастни. Известно е, че серумната концентрация на общите IgE има

висока специфичност, но ниска чувствителност при определяне на атопичния статус. При наличие на повишени общи IgE има голяма вероятност пациентът да е атопик, но ако са в норма, атопия не може да бъде изключена. Това твърдение се подкрепи и от двата анализа на ROC криви за специфичност и чувствителност на общите IgE за разкриване на атопиците, определени като такива според наличието на позитивни sIgE (Euroimmun; ImmunoCAP). И при двата сравнявани имунологични метода за детекция на sIgE се установи много добра специфичност, но ниска чувствителност, дори при висок титър за общите IgE ($>142,5$ U/ml и $>368,5$ U/ml респективно).

Средната стойност на тоталните IgE е значимо по-висока при децата с астма и АР в сравнение с тези без придружаващ АР. (p 0,005). С метода χ квадрат доказахме, че сред групата на полисенсibiliзираните деца много често се наблюдават пациенти с висок или граничен IgE в сравнение с не-атопиците или моносенсibiliзираните (p 0,003). За АД от анамнезата съобщиха 18 деца, за едва 6, от които има изследвани общи IgE. Не се установи значима връзка между двата показателя, което може да се дължи на малкия размер на извадката.

При здрави субекти нивото на общите IgE нараства от раждането (0-1 KU/l) до юношеството, след което намалява бавно до достигане на плато при 20-30-годишните. Нашите резултати, в съзвучие с литературата, показват значимо нарастване на средната стойност на общите IgE с възрастта, с изключение на групата над 16 г., чийто доверителен интервал е неинформативно широк. Те отговарят и на заложените от производителя референтни стойности за горна граница на нормата, които са възрастово-зависими за деца до 15 години.

При момчетата установихме малко по-висока средна стойност на общите IgE, без разликата да достига статистическа значимост. ($p < 0,05$) Тя не кореспондира с резултата за sIgE, според който има лек превес на атопичните момчета. Тези наблюдения се разминават със съобщаваните от други автори, които установяват по-високи концентрации на общите IgE при момчетата за всички възрастови групи.

Алерген-специфичните IgE имат голямо предимство, особено в разкриването на деца с клинично неизявена алергия. Децата с позитивни sIgE в изследваната популация са 73%, за които при едва половината има позитивна анамнеза за собствен атопичен терен. Установи се по-висок процент на

сенсibiliзирани спрямо аерoалергени (64%) в сравнение с тези с атопична готовност спрямо хранителни алергени (43%). Това съотношение отговаря на данните в литературата за тестваната възрастова група. За разлика от тях при кърмачетата преобладава атопичната готовност спрямо хранителни алергени.

Сенсibiliзирането към алергени от различни източници е често наблюдавано при деца с персистираща астма, като наличието на алергия повлиява както курса на заболяването, така и изявата на симптоматика. Счита се, че персистиращото излагане на аерoалергени увеличава бронхиалното възпаление и риска от екзацербации при тежка астма. При децата с персистираща астма установихме в по-голям процент позитивиране sIgE спрямо епидермиса на домашни животни (куче и котка) и спори на гъби (*Alternaria alt* и *Cladosporium*). Общо децата, сенсibiliзирани към поне един от тестваните аерoалергени (група на атопиците), са с по-тежка астма, с по-лош контрол и по-често демонстрират бронхиална лабилност (позитивен БДО \geq 9%).

Позитивиране на sIgE (титър \geq 0.35 IU/l или GRADE 1) спрямо поне един аерoалерген установихме при 83% от децата с астма - 34 момичета (80%) и 57 момчета (87%). Най-честите аерoалергени в изследваната популация деца с астма, независимо от наличието на придружаващ AP, са микроакарите в домашна прах (на първо място *D. pteronyssimus*), тревните полени, следвани от *D. farinae*, *Alternaria alt.* в мухъл и плесен и от домашните животни – котка. При 41% от децата се отчете висок клас по EAST системата (над 3, отговарящ на титър 3.5 kUA/l). Сред тези деца най-често се позитивират sIgE спрямо котка в 60%, следвани от *D. farinae* в 45%, в по-малък процент спрямо тревен микс в 28% и спрямо гъбичната спора *Alternaria alt* в 15%.

От гореизложените данни може да се направи изводът, че водещите алергени при изследваната група деца с астма не се различават съществено от атопичния профил съобщаван по литературни данни. Резултатите ни показаха, че позитивирането на sIgE спрямо тревни полени се наблюдава по-често в юношеската възраст ($p=0,000$). Тези пациенти по-често съобщават за пристъпи, провокирани от контакт с алерген ($p=0,006$), ограничение във физическата активност ($p=0,017$) и симптоми на AP (сезонен/целогодишен) ($p=0,003$).

