

©О. В. Тяжка, Ю. О. Савенко

**ГЕНЕТИЧНІ, ІМУННІ ТА КЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ АЛЕРГІЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ У ДІТЕЙ***НМУ ім. О. О. Богомольця, м. Київ, Україна*

ГЕНЕТИЧНІ, ІМУННІ ТА КЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ АЛЕРГІЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ У ДІТЕЙ. В статті наведено результати вивчення клінічних та деяких імунологічних особливостей перебігу atopічного дерматиту (АД) та бронхіальної астми (БА) у 50 дітей з різноманітними варіантами алельного поліморфізму генів групи глутатіон-S-трансферази (GSTT1, GSTP1, GSTM1) та 50 новонароджених. З'ясувалось, що 81 % дітей, що хворіють на БА та АД мають мутації в досліджуваних генах. Підвищення частоти делеційного поліморфізму гена *GSTM1* було виявлено при обтяженій за atopією спадковості порівняно з хворими, у яких родовід не був обтяжений випадками алергічної патології (відповідно 57,89 %; 37,50 %,  $p < 0,05$ ). У хворих на БА середнього ступеня важкості була вірогідно підвищена частота делеційного поліморфізму гена *GSTM1* у порівнянні з хворими з легким перебігом відповідно 85,71 % та 15,38 %,  $p < 0,001$ ). Переважна більшість новонароджених, які мають зміни у структурі генів GST, народжені від батьків, які страждають на алергічні захворювання 78 %, 20% (10) новонароджених, у котрих не виявлено мутацій досліджуваних генів, народжені від батьків без алергічно обтяженої спадковості і водночас у цих дітей не виявлено ознак atopії після народження. Нами встановлено зв'язок між наявністю делецій в групі досліджуваних генів та захворюваністю на АД та БА та важкістю їх перебігу.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ, ИММУННЫЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ДЕТЕЙ. В статье представлены результаты изучения клинических и некоторых иммунологических особенностей течения АД и БА у детей с разнообразными вариантами аллельного полиморфизма генов группы глутатион-S-трансферазы (GSTT1, GSTP1, GSTM1). Определен делеционный полиморфизм данной группы генов у новорожденных с отягощенной по atopии наследственностью. Обследовано 100 детей, из них 50 – новорожденные и 50 детей больных БА и АД. 81 % детей с АД и БА имеют мутации в исследуемых генах, характерна повышенная частота делеционного полиморфизма гена *GSTM1* при отягощенной по atopии наследственности 57,89 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с пациентами без алергоанамнеза соответственно 37,50 % ( $p < 0,05$ ). Также у больных БА средней тяжести была значительно выше частота делеционного полиморфизма гена *GSTM1* по сравнению с легкими течением заболевания (соответственно 85,71 % и 15,38 %,  $p < 0,001$ ). Установлено, что 80 % (40) новорожденных имеют изменения в структуре генов группы GST, семейный анамнез 78% из них отягощен по atopии, а 20 % (10) новорожденных, в исследуемых генах которых не выявлено изменений, рождены от родителей без аллергических заболеваний. Нами установлена связь между наличием делеций в группе данных генов и заболеваемостью аллергической патологией а также тяжестью течения заболеваний.

GENETIC, IMMUNE AND CLINICAL PECULIARITIES OF ALLERGIC DISEASES IN CHILDREN. This article presents the results of studies the glutation-S-transpheras group of genes: GSTT1, GSTP1, GSTM1 in 50 newborns and 50 children with asthma and atopie dermatitis. Molecular-genetic determination of deletion polymorphism of GST genes was measured by PCR. 80 % (40) newborns had some changes in the structure of GST – group genes, 78 % of them had weighed atopie anamnes. 81 % children with asthma and dermatitis had mutations in GST- group of gens structure. The deletion polymorphism in *GSTM1*gen was superiorly in children with atopie anamnes 57,89 % ( $p < 0,05$ ), without atopie anamnes 37,50 % ( $p < 0,05$ ). Children with severe and medium asthma had deletion polymorphism in *GSTM1* gen in 85,71 % ( $p < 0,001$ ) cases and with mild asthma only in 15,38 % of cases ( $p < 0,001$ ). We have installed connection between mutation present in GST group of genes and illness of asthma and atopie dermatitis. It is directly proportional dependence between severity of clinical course of allergic pathology and number of structural changes in GST- group of gens.

**Ключові слова:** Бронхіальна астма, atopічний дерматит, новонароджені, делеційний поліморфізм генів глутатіон-S-трансферази.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, atopический дерматит, новорожденные дети, делеционный полиморфизм генов глутатион-S-трансферазы.

