

На правах рукописи

СЕЛИВЕРСТОВА Екатерина Николаевна

**КЛИНИКО-ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ
МОДИФИКАЦИИ ГЕНА СС16 И ГЕНА ИЛ-4
ПРИ БРОНХООБСТРУКТИВНОМ СИНДРОМЕ У ДЕТЕЙ**

14.01.08 – Педиатрия

**АВТОРЕФЕРАТ
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Астрахань – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

БАШКИНА Ольга Александровна, доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

ЗАЙЦЕВА Ольга Витальевна, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения России, кафедра педиатрии, заведующая кафедрой

МАЛЮЖИНСКАЯ Наталья Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра детских болезней педиатрического факультета, заведующая кафедрой

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Защита состоится « _____ » ноября 2019г в _____ часов на заседании совета Д 208.005.02 по защите диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук при ФГБОУ ВО «Астраханский ГМУ» Минздрава России (414000, г.Астрахань, ул. Бакинская, 121).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте <http://astgmu.ru> ФГБОУ ВО «Астраханский ГМУ» Минздрава России.

Автореферат разослан « _____ » _____ 20 _____ г.

Учёный секретарь
диссертационного совета,
к.м.н.

Севостьянова Ирина Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ:

Актуальность проблемы. В последние годы во всех развитых странах мира в структуре общей заболеваемости детей отмечается стабильный рост респираторной патологии. Увеличивается доля бронхитов, при которых наблюдается рецидивирующий характер течения синдрома бронхиальной обструкции (СБО). Повторные эпизоды СБО у детей являются главным фактором риска снижения легочной функции, усугубляют бронхиальную гиперреактивность и создают условия для реализации повышенной чувствительности с формированием хронических форм бронхолегочных заболеваний, в т.ч. бронхиальной астмы (БА) [Германова О.Н., 2017, Денисевич И.О., 2015].

Особое место среди основных патогенетических механизмов СБО у детей принадлежит дизрегуляторным нарушениям иммунологической защиты организма. Вялотекущий характер воспаления и переход его в хронический ассоциируется с повышенной гиперреактивностью бронхов и формированием рецидивирующего характера СБО. Подобное состояние может характеризоваться дисбалансом между соотношением про- и противовоспалительных цитокинов, участвующих в цитокиновом каскаде, который запускается в ответ на вирусно-бактериальные триггеры или на основные группы аллергенов [Малахов А.Б., 2018].

Изучение патогенетических механизмов СБО на современном этапе невозможно без знаний иммуногенетических основ. Особое внимание уделяется генам, ответственным за синтез цитокинов, а именно интерлейкину 4 (ИЛ-4). Представляет интерес изучение роли гена CC16, ответственного за выработку секретоглобина (белка, синтезирующегося в значительном количестве клетками Клара) [Кругликов Г.Г., 2016, Ниязов Ф.И., 2015].

Учитывая схожесть клинической картины, ранний возраст манифестации рецидивирующего бронхита и бронхиальной астмы, остается актуальным вопрос создания дифференциально-диагностических алгоритмов на основании уточнения иммуногенетических механизмов и клинических предикторов для каждой нозологической группы заболеваний, протекающих с СБО.

Степень разработанности темы исследования. По литературным данным имеется ряд работ, посвященных изучению этиологических факторов и предикторов формирования обструктивного бронхита, бронхиальной астмы и хронических заболеваний легких неаллергического генеза [Зайцева С.В., 2017; Геппе Н.А., 2018]. В то же время, не определен комплекс критериев,

позволяющих прогнозировать дальнейшую кратность и течение БОС при данных заболеваниях. Ранее многими исследователями установлены значимые изменения показателей цитокиновой регуляции при СБО у детей [Баранов А.А., 2017; Соловьева Н.А., 2016]. Однако отсутствуют убедительные данные о достоверных клинико-иммунологических предикторах вероятности повторяющихся эпизодов СБО у детей с РБ и БА, в корреляции с результатами иммуногенетических исследований. В литературе встречаются работы по изучению влияния полиморфизма С-590Т гена ИЛ-4 на вероятность развития и тяжесть течения бронхиальной астмы и других атопических заболеваний [Андрейчикова Е.А., 2018]. Однако полученные сведения крайне противоречивы, и вопрос о возможном влиянии генотипов на течение и реализацию аллергического воспаления при СБО остается открытым до настоящего времени. В то же время, принимая во внимание активное участие секретоглобина в воспалительном процессе, не исключается влияние полиморфизма А38G гена СС16 в реализации рецидивирующего характера СБО. На сегодняшний момент отсутствуют работы, уточняющие влияние данного гена на течение воспалительного процесса при заболеваниях нижних дыхательных путей и на фенотипические проявления БОС различного генеза. Таким образом, в настоящее время не определен спектр скрининговых показателей, позволяющих уточнить дальнейшее течение обструктивного бронхита в плане его рецидивирования или трансформации в бронхиальную астму.

Цель исследования. Установить клинико-диагностическое и дифференциально-прогностическое значение модификаций генов СС16 и ИЛ-4 и показателей цитокиновой регуляции у детей с различными формами бронхообструктивного синдрома.

Задачи исследования

1. Провести сравнительную характеристику клинико-анамнестических данных у детей с различным течением бронхообструктивного синдрома и выявить факторы риска его рецидивирования.

2. Определить клиническую и дифференциально-диагностическую значимость уровня цитокинов (ИЛ-4 и ИЛ-8) в сыворотке периферической крови у детей с обструктивным бронхитом (острого и рецидивирующего течения) и бронхиальной астмой.

3. Установить клиническую и дифференциально-диагностическую значимость определения полиморфизма С-

590Т гена ИЛ-4 у детей с обструктивным бронхитом (острого и рецидивирующего течения) и бронхиальной астмой.

4. Установить клиническую и дифференциально-диагностическую значимость определения полиморфизма А38G гена, кодирующего основной компонент бронхиальной жидкости – СС16 у детей с обструктивным бронхитом (острого и рецидивирующего течения) и бронхиальной астмой.

5. Разработать дифференциально-диагностический алгоритм рецидивирующего течения бронхообструктивного синдрома.

