



ОДНОНУКЛЕОТИДНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ RS510432 ГЕНА АВТОФАГІЇ 5 ТА РОЗВИТОК «АТОПІЧНОГО МАРШУ» У ДІТЕЙ

Резюме. Мета: визначити зв'язок між однонуклеотидним поліморфізмом rs510432 гена автофагії 5 (ATG5) та розвитком «атопічного маршу» у дітей, з'ясувати ймовірність маніфестації клінічних проявів та особливості клінічного перебігу atopічних захворювань в осіб із різними алейними варіантами поліморфізму. **Методи.** Генотипування поліморфізму rs510432 гена ATG5 у дітей з atopічними захворюваннями та практично здорових дітей із застосуванням методики полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі. **Результати.** Мінорна алей T rs510432 гена ATG5 вірогідно частіше виявляється у пацієнтів з atopічними захворюваннями, ніж у практично здорових дітей ($\chi^2 = 6,36; p < 0,05$). За результатами логістичної регресії ризик розвитку atopічних захворювань у дітей із мінорним генотипом у 2,4 рази вищий, ніж у дітей із мажорним генотипом. Середні значення об'єму форсованого видиху за 1 секунду (ОФВ₁) у хворих на бронхіальну астму з мінорним генотипом вірогідно нижчі, ніж з мажорним генотипом ($Q = 2,71; p < 0,05$). Не виявлено статистично значущих відмінностей у розподілі алейних варіантів поліморфізму rs510432 гена ATG5 залежно від тяжкості бронхіальної астми, atopічного дерматиту та алергічного риніту у дітей. **Висновки.** У дітей з мінорним генотипом ТТ поліморфізму гена ATG5 виявлено підвищений ризик розвитку atopічних захворювань, що становить 72 %. У хворих на бронхіальну астму мінорний генотип ТТ поліморфізму гена ATG5 асоційований зі зниженим показником ОФВ₁. Поліморфізм rs510432 гена ATG5 доцільно використовувати з метою прогнозування розвитку atopічних захворювань у дітей.

Ключові слова: однонуклеотидний поліморфізм, автофагія, ATG5, atopічні захворювання, діти.

Вступ

Поширеність atopічних захворювань (АЗ), таких як atopічний дерматит, алергічний риніт, бронхіальна астма, у розвинених країнах становить приблизно 20 % і невпинно зростає протягом останніх десятиліть [27]. Щорічний приріст atopічних захворювань у світі є глобальною медико-соціальною проблемою, що призвело до виникнення терміна «алергічна пандемія» [8].

Характерна послідовність виникнення клінічних проявів atopічних захворювань протягом дитячого віку, що пов'язана з розвитком алергічного запалення в шокових органах, має назву «атопічний марш» [26]. Загалом прояви atopічного дерматиту передують розвитку алергічного риніту та бронхіальної астми і вважаються початковим етапом «атопічного маршу» [2, 8, 26]. Так, розвиток алергічного запалення в шкірі призводить до появи великої кількості циркулюючих активованих еозинофілів, імуноглобулінів Е (IgE), Т-хелперів 2-го типу (Th₂), що транслокуються до верхніх і нижніх дихальних шляхів і ініціюють запальний процес [4].

В основі патогенезу всіх atopічних захворювань лежить генетично детермінована змінена реактивність на антигени зовнішнього середовища з гіперпродукцією IgE [1]. Спільні генетичні варіанти, таким чином, мають плейотропний ефект і є об'єктом активного вивчення, оскільки саме вони визначають перспективні напрямки терапії АЗ [9]. На сьогодні відомо більше ніж 300 генів, однонуклеотидні поліморфізми в яких асоційовані із розвитком atopічних захворювань [14, 22]. Для систематизації отриманих даних використовуються різні класифікації кандидатних генів. За однією з

Адреса для листування з автором:

Ємець Оксана Вікторівна
Україна, 02125, м. Київ, вул. Алішера Навої, 3,
НМУ імені О.О. Богомольця
E-mail: oxanai@ukr.net

© Ємець О.В., 2016

© «Здоров'я дитини», 2016

© Заславський О.Ю., 2016

класифікацій, передбачається виділення 4 категорій генів, які визначають ризик розвитку atopічних захворювань на етапах антигенпрезентації (HLA-Pep-TCR), гіперпродукції IgE (IL-4R α , IFN- γ R1), синтезу та вивільнення медіаторів (LTC4S), та гени, які визначають орган-мішень (ADAM33, IL-13R) [13]. Інші автори виділяють гени, спільні для всіх atopічних захворювань, гени, які кодують білки головного комплексу гістосумісності (MHC), інтерлейкіни (IL), високоафінні компоненти рецепторів до IgE та специфічні гени, характерні для певної нозології [9]. Останнім часом підкреслюється важливість вивчення асоціацій значущих генів із atopічними хворобами в кожній із популяцій, оскільки відмінності в розподілі алельних варіантів не дозволяють впроваджувати результати генетичних досліджень в практику охорони здоров'я в усьому світі [9].

