

На правах рукописи

ИМАНВЕРДИЕВА Наида Адалат кызы

**ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФАКТОРОВ РОСТА
У ДЕТЕЙ С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ НА ФОНЕ
ИНФИЦИРОВАНИЯ ВИРУСОМ ПРОСТОГО ГЕРПЕСА
И ПАРАЗИТАРНОЙ ИНВАЗИИ**

3.1.21 – Педиатрия

**АВТОРЕФЕРАТ
диссертации
на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук**

Астрахань – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

БАШКИНА Ольга Александровна, доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

МИГАЧЁВА Наталья Бегиевна, доктор медицинских наук, доцент, кафедра педиатрии ИПО ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, заведующая кафедрой

БЕЛАН Элеонора Борисовна, доктор медицинских наук, профессор, кафедра иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», Минздрава России, заведующая кафедрой

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», г. Москва

Защита состоится «___» декабря 2023 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета 21.2.003.01 при ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России (414000, Россия, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО Астраханского ГМУ Минздрава России <http://astgmu.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 2023 г.

Учёный секретарь диссертационного совета

к.м.н., доцент

Севостьянова Ирина Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В Российской Федерации частота встречаемости атопического дерматита (АтД) у детей составляет до 30%, а в структуре аллергических заболеваний на его долю отводится до 75-80%, в связи с чем заболевание входит в реестр распространённых заболеваний детского возраста [Скворцова О.В., Мигачёва Н.Б., Михайлова Е.Г., 2023].

Значимую роль в перечне факторов, усугубляющих течение АтД, играют возбудители инфекционных болезней, вызывающие как локальные изменения кожных покровов, так и системные процессы [Соломай Т.В., Семенов Т.А., Ведунова С.Л., Исаева Е.И., Ветрова Е.Н., Каражас Н.В., 2022]. Ведущая роль в развитии системных поражений отводится вирусам герпеса, из них наиболее хорошо изучены возбудители простого герпеса 1-го и 2-го типов (ВПГ1 и ВПГ2) [Damour A., Garcia M., Seneschal J., Lé- vêque N., Bodet C., 2020].

Чрезвычайно важным фактором, способствующим увеличению выраженности клинической симптоматики АтД, является паразитарная инвазия, обусловленная различными гельминтами и простейшими, способствующая возникновению хронической интоксикации, нарушению барьерной функции кишечника и сенсбилизации паразитарными антигенами [Белан Э.Б., Чуева М.А., Садчикова Т.Л., 2022].

Учитывая сложность диагностики паразитарных инвазий у детей, актуальна проблема поиска новых чувствительных, экономически эффективных и доступных методов диагностики.

Не смотря на наличие различных диагностических тест-систем на рынке, нет наборов, позволяющих в скрининговом режиме безболезненно, неинвазивно, одномоментно определять необходимый перечень важных инфекционных протозойных и гельминтных ДНК-мишеней при АтД.

Степень разработанности темы исследования

В последние годы активно проводятся исследования по поиску достоверных лабораторных маркеров, ассоциированных с активностью АтД у детей, которые имели бы клиниче-

скую значимость и давали достоверную оценку степени тяжести заболевания, с целью прогнозирования дальнейшего течения и обоснованного подхода к персонализированной терапии.

Современные представления о патогенном влиянии паразитов на клиническое течение АтД у детей, включая идентификацию и систематизацию паразитов, анализ генетической структуры, генной организации позволяет прямо обнаружить инфекционный агент в биологической среде организма и провести тщательные лабораторные исследования с целью установления паразитарной инвазии у ребенка и проведения комплексного лечения [Санникова А.В., 2017].

Таким образом, определение уровня вазоэндотелиального и эпидермального факторов роста в крови детей с АтД, в том числе на фоне инфицирования вирусом простого герпеса и паразитарной инвазии, разработка набора для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов, определение клинико-прогностического значения данных показателей при АтД способствуют повышению эффективности оказания медицинской помощи пациентам данного профиля.

Цель исследования. Установить клинико-диагностическое и прогностическое значения исследований уровня вазоэндотелиального и эпидермального факторов роста в плазме крови детей с atopическим дерматитом на фоне инфицирования вирусом простого герпеса и паразитарной инвазии.

Задачи исследования

1. Определить уровень фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста в плазме крови детей больных atopическим дерматитом и atopическим дерматитом на фоне инфицирования вирусом простого герпеса.

2. Установить диагностическое значение содержания фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста в зависимости от степени тяжести у детей больных atopическим дерматитом и atopическим дерматитом на фоне инфицирования вирусом простого герпеса.

3. Разработать набор для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов, изучить его чувствительность, специфичность и клинико-прогностическую ценность у детей больных АтД и атопическим дерматитом на фоне инфицирования вирусом простого герпеса.

