**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ’Я УКРАЇНИ**

**НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**імені О.О. БОГОМОЛЬЦЯ**

**ПАВЛИК ОЛЕНА ВІКТОРІВНА**

УДК 616.248-053.2-036.1-085:575.113

**ОСОБЛИВОСТІ КЛІНІЧНОГО ПЕРЕБІГУ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ У ДІТЕЙ З ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНА СТРУКТУРНОГО БІЛКА ШКІРИ ТА ШЛЯХИ ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЇЇ ТЕРАПІЇ**

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.

**НАУКОВІ КЕРІВНИКИ:**

член-кореспондент НАМН України, доктор медичних наук, професор **ВОЛОСОВЕЦЬ Олександр Петрович**, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця МОЗ України, завідувач кафедри педіатрії № 2;

доктор медичних наук, професор **ДОСЕНКО Віктор Євгенович,** Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, завідувач відділу загальної та молекулярної патофізіології.

**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 «\_\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2016 р. о \_\_\_\_ 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: 03057, м. Київ, вул. Зоологічна, 1.

Автореферат розісланий «\_\_\_\_»\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_2016 р.

**Вчений секретар**

**спеціалізованої вченої ради Д 26.003.04**

**д.мед.н., професор А. Я. Кузьменко**

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Бронхіальна астма (БА) є важливою медичною і соціальною проблемою (Беш Л. В., 2012, Волосовец А. П. и соавт., 2013, Недельска С. М. та співавт., 2013, Тяжка О.В. та співавт., 2014). За поширеністю, важкістю перебігу, складністю в діагностиці, лікуванні та реабілітації БА займає провідне місце серед хвороб дитячого віку (Бекетова Г. В., 2015, Уманець Т. Р. та співавт., 2014). Згідно з показниками офіційної статистики МОЗ України за 2015 рік поширеність БА серед дітей дорівнює 0,49 %.

БА має мультифакторну природу та розвивається при взаємодії факторів навколишнього середовища та спадкової схильності (Недельска С. М. та співавт., 2013 Охотнікова О. М., 2011). Значення генетичних факторів в етіології БА оцінюється в діапазоні від 36 до 79% (Szalai C. et al., 2008). Найбільш поширеним методом вивчення генетичних основ БА є пошук асоціацій захворювання з поліморфізмами кандидатних генів (Brown S. J. et al., 2012). Наявність поліморфізму може призводити до зміни рівня експресії даних генів і/або зміни структури їх білкових продуктів (Волосовець О. П. та співавт., 2015).

Дослідження кандидатних генів показало зв’язок поліморфізмів або мутацій гену, залученого в регуляцію структури та функції епідермального бар’єру з АЗ – *FLG*, що кодує філаггрін (De Benedetto A. et al., 2012). Доведено роль мутацій в гені *FLG* в розвитку атопічного дерматиту (АД), що є одним із факторів ризику та персистування БА (Duchatelet S. et al., 2014). Генетичні дослідження мутацій в гені *FLG* вказують, що дефект бар’єрної функції відіграє ключову роль у патогенезі АД. Проведені дослідження щодо дефектів в гені *FLG* виявило зв’язок порушеного шкірного бар’єру з розвитком БА та інших алергічних захворювань (АЗ) (Khaledi M. et al., 2014).

Питання щодо поліморфізмів в гені *FLG* не вивчено та потребує проведення подальших досліджень. Не з’ясовано, яким чином впливають поліморфізми в даному гені на експресію білка філаггріна та як дефекти в гені білка шкіри можуть бути пов’язаними з розвитком алергічного процесу в інших органах.

Ендогенним базисом розвитку АЗ є генетична схильність до порушення рівноваги в імунній системі, у взаємодії між різними типами лімфоцитів (Bulek K. et al., 2010). На теперішній час вивчається здатність сигнального шляху білка-мішені рапаміцину (*MTOR,* mammalian target of rapamycin) модулювати імунну відповідь та клітинну проліферацію (Betz C. et al., 2013, Cobbold S. P., 2013). Ґрунтуючись на ролі *MTOR* у процесі клітинної диференціації, було висловлено припущення, що *MTOR* в наївних Т-клітинах може визначати результат розпізнавання антигенів і Т-клітинну диференціацію (Choi Y. H. et al., 2013). Дослідження впливу *MTOR* на розвиток БА є поодинокими.

Невирішеним залишається питання щодо контролю БА, який не завжди вдається досягнути об’ємом базисної терапії. Тому розробка корекції патогенетичної терапії БА у дітей з АД з урахуванням генетичних факторів із застосуванням холекальциферолу як препарату з імуномодулюючою та протизапальною дією є важливою складовою лікування дітей, хворих на БА.

Таким чином, необхідність проведення зазначеного дослідження обумовлена поширеністю БА у дітей, невизначеністю впливу поліморфізму в гені *FLG* на експресію білка філаггріна, суперечливістю даних щодо взаємозв’язку поліморфізмів в генах *FLG* та *MTOR* та розвиток БА у дітей, хворих на АД, потребою розробки корекції патогенетичної терапії БА у дітей, хворих на АД. Все 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 лікування БА у дітей з АД шляхом удосконалення її патогенетичної терапії з урахуванням поліморфізмів генів філаггріна (*FLG*) та білка-мішені рапаміцину (*MTOR*).

**Завдання дослідження:**

1. З’ясувати особливості клінічних проявів БА у дітей з АД в залежності відполіморфізмів генів *FLG* та *MTOR.*

2.Визначити у дітей, хворих на БА та АД частоту різних варіантів гена *FLG*, зв’язок однонуклеотидного поліморфізму в гені *FLG* й експресії мРНК FLG.

3. Оцінити у дітей, хворих на БА та АД частоту різних варіантів гена *MTOR.*

4. Вивчити ефективність терапії БА у дітей з урахуванням наявності поліморфізмів генів *FLG* та *MTOR*.

5. Розробити та впровадити в практику охорони здоров’я корекцію патогенетичної терапії БА у дітей з АД з урахуванням поліморфізмів генів *FLG* та *MTOR* з застосуванням холекальциферолу як препарату з імуномодулюючою та протизапальною дією.

**Об**’**єкт дослідження:** БА у дітей з АД.

**Предмет дослідження:** Однонуклеотидний поліморфізм в гені *FLG*, експресія мРНК філаггріна в букальному епітелії, поліморфізм в гені *MTOR* та їх зв’язок з клінічними особливостями БА у дітей з АД.

**Методи дослідження:** клініко-анамнестичні, лабораторні (загальний аналіз крові, загальний аналіз сечі, копрограма, імунологічне дослідження (загальний IgE), шкірний прік-тест на чутливість до алергенів, визначення поліморфізму rs11204981 в гені *FLG*, поліморфізму rs11121704 в гені *MTOR*, експресії білка філаггріна в буккальному епітелії), інструментальні (спірографія з пробою на зворотність обструкції бронхів, пікфлоуметрія), статистичні методи.