Проверихме дали аерoалергените в домашна прах (микроакари) и в епидермиса на котка и куче, които по литературни данни се дефинират като

рискови, се асоциират с по-висок титър общи IgE и по-нисък MMEF₂₅₋₇₅ % pred. Алергичната сенсibiliзация към домашна прах (*D. pteronyssimus* и *D. farinae*), като EAST клас, не показва корелация с БДО. Наличието на sIgE антитела спрямо ***D. farinae*** обаче се асоциира с **по-лош контрол на астмата** както при титър ≥ 1 EAST клас ($p=0,006$), така и при титър ≥ 3 EAST клас ($p=0,013$). Наличието на антитела към *D. farinae* се асоциира и с **наличието на екзацербации** на астмата през предходните 12 месеца, при титър ≥ 3 EAST клас ($p=0,068$). Всички деца, които са позитивни за *D. farinae* (≥ 3 EAST клас), са имали поне една екзацербация на астмата през предходната година.

Много алергени по химическа структура са гликопротеини и съдържат олигозахаридни странични вериги. Такива кръстосано реагиращи въглехидратни детерминанти (CCD) могат да бъдат открити в редица алергени от растителен и животински произход. От изследваните 110 деца при 8.2% се позитивираха sIgE антитела срещу CCD маркера. Те съставляват 11% от децата с поленова алергия. При всички от тях е отчетен поне един позитивен титър sIgE срещу хранителни алергени и спрямо поне един инхалаторен алерген. Всички деца с позитивен CCD са полисенсibiliзирани – две трети са позитивни спрямо тревен микс, а половината са с множествена поленова алергия. Установената честотата на позитивиране на CCD маркера е сходна до тази, съобщавана от други автори - 5,6%, като CCD сенсibiliзацията се асоциира по-често с поленова сенсibiliзация, отколкото към микроакари в домашната прах. Други автори съобщават по-висока честота - 18% от атопичните пациенти до средно 20% от пациентите с множествена поленова алергия.

Водещите хранителни алергени, които установихме, са картоф, ябълка, фъстък, морков, всички от групата на растителните храни. Нито едно от „позитивните“ деца не съобщи за клинично изявена хранителна алергия. Позитивирането на sIgE антитела към лешник корелират значимо с позитивиране на sIgE спрямо дървесния полен бреза и тревен микс, антителата към морков с бреза и към ябълка и картоф с гъбичната спора *Cladosporium*. Алергични реакции към растителни храни е възможно да възникнат и в резултат на кръстосано реагиращи IgE антитела. Кръстосаните реакции възникват в резултат на структурно сходство в протеиновата структура на храната и кореспондиращите растителни инхалаторни алергени. Регистрирането на

позитивни sIgE антитела към картоф, ябълка и морков вероятно се дължат на кръстосана реактивност с тревните и дървесни полени, които са сред водещите аероалергени в изследваната популация.

Значима функционална корелация между сенсibiliзирането спрямо лешник и двете главни поленови групи – тревни и дървесни (тревен микс и бреза), се съобщава от Балчева и сътр. в изследване на sIgE при пациенти с OAS (орален алергичен синдром). IgE антителата, насочени срещу въглехидратните епитопи на растителните гликопротеини, т.нар. N-гликани, се установяват при 10-20% от пациентите с поленова алергия. Тези IgE антитела демонстрират силна кръстосана реактивност спрямо всички растителни храни. В повечето случаи антителата са биологично неактивни, следователно **без никаква клинична** значимост.

Повечето епидемиологични проучвания сочат, че поленовата сенсibiliзация е минимален риск за астма в общата популация. За децата, при които се позитивират sIgE антитела спрямо котка, куче, *Cladosporium*, *Aspergillus*, див пелин от аероалергените и соя – от хранителните алергени, се установи **по-голям риск за хоспитализация по повод екзацербация** на бронхиалната астма. ($p < 0.05$). Единственият поленов алерген, за който установихме асоциация с повишен риск от хоспитализация по повод астма екзацербация, е дивият пелин. Такава не се установи за тревния микс и брезата, които са най-честите причинители на полиноза по нашите географски ширини. Това би могло да се обясни с големия размер на поленовите частици, който прави пенетрацията им в долните ДП необичайна. При определени обстоятелства с много голяма експозиция на трева и бреза са докладвани случаи с клинична екзацербация на астмата, възпаление в долните ДП и неспецифична БХР.

Серологичната диагностика на атопията започва през 1968 година с доказването на връзка между сенсibiliзацията на организма и новооткрития клас човешки имуноглобулини, наречен IgE. Радиоалергосорбентните тестове (radioallergosorbent test – RAST) исторически са първите тестове за детекция на серумни алерген-специфични антитела. Първата генерация количествени тестове (RAST, MAST, EAST) еволюират през втора генерация полуколичествени IgE тестове (AutoCAP, Alastat, HYTech, Matrix, MagicLite) до съвременните качествени автоанализатори от трето поколение. Две от най-

широкоизползваните имунологични методики от трето поколение са ImmunoCAP System (Phadia, Thermo Scientific, Uppsala, Sweden) и Immulite 2000 (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA). Химическият анализ е подобен на оригиналния RAST, но се използват неизотопни маркери. Изследването е по-бързо, с подобрена прецизност, точност и аналитична чувствителност.