4. Провести корреляционный анализ взаимосвязей между уровнем фактора роста эндотелия сосудов А, эпидермального фактора роста, наличием паразитарной инвазии и клинико-лабораторными данными у детей больных АтД и АтД на фоне инфицирования вирусом простого герпеса.

5. Разработать алгоритм индивидуального прогноза развития ассоциированной атопической патологии (бронхиальная астма и аллергический ринит/аллергический риноконъюнктивит) у детей с атопическим дерматитом на фоне инфицирования вирусом простого герпеса на основе комплексного клинико-лабораторного обследования пациентов.

Научная новизна исследования

Установлены региональные нормы уровней фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста в плазме крови у здоровых детей Астраханского региона.

Изучены уровни фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста у детей с АтД и атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса.

Полученные данные об изменениях уровней фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста у детей с АтД, инфицированных вирусом простого герпеса, расширяют представления о патогенезе заболевания и открывают перспективу способов лечения больных данного профиля.

Впервые разработан набор для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов, изучена его чувствительность, специфичность и клинико-прогностическая ценность у детей больных АтД и атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса.

Разработан алгоритм индивидуального прогноза развития «атопического марша» - ассоциированной атопической патологии (бронхиальная астма и аллергический ри-

нит/аллергический риноконъюнктивит) у детей с атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса на основе исследования уровня фактора роста эндотелия сосудов А и ПЦР тестирования на наличие паразитарной инвазии.

С помощью ROC-анализа было установлено пороговое значение фактора роста эндотелия сосудов А для прогноза развития «атопического марша» у детей с атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса.

Теоретическая и практическая значимость работы

Уровни фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста в плазме крови у здоровых детей могут быть использованы в качестве контрольных значений у детей с различной патологией.

Разработанный набор для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов методом генетического типирования позволяет проводить скрининговую диагностику паразитарных инвазий у больных атопическим дерматитом детей Астраханского региона.

Предложенный алгоритм позволяет прогнозировать развитие «атопического марша» у детей с атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса.

Установленное пороговое значение вазоэндотелиального фактора роста - «точка разделения» (cut off) возможно использовать для прогноза развития «атопического марша» у детей с АтД, инфицированных вирусом простого герпеса.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Повышение уровней эпидермального и вазоэндотелиального фактора роста у детей с атопическим дерматитом, более выраженное ($p < 0,001$) при инфицировании вирусом простого герпеса, зависит от степени тяжести атопического дерматита и оказывает влияние на клинические показатели кератинизации и экссудации ($p < 0,001$).

2. Инфицирование вирусом простого герпеса детей с атопическим дерматитом увеличивает интенсивность клинических симптомов ($p = 0,046$), а повышение уровня вазоэндотелиального фактора роста ассоциировано с наличием аллер-

гического ринита ($p=0,033$) и риноконъюнктивита ($p=0,036$), а также риском развития «атопического марша»

3. В группе детей АтД, инфицированных вирусом простого герпеса, имеющих сильную интенсивность клинических симптомов, у 95% детей выявлены паразитарные инвазии, с умеренной интенсивностью – у 56% детей.

4. Наличие паразитарной инвазии увеличивает шансы «атопического марша» в 14,8 раза (95% ДИ: 2,873-76,474), увеличение уровня VEGF на 1 нг/мл – увеличивает шансы «атопического марша» в 1,195 раза (95% ДИ: 1,045-1,359).

Методология и методы исследования

В основе данного диссертационного исследования лежит последовательное применение принципов научного познания, основанных на системном подходе, и методах доказательной медицины. Используются следующие методы исследования: клинические, биохимические, генетические, аналитические и статистические.

Степень достоверности и апробация работы

Положения, выводы и рекомендации исследования соответствуют поставленным задачам и получены на основе клинического обследования пациентов с использованием адекватных современных методов, статистического анализа в сопоставлении с литературными данными, аргументированы и логически вытекают из полученных результатов.

Основные положения диссертации представлены на 103 Научно-образовательной конференции студентов и молодых ученых (Астрахань, 2022), на V Международном гастроэнтерологическом конгрессе «Гастроэнтерология России от рождения до старости» (Санкт-Петербург, 2022), на Международном медицинском форуме «Вузовская наука. Инновации» (Москва, 2019) и XII Форуме Дерматовенерологов и Косметологов (г. Красногорск, 2019), на V Международной НПК «Основные проблемы в современной медицине» (Волгоград, 2018) и XVII межрегиональной НПК «Лекарство и здоровье человека» (Астрахань, 2018), на Международных НПК «Новейшие достижения и успехи развития медицины и фармако-

логии» (Краснодар, 2018) и «Приоритетные задачи и стратегии развития медицины и фармакологии» (Тольятти, 2018).