**Наукова новизна одержаних результатів**. Вперше оцінено клінічне значення поліморфізму G4468→A гена *FLG* в дефекті епідермального бар’єру та його значення в розвитку та перебігу БА у дітей. Вперше комплексно оцінено особливості клінічного перебігу БА у дітей з поліморфізмом rs11204981 гена *FLG*. Вперше визначено зв’язок поліморфізму гена *FLG* та експресії мРНК філаггріна в букальному епітелії. Доведено зв’язок поліморфізму T33650→C в гені *MTOR* з розвитком алергічного фенотипу у дітей та клінічним перебігом БА. Вивчено ефективність терапії БА у дітей з урахуванням наявності поліморфізмів генів *FLG* та *MTOR.* Розроблено та науково обґрунтовано корекцію патогенетичної терапії БА у дітей з АД з урахуванням поліморфізмів генів *FLG* та *MTOR* з застосуванням холекальциферолу як препарату з імуномодулюючою та протизапальною дією.

**Практичне значення одержаних результатів**. У клінічну практику охорони здоров’я впроваджено сучасні методи генетичних досліджень у дітей з БА та АД, а саме визначення поліморфізмів генів *FLG* та *MTOR* для оцінки ризику розвитку БА у дітей з АД та прогнозування клінічного перебігу БА. Розроблено, науково обґрунтовано та впроваджено в практику корекцію патогенетичної терапії БА у дітей з АД з урахуванням поліморфізмів генів *FLG* та *MTOR* із застосуванням холекальциферолу як препарату з імуномодулюючою та протизапальною дією.

**Впровадження результатів дослідження в практику**. Результати дослідження впроваджені в практику роботи Київської міської дитячої клінічної лікарні №2, дитячої клінічної лікарні №9 Подільського району, Полтавської обласної дитячої клінічної лікарні, комунального закладу «Дніпропетровська міська дитяча клінічна лікарня №1» Дніпропетровської обласної ради», Вінницької обласної дитячої клінічної лікарні, комунальної установи «Запорізька обласна клінічна дитяча лікарня» Запорізької обласної ради».

Наукові розробки та результати дисертації використовуються в учбовому 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 вітчизняну та зарубіжну літературу з обраної теми, сформульовано мету роботи та завдання дослідження. Роботу виконано на кафедрі педіатрії №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця та базі відділу загальної та молекулярної патофізіології Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України.

Автором самостійно проведено відбір хворих та сформовано групи, здійснено клінічне спостереження, виконано первинну обробку результатів клінічних, лабораторних, інструментальних методів, особисто проведено лікування всіх хворих дітей з подальшим довгостроковим спостереженням.

Дисертантом систематизовано і узагальнено одержані результати дослідження, проведено статистичний аналіз, на підставі чого були підготовлені до друку наукові праці, написані та оформлені всі розділи дисертації, сформульовані висновки, розроблені практичні рекомендації.

Розроблено та науково обґрунтовано корекцію патогенетичної терапії БА у дітей з АД з урахуванням поліморфізмів генів *FLG* та *MTOR* із застосуванням холекальциферолу як препарату з імуномодулюючою та протизапальною дією, отримано деклараційний патент України на корисну модель (патент України № 99863).

**Апробація результатів дисертації**. Основні положення дисертації доповідались на XV Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання педіатрії» (м. Харків, 19–20 вересня 2013 року), XVІ Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання педіатрії» (м. Запоріжжя, 23–25 вересня 2014 року), 15 Конгрес СФУЛТ (м. Чернівці, 16–18 жовтня 2014 року), 7th Europaediatrics Конгрес Європейської асоціації педіатрії (м. Флоренція, Італія, 13–16 травня 2015 року), XVІІ Всеукраїнській науково-практичної 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).

**Публікації**. За матеріалами дисертації опубліковано 12наукових праць, з них 5 статей у наукових фахових журналах, рекомендованих Департаментом атестації кадрів МОН України, 1 стаття у зарубіжному виданні (Республіка Білорусь), 3 статті у інших наукових журналах, 2 тези доповідей – у матеріалах конгресів. Отримано 1 деклараційний патент України на корисну модель*.* Сукупність матеріалів, які наведені в публікаціях, 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, 4-х розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій та списку використаних джерел. Дисертацію викладено на 160 сторінках друкованого тексту українською мовою, у тому числі 26 рисунків, 48 таблиць, 25 сторінок списку використаних джерел (220 найменувань, з них 37 кирилицею та 183 латиницею).

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріали та методи дослідження.** Для досягнення поставленої мети і вирішення завдань у дослідження було включено 99 дітей основної групи (середній вік – 9,08±3,49 року, з них 59 хлопчиків і 40 дівчаток), хворих на БА та АД. До контрольної групи увійшло 99 здорових дітей (середній вік – 10,56±3,51 року, з них 57 хлопчиків і 42 дівчинки). Хворі основної групи перебували на стаціонарному лікуванні в алергологічному відділенні Київської міської дитячої клінічної лікарні №2.

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 (19640-2000 рр.) і Наказу МОЗ України №281 від 01.11.2001 р. – протокол засідання №83 від 12.11. 2014 р.

Діагноз БА верифіковано згідно наказу МОЗ України від 08.10.2013 № 868 "Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при бронхіальній астмі". Діагноз АД верифіковано згідно з наказом МОЗ України від 27.12.2005 № 767 «Про затвердження протоколів діагностики та лікування алергічних хвороб у дітей».

Включеним у дослідження дітям було проведено клініко-анамнестичне обстеження, лабораторні дослідження (загальний аналіз крові, загальний аналіз сечі, копрограма, імунологічне дослідження (загальний IgE), шкірний прік-тест на чутливість до алергенів, визначення поліморфізму rs11204981 в гені *FLG*, поліморфізму rs11121704 в гені *MTOR*, експресії білка FLG в букальному епітелії), інструментальні (спірографія з пробою на реверсивність обструкції бронхів, пікфлоуметрія), статистичні методи.

Для визначення рівня загального IgE в крові був проведений імунохімічний аналіз з електрохемілюмінесцентною детекцією (ECLIA) на аналізаторі Cobas 6000; Roche Diagnostics (Швейцарія). Референтні значення, МО/мл: 1–5 років: до 60,0; 6–9 років: до 90,0; 10–15 років: до 200,0. Коефіцієнт перерахунку: МО/мл х 2,40 = нг/мл; нг/мл х 0,42 = МО/мл).

Для визначення поліморфізму rs11204981 в гені *FLG* та поліморфізму rs11121704 в гені *MTOR* виконано генотипування поліморфізму в основній і контрольній групі за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі.

З метоюоцінки експресії гена *FLG* було використано зворотну транскрипцію і ПЛР у реальному часі з використанням RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit («Thermo Scientific», США). Експресія гену *FLG* визначалась за допомогою TaqMan assay експресії генів (HS 00856927\_g1, «Applied Biosystems», США). Аналіз даних проводився з 7500 Fast Real-Time PCR Software.

