**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ’Я УКРАЇНИ**

**НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**імені О.О. БОГОМОЛЬЦЯ**

**ЄМЕЦЬ ОКСАНА ВІКТОРІВНА**

УДК 616-053.2-056.3-036.1:575.113

**ОСОБЛИВОСТІ КЛІНІЧНОГО ПЕРЕБІГУ АТОПІЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ У ДІТЕЙ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ, ЩО КОДУЮТЬ БІЛКИ ЛІЗОСОМНОГО ТА ПРОТЕАСОМНОГО ПРОТЕОЛІЗУ**

14.01.10 – педіатрія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

**Київ – 2016**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця МОЗ України.

**Науковий керівник**

член-кореспондент НАМН України,

 доктор медичних наук, професор

 **Волосовець Олександр Петрович,**

Національний медичний університет

 імені О.О. Богомольця МОЗ України,

 завідувач кафедри педіатрії № 2

**Офіційні опоненти:**

доктор медичних наук, професор **Бекетова Галина Володимирівна,** Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України, завідувач кафедри дитячих і підліткових захворювань;

доктор медичних наук **Уманець Тетяна Рудольфівна,** Державна установа «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України», провідний науковий співробітник відділення захворювань органів дихання та респіраторних алергозів у дітей.

Захист відбудеться « 15 » грудня 2016 р. о 13.30 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.003.04 при Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця МОЗ України за адресою: 01004, м. Київ, вул. Л. Толстого, 10.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України за адресою: 03680, м. Київ, вул. Зоологічна, 1.

Автореферат розісланий « 4 » листопада 2016 р.

**Вчений секретар**

**спеціалізованої вченої ради Д 26.003.04**

**доктор медичних наук, професор А. Я. Кузьменко**

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Атопічні захворювання (АЗ) у дітей є важливою медичною і соціальною проблемою. Протягом останніх років спостерігається збільшення поширеності АЗ, що посідають одне з провідних місць у загальній структурі захворювань [Уманець Т.Р., 2015; Зайков С.В., 2015; Бекетова Г.В., 2015]. Згідно з показниками офіційної статистики МОЗ України за 2015 рік поширеність бронхіальної астми (БА) в Україні на 1000 дитячого населення складає 4,97, захворюваність – 0,52, для атопічного дерматиту (АД) дані показники становлять 8,30 та 3,66 відповідно, для алергічного риніту (АР) – 5,09 і 2,18 відповідно. Неухильно зростає частота тяжких та резистентних до лікування форм АЗ [Охотникова Е.Н., 2010; Абатуров О.Є., 2011; Тяжка О.В., 2014; Литвинець Л.Я., 2014; Колоскова О.К., 2015].

Ризик розвитку АЗ є мультифакторіальним і залежить як від генетичних факторів, так і від факторів зовнішнього середовища, що чинять негативний епігенетичний вплив [Охотнікова О.М., 2010; Волосовець О.П., 2015]. Генетичні фактори, окрім схильності до АЗ, визначають також ступінь тяжкості, швидкість прогресування хвороби, резистентність до терапії тощо. Дослідження, що були проведені з моменту впровадження полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), дозволили ідентифікувати більше 300 генів, однонуклеотидні поліморфізми яких асоційовані з розвитком АЗ [Lee J.U., 2015; Ortiz R.A., 2015; Marenholz I., 2015]. Виходячи із сучасних поглядів, детермінація полігенних патологій є наслідком певної констеляції алельних поліморфізмів генів, внутрішньої взаємодії між ними та продуктами їх експресії [Калюжка Е.А., 2015; Bijanzadeh М., 2011].

Однак, ряд питань щодо успадкування схильності до АЗ і досі залишається невизначеним. Не визначені найбільш прийнятні в педіатрії генетичні маркери для визначення ступеня ризику розвитку та ранньої діагностики АЗ, залишаються нез’ясованими причини резистентності до стандартної терапії цих захворювань.

На теперішній час активно вивчаються гени, залучені у процес антигенпрезентації, оскільки спрямування імунологічної відповіді в бік
Т-хелперів 2-го типу антигенпрезентуючими клітинами (АПК) залежить від характеристик представленого антигену [Рекен М., 2013]. Відомо, що антигенпрезентація забезпечується двома протеолітичними системами – лізосомальною та протеасомною [Loi M., 2016; Lázaro S., 2015; Hussey S., та ін., 2009]. Доведено, що алельні поліморфізми, або мутації генів, що кодують структурні білки аутофагосоми, впливають на рівні процесингу антигенів в Т-клітинах та експресії В-клітинного рецептора [[Lee Н.К., 2010]](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Lee%20HK%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=20171125), антиген-індуковану дегрануляцію тучних клітин [Nakano Н., 2011] тощо. Дані літератури щодо асоціації поліморфізмів генів аутофагії (*ATG*) з розвитком БА є поодинокими, з іншими АЗ зв’язок не досліджувався [Poon A., 2012; Martin L.J., 2012].

Протеасомна система, окрім антигенпрезентації має функцію регуляції транскрипції медіаторів алергійного запалення – NF-κB [Hayden M.S., 2008], JunB [[Weathington](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Weathington%20NM%5Bauth%5D) N.M., 2013], забезпечує диференціацію структурного білка шкіри філаггріну [[Dahlqvist](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Dahlqvist%20J%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=20226437) J., 2010]. Ґрунтуючись на ролі протеасомного протеолізу у зазначених процесах, було висловлено припущення, що зміни активності протеасом можуть призвести до розвитку АЗ [Mudnakudu Nagaraju K.K., 2013]. Зважаючи на той факт, що поліморфізм гена дозрівання протеасоми (*РОМР*) впливає на її функціонування, питання щодо його значення в етіології та патогенезі АЗ потребує вивчення.

Таким чином, актуальність даної роботи обумовлена значним поширенням АЗ у дітей, збільшенням останніми роками частоти тяжких форм захворювань, резистентних до стандартного лікування, невизначеністю впливу поліморфізмів в гені *ATG5* та *РОМР* на розвиток та клінічний перебіг АЗ. Вищезазначене обумовило мету та завдання дослідження.

**Зв**’**язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри педіатрії № 2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця «Оптимізація діагностики та лікування алергічних захворювань у дітей з коморбідними станами» (№ 0116U002414).

**Мета дослідження.** Підвищення ефективності прогнозування ризику розвитку, перебігу та лікування АЗ шляхом дослідження впливу поліморфізмів генів *ATG5* та *РОМР* на клінічний перебіг БА, АД та АР у дітей.

**Завдання дослідження:**

1. Визначити особливості клінічного перебігу АЗ (БА, АД та АР) у дітей із різними алельними варіантами генів *ATG5* та *РОМР*.

2. Оцінити частоту різних варіантів генів *ATG5* та *РОМР* у дітей з АЗ та у практично здорових дітей в український популяції.

3. Дослідити вік маніфестації БА в залежності від поліморфізму генів *АTG5* та *РОМР*.

4. Підвищити ефективність прогнозування та лікування АЗ шляхом визначення поліморфізмів генів *АTG5* та *РОМР*.

5. Вивчити ефективність стандартного лікування дітей, хворих на БА, АД та АР в залежності від поліморфізму генів *АTG5* та *РОМР*.

*Об’єкт дослідження:*БА, АД та АР у дітей.

*Предмет дослідження:*Однонуклеотидні поліморфізми в генах *АTG5*, *РОМР* та їхній зв’язок з особливостями клінічного перебігу та відповіді на стандартне лікування БА, АД та АР у дітей.

*Методи дослідження.* Для досягнення поставленої мети та вирішення завдань дослідження були використані такі методи: клініко-анамнестичний, лабораторні (загальний аналіз крові, загальний аналіз сечі, копрограма, сироватковий загальний IgE), інструментальні (спірометрія, пікфлоуметрія, шкірні проби), генетичні (визначення поліморфізму rs510432 гена *АTG5*, rs4769628 гена *POMP* методом ПЛР в реальному часі), статистичні методи.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше оцінено значення поліморфізмів rs510432 гена *АTG5* та rs4769628 гена *POMP* в розвитку АЗ у дітей.