Внедрение результатов исследования

Материалы диссертационной работы внедрены в практическую работу педиатрического отделения №1 и отделения аллергологии и иммунологии ГБУЗ АО «ОДКБ имени Н.Н. Силищевой», в работу кафедр факультетской педиатрии, госпитальной педиатрии и неонатологии, клинической иммунологии с курсом последипломного образования ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, из них 1 научная статья в журнале, рекомендованном ВАК при Минобрнауки России, 1 статья в журнале из списка Web of Science, 1 патент на изобретение. Подана заявка на выдачу патента на изобретение №2023123441 «Способ прогнозирования развития атопического марша у ребёнка с атопическим дерматитом». Приоритет от 11.09.2023.

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, описания результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Работа изложена на 170 страницах машинописного текста, содержит 34 таблицы, 6 рисунков. Библиографический указатель включает 130 литературных источников, из которых 68 отечественных и 62 зарубежных авторов.

Личный вклад автора

Личный вклад автора состоял в непосредственном участии во всех этапах работы: в планировании научного исследования, наборе клинического материала, анализе научной литературы по теме исследования, систематизации полученных данных, их статистической обработке и концептуальном осмыслении полученных результатов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для решения поставленных задач было обследовано 210 пациентов педиатрического профиля, находившихся на стационарном и амбулаторном лечении в ГБУЗ АО «ДГП №1», ГБУЗ АО «ОДКБ им. Н.Н. Силищевой» в период с 2020г. по 2022г. В исследование включены 70 детей в возрасте от 1 года до 12 лет с установленным диагнозом атопический дерматит (АтД), 70 детей - атопический дерматит, инфицированные вирусом простого герпеса (АтД+ГВИ). Соматически здоровые дети (70 человек) составили контрольную группу. В группах исследования пациенты были распределены в зависимости от степени тяжести АтД. В группе больных с АтД: средней степени тяжести – 62 ребенка, тяжёлой степени тяжести – 8 детей; в группе больных с АтД+ГВИ: средней степени тяжести - 49 детей, тяжёлой степени тяжести - 21 ребёнок.

Критерии включения: наличие АтД средней и тяжелой степени тяжести, в том числе с острой или хронической активно протекающей герпесвирусной инфекцией. Критериями исключения являлись: первичный иммунодефицит; впервые выявленный АтД; терапия системными и/или топическими кортикостероидами в течение 14 дней до даты включения в исследование; наличие хронических заболеваний в стадии декомпенсации или неполной ремиссии; острое заболевание инфекционной, неинфекционной природы; невозможность следовать процедурам исследования, отзыв информированного согласия. Проведение клинического исследования одобрено Локальным этическим комитетом (протокол №6 от 28.12.2022 г.).

Всем пациентам было проведено комплексное клинико-лабораторное обследование, включавшее в себя оценку жалоб и анамнеза, физикальное обследование пациента, клинический и биохимический анализы крови. Кроме того, пациентам проведено определение специфических антител классов IgM и/или IgG к антигенам вируса ВПГ 1-2 типа методом

иммуноферментного анализа (ИФА) наборами реагентов фирмы «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия; определение ДНК исследуемых герпесвирусов в образцах крови - методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с помощью тест-систем производства ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, г. Москва; определение фактора роста эндотелия сосудов А (VEGFA) в плазме крови больных - методом ИФА высокочувствительными наборами реагентов HEA143Hu фирмы Cloud-Clone Corp; определение эпидермального фактора (EGF) - высокочувствительными наборами реагентов HEA560Hu фирмы Cloud-Clone Corp., Китай.

Исследование кала на наличие паразитозов методом ПЦР проводилось с помощью разработанного набора для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов. Разработка набора проводилась на опытно-производственном участке Астраханского ГМУ, а также в ООО «Городская диагностическая лаборатория» г. Астрахани и ООО НПФ «Инновационные диагностические системы» г. Краснодар. Данный фрагмент работы выполнялся при поддержке Фонда содействия инновациям в рамках предоставленного государственного гранта.

Статистическая обработка результатов выполнена с использованием пакета прикладных статистических программ Microsoft Excel, STATISTICA 12.0, Stat Soft, Inc и SPSS-16. Для проверки статистических гипотез использовали критерий Манна-Уитни (U), критерий хи-квадрат Пирсона (χ^2), критерий Краскела-Уоллиса (Kruskal-Wallis test). Изучение взаимосвязей между признаками проводили путем расчета коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r). Для определения возможности прогнозирования некоторой целевой переменной на основе нескольких независимых переменных (факторов) - разработки прогностического алгоритма применялся метод множественного регрессионного анализа. Для оценки качества созданной модели был применен ROC-анализ с оценкой площади под ROC-кривой (AUC-area under ROC curve).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

На первом этапе работы было проведено исследование плазмы крови детей с АтД и АтД+ГВИ с целью определения уровня VEGF-A и EGF, установления их диагностического и прогностического значения в зависимости от степени тяжести заболевания.