З метою визначення чутливості до алергенів та оцінки екзогенних факторів в розвитку БА у дітей з АД виконані шкірні прік-тести. Використовувалися набори алергенів ТОВ «Імунолог» (Україна).

Для оцінки функції зовнішнього дихання проводили спірографію та пробу на оборотність із застосуванням β2-агоністу короткої дії сальбутамолу. Дослідження виконували на апараті «BTL-08 Spiro Pro» (Великобританія) за загальнопрйнятою методикою. Задані прогноз-протоколи: ECCS / ERS 1993.

Отримані дані обробляли з використанням програми SPSS (версії 22.0) та програмного середовища R (версії 3.0). Для перевірки розподілу частот генотипів згідно закону розподілу Харді-Вайнберга використовували SNPAnalyzer (веб-програмне забезпечення).

Асоціацію кожного з поліморфізмів із ризиком виникнення БА досліджували за допомогою тесту χ2 та визначення відношення шансів (ВШ). Вивчалася відповідність розподілу генотипів усіх поліморфізмів, які аналізуються, згідно до закону Харді-Вайнберга. Відхилення від закону розподілу вивчалося за допомогою тесту χ2. Відмінність у частоті генотипу і алелей між основною і контрольною групами визначалась за допомогою χ2 тесту Пірсона. Відмінність у розподілі генотипів та алелей вважалася статистично значущою на рівні p < 0,05. Відмінність в ефективності терапії між двома підгрупами до та після лікування визначалась за допомогою χ2 тесту Пірсона та вважалася статистично значущою на рівні p < 0,05.

**Результати власних досліджень та їх обговорення.** Дослідження асоціації поліморфізму rs11204981 в гені *FLG* із ризиком розвитку БА проводився за допомогою тесту χ2. Виявлено, що 67 дітей (67,68 %) основної групи та 61 (61,62 %) контрольної мали мажорний алельний варіант (GG) (р > 0,05 по χ2-тесту). 27 хворих (27,27 %) основної та 36 дітей (36,36 %) контрольної були гетерозиготами (GA) (р > 0,05 по χ2-тесту, ВШ – 1,69 (95 % ДІ 0,92–3,1). У 5 пацієнтів (5,05 %) основної групи та у 2 дітей (2,02 %) контрольної групи виявлено мінорний алельний варіант (AA) (р > 0,05 по χ2-тесту, ВШ – 2,28 (95 % ДІ 0,42–12,2). Варіанти з генотипом АА з rs11204981 *FLG* визначалися в 2,5 рази частіше в основній групі, ніж у контрольній. Це вказує на те, що поліморфізм rs11204981 гена *FLG* може самостійно служити корисним маркером для прогнозування розвитку БА у дітей з АД (табл.1).

Таблиця 1

**Відношення шансів для кодомінантної моделі успадкування поліморфізму rs11204981 *FLG* у дітей основної та контрольної груп.**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Генотип | Група | | | | Відношення шансів та 95 % ДІ |
| Основна, n = 99 | | Контрольна,  n = 99 | |
| n | % | n | % |  |
| GG | 67 | 67,68 | 61 | 61,62 | 1 (ref) |
| GA | 27 | 27,27 | 36 | 36,36 | 1,69 (0,92–3,1)\* |
| AA | 5 | 5,05 | 2 | 2,02 | 2,28 (0,42–12,2)\* |

Примітка. \*р > 0,05

Ми дослідили зв’язок поліморфізму rs11204981 гена *FLG*з клінічними ознаками БА та АД (ступенем тяжкості та ступенем контролю БА, загостренням АД та ступенем його тяжкості за шкалою SCORAD, обтяженим алергологічним анамнезом, кількістю еозинофілів за даними загального аналізу крові, рівнем сироваткового загального IgE, ступенем порушень бронхіальної прохідності (ОФВ1 < 80 %, підвищенням ОФВ1 > 12 % при проведенні тесту з β2-агоністом). Статистично значущих відмінностей у розподілі генотипів в залежності від вищевказаних показників не знайдено   
(р > 0,05).

Мінорний генотип поліморфізму rs11204981 гена *FLG*бувнаявний у 12,50 % хворих з неконтрольованою БА та у 3,61 % з контрольованою та частково контрольованою БА. Отже, даний алельний варіант обумовлює більш важкий перебіг БА.

Результати генотипування показали наступний розподіл алельних варіантів в гені *MTOR*. Виявлено, що у 50 дітей (54,95 %) основної групи та 43 (49,42 %) контрольної був наявний генотип ТТ (р > 0,05 по χ2-тесту). 36 дітей (39,56 %) основної та 32 (36,78 %) контрольної групи були гетерозиготами (ТС) (р > 0,05 по χ2-тесту, ВШ – 0,97 (95 % ДІ 0,52 – 1,81).   
У 5 хворих (5,49 %) основної групи та 12 дітей (13,79 %) контрольної наявний мінорна варіант СС (р > 0,05 по χ2-тесту, ВШ – 0,36 (95 % ДІ 0,11 – 1,05). Варіанти з генотипом СС rs11121704 гена *MTOR* виявилися в 2,4 рази частіше у контрольній групі, ніж в основній, що свідчить про протекторну роль даного поліморфізму в розвитку АЗ (табл. 2).

Таблиця 2

**Відношення шансів для кодомінантної моделі успадкування поліморфізму rs11121704 в гені *MTOR* у дітей основної та контрольної груп.**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Генотип | Група | | | | Відношення шансів та  95 % ДІ |
| Основна, n = 91 | | Контрольна, n = 87 | |
| n | % | n | % |
| TT | 50 | 54,95 | 43 | 49,42 | 1,00 |
| ТС | 36 | 39,56 | 32 | 36,78 | 0,97 (0,52–1,81)\* |
| СС | 5 | 5,49 | 12 | 13,79 | 0,36 (0,11–1,05)\* |

Примітка. \*р > 0,05

Ми дослідили зв’язок поліморфізму rs11121704 гена *MTOR* зі ступенем тяжкості та ступенем контролю БА, обтяженим алергологічним анамнезом, кількістю еозинофілів за даними загального аналізу крові, ступенем порушень бронхіальної прохідності (ОФВ1 < 80 %, підвищення ОФВ1 > 12 % при проведенні тесту з β2-агоністом). Статистично значущих відмінностей у розподілі генотипів в залежності від вищезазначених показників не знайдено (р > 0,05).

З метою вивчення зв’язку генотипу поліморфізму rs11121704 гена *MTOR* з наявністю супутньої алергологічної патології ми поділили основну групу на хворих з супутніми АЗ та без супутніх АЗ. До І-ї підгрупи увійшло 22 хворих (24,18 %) без супутніх АЗ, до ІІ-ї підгрупи – 69 дітей (75,82 %) з супутніми АЗ. У І-й підгрупі у 8 хворих (36,36 %) був наявний ТТ генотип, у 10 (45,45 %) – ТС варіант, у 4 (18,18 %) – мінорний варіант. У ІІ-й підгрупі у 42 хворих (60,87 %) виявлений нормальний гомозиготний генотип, 26 хворих (37,68 %) були гетерозиготами, у 1 (1,45 %) – мінорний генотип (р > 0,05 по χ2-тесту). Отримані дані демонструють статистично значущі відмінності у розподілі генотипів в групі хворих з супутніми АЗ та групі хворих без АЗ (χ2= 10,58; р < 0,05) (табл. 3).