Вперше вивчено взаємозв’язок між поліморфізмами rs510432 гена *АTG5* та rs4769628 гена *POMP*, визначені комбінації алельних варіантів, що визначають ступінь ризику розвитку АЗ у дітей.

Вперше вивчено особливості клінічного перебігу БА, АД та АР у дітей в залежності від алельних варіантів поліморфізмів rs510432 гена *АTG5* та rs4769628 гена *POMP*.

Вперше встановлений зв’язок між віком маніфестації БА у дітей та наявністю поліморфізмів rs510432 гена *АTG5* та rs4769628 гена *POMP.*

Вперше досліджено прогностичне значення визначення поліморфізмів генів *АTG5* та *РОМР* у підвищенні ефективності прогнозування та лікування АЗ у дітей.

Вперше оцінено ефективність лікування БА, АД та АР в залежності від поліморфізмів rs510432 гена *АTG5* та rs4769628 гена *POMP*.

Розроблено спосіб прогнозування перебігу БА методом визначення поліморфізмів генів лізосомного протеолізу в буккальному епітелії. Пріоритетність результатів дослідження підтверджена патентом України на корисну модель № 99863 від 25.06.2015 р. Спосіб прогнозування перебігу бронхіальної астми / О.В. Ємець, О.В. Павлик (Україна). – А61В10/00, заявлено 21.01.2015.

**Практичне значення одержаних результатів.** У клінічну практику охорони здоров’я впроваджено високоінформативний метод прогнозування ризику розвитку АЗ у дітей – визначення поліморфізмів rs510432 гена *АTG5* та rs4769628 гена *POMP*.

На підставі проведених досліджень науково обґрунтовано доцільність одночасного виявлення поліморфізмів rs510432 гена *АTG5* та rs4769628 гена *POMP* для прогнозування ступеня ризику розвитку АЗ у дітей.

Визначено необхідність використання поліморфізму rs510432 гена *АTG5* в якості предиктора особливостей клінічного перебігу БА у дітей. Виявлення rs4769628 гена *POMP* з цією метою є недоцільним.

Встановлена потреба визначення поліморфізмів rs510432 гена *АTG5* для передбачення віку маніфестації БА у дітей.

Обґрунтовано необхідність дослідження поліморфізмів rs510432 гена *АTG5* та rs4769628 гена *POMP* з метою прогнозування ефективності стандартного лікування АЗ у дітей.

**Впровадження результатів дослідження в практику.** Результати дослідження впроваджено в діагностичну та лікувальну діяльність роботи Київської міської дитячої клінічної лікарні № 2, Полтавської обласної дитячої клінічної лікарні, комунальної міської дитячої клінічної лікарні міста Львова, КМУ «Обласна дитяча клінічна лікарня» міста Чернівці, Вінницької обласної дитячої лікарні, КЗОЗ «ОДКЛ» міста Харків.

Наукові розробки та результати дисертації використовуються у навчальному процесі кафедри педіатрії № 2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є особистою працею автора. Автором особисто проведено інформаційно-патентний пошук, проаналізовано наукову літературу з обраної теми, особисто сформульовано мету роботи та завдання дослідження. Роботу виконано на кафедрі педіатрії № 2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України та [відділі загальної та молекулярної патофізіології](http://www.dgmp.kyiv.ua/index.php) [Інституту фізіології імені О.О. Богомольця НАН України](https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%86%D0%BD%D1%81%D1%82%D0%B8%D1%82%D1%83%D1%82_%D1%84%D1%96%D0%B7%D1%96%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D1%96%D1%97_%D1%96%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%96_%D0%9E._%D0%9E._%D0%91%D0%BE%D0%B3%D0%BE%D0%BC%D0%BE%D0%BB%D1%8C%D1%86%D1%8F_%D0%9D%D0%90%D0%9D_%D0%A3%D0%BA%D1%80%D0%B0%D1%97%D0%BD%D0%B8).

Автором самостійно проведено відбір хворих та розроблено дизайн дослідження, здійснено клінічне спостереження, виконано первинну обробку результатів клінічних, лабораторних, інструментальних методів, методу визначення поліморфізмів rs510432 гена *АTG5* та rs4769628 гена *POMP*, особисто проведено лікування дітей з подальшим довготривалим спостереженням.

Аналіз і узагальнення результатів дослідження, статистична обробка отриманих даних, оформлення всіх розділів дисертаційної роботи виконані автором самостійно, на підставі чого були підготовлені до друку
наукові статті, нововведення (реєстраційний номер 468/2/15, 2016 р.), інформаційний лист, отриманий патент України на корисну модель, сформульовано висновки та розроблені практичні рекомендації.

**Апробація результатів дисертації**. Основні положення дисертації доповідались і обговорювались на XVІ Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання педіатрії» (м. Запоріжжя, 23-25 вересня 2014 року), XIV Конгресі Світової Федерації Українських Лікарських Товариств (СФУЛТ) (м. Чернівці, 16-18 жовтня 2014 року), XVІІ Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання педіатрії» (м. Дніпропетровськ, 23-25 вересня 2015 року), науково-практичній конференції «Актуальні питання клінічної, соціальної педіатрії та дитячої неврології» (м. Київ, 17-18 березня 2016 року), XVI Конгресі Світової Федерації Українських Лікарських Товариств (СФУЛТ) (м. Київ, 22-23 серпня 2016 року).

**Публікації**. За матеріалами дисертації опубліковано 4статті у наукових виданнях, рекомендованих Атестаційною колегією МОН України, 1 стаття у зарубіжному виданні, 2 тези доповідей у матеріалах конгресів, в тому числі з міжнародною участю, отримано 1 патент на корисну модель*.* Сукупність матеріалів, які наведені в публікаціях та доповідях, відображають основні положення та висновки дисертаційної роботи.

**Структура та обсяг дисертації**. Дисертація складається із змісту, переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, матеріалу та методів дослідження, десяти розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел. Дисертацію викладено на 162 сторінках друкованого тексту українською мовою, у тому числі 33 рисунків, 38 таблиць, 19 сторінок списку використаних джерел (187 найменувань, з них 44 кирилицею та 143 латиницею).

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріали та методи дослідження.** Для досягнення мети дисертаційної роботи та вирішення поставлених завдань за період з 2013 до 2015 року у дослідження було включено 98 дітей, хворих на БА та АД, з них у 31 хворого діагностовано АР (середній вік – 9,28±3,21 року, з яких 59 хлопчиків і 39 дівчаток). Зазначені пацієнти перебували на стаціонарному лікуванні в алергологічному відділенні Київської міської дитячої клінічної лікарні № 2. До групи контролю увійшло 98 здорових дітей без обтяженого алергологічного анамнезу (середній вік – 9,90±3,09 року, з них 51 хлопчиків і 47 дівчаток).

Дослідження виконані з дотриманням положень GCP (1996 р.), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04.1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964-2000 рр.) і Наказу МОЗ України № 281 від 01.11.2001 р. – протокол засідання № 96 від 30.05.2016 р.

Діагноз БА верифікований згідно з протоколом діагностики і лікування БА у дітей (№ 868 від 08.10.2013 р.) та рекомендаціями глобальної стратегії лікування та профілактики БА GINA (Global Initiative for Asthma, перегляд 2015 року). Діагноз АД верифікований у відповідності до наказу МОЗ України № 767 від 27.12.2005 р., додаток № 5 «Протокол діагностики та лікування дітей з АД», а також діагностичних критеріїв Hanifin, Rajka (1980). Діагноз АР встановлювався згідно критеріїв діагностики ARIA (Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma, 2008) та наказу МОЗ України № 767 від 27.12.2005, додаток № 3 «Протокол діагностики та лікування дітей з АР».