В группе больных АтД уровень EGF составил 1,47 [0,88; 1,7] нг/мл, что было статистически значимо выше ($p_1 < 0,001$) по сравнению с группой контроля (таблица 1).

Таблица 1 – Уровень эпидермального и вазоэндотелиального факторов роста у детей с атопическим дерматитом и атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса, Ме [Q₁-Q₃]

Показатель/ Группа	EGF, нг/мл	VEGF, нг/мл
Контрольная группа	1,10 [0,84; 1,26]	9,59 [9,05; 10,78]
Дети с АтД	1,47 [0,88; 1,7] $p_1 < 0,001$	15,27 [12,6; 18,66] $p_1 < 0,001$
Дети с АтД+ГВИ	2,26 [1,89; 3,00] $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	20,2 [14,89; 30] $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости $p=0,017$; p_1 – уровень стат. значимости различий с группой контроля; p_2 – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД.

В группе больных АтД на фоне ГВИ уровень EGF составил 2,26 [1,89; 3,00] нг/мл, что было статистически значимо выше данного показателя в группе контроля ($p_1 < 0,001$) и статистически значимо выше, чем в группе больных АтД ($p_2 < 0,001$).

Повышение уровня EGF, выявленное у детей с АтД, указывает на возможность его стимулирующего воздействия на клеточный рост и дифференцировку клеток, в том числе клеток эпидермиса, что может приводить к дисфункции

эпидермального кожного барьера. В то же время, значимое повышение уровня EGF у детей с АтД+ГВИ, представляет интерес, так как указывает на стимулирование вирусом простого герпеса выработки EGF, что может быть причиной чрезмерной кератинизации эпидермиса при АтД у инфицированных герпесвирусом пациентов, быть причиной лихенификации и утолщения рогового слоя.

Повышение уровня VEGF, выявленное у детей с АтД, указывает на усиление процессов ангиогенеза и сосудистой проницаемости. В то же время, значимое повышение уровня VEGF у детей с АтД+ГВИ указывает на стимуляцию вирусом простого герпеса выработки VEGF. Избыточная экспрессия VEGF при АтД у инфицированных герпесвирусом пациентов за счет активации ангиогенеза и повышения сосудистой проницаемости может способствовать большей выраженности экссудативных клинических симптомов, затяжному течению заболевания и стойкости кожных проявлений.

С увеличением степени тяжести АтД четко прослеживалось увеличение уровня EGF у пациентов с АтД ($p=0,004$) и АтД+ГВИ ($p=0,003$), что отражает усиление патологического воздействия данного фактора на процессы кератинизации и функциональное состояние эпидермального барьера с увеличением тяжести АтД. В то же время более высокий уровень EGF в соответствующих по степени тяжести подгруппах больных АтД+ГВИ подтверждает стимулирующее влияние ГВИ на продукцию EGF.

С увеличением степени тяжести процесса наблюдается значимое ($p<0,001$) повышение уровня VEGF, выявленное как у детей с АтД, так и в группе больных АтД+ГВИ, что стимулирует процессы ангиогенеза, увеличивает сосудистую микропроницаемость и усугубляется наличием герпесвирусной инфекции.

Присоединение герпесвирусной инфекции к атопическому дерматиту ухудшает клиническую симптоматику данного заболевания, что проявляется в статистически значимом увеличении количества эритематозных элементов

($p=0,007$), отёков и папул ($p=0,022$), корок ($p=0,037$), экскориаций и мокнутий ($p=0,041$).

Усугубляющее влияние герпесвирусной инфекции на выраженность клинической симптоматики атопического дерматита отражает статистически значимое увеличение количества пациентов с сильной интенсивностью клинических признаков в группе детей с АтД+ГВИ – 21 чел. против 8 чел. в группе детей с АтД (χ^2 с попр. Йетса=4,0; $df=1$; $p_1=0,046$), и, соответственно, статистически значимое уменьшение количества детей со слабой интенсивностью клинических признаков – 10 чел. в группе детей АтД+ГВИ против 23 чел. в группе детей с АтД ($\chi^2=4,17$; $df=1$; $p_1=0,041$) (таблица 2).