Мултиалергенните скринингови тестове са създадени, за да измерят sIgE към множество алергени в един анализ. Алергени от различни групи (домашен прах, епидермиса на домашни животни, тревни, дървесни полени, спори на гъби) или множество алергени от една и съща група (напр. мухъл - *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aspergillus*) са заложили в една обща солидна фаза. Понастоящем стратегията за мултискрининговите тестове е модифицирана с дефинирането на панели от хранителни и аероалергени, подходящи за различни възрастови групи, като напр. Phadiatop Infant за кърмачета до 2 години.

В задача 6 сравнихме чувствителността и специфичността на използвания в настоящия дисертационен труд имунологичен метод за серологична оценка на atopичния статус EAST Euroimmun pediatric имуноблот, спрямо комбинацията ImmunoCAP Phadiatop (микстура от аероалергени) и MultiCap fx5 (хранителния микс), възприета като „златен стандарт“ за мултискринингов тест. ImmunoCAP Phadiatop/fx5 има най-висока предиктивна стойност за определяне на атопия, от който и да е наличен лабораторен тест (Phadiatop за деца над 12 години и в комбинация cfx5 – под 12 години). По литературни данни чувствителността на EUROLINE спрямо Phadia CAP системата („златен стандарт“) за тимотейка (трева) и бреза е 90%, за *D. pteronyssimus* и *D. farinae* е съответно 83% и 84%, за котка 91% и за кон 100%. По отношение на обща чувствителност и специфичност двата метода са със сходни показатели.

Сравнихме чувствителността на ImmunoCAP Phadiatop (микстура от микроакари, плесени, дървесни и тревни алергени, плевели, алергени от куче и котка) спрямо съответните аероалергени от EUROIMMUN pediatric. Резултатите показват, че при стойности на EUROIMMUN Pediatric аеро над 1 EAST клас се установяват 100% чувствителност, но едва 40% специфичност (PPV 68.1%, NPV 100%), докато при стойности над EAST клас 2 – 98,3% чувствителност и 87,6% специфичност (PPV 94.4%, NPV 96%), която е близка до съобщаваната в литературата. При множествен анализ за аероалергените ROC кривите остават

значими единствено за *D. farinae*, котка и тревен микс. За останалите включени в панела аероалергени (куче, бреза и див пелин) EUROIMMUN няма добри предиктивни свойства.

Спрямо хранителния микс fx5 (6 хранителни алергена – протеин на кравето мляко, пшеница, кокоши яйчен белтък, риба, фъстъци и соеви зърна) на ImmunoCAP съответстващите хранителни алергени от EUROIMMUN, показваха също по-слаби, но задоволителни резултати при оценката на чувствителността, включително и при титър над 1 EAST клас - чувствителност 64,3% и специфичност 73,5%. При множествения анализ с най-голяма предиктивна сила е позитивирането на sIgE спрямо брашно и соя, както и спрямо обединените алергени в кравето мляко (f2, f76, f77, f78), но не и по отделно.

Резултатите от нашето проучване показваха много добра корелация между двата метода по отношение на чувствителност и специфичност. Методиката на EUROIMMUN (кит Pediatric) показва дори предимство в разкриването на деца с атопия. При използването на корелационен, регресионен и факторен анализ се установи, че предиктивния индекс на ImmunoCAP Phadiatop/fx5 дава 19% грешка в сравнение с EUROIMMUN Pediatric. Тази грешка е по-малка за fx5 в сравнение с Phadiatop, вероятно поради по-широкия аероалергенен спектър, заложен в стриповете на EUROIMMUN. За разлика от ImmunoCAP Phadiatop и fx5, които генерират дихотомна положителна/отрицателна стойност и полуколичествено (кило единици алерген на литър) определена относителна позитивност, т.е. не дефинира прецизна IgE специфичност, EUROIMMUN Pediatric предлага по-богат набор от тествани алергени – инхалаторни и хранителни със съпоставима чувствителност и възможност за разкриване на конкретния алерген/и, отговорен за положителния резултат. EUROIMMUN Pediatric дава и титри за конкретните позитивни sIgE (полуколичествено, изразен в EAST системата), а не обобщен резултат. Методиката на EUROIMMUN, от своя страна, не изисква специализирана апаратура и е лесно приложима в ежедневната клинична и лабораторна практика. Това, в съчетание с високата ефективност на метода и достоверността на получените резултати, я прави по-достъпна (финансово и материално-технически) в сравнение с методиката на ImmunoCAP, извод с важно практическо значение.