Усім 98 хворим (100,00%) основної групи проведено такі методи дослідження: клініко-анамнестичний, лабораторні (загальний аналіз крові, загальний аналіз сечі, копрограма, загальний IgE), інструментальні (спірометрія, пікфлоуметрія, шкірні проби), генетичні (визначення наявності поліморфізму rs510432 гена *АTG5*, rs4769628 гена *POMP* методом ПЛР в реальному часі), статистичні методи. При наявності показань проводилися консультації дитячого отоларинголога, офтальмолога, гастроентеролога.

Для визначення поліморфізму rs510432 гена *АTG5* та поліморфізму, rs4769628 гена *POMP* виконано генотипування поліморфізму в основній і контрольній групах за допомогою ПЛР у реальному часі.

Постановка та оцінка прик-тесту здійснювалась згідно «Інструкції про порядок проведення специфічної діагностики та імунотерапії алергічних захворювань», затвердженої Наказом МОЗ АМН України від 02.04.02 № 127/18. Використовувалися розчини алергенів виробництва ТОВ «Імунолог», м. Вінниця, що містять 10.000 PNU в 1 мл.

Отримані у ході дослідження результати були опрацьовані за допомогою програми SPSS (версії 22.0) та програмного середовища R (версії 3.0). Для перевірки відповідності розподілу алелей згідно закону Харді-Вайнберга застосовували веб-програмне забезпечення SNP Analyzer [http://snpanalyzer.uthsc.edu]. Кількісні та якісні дані, отримані при обстеженні хворих дітей, обробляли з використанням статистичного пакету Medstat [Лях Ю.Е., 2006]. В ході дослідження визначена відповідність розподілу алельних варіантів поліморфізмів генів *ATG5* та *РОМР* до закону генетичної рівноваги Харді-Вайнберга. Відхилення від закону Харді-Вайнберга та асоціацію розвитку АЗ при наявності однонуклеотидних поліморфізмів генів *ATG5* та *РОМР* досліджувались за допомогою тесту χ2. Для вибору моделі, згідно якої успадковується фенотипова ознака АЗ, використаний критерій Айкайке. Вірогідність розвитку АЗ при патологічних варіантах поліморфізмів генів *ATG5* та *РОМР* визначали за методом логістичної регресії. Для визначення та підтвердження взаємодії між однонуклеотидними поліморфізмами генів *ATG5* та *РОМР*, визначення типу цієї взаємодії використовувався метод багатофакторного зменшення просторовості (MDR).

До дітей основної групи застосовано покроковий алгоритм лікувально-діагностичної тактики, що включав: елімінаційні заходи, фармакотерапію – призначення або корекцію базисної терапії АЗ та заходи, що направлені на поліпшення комплаенсу.

Базисна терапія БА проводилась у відповідності до наказу МОЗ України від 08.10.2013 р. № 868 «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при бронхіальній астмі». Метою терапії було досягнення та підтримка контролю над клінічними проявами БА. Об’єм базисної терапії визначався рівнем контролю БА.

У 13 дітей (13,27 %) основної групи з інтермітуючою та легкою персистуючою БА, контроль над захворюванням був досягнутий призначенням терапії, що відповідала кроку 1: β2-агоніст короткої дії за необхідності (сальбутамол) 100 мкг інгаляційно 3-4 рази на добу з інтервалом не менше 3 годин.

44 дітям (44,89 %) для досягнення контролю над БА призначена базисна підтримуюча терапія в об’ємі кроку 2: препарати невідкладної допомоги (сальбутамол 100 мкг інгаляційно 3-4 рази на добу з інтервалом не менше 3 годин) та низькі дози інгаляційних глюкокортикостероїдів (ІГКС). 28 хворих (28,57 %) отримували флютиказон пропіонат у дозі 100 мкг/добу, 16 пацієнтів (16,33 %) – у дозі 200 мкг/добу.

30 дітей (30,61 %), у яких не вдалося досягти контролю над БА об’ємом попереднього кроку, вимагали призначення терапії, що відповідає кроку 3. 16 хворих (16,32 %) отримували низькі дози ІГКС (флютиказон пропіонат у дозі 200 мкг/добу) та антагоніст рецепторів лейкотрієнів (монтелукаст натрію в дозі 5 мг/добу для дітей віком до 14 років та в дозі 10 мг/добу для дітей віком старше 14 років) протягом 3 місяців. 9 пацієнтів (9,18 %) застосовували низькі дози ІГКС у комбінації із β2-агоністами пролонгованої дії: флютиказон пропіонат у дозі 200 мкг/добу) та сальметерол (у формі сальметеролу ксинафоату у дозі 25 мкг/добу). 5 особам (5,10 %) призначені середні дози ІГКС флютиказон пропіонат в дозі 300 мкг/добу для дітей віком до 12 років та в дозі 500 мкг/добу для дітей віком старше 12 років) протягом 3 місяців.

11 дітям (11,22 %) призначена терапія, що відповідала кроку 4. 9 пацієнтів (9,18 %) отримували середні дози ІГКС у комбінації із β2-агоністами пролонгованої дії: флютиказон пропіонат в дозі 300 мкг/добу для дітей віком до 12 років та в дозі 500 мкг/добу для дітей віком старше 12 років) і сальметерол (у формі сальметеролу ксинафоату у дозі 25 мкг/добу). протягом 3 місяців. 2 особам (2,04 %) призначені високі дози ІГКС (флютиказон пропіонат в дозі 1000 мкг/добу).

Показань до призначення базисної терапії в об’ємі кроку 5 хворим основної групи не було.

Лікування хворих з АД відповідало наказу МОЗ України від 27.12.2005 р. № 767 «Про затвердження протоколів діагностики та лікування алергічних хвороб у дітей».

50 дітей основної групи (51,02 %) з проявами АД застосовували емолієнти (лосьйон Stiefel «Physiogel» (Стіфель Лабораторіз/Stiefel, Німеччина) у вигляді аплікації 2 рази/день. Місцеве лікування АД полягало у призначенні за показаннями топічних ГКС – крем флютиказону пропіонат 0,05%, топічних інгібіторів кальциневрину – пімекролімус крем 1 % та антибактеріальних засобів. 24 хворих (24,49 %) застосовували крем флютиказону пропіонат 0,05 % у вигляді аплікації на уражені ділянки шкіри 2 рази/день протягом 7 днів. 16 пацієнтам (16,33 %) був призначений пімекролімус крем 1 % у вигляді аплікації на уражені ділянки шкіри 2 рази/день протягом 10 днів. 3 особи (3,06 %) з бактеріальними та грибковими ускладненнями АД використовували крем Тридерм (100 г крему містить бетаметазону 0,05 г, клотримазолу 1,0 г, гентаміцину 0,1 г), який застосовували на уражену та прилеглу ділянку шкіри 2 рази/день протягом 7 днів.

Лікування хворих з АР/АК відповідало наказу МОЗ України від 27.12.2005 р. № 767 «Про затвердження протоколів діагностики та лікування алергічних хвороб у дітей».

17 хворим основної групи (17,34 %) були призначені системні Н1-блокатори рецепторів гістаміну 2-го покоління (цетиризин у дозі 5 мг/день для дітей віком до 12 років та в дозі 10 мг/день для дітей старших 12 років протягом 10 днів). 25 хворих (25,51 %) отримували ендоназальний ГКС (флютиказона фуроат у дозі 55 мкг/добу для дітей віком до 11 років та в дозі 110 мкг/добу для дітей старших 12 років). 14 пацієнтів (14,28 %) застосовували назальні деконгестанти (оксиметазолін спрей 0,05% у дозі 1 впорскування в кожну ніздрю 2 рази/день протягом 4-5 діб).

Для оцінки ефективності терапії БА використовувалася 5-ти бальна шкала, запропонована в тесті контролю астми (ACT) [www.asthmacontrol.com]. АСТ включає 5 запитань, що відображають критерії контрольованості БА і дозволяє оцінити її протягом останніх 4 тижнів. Результати тестування виражалися в балах. Повний контроль над БА визначався в разі сумарної кількості балів більше 20, частковий контроль – в межах 16-18 балів. У разі сумарної кількості балів менше 15 вважалось, що у хворого відсутній контроль над БА. Результати АСТ підтверджувалися за допомогою клінічного обстеження хворих.