Таблица 2 – Интенсивность клинических признаков атопического дерматита в исследуемых группах

Интенсивность клинических признаков:	Контрольная группа n=70	АтД n=70, чел.	АтД+ГВИ n=70, чел.
0 – отсутствие	70	0	0
1 – слабая	0	23 чел./ 33%	10 чел./14% $\chi^2=4,17$; $df=1$; $p_1=0,041$
2 – умеренная	0	41 чел./ 59%	39 чел./56% $\chi^2=0,03$; $df=1$; $p_1=0,856$
3 – сильная	0	8 чел./ 11%	21 чел./30% χ^2 с попр. Йетса= 4,0; $f=1$; $p_1=0,046$

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости $p=0,05$; p_1 – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД.

Далее было проанализировано количество пациентов с сопутствующей патологией в исследуемых группах (таблица 3).

Присоединение ГВИ к АтД не только увеличивает яркость клинических симптомов, но и способствует проявлению других atopических заболеваний, например таких как аллергические риниты и риноконъюнктивиты, что указывает на потенцирующее влияние инфицирования вирусом герпеса на интенсивность проявлений atopии и поддержание atopического воспаления в организме.

Таблица 3 – Количество пациентов с сопутствующими заболеваниями в исследуемых группах

Сопутствующие заболевания:	АтД n=70	АтД+ГВИ n=70
Бронхиальная астма	2 чел./3%	4 чел./6% $\chi^2=0,64; df=1; p_1=0,424$
Аллергический ринит	6 чел./9%	17 чел./24% $\chi^2=4,54; df=1; p_1=0,033$
Аллергический риноконъюнктивит	2 чел./3%	11 чел./16% $\chi^2=4,42; df=1; p_1=0,036$
Дискинезия желчевыводящих путей	10 чел./14%	8 чел./11% $\chi^2=0,2; df=1; p_1=0,657$
Гастрит, гастродуоденит	10 чел./14%	8 чел./11% $\chi^2=0,2; df=1; p_1=0,657$
Реактивный панкреатит	3 чел./4%	7 чел./10% $\chi^2=0,8; df=1; p_1=0,371$
Реактивная гепатомегалия	1 чел./1%	4 чел./6% $\chi^2=0,75; df=1; p_1=0,388$
Гепатоспленомегалия	1 чел./1%	4 чел./6% $\chi^2=0,75; df=1; p_1=0,388$

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости $p=0,05$; p_1 – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД.

Далее была проведена разработка набора для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов, изучение его чувствительности, специфичности и клинико-прогностической ценности у детей больных

атопическим дерматитом и атопическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса

При выполнении данного раздела работы были приведены:

1. Исследование и подбор компонентов набора для одновременного тотального выделения из кала протозойной и гельминтной ДНК;
2. Исследование эффективности экстракции ДНК при использовании разработанных компонентов и анализ чистоты образцов выделяемых нуклеиновых кислот;
3. Разработка праймеров, обеспечивающих идентификацию паразита до вида при типировании;
4. Оптимизация режимов амплификации типлируемых нуклеотидных последовательностей с подбором реагентов и расходных материалов в наборе для скрининговой диагностики;
5. Определение компонентов набора, обеспечивающих присоединение адаптерных последовательностей.

Заявленная производителем наборов Qubit dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США) высокая селективность в отношении дцДНК позволила провести измерение при использовании всех методов экстракции ДНК. Выделение ДНК при помощи наборов, разработанных нами по методу Бума, показывали более эффективную экстракцию ($p < 0,001$) ДНК по сравнению со стандартным набором Diatom DNA Prep 100/200. Анализ чистоты выделенной ДНК проводили в кварцевых кюветах с длиной пробега луча 10 мм. Причем, разработанный набор на основе метода Бума показал самую высокую ($p < 0,001$) степень очистки ДНК по сравнению с другими вариантами выделения ДНК.

Далее было проведено исследование с целью установления паразитарной инвазии у детей в исследуемых группах при помощи разработанного нами набора.

В группе больных АтД из общего числа инфицированных - 30 человек (42,9% детей от общего количества исследованных) были выявлены: острицы

(*Enterobius vermicularis*) у 15 чел. – 50% от количества детей с паразитарными инвазиями в группе с АтД; амебиаз (*Entamoeba histolytica*) у 6 чел. – 20%, аскаридоз (*Ascaris lumbricoides*) у 4 чел. – 13%, лямблиоз (*Giardia intestinalis*) у 3 чел. – 10% и токсокароз (*Toxocara canis*) у 2 чел. – 7%.

В группе больных АтД+ГВИ из общего числа инфицированных - 42 человек (60% детей от общего количества исследованных) были выявлены: острицы (*Enterobius vermicularis*) у 19 чел. – 45% от количества детей с паразитогами в группе, амебиаз (*Entamoeba histolytica*) у 6 чел. – 14%, аскаридоз (*Ascaris lumbricoides*) у 6 чел. – 14%, лямблиоз (*Giardia intestinalis*) у 6 чел. – 14%, токсокароз (*Toxocara canis*) у 4 чел. – 10% и гименолепидоз (*Hymenolepis nana*) у 1 чел. – 2%.