В резултат на научната работа по настоящия труд и получените резултати се установи спектъра на най-честите и най-рискови за настъпване на

екзацербация/хоспитализация аеро- и хранителни алергени в популацията на децата с бронхиална астма и респираторна алергия (АР). Тези данни предоставят важна насока за насочено търсене и точно откриване на провокиращия алерген/и в помощ не само за поддържане на по-добър контрол при сенсibiliзираните чрез стратегия за избягване на алергенна експозиция, но също така и за разработването на план с препоръки за пациентите, които не са в състояние да бъдат тествани (по финансови, социални или религиозни причини), както и насока за потенциалната полза от провеждане на специфична хипосенсибилизация.

Статистическите методи, основани на *machine learning*, улесняват ефективното извличане на данни за идентификация и анализ на моделите на заболяванията. Клъстерният анализ използва мултивариабилен математически алгоритъм, който най-общо се прилага в две основни функции: 1) определяне на качествено сходство между субектите в изследваната популация въз основа на множество специфични вариабилни и 2) групиране на субектите в клъстери според техните общи характеристики.

Приложихме клъстерен анализ с Ward's метод, с помощта, на който дефинирахме 5 клъстера в изследваната група деца с астма – два атопични, два не-атопични и един смесен. Децата с тежка астма, дефинирани според критериите на ERS/ATS, попадат в най-голям процент в атопичния Клъстер 3 (65% от пациентите в този Клъстер), който се характеризира с ранно начало на астмата (65 ± 14), голяма бронхиална лабилност (най-висок БДО), с най-лош контрол (най-висок ACQ скор) и най-висок титър на общи и sIgE. Във включената в анализа група деца не се дефинира очакваният клъстер на момичета, не-атопици с наднормено тегло или затлъстяване. Една от причините може да се обясни с по-ниския процент на момичетата в общата група и високия процент на атопия сред женския пол. Не установихме нито едно момиче със затлъстяване и отрицателни общи и sIgE антитела.

Haldar et al. за първи път прилага клъстерен анализ при три популации астматици, с оглед идентифицирането на клинични фенотипове на астмата. В изследваните три популации пациенти е идентифицирана група на астматици със затлъстяване, предимно жени с по-изразена симптоматика и липса на еозинофилно възпаление на ДП. В проучването SARP честотата на затлъстяване е 24 до 51% в 5-те дефинирани клъстера и представлява повече от една трета от

пациентите във всички клъстери, с изключение на първия. Moore et al. също идентифицират специфичен клъстер на жени с астма с късно начало, без еозинофилно възпаление на ДП/атопия. Резултатите от тези проучвания подкрепят хипотезата, че затлъстяването се асоциира с два астма-фенотипа – не-атопичен фенотип с късно начало, който може да бъде свързан/„предизвикан“ от затлъстяването и фенотип на астма с ранно начало в детската възраст, обичайно атопичен, който може да бъде утежнен като клинично протичане от затлъстяването.

Твърдението, че затлъстяването влияе върху контрола на астмата и екзацербациите в детска възраст остава противоречиво и спекулативно в литературата. Липсват сигурни доказателства и за асоциацията между ВМІ и загубата на белодробна функция при децата с астма, извън обичайните ефекти, които оказва затлъстяването върху белодробните обеми. В изследваната група деца с астма в повече от две трети от децата установихме поднормено или нормално тегло. 19 % от децата са с тегло над горната граница на нормата, в 10% със степен на затлъстяване. Установи се статистически незначима разлика в средната стойност на ВМІ при децата с астма и здравите контроли (18,87+/-3.00 спрямо 17,34+/-3.90). Според очакванията ни не доказахме значима връзка между ВМІ и контрола на астмата, изходната спирометрия, БДО, атопичния статус (собствен атопичен терен, общи и sIgE), общо за изследваната популация деца с астма, така и при разделяне на извадката по възраст и пол. Единствената връзка, която установихме между ВМІ и белодробната функция е, че децата с изходен $FEV_1 < 60\%$ имат значимо по-висок ВМІ в сравнение с децата с по-лека бронхиална обструкция. Установи се и слаба, но значима корелация на ВМІ със БДО, изчислен като абсолютна промяна (в mL), която е асоциирана със зависимостта на показателя от възрастта, ръста и теглото на децата.

В литературата се съобщават убедителни доказателства, потвърждаващи, че децата с астма и съпътстващ АР показват по-лош контрол на астмата, намалено качество на живот, повишен риск от посещение на спешна медицинска помощ или хоспитализация и по-висока цена на разходите за лечение. Показателят $MMEF_{25-75}$ се счита за маркер за начално засягане на белодробната функция при пациенти с АР. Интерес към влиянието на АР върху дихателните параметри (ФИД) проявяват и Цветкова-Вичева и сътр. Резултатите им от изследване на възрастни пациенти с респираторна алергия показват по-ниски, но без

статистическа значимост, средни стойности на параметрите от изходната спирометрия при пациентите с АР. Единствено показателят $MMEF_{25/75}$ демонстрира „различие в честотата“, което авторите интерпретират като ранен маркер за ангажиране на малките бронхи при болни с алергия и без данни за астма.