**Результати власних досліджень та їх обговорення**. З метою вивчення зв’язку між алельними варіантами гену аутофагії 5 rs510432 і ймовірністю розвитку АЗ проведено генотипування дітей основної та контрольної груп. У 33 дітей (33,67 %) контрольної групи виявлена мажорна гомозигота, у 43 (43,87 %) – гетерозиготний варіант, у 21 (21,43 %) – мінорний варіант. У 18 дітей (18,36 %) була наявна мажорна гомозигота, у 51 (52,04 %) – гетерозиготний варіант, у 29 (29,60 %) – мінорний варіант. За допомогою χ2-тесту знайдено статистично значущі відмінності у розподілі генотипів в основній та контрольній групах
(χ2 = 6,36, р < 0,05) (Рис. 1).

Рис. 1. Розподіл генотипів rs510432 гена *ATG5* в основній та контрольній групах

Примітка. \* р < 0,05

Дані, наведені на рис. 1 свідчать про те, що гетерозиготний та мінорний варіанти поліморфізму rs510432 гена *ATG5* частіше зустрічаються у дітей основної групи ( р< 0,05). Мінорний алель Т rs510432 гена *ATG5* асоціюється з підвищеним ризиком розвитку АЗ у дітей і є прогностичним маркером розвитку АЗ.

З метою вивчення зв’язку поліморфізму rs510432 гена *ATG5* з віком маніфестації БА нами вивчено розподіл алелей гена *ATG5* у дітей в залежності від віку виникнення симптомів захворювання. У 31 хворого (31,63 %) БА діагностовано до 3 років життя, з них у 3 дітей (3,06 %) виявлений нормальний гомозиготний варіант, 12 (12,24 %) мали гетерозиготний генотип, 16 (16,32 %) – мінорний генотип. У 67 осіб (68,37 %) діагноз БА встановлений після 3 років життя, з них 14 пацієнтів (14,29 %) мали мажорний генотип, 39 (39,80 %) – гетерозиготний, 13 (13,27 %) – мінорний генотип. За допомогою χ2-тесту знайдено статистично значущі відмінності у розподілі генотипів в групах хворих з маніфестацією БА до та після 3 років життя (χ2 = 10,45, р < 0,05). Розподіл алелей гена *ATG5* у дітей в залежності від віку маніфестації БА представлений у таблиці 1.

Таблиця 1

**Відношення шансів для кодомінантної моделі успадкування поліморфізму rs510432 *ATG5* у дітей в залежності від віку маніфестації бронхіальної астми**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Генотип | Вік маніфестації бронхіальної астми | Відношення шансів та 95% ДІ |
| До 3 років життя | Після 3 років життя |
| n | % | n | % |
| СС | 3 | 9,68 | 14 | 21,21 | 1,00 |
| CT | 12 | 38,71 | 39  | 59,09 | 0,7 (0,14 – 2,60)\* |
| TT | 16 | 51,61 | 13 | 19,70 | 0,17 (0,03 – 0,67) |

Примітки:\* р < 0,05, критерій Айкайке 16,69

Дані, наведені в таблиці 1, демонструють, що у групі хворих з маніфестацією БА у віці до 3 років достовірно частіше виявляються носії генотипу ТТ rs510432 гена *ATG5*,що свідчить про негативний прогностичний ефект даного алельного варіанту.

В ході дослідження виявлено, що генотип ТТ rs510432 гена *ATG5* зустрічався частіше у дітей з важкою персистуючою БА (37,50 %) порівняно з хворими на інтермітуючу, легку персистуючу та середньоважку персистуючу БА (27,40 %), що може свідчити про негативний ефект мінорного алелю на тяжкість БА при наявності несприятливих факторів зовнішнього середовища.

Для дослідження впливу генотипу поліморфізму rs510432 гена *ATG5* на показники ОФВ1 основна група була поділена на три підгрупи. До 1-ї підгрупи увійшло 18 хворих (18,37 %) з мажорним генотипом СС, до 2-ї – 51 дитина (52,04 %) з гетерозиготним генотипом СТ, до 3-ї – 29 осіб (29,59 %) з мінорним генотипом ТТ. Середнє значення ОФВ1 в 1-й підгрупі склало 87 ± 2,51 %, в 2-ій – 80 ± 1,91 %, в 3-ій – 77 ± 2,54 %. Отже, виявлений вплив поліморфізму rs510432 гена *ATG5* на показник ОФВ1 у дітей, хворих на БА. Середні значення ОФВ1 у хворих з мінорним ТТ генотипом достовірно нижчі ніж з мажорним генотипом СС (Q = 2,71, р < 0,05).

Впливу поліморфізму rs510432 гена *ATG5* на тяжкість АД та АР у дітей не виявлено, це пов’язано з тим, що тяжкість даних захворювань залежить як від генетичних факторів, так і від експозиції алергенів.

За результатами логістичної регресії, ризик розвитку АЗ у дітей з генотипом СС rs510432 гену *ATG5* складає 29,41 %, у гетерозигот СТ – 67,92 %, у дітей з мінорним генотипом ТТ – 72,04 %.

 З метою вивчення зв’язку між алельними варіантами гену *РОМР* rs4769628 і ризиком розвитку АЗ нами було проведено дослідження розподілу частот зазначеного поліморфізму в основній та контрольній групах. У 52 дітей (53,06 %) контрольної групи виявлений мажорний гомозиготний варіант АА, у 37 (37,76 %) – гетерозиготний AG, у 9 (9,18%) – мінорний GG. В основній групі у 62 дітей (62,26 %) була наявна мажорна гомозигота, у 33 (33,67 %) – гетерозиготний варіант, мінорний варіант у дітей основної групи не визначався. Таким чином, знайдено статистично значущі відмінності у розподілі генотипів rs4769628 гена *РОМР* серед дітей основної та контрольної груп (χ2 = 10,16, р < 0,05) (рис. 2).

%

Рис. 2. Розподіл генотипів rs4769628 гена *РОМР* в основній та контрольній групах

Примітка. \* р < 0,05

Таким чином, доведено, що мінорний алель G rs4769628 гена *РОМР* має протективний ефект щодо розвитку АЗ, асоціюється з зниженим ризиком виникнення даної групи захворювань у дітей та є прогностичним маркером реалізації АЗ.

Алельний варіант G поліморфізму rs4769628 гена *РОМР* частіше виявляється у дітей, хворих на інтермітуючу, легку персистуючу та середньоважку персистуючу БА, порівняно з дітьми, хворими на важку персистуючу БА. Нами не було виявлено впливу алельних вараінтів rs4769628 гена *РОМР* на тяжкість АД та АР, що пов’язано зі впливом факторів зовнішнього середовища, які детермінують тяжкість захворювань разом із генетичними факторами.

З метою прогнозування ризику розвитку АЗ у дітей в роботі вивчений тип взаємодії між досліджуваними генами за методом MDR, внаслідок чого отримана модель з потенціалом предикції 65 %. Отримані результати щодо взаємодії поліморфізмів rs510432 гена *ATG5* та rs4769628 гена *РОМР* продемонстрували антагоністичну взаємодію значної сили –4,38% (рис. 3).

****

Рис. 3. Міжгенна взаємодія rs510432 гена *ATG5* та rs4769628 гена *РОМР*. 0 – мажорний генотип, 1 – гетерозиготний варіант, 2 – мінорний генотип

Примітка. Комбінації алельних варіантів, які асоційовані з високим ризиком розвитку АЗ, позначені темним фоном. Комбінації, асоційовані з низьким ризиком розвитку АЗ виділені фоном світлого кольору

Як свідчать результати, продемонстровані на рисунку 3, комбінаціями високого ризику щодо розвитку АЗ є гетерозиготний варіант *ATG5* та мажорна гомозигота *РОМР*, мінорний генотип *ATG5* та мажорний генотип *РОМР*, гетерозиготний варіант *РОМР* у комбінації з гетерозиготним та мінорним генотипом *ATG5.*

До комбінацій, асоційованих з низьким ризиком розвитку АЗ відносяться мажорний варіант *ATG5* з гетерозиготним варіантом *РОМР*, поєднання мажорних генотипів *ATG5* та *РОМР*, мінорний генотип *РОМР* у комбінації з будь-яким алельним варіантом *ATG5*. Таким чином, отримані результати підтверджують негативний прогностичний ефект щодо розвитку АЗ у дітей мінорного алелю Т поліморфізму rs510432 гена *ATG5* та протективний ефект мінорного алелю G rs4769628 гена *РОМР.* Між вказаними поліморфізмами виявлено антагоністичну взаємодію значної сили, що зумовлює доцільність їхнього одночасного дослідження з метою прогнозування ризику АЗ.