Таблица 4 – Наличие паразитарных инвазий у пациентов исследуемых групп в зависимости от интенсивности клинической симптоматики

Интенсивность клинических симптомов	АтД		АтД+ГВИ	
	Количество пациентов, n=70	Частота инвазий чел/%	Количество пациентов, n=70	Частота инвазий чел/%
Слабая	21	-	10 $\chi^2=3,21; df=1;$ $p=0,073$	-
Умеренная	41	23 / 56%	39 $\chi^2=0,03; df=1;$ $p=0,858$	22 / 56%
Сильная	8	7 / 88%	21 $\chi^2=4,0; df=1;$ $p=0,046$	20 / 95%

Примечание: рассчитанный критический уровень статистической значимости $p=0,006$; p – уровень стат. значимости различий с группой детей с АтД.

В группе больных АтД среди пациентов, имеющих сильную интенсивность клинических симптомов 88% пациентов, а именно 7 детей из 8 детей, имели паразитарные инвазии. Среди пациентов с умеренной интенсивностью клинических симптомов в группе больных АтД – 56% имели паразитарные инвазии. У пациентов со слабой выраженностью клинических симптомов паразитарных инвазий не выявлено (таблица 4).

В группе больных АтД+ГВИ среди пациентов, имеющих сильную интенсивность клинических симптомов 95% пациентов имели паразитарные инвазии ($\chi^2=4,0$; $df=1$; $p=0,046$ по сравнению с группой с АтД). Среди пациентов с умеренной интенсивностью клинических симптомов – 56% имели паразитарные инвазии. У пациентов со слабой выраженностью клинических симптомов паразитарных инвазий не выявлено.

При проведении корреляционного анализа положительные статистически значимые взаимосвязи средней силы между клиническими показателями: эритема ($r=0,64$ $p<0,001$; $r= 0,72$; $p<0,001$), отек/папулезные элементы ($r=0,55$; $p=0,001$; $r=0,62$; $p<0,001$), корки/мокнутые ($r=0,34$; $p=0,012$; $r= 0,37$; $p=0,011$) и паразитарными инвазиями в исследуемых группах больных АтД и АтД+ГВИ указывают на стимулирующее влияние триггерных факторов паразитарной природы на клиническое течение заболевания и усиление выраженности данных клинических симптомов.

Выявленные в группе детей с АтД и АтД+ГВИ статистически значимые корреляционные взаимосвязей показателями лихенификация/шелушение ($r=0,57$ $p=0,024$; $r = 0,71$ $p <0,001$), сухость кожи ($r=0,51$ $p=0,037$; $r=0,68$; $p <0,001$) и уровень эпидермального фактора указывают на влияние данного фактора роста на кератинизацию, что обусловлено его стимулирующим влиянием на пролиферацию кератиноцитов и усиление выраженности этих симптомов при инфицировании вирусом простого герпеса.

Выявление положительных статистически значимых корреляционных взаимосвязей между такими клиническими показателями как отёк/папулёзные элементы ($r=0,59$ $p=0,011$; $r=0,83$ $p < 0,001$), корки/мокнутые ($r=0,54$ $p < 0,021$; $r=0,78$ $p < 0,001$) и уровень вазоэндотелиального фактора роста в группе больных с АтД и АтД+ГВИ указывают на влияние данного фактора роста на экссудативные симптомы, что обусловлено способностью вазоэндотелиального фактора роста усиливать сосудистую проницаемость и ангиогенез, а также подтверждает стимулирующее влияние ГВИ на клиническое течение заболевания и выраженность данных экссудативных симптомов.

На завершающем этапе нашего исследования была предпринята попытка разработать алгоритм прогнозирования развития atopического марша у детей с АтД, инфицированных вирусом простого герпеса. Был проведен корреляционный анализ и оценены значения взаимосвязей развития «атопического марша» (комбинированный показатель, включающий развитие бронхиальной астмы (БА), аллергического ринита и риноконъюнктивита (АР и АРК) у детей с АтД+ГВИ и ряда изучаемых в работе показателей и факторов.

Наибольшую силу имели коэффициенты, характеризующие связи между развитием atopического марша и уровнем VEGF, нг/мл ($r=0,873$; $p < 0,001$), наличием паразитарной инвазии ($r=0,795756$; $p < 0,001$).

