

КЛІНІКО-ГЕНЕТИЧНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ ФОРМУВАННЯ ТА ПЕРЕБІГУ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ В ДИТЯЧОМУ ВІЦІ

КЛІНІКО-ГЕНЕТИЧНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ ФОРМУВАННЯ ТА ПЕРЕБІГУ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ В ДИТЯЧОМУ ВІЦІ – Досліджено особливості перебігу бронхіальної астми серед пацієнтів з обтяженим алергологічним анамнезом із різними генотипами Arg16Gly гена β_2 -адренорецепторів. Проведено аналіз асоціації поліморфізму досліджених генів із особливостями алергоанамнезу, а також виявлено кореляційну залежність рівня IgE від супутніх алергічних патологій. У ході дослідження встановлено переважання гетерозиготного варіанта Arg/Gly (42,57 %) та гомозиготного варіанта Gly/Gly (43,56 %) гена ADR β_2 -рецепторів, а також підтверджено вплив обтяженого алергоанамнезу на реалізацію бронхіальної астми у дітей.

КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ И ТЕЧЕНИЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ В ДЕТСКОМ ВОЗРАСТЕ – Исследованы особенности течения бронхиальной астмы у пациентов с обтяженным аллергологическим анамнезом с различными генотипами Arg16Gly гена β_2 -адренорецепторов. Проведен анализ ассоциации полиморфизма исследованных генов с особенностями алергоанамнеза, а также выявлено корреляционную зависимость уровня IgE от сопутствующих аллергических патологий. В ходе исследования установлено преобладание гетерозиготного варианта Arg/Gly (42,57 %) и гомозиготного варианта Gly/Gly (43,56 %) гена ADR β_2 -рецепторов, а также подтверждено влияние обтяженного алергоанамнеза на реализацию бронхиальной астмы у детей.

CLINICAL AND GENETIC PATTERNS OF FORMATION AND COURSE OF BRONCHIAL ASTHMA IN THE CHILDHOOD – There were investigated the features of the course of bronchial asthma in the patients with burdened allergic anamnesis with different Arg16Gly genotypes of the β_2 -adrenergic receptors gene. The analysis of the association of polymorphisms of investigated genes with features of allergic anamneses was conducted and it was found a correlation dependence of IgE level from concomitant allergic pathologies. During the study it was found the prevalence of Arg / Gly (42.57 %) heterozygous option and Gly / Gly (43.56 %) homozygous option of ADR β_2 receptor gene, and also it was confirmed the impact of burdened allergic anamnesis on the realization of asthma in children.

Ключові слова: бронхіальна астма; алергоанамнез; поліморфізм генів; діти.

Ключевые слова: бронхиальная астма; алергоанамнез; полиморфизм генов; дети.

Key words: bronchial asthma; allergic anamnesis; gene polymorphism; children.

ВСТУП Упродовж останніх десятиліть вагому частку серед найбільш поширених хронічних нозологій дитячого віку займає бронхіальна астма (БА) [1]. Беручи до уваги численні дослідження, направлені на вивчення патогенетичних механізмів виникнення даного захворювання, розширення діагностичного пошуку за допомогою додаткових лабораторно-інструментальних методів обстеження, розробки профілактичних заходів, продовжує спостерігатись зростання захворюваності та труднощі в досягненні медикаментозного контролю над перебігом БА. Множинні фактори зовнішнього середовища зумовлюють сенсibiliзацію дитячого організму, особливо при обтяженому спадковому анамнезі [2]. Взаємодія даних чинників, а саме сукупність генетичних маркерів і фенотипових ознак, зумовлюють появу бронхообструктивного

синдрому вже в ранньому віці, що потребує превентивних заходів попередження алергії та запровадження додаткових методів діагностики [5, 10].