Таблиця 3

**Відношення шансів у залежності від наявності супутніх алергічних захворювань у дітей основної групи.**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Кодомінантна модель | | | | | | | | |
| Генотип | І підгрупа | | | | ІІ підгрупа | | Відношення шансів | p–значення |
| n | % | | | n | % |
| ТТ | 8 | 36,36 | | | 42 | 60,87 | 1,00 |  |
| ТС | 10 | 45,45 | | | 26 | 37,68 | 0,5 (0,17 – 1,41) | < 0,05 |
| СС | 4 | 18,18 | | | 1 | 1,45 | 0,05 (0–0,37) |  |
| Домінантна модель | | | | | | | | |
| ТТ | 8 | 36,36 | | 42 | | 60,87 | 1,00 |  |
| ТС+СС | 14 | 63,64 | | 27 | | 39,13 | 0,37 (0,13–0,97) | < 0,05 |
| Рецесивна модель | | | | | | | | |
| ТТ+ТС | 18 | | 81,82 | | 68 | 98,55 | 1,00 |  |
| СС | 4 | | 18,18 | | 1 | 1,45 | 0,07 (0–0,48) | < 0,05 |

Таким чином, мінорний генотип зустрічається в 4 рази частіше в групі хворих дітей на БА без супутніх АЗ, ніж в в групі з супутніми АЗ. Враховуючи навдені дані та те, що генотип СС був виявлений в 2,4 рази частіше у здорових дітей, ніж у хворих на БА, а також в 4 рази частіше в групі хворих на БА без супутніх АЗ, можна зробити висновок про протективну роль даного алельного варіанту: носії мінорного генотипу мають меншу схильність до розвитку АЗ та БА зокрема.

У дослідженні вивчений зв’язок підвищеного рівня сироваткового загального IgE та поліморфізму rs11121704 гена *MTOR*. Для цього хворі основної групи були поділені на 2 підгрупи. До І-ї підгрупи увійшов 21 хворий (38,89 %) з підвищеним рівнем сироваткового загального IgE, до ІІ-ї – 33 дитини (61,11 %) з нормальним рівнем сироваткового загального IgE. У І-й підгрупі у 15 обстежених (71,42 %) був наявний ТТ генотип, 6 хворих (28,57 %) мали ТС генотип, мінорний варіант відсутній в даній групі. У ІІ-й підгрупі у 13 хворих (39,39 %) був наявний ТТ генотип, 16 (48,48 %) були гетерозиготами, 4 (12,12 %) – мінорними гомозиготами (р > 0,05 по χ2-тесту) (табл. 4).

Таблиця 4

**Відношення шансів у залежності від підвищеного рівня сироваткового загального IgE у дітей основної групи.**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Кодомінантна модель | | | | | | |
| Генотип | Рівень сироваткового загального IgE | | | | Відношення шансів | p–значення |
| підвищений | | нормальний | |
| n | % | n | % |
| ТТ | 15 | 71,42 | 13 | 39,39 | 1,00 |  |
| ТС | 6 | 28,57 | 16 | 48,48 | 3,08 (0,96–10,78) | < 0,05 |
| СС | 0 | 0,00 | 4 | 12,12 | (0–NA) |  |
| Домінантна модель | | | | | | |
| ТТ | 15 | 71,42 | 13 | 39,39 | 1,00 |  |
| ТС+СС | 6 | 28,57 | 20 | 60,61 | 3,85 (1,23–13,26) | < 0,05 |
| Рецесивна модель | | | | | | |
| ТТ+ТС | 21 | 100,00 | 29 | 87,88 | 1,00 |  |
| СС | 0 | 0,00 | 4 | 12,12 | (0–NA) | 1 |

Отримані дані демонструють наявність статистично значущих відмінностей у розподілі генотипів в групі хворих на БА з підвищеним рівнем загального IgE в крові та в групі хворих на БА з нормальним рівнем (χ2 = 6,33; р < 0,05). Отже, мінорний варіант СС має протективне значення в розвитку БА та достовірно частіше зустрічається у здорових дітей. Алель Т поліморфізму rs11121704 гена *MTOR* пов’язана з розвитком IgE сенсибілізації та БА у дітей.

З метою дослідження функціонального значення поліморфізму гена *FLG*в порушенні бар’єрної функції шкіри та розвитку алергічного запалення було досліджено рівень експресії мРНК FLG в залежності від поліморфізму гена. Рівень експресії мРНК FLG у носіїв нормального гомозиготного генотипу становив 22,80±11,67 (р > 0,05 порівняно з генотипом АА), 92,95±35,30 у гетерозигот (р < 0,05 в порівнянні з GG генотипом) і 21,80±13,40 у носіїв мінорного генотипу (р > 0,05 порівняно з GA генотипом) Отже, гетерозиготний варіант поліморфізму гена *FLG* має достовірно вищу експресію FLG в епітелії слизової оболонки рота, що свідчить про протективну роль даного алельного варіанту. Таким чином, можна зробити висновок, що поліморфізм гена *FLG* є функціональний та впливає на експресію FLG. Наявність гетерозиготного варіанту попереджує розвиток БА та АД. Наявність мінорного патологічного генотипу сприяє порушенню епідермального бар’єру з наступним розвитком алергічної сенсибілізації.

Для вирішення завдання щодо розробки та впровадження в практику охорони здоров’я корекції патогенетичної терапії у дітей, хворих на БА з АД з урахуванням поліморфізмів генів *FLG* та *MTOR* холекальциферол як препарат з імуномодулюючою та протизапальною дією був застосований у 63 дітей групи ризику – носіїв патологічних генотипів генів *FLG* і *MTOR* зі зниженим рівнем FLG та порушеним епідермальним бар’єром. Серед них 5 дітей з генотипом АА поліморфізму rs11204981 в гені *FLG*, 8 дітей з низьким рівнем експресії мРНК FLG в буккальному епітелії та 50 дітей з генотипом ТТ поліморфізму rs11121704 в гені *MTOR*. Ці 63 дитини були поділені на 2 підгрупи. До І-ї підгрупи увійшло 18 хлопчиків (58,00 %) та 13 дівчат (42,00 %) (середній вік 9±2,12 року), до ІІ-ї підгрупи – 20 хлопчиків (62,50 %) та 12 дівчат (37,50 %) (середній вік 8±2,51 року). Віковий та статевий склад дітей І-ї та ІІ-ї підгрупи статистично достовірно не відрізнялися (p < 0,05).

Враховуючи результати попередніх досліджень Sidbury R. (2008), Amestejani M. (2012), нами було запропоновано додавання до базисної терапії БА холекальциферолу у дозі 1000 МО 1 раз на добу протягом 3 місяців. Діти І-ї підгрупи отримували базисну терапію та холекальциферол по 1000 МО 1 раз на добу протягом 3 місяців, діти ІІ-ї підгрупи отримували базисну терапію протягом 3 місяців.