Автофагія — процес підтримки внутрішньоклітинного гомеостазу шляхом деградації довгоживучих білків та органел для побудови необхідних макромолекул і формування таким чином адекватної відповіді клітини на стресові фактори [21, 30].

Виділяють принаймні три типи автофагії: мікроавтофагія, шаперон-опосередкована автофагія і макроавтофагія [21, 29]. Макроавтофагія вважається основним шляхом деградації протеїнів. При цьому вміст цитоплазми, включаючи органели, наприклад мітохондрії, секвеструється ізольційною мембраною, закриття країв якої призводить до утворення структури з подвійною мембраною, що має назву «автофагосома» [21]. У подальшому відбувається злиття автофагосоми з лізосомою, лізосомальні ензими при цьому деградують поглинені матеріали та внутрішню мембрану автофагосоми [19, 30].

Молекулярні процеси, що беруть участь у формуванні автофагосоми, складаються з декількох етапів: індукція, ініціювання формування та елонгації мембрани, злиття з лізосомою, при цьому було виділено принаймні 31 ген, пов'язаний з автофагією (ATG) [5, 7, 29]. Автофагія бере участь у розвитку алергічного запалення на всіх етапах, а гени, що кодують білки автофагії, відносяться до спільного генетичного базису atopічних захворювань.

Автофагія забезпечує презентацію цитозольних, ядерних антигенів, а також антигенів внутрішньоклітинних патогенів у MHC II комплексі антигенпрезентуючих та MHC II-позитивних епітеліальних клітин CD4⁺ T-клітинам. Так, екзогенні антигени обробляються в автолізосомальних компартментах за допомогою протеаз та завантажуються на молекули MHC класу II, які транспортуються від ендоплазматичного ретикулуму до відсіків MHC II типу (MHCs) [24]. При цьому MHC II-позитивні АПК (В-клітини, моноцити, дендритні клітини) мають стабільно високі рівні автофагічної активності. Таким чином, можна зробити висновок, що активація T-хелперів залежить від інтенсивності автофагії [25].

CD4⁺ T-клітини та CD8⁺ T-клітини виявляють базальні рівні активності автофагії, які значно зростають при активації T-клітинного рецептора або за наявності відповідних цитокінів. [24]. Так, при активації CD4⁺ T-клітин відзначається різке зростання кількості автофагосом. Рівень автофагічної активності при цьому значно вищий у Th₂-клітини, що, можливо, пов'язано з високою активністю каспаз, які спричиняють апоптоз та одночасно інгібують автофагію у Th₁-клітини [17]. Окрім того, Th₂-клітини більш сприйнятливі до нестачі нутрієнтів, що є класичним активатором автофагії [12].

Цитокіновий профіль середовища має значний вплив на диференціацію T-клітин. Так, IL-12 призводить до дозрівання Th₁-клітин-ефекторів та цитотоксичних CD8⁺-клітин, а перетворення в Th₂-клітини відбувається під впливом IL-4 [3]. Автофагія також знаходиться під контролем цитокінів. IFN- γ та TNF- α стимулюють автофагію в макрофагах, а IL-4 та IL-13, класичні цитокіни Th₂-клітини, навпаки, пригнічують [10, 15, 24].

Функціями цитокінів та хемокінів Th₂-клітини є інгібування клітинної імунної відповіді, стимуляція продукції IgE В-клітинами, міграція еозинофілів до осередку запалення. Зв'язування IgE з відповідними рецепторами на базофілах і мастоцитах призводить до вивільнення останніми гістаміну, серотоніну, еозинофільних хемотаксичних факторів, протеаз, простагландинів, лейкотрієнів тощо. Виникнення клінічних симптомів atopічних хвороб пов'язане саме з впливом даних медіаторів [1].

Автофагія відіграє важливу роль у розвитку та диференціації В-лімфоцитів, посилення експресії В-клітинного рецептору асоціюється з активацією автофагії [28]. В.С. Miller та ін. [18] встановили, що протеїн ATG5 є необхідним для підтримки життєздатності клітин-попередників В-клітин, підтримки загальної чисельності периферичних В-1-клітин. Також в іншому дослідженні було підтверджено значення автофагії у процесі дозрівання гранул мастоцитів, їх транслокації та зливанні з мембраною під час дегрануляції. Інгібування автофагії призводить до селективного пригнічення антигеніндукованої дегрануляції тучних клітин [20].