Згідно з отриманими результатами багатьох досліджень, одним із провідних маркерів atopії є IgE, що бере активну участь в активації синтезу медіаторів запалення та відіграє провідну роль у патогенезі імунної стадії алергії. Гіперпродукція IgE при БА, зумовлена активацією показників цитокінового ряду, призводить до гіперреактивності бронхів та прогресування виразності патологічних змін [3, 6]. Проте очевидним є генетично зумовлена активність даного показника в сироватці крові. Тому дослідження генотипових ознак дасть можливість розробити ряд заходів, що будуть сприяти попередженню захворюваності та сприяти адекватній терапії, у свою чергу, зменшуючи медикаментозне навантаження на дитячий організм [4, 9].

Очевидним є те, що умови зовнішнього оточення разом з генетичними особливостями вирізняють дебют хвороби, її перебіг та терапевтичний супровід [7, 8]. Саме тому існує реальна потреба запровадження нових методів діагностики, що допомагатиме вчасній постановці діагнозу та медикаментозній корекції.

Метою дослідження було проаналізувати особливості алергоанамнезу в дітей із бронхіальною астмою та дослідити взаємозв'язок дебюту захворювання залежно від генотипу (поліморфізму гена Arg16Gly гена β_2 -адренорецепторів).

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Проведено клінічне, лабораторно-інструментальне та молекулярно-генетичне обстеження 101 дитини з БА, які перебували на стаціонарному лікуванні. Діагноз у даній групі пацієнтів був верифікований з урахуванням міжнародних рекомендацій GINA-2015 та наказу МОЗ України № 868 від 08.10.2013 р. У статевій структурі більшість становили особи чоловічої статі – 71 (70,30 %) та третину – дівчатка (29,70 %). Проведений аналіз вікових особливостей засвідчив переважання дітей молодшого шкільного віку (до 12 років) – 58 (57,43 %), осіб старшого шкільного віку було 43 (42,57 %). Основну більшість склали мешканці міста – 57 (56,44 %), сільської місцевості – 44 (43,56 %), що зумовлено профілем лікувальних закладів, у яких проводили дослідження.

Молекулярно-генетичне дослідження виконували шляхом виділення геномної ДНК із периферійної крові за допомогою комерційної тест-системи “ipnuPREP Blood DNA Mini Kit” (Analytik Jena, Німеччина). З метою визначення поліморфних варіантів генів гена β_2 -адренорецепторів ADR β_2 (Arg16Gly) rs1042713 використовували модифіковані протоколи з олігонуклеотидними праймерами шляхом ПЛР та наступним аналізом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів. Ампліфікацію досліджуваних ділянок генів проводили за допомогою специфічних праймерів (“Metabion”, Німеччина). Продукти ампліфікації фрагментів ДНК генів ADR β_2 (Arg16Gly) підлягали гідролітичному розщепленню за допомогою ендонуклеази рестрикції NcoI (“Thermo Scientific”, США). Рестрикцію проводили в мікротермостаті при 37 °C протягом 12 год. Отримані результати візуалізували в транслюмінаторі.

Визначення загального сироваткового рівня IgE в крові виконували твердофазним імуноферментним аналізом,

використовуючи комерційну тест-систему "Хема". До групи контролю увійшли 10 осіб аналогічного віку без супутнього алергічного чи запального захворювання, середні значення вмісту Ig E становили (19,26±5,86) МО/мл.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проведений поглиблений аналіз клініко-інструментальних обстежень засвідчив у 29 (28,71 %) дітей інтермітуючий перебіг БА, а у 72 (71,29 %) пацієнтів діагностовано персистуючий перебіг, а саме, в 23 (22,77 %) хворих персистуючий перебіг легкого ступеня тяжкості, у 29 (28,71 %) – середнього ступеня, а в 20 (19,80 %) осіб – тяжкого ступеня.