Контрольне обстеження хворих І-ї та ІІ-ї підгруп виконувалося через 3 місяці від початку лікування. Оцінку ефективності лікування проводили за такими критеріями: частота загострень БА, ступінь тяжкості загострень, показники спірографії (ОФВ1), добові коливання пікової швидкості видиху (ПШВ), застосування сальбутамолу за потребою для зняття симптомів БА та ступінь тяжкості АД за шкалою SCORAD.

Аналіз ефективності лікування хворих основної групи показав, що призначене лікування призвело до підвищення ступеня контролю БА як у І-й, так і в ІІ-й підгрупах. В І-й підгрупі покращення контрольованості БА спостерігалось у 19 хворих (61,29 %), в ІІ-й – у 4 дітей (12,50 %). Однак, в І-й підгрупі підвищення ступеня контролю було достовірним, а у ІІ-й підгрупі – не достовірним (χ2 = 14,42; р < 0,05 та χ2 = 1,08; р > 0,05 відповідно) (табл. 5).

Таблиця 5

**Динаміка перебігу бронхіальної астми в І-й та ІІ-й підгрупах**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Ознака | І-а підгрупа | | | | ІІ-а підгрупа | | | |
| До лікування | | Після лікування | | До лікування | | Після лікування | |
| n | % | n | % | n | % | n | % |
| Контрольований перебіг | 12 | 38,71 | 26 | 83,87\* | 14 | 43,75 | 18 | 56,25 |
| Частковий контрольований перебіг | 14 | 45,16 | 5 | 16,13\* | 12 | 37,50 | 10 | 31,25 |
| Неконтрольований перебіг | 5 | 16,13 | 0 | 0,0\* | 6 | 18,75 | 4 | 12,50 |
| Всього | 31 | 100 | 31 | 100 | 32 | 100 | 32 | 100 |

Примітка. \*р < 0,05

Таким чином, додавання до базисної терапії БА холекальциферолу у дозі 1000 МО протягом 3 місяців призводить до покращення її контрольованості у порівнянні з призначенням виключно базисної терапії (χ2 = 5,34; р < 0,05).

Досягнення контролю або часткового контролю БА дозволило через 3 місяці після початку лікування призначити цим хворим базисне лікування, що відповідало об’єму меншої сходинки. У І-й підгрупі 6 хворих (19,35 %) після лікування почали отримувати базисну терапію, що відповідає об’єму меншого кроку терапії. У ІІ-й підгрупі таких дітей було 3 (9,38 %) (табл. 6).

Таблиця 6

**Динаміка об’єму базисної терапії в І-й та ІІ-й підгрупах до та після лікування**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Крок | І-а підгрупа | | | | ІІ-а підгрупа | | | |
| До лікування | | Після лікування | | До лікування | | Після лікування | |
| n | % | n | % | n | % | n | % |
| 1 | 3 | 9,68 | 5 | 16,13 | 6 | 18,75 | 8 | 25,00 |
| 2 | 19 | 61,29 | 21 | 67,74 | 16 | 50,00 | 14 | 43,75 |
| 3 | 6 | 19,35 | 5 | 16,13 | 7 | 21,86 | 8 | 25,00 |
| 4 | 3 | 9,68 | 0 | 0,0 | 3 | 9,38 | 2 | 6,25 |
| 5 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 |
| Всього | 31 | 100 | 31 | 100 | 32 | 100 | 32 | 100 |

Отже, додавання холекальциферолу до базисної терапії БА у дозі 1000 МО протягом 3 місяців приводить дозастосування менших доз інгаляційних глюкокортикостероїдів у дітей, хворих на БА (χ2 = 3,74; р > 0,05).

Дослідження частоти загострень БА та їх тривалості під впливом проведеного лікування виявивило, що динаміка цих показників в І-й та ІІ-й підгрупах була різною: в І-й підгрупі достовірно зменшилась частота загострень (χ2 = 14,91; р < 0,05) та їх тривалість (χ2 = 8,71; р < 0,05), у ІІ-й підгрупі ці клінічні прояви БА зменшились недостовірно (χ2 = 0,111; р > 0,05 та χ2 = 0,267; р > 0,05 відповідно) (табл. 7, 8).

Таблиця 7

**Частота загострень бронхіальної астми в І-й та ІІ-й підгрупах до та після лікування**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Частота загострень БА | І-а підгрупа | | | | ІІ-а підгрупа | | | |
| До лікування | | Після лікування | | До лікування | | Після лікування | |
| n | % | n | % | n | % | n | % |
| <1 разу на місяць | 11 | 35,58 | 26 | 83,87\* | 6 | 18,75 | 7 | 21,86 |
| 2–3 рази на місяць | 12 | 38,71 | 5 | 16,13\* | 15 | 46,89 | 14 | 43,75 |
| >1 раз на тиждень | 6 | 19,35 | 0 | 0\* | 8 | 25,00 | 11 | 34,38 |
| Щоденно | 2 | 6,45 | 0 | 0,0\* | 3 | 9,38 | 0 | 0,00 |
| Всього | 31 | 100 | 31 | 100 | 32 | 100 | 32 | 100 |

Примітка. \*р < 0,05

Таблиця 8

**Тривалість загострень бронхіальної астми в І-й та ІІ-й підгрупах до та після лікування**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Тривалість загострення БА | І-а підгрупа | | | | ІІ-а підгрупа | | | |
| До лікування | | Після лікування | | До лікування | | Після лікування | |
| n | % | n | % | n | % | n | % |
| До 10 днів | 21 | 67,74 | 31 | 100,00\* | 19 | 59,38 | 21 | 65,63 |
| Більше 10 днів | 10 | 32,26 | 0 | 0,00\* | 13 | 40,63 | 11 | 34,38 |
| Всього | 31 | 100 | 31 | 100 | 32 | 100 | 32 | 100 |

Примітка. \*р < 0,05

Таким чином, додавання холекальциферолу до базисної терапії БА в дозі 1000 МО протягом 3 місяців зменшує тривалість та частоту загострень захворювання.

Дослідження частоти нападів БА, які потребували госпіталізації протягом 3 місяців та нічних приступів БА в І-й та ІІ-й підгрупах. В І-й підгрупі кількість нападів, що потребували госпіталізації протягом 3 місяців зменшились у 7 хворих (22,58 %), кількість нічних приступів у 11 дітей (35,48 %). В ІІ-й підгрупі – у 3 хворих (9,38 %) та 5 дітей (15,62 %) відповідно. Проте, в І-й підгрупі зменшення частоти цих показників було достовірним (χ2 = 5,42; р < 0,05 та χ2 = 8,71; р < 0,05 відповідно), а у ІІ-й підгрупі – не достовірним (χ2 = 0,59; р > 0,05 та χ2 = 3,23; р > 0,05 відповідно) (рис. 1, 2).