В групата децата с астма и придружаващ АР установихме значимо по-голям брой пациенти, сенсibiliзирани към микроакарите в домашна прах, както и по-голям относителен дял на ImmunoCAP Phadiatop позитивните. Установихме значимо по-голям процент на децата, сенсibiliзирани към *D. farinae* и *D. pteronyssimus* и в групата деца с периферна обструкция (SAO), в сравнение с децата с нормална функция, но противно на очакванята, не се доказва значима връзка между наличието на съпътстващ АР и SAO ($FEV_1 \geq 80\%$, $MMEF_{25/75} < 65\%$) (периферна обструкция). Не се установи и значима корелация с нивото на клиничния контрол на астмата, както и със стъпалото на контролиращото лечение по GINA. Децата с АР обаче по-често съобщават за пристъпи на екзацербация на астмата при контакт с алерген (трeви, домашни животни, запрашени помещения, влага, мухъл) и по-често съобщават за ограничение във физическата активност. АР показва тенденция да бъде рисков фактор и за по-честа хоспитализация по повод екзацербация на бронхиалната астма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Белодробните функционални тестове са важен елемент от изследването на респираторните заболявания при деца. Те са чувствителни и обективни в идентифицирането и оценката на тежестта на белодробната дисфункция, мониторирането на прогресията на заболяването и преценката на терапията.

Има една малка, но важна група астматици, с нормална изходна стойност за FEV_1 и абнормен $MMEF_{25-75}$, които имат повишен риск от екзацербации, хоспитализации, прогресивно намаляване на белодробната функция, персистиращ БДО и вероятно се нуждаят от преминаване на по-високо стъпало на контролиращото лечение, след внимателна оценка на придържането към терапевтичния план и оценка на инхалаторната техника. При децата с астма и нормален изходен FEV_1 и коефициент на Тифно ($< LLN$) показателят $MMEF_{25-75}$ може да се счита за важен маркер, предсказващ позитивирането на БДО,

тежестта на астмата/контрола и риска от екзацербации, пристъпи при физическо натоварване, както в научни проучвания, така и в клиничната практика.

БДТ е широко използван при потвърждаване на диагнозата астма, но може да бъде и надежден метод и за проследяване контрола на деца с астма. При децата с персистиращ позитивен БДО, въпреки наличието на добър клиничен контрол, вероятно е необходимо преминаване на по-високо стъпало на контролиращото лечение, след внимателна оценка на комплайнса и на инхалаторната техника.

Контактът с провокиращ алерген/и при сенсibiliзирани деца с бронхиална астма и респираторна алергия (АР) е важен риск за настъпване на екзацербация/хоспитализация. Установяването на спектъра на най-честите аеро- и хранителни алергени е важна предпоставка за поддържане на добър контрол, както чрез стратегия за избягване на алергенната експозиция, така и чрез разработване на план с препоръки за пациентите, които не са в състояние да бъдат тествани (по финансови, социални или религиозни причини).