Цитокіновий профіль, а саме IL-13, рівень якого значно підвищується при бронхіальній астмі, також сприяє активації трансформуючого фактора росту β_1 . При цьому його взаємодія з активними формами кисню призводить до ремоделювання дихальних шляхів шляхом вивільнення колагену з фібробластів, стимуляції міграції фібробластів до субепітеліального шару та їх диференціації в міофібробласти [23]. Являючи собою потужний антиоксидантний механізм, автофагія відповідає за деградацію окислених протеїнів і пошкоджених органел, у тому числі деполяризованих мітохондрій. У патологічних умовах окисний стрес та дисбаланс активних форм кисню є частим ускладненням, що супроводжують хронічні запальні процеси. Окисний стрес активує автофагію через вивільнення асоційованих

з ушкодженнями молекулярних патернів (DAMPs), до яких відносяться білки теплового шоку, родина IL-1, деякі компоненти плазми. Автофагія, у свою чергу, регулює транслокацію та вивільнення патернів, що зрештою визначає долю клітини [16]. Дослідження на мишах показали, що при інгібуванні автофагії порушується структура в'язкого епітелію, у цитоплазмі епітеліальних клітин бронхіол присутні мішкоподібні та концентричні мембраноїдні структури, епітелій набряклий, виявлено гіперреактивність дихальних шляхів при холінергічних стимулах [11].

Враховуючи вищенаведене, висловлено припущення, що однонуклеотидний поліморфізм rs510432 гена автофагії 5 (*ATG5*) може бути асоційований із розвитком atopічних захворювань у дітей. Для перевірки цієї гіпотези проведено дослідження відмінності в частоті алельних варіантів поліморфізму rs510432 гена *ATG5* у дітей з проявами «атопічного маршу» та у здорових дітей без випадків atopічних захворювань в сімейному анамнезі. Окрім того, визначена ймовірність розвитку «атопічного маршу» у носіїв патологічної алелі та з'ясована наявність взаємозв'язку між алельним варіантом та ступенем тяжкості atopічних захворювань у дітей. Поліморфізм rs510432 гена *ATG5* був обраний для генотипування, оскільки він зустрічається в європоїдів та гіпотетично впливає на розвиток та прогресування «атопічного маршу».

Матеріали та методи

У дослідження включено 98 дітей віком від 5 до 18 років, хворих на бронхіальну астму та atopічний дерматит, із них у 31 хворого діагностовано алергічний риніт. Усі пацієнти перебували на стаціонарному лікуванні в алергологічному відділенні Київської міської дитячої клінічної лікарні № 2. Усі хворі мали випадки atopічних захворювань у сімейному анамнезі. До групи контролю увійшло 98 здорових дітей віком 5–18 років без випадків atopічних захворювань у сімейному анамнезі. Проведені наступні методи дослідження: загальноклінічне та лабораторне обстеження, що включало загальний аналіз крові, загальний аналіз сечі, копрограму, загальний IgE, пікфлоуметрія, спірометрія, шкірні прик-тести, визначення поліморфізму rs510432 гена *ATG5*. Проведення дослідження погоджено з Комісією з питань етики Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Батьки підписали інформовану згоду на включення дітей в дослідження.

Виділення ДНК та полімеразна ланцюгова реакція

Виділення ДНК проводили із букального епітелію за допомогою реагентів Diatom™ Prep 200 («Лабораторія Ізоген», РФ), згідно з рекомендаціями виробника. Концентрацію загального ДНК визначали за допомогою NanoDrop спектрофотометра ND-1000 (NanoDrop Technologies Inc.,

США). Реакції ампліфікації проведені за допомогою Fast Real-time PCR System (Applied Biosystems, США), у кінцевій реакції об'ємом 20 мкл, який містить 2X TaqMan універсальний Master Mix (Applied Biosystems, США), C__910351_10 rs510432 і матричну ДНК. Ампліфікація фрагментів генів складалася зі стадії денатурації при 95 °C протягом 20 с, а потім 40 циклів ампліфікації при 95 °C протягом 3 с і 60 °C протягом 30 с. Аналіз даних проводився з 7500 Fast Real-Time PCR Software.

Статистичний аналіз

Отримані результати були опрацьовані програмою SPSS (версії 22.0) та програмного середовища R (версії 3.0). Під час дослідження застосовано веб-програму забезпечення SNP Analyzer (<http://snpanalyzer.uthsc.edu>). Відхилення від закону Харді — Вайнберга та асоціацію розвитку atopічних захворювань за наявності однонуклеотидного поліморфізму гена *ATG5* досліджувалося за допомогою тесту χ^2 . Для вибору моделі, згідно з якою успадковується фенотипова ознака АЗ, використаний критерій Айкайке. Вірогідність розвитку АЗ при патологічних варіантах поліморфізму гена *ATG5* визначалась за методом логістичної регресії. Для опрацювання даних, отриманих при обстеженні хворих дітей, використаний статистичний пакет Medstat.