Примітка. \*р < 0,05

Рис. 1. Кількість хворих, що мали нічні симптоми ≥ 2 разів на місяць до та після лікування в основній групі

 Примітка. \*р < 0,05

Рис. 2. Кількість хворих, що мали напади БА, які потребували госпіталізації до та протягом 3 місяців після лікування в основній групі.

Отже, додавання холекальциферолу до базисної терапії БА в дозі 1000 МО протягом 3 місяців достовірно зменшує кількість нападів, які потребують госпіталізації та кількість нічних приступів.

При вивченні частоти застосування β2-агоністу короткої дії сальбутамолу за потребою для зняття симптомів БА більше 2 разів на тиждень у дозі 100 мкг інгаляційно 3–4 рази на добу в залежності від додавання холекальциферолу до базисної терапії БА виявлено наступне.   
У І підгрупі застосування сальбутамолу зменшилось у 10 хворих (32,26 %), в ІІ-й підгрупі – у 5 дітей (15,62 %). Отримані результати демонструють, що в І-й підгрупі після лікування достовірно зменшилось застосування сальбутамолу за потребою для зняття симптомів БА (χ2 = 7,38; р < 0,05). В ІІ-й підгрупі статистичної достовірності не було досягнуто (χ2 = 1,70; р > 0,05) (табл. 9).

Таблиця 9

**Застосування сальбутамолу у дітей основної групи більше 2 разів на тиждень** **за потребою для зняття симптомів бронхіальної астми до та після лікування**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Сальбутамол | І-а підгрупа | | | | ІІ-а підгрупа | | | |
| До лікування | | Після лікування | | До лікування | | Після лікування | |
| n | % | n | % | n | % | n | % |
| Не застосовувався | 16 | 51,61 | 26 | 83,87\* | 18 | 56,25 | 23 | 71,88 |
| Застосовувався | 15 | 48,39 | 5 | 16,13\* | 14 | 43,75 | 9 | 28,13 |
| Всього | 31 | 100 | 31 | 100 | 32 | 100 | 32 | 100 |

Примітка. \*р < 0,05

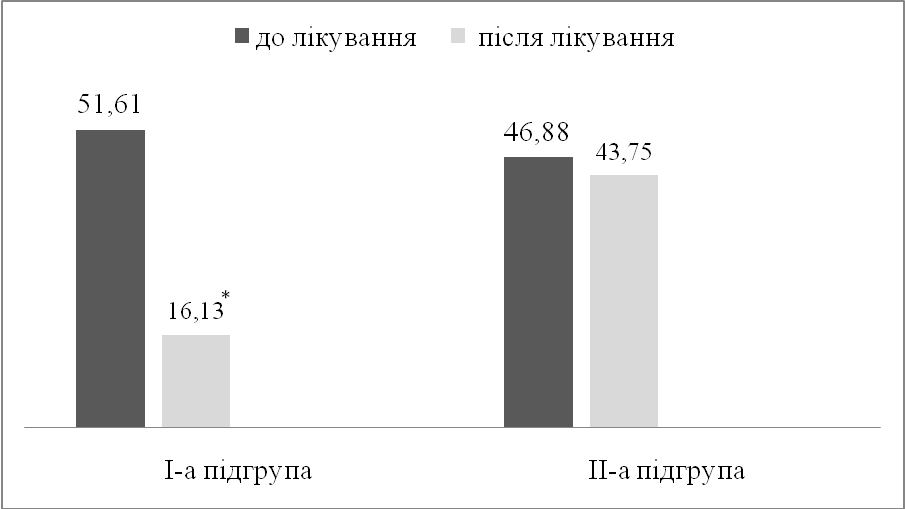
Можна зробити висновок, що додавання холекальциферолу до базисної терапії БА достовірно зменшує застосування β2-агоністу короткої дії сальбутамолу для зняття симптомів БА.

При вивченні динаміки показників функції зовнішнього дихання під впливом лікування були отримані такі результати. Зменшення показникуОФВ1 < 80 % від належного виявлено в І-й підгрупі у 18 хворих (64,29 %) до лікування та у 10 (35,71 %) після лікування. У ІІ-й підгрупі у 19 дітей (70,37 %) – до лікування та у 16 (59,26 %) після. Добові коливання ПШВ > 20 % в І-й підгрупі спостерігались у 16 дітей (51,61 %) до лікування та у 5 (16,13 %) після. У ІІ-й підгрупі – у 15 (46,88 %) та у 14 (43,75 %) відповідно (рис. 3, 4).



Примітка. \*р < 0,05

Рис. 3. ОФВ1 в основній групі до та після лікування



Примітка. \*р < 0,05

Рис. 4. Добове коливання ПШВ > 20 % в основній групі до та після лікування

Таким чином, в І-й підгрупі досягнуло статистичної достовірності підвищення ОФВ1 (χ2 = 4,57; р < 0,05) та зменшення добового коливання ПШВ після лікування (χ2 = 8,71; р < 0,05). У ІІ-й підгрупі статистичної достовірності за цими показниками не було досягнуто (χ2 = 0,73 та χ2 = 0,06, відповідно, р > 0,05). Додавання холекальциферолу до базисної терапії БА підвищує ефективність лікування БА, покращуючи показники функції зовнішнього дихання.

У ході дослідження оцінено ступінь тяжкості АД у хворих на БА згідно індексу SCORAD до та після лікування.У І-й підгрупі до лікування 6 дітей (27,27 %) мали індекс SCORAD < 20 балів, у 9 хворих (40,91 %) індекс SCORAD знаходився у межах 20–40 балів, у 7 (31,82 %) – > 40 балів. Через 3 місяці після лікування 12 дітей (54,55 %) мали індекс SCORAD < 20 балів і у 10 хворих (45,55 %) він знаходився у межах 20–40 балів. У ІІ-й підгрупі до лікування 13 дітей (61,90 %) мали індекс SCORAD < 20 балів, у 6 хворих (28,57 %) цей показник знаходився у межах 20–40 балів, у 2 (9,52 %) – > 40 балів. Після лікування у ІІ-й підгрупі 14 хворих (66,67 %) мали індекс SCORAD < 20 балів, 6 (28,57 %) – у межах 20–40 балів, 1 (4,76 %) – > 40 балів (табл. 10).

Таблиця 10

**Індекс SCORAD у дітей основної групи до та після лікування**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Індекс SCORAD | І-а підгрупа | | | | ІІ-а підгрупа | | | |
| До лікування | | Після лікування | | До лікування | | Після лікування | |
| n | % | n | % | n | % | n | % |
| <20 | 6 | 27,27 | 12 | 54,55\* | 8 | 38,10 | 10 | 47,62 |
| 20–40 | 9 | 40,91 | 10 | 45,45\* | 6 | 28,57 | 8 | 38,10 |
| >40 | 7 | 31,82 | 0 | 0,0\* | 7 | 33,33 | 3 | 14,29 |
| Всього | 22 | 100 | 22 | 100 | 21 | 100 | 21 | 100 |

Примітка. \*р < 0,05

Отже, додавання холекальциферолу до базисної терапії БА призводить до зменшення індексу SCORAD (табл. 10).