Научная новизна исследования

У детей проанализированы клиничко-анамнестические особенности течения обструктивного синдрома как инфекционного, так и аллергического генеза, и выявлены основные предикторы развития СБО, особенности клинического течения, а также прогностические факторы формирования рецидивирующего течения бронхиальной обструкции, как при бронхите, так и при бронхиальной астме.

Уточнено патогенетическое влияние ИЛ-4 и ИЛ-8 у детей с обструктивным бронхитом как острого, так и рецидивирующего течения, а также с бронхиальной астмой. Выявлены достоверные различия уровня цитокинов (ИЛ-4 и ИЛ-8) в зависимости от нозологической формы, что в совокупности с клинической картиной позволяет интерпретировать их в качестве диагностических маркеров воспаления для прогноза течения СБО.

Получена оценка частот аллелей и генотипов полиморфных локусов генов ИЛ-4 и СС16 у детей с острым обструктивным бронхитом (ООБ), рецидивирующим бронхитом, бронхиальной астмой, а также у здоровых индивидов детского возраста, проживающих на территории Астраханской области.

Установлена связь между различными фенотипами СБО и полиморфизмами А38G гена, кодирующего основной компонент бронхиальной жидкости – СС16 и С-590Т гена ИЛ-4.

Выявлено предрасполагающее действие генотипа А/А полиморфизма А38G гена СС16 у детей с обструктивным бронхитом к более раннему старту бронхиальной обструкции и началу инфекционных поражений верхних дыхательных путей уже на первом году жизни.

Выявлена ассоциация генотипа АG полиморфизма А38G гена СС16 с более поздним стартом поражения верхних дыхательных путей инфекционного генеза и бронхообструктивного синдрома, а также с более легкими нарушениями проходимости

при проведении функциональных проб, что определяет его протективное действие при обструктивном бронхите у детей.

Выявлена ассоциация генотипа GG полиморфизма A38G гена CC16 с увеличением частоты развития сопутствующей патологии назофарингеальной зоны у детей с острым обструктивным бронхитом и с формированием отягощенного личного аллергоанамнеза у пациентов с рецидивирующим бронхитом.

Установлено протективное действие генотипа С/Т полиморфизма С-590Т гена ИЛ-4 в отношении степени выраженности обструкции дыхательных путей и наличия отягощенного семейного аллергоанамнеза.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты, полученные в ходе работы, в практической медицине будут способствовать: повышению качества медицинской помощи, снижению медицинских диагностических ошибок, формированию индивидуализированного подхода к терапии у детей с различными формами бронхообструктивного синдрома.

Определены достоверные предрасполагающие факторы к формированию рецидивирующего бронхита и бронхиальной астмы. Полученные результаты позволят проводить дифференциальную диагностику между заболеваниями, протекающими с бронхообструктивным синдромом, и прогнозировать исход СБО.

Определение уровней ИЛ-4 и ИЛ-8 в сыворотке крови может быть использовано в качестве дополнительных дифференциально-диагностических критериев для уточнения нозологических форм бронхообструктивного синдрома у детей.

Выявлены ассоциации полиморфизмов A38G гена CC16 и С-590Т гена ИЛ-4 с основными фенотипическими проявлениями СБО, а также определены основные генотипы, оказывающие как протективное, так и предрасполагающее действие у больных с острым обструктивным бронхитом, рецидивирующим бронхитом и бронхиальной астмой, что позволяет рекомендовать исследование этих генов для уточнения прогноза течения заболеваний и выбора рациональной и обоснованной тактики лечения. Изучение данных полиморфизмов вносит существенный вклад в понимание процесса патогенеза СБО при различных нозологических формах.

Методология и методы исследования

Исследование проводилось согласно стандартам оказания медицинской помощи с учетом соответствующей нозологии. Независимо от нозологической формы исследование дополнительно

включало анкетирование, иммунологические методы – определение общего IgE, ИЛ-4 и ИЛ-8, молекулярно-генетические методы – исследование полиморфизма A38G гена CC16 и полиморфизма C-590T гена ИЛ-4.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Основными предрасполагающими факторами к формированию рецидивирующего бронхита и бронхиальной астмы являются: развитие анемии у матерей в антенатальном периоде, ранний переход на искусственное вскармливание, наличие сопутствующих аллергических заболеваний.

Предикторами рецидивирующего бронхита в детском возрасте являются: женский пол, раннее возникновение респираторных инфекций, а именно на первом году жизни, частые инфекционные поражения верхних дыхательных путей в анамнезе, начало бронхообструктивного синдрома в течение первых трех лет жизни, а также наличие хронических очагов инфекции назофарингеальной зоны.

К значимым факторам формирования бронхиальной астмы относятся: мужской пол, комбинация отягощенного личного и семейного аллергоанамнеза.

2. У больных с бронхообструктивным синдромом наблюдается дисбаланс между про- и противовоспалительными цитокинами в сыворотке крови. Для рецидивирующего бронхита характерны высокие значения ИЛ-8 с умеренным повышением ИЛ-4 и IgE. Многократное увеличение уровня ИЛ-4 в сыворотке крови в сочетании с высокими показателями IgE является неблагоприятным лабораторным прогностическим критерием формирования бронхиальной астмы.

3. В ходе работы определено влияние полиморфизмов C-590T гена ИЛ-4 и A38G гена CC16 на фенотипические проявления обструктивного бронхита (острого и рецидивирующего течения) и бронхиальной астмы у детей. Установлена ассоциация генотипа T/T полиморфизма C-590T гена ИЛ-4 с развитием бронхиальной астмы у детей. Генотип C/C полиморфизма C-590T гена ИЛ-4 ассоциирован с высокой частотой респираторных вирусных инфекций верхних дыхательных путей, с более выраженными нарушениями функции внешнего дыхания и наличием отягощенного семейного аллергоанамнеза. Доказано протективное действие генотипа C/T полиморфизма C-590T гена ИЛ-4 на степень выраженности обструкции дыхательных путей, частоту рес-

пираторных вирусных инфекций верхних дыхательных путей и к отягощенному семейному аллергоанамнезу.