Результати

Під час дослідження отримані наступні результати: у 33 дітей (33,67 %) контрольної групи виявлена мажорна гомозигота СС, у 43 (43,87 %) — гетерозиготний варіант СТ, у 21 (21,43 %) — мінорний варіант ТТ поліморфізму rs510432 гена *ATG5*. У 18 дітей (18,36 %) основної групи була наявна мажорна гомозигота СС, у 51 (52,04 %) — гетерозиготний варіант СТ, у 29 (29,60 %) — мінорний варіант ТТ поліморфізму rs510432 гена *ATG5* (рис. 1). За допомогою χ^2 -тесту знайдено статистично значущі відмінності у розподілі генотипів в основній і контрольній групах ($\chi^2 = 6,36$; $p < 0,05$).

Вивчена вірогідність розвитку atopічних захворювань у дітей залежно від поліморфізму rs510432

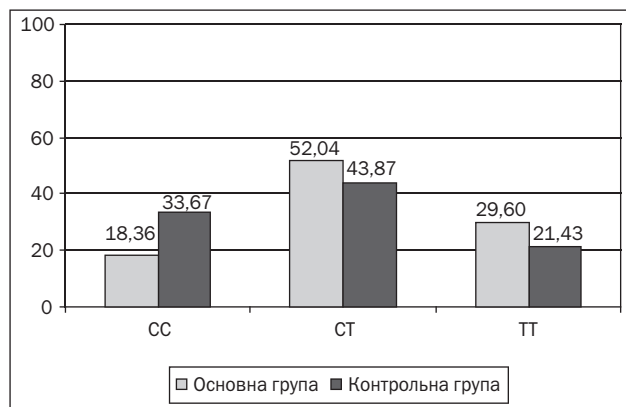


Рисунок 1. Розподіл генотипів rs510432 гена *ATG5* в основній і контрольній групах

гена *ATG5* з метою можливості використання даного генетичного тесту для ранньої діагностики, проведення профілактичних заходів та своєчасного призначення лікування.

Для розрахунку ризику розвитку АЗ у дітей використано формулу:

$$f(z) = \frac{1}{1 + e^{-z}}$$

де e — число Ейлера (основа натуральних логарифмів);

$$e = \lim_{n \rightarrow \infty} \left[1 + \frac{1}{n} \right]^n \approx 2,718281828,$$

$$z = B_0 + B_1 \times X_1 + B_2 \times X_2 + B_3 \times X_3,$$

де B_0 — константа, B — коефіцієнт регресії при кожному алельному варіанті, X — незалежна змінна (генотип).

Незалежні змінні кодувалися наступним чином: X_1 — генотип СС, X_2 — генотип СТ, X_3 — генотип ТТ. Результати аналізу наведені у табл. 1.

Підставивши у формулу результати, отримані за методом логістичної регресії, отримуємо:

$$z = -0,658174 + 0,875469 \times X_1 + \\ + -0,742473 \times X_2 + -2,360415 \times X_3.$$

Таким чином, отримана математична модель для обчислення ймовірності розвитку АЗ залежно

Таблиця 1. Результати оцінки досліджень, отримані за методом логістичної регресії

Генотип	Коефіцієнт регресії
B_0	-0,658174
СС	0,875469
СТ	-0,742473
ТТ	-2,360415

Таблиця 2. Імовірність розвитку atopічних захворювань залежно від поліморфізму гена *ATG5*

Генотип	Коефіцієнт регресії
СС	0,29411771
СТ	0,67923629
ТТ	0,72044835

Таблиця 3. Відношення шансів для кодомінантної моделі успадкування поліморфізму *rs510432 ATG5* у дітей основної групи залежно від тяжкості бронхіальної астми

Генотип	Підгрупа				Відношення шансів (95% довірчий інтервал)
	1-ша		2-га		
	N	%	N	%	
СС	5	20,00	13	17,81	1,00
СТ	11	44,00	40	54,79	1,12 (0,27–3,94)
ТТ	9	36,00	20	27,40	0,68 (0,16–2,59)

Примітки: — $p < 0,05$, критерій Айккайке = 16,69.

від обраних нами факторів. Результати наведено у табл. 2.

Отже, за результатами логістичної регресії, ризик розвитку АЗ у дітей з генотипом СС *rs510432* гена *ATG5* становить 29,41 %, у гетерозигот СТ — 67,92 %, у дітей з мінорним генотипом ТТ досягає 72,04 %.