Основну частину пацієнтів (67 (66,34 %)) обстежено в період загострення БА, 9 (8,91 %) хворих – у фазі контролю, а 25 (24,75 %) осіб перебували у ремісії. У гендерній структурі, незалежно від тяжкості перебігу, переважали хлопчики (70,30 %), проте при інтермітуючому та тяжкому персистуючому перебігу збільшувалась кількість дівчаток (відповідно 41,38 та 35,00 %), а при легкому та середньотяжкому персистуючому перебігу основну кількість склали все ж таки особи чоловічої статі (відповідно 78,26 та 79,31 %). Також вдалось виявити, що при інтермітуючому перебігу в 65,52 % діагноз був верифікований у підлітковому віці (старше 13 років), а при персистуючому перебігу, частіше у дітей віком 5–12 років (у 62,50 % випадків).

Оцінюючи умови проживання, вдалось виявити певні особливості. Зокрема, у пацієнтів, які проживали у міській місцевості, частіше діагностовано інтермітуючий та легкий персистуючий перебіг БА (відповідно 82,76 та 72,26 %). Серед жителів села вагому частку становили хворі з середньотяжким та тяжким персистуючим перебігом БА (відповідно 72,41 та 65,00 %), що впливає на доступність, регулярність та обсяг медичної допомоги, водночас, засвідчує вищу ймовірність контактів із триггерними факторами провокації бронхоспазму. Останнє піддається критиці, оскільки накопичена велика кількість даних про суттєве переважання алергічної патології серед жителів міста. Доказом чого є і те, що деталізація алергоанамнезу залежно від місця проживання дозволило стверджувати про вищий ступінь сенсibilізації дитячого організму в місті. А саме, обтяжений алергоанамнез був у 88 (87,13 %) осіб, і лише у 12,87 % пацієнтів не вдалось виявити обтяжуючих факторів.

У даному дослідженні звертала на себе увагу висока частота інших форм atopії, які здебільшого були складовими atopічного маршу. В 58 (57,43 %) дітей спостерігали прояви atopічного дерматиту, причому в 65,52 % випадків серед жителів міста. Діагноз алергічного риніту встановлено у 73 (72,28 %) хворих та подальший аналіз дозволяє стверджувати, що з вищою частотою даний діагноз верифіковано також серед жителів міста (64,38 %) та значно рідше зустрічається серед жителів села – лише

у 26 (35,62 %) дітей. Прояви алергічного кон'юнктивіту спостерігали у 29 (28,71 %) пацієнтів, проте лише 24,14 % дітей проживали у селі, така ж тенденція виявлена і серед дітей з наявністю харчової (35,64 %) та медикаментозної (9,90 %) алергій. Разом із тим, 66,67 % пацієнтів із обтяженим анамнезом щодо харчових алергенів проживали у місті, а із проявами медикаментозної алергії – у 90,00 % випадків. Слід зауважити, що така закономірність потребує диференційної оцінки, адже доступність медичної допомоги, а з цим – діагностика алергічної патології, суттєво відрізняються.

Проаналізувавши взаємозв'язок між тяжкістю перебігу БА та обтяженим алергоанамнезом, очевидних закономірностей виявити не вдалось (рис.), проте atopічний дерматит частіше зустрічався у пацієнтів із легким персистуючим перебігом (32,76 %), та майже з однаковою частотою зустрічався серед дітей із інтермітуючим та персистуючим перебігом БА середнього та тяжкого ступенів. Алергічний риніт було діагностовано майже у третині випадків при інтермітуючому перебігу, значно рідше при тяжкому персистуючому перебігу (в 16,44 % дітей). Така ж закономірність виявлена і при алергічному кон'юнктивіті (відповідно при інтермітуючому перебігу – в 34,48 %, а при тяжкому персистуючому перебігу – в 13,79 % випадків).