**Key words:** newborns, asthma, atopie dermatitis, deletion polymorphism, glutation-S-transpherases.

**ВСТУП.** За прогнозами ВООЗ, до 2050 року від різноманітних алергозів буде страждати більша частина населення планети, а XXI століття стане епохою алергії. На сьогоднішній день алергія входить до шістки найпоширеніших захворювань людини. За результатами епідеміологічних досліджень, що проводилися за методикою ISAAC в світі від алергії страждає близько 30 % дитячої популяції. В Україні на сьогодні відсутня вірогідна статистика поширеності алергічної патології, і у зв'язку з цим, у порівнянні з даними, отриманими в різних регіонах світу, поширеність АЗ у дітей в нашій країні залишається заниженою в 3–5 разів. Для прикладу поширеність АД в світі становить 15–

20 %, а в Україні – 7,61 %; БА – 7–10 %, а в Україні – 5,78 %, алергічного риноконьюктивіту – 15–20 і 4,86 % відповідно [1].

Показники захворюваності на БА варіюють в різних країнах та популяціях і складають від 1 % до 18 %. У дітей цей показник коливається в межах 5–10 % в популяції і залежить від віко-статевих характеристик. Встановлено, що у ранньому віці частіше хворіють хлопчики, ніж дівчатка (6 % та 3,7 % відповідно), однак у пубертатному віці частота захворюваності БА стає однаковою. У віковому аспекті найбільша поширеність БА реєструється в шкільному віці. Висока захворюваність БА у дітей характерна для промислових

регіонів з несприятливою екологією. Так, у мешканців міста частіше реєструється БА, ніж у мешканців села (7,1 % та 5,7 % відповідно)[2].

Протягом останніх років спостерігається значне помолодшання алергічної патології (зміщення початку на більш ранній вік) і тенденція до почастишання тяжких клінічних форм, що висуває проблему лікування і профілактики алергії у дітей на одне з провідних місць в сучасній клінічній педіатрії. Розвиток АЗ упродовж життя у схильних до atopії осіб отримав назву алергічного (або atopічного) маршу. У дітей першими проявами алергії частіше за все є харчова алергія і АД. Маніфестація симптомів цих захворювань, як правило, відбувається в грудному віці і часто за часом збігається з припиненням грудного вигодовування, введенням прикорму або порушенням дієти матерію – годувальницею. У цей період життя дитини найбільше значення мають харчові алергени, в подальшому розвивається алергія до побутових і пилоквих алергенів і формуються (частіше у перші 5–6 років життя) респіраторні АЗ – алергічний риніт (АР) та бронхіальна астма (БА). Частота АД і гастроінтестинальних проявів алергії з віком знижується. [3].

Атопічний дерматит та бронхіальна астма є мультифакторіальними генетично детермінованими захворюваннями, що реалізується під впливом факторів зовнішнього середовища і характеризується хронічним рецидивуючим перебігом та віковою динамікою клінічних проявів. Генетичний чинник – один із провідних етіопатогенетичних факторів реалізації цих захворювань у дітей, особливо – з atopічною аномалією конституції. На сьогодні відомі такі тригери БА: алергени (побутові, епідермальні, пилкові, харчові, інсектні, інфекційні, хімічні), полутанти, фізичні фактори, психоемоційні фактори, фізичне перевантаження, медикаменти [4].

Відомо, що АД розвивається у 80 % дітей, якщо у обох батьків має місце алергічна патологія і більше ніж у 50 % дітей, якщо на алергію страждає один з батьків [5].

При потрапленні в організм антигенів (алергенів), його гомеостаз підтримує складна багаторівнева система детоксикації ксенобіотиків. Процес детоксикації являє собою комплексну взаємодію різних ферментів з екзогенними речовинами, в тому числі з токсичними сполуками і включає три послідовні фази. В першій фазі відбувається ферментативне зв'язування ксенобіотиків та ендобіотиків з утворенням проміжних електрофільних метаболітів, які часто є токсичними. Завданням ферментів другої фази детоксикаційних систем організму є перетворення токсичних переважно водонерозчинних метаболітів у нетоксичні водорозчинні похідні, які за допомогою внутрішніх органів будуть вільно виводитись з організму – третя фаза детоксикації. Група генів, що кодує синтез ферментів детоксикації другої фази представлена суперсім'єю глутатіон-S-трансферази (GST). GST каталізують взаємодію глутамата з електрофільними атомами N, C, S, O і відповідають за кон'югацію сульфгідрильної групи з молекулою ксенобіотиків. Глутатіон – опосередкована детоксикація має ключове значення в забезпеченні резистентності клітин до перикисного окис-

лення ліпідів, вільних радикалів, алкілуванню протеїнів та в попередженні порушення структури ДНК. GST широко представлені в усіх органах та тканинах людського організму. Найбільша їх концентрація спостерігається у печінці, плаценті, легенях, головному мозку, нирках, кишківнику. Відомо, що гомозиготи за нульовими аллелями не здатні виробляти відповідний фермент з нормальним рівнем активності. В суперродині GST найбільш важливе значення мають: GSTT1, GSTP1, GSTM1, функціонально ослаблені аллелі котрих асоціюються з розвитком алергічних захворювань [6].