В основній групі 25 хворих (25,51 %) мали тяжку персистуючу бронхіальну астму (1-ша підгрупа), інші 73 дитини (74,49 %) мали інтермітуючу, легку та середньотяжку бронхіальну астму (2-га підгрупа). Розподіл алельних варіантів *rs510432* гена *ATG5* залежно від тяжкості захворювання наведено у табл. 3.

Для дослідження впливу генотипу поліморфізму *rs510432* гена *ATG5* на показники об'єму форсованого видиху за 1 секунду (ОФВ₁) основна група була поділена на три підгрупи. До 1-ї підгрупи увійшло 18 хворих (18,37 %) із мажорним генотипом, до 2-ї — 51 дитина (52,04 %) із гетерозиготним генотипом, до 3-ї — 29 осіб (29,59 %) із мінорним генотипом. Дані щодо середніх значень показника ОФВ₁ у підгрупах наведені у табл. 4.

Статистично значущих відмінностей між середніми значеннями показників ОФВ₁ у пацієнтів із мажорним і гетерозиготним генотипом, гетерозиготним і мінорним генотипом не виявлено ($p < 0,05$). Середні значення ОФВ₁ у хворих із мінорним генотипом вірогідно нижчі, ніж з мажорним генотипом ($Q = 2,71$; $p < 0,05$).

Для виявлення впливу зазначеного поліморфізму на ступінь тяжкості atopічного дерматиту серед дітей основної групи ми виділили підгрупу з 65 хворих (66,33 %) із легким ступенем тяжкості дерматиту та в стадії ремісії. Інші 33 дитини (33,67 %) з atopічним дерматитом середньої та тяжкої тяжкості становили 2-гу підгрупу. Розподіл алельних варіантів в обох підгрупах наведено у табл. 5.

Наступним етапом дослідження було з'ясування, чи має поліморфізм *rs510432* гена *ATG5* вплив на тяжкість алергічного риніту у дітей. Від даної патології страждала 31 дитина з основної групи, із них у 9 хворих (9,18 %) встановлено середньотяжкий/тяжкий алергічний риніт, у 22 дітей (22,45 %) — легкий ступінь тяжкості. Відповідно ці діти становили 1-шу та 2-гу підгрупу. Ми досліджи-

ли частоту алельних варіантів rs510432 гена *ATG5* в обох підгрупах (табл. 6).

Обговорення та висновки

При порівнянні частоти алельних варіантів rs510432 гена *ATG5* в українській, європейській популяціях та серед населення Азії і Африки виявлено, що розподіл алелей зазначеного поліморфізму відповідає європейському. Так, мажорний генотип у європейській популяції зустрічається у 31,86 % населення, гетерозиготний — у 44,24 %, патологічні гомозиготи — у 23,89 %. В азіатів мажорні гомозиготи СС виявляються у 12,79 % населення, гетерозиготи СТ — у 61,62 %, мінорний варіант ТТ — у 25,58 %. В афроамериканців зазначені алельні варіанти rs510432 гена *ATG5* виявляються у 2,65, 27,43 та 69,91 % відповідно (NCBI dbSNP, Short Genetic Variations, https://ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP_ref.cgi?rs=510432). Наведені дані свідчать про неоднорідність розподілу алельних варіантів rs510432 гена *ATG5* залежно від раси та унеможливають екстраполяцію результатів щодо впливу полімор-

фізму rs510432 гена *ATG5* на розвиток atopічних захворювань в інших популяціях.

Встановлено, що мінорна алель Т rs510432 гена *ATG5* асоціюється з підвищеним ризиком розвитку atopічних захворювань у дітей української популяції ($\chi^2 = 6,36$; $p < 0,05$). За результатами логістичної регресії ризик розвитку atopічних захворювань у дітей з мінорним генотипом досягає 72 %, що у 2,4 раза вище, ніж у дітей із мажорним генотипом. На нашу думку, отримані результати дають підстави рекомендувати використання даного генетичного тесту для дітей з випадками atopії в сімейному анамнезі для проведення профілактичних заходів і запобігання маніфестації «atopічного маршу».

Згідно з літературними даними, зміни автофагічної активності призводять до ремодельовання дихальних шляхів внаслідок структурних змін вільного епітелію та активації трансформуючого фактора росту β_1 [23]. Отримані результати свідчать, що мінорний генотип поліморфізму rs510432 гена *ATG5* імовірно сприяє ремодельованню дихальних

Таблиця 4. Показники ОФВ₁ в основній групі залежно від поліморфізму rs510432 ATG5

Підгрупа	Середнє значення ОФВ ₁ (Ме ± m), %	95% довірчий інтервал (оцінки медіани)
1-ша	87,00 ± 2,51	79–92*
2-га	80,00 ± 1,91	79–83
3-тя	77,00 ± 2,54	73–80

Примітка: * — $p < 0,05$ за критерієм Крускала — Уолліса.