Проведений поглиблений аналіз вмісту IgE у крові засвідчив у 98 (97,03 %) пацієнтів його істотне підвищення (622,72±46,48) МО/мл та лише у 3 (2,97 %) осіб показники не перевищували контрольних величин (19,57±4,51) МО/мл. У 58 (57,43 %) дітей із супутнім atopічним дерматитом рівень IgE сягав (678,38±59,66) МО/мл та у всіх випадках був підвищений (p<0,001). Аналогічно у пацієнтів із супутнім алергічним ринітом (n=72) рівень IgE становив (655,17±52,47) МО/мл (p<0,001). В осіб із алергічним кон'юнктивітом (n=29) у всіх випадках рівень IgE був значно підвищеним (595,16±80,35) МО/мл (p<0,001). Водночас, у дітей із домінуючою харчовою сенсibilізацією спостерігали достовірне підвищення показників IgE (892,81±75,13) МО/мл (p<0,001) порівняно з пацієнтами загальної групи. В осіб з наявністю в анамнезі медикаментозної алергії та кропив'янки IgE становив відповідно (567,08±141,89) МО/мл та (637,15±175,18) МО/мл (p<0,01).

Аналізуючи особливості обтяженого алергоанамнезу залежно від статі, вдалось встановити, що серед хлопчиків у 71,83 % випадків верифіковано алергічний риніт та майже в кожній другій дитині (56,34 %) прояви atopічного дерматиту. Такі ж закономірності виявлено і серед осіб жіночої статі (відповідно 73,33 та 60,00 %). Алергічний кон'юнктивіт також майже з однаковою частотою зустрічається серед осіб чоловічої статі (26,76 %) та дівчаток (33,33 %). Проте елементи харчової алергії значно

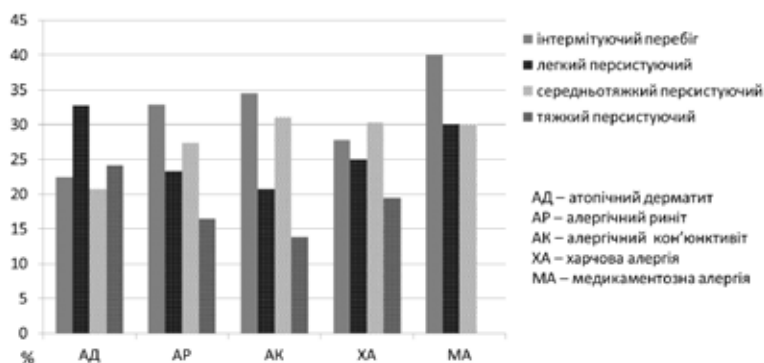


Рис. Взаємозв'язок обтяженого алергоанамнезу із тяжкістю перебігу БА.

частіше зустрічались у дівчаток (43,33 % випадків), та майже у кожної третьої особи чоловічої статі (32,39 %). Медикаментозна алергія спостерігалась практично в кожній десятій дитині з однаковою частотою як серед хлопчиків (8,45 %), так і дівчаток (13,33 %).

Проведений детальний аналіз засвідчив, що при інтермітуючому перебігу БА з обтяженим алергоанамнезом спостерігається тенденція до нижчих показників IgE в крові порівняно із персистою перебігом БА. Зокрема, найвищий рівень IgE спостерігали при тяжкому ступені персистою перебігу БА з достовірним підвищенням при поєднанні з atopічним дерматитом, алергічним кон'юнктивітом ($p < 0,05$) (табл. 1).

Високий ступінь сенсibilізації дитячого організму зумовлює прогресування "атопічного маршу". Адже у даній групі пацієнтів симптоми бронхообструкції вперше виявлялись у 46 (45,54 %) дітей вже в ранньому дитячому віці, у третини хворих – у дошкільному віці, в 24 (23,76 %) осіб – в молодшому шкільному віці, лише в одній дитині – у підлітковому періоді. Особливу увагу привернуло також виявлення особливостей дебюту БА залежно від місця проживання. Проведений детальний аналіз засвідчив появу бронхообструктивного синдрому в ранньому віці у 26 (56,52 %) мешканців села та у 20 (43,48 %) жителів міста. Маніфестація симптомів у дошкільному віці частіше зустрічалась у пацієнтів, які проживають в місті, та з меншою частотою серед жителів села (відповідно 60,00 та 40,00 %). А дебют симптомів БА в молодшому шкільному віці у 79,17 % випадків був серед мешканців міської місцевості.