Таким чином, можна зробити висновок, що додавання холекальциферолу до базисної терапії БА у дозі 1000 МО протягом 3 місяців приводить до достовірного зниження частоти та тривалості загострень захворювання, зменшення кількості нічних нападів та нападів, що потребують госпіталізації, покращує показники функції зовнішнього дихання, зменшує застосування сальбутамолу за потребою для зняття симптомів та зменшує індекс SCORAD. Це дозволяє рекомендувати запропоновану схему лікування при різних ступенях тяжкості БА у дітей з АД.

**ВИСНОВКИ**

1. БА є важливою медичною і соціальною проблемою та займає провідне місце серед хвороб дитячого віку. Актуальність даного дослідження обумовлена підвищенням захворюваності та смертності, раннім початком хвороби, пізньою діагностикою. Доведеним предиктором розвитку БА у дітей з АД є поліморфізм rs11204981 гена *FLG*. Варіанти з генотипом АА з rs11204981 гена *FLG* зустрічаються в 2,5 рази частіше серед дітей, хворих на БА та АД у порівнянні зі здоровими. Мінорний генотип наявний у 12,50 % хворих з неконтрольованою БА та у 3,61 % з контрольованою та частково контрольованою БА, отже, обумовлює більш важкий перебіг БА.
2. Варіанти генотипу СС rs11121704 в гені *MTOR* виявляються в 2,4 рази частіше у здорових дітей, ніж серед хворих на БА та АД, що свідчить про протективну роль мінорного генотипу поліморфізму гена *MTOR*.
3. У дітей, хворих на БА та АД з підвищеним та з нормальним рівнем загального IgE в крові, мають місце статистично значущі відмінності в розподілі генотипів поліморфізму rs11121704 в гені *MTOR* (p < 0,05). Встановлені відмінності в розподілі генотипів в групі хворих на БА з супутньою алергічною патологією та без неї (p < 0,05), – носії мажорного генотипу мають схильність до більш важкого перебігу АЗ.
4. Рівень експресії мРНК філаггріна у хворих з GG генотипом становить 22,8 ± 11,67 (р > 0,05 порівняно з генотипом АА), 92,95 ± 35,3 для GA генотипу (р < 0,05 в порівнянні з GG генотипом) і 21,8 ± 13,4 для генотипу АА (р > 0,05 порівняно з GA генотипом). Гетерозиготний варіант поліморфізму rs11204981 гена *FLG* має вищу експресію філаггріна, що попереджує розвиток АД та БА; мінорний патологічний генотип сприяє порушенню епідермального бар’єру з подальшим розвитком алергічної сенсибілізації.
5. Застосування в комплексній терапії дітей з БА та АД з наявністю поліморфізму АА rs11204981 гена *FLG* та поліморфізму ТТ rs11121704 гена *MTOR* холекальциферолу у дозі 1000 МО протягом 3 місяців призводить до зменшення частоти та тривалості загострень захворювання, кількості загострень БА, які потребують госпіталізації, покращує показники функції зовнішнього дихання та зменшує індекс SCORAD (р < 0,05).

**ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

1. З метою підвищення ефективності ранньої діагностики та лікування БА доцільно визначати групу ризику серед дітей, що мають АД з урахуванням наявності АЗ у близьких родичів.

2. У дітей з групи ризику доцільно визначити поліморфізми rs11204981 в гені *FLG* та rs11121704 в гені *MTOR*.

3. В комплексній терапії БА та АД при наявності патологічного гомозиготного генотипу поліморфізму rs11204981 гена *FLG*, низького рівня експресії мРНК філаггріна, мажорного гомозиготного варіанту rs11121704 гена *MTOR* рекомендовано використання холекальциферолу у дозі 1000 МО протягом 3 місяців на тлі загальноприйнятої базисної терапії.

4. При застосуванні в комплексній терапії БА та АД холекальциферолу у дозі 1000 МО протягом 3 місяців можливе використання менших доз інгаляційних глюкокортикостероїдів.

5. Застосування холекальциферолу у дозі 1000 МО протягом 3 місяців сприяє більш повному контролю БА, що, в свою чергу, дозволяє зменшити застосування β2-агоністів короткої дії.

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

* 1. Волосовец А. П. Роль филагрина в аллергологии детского возраста / А. П. Волосовец, С. П. Кривопустов, Е. В. Павлик // Здоровье ребенка. – 2013. – № 2. – С. 156–161 *(Здобувачем зібрано, систематизовано та проаналізовано матеріал, підготовлено статтю до друку)*.
  2. [Функціональне значення однонуклеотидного поліморфізму (RS11204981) в гені філагрину (FLG) для лікування бронхіальної астми у дітей з атопічним дерматитом](http://www.mif-ua.com/archive/article/40051) / О. П. Волосовець, В. Є. Досенко, С. П. Кривопустов, О. В. Павлик, О. В. Ємець, Д. О. Строй // Здоровье ребенка. – 2015. – № 1. – С. 14–18 *(Здобувачем особисто проведено збір матеріалу, аналіз даних, статистична обробка результатів, узагальнення висновків, підготовка до друку)*.
  3. 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 проведено збір матеріалу, аналіз даних, статистична обробка результатів, узагальнення висновків, підготовка до друку)*.
  4. Volosovets A. The role of protein kinase mTOR in Th2 polarization of the immune response in bronchial asthma in children / A. Volosovets, S. Kryvopustov, O. Pavlyk // Здоровье ребенка. – 2015. – №7. – С. 6–11*(Здобувачем особисто проведено збір матеріалу, аналіз даних, статистична обробка результатів, узагальнення висновків, підготовка до друку)*.
  5. 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 проведено збір матеріалу, аналіз даних, статистична обробка результатів, узагальнення висновків, підготовка до друку)*.
  6. Volosovets A. Filaggrin gene defects and risk of development of the phenotypes involved in the atopic march in children / A. Volosovets, S. Kryvopustov, A. Pavlyk [i. e. E. Pavlyk] // Педиатрия. Восточная Европа. – 2014. – Т. 5, № 1. – С. 109–117 *(Здобувачем зібрано, систематизовано та проаналізовано матеріал, підготовлено статтю до друку)*.
  7. Волосовец А. П. Роль аллергического воспаления в повседневной врачебной практике. Оптимизация противоаллергической терапии / А. П. Волосовец, С. П. Кривопустов, Е. В. Павлик // Мистецтво лікування. – 2010. – № 1. – С. 70–74 *(Здобувачем зібрано, систематизовано та проаналізовано матеріал, підготовлено статтю до друку).*
  8. Волосовец А. П. Вопросы генетики аллергических заболеваний у детей / А. П. Волосовец, С. П. Кривопустов, Е. В. Павлик // Дитячий лікар. – 2013. – № 7. – С. 5–8 *(Здобувачем зібрано, систематизовано та проаналізовано матеріал, підготовлено статтю до друку)*.
  9. Роль дефіциту вітаміну D3 в патогенезі бронхіальної астми та атопічного дерматиту / О. П. Волосовець, В. Є. Досенко, С. П. Кривопустов, О. В. Павлик // Дитячий лікар. – 2015. – № 8. – С. 11–13 *(Здобувачем зібрано, систематизовано та проаналізовано матеріал, підготовлено статтю до друку)*.
  10. Волосовець О. П. Взаємозв’язок шкіри та імунної системи при атопічних захворюваннях у дітей / О. П. Волосовець, С. П. Кривопустов, О. В. Павлик // Актуальні проблеми педіатрії: матеріали 10 Конгресу педіатрів України, 6-8 жовтня 2014 р. – С.17 *(Здобувачем зібрано, систематизовано та проаналізовано матеріал, підготовлено тези до друку)*.
  11. 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)*.
  12. Пат. 99863 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**