В связи с данными корреляционного анализа, вышеуказанные факторы были включены в разработанный при помощи метода бинарной логистической регрессии алгоритм для прогнозирования вероятности развития atopического у детей с АтД на фоне ГВИ (формула 1).

Формула 1 – Алгоритм для прогнозирования вероятности развития atopического марша у детей с atopическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса

$$p=1/1+e^{-z},$$

где $z=2,696*X+0,175*Y-8,462$, где

X – наличие (2) или отсутствие (1) паразитоза;

Y – уровень эндотелиального фактора роста, нг/мл.

Проверка значимости коэффициентов проводилась при помощи критерия Вальда. Уровень статистической значимости коэффициентов менее 0,05, что позволяет использовать данные показатели в прогностическом алгоритме. Исходя из значений регрессионных коэффициентов, факторы VEGF и паразитоз имеют прямую связь с вероятностью развития атопического марша. Наличие паразитарной инвазии увеличивает шансы атопического марша в 14,8 раза (95% ДИ: 2,873-76,474), увеличение уровня VEGF на 1 нг/мл – увеличивает шансы атопического марша в 1,195 раза (95% ДИ: 1,045-1,359).

Также оценка качества разработанной модели проводилась при помощи ROC-анализа, с расчетом площади под ROC-кривой (AUC). Для разработанного алгоритма, AUC составила $0,845 \pm 0,02$ (95 % ДИ 0,678; 0,991), что указывало на отличное качество разработанного алгоритма.

Предложенный алгоритм, позволяет спрогнозировать развитие «атопического марша» у детей с атопическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции.

С целью установления порогового значения VEGF для прогноза развития атопического марша у детей с атопическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции с помощью ROC-анализа была установлена «точка разделения» (cut off). Пороговое значение VEGF для прогноза развития атопического марша у детей с атопическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции составило 19,15 нг/мл, при этом площадь под кривой ROC составила $0,922 \pm 0,03$ [0,863 – 0,98] ($p < 0,001$). Чувствительность для данного порогового значения составила 84,4%, специфичность 73,7%.

ВЫВОДЫ

1. Установлено статистически значимое ($p < 0,001$) повышение уровней фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста в плазме крови у детей с atopическим дерматитом по сравнению с контрольной группой. На фоне инфицирования вирусом простого герпеса выявлено увеличение уровня фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста в плазме крови по сравнению с пациентами с atopическим дерматитом ($p < 0,001$).

2. Выявлено статистически значимое увеличение уровней фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста в плазме крови у пациентов с atopическим дерматитом ($p < 0,001$) и atopическим дерматитом на фоне инфицирования вирусом простого герпеса ($p < 0,001$) с увеличением степени тяжести atopического дерматита.

3. Разработанный набор для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов показал высокую чувствительность, специфичность и клинко-прогностическую ценность у детей больных АтД и АтД на фоне инфицирования вирусом простого герпеса. В группах детей с АтД и atopическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции выявлено значимо больше случаев паразитарной инвазии. по сравнению с контролем ($p < 0,001$).

4. Выявлены значимые ($p < 0,001$) корреляционные связи между эпидермальным фактором роста, вазоэндотелиальным фактором роста и степенью тяжести заболевания, выраженностью клинических симптомов и наличием сопутствующих заболеваний как в группе детей с АтД, так и с atopическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса.

5. Разработан алгоритм индивидуального прогноза развития ассоциированной atopической патологии («atopического марша») у детей с atopическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса с оценкой качества модели и расчетом площади под ROC-кривой ($AUC = 0,845 \pm 0,02$ (95 % ДИ 0,678; 0,991)).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендовать использовать уровни фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста плазмы крови у здоровых детей в качестве контрольных значений у детей с различной патологией.

2. Рекомендовать исследование уровней фактора роста эндотелия сосудов А и эпидермального фактора роста у детей при atopическом дерматите и atopическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции для формирования группы риска тяжелого течения заболевания.

3. Рекомендовать использовать набор для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов методом генетического типирования для проведения скрининговой диагностики паразитарных инвазий у больных atopическим дерматитом детей Астраханского региона.

4. Рекомендовать использовать в педиатрической практике предложенный алгоритм для прогнозирования развития «atopического марша» у детей с atopическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса.

5. Рекомендовать пороговое значение вазоэндотелиального фактора роста 19,15 нг/мл - «точка разделения» (cut off) - для прогноза развития «atopического марша» у детей с atopическим дерматитом, инфицированных вирусом простого герпеса.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Сопутствующая патология у больных atopическим дерматитом в детском возрасте / **Н.А. Иманвердиева**, О.А. Башкина, И.А. Ерина // **Вестник новых медицинских технологий**. – 2021 – Т. 28, № 3. – С. 5-9.