4. У носителей генотипа A/A полиморфизма A38G гена CC16 выявлены ранний старт бронхообструкции, начало острых респираторных вирусных инфекций верхних дыхательных путей на первом году жизни, более тяжелое течение бронхообструктивного синдрома согласно показателям ФВД. В то время как генотип A/G, напротив, ассоциирован с более поздним стартом респираторных инфекций верхних дыхательных путей и бронхообструктивного синдрома, а также с легкими нарушениями проходимости при проведении функциональных проб. Наличие генотипа G/G ассоциировано с развитием как сопутствующей патологии ЛОР-органов, так и аллергопатологии. Установлены гендерные различия в группе пациентов с рецидивирующим бронхитом, а именно, генотип G/G достоверно чаще отмечен среди мальчиков, а генотип A/G среди девочек.

5. Разработан дифференциально-диагностический алгоритм рецидивирующего течения бронхообструктивного синдрома.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов работы определена достаточным объемом выборки (184 ребенка из основной группы и 50 детей из группы контроля), корректным подбором методик исследования, а также использованием оптимальных методов статистической обработки данных.

Основные положения диссертации опубликованы в Астраханском медицинском журнале (2015, 2019), в Казанском медицинском журнале (2016), в журнале «Аллергология и иммунология» (2016), в Вестнике РУДН (2018). Материалы диссертации также представлены в сборниках III Научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Современные аспекты инфекционной патологии» (2013); Всероссийской научно-практической конференции «Исследования молодых ученых – вклад в инновационное развитие России» в рамках программы «У.М.Н.И.К.» (2014); III Всероссийского съезда педиатров, работающих с детьми, страдающими аллергическими болезнями или имеющими другие иммунопатологические состояния (2014); 3-го Российского конгресса с международным участием «Молекулярные основы клинической медицины – возможное и реальное» (2015); XV Научно-практической конференции «Современные концепции научных исследований» (2015) и III Международной научной и практической конференции «International scientific re-

view of the problems and prospects of modern science and education» (2015).

Внедрение результатов работы. Полученные результаты исследования внедрены в практическую работу пульмонологического отделения и кабинета пульмонолога консультативной поликлиники ГБУЗ АО «ОДКБ им. Н.Н. Силищевой» г. Астрахани, а также кабинета пульмонолога ГБУЗ АО «ДГП №3». Теоретический материал включен в учебный процесс и используется на практических занятиях со студентами 5 курса, ординаторами и аспирантами на кафедре факультетской педиатрии ФГБОУ ВО «Астраханский ГМУ» Минздрава России.

Личный вклад автора. Личный вклад заключается в непосредственном участии соискателя в проведении исследований по теме диссертации на всех ее этапах. Совместно с научным руководителем осуществлялось планирование работы, оформление целей и задач, а также разработка дизайна исследования. Организация и проведение исследований по всем разделам диссертации, определение объема и формирование методов исследования, анализ литературы по изучаемой теме, накопление клинического материала, статистическая обработка, интерпретация и анализ полученных данных, а также написание рукописи и подготовка публикаций по теме диссертации проводились автором лично.

Связь с планом научных исследований. Диссертация выполнена в соответствии с планом НИОКТР ФГБОУ ВО «Астраханский ГМУ» Минздрава России на тему «Клинико-лабораторные и иммунологические предикторы развития атопических заболеваний кожи и дыхательных путей у детей». Номер государственной регистрации № 114070770018.

Публикации. По теме диссертации написано и опубликовано 13 печатных работ, из них 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 167 страницах машинописного текста. Работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, 4 глав собственных наблюдений, обсуждения полученных результатов, выводов. Список литературы включает 188 источника, из них 123 отечественных и 65 зарубежных. Работа содержит 69 таблиц, 1 график и 2 клинических примера.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В соответствии с поставленными целями и задачами исследования проведено комплексное обследование 184 детей.

Пациенты были подразделены на 3 группы:

Первую группу составили дети в возрасте от 2 мес до 5 лет 11 мес. 29 дней ($M \pm m = 3.50 \pm 0.21$ лет) с диагнозом острый obstructивный бронхит ($n = 54$; 24 мальчика, 30 девочек). В данную группу вошли пациенты с однократным эпизодом СБО.

Вторая группа представлена детьми в возрасте с 1 года до 5 лет 11 мес. 29 дней ($M \pm m = 3.8 \pm 0.36$ лет) с диагнозом рецидивирующий бронхит. У данных больных синдром бронхиальной обструкции имел рецидивирующий характер, а именно 3 и более эпизода за год ($n=72$; 30 мальчиков, 42 девочки).

В третью группу вошли дети с диагнозом бронхиальная астма в возрасте от 1 года до 17 лет 11 мес 29 дней ($M \pm m = 7,36 \pm 0.50$ лет) ($n=58$; 37 мальчиков, 21 девочек).

Для корректного разделения по группам оценивался катамнез пациентов с глубиной поиска в 5 лет. В качестве контрольной группы для иммунологического и генетического исследования было обследовано 50 условно здоровых детей.

Дизайн исследования включал следующие этапы:

- Клинический блок – сбор клинико-анамнестических данных, анкетирование с помощью специально разработанной анкеты-опросника, данные физикальных методов обследования. С учетом соответствующей нозологии проведение стандартных лабораторных и инструментальных методов исследования.
- Иммунологический блок – определение уровня общего IgE, ИЛ-4 и ИЛ-8 в сыворотке крови методом ИФА с использованием наборов реактивов "ИФА-IL-4", "ИФА-IL-8", «IgE общий-ИФА» (ЗАО «Вектор Бест», г.Новосибирск).
- Молекулярно-генетический блок – исследование полиморфизма A38G гена CС16 и полиморфизма -590 гена ИЛ-4 методом ПЦР и ПДРФ анализа на базе НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отто РАМН (г.Санкт-Петербург)

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью офисных приложений пакета Microsoft с использованием параметрических и непараметрических методов в зависимости от распределения признака. Критический уровень значимости принимался меньше или равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проанализировав возможное влияние перинатальной патологии, установлена высокая частота отягощенного акушерского анамнеза у матерей детей из всех трех сравниваемых групп, а именно у 77,7% детей в группе с острым обструктивным бронхитом, у 66,6% детей с рецидивирующим бронхитом и 81,0% детей с бронхиальной астмой. Согласно статистическим данным в качестве неблагоприятного фактора для формирования в дальнейшем рецидивирующего обструктивного синдрома явилось наличие анемии у матерей во время беременности ($p=0,040$).