Таблиця 5. Відношення шансів для кодомінантної моделі успадкування поліморфізму rs510432 гена ATG5 в основній групі залежно від тяжкості atopічного дерматиту

Генотип	Підгрупа				Відношення шансів (95% довірчий інтервал)
	1-ша		2-га		
	N	%	N	%	
СС	12	18,46	6	18,18	1,00
СТ	33	50,77	18	54,55	1,09 (0,36–3,58)
ТТ	20	30,77	9	27,27	0,90 (0,26–3,27)

Примітки: * — $p < 0,05$; критерій Айкяке = 17,25.

Таблиця 6. Відношення шансів для кодомінантної моделі успадкування поліморфізму rs510432 ATG5 у дітей основної групи залежно від перебігу алергічного риніту

Генотип	Перебіг алергічного риніту				Відношення шансів (95% довірчий інтервал)
	Легкий		Середньотяжкий/тяжкий		
	N	%	N	%	
СС	5	22,73	3	33,33	1,00
СТ	12	54,55	4	44,44	1,80 (0,27–11,53)
ТТ	5	22,73	2	22,22	1,50 (0,17–15,56)

Примітки: * — $p < 0,05$; критерій Айкяке = 18,80.

шляхів у дітей, хворих на бронхіальну астму, що призводить до зниження рівня $ОФВ_1$.

Статистично значущих відмінностей у розподілі генотипів rs510432 гена *ATG5* залежно від ступеня тяжкості atopічних захворювань не виявлено. Тяжкість перебігу даної групи захворювань обумовлена не лише генетичними факторами, але й більшою мірою впливом навколишнього середовища, адекватністю і тривалістю терапії до моменту включення у дослідження тощо.

Таким чином, поліморфізм rs510432 гена *ATG5* може бути використаний для прогнозування ризиків розвитку atopічного маршу у дітей для проведення своєчасних профілактичних заходів. Окрім того, використання поліморфізму rs510432 гена *ATG5* як предиктора зниження показників функції зовнішнього дихання у дітей дозволить індивідуально призначати лікування з метою запобігання розвитку бронхіальної астми. З іншого боку, застосування даного генетичного тесту для прогнозування тяжкості atopічних захворювань є недоцільним. Подальші дослідження є необхідними для з'ясування впливу поліморфізму на ефективність терапії atopічних захворювань.

Висновок

У дітей із мінорним генотипом ТТ поліморфізму гена *ATG5* виявлено підвищений ризик розвитку atopічних захворювань, що становить 72 %. У хворих на бронхіальну астму мінорний генотип ТТ поліморфізму гена *ATG5* асоційований зі зниженим показником $ОФВ_1$. Поліморфізм rs510432 гена *ATG5* доцільно використовувати з метою прогнозування розвитку atopічних захворювань у дітей.

Конфлікт інтересів. Автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів.