2. Clinical and anamnestic aspects of atopic dermatitis in children / **N.A. Imanverdieva**, O.A. Bashkina, Y.B. Kasymova, R.A. Sadretdinov, O.V. Rubalsky, I.A. Yerina // **Archiv Euromedica**. – 2019. – Vol. 8, no. 3. – P. 69-70.

3. Фоновые заболевания у больных атопическим дерматитом в детском возрасте / **Н.А. Иманвердиева**, О.А. Башкина // Университетский терапевтический вестник. - Спецвыпуск. – 2022. – Т. 4. – С. 49.

4. Особенности клинической картины заболевания и анамнестических данных детей с атопическим дерматитом / **Н.А. Иманвердиева**, О.А. Башкина // Университетский терапевтический вестник. – Спецвыпуск. – 2022. – Т. 4. – С. 46-47.

5. Значение белков острой фазы у детей с атопическим дерматитом на фоне герпесвирусной инфекции / **Н.А. Иманвердиева**, Р.А. Садретдинов, Е.Б. Касымова, М.А.Идрисова // Сборник научных трудов по итогам XVII межрегиональной НПК «Лекарство и здоровье человека». - Астрахань, 2018. – С. 55-60.

6. Патологические изменения и клинический подход к сухой коже при атопическом дерматите / **Н.А. Иманвердиева**, Р.А. Садретдинов, Е.Б. Касымова, Х.И. Арсанова // Сборник научных трудов по итогам международной НПК «Приоритетные задачи и стратегии развития медицины и фармакологии». – Тольятти, 2018. – № 3. – С. 10-12.

7. Методология и перспективы в области исследования кожи больных атопическим дерматитом / **Н.А. Иманвердиева**, Р.А. Садретдинов, Е.Б. Касымова, Х.И. Арсанова // Сборник научных трудов по итогам международной НПК «Новейшие достижения и успехи развития медицины и фармакологии». – Краснодар, 2018. – № 3. – С.15-17.

8. К вопросам о терминологии и клиническом течении герпесвирусной инфекции / **Н.А. Иманвердиева**, Р.А. Садретдинов, Е.Б. Касымова, Х.И. Арсанова // Материалы V Международной НПК «Основные проблемы в современной медицине». – Волгоград, 2018. – Выпуск V. – С. 22-24.

9. Патогенетические аспекты герпесвирусной инфекции в практике врача дерматовенеролога / **Н.А. Иманвердиева**, Р.А. Садретдинов, Е.Б. Касымова, Х.И. Арсанова // Материалы V Международной НПК «Основные проблемы в совре-

менной медицине». – Волгоград, 2018. – Выпуск V. – С. 22-24.

10. Современная комбинированная терапия больных хроническими дерматозами / **Н.А. Иманвердиева**, И.А. Ерина, Р.А. Садретдинов, М.А. Идрисова // Сборник научных трудов по итогам XVII межрегиональной НПК «Лекарство и здоровье человека». – Астрахань, 2018. – С. 41-45.

11. Пат. RU2793208C1 Набор синтетических олигонуклеотидов для выявления и генетического исследования ДНК простейших и гельминтов / (РФ, ООО «Городская диагностическая лаборатория»). Авторы: **Иманвердиева Н.А.**, Башкина О.А., Рубальский Е.О., Самотруева М.А. Заявка: 2022114353, 27.05.2022; Опубликовано: 30.03.2023. Бюллетень «Изобретение» № 10.

12. Приоритет от 11.09.2023. Заявка на выдачу патента на изобретение №2023123441 Способ прогнозирования развития атопического марша у ребёнка с атопическим дерматитом / (ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России). Авторы: **Иманвердиева Н.А.**, Башкина О.А., Воронина Л.П., Рубальский Е.О., Самотруева М.А.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АтД	атопический дерматит
ГВИ	герпесвирусная инфекция
дцДНК	двучепочечная дезоксирибонуклеиновая кислота
ИФА	иммуноферментный анализ
НПК	научно-практическая конференция
ПЦР	полимеразная цепная реакция
IgE	иммуноглобулин E
VEGFA	фактор роста эндотелия сосудов A
EGF	эпидермальный фактор роста

ИМАНВЕРДИЕВА Наида Адалат кызы

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФАКТОРОВ РОСТА
У ДЕТЕЙ С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ НА ФОНЕ
ИНФИЦИРОВАНИЯ ВИРУСОМ ПРОСТОГО ГЕРПЕСА
И ПАРАЗИТАРНОЙ ИНВАЗИИ

3.1.21 – Педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации
на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Подписано в печать . . . 2023

Тираж 100 экз. Заказ №

Издательство ФГБОУ ВО «Астраханский государственный
медицинский университет» Минздрава России
414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121