При анализе анамнестических данных было выявлено, что ранний переход на искусственное вскармливание (а именно до 6 месячного возраста) является предрасполагающим фактором для развития как рецидивирующего бронхита, так и БА ($p=0,024$).

При изучении личного аллергологического анамнеза выявлен высокий процент отягощенности во всех сравниваемых группах. В тоже время, у пациентов из 2-ой и 3-ей групп личный аллергоанамнез был скомпрометирован достоверно чаще, чем у детей с острым обструктивным бронхитом (59,7%, 84,5% и 40,7% – соответственно, $p<0,01$).

При анализе общеклинических данных в группах, как с острым обструктивным бронхитом, так и с рецидивирующим было отмечено нерезкое преобладание девочек над мальчиками (55,6% – 44,4% ($p>0,05$) и 58,3% – 41,7% ($p=0,046$) соответственно). В тоже время, в группе пациентов с бронхиальной астмой диагноз достоверно чаще выставлялся мальчикам (63,8%), чем девочкам (36,2%) – $p=0,003$.

В ходе исследования доказано, что на формирование в дальнейшем рецидивирующего течения обструктивного бронхита влияет ранний старт респираторных инфекций. У детей с рецидивирующим бронхитом первый эпизод вирусной инфекции достоверно чаще диагностировался на первом году жизни (62,5%) нежели в более старшем возрасте (37,5%) – $p=0,003$.

Отмечено, что синдром бронхообструкции в большинстве случаев развивается у часто болеющих детей. Значительная часть обследуемых нами пациентов, а именно 64,8% из группы с острым обструктивным бронхитом, 80,5% из группы с рецидивирующим бронхитом и 75,8% с бронхиальной астмой, страдали частыми респираторными вирусными инфекциями. Согласно полученным данным, в группе с рецидивирующим бронхитом де-

тей с частыми ОРВИ в анамнезе отмечено достоверно больше, чем в группе с острым обструктивным бронхитом ($p=0,047$).

Анализ данных показал, что ранний дебют синдрома бронхиальной обструкции является неблагоприятным признаком для формирования рецидивирующего течения обструктивного бронхита. У пациентов с рецидивирующим бронхитом первый эпизод СБО статистически значимо чаще возникал в возрасте до 3 лет (79,2%), нежели в более старшем (20,8%) – $p<0,01$.

Сопутствующая патология ЛОР органов (аденоидиты, гаймориты и др.) диагностировались достоверно чаще именно у детей с рецидивирующим бронхитом, чем у пациентов 1 и 3 групп (66,1% по отношению к 44,2% и 40,1% соответственно) – $p<0,001$.

Оценивая возраст обследуемых пациентов отмечено, что при остром и рецидивирующем бронхитах доминирующее количество пациентов приходилось на возраст от 3 до 6 лет – 66,7% и 58,3% соответственно. Однако детей с диагнозом «бронхиальная астма» позднего дошкольного и уже школьного возраста наблюдалось достоверно больше ($p<0,001$).

У пациентов с бронхиальной астмой собственный и семейный аллергоанамнезы были скомпрометированы статистически значимо чаще. В семейном анамнезе диагностировалась, как непосредственно бронхиальная астма, так и иные формы atopических заболеваний (таблица 1).

Таблица 1 – Сравнительная характеристика наличия отягощённого аллергоанамнеза у обследуемых детей

	1 группа (n=54)	2 группа (n=72)	3 группа (n=58)	достоверность:
Наследственность по БА	12 (22,2%)	20 (27,7%)	26 (44,8%)	$\chi^2=7,388$ $p=0,025$, $df=2$
Наследственность по АЗ	14 (25,9%)	23 (31,9%)	30 (51,7%)	$\chi^2=9,058$ $p=0,011$, $df=2$
собственный аллергоанамнез	22 (40,7%)	43 (59,7%)	49 (84,5%)	$\chi^2_{1-2,3}=22,951$; $p=0,001$; $df=2$

Таким образом, к основным предикторам формирования, как рецидивирующего бронхита, так и бронхиальной астмы можно отнести: развитие анемии у матерей в антенатальном периоде, ранний переход на искусственное вскармливание и наличие сопутствующих аллергических заболеваний. Предрасполагающими факторами развития рецидивирующего бронхита являются: женский пол, ранний старт респираторных инфекций (на

первом году жизни), частые инфекционные заболевания верхних дыхательных путей, старт бронхообструктивного синдрома до трех лет, а также наличие хронических очагов инфекции назофарингеальной зоны. Соответственно, к основным предикторам формирования бронхиальной астмы относятся: мужской пол, возраст постановки диагноза старше трех лет и комбинация отягощенного личного и семейного аллергоанамнеза.

Нами установлены статистически значимые различия в частоте клинических проявлений заболеваний с СБО в сравниваемых группах пациентов. Так, в группе больных бронхиальной астмой чаще наблюдалась средняя и тяжелая степень проявления СБО в форме выраженной одышки и дистанционных хрипов ($p < 0,001$). При остром обструктивном бронхите достоверно чаще отмечены симптомы интоксикации, такие как: повышение температуры тела, слабость, утомляемость, снижение аппетита ($p < 0,001$). В тоже время, при рецидивирующем бронхите было выявлено достоверное превосходство количества пациентов с затрудненным носовым дыханием и регионарным лимфаденитом ($p < 0,001$).