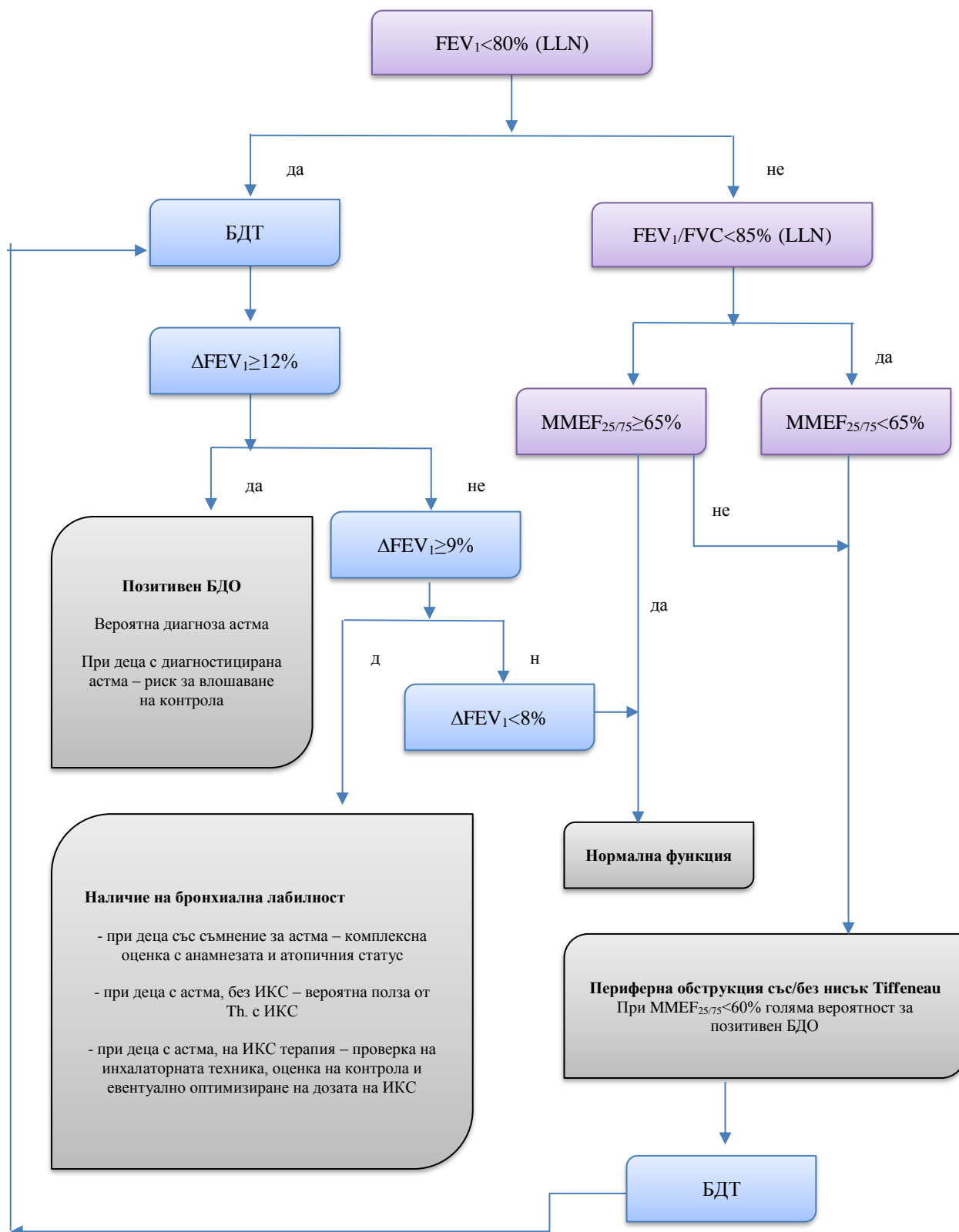
Утвърждаването на адаптирани за детската възраст спирометрични критерии, в допълнение към оценката на клиничните симптоми, физикалното изследване и определянето на атопичния статус, би подобрило съществено контрола на астмата, взимането на правилни терапевтични решения и идентифициране на риска от прогресивна загуба на белодробна функция.

ИЗВОДИ

1. Класифицирането на децата по тежест според стъпалото на контролиращото лечение, изходната спирометрия и степента на наличие на астма симптомите извън пристъп се разминават значително.
 - a. Повече от половината изследвани деца показват нормален изходен $FEV_1 \geq 80\%$ по време на екзацербация или при влошен контрол на астмата;
 - b. Поставянето на клинична диагноза, основано на еднократно измерена стойност на изходния FEV_1 , може да доведе до подценяване на диагнозата, тежестта и избора на контролиращо лечение;

- с. Изходната спирометрия дава информация за моментното състояние на белодробната функция, БДО –за лабилността на ДП, докато въпросниците за контрола (АСQ) дават информация за симптомите в предходните 7 дни. Те разкриват различни аспекти на заболяването и прилагани в комбинация могат да разкрият по-добре децата с риск от загуба на контрол, риск от екзацербация и прогресивно влошаване на белодробната функция.
2. При една малка, но важна група астматици, с нормален изходен FEV₁ и абнормен MMEF₂₅₋₇₅, има повишен риск от неблагоприятен изход (екзацербации, хоспитализации, прогресивно намаляване на белодробната функция, персистиращ БДО).
 3. Използваният референтен източник играе съществена роля при интерпретиране на спирометрията, особено в предучилищна възраст и във възрастта на преход от юношество в зряла възраст. Прилагането на z-скор, за разлика от фиксиран cut-off, свежда до минимум вероятността за грешка в интерпретацията, резултат от разлики в пол, възраст, ръст и етническа принадлежност.
 4. БДО е тест с много висока специфичност, но относително ниска чувствителност при потвърждаването на диагнозата астма, а диагностичната му стойност варира в зависимост от честотата на ”свиркането”/астмата в изследваната популация.
 - a. Преди да бъде наложен по-нисък праг за БДО в детска възраст, е необходимо провеждане на проспективно популационно проучване.
 - b. БДО може да разкрие децата с висок риск от влошен контрол при използване на cut-off 12% и 11%, но не и при по-нисък праг.
 - c. Прилагането на критериите на GINA 2016 за позитивен БДО ($\Delta FEV_1 \%init. \geq 12\%$, без условието ≥ 200 mL) при деца под 12 години, повишава разкриваемостта на децата с бронхиална лабилност в тази възрастова група.
 5. Повишените стойности на общите IgE корелират добре с данните за собствен атопичен терен и демонстрират висока специфичност, но ниска чувствителност при определяне на атопичния статус.