Ефективність лікування БА визначалася за критеріями контрольованості захворювання. Для оцінки контрольованості БА використаний АСТ, в якому кожне питання щодо обмеження активності, частоти денних та нічних симптомів, потреби в β2-агоністах та самооцінки контролю БА оцінювалось від 0 до 5 балів. Задля визначення зв’язку ефективності лікування БА та поліморфізму rs510432 гена *ATG5*, 60 дітей (61,22 %) основної групи з частковим контролем над БА та неконтрольованою БА поділено на 2 підгрупи. До 1-ї підгрупи увійшло 18 хворих (30,00 %) з мінорним генотипом ТТ, до 2-ї підгрупи – 42 особи (70,00 %) з мажорним та гетерозиготним алельними варіантами.

Нами була вивчена динаміка середніх балів АСТ у 1-й та 2-й підгрупах на момент включення в дослідження, через 4 та 12 тижнів
після лікування, а саме обмеження активності, частоти виникнення
денних і нічних симптомів БА, потреби у β2-агоністах та самооцінки контролю.

Загалом, середній бал сумарної оцінки контрольованості БА в 1-й підгрупі на момент включення в дослідження склав 15,61 балу (Ме = 16,5), через 4 тижні – 15,33 балу (Ме = 16), через 12 тижнів – 18,71 балу
(Ме = 18,5). У 2-й підгрупі середній бал сумарної оцінки контрольованості БА на момент включення в дослідження склав 15,46 балу (Ме =16), через 4 тижні – 18,33 балу (Ме = 18), через 12 тижнів – 19,68 балу (Ме = 20) (рис. 4).

Середній бал

Рис. 4. Динаміка середнього балу сумарної оцінки контрольованості БА протягом 12 тижнів лікування у 1-й та 2-й підгрупах

Примітка.\* р < 0,05

Таким чином, знайдено статистично значущі відмінності при порівнянні сумарної оцінки контрольованості БА через 12 тижнів після лікування у дітей, хворих на БА в залежності від генотипу: при мажорному та гетерозиготному варіантах поліморфізму rs510432 гена *ATG5* показники контрольованості БА вищі, ніж у носіїв мінорного генотипу (19,68 балу (Ме = 20) проти 18,71 балу (Ме = 18,5), (р < 0,05).

Загалом, повний контроль над БА в 1-й підгрупі був досягнутий у 8 хворих (44,44 %), частковий та втрата контролю – у 10 дітей (55,56 %). В
2-й підгрупі у 29 осіб (69,05 %) та у 13 (30,95 %) відповідно. У хворих з мінорним генотипом rs510432 гена *ATG5* частіше виявлялися випадки втрати контролю над БА або не досягнення повного контролю над БА протягом 12 тижнів після лікування у порівнянні з дітьми з гетерозиготним та мажорним генотипом (55,56 % проти 30,95 %, р > 0,05), що підтверджує негативний ефект мінорного алелю T на контрольованість БА.

При вивченні динаміки показників ФЗД на момент включення в дослідження, через 4 та 12 тижнів після лікування були отримані такі результати. В 1-й підгрупі зменшення показника ОФВ1 < 80 % від належного виявлено у 13 хворих (72,22 %) на момент включення в дослідження, у 10 (55,56 %) – через 4 тижні після лікування та у 9 осіб (50,00 %) – через 12 тижнів після лікування. У 2-й підгрупі зменшення показника ОФВ1 < 80 % від належного визначено у 35 дітей (83,33 %) на момент включення в дослідження, у 22 (52,38 %) – через 4 тижні та у 13 (30,96 %) – через 12 тижнів після лікування (рис. 5).

%

Рис. 5. Зменшення показника ОФВ1 < 80 % від належного протягом 12 тижнів після лікування у 1-й та 2-й підгрупах

Примітки: \* р > 0,05

\*\* р < 0,05

Таким чином, отримані дані підтверджують негативний вплив мінорного алелю T на показники зовнішнього дихання у дітей, хворих на БА.

З метою визначення зв’язку алельних варіантів поліморфізму rs4769628 гена *РОМР* та ефективності лікування БА, 60 дітей (61,22 %) основної групи з частковим контролем над БА та неконтрольованою БА було поділено на 2 підгрупи. 39 хворих (65,00 %) з мажорним генотипом АА склали 1-у підгрупу, 19 осіб (31, 67 %) з гетерозиготним АG увійшли до 2-ї підгрупи.

Нами була вивчена динаміка середніх балів показників АСТ у 1-й та 2-й підгрупах на момент включення в дослідження, через 4 та 12 тижнів після лікування. Загалом, середній бал сумарної оцінки контрольованості БА в 1-й підгрупі на момент включення в дослідження склав 15,82 балу (Ме = 16,0), через 4 тижні – 17,05 балу (Ме = 17), через 12 тижнів – 19,64 балу (Ме = 19). У 2-й підгрупі середній бал сумарної оцінки контрольованості БА на момент включення в дослідження був 15,10 балу (Ме =16), через 4 тижні – 18,10 балу (Ме = 17), через 12 тижнів – 21,23 балу (Ме = 21) (рис. 6).

Середній бал

Рис. 6. Динаміка середнього балу сумарної оцінки контрольованості БА протягом 12 тижнів лікування у 1-й та 2-й підгрупах

Примітка. \* р < 0,05

Результати, що продемонстровані на рис. 6, свідчать про таке: у 1-й та 2-й підгрупах середні бали сумарної оцінки контрольованості БА на момент включення в дослідження не відрізнялися: 15,82 балу (Ме = 16,0) та 15,10 балу (Ме =16) відповідно, р > 0,05. Середній бал сумарної оцінки контрольованості БА через 12 тижнів після лікування у дітей з генотипом АG rs4769628 гена *РОМР* був достовірно вищий, ніж у мажорних гомозигот (р < 0,05).

В результаті лікування повний контроль над БА в 1-й підгрупі був досягнутий у 18 хворих (46,15 %), частковий та втрата контролю – у 21 дитини (53,85 %). В 2-й підгрупі у 11 осіб (57,89 %) та у 8 (42,11 %) відповідно. Таким чином, у хворих з мажорним генотипом rs4769628 гена *РОМР* частіше виявлялися випадки втрати контролю над БА або не досягнення повного контролю над БА протягом 12 тижнів після лікування у порівнянні з дітьми з гетерозиготним генотипом (53,85 % проти 42,11 %, р > 0,05), що підтверджує протективний ефект мінорного алелю G на контрольованість БА.

З метою встановлення впливу алельних варіантів поліморфізму rs510432 гена *ATG5* на ефективність лікування АД, 50 дітей основної групи з проявами АД було поділено на 2 підгрупи. До 1-ї підгрупи увійшло 10 хворих (20,00 %) з мажорним генотипом, до 2-ї – 40 (80,00%) з генотипом СТ та ТТ.

У ході дослідження для оцінки ефективності лікування АД використаний індекс SCORAD та вивчена його динаміка. Індекс SCORAD в 1-й підгрупі на момент включення в дослідження дорівнював 46,10 балу (Ме = 41,5), через 4 тижні – 38,20 балу (Ме = 33), через 12 тижнів – 28,50 балу (Ме = 26). У 2-й підгрупі індекс SCORAD на момент включення в дослідження склав 35,28 балу (Ме = 34), через 4 тижні – 30,33 балу (Ме = 30), через 12 тижнів – 26,28 балу (Ме = 24). Таким чином, через 4 та 12 тижнів після лікування індекс SCORAD був співставний в обох групах (38,20 балу (Ме = 33) проти 30,33 балу (Ме = 30,0) та 28,50 балу (Ме = 26) проти 26,28 балу (Ме = 24), р > 0,05 для обох порівнянь), алельні варіанти поліморфізму rs510432 гена *ATG*5 не чинять впливу на ефективність лікування АД у дітей.