Таблица 2 – Показатели ИЛ-4, ИЛ-8 и IgE у пациентов основной группы и группы сравнения ($M \pm m$)

Контроль (n=50)	1 группа (n=54)	2 группа (n=72)	3 группа (n=58)	t-Стьюдента; p
ИЛ-8 (пг/мл) (норма до 10 пг/мл)				
11,19 ± 0,81	68,12±14,13	82,58±13,62	37,79±9,01	<u>1-2:</u> 0,74; p=0,462650
	t- Стьюдента с группой контроля:			<u>1-3:</u> 1,81; p=0,073073
	4,02; p=0,000112	5,23; p=0,000001	2,94; p=0,004062	<u>2-3:</u> 2,74; p=0,006974
ИЛ-4 (пг/мл) (норма до 0,2 пг/мл)				
0,11± 0,01	0,15 ± 0,02	0,52 ± 0,07	1,41 ± 0,14	<u>1-2:</u> 5,08; p=0,000001
	t- Стьюдента с группой контроля:			<u>1-3:</u> 8,91; p=0,000000
	1,79; p=0,000112	5,80; p=0,000000	9,26; p=0,000000	<u>2-3:</u> 5,69; p=0,000000
IgE (МЕ/мл)				
44,56 ± 3,28	56,63 ± 5,45	144,23 ± 19,83	304,49 ± 22,38	<u>1-2:</u> 4,26; p=0,000040
	t- Стьюдента с группой контроля:			<u>1-3:</u> 10,76; p=0,000000
	1,90; p=0,060613	4,96; p=0,000002	11,49; p=0,000000	<u>2-3:</u> 5,36; p=0,000000

В ходе исследований было отмечено значительное повышение уровня ИЛ-8 в периферической крови у пациентов всех сравниваемых групп по сравнению с условно здоровыми детьми. Наиболее значимое повышение уровня ИЛ-8 (в 7 и более раз) было выявлено у пациентов второй группы. При исследовании уровня ИЛ-4 и общего IgE в сыворотке крови, было определено его значимое повышение по сравнению с условно здоровыми детьми у пациентов с рецидивирующим бронхитом и бронхиальной астмой. Максимальные показатели ИЛ-4 и общего IgE (в 6-7 раз и более) определялись в группе больных с бронхиальной астмой (таблица 2).

Согласно данным статистического анализа, нами установлена ассоциация полиморфизма С-590Т гена ИЛ-4 с риском развития бронхиальной астмы, а именно, выявлен предрасполагающий генотип Т/Т (таблица 3).

Таблица 3 – Распределение генотипов и аллелей полиморфизма С-590Т гена ИЛ-4

Генотипы	контроль (n=91)	1 группа (n=54)	2 группа (n=72)	3 группа (n=58)
Т/Т	9 (9,9%)	5 (9,3%)	4 (5,5%)	14 (24,2%) с группой контроля χ^2 с поправкой Йейтса = 4,471, p=0,035, df=1; OR=2,899 (ДИ 1,162 – 7,231)
С/Т	49 (53,9%)	27 (50%)	39 (54,2%)	22 (37,9%)
С/С	33 (36,2%)	22 (40,7%)	29 (40,3%)	22 (37,9%)
Аллели	n=140	n=81	n=111	n=80
Т	58 (41,4%)	32 (39,5%)	43 (38,7%)	36 (45,0%)
С	82 (58,6%)	49 (60,5%)	68 (61,3%)	44 (55,0%)

Анализ распределения частот генотипов и аллелей гена ИЛ-4 по гендерному признаку при исследовании в группе пациентов с ООБ выявил значимое преобладание генотипа С/С среди девочек над мальчиками (56,7% над 20,8% соответственно) – p=0,018, OR=4,969 (ДИ 1,465 – 16,857).

Среди больных с острым обструктивным бронхитом установлен предрасполагающий генотип С/С к частым респираторным заболеваниям верхних дыхательных путей (51,4% детей с частыми ОРВИ относительно 21,0% с редкими ОРВИ) Напротив, гетерозиготный генотип С/Т в данной группе пациентом оказывал протективное действие и достоверно чаще встречался среди редко болеющих детей (73,7% относительно 37,2%) p<0,05.

Выявлена связь с отягощенной наследственностью по развитию малых форм респираторных аллергозов и аллергических заболеваний кожи среди детей с острым обструктивным бронхитом. Установлено, что у носителей генотипа С/С в семейном анамнезе различные аллергические заболевания встречались значительно чаще, а именно у 71,4% пациентов. В тоже время генотип С/Т при данной патологии оказывал протективное действие $p < 0,05$.

В группах пациентов с рецидивирующим бронхитом и бронхиальной астмой достоверных различий по данным признакам выявлено не было.

Отмечено преобладание гетерозиготного генотипа С/Т в общей группе пациентов при более легких нарушениях проходимости бронхов. Тогда как у пациентов с генотипом С/С значительно чаще наблюдались умеренные и выраженные нарушения функции внешнего дыхания (ФВД) (рисунок 1). Определение ассоциаций в каждой нозологической группе в отдельности оказалось не информативным из-за малого количества детей с легкими нарушениями ФВД.

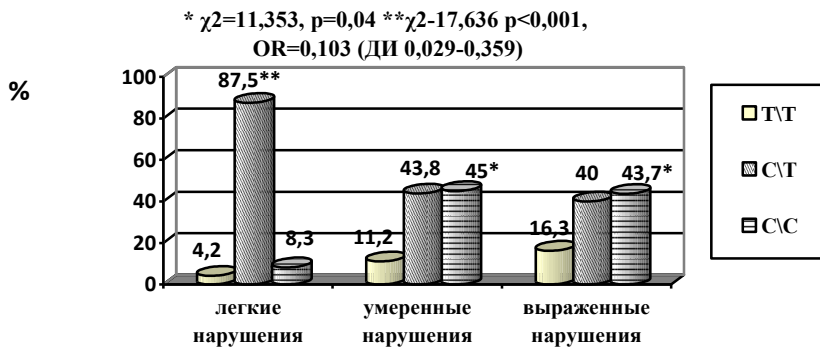


Рисунок 1 – Распределение генотипов полиморфизма С-590Т гена ИЛ4 в зависимости от степени нарушения ФВД у обследуемых пациентов.

При комплексном сравнении общей когорты пациентов в зависимости от распределения генотипов полиморфизма А38G гена СС16 (таблица 4) было отмечено, что в группе больных рецидивирующим бронхитом генотип А/Г оказывал протективное действие (его снижение способствовало реализации заболевания).