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.** Нами обстежено 100 дітей: 50 новонароджених та 50 дітей, які вже мають АЗ (14 – з АД та 36 – з БА). При обстеженні проводився клінічний огляд, детальний збір анамнезу, визначення функції зовнішнього дихання у хворих з БА, визначення IgE та IL-4, IL-10 в крові та IgA в слині. Дослідження аллельного поліморфізму генів групи GST (GSTT1, GSTP1, GSTM1) проводилось на базі референс-центру з молекулярної діагностики МОЗ України. Постановка діагнозу та оцінка важкості перебігу захворювання здійснювались відповідно до наказів МОЗ України від 27.12.2005 № 767 та від 08.10.2013 № 868. Вірогідних відмінностей в статевому розподілі новонароджених та хворих на АЗ дітей не виявлено, середній вік хворих дітей складав  $8,76 \pm 0,83$  років. Молекулярно-генетичне дослідження аллельного поліморфізму генів *GSTT1*, *GSTM1* проводилось з використанням мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в автоматичному режимі в термоциклерах GeneAmp 2400, GeneAmp 2700 (Applied Biosystems) з послідовностями праймерів синтезованих фірмою «Синтол» (Росія). Поліморфізм *A313G* гена *GSTP1* визначався шляхом ПЛР-ПДРФ, продукти рестрикційного аналізу досліджували електрофоретичним методом в 1,5 % агарозному гелі. Визначення IgE, IL-4, IL-10 в крові та IgA в слині проводилось шляхом імуноферментного аналізу. Статистичний аналіз отриманих результатів проводився з використанням стандартних критеріїв  $\chi^2$  та Фішера за допомогою електронних таблиць MS Excel та програми Statistica 6.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.** При аналізі анамнезу дітей, які хворіють на бронхіальну астму (БА) та atopічний дерматит (АД) з'ясувалось, що 74 % (37) з них мають обтяжену за atopією спадковість, 70 % (35) перебували на природному вигодовуванні менше 6 місяців, а 20 % (10) взагалі не отримували грудного молока і споживали низько адаптовані молочні суміші, або навіть коров'яче молоко в перші місяці життя. Жодна з матерів дітей хворих на БА та АД не дотримувалась гіпоалергенного харчування та побуту під час вагітності, а 77 % з них мали тривалий гестоз.

50 % (18) дітей хворих на бронхіальну астму мали в анамнезі прояви atopічного дерматиту, що передували розвитку БА, а у 83 % (41) хворих на БА та АД спостерігалась atopічна аномалія конституції після народження, при цьому дітям своєчасно не було забезпечено гіпоалергенного побуту та відповідної дієти. У дітей з середньоважким перебігом БА та АД навіть під час клінічної ремісії спостерігалось підвищення в

крові рівня IgE (більше ніж 50 МО/мл) та незначне підвищення IL-4 (не більше ніж вдвічі від вікової норми), а під час загострення захворювання рівень цих показників перевищував в десятки разів вікові норми. Що до IL-10 в крові та IgA в слині, рівні цих показників були в межах вікової норми в період ремісії: IL-10 менше 25 Пг/мл, а IgA в слині менше 0,5 г/л, та мали тенденцію до підвищення під час загострення БА та АД. При аналізі алельного поліморфізму генів групи глутатіон-S-трансферази виявилось, що структурні зміни в групі даних генів мають 81 % (42) дітей з АЗ, 19 % (8) дітей таких змін не мали, це були діти з легким перебігом АЗ. Хворі, у котрих БА передували atopічний дерматит та алергічний риніт (atopічний марш) мали вірогідно підвищену частоту делеційного поліморфізму гена *GSTM1* на відміну від хворих на БА без алергічного маршу (відповідно 60 %; 41,66 %,  $p < 0,05$ ). Підвищення частоти делеційного поліморфізму гена *GSTM1* було виявлено також у хворих на АЗ при обтяженій алергічною патологією спадковості порівняно з хворими на БА, у яких родовід не був обтяжений випадками алергічної патології (відповідно 57,89 %; 37,50 %,  $p < 0,05$ ), при цьому обтяженість родоводу була переважно по материнській лінії. У хворих на АД, у яких перебіг захворювання не супроводжувався розвитком БА, частота делеційного поліморфізму гена *GSTM1* була вірогідно нижчою у порівнянні з частотою цього поліморфного варіанту у хворих на БА з atopічним дерматитом в анамнезі (відповідно 36,36 %; 60 %,  $p < 0,05$ ). У хворих на БА середнього ступеня важкості була вірогідно підвищена частота делеційного поліморфізму гена *GSTM1* у порівнянні з хворими з легким ступенем важкості (відповідно 85,71 % та 15,38 %,  $p < 0,001$ ). Слід зазначити, що діти з важким і середньоважким перебігом захворювань мали структурні зміни в досліджуваній групі генів і підвищений рівень загального IgE, в той час як у дітей з легким перебігом рівень цього показника значно менше відрізнявся від відповідної вікової норми, або знаходився в межах допустимих інтервалів.