Список літератури

1. Ласиця О.Л. Аллергологія дитячого віку / О.Л. Ласиця, Т.С. Ласиця, С.М. Недельська. — К.: Книга плюс, 2004. — 368 с.
2. Охотникова Е.Н. Механизмы формирования и клинические особенности течения «атопического марша» у детей / Е.Н. Охотникова // Здоровье Украины. Тематический выпуск. — 2010. — С. 16-17.
3. Рекен М. Наглядная аллергология: Пер. с англ. / М. Рекен, Г. Греверс, В. Бургдорф. — М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013. — 238 с.
4. Beck L.A. Allergen sensitization through the skin induces systemic allergic responses / Beck L.A., Leung D.Y. // *J. Allergy Clin. Immunol.* — 2000. — № 106(5 Suppl.). — P. 258-63.
5. Betz C. Where is mTOR and what is it doing there? / Betz C., Hall M.N. // *J. Cell. Biol.* — 2010. — Vol. 203, № 4. — P. 563-574.
6. Cookson W.O. Genetic linkage of childhood atopic dermatitis to psoriasis susceptibility loci / Cookson W.O., Ubhi B., Lawrence R., Abecasis G.R., Walley A.J., Cox H.E., Coleman R., Leaves N.I., Trembath R.C., Moffatt M.F., Harper J.I. // *Nat. Genet.* — 2001. — Vol. 27, № 4. — P. 372-3.
7. Deretic V. Autophagy in infection / Deretic V. // *Curr. Opin. Cell. Biol.* — 2010. — Vol. 22, № 2. — P. 252-562.
8. Eichenfield L.F. Atopic dermatitis and asthma: parallels in the evolution of treatment / Eichenfield L.F., Hanifin J.M., Beck L.A., Lemanske R.F. Jr, Sampson H.A., Weiss S.T., Leung D.Y. // *Pediatrics.* — 2003. — Vol. 111, № 3. — P. 608-16.
9. Gupta J. Resolving the etiology of atopic disorders by using genetic analysis of racial ancestry / Gupta J., Johansson E., Bernstein J.A., Chakraborty R., Khurana Hershey G.K., Rothenberg M.E., Mersha T.B. // *J. Allergy Clin. Immunol.* — 2016. — pii: S0091-6749(16)30256-1. — doi: 10.1016/j.jaci.2016.02.045. [Epub ahead of print].
10. Hussey S. Autophagy as an emerging dimension to adaptive and innate immunity / Hussey S., Travassos L.H., Jones N.L. // *Semin. Immunol.* — 2009. — № 21 — P. 233-41.
11. Inoue D. Inducible disruption of autophagy in the lung causes airway hyper-responsiveness / Inoue D., Kubo H., Taguchi K., Suzuki T., Komatsu M. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2011. — № 405. — P. 13-18.
12. Jyothula S.K. Autophagy and role in asthma / Jyothula S.K., Eissa N.T. // *Curr. Opin. Pulm. Med.* — 2013. — № 19. — P. 30-35.
13. Kondo N. Pharmacogenetics of asthma in children / Kondo N., Matsui E., Nishimura A., Kaneko H. // *Allergy Asthma Immunol. Res.* — 2010. — Vol. 2, № 1. — P. 14-9.
14. Lee J.U. Gene-Environment Interactions in Asthma: Genetic and Epigenetic Effects / Lee J.U., Kim J.D., Park C.S. // *Yonsei Med. J.* — 2015. — Vol. 56, № 4. — P. 877-86.
15. Levine B. Unveiling the roles of autophagy in innate and adaptive immunity / Levine B., Deretic V. // *Nat. Rev. Immunol.* — 2007. — Vol. 7, № 10. — P. 767-77.
16. Li G. Ménage à Trois in stress: DAMPs, redox and autophagy / Li G., Tang D., Lotze M.T. // *Semin. Cancer Biol.* — 2013. — Vol. 23, № 5. — P. 380-90.
17. Li C. Autophagy is induced in CD4+ T cells and important for the growth factor-withdrawal cell death / Li C., Capan E., Zhao Y., Zhao J., Stolz D., Watkins S.C., Jin S., Lu B. // *J. Immunol.* — 2006. — № 177. — P. 5163-5168.
18. Miller B.C. The autophagy gene *ATG5* plays an essential role in B lymphocyte development / Miller B.C., Zhao Z., Stephenson L.M., Cadwell K., Pua H.H., Lee H.K., Mizushima N.N., Iwasaki A., He Y.W., Swat W., Virgin H.W. // *Autophagy.* — 2008. — Vol. 4, № 3. — P. 309-14.
19. Mizushima N. Autophagosome formation in mammalian cells / Mizushima N., Ohsumi Y., Yoshimori T. // *Cell. Struct. Funct.* — 2002. — Vol. 27, № 6. — P. 421-9.
20. Nakano H. An unexpected role for autophagy in degranulation of mast cells / Nakano H., Ushio H. // *Autophagy.* — 2011. — Vol. 7, № 6. — P. 657-9.
21. Oh J.E. Autophagy as an innate immune modulator / Oh J.E., Lee H.K. // *Immune Network.* — 2013. — Vol. 13, № 1. — P. 1-9.
22. Ortiz R.A. Genetics of allergic diseases / Ortiz R.A., Barnes K.C. // *Immunol. Allergy Clin. North Am.* — 2015. — Vol. 35, № 1. — P. 19-44.
23. Poon A. *ATG5*, autophagy and lung function in asthma / Poon A., Eidelman D., Laprise C., Hamid Q. // *Autophagy.* — 2012. — Vol. 8, № 4. — P. 694-5.
24. Puleston D.J. Autophagy in the immune system / Puleston D.J., Simon A.K. // *Immunology.* — 2014. — Vol. 141, № 1. — P. 1-8.
25. Schmid D. Antigen-loading compartments for major histocompatibility complex class II molecules continuously receive input from autophagosomes / Schmid D., Pyraert M., Munz C. // *Immunity.* — 2007. — № 26. — P. 79-92.
26. Spengel J.M. Atopic dermatitis and the atopic march / Spengel J.M., Paller A.S. // *J. Allergy Clin. Immunol.* — 2003. — № 112 (6 Suppl.). — P. 118-27.
27. Tao Zheng. The Atopic March: Progression from Atopic Dermatitis to Allergic Rhinitis and Asthma / Tao Zheng, Jinho Yu, Min Hee Oh, Zhou Zhu // *Allergy Asthma Immunol. Res.* — 2011. — Vol. 3, № 2. — P. 67-73.
28. Valdor R. Autophagy and the regulation of the immune response / Valdor R., Macian F. // *Pharmacological. Research.* — 2012. — № 66. — P. 475-483.
29. Xu Yi. Autophagy in Innate and Adaptive Immunity / Xu Yi, Eissa N.T. // *Proc. Am. Thorac. Soc.* — 2010. — Vol. 7. — P. 22-28.
30. Zhifen Yang. An Overview of the Molecular Mechanism of Autophagy / Zhifen Yang, Klionsky D.J. // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* — 2009. — № 335. — P. 1-32.