З метою визначення впливу алельних варіантів поліморфізму rs4769628 гена *РОМР*, 50 дітей основної групи з проявами АД було поділено на 2 підгрупи. До 1-ї підгрупи увійшло 33 хворих (66,00 %) з мажорним генотипом АА, до 2-ї – 16 (32,00 %) з генотипом AG.

У ході дослідження для оцінки ефективності лікування АД використаний індекс SCORAD та вивчена його динаміка. Індекс SCORAD в 1-й підгрупі на момент включення в дослідження дорівнював 38,39 балу (Ме = 35), через 4 тижні – 34,06 балу (Ме = 30), через 12 тижнів – 30,30 балу (Ме = 27). У 2-й підгрупі індекс SCORAD на момент включення в дослідження склав 36,88 балу (Ме = 38,5), через 4 тижні – 28,56 балу (Ме = 28,5), через 12 тижнів – 20,13 балу (Ме = 21,5) (рис. 7).

бали

Рис. 7. Динаміка індексу SCORAD на момент включення в дослідження, через 4 та 12 тижнів після лікування

Примітка.\* р < 0,05

Як свідчать дані, представлені на рисунку 7, індекс SCORAD через 12 тижнів після лікування в 2-й групі був достовірно нижчим, ніж в 1-й групі (20,13 балу (Ме = 21,5) проти 30,30 балу (Ме = 27), р < 0,05).

Отримані у ході проведеного дослідження результати свідчать про те, що у дітей, хворих на АД, з гетерозиготним генотипом AG rs4769628 гена *РОМР* через 12 тижнів після лікування індекс SCORAD був достовірно нижчим, ніж у дітей з мажорним генотипом AA. Таким чином, можна робити висновок, що наявність мінорного алелю G rs4769628 гена *РОМР* достовірно підвищує ефективність лікування дітей, хворих на АД.

З метою визначення впливу алельних варіантів поліморфізму rs510432 гена *ATG5* на ефективність лікування АР/АК нами був проведений порівняльний аналіз частоти симптомів АР/АК. Оцінювалися пароксизмальне чхання, патологічні виділення із передніх носових ходів, назальна обструкція, свербіж в порожнині носа, «алергічний салют», «алергічне сяйво», погіршення нюху, відчуття сухості очей, набряк та гіперемія повік, водянисті виділення з очей у балах (0 – симптом відсутній, 1 – симптом наявний) на момент включення в дослідження, через 4 та 12 тижнів після лікування. За загальною шкалою симптомів кожний хворий міг набрати від 0 до 7 балів.

Загалом у 31 хворого (31,63 %) основної групи були наявні клінічні прояви АР/АК. Ці діти були поділені на 2 підгрупи. До 1-ї підгрупи увійшло 8 хворих (25,81 %) з мажорним генотипом СС rs510432 гена *ATG5*, до 2-ї – 23 (74,19 %) з генотипом СТ та ТТ. Середній бал за загальною шкалою симптомів АР/АК в 1-й підгрупі на момент включення в дослідження дорівнював 3,75 балу (Ме = 4), через 4 тижні – 2,25 балу (Ме = 3), через 12 тижнів – 0,75 балу (Ме = 1). У 2-й підгрупі середній бал за загальною шкалою симптомів АР/АК на момент включення в дослідження склав 3,81 балу (Ме = 4), через 4 тижні – 2,77 балу (Ме = 3), через 12 тижнів – 1,59 балу (Ме = 1).

Отримані результати свідчать, що як в підгрупі дітей з мажорним генотипом rs510432 гена *ATG5*, так і в підгрупі хворих з гетерозиготним та мінорним варіантами наслідком лікування було зменшення середнього балу за загальною шкалою симптомів АР/АК (р < 0,05). Середній бал за загальною шкалою симптомів АР/АК через 4 та 12 тижнів був меншим у дітей з мажорним генотипом rs510432 гена *ATG5* ніж з генотипами СТ, ТТ, однак, різниця показників не набула статистичної достовірності (р > 0,05). Отже, алельні варіанти rs510432 гена *ATG5* не впливають на ефективність лікування АР/АК.

Задля оцінки впливу алельних варіантів поліморфізму rs4769628 гену *РОМР* на ефективність лікування АР/АК ми оцінили частоту симптомів АР/АК на момент включення в дослідження, через 4 та 12 тижнів після лікування. 31 хворий (31,63 %) основної групи з АР та АК були поділені на 2 підгрупи. До 1-ї підгрупи увійшов 21 хворий (67,74 %) з мажорним генотипом rs4769628 гену *РОМР*, до 2-ї – 9 (29,03 %) з гетерозиготним генотипом.

Середній бал за загальною шкалою симптомів АР/АК в 1-й підгрупі на момент включення в дослідження дорівнював 3,80 балу (Ме = 4), через 4 тижні – 2,63 балу (Ме = 3), через 12 тижнів – 1,68 балу (Ме = 1,5). У 2-й підгрупі середній бал за загальною шкалою симптомів АР/АК на момент включення в дослідження склав 3,67 балу (Ме = 4), через 4 тижні – 2,44 балу (Ме = 2), через 12 тижнів – 0,77 балу (Ме = 1) (рис. 8).

бали

Рис. 8. Значення середнього балу за загальною шкалою симптомів АР/АК у 1-й та 2-й підгрупах на момент включення в дослідження, через 4 та 12 тижнів після лікування

Примітка. \* р < 0,05

Результати, продемонстровані на рисунку 8 свідчать, що у 1-й та 2-й підгрупах середній бал за загальною шкалою симптомів АР/АК на момент включення в дослідження був співставний (3,80 балу (Ме = 4) та 3,67 балу (Ме = 4) відповідно, р > 0,05). Середній бал за загальною шкалою симптомів АР/АК у дітей 2-ї підгрупи через 4 тижні після лікування виявився достовірно нижчим, ніж в 1-й підгрупі (2,44 балу (Ме = 2) проти 2,63 балу (Ме = 3), р < 0,05). Середній бал за загальною шкалою симптомів АР/АК у дітей 2-ї підгрупи через 12 тижнів після лікування був достовірно меншим, ніж в 1-й підгрупі (0,77 балу (Ме = 1) проти 1,68 балу (Ме = 1,5), р < 0,05).

Отримані результати свідчать, що наслідком проведеного лікування було зниження середнього балу за загальною шкалою симптомів АР/АК як у дітей з мажорним генотипом rs4769628 гена *РОМР*, так і у дітей з гетерозиготним варіантом (р < 0,05). Встановлено, що в підгрупі дітей з генотипом AG rs4769628 гена *РОМР* через 4 та 12 тижнів після лікування середній бал за загальною шкалою симптомів АР/АК був достовірно меншим, ніж у дітей з генотипом АА (р < 0,05). Таким чином, наявність мінорного алелю G rs4769628 гена *РОМР* сприяє підвищенню ефективності лікування АР/АК у дітей.

**ВИСНОВКИ**

АЗ представляють важливу медико-соціальну проблему сучасної педіатрії, що пов’язано з високими темпами зростання показників поширеності даної групи захворювань серед дитячого населення. Пізня діагностика, несвоєчасне призначення адекватного лікування призводить до прогресування хвороби, зниження якості життя та інвалідизації дітей, хворих на АЗ. Актуальність дослідження обумовлена необхідністю визначення генетичних детермінант з метою прогнозування ризику розвитку АЗ, удосконалення їхньої діагностики та передбаченням особливостей клінічного перебігу, що має наслідком підвищення ефективності лікування даної групи захворювань.

