

Вміст інтерлейкінів-4, 6 та ядерно-транскрипційного фактора NF-κB у дітей, які хворі на atopічну бронхіальну астму, залежно від поліморфізму Ile50Val гена IL4RA, тяжкості перебігу та рівня контролю захворювання

В. М. Дудник*, Л. В. Мороз, Н. В. Заїчко, О. В. Куцак

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна

Ключові слова:

діти, бронхіальна астма, інтерлейкіни-4,6, ядерно-транскрипційний фактор NF-κB, поліморфізм.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 1(112). – С. 72–77

DOI: 10.14739/2310-1210.2019.1.155818

*E-mail: pediatric2@vnu.edu.ua

Численні дослідження поліморфних варіантів генів цитокінів свідчать, що їхня роль у розвитку бронхіальної астми (БА) в дітей залишається не з'ясованою.

Мета роботи – визначити показники вмісту інтерлейкінів-4,6 та ядерно-транскрипційного фактора NF-κB у хворих на atopічну бронхіальну астму залежно від поліморфізму Ile50Val гена IL4RA, тяжкості перебігу, рівня контролю захворювання.

Матеріали та методи. Виконали розподіл алелей і генотипів за поліморфізмом Ile50Val гена IL4RA в 75 хворих на atopічну бронхіальну астму та 25 практично здорових дітей шкільного віку. Генотипування гена IL4RA здійснили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Біохімічні дослідження з визначення рівнів інтерлейкіна-6 (ІЛ-6), інтерлейкіна-4 (ІЛ-4) і вмісту ядерно-транскрипційного фактора NF-κB виконали за допомогою ІФА (ELISA).

Результати. Виявили, що рівні NF-κB у хворих на інтермітувальну БА за генотипами A/A, A/G і G/G щодо вмісту ІЛ-4 були збільшеними в носіїв A/A в 1,65 раза ($p < 0,05$), A/G – в 1,45 ($p < 0,05$), G/G – в 1,45 раза ($p < 0,05$), порівняно з практично здоровими дітьми був підвищеним у 2,30 раза ($p < 0,001$). При персистуючому перебігу рівень ІЛ-6 підвищений тільки в носіїв G/G, який в 1,59 раза ($p < 0,01$) переважає ІЛ-6 у носіїв A/A, в 1,35 раза – в носіїв A/G ($p < 0,05$). У носіїв A/A при контрольованому рівні вміст ІЛ-4 становив $4,91 \pm 0,38$ пг/мл, що більше в 1,89 раза порівняно з практично здоровими дітьми ($p < 0,05$), при частково контрольованому перевищував у 2,35 раза ($6,10 \pm 0,47$ пг/мл, $p < 0,05$), при неконтрольованій БА рівень ІЛ-4 також підвищувався.

Висновки. У дітей, які хворі на БА, з поліморфізмом Ile50Val гена IL4RA суттєвий вплив має активність NF-κB, вміст якого перевищує показники рівнів ІЛ-4 та ІЛ-6 у носіїв генотипу A/A і A/G ($p < 0,05$), але в носіїв G/G не впливає на рівень контролю бронхіальної астми.

Ключевые слова:

дети, бронхиальная астма, интерлейкины-4,6, ядерно-транскрипционный фактор NF-κB, полиморфизм.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 1(112). – С. 72–77

Содержание интерлейкинов-4, 6 и ядерно-транскрипционного фактора NF-κB у детей, больных atopической бронхиальной астмой, в зависимости от полиморфизма Ile50Val гена IL4RA, тяжести течения и уровня контроля заболевания

В. М. Дудник, Л. В. Мороз, Н. В. Заїчко, О. В. Куцак

Множество исследований полиморфных вариантов генов цитокинов свидетельствуют, что их роль в развитии бронхиальной астмы (БА) у детей остается не выясненной.

Цель работы – определить показатели содержания интерлейкинов-4,6 и ядерно-транскрипционного фактора NF-κB у больных atopической бронхиальной астмой в зависимости от полиморфизма Ile50Val гена IL4RA, тяжести и уровня контроля заболевания.

Материалы и методы. Проведено распределение аллелей и генотипов по полиморфизму Ile50Val гена IL4RA у 75 больных atopической бронхиальной астмой и 25 практически здоровых детей школьного возраста. Генотипирование гена IL4RA проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Биохимические исследования по определению уровней интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-4 (ИЛ-4) и содержания ядерно-транскрипционного фактора NF-κB проводили с помощью ИФА (ELISA).

Результаты. Установили, что уровни NF-κB у больных интермиттирующей БА по генотипам A/A, A/G и G/G относительно содержания ИЛ-4 были увеличенными у носителей A/A в 1,65 раза ($p < 0,05$), A/G – в 1,45 ($p < 0,05$), G/G – в 1,45 раза ($p < 0,05$), по сравнению с практически здоровыми детьми был повышенным в 2,30 раза ($p < 0,001$). При персистирующем течении уровень ИЛ-6 повышен только у носителей G/G, который в 1,59 раза ($p < 0,01$) превышал ИЛ-6 у носителей A/A, в 1,35 раза – у носителей A/G ($p < 0,05$). У носителей A/A при контролируемом уровне содержание ИЛ-4 составляло $4,91 \pm 0,38$ пг/мл, что выше в 1,89 раза по сравнению с практически здоровыми детьми ($p < 0,05$), при частично контролируемой превышал в 2,35 раза ($6,10 \pm 0,47$ пг/мл, $p < 0,05$), при неконтролируемой БА уровень ИЛ-4 также повышался.