6. Децата, сенсibiliзирани към поне един от тестваните аерoалергени са с по-тежка астма, с по-лош контрол и по-често демонстрират бронхиална лабилност (позитивен БДО \geq 9%).
 - a. Най-честите аерoалергени в изследваната популация деца с астма, са *D. pteronyssimus*, тревен микс, следвани от *D. farinae*, *Alternaria alt.* и котка.
 - b. Сенсibiliзирането към тревни полени се наблюдава по-често в юношеската възраст и се асоциира с по-чести пристъпи, провокирани от контакт с алерген, ограничение във физическата активност и симптоми на АР.
 - c. Сенсibiliзацията към епидермиса на котка, куче, домашна прах, *Cladosporium*, *Aspergillus*, див пелин и соя се асоциира с по-голям риск за хоспитализация по повод екзацербация на астмата.
7. Методиката на EUROIMMUN блот не изисква специализирана апаратура и е лесно приложима в ежедневната клинична и лабораторна практика. Това в съчетание с високата ѝ достоверност, я прави достъпна алтернатива на ImmunoCAP, извод с важно практическо значение.
8. Децата с тежка астма, дефинирани според критериите на ERS/ATS, попадат в най-голям процент в атопичния клъстер, който се характеризира с ранно начало на астмата, голяма бронхиална лабилност (най-висок БДО), с най-лош контрол (най-висок ACQ скор) и най-висок титър на общи и специфични IgE.
9. Не доказахме значима връзка между BMI и контрола на астмата, изходната спирометрия, БДО, атопичния статус (собствен атопичен терен, общи и специфични IgE). Децата с FEV₁<60%, обаче имат значимо по-висок BMI в сравнение с децата с по-лека бронхиална обструкция.
10. Наличието на придружаващ АР се асоциира с по-чести пристъпи на екзацербация на астмата при контакт с алерген и с ограничение във физическата активност. АР е рисков фактор и за по-честа хоспитализация по повод екзацербация на бронхиалната астма.



Фигура 3 Алгоритъм за интерпретация на изходната и постбронходилататорна спирометрията при нормален изходен FEV₁.

ПРИНОСИ

Приноси с оригинален характер

- Направи се обстоен анализ на клиничното значение на изходната спирометрия и бронходилататорния отговор на различни спирометрични индекси (FEV_1 , $MMEF_{25-75}$, PEF) за различни прагове и различни формули за изчисление в детска възраст в контекста на контрола на астмата и атопичния статус.
- Осъществи се комплексна оценка на клиничното значение на обструкцията на малките ДП, дефинирана чрез изходната стойност и бронходилататорната обратимост на средните дебити ($MMEF_{25-75}$) и показателя FEF_{25-75}/FVC , отразяващ формата на ДОК, и диагностичната им стойност за предсказване на позитивен БДО ($\Delta FEV_1 \geq 12\%$).
- За първи път се приложи референтното уравнение GLI 2012 към спирометричните резултати на български деца с астма на възраст от 5 до 18 години и се сравни интерпретацията на ФИД при използване на фиксиран cut-off и методите LLN и z-скор.
- За първи път се приложи клъстерен анализ за идентифициране на астма фенотипове при български деца според атопичния статус (нивото на общи и специфични IgE), клиничния контрол на астмата (ACQ6 скор), БДО и възрастта при диагностициране на астмата.

Приноси с потвърдителен характер

- За изходната спирометрия (FEV_1) се потвърди слабата ѝ корелация с тежестта на симптомите и интензитета на медикаментозно лечение. Потвърди се, че голяма част от астма екзацербациите настъпват при деца с нормален изходен FEV_1 .
- Потвърди се клиничното значение на БДТ за диагностициране и мониториране на контрола на астмата в детска възраст, както за традиционния $\Delta FEV_1 \geq 12\%$, така и за по-нисък праг ($\geq 10\%$ и $\geq 9\%$).
- При децата с нормален изходен FEV_1 се потвърди значението на $MMEF_{25-75}$ като важен маркер, предсказващ позитивиране на БДО, тежестта на астмата/контрола и риска от екзацербации при физическо

натоварване. Потвърди се и значението на FEF₂₅₋₇₅/FVC като индекс, отразяващ формата на ДОК и индиректен маркер за периферна обструкция.