**Павлик О.В. Особливості клінічного перебігу бронхіальної астми у дітей з поліморфізмом гена структурного білка шкіри та шляхи підвищення ефективності її терапії.** – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеню 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 лікування БА у дітей з АД шляхом удосконалення її патогенетичної терапії з урахуванням поліморфізмів генів філаггріна (*FLG*) та білку-мішені рапаміцину (*MTOR*).

Доведеним предиктором розвитку БА у дітей з АД є поліморфізми генів *FLG* та *MTOR*. Варіанти з генотипом АА rs11204981 гена *FLG* зустрічаються в 2,5 рази частіше серед дітей, хворих на БА та АД у порівнянні зі здоровими. Варіанти генотипу СС rs11121704 гену *MTOR* виявляються в 2,4 рази частіше у здорових дітей, ніж серед хворих на БА та АД. Виявлено статистично значущий зв’язок між генотипом СС rs11121704 гена *MTOR* і наявністю супутньої алергічної патології та підвищеного рівня загального IgE в крові. При вивченні експресії FLG встановлено протективне значення гетерозиготного варіанту поліморфізму гена *FLG*.

Обґрунтовано доцільність застосування холекальциферолу в комплексній терапії дітей з БА та АД з наявністю поліморфізму АА гена *FLG* та поліморфізму ТТ гена *MTOR*.

**Ключові слова:** діти, бронхіальна астма, атопічний дерматит, філаггрін, *MTOR*, холекальциферол.

**АННОТАЦИЯ**

**Павлик Е.В. Особенности клинического течения бронхиальной астмы у детей с полиморфизмом гена структурного белка кожи и пути повышения эффективности ее терапии.** – 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 проблеме современной педиатрии – повышению эффективности лечения БА у детей с АД путем совершенствования ее патогенетической терапии с учетом полиморфизмов гена филаггрина (*FLG*) и белка-мишени рапамицина (*MTOR*).

Доказанным предиктором развития БА у детей с АД является полиморфизм rs11204981 гена *FLG*. Варианты с генотипом АА с rs11204981 *FLG* встречаются в 2,5 раза чаще среди детей, больных БА и АД по сравнению со здоровыми. У 5 % детей, больных БА и АД и 2 % здоровых детей имеется минорный генотип, 27,3 % и 36,4 %, соответственно, являются гетерозиготами, 67,7 % и 61,6 % детей, соответственно, имеют мажорный генотип (р > 0,05).

Варианты генотипа СС rs11121704 в гене *MTOR* оказываются в 2,4 раза чаще у здоровых детей, чем среди больных БА и АД, что свидетельствует о протективной роли минорного генотипа полиморфизма гена *MTOR*.

У детей, больных БА и АД с повышенным и с нормальным уровнем общего IgE в крови, имеют место статистически значимые различия в распределении генотипов полиморфизма rs11121704 в гене *MTOR* (p < 0,05). Установлены статистически значимые различия в распределении генотипов в группе больных БА с сопутствующей аллергической патологией и без нее (p < 0,05), что указывает на протективное значение данного аллельного варианта – носители минорного генотипа имеют меньшую склонность к развитию аллергических заболеваний, в частности, БА.

Уровень экспрессии мРНК филаггрина у больных с GG генотипом составляет 22,8 ± 11,67 (р > 0,05 по сравнению с генотипом АА), 92,95 ± 35,3 для GA генотипа (р < 0,05 по сравнению с GG генотипом ) и 21,8 ± 13,4 для генотипа АА (р > 0,05 по сравнению с GA генотипом). Гетерозиготный вариант полиморфизма rs11204981 гена *FLG* имеет более высокую экспрессию филаггрина, что предупреждает развитие АД и БА; минорный патологический генотип способствует нарушению эпидермального барьера с последующим развитием аллергической сенсибилизации.

Применение в комплексной терапии детей с БА и АД с наличием полиморфизма АА rs11204981 гена *FLG* и полиморфизма ТТ rs11121704 гена *MTOR* холекальциферола в дозе 1000 МЕ в течение 3 месяцев приводит к уменьшению частоты и продолжительности обострений заболевания, количества обострений БА, требующих госпитализации, улучшает показатели функции внешнего дыхания и уменьшает индекс SCORAD (р < 0,05).

**Ключевые слова:** дети, бронхиальная астма, атопический дерматит, филаггрин, *MTOR*, холекальциферол.

**ANNOTATION**

**Pavlyk O.V. The features of clinical course of asthma in children with polymorphism skin structural protein gene and ways to improve its treatment.** – Manuscript.

Dissertation for the obtainment of scientific degree of the candidate of Medical Science in specialіty 14.01.10 – Pediatrics. – O. O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, 2016.

Dissertation is dedicated to solve the task of improving the efficiency of the treatment of asthma in children with AD by improving its pathogenetic therapy considering *FLG* and the protein target of rapamycin (*MTOR*) gene polymorphisms.

Proven predictors of asthma in children with AD are *FLG* and *MTOR* gene polymorphisms. Variants of the AA *FLG* genotype rs11204981 are 2.5 times more common among children with asthma and AD compared with healthy children. CC genotype of rs11121704 in the *MTOR* gene are 2.4 times more often occurred in healthy children than among patients with asthma and AD. It was found a statistically significant association between genotype of rs11121704 in *MTOR* gene, concomitant allergic diseases and elevated levels of total IgE in the blood. Protective role of heterozygous variant of *FLG* gene polymorphism was proven during analysis of the expression of FLG.

Expediency of cholecalciferol addition in the treatment of children with asthma and AD with AA *FLG* gene polymorphism and TT *MTOR* gene polymorphism was firmly established.

Key words: children, bronchial asthma, atopic dermatitis, *FLG*, *MTOR*, cholecalciferol.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

АД – атопічний дерматит

АЗ – алергічні захворювання

БА – бронхіальна астма

ВШ – відношення шансів

ОФВ1 – об’єм форсованого видиху за 1 секунду

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція

ПШВ – пікова швидкість видиху

FLG – філаггрін

*FLG* – ген, кодуючий філаггрін

IgE – імуноглобулін Е

*MTOR* – білок-мішень рапаміцину