Таблица 4 – Распределение генотипов и аллелей полиморфизма A38G гена CC16:

Гено- типы	контроль (n=50)	1 группа (n=54)	2 группа (n=72)	3 группа (n=58)	достоверность
G/G	22 (44,0)	21 (38,9%)	36 (50%)	18 (31%)	$\chi^2 = 5,041$, $p=0,169$, $df=3$
A/G	24 (48,0%)	28 (51,9%)	22 (30,5%) OR = 0,429 (ДИ 0,238– 0,773)	30 (51,7%)	$\chi^2 = 8,326$, $p=0,040$, $df=3$
A/A	4 (8,0%)	5 (9,2%)	14 (19,5%)	10 (17,3%)	$\chi^2 = 4,751$, $p=0,191$, $df=3$
Ал- лели	n=74	n=82	n=94	n=88	
G	46 (62,2%)	49 (59,8%)	58 (61,7%)	48 (54,5%)	$\chi^2 = 1,305$ $p=0,728$, $df=3$
A	28 (37,8%)	33 (40,2%)	36 (38,3%)	40 (45,5%)	

При сравнении частот аллелей и генотипов по гендерному признаку выявлено предрасполагающее действие генотипа G/G для формирования рецидивирующего бронхита у мальчиков 70% (относительно девочек – 35,7%) – $p=0,005$; OR = 4,200 (ДИ 1,539 – 11,463). Тогда, как генотип AG достоверно чаще встречался среди девочек 40,5% (чем среди мальчиков 16,7%) – $p=0,031$; OR = 3,400 (ДИ 1,086 – 10,640).

В группе пациентов с острым обструктивным бронхитом выявлено, что генотип A/A является предрасполагающим генотипом к раннему развитию синдрома бронхиальной обструкции ($p=0,019$); в то время, как генотип A/G является протективным по данному признаку ($p=0,057$; OR = 0,294 (ДИ 0,096 – 0,900)).

Выявлена ассоциация генотипа A/A с ранним стартом повторных респираторных инфекций, а именно на первом году жизни у пациентов с острым обструктивным бронхитом (20,8% – $p<0,05$) и рецидивирующим бронхитом (28,9% – $p<0,05$; OR=10,563 (ДИ 1,295 – 86,151)). У детей с генотипом A/A частая заболеваемость ОРЗ в более старшем возрасте была отмечена лишь в 3,8% случаев. Генотип A/G при данной патологии оказывал протективное действие, а именно у 60,0% детей из 1 группы и у 40,7% пациентов из 2 группы первые эпизоды ОРЗ статистически значимо чаще были отмечены в возрасте старше 1 года (у 41,7% и 24,4% детей из 1 и 2 групп старт ОРЗ отмечен в возрасте до года) ($p<0,05$).

Среди пациентов с острым обструктивным бронхитом выявлено, что у носителей генотипа G/G (62,5%) и аллеля G (72,7%) патология ЛОР-органов встречалась достоверно чаще по сравнению с носителями других генотипов и аллелей $p=0,004$, $OR=6,667$ (ДИ 1,972 – 22,534) и $p=0,050$, $OR=2,560$ (ДИ 0,991 – 6,613) соответственно.

Нами выявлена ассоциация генотипа G/G с наличием отягощенного личного аллергоанамнеза у обследуемых пациентов с рецидивирующим течением обструктивного бронхита (60,5%). У 34,5% детей с генотипом G/G аллергопатология отсутствовала $p=0,031$, $OR=2,906$ (ДИ 1,091 – 7,741).

В результате проведенных исследований установлено, что у детей с рецидивирующим бронхитом, носителей генотипа A/A, достоверно чаще определялись значительные нарушения проходимости дыхательных путей. У пациентов с генотипом A/G диагностированы более легкие функциональные изменения.

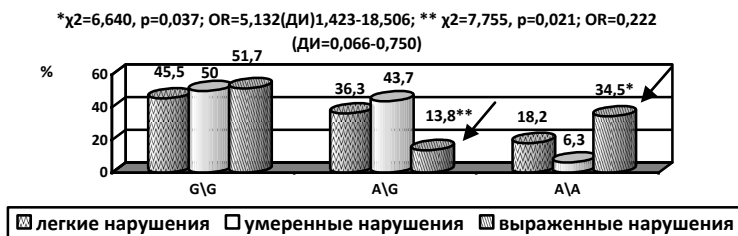


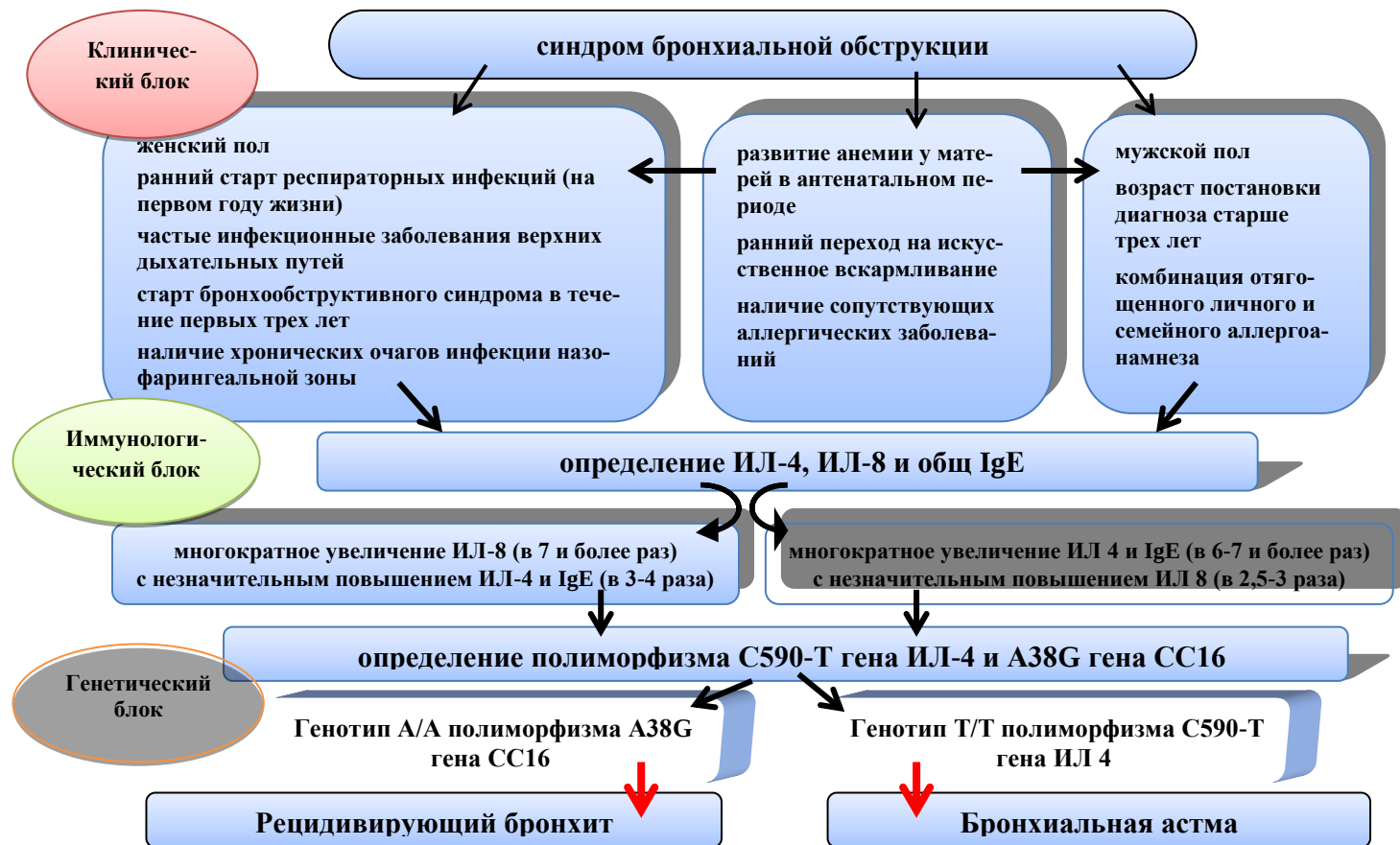
Рисунок 2 – Распределение генотипов полиморфизма A38G гена CC16 в зависимости от степени нарушения ФВД у пациентов с рецидивирующим бронхитом.