1. Мінорний генотип ТТ rs510432 гена *АTG5* асоціюється з розвитком АЗ у дітей. У 18,36 % дітей, хворих на АЗ та у 33,67 % здорових осіб зустрічається мажорний генотип зазначеного гена. 52,04 % і 43,87 % дітей, відповідно, є гетерозиготами. У 29,60 % і у 21,43 % визначається мінорний алельний варіант ТТ rs510432 гена *АTG5* (р < 0,05).

2. Мінорний алель G rs4769628 гена *РОМР* має протективне значення в розвитку АЗ у дітей. У 62,26 % хворих на АЗ і у 53,06 % здорових дітей зустрічається мажорна алель rs4769628 гена *РОМР*. 33,67 % і 37,76 % дітей, відповідно, мають гетерозиготний варіант АG. Мінорний генотип GG у дітей, хворих на АЗ, не зустрічається, 9,18 % здорових осіб є носіями мінорної алелі (р < 0,05).

3. Поліморфізм rs510432 гена *АTG5* впливає на особливості клінічного перебігу БА у дітей, а саме на ФЗД. Середнє значення ОФВ1 у хворих, що мають мінорний генотип ТТ rs510432 гена *АTG5*, є достовірно нижчим, ніж у пацієнтів з мажорним генотипом СС зазначеного гена (р < 0,05). Алельні варіанти поліморфізму rs4769628 гена *РОМР* не чинять впливу на особливості клінічного перебігу АЗ (р > 0,05).

4. Мінорний генотип ТТ rs510432 гена *АTG5* асоційований із маніфестацією БА у віці до 3 років (р < 0,05). Алельні варіанти поліморфізму rs4769628 гена *РОМР* не впливають на вік маніфестації БА (р > 0,05).

5. Ризик розвитку АЗ у дітей з мінорним генотипом ТТ rs510432 гена *ATG5* складає 72,04 %, з гетерозиготним варіантом – 67,92 %, з мажорним генотипом – 29,41 %. Поліморфізми rs510432 гена *ATG5* та rs4769628 гена *РОМР* мають антагоністичну взаємодію. Висока ймовірність розвитку АЗ у дітей відмічається при наступних комбінаціях: гетерозиготний (СТ) або мінорний (ТТ) генотипи гена *ATG5* у комбінації з гетерозиготним (AG) або мажорним (АА) генотипами гена *РОМР.* Вірогідність розвитку АЗ є низькою при поєднанні мінорного генотипу (GG) гена *РОМР* з будь яким алельним варіантом гена *ATG5,* мажорний генотип (СС) гена *ATG5* з гетерозиготним (AG) та мажорним варіантом (АА) гена *РОМР.*

6. При проведенні стандартної терапії контрольованість БА достовірно вища у хворих з мажорним та гетерозиготним варіантами поліморфізму rs510432 гена *ATG5*, ніж у пацієнтів з мінорним генотипом (р < 0,05). У хворих з гетерозиготним генотипом АG rs4769628 гена *РОМР* показники контрольованості БА достовірно вищі, ніж у дітей з мажорним варіантом генотипу АА (р < 0,05). Після проведеного лікування АД та АР/АК у хворих з гетерозиготним генотипом АG rs4769628 гена *РОМР* індекс SCORAD та середній бал за загальною шкалою симптомів АР/АК достовірно нижчий, ніж у дітей з мажорним варіантом генотипу АА зазначеного гена (р < 0,05).

**ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

1. З метою підвищення ефективності прогнозування та лікування АЗ у дітей доцільно визначати поліморфізми rs510432 гена *ATG5* та rs4769628 гена *РОМР.*
2. У дітей, що мають в сімейному анамнезі випадки АЗ, необхідно виявляти комбінації поліморфізмів rs510432 гена *ATG5* та rs4769628 гена *РОМР* з метою прогнозування ризиків розвитку БА, АД та АР/АК.
3. Дітям, хворим на АЗ, необхідним є визначення поліморфізмів rs510432 гена *ATG5* для передбачення особливостей клінічного перебігу БА, АД та АР/АК.Виявлення поліморфізму rs4769628 гена *РОМР* в якості предиктора особливостей клінічного перебігу АЗ є недоцільним.
4. Для передбачення віку маніфестації БА у дітей треба визначати поліморфізми rs510432 гена *ATG5.*
5. Для прогнозування ефективності стандартного лікування АЗ у дітей доцільно проведення дослідження rs510432 гена *ATG5* та rs4769628 гена *РОМР.*

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

* 1. Значення однонуклеотидних поліморфізмів в генах *mTOR* (rs11121704) та *ATG5* (rs510432) в розвитку алергічних захворювань у дітей / О. П. Волосовець, В. Є. Досенко, С. П. Кривопустов, О. В. Павлик, О. В. Ємець, Д. О. Строй // Здоровье ребенка. – 2015. – № 3. – С. 5–11 *(Здобувачем особисто проведені збір матеріалу, аналіз даних, статистична обробка результатів, узагальнення висновків, підготовка до друку)*.
	2. Асоціація варіацій генів *POMP, FLG, MTOR, ATG5* із ризиком розвитку бронхіальної астми в дітей / О. П. Волосовець, С. П. Кривопустов, О. В. Павлик, О. В. Ємець, Д. О. Строй, В. Є. Досенко // Здоровье ребенка. – 2016. – № 1. – С. 18–24 *(Здобувачем особисто проведені збір матеріалу, аналіз даних, статистична обробка результатів, узагальнення висновків, підготовка до друку)*.
	3. Volosovets A. Single nucleotide polymorphisms of autophagy-related genes and their role in asthma in children / A. Volosovets, S. Kryvopustov, O. Iemets // Педиатрия. Восточная Европа. – 2014. – Т. 6, № 2. – С. 79–84 *(Здобувачем зібрано, систематизовано та проаналізовано матеріал, підготовлено статтю до друку)*.
	4. Молекулярне фенотипування бронхіальної астми в педіатрії / О. П. Волосовець, С. П. Кривопустов, О. В. Павлик, О. В. Ємець, Н. А. Слюсар // 15 Конгрес СФУЛТ, 16-18 жовтня 2014 р.: матеріали. – Чернівці, Київ, Чікаго, 2014. – С. 93 *(Здобувачем зібрано, систематизовано та проаналізовано матеріал, підготовлено тези до друку)*.
	5. Ємець О. В. Значення однонуклеотидного поліморфізму rs4769628 гена *РОМР* в розвитку атопічних захворювань у дітей / О. В. Ємець // Здоровье ребенка. – 2016. – № 4 (72). – С. 7–12.
	6. Значення поліморфізму гену аутофагії 5 в клінічному перебігу бронхіальної астми у дітей педіатрії / О. П. Волосовець, С. П. Кривопустов, О.В. Ємець // 16 Конгрес СФУЛТ, 9-23 серпня 2016 р.: матеріали. – Київ, Берлін, 2016. – С. 42 *(Здобувачем зібрано, систематизовано та проаналізовано матеріал, підготовлено тези до друку)*.
	7. Ємець О. В. Однонуклеотидний поліморфізм rs510432 гена аутофагії 5 та розвиток атопічного маршу у дітей / О. В. Ємець // Здоровье ребенка. – 2016. – № 5 (73). – С. 14–21.
	8. Пат. 99863 Україна, МПК А61В 10/00 (2015.01) Спосіб прогнозування перебігу бронхіальної астми / О.В. Ємець, О.В. Павлик; заявник та патентовласник НМУ імені О.О. Богомольця. – № 2015 00443; заявл. 21.01.15; опубл. 25.06.15, Бюл. Промислова власність № 12.

**АНОТАЦІЯ**

**Ємець О.В. Особливості клінічного перебігу атопічних захворювань у дітей в залежності від поліморфізму генів, що кодують білки лізосомного та протеасомного протеолізу. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.10 – педіатрія. – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця МОЗ України, Київ, 2016.

Дисертація присвячена вирішенню завдання підвищення ефективності прогнозування ризику розвитку, перебігу та лікування атопічних захворювань шляхом дослідження впливу поліморфізмів генів *ATG5* та *РОМР* на клінічний перебіг бронхіальної астми, атопічного дерматиту та алергічного риніту у дітей.