- Потвърди се важноста на използвания референтен източник при интерпретирането на спирометричните резултати, особено в предучилищна възраст и във възрастта на преход от юношество в зряла възраст.
- За атопичния статус се потвърди корелацията между повишените стойности на общите IgE и данните за собствен атопичен терен, както и високата им специфичност и ниска чувствителност при определяне на атопичния статус. Потвърди се и клиничното значение на мулти-алергенните скринингови тестове при деца с астма.
- Потвърди се значението на придружаващия АР като рисков фактор за по-чести хоспитализации по повод екзацербация на бронхиална астма, по-чести пристъпи при контакт с алерген и ограничение във физическата активност.

Приноси с приложен характер

- За процеса на интерпретация на изходната и пост-бронходилататорна спирометрията при нормален и намален изходен FEV₁ се:
 - предложи практически алгоритъм;
 - докажа увеличаване на вероятността за позитивен БДО ($\Delta\text{FEV}_1 \geq 12\%$) с 6,171 пъти при наличие на периферна обструкция ($\text{MMEF}_{25-75} \geq 65\%$) при нормален изходен FEV₁;
 - установи праг за $\text{MMEF}_{25-75} \leq 60\%$ с оптимална чувствителност и специфичност за предсказване на позитивен БДО;
 - верифицира клиничната приложимост на референтното уравнение GLI 2012 при български деца с астма и практическото предимство на метода z-скор за изчисляване на нормалната стойност пред фиксирания cut-off;
- Установи се спектъра на най-честите аеро- и хранителни алергени в популацията на български деца с бронхиална астма. Това предоставя важна насока за подобряване на контрола чрез разработването на план с препоръки за избягване на алергенната експозиция.

- Мултискрининговият тест EUROIMMUN Pediatric е ефективна, достоверна и достъпна алтернатива на методиката ImmunoCAP Phadiator/fx5, считана за “златен стандарт” при определяне на атопичния статус в детска възраст.

ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Публикации във връзка с дисертационния труд:

1. **Сн. Лазова, Переновска П., Хр. Рафаилова** – *Значение на бронходилататорния отговор за диагностиката и лечението на детска астма - Торакална медицина, том IV 2012г., брой 2*
2. **Сн. Лазова, Г. Петрова, Д. Митева, В. Папочиева, П. Переновска** - *Риск за екзацербация и атопичен статус при деца с бронхиална астма 2015, Наука пулмология, 2015, N4, Sum. Bulg., ISSN 1312-8302*
3. **Sn. Lazova, G. Petrova, D. Miteva, V. Papochieva, P. Perenovska** “*Severe asthma in childhood and allergens*” *Merit Research Journal of Medicine and Medical Sciences (ISSN: 2354-323X) Vol. 3 (3)pp.092-095, March 2015, Impact Factor = 0.678*
4. **Сн. Лазова, Г. Петрова, Д. Митева, В. Папочиева, П. Переновска** “*Атопичен статус и бронхиална астма при деца*” *Здравен навигатор – Педиатрия”, брой 3, година 1, ноември 2015*

Участия в научни форуми във връзка с дисертационния труд:

1. ***Pediatric Allergy and Asthma Meeting (PAAM 2013), 17-19 October 2013, Athens, Greece***
Lazova, Sn, Perenovska, P., Petrova, G. et al. – Bronchodilator response and small airway indices in asthmatic children, poster P64
2. ***2-nd International Severe Asthma Forum (ISAF 2014), 13-15 November 2014, Athens, Greece***
Lazova, Sn., Petrova G., Miteva, D., Perenovska P. et al. Severe asthma and allergy – should we look for the allergens, Poster Discussion Session, P16

3. **XII-ти Национален педиатричен конгрес с международно участие, 31 май-02 юни 2012г., Пловдив**
Сн. Лазова, П. Переновска, Хр. Рафаилова: „Значение на бронходилататорния отговор за диагностиката и лечението на детската астма“ постер
4. **Първи балкански симпозиум по детска пневмология, 18-20 октомври 2012 г., София**
Сн.Лазова, П. Переновска, Хр. Рафаилова:„Бронходилататорен отговор при деца с астма“, доклад
5. **XIII-ти Национален Конгрес по педиатрия с международно участие 28 - 31 МАЙ 2015, Несебър.**
Сн. Лазова, Г. Петрова, Д. Митева, В. Папочиева, П. Переновска
Атопичен статус и риск за екзацербация на бронхиална астма при деца, първа награда за постер

Резюмета от участия в научни форуми, публикувани в научни списания в чужбина:

1. **Lazova Sn, Petrova G, Miteva, D et al. Severe asthma and allergy – should we look for the allergens**
Clin and Transl Allergy 2015; Suppl., ISSN 2045-7022 (IF= 2.53)
2. **Lazova Sn., Petrova G., Miteva D, Kralimarkova T., Ivanova-Todorova E., Velikova T, Perenovska P, Specific IgE and asthma in children, abstract 856**
Allergy, 70 (Suppl.101), 290-392, Online ISSN: 1398-9995, (IF 6.028)