Основываясь на данных статистического анализа с определением достоверных прогностических клинических, иммунологических и иммуногенетических показателей был разработан дифференциально-диагностический алгоритм рецидивирующего течения СБО, состоящий из трех блоков:

клинический – составлен из достоверных фенотипических проявлений СБО, ассоциированного либо с рецидивирующим бронхитом, либо с бронхиальной астмой.

иммунологический – определение уровня ИЛ-8, ИЛ-4 и IgE и в зависимости от показателей интерпретируется возможность развития рецидивирующего бронхита или бронхиальной астмы.

генетический – определение полиморфизма C-590T гена ИЛ-4 и полиморфизма A38G гена CC16.



ВЫВОДЫ

1. Выявлено, что основными факторами риска развития рецидивирующего бронхита являются: развитие анемии у матерей в антенатальном периоде, ранний переход на искусственное вскармливание, наличие сопутствующих аллергических заболеваний, гендерные различия (женский пол), старт респираторных инфекций на первом году жизни, частые инфекционные поражения верхних дыхательных путей в анамнезе, начало бронхообструктивного синдрома в течение первых трех лет, а также наличие хронических очагов инфекции назофарингеальной зоны.

Доказано, что при бронхиальной астме предрасполагающими факторами являются: развитие анемии у матерей в антенатальном периоде, ранний переход на искусственное вскармливание, мужской пол, возраст постановки диагноза старше трех лет, комбинация отягощенного личного и семейного аллергоанамнеза.

2. Установлено дифференциально-диагностическое значение комбинированной интерпретации показателей ИЛ-4, ИЛ-8 и общего IgE при рецидивирующем бронхите и бронхиальной астме. Увеличение ИЛ-8 в 7 и более раз и повышение ИЛ-4 и IgE в 4 раза характерно для рецидивирующего бронхита. Значительное увеличение ИЛ-4 в сочетании с высокими показателями IgE (в 7 раз и более) является неблагоприятным прогностическим критерием формирования бронхиальной астмы.

3. Определен предрасполагающий генотип Т/Т полиморфизма С-590Т гена ИЛ-4 к развитию бронхиальной астмы у детей. Установлено предрасполагающее действие генотипа С/С полиморфизма С-590Т гена ИЛ-4 в отношении частоты респираторных вирусных инфекций верхних дыхательных путей и наличия отягощенной семейной наследственности по atopическим заболеваниям. Доказано протективное действие генотипа С/Т полиморфизма С-590Т гена ИЛ-4 на степень выраженности обструкции дыхательных путей, частоту респираторных вирусных инфекций верхних дыхательных путей и по отягощенному семейному аллергоанамнезу.

4. Установлено предрасполагающее действие генотипа А/А полиморфизма А38G гена СС16 к более раннему старту бронхи-

альной обструкции (в группе детей с острым обструктивным бронхитом), к началу острых респираторных вирусных инфекций верхних дыхательных путей на первом году жизни (в группах с острым обструктивным бронхитом и рецидивирующим бронхитом), к более выраженным нарушениям бронхиальной проводимости, согласно показателям ФВД. Доказано, что генотип A/G ассоциирован с более поздним стартом респираторных инфекций верхних дыхательных путей и бронхообструктивного синдрома, а также с легкими нарушениями проходимости дыхательных путей при проведении функциональных проб. Выявлена ассоциация генотипа G/G с развитием сопутствующей ЛОР-патологии у детей с острым обструктивным бронхитом и с формированием отягощенного собственного аллергоанамнеза у пациентов с рецидивирующим бронхитом. Генотип G/G является предрасполагающим для формирования рецидивирующего бронхита у мальчиков, а генотип AG – у девочек.

5. Разработан дифференциально-диагностический алгоритм нозологических форм заболеваний дыхательной системы у детей, сопровождающихся бронхообструктивным синдромом, на основании клинических, иммунологических и иммуногенетических показателей.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендовать использование диагностического алгоритма (основанного на полученных в ходе исследования клинических, иммунологических и иммуногенетических результатах) для объективизации дифференциальной диагностики, дальнейшего прогноза течения бронхообструктивного синдрома и выбора персонифицированной тактики медикаментозной терапии.

2. В клинической практике определение показателей цитокинов, а именно ИЛ-4, ИЛ-8 и IgE, в сыворотке крови может быть использовано в качестве дополнительных дифференциально-диагностических критериев у детей младшего возраста с бронхиальной астмой и рецидивирующим бронхитом, сопровождающимися СБО.