Серед новонароджених 80 % (40) обстежених мають зміни в структурі генів групи глутатіон-S-трансферази, серед них 34 % (18) мають мутації за двома генами і 7 % (4) – за трьома. Переважна більшість новонароджених, зі змінами у структурі генів глутатіон-S-трансферази 75 % (30), народжені від батьків, які страждають на алергічні захворювання. За результатами клінічного обстеження у 23 % (13) новонароджених відмічались прояви токсичної еритеми в перші

дні життя, а у 42 % (21) новонароджених спостерігалась підвищена сухість шкіри після народження. Всі ці діти мали мутації в структурі генів глутатіон-S-трансферази. При цьому 20 % (10) новонароджених, у котрих не виявлено мутацій досліджуваних генів, народжені від батьків без алергічно обтяженої спадковості і водночас у цих дітей не виявлено ознак atopії після народження. Всі новонароджені були оцінені на 8–10 балів за шкалою В. Апгар, народились на 38–42 тижні вагітності і не мали респіраторних розладів в ранньому неонатальному періоді.

**ВИСНОВКИ.** Проведене нами дослідження демонструє наявність спадкової схильності до розвитку АЗ на прикладі БА та АД і доводить, що в реалізації atopічної спадковості велике значення має середовище в якому дитина розвивається після народження, а саме особливості побуту та харчування. Штучне та змішане вигодовування в перші 6 місяців життя дитини з обтяженим алергічним анамнезом стає фактором ризику щодо розвитку АЗ. Генетична схильність до розвитку АЗ пов'язана з генами групи глутатіон-S-трансферази (GST): *GSTT1*, *GSTP1*, *GSTM1*. Важкість клінічного перебігу АЗ прямопропорційно залежить від кількості структурних змін в групі даних генів. Делеційні варіанти генів групи GST супроводжуються імунологічними змінами: підвищенням рівнів IgE та IL-4 в крові. Алергічний марш з розвитком БА та обтяжена спадкова схильність до розвитку БА асоційовані з наявністю у хворого делеційного поліморфізму гена *GSTM1*. Наявність делеційного поліморфізму гена *GSTM1* у хворого сприяє важчому перебігу БА. Виявлення серед обстежених новонароджених дітей групи ризику по розвитку АЗ та розробка спеціальних профілактичних заходів для них, ймовірно, сприятиме зниженню поширеності алергічних захворювань або більш легкому їх перебігу, а визначення делеційного поліморфізму гена *GSTM1* у дітей з АЗ допоможе спрогнозувати важкість перебігу захворювання та обрати правильну тактику лікування.

#### ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.

Надалі ми плануємо займатись вивченням в динаміці стану здоров'я новонароджених, які мали різноманітні варіанти алельного поліморфізму генів групи глутатіон-S-трансферази (*GSTT1*, *GSTP1*, *GSTM1*) і народжені від батьків з алергічними захворюваннями, а також вибірково застосовувати у них комплекс превентивних заходів, що на нашу думку знизить ризик реалізації atopічно обтяженої спадковості та ступінь її проявів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Наказ МОЗ України від 08.10.2013 № 868 "Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при бронхіальній астмі.
2. Охотнікова О. М. Профілактика алергії у дітей: сучасні можливості та перспективи. Дитячий лікар 2011; 2: 26–27.
3. Тяжка О. В., П'ятницький Ю. С. Педіатрія. – Вінниця: Нова Книга. – 2008; С. 770–772.
4. Майданник В. Г. Современные стандарты в лечении

аллергий: инновационные технологии и безопасность на первом месте. Здоров'я України 2010; 13–14:10.

5. Желенина Л. А., Иващенко Т. Э. Полиморфизм генов семейства глутатіон-S-трансферазы (GST) при бронхиальной астме у детей. Аллергология 2003; (2) : 13–16.

6. Наказ МОЗ України від 27.12.2005 № 767 Про затвердження протоколів діагностики і лікування алергологічних хвороб у дітей. Додаток № 5.

7. Williams H. et al., 2008; Уманець Т.Р., 2010. health-ua.com/pics/pdf/.

Отримано 22.01.14