Отримано 25.07.16 ■

Емець О.В.

Національний медичинський університет імені А.А. Богомольця, г. Київ, Україна

ОДНОНУКЛЕОТИДНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ RS510432 ГЕНА АУТОФАГИИ 5 И РАЗВИТИЕ «АТОПИЧЕСКОГО МАРША» У ДЕТЕЙ

Резюме. Цель: определить связь между однонуклеотидным полиморфизмом rs510432 гена аутофагии 5 (*ATG5*) и развитием «атопического марша» у детей, выяснить вероятность манифестации клинических проявлений и особенности клинического течения атопических заболеваний у лиц с различными аллельными вариантами полиморфизма. **Методы.** Генотипирование полиморфизма rs510432 гена *ATG5* у детей с атопическими заболеваниями и у практически здоровых детей с использованием методики полимеразной цепной реакции в реальном времени. **Результаты.** Минорная аллель T rs510432 гена *ATG5* достоверно чаще определяется у пациентов с атопическими заболеваниями, чем у здоровых детей ($\chi^2 = 6,36$; $p < 0,05$). По результатам логистической регрессии риск развития атопических заболеваний у детей с минорным генотипом в 2,4 раза выше, чем у детей с мажорным генотипом. Средние показатели объема форсированного

выдоха за 1 секунду (ОФВ₁) у больных с бронхиальной астмой с минорным генотипом достоверно ниже, чем с мажорным генотипом ($Q = 2,71$; $p < 0,05$). Не обнаружено статистически значимых различий в распределении аллельных вариантов полиморфизма rs510432 гена *ATG5* в зависимости от тяжести бронхиальной астмы, атопического дерматита и аллергического ринита у детей. **Выводы.** У детей с минорным генотипом ТТ полиморфизма гена *ATG5* выявлен повышенный риск развития атопических заболеваний, который составляет 72 %. У пациентов с бронхиальной астмой минорный генотип ТТ полиморфизма гена *ATG5* ассоциирован со снижением показателя ОФВ₁. Данный полиморфизм целесообразно использовать с целью прогнозирования риска атопических заболеваний у детей.

Ключевые слова: однонуклеотидный полиморфизм, аутофагия, *ATG5*, атопические заболевания, дети.

Iemets O.V.

National Medical University named after O.O. Bohomolets, Kyiv, Ukraine

THE SINGLE-NUCLEOTIDE POLYMORPHISM RS510432 IN ATG5 GENE AND THE DEVELOPMENT OF ATOPIC MARCH IN CHILDREN

Summary. Objective: to determine the association between single-nucleotide polymorphism rs510432 in gene *ATG5* and the development of atopic march in children, to find out the probability of clinical manifestation and the features of the clinical course of atopic diseases in individuals with different allelic variants of polymorphism. **Methods.** Genotyping assay of polymorphism rs510432 in gene *ATG5* was performed in children with atopic diseases and apparently healthy children using real-time polymerase chain reaction. **Results.** The minor T allele of rs510432 in *ATG5* gene was significantly more often found in patients with atopic diseases than in apparently healthy children ($\chi^2 = 6.36$; $p < 0.05$). The results of logistic regression demonstrated that the risk of atopic diseases in children with minor genotype is 2.4 times higher than in carriers of major genotype. The average values of forced ex-

piratory volume in 1 second (FEV₁) are significantly lower in asthma patients with minor genotype than in thereof with major genotype ($Q = 2.71$; $p < 0.05$). There were no statistically significant differences in the distribution of allelic variants of rs510432 polymorphism of the gene *ATG5* depending on the severity of bronchial asthma, atopic dermatitis and allergic rhinitis in children. **Conclusions.** Children with minor TT genotype of gene *ATG5* polymorphism had an increased risk of atopic diseases, which is 72 %. In patients with bronchial asthma, minor TT genotype of gene *ATG5* polymorphism has been associated with reduced FEV₁. Rs510432 polymorphism of the gene *ATG5* should be used to predict the development of atopic diseases in children.

Key words: single nucleotide polymorphism, autophagy, *ATG5*, atopic diseases, children.