Мінорний генотип ТТ rs510432 гена *АTG5* асоціюється з розвитком атопічних захворювань у дітей. У 18,36 % дітей, хворих на атопічні захворювання та у 33,67 % здорових осіб зустрічається мажорний генотип зазначеного гена. 52,04 % і 43,87 % дітей, відповідно, є гетерозиготами. У 29,60 % і у 21,43 % визначається мінорний алельний варіант ТТ rs510432 гена *АTG5* (р < 0,05). Мінорний генотип ТТ rs510432 гена *АTG5* асоційований із маніфестацією бронхіальної астми у віці до 3 років (р < 0,05). Середнє значення ОФВ1 у хворих, що мають мінорний генотип ТТ rs510432 гена *АTG5*, є достовірно нижчим, ніж у пацієнтів з мажорним генотипом СС зазначеного гена (р < 0,05). Ризик розвитку атопічних захворювань у дітей з мінорним генотипом ТТ rs510432 гена *ATG5* складає 72,04 %, з гетерозиготним варіантом – 67,92 %, з мажорним генотипом – 29,41 %. Поліморфізми rs510432 гена *ATG5* та rs4769628 гена *РОМР* мають антагоністичну взаємодію.

 Мінорний алель G rs4769628 гена *РОМР* має протективне значення в розвитку атопічних захворювань у дітей. У 62,26 % хворих на атопічні захворювання і у 53,06 % здорових дітей зустрічається мажорна алель rs4769628 гена *РОМР*. 33,67 % і 37,76 % дітей, відповідно, мають гетерозиготний варіант АG. Мінорний генотип GG у дітей, хворих на атопічні хвороби, не зустрічається, 9,18 % здорових осіб є носіями мінорної алелі (р < 0,05).

Обґрунтовано доцільність проведення дослідження rs510432 гена *ATG5* та rs4769628 гена *РОМР* для прогнозування ефективності стандартного лікування атопічних захворювань.

**Ключові слова:** діти, атопічні захворювання, аутофагія, *ATG5*, протеасомний протеоліз, *POMP*.

**АННОТАЦИЯ**

**Емец О.В. Особенности клинического течения атопических заболеваний у детей в зависимости от полиморфизма генов, кодирующих белки лизосомного и протеасомного протеолиза.**
– Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.10 – педиатрия. – Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца МЗ Украины, Киев, 2016.

Диссертация посвящена изучению актуальной проблемы современной педиатрии – повышению эффективности прогнозирования риска развития, течения и лечения атопических заболеваний путем исследования влияния полиморфизмов генов *ATG5* и *РОМР* на клиническое течение бронхиальной астмы, атопического дерматита и аллергического ринита у детей.

Минорный генотип ТТ rs510432 гена *АTG5* ассоциируется с развитием атопических заболеваний у детей. У 18,36 % детей, больных атопическими заболеваниями и у 33,67 % здоровых особей встречается мажорный генотип упомянутого гена. 52,04 % и 43,87 % детей, соответственно, являются гетерозиготами. У 29,60 % и у 21,43 % определяется минорный аллельный вариант ТТ rs510432 гена *АTG5* (р < 0,05). Минорный генотип ТТ rs510432 гена *АTG5* ассоциирован с манифестацией бронхиальной астмы в возрасте до 3 лет (р < 0,05). Средние значения ОФВ1 у больных с минорным генотипом ТТ rs510432 гена *АTG5* достоверно ниже, чем у пациентов с мажорным генотипом СС (р < 0,05). Риск развития атопических заболеваний у детей с минорным генотипом ТТ rs510432 гена *ATG5* составляет 72,04 %, с гетерозиготным вариантом – 67,92 %, с мажорным генотипом – 29,41 %. Полиморфизмы rs510432 гена *ATG5* и rs4769628 гена *РОМР* имеют антагонистическое взаимодействие.

Минорный аллель G rs4769628 гена *РОМР* имеет протективное значение в развитии атопических заболеваний у детей. У 62,26 % больных атопическими заболеваниями и у 53,06 % здоровых детей встречается мажорная аллель rs4769628 гена *РОМР*. 33,67 % и 37,76 % детей, соответственно, имеют гетерозиготный вариант АG. Минорный генотип GG у детей, больных атопическими заболеваниями, не встречается, 9,18 % здоровых особей являются носителями минорной аллели (р < 0,05).

Определение полиморфизмов rs510432 гена *ATG5* и rs4769628 гена *РОМР* целесообразно использовать для прогнозирования эффективности стандартного лечения атопических заболеваний. Контролируемость бронхиальной астмы при проведении стандартного лечения достоверно выше у больных с мажорным и гетерозиготным вариантами полиморфизма rs510432 гена *ATG5*, чем у пациентов с минорным генотипом (р < 0,05). У больных с гетерозиготным генотипом АG rs4769628 гена *РОМР* показатели контролируемости бронхиальной астмы достоверно выше, чем у детей с мажорным вариантом генотипа АА (р < 0,05).

После проведенного лечения атопического дерматита и аллергического ринита / аллергического конъюнктивита у больных с гетерозиготным генотипом АG rs4769628 гена *РОМР* индекс SCORAD и средний балл по общей шкале симптомов аллергического ринита / аллергического конъюнктивита достоверно ниже, чем у детей с мажорным вариантом генотипа АА данного гена (р < 0,05).

**Ключевые слова:** дети, атопические заболевания, аутофагия, *ATG5*, протеасомный протеолиз, *POMP*.

**ANNOTATION**

**Iemets O.V. The characteristics of the clinical course of atopic diseases in children related to the polymorphisms of genes that encode proteins of lysosomal and proteasomal proteolysis. – Manuscript.**

Dissertation for the scientific degree of the candidate of Medical Sciences with the specialization Pediatrics. – O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, 2016.

This dissertation is dedicated to solving the task of improving the effectiveness of the prognosis of risks, course and treatment of atopic diseases by studying the influence of the single-nucleotide polymorphisms in the *ATG5* gene and the *POMP* gene on the clinical course of asthma, atopic dermatitis and allergic rhinitis in children.

The minor T allele of rs510432 in the *ATG5* gene was identified in patients with atopic diseases significantly more often than in healthy children (χ2 = 6.36, р < 0.05). The minor allele of the *ATG5* gene was associated with the increased risk of the early manifestation of asthma (in children up to 3 years old, р < 0.05). The results of the logistic regression demonstrated that the risk of atopic diseases in children with minor genotype is 2.4 times higher than in carriers of the CC genotype. The average values of FEV1 in asthma patients with minor genotype was significantly lower than in carriers of major genotype (Q = 2.71, р <  0.05). Antagonistic interaction between single nucleotide polymorphisms rs510432 in *ATG5* and rs4769628 gene *POMP* was determined.

Single-nucleotide polymorphism in *POMP* gene was associated with the reduced risk of developing atopic diseases. 62.26 % of patients and 53.06 % of the control group had major allele of rs4769628 in *POMP*. 33.67 % and 37.76 %, respectively, had heterozygous allele. Minor genotype GG was not detected in children with atopic diseases, 9.18 % of healthy children are carriers of the minor allele (р < 0.05).

The benefit of testing for both the single nucleotide polymorphism rs510432 in *ATG5* and the rs4769628 gene *POMP* was firmly established with regard to the treatment effectiveness prognosis in children with atopic diseases.

**Key words:** children, atopic diseases, autophagy, *ATG5*, proteasomal proteolysis, *POMP*.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

АД – атопічний дерматит

АЗ – атопічні захворювання

АР – алергічний риніт

АК – алергічний кон’юнктивіт

БА – бронхіальна астма

ГКС – глюкокортикостероїди

ОФВ1 – об’єм форсованого видиху за 1 секунду

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція

АТС – тест контролю астми

*ATG5* – ген, кодуючий білок аутофагії 5

MDR – метод багатофакторного зменшення просторовості

*РОМР* – ген, кодуючий білок дозрівання протеасоми