Проведений аналіз кореляційних взаємозв'язків засвідчив наявність залежності рівня сироваткового IgE від місця проживання. Зокрема, серед дітей, які проживали

у селі, встановлено кореляційний зв'язок слабкої сили ($r=0,326$) з рівнем IgE, проте дані зміни спостерігались лише у пацієнтів з інтермітуючим перебігом БА. У хворих із персистою перебігом БА виявлено залежність рівня сироваткового IgE та обтяженого алергоанамнезу. А саме, у дітей з легким персистою перебігом виявлено кореляційний зв'язок рівня IgE з алергічним кон'юнктивітом ($r=0,437$) і atopічним дерматитом ($r=0,298$). Також слабку кореляційну залежність встановлено при середньотяжкому перебігу БА між рівнем IgE та atopічним дерматитом ($r=0,322$), а при тяжкому перебігу з алергічним кон'юнктивітом ($r=0,375$). Аналізуючи встановлені кореляційні зв'язки слід відмітити, що на рівень IgE у крові впливає велика кількість чинників, що і вирізняє бронхіальну астму як мультифакторіальну патологію.

Вивчення генотипових особливостей заміни аргініну на гліцин в 16 позиції $ADR\beta_2$ -рецепторів засвідчило переважання гетерозиготного варіанта Arg/Gly (42,57 %) та гомозиготного варіанта Gly/Gly по мінорній алелі (43,56 %). Генотип заміни по основній алелі Arg/Arg був лише у 14 пацієнтів (13,86 %). Особливу увагу в даному випадку привернуло дослідження взаємозв'язку між особливостями генотипу та обтяженого алергоанамнезу. За результатами проведеного дослідження вдалось виявити найчастіше Arg/Gly та Gly/Gly генотипи, які з однаковою частотою зустрічались при наявності алергічного риніту у хворих (відповідно 43,84 та 43,84 %). У випадку алергічного кон'юнктивіту, atopічного дерматиту, харчової алергії та при медикаментозній алергії переважав Arg/Gly варіант заміни Arg16Gly гена $ADR\beta_2$ -рецепторів (табл. 2). З меншою частотою виявлено гомозиготний варіант Gly/Gly по мінорній алелі та лише в поодиноких випадках зустрічався Arg/Arg генотип.

Таблиця 1. Показники сироваткового рівня IgE у дітей з обтяженим алергоанамнезом залежно від тяжкості перебігу БА ($M \pm m$)

Перебіг захворювання		Обтяжений алергоанамнез				
		атопічний дерматит (n=58)	алергічний риніт (n=72)	алергічний кон'юнктивіт (n=29)	харчова алергія (n=36)	медикаментозна алергія (n=10)
Інтермітуючий		478,32±100,50 (n=13) ***	593,09±80,61 (n=24) *	546,54±115,49 (n=10) ***	387,09±100,14 (n=10) *	363,20±153,81 (n=4) *
Персистоючий	легкого ступеня	735,63±116,39 (n=19) *	798,73±125,31 (n=17) *	576,54±137,53 (n=6) *	756,50±190,98 (n=9) *	879,14±379,96 (n=3) *
	середнього ступеня	696,25±137,55 (n=12) *	508,21±98,84 (n=20) *	458,24±164,46 (n=9) ***	676,81±112,24 (n=10) *	526,87±181,87 (n=3) **
	тяжкого ступеня	771,14±110,49 (n=14) *	768,22±114,05 (n=12) *	1054,74±203,04 (n=4) **	777,63±191,65 (n=7) *	–

Примітки: 1) * – достовірність ($p < 0,001$) порівняно із контрольною групою;

2) ** – достовірність ($p < 0,01$) порівняно із контрольною групою;

3) *** – достовірність ($p < 0,05$) порівняно із показниками пацієнтів із тяжким перебігом БА.