3. Возможность использовать полученные данные по

распределению полиморфизмов A38G гена CC16 и C-590T гена ИЛ-4 в популяции условно здоровых детей Астраханской области для дальнейших исследований.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Гапархоева З.М., **Селиверстова Е.Н.**, Стройкова Т.Р., Башкина О.А., Демидова Л.В. Современные представления о роли генетических предикторов при бронхиальной астме у детей // **Астраханский медицинский журнал.** – 2015г. – Т. 10, №1. – С. 6-11.
2. Гапархоева З.М., Башкина О.А., **Селиверстова Е.Н.** Сравнительная характеристика триггерных механизмов формирования бронхообструктивного синдрома у детей с бронхиальной астмой и рецидивирующим обструктивным бронхитом // **Казанский медицинский журнал.** – 2016. – Т. 97, №1. – С. 66-69.
3. **Селиверстова Е.Н.**, Башкина О.А., Стройкова Т.Р., Сергиенко Д.Ф., Аверина И.А. Ассоциация полиморфизма гена CC16 с факторами риска формирования бронхообструктивного синдрома у детей // **Вестник РУДН. Серия: медицина. Аллергология. Дерматология.** – 2018. – Т. 22, №2. – С. 183-190.
4. **Селиверстова Е.Н.**, Сергиенко Д.Ф., Башкина О.А., Стройкова Т.Р., Гапархоева З.М. Клинико-диагностическое и прогностическое значение гена ИЛ-4 при рецидивирующем течении синдрома бронхиальной обструкции у детей // **Астраханский медицинский журнал.** – 2019. – Т. 10, №2. – С. 59-66.
5. **Селиверстова Е.Н.**, Башкина О.А., Гапархоева З.М. Выявление факторов риска развития обструктивного бронхита у детей // Материалы III научно-практической конференции студентов и молодых ученых «современные аспекты инфекционной патологии», 14-16 октября 2013г, Астрахань. – 2013. – С. 125-128.
6. **Селиверстова Е.Н.**, Башкина О.А. Инновационные подходы к разработке дифференциально-диагностических и прогностических критериев различных клинико-патогенетических вариантов бронхообструктивных заболеваний у детей // Сборник всероссийской научно-практической конференции «исследования молодых ученых – вклад в инновационное развитие России», в рамках программы «У.М.Н.И.К.», 14-16 мая 2014г. – 2014. – С. 92-93.
7. Гапархоева З.М., **Селиверстова Е.Н.**, Башкина О.А. Комплексная оценка влияния эндо- и экзогенных факторов на формиро-

вание бронхообструктивного синдрома различного генеза у детей // Материалы III всероссийского съезда педиатров, работающих с детьми, страдающими аллергическими болезнями или имеющими другие иммунопатологические состояния. – 2014. – С. 21.

8. **Селиверстова Е.Н.**, Гапархоева З.М., Башкина О.А., Стройкова Т.Р., Аверина И.А. Клинико-иммунологический мониторинг и прогнозирование рецидивирующего течения обструктивного бронхита у детей // Сборник материалов 3-го российского конгресса с международным участием «молекулярные основы клинической медицины – возможное и реальное», С-Петербург – 2015. – С. 132-134.

9. Гапархоева З.М., **Селиверстова Е.Н.**, Башкина О.А. Разработка дифференциально-диагностических и прогностических критериев развития бронхиальной астмы у детей // XV научно-практическая конференция «современные концепции научных исследований», Евразийский союз ученых, ежемесячный научный журнал / под ред. Т.В. Аркулин, Москва, РФ 25-27 июля 2015г./– №6(15) .– 2015. – часть 4. – С. 70-71.

10. Гапархоева З.М., **Селиверстова Е.Н.**, Башкина О.А. Особенности затяжного течения ОРВИ с риском формирования СБО у детей с учетом идентифицированных вирусных инфекций // XV научно-практическая конференция «современные концепции научных исследований», Евразийский союз ученых, ежемесячный научный журнал / под ред. Т.В. Аркулин, Москва, РФ. – №6 (15). – 2015. – часть 4. – С. 26-27.

11. Гапархоева З.М., **Селиверстова Е.Н.**, Башкина О.А. Часто болеющие дети: проблемы диагностики и терапии // III international scientific and practical conference ” international scientific review of the problems and prospects of modern science and education”\ Cambridge\ united kingdom\ 7-8 июля 2015. – С. 71-73.

12. **Селиверстова Е.Н.**, Башкина О.А., Гапархоева З.М., Роль генов CC16 и ИЛ-4 в формировании бронхиальной астмы у детей // Журнал «Аллергология и иммунология». – Т. 17, №1. – 2016. – С. 39.

13. Гапархоева З.М., **Селиверстова Е.Н.**, Башкина О.А. Сравнительная характеристика причинно-значимых факторов, участвующих в развитии бронхообструктивного синдрома, у детей с бронхиальной астмой и рецидивирующим бронхитом // Журнал «Аллергология и иммунология». – Т. 17, №1. – 2016. – С. 41.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЗ	- atopические заболевания
БА	- бронхиальная астма
БОС	- бронхообструктивный синдром
ЖЕЛ	- жизненная емкость легких
ИЛ-4	- интерлейкин–4
ИЛ-8	- интерлейкин–8
ООБ	- острый обструктивный бронхит
ОРВИ	- острая респираторная вирусная инфекция
ОРЗ	- острые респираторные заболевания
ПДРФ	- полиморфизм длины рестрикционных фрагментов
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
СБО	- синдром бронхиальной обструкции
ФВД	- функция внешнего дыхания
IgE	- иммуноглобулин E

СЕЛИВЕРСТОВА Екатерина Николаевна

КЛИНИКО-ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ
МОДИФИКАЦИИ ГЕНА СС16 И ГЕНА ИЛ-4
ПРИ БРОНХООБСТРУКТИВНОМ СИНДРОМЕ У ДЕТЕЙ

14.01.08 – Педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ
на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Подписано в печать
Тираж 100 экз. Заказ №

Издательство ФГБОУ ВО «Астраханский государственный
медицинский университет» Минздрава России
414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121