Таблиця 2. Поліморфізм Arg16Gly гена $ADR\beta_2$ -рецепторів залежно від обтяженого алергоанамнезу

Обтяжений алергоанамнез	Генотип					
	Arg/Arg		Arg/Gly		Gly/Gly	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Атопічний дерматит (n=58)	8	13,79	27	46,55	23	39,66
Алергічний риніт (n=73)	9	12,33	32	43,84	32	43,84
Алергічний кон'юнктивіт (n=29)	3	10,34	15	51,72	11	37,93
Харчова алергія (n=36)	5	13,89	18	50,00	13	36,11
Медикаментозна алергія (n=10)	–	–	7	70,00	3	30,00

Серед пацієнтів (12,87 %) із неверифікованими алергічними чинниками спостерігали схожу тенденцію, а саме, переважання Arg/Gly гетерозиготного варіанта заміни (46,15 %) та дещо з меншою частотою зустрічався Gly/Gly генотип (30,77 %).

ВИСНОВКИ Встановлено провідну роль у виникненні та перебігу системної алергії, у тому числі БА – обтяженого алергологічного анамнезу, незалежно від місця проживання дитини. У більшості випадків БА є результатом прогресуючого розвитку алергічного маршу, в 79,55 % спостерігається поєднана алергічна патологія.

У пацієнтів із БА та поєднаною патологією (БА + атопічний дерматит, БА + алергічний кон'юнктивіт, БА + харчова чи медикаментозна алергія) переважає Arg/Gly генотип Arg16Gly ADR β_2 -рецепторів.

Перспективи подальших досліджень Дані результати засвідчують поєднання спадкових механізмів і факторів зовнішнього середовища у виникненні БА, що може бути використаним для удосконалення верифікації діагнозу та запровадження превентивних заходів попередження даної патології.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Геппе Н. А. Актуальность проблемы бронхиальной астмы у детей / Н. А. Геппе // Педиатрия. – 2012. – Т. 91, № 3. – С. 76–84.
2. Гнатейко О. З. Деякі аспекти проблеми діагностики бронхіальної астми у дітей / О. З. Гнатейко, О. М. Садова // Здоровье ребенка. – 2009. – № 5. – С. 118–122.
3. Марусик У. І. Показники імунної системи та гіперсприйнятливості дихальних шляхів у школярів, хворих на тяжку бронхіальну астму / У. І. Марусик // Здоровье ребенка. – 2009. – № 5(20). – С. 65–68.
4. Молекулярно-генетичні основи і стратегія аналізу бронхіальної астми в дітей / Л. Я. Литвинець, О. В. Синовська, О. З. Гнатейко, Н. В. Виштак // Здоровье ребенка. – 2012. – № 7. – С. 85–89.
5. Охотникова Е. Н. "Аллергический марш": связь поколений и эскалация аллергии у детей / Е. Н. Охотникова // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2008. – № 4 (15). – С. 7–15.
6. Factors responsible for differences between asymptomatic subjects and patients presenting an IgE sensitisation to allergens. A GA2LEN project / J. Bousquet, J. M. Anto, C. Bachert [et al.] // Allergy. – 2006. – Vol. 61. – P. 671–680.
7. Genetics of allergic disease / J. W. Holloway, I. A. Yang, S. T. Holgate // J. Allergy Clin. Immunol. – 2010. – Vol. 125, № 2. – P. 81–94.
8. Hizawa N. Beta-2 adrenergic receptor genetic polymorphisms and asthma / N. Hizawa // J. Clin. Pharm. Ther. – 2009. – Vol. 34, № 6. – P. 631–643.
9. Vercelli D. Discovering susceptibility genes for asthma and allergy / D. Vercelli // Nat. Rev. Immunol. – 2008. – Vol. 8. – P. 169–182.
10. Wahn H. V. Strategies for atopy prevention / H. V. Wahn // Nutr. – 2008. – Vol. 138, No. 9. – P. 1770–1772.

Отримано 14.10.16