Выводы. У детей, больных БА, по полиморфизму Ile50Val гена IL4RA существенное влияние имеет активность NF-κB, содержание которого превышает показатели уровней ИЛ-4 и ИЛ-6 у носителей генотипа A/A и A/G ($p < 0,05$), при этом содержание NF-κB у носителей G/G не влияет на уровень контроля бронхиальной астмы.

Content of interleukins-4, 6 and nuclear transcription factor NF- κ B in children with atopic bronchial asthma depending on Ile50Val polymorphism of IL4RA gene, severity of the disease course and level of its control

V. M. Dudnyk, L. V. Moroz, N. V. Zaichko, O. V. Kutsak

Many studies on polymorphic variants of cytokines genes indicate that their role in bronchial asthma development in children is still not fully understood.

Aim. To determine the indexes of interleukins – 4, 6 and nuclear transcription factor (NF- κ B) content in patients with atopic bronchial asthma (BA) depending on Ile50Val polymorphism of IL4RA gene, severity of the disease course and level of its control.

Materials and methods. Alleles and genotypes were distributed according to the Ile50Val polymorphism of the IL4RA gene in 75 patients with atopic bronchial asthma and 25 healthy school-age children. Genotyping of the IL4RA gene was performed using a polymerase chain reaction (PCR). Biochemical studies on the interleukin-4 (IL-4), interleukin-6 (IL-6) levels and the content of nuclear factor-kappa B (NF- κ B) determination were performed using ELISA kits.

The results of analysis revealed an increase in NF- κ B level in patients with intermittent BA carrying A/A, A/G and G/G genotypes relative to IL-4 content: in the A/A carriers by 1.65 times ($P < 0.05$), A/G- by 1.45 ($P < 0.05$) and G/G – by 1.45 times ($P < 0.05$), and in comparison with the practically healthy children it was 2.3 times increased ($P < 0.001$). In persistent BA, the elevated level of IL-6 was observed only in the G/G carriers and it was 1.59 ($P < 0.01$) and 1.35 ($P < 0.05$) times higher than in A/A and A/G carriers, respectively. The level of IL-4 (4.91 ± 0.38 pg/ml) was 1.89 times higher ($P < 0.05$) in the A/A carriers with controlled BA than in practically healthy children, with partially controlled BA it exceeded by 2.35 times (6.10 ± 0.47 pg/ml, $P < 0.05$) and in uncontrolled BA the level of IL-4 was also increased, but differences were not significant ($P > 0.05$).

Conclusions. Thus, in children with BA and Ile50Val polymorphism of IL4RA gene, the activity of NF- κ B has a significant effect and its content exceeds the levels of IL-4 and IL-6 in the genotypes A/A and A/G ($P < 0.05$) carriers, however, the NF- κ B content in G/G carriers does not influence the level of BA control in children ($P > 0.05$).

Key words:

children, bronchial asthma, interleukins-4,6, nuclear transcription factor (NF- κ B), polymorphism.

Zaporozhye medical journal 2019; 21 (1), 72–77

Бронхіальна астма (БА) – одна з найбільш актуальних медико-соціальних проблем сучасної педіатрії [1]. За останнє десятиліття не тільки в Україні, але й у всьому світі спостерігають збільшення кількості випадків алергічних захворювань, насамперед бронхіальної астми, що є проблемою світового рівня та перебуває в центрі уваги клініцистів різних спеціальностей [2,3]. Бронхіальна астма – комплексне захворювання з різними клініко-патогенетичними варіантами перебігу, особливостями реакцій у характері запального процесу, зумовлена активністю чималої кількості локальних медіаторів запалення [4]. Посилена продукція інтерлейкінів у патогенетичних механізмах захворювання може свідчити про інтенсивність запального процесу при бронхіальній астмі в дітей, а результати досліджень дають підстави вважати рівні інтерлейкіна-4 та інтерлейкіна-6 у сироватці крові маркерами активності запального процесу та тяжкості перебігу патології [5].

Мета роботи

Визначити вміст інтерлейкінів-4,6 та ядерно-транскрипційного фактора NF- κ B у сироватці хворих на atopічну бронхіальну астму залежно від поліморфізму Ile50Val гена IL4RA, тяжкості перебігу, рівня контролю захворювання.

Матеріали і методи дослідження

Виконали аналіз розподілу алелей і генотипів поліморфного маркера Ile50Val гена IL4RA у 75 хворих на atopічну бронхіальну астму та 25 практично здорових дітей віком від 6 до 18 років. Персистувальна БА виявлена у 52 дітей, інтермітувальна – у 23 пацієнтів. Контрольований перебіг спостерігали у 25 хворих, частково контрольований – у 20, неконтрольований – у 30 дітей.

Для хворих на бронхіальну астму та практично здорових дітей заповнювали спеціально розроблену карту, в ній реєстрували анамнестичні, клінічні, додаткові інструментальні, лабораторні дані, відомості про молекулярно-генетичні дослідження організму пацієнтів.

Батьки хворих і практично здорових дітей дали інформовану згоду на участь у проведенні дослідження. Встановлення діагнозу здійснювали за Протоколом МОЗ України № 868 від 08.10.2013 р. і з дотриманням рекомендацій Глобальної ініціативи з бронхіальної астми (The Global Initiative for Asthma GINA 2016, 2017) [6,7].

Біохімічні дослідження виконали в науково-дослідній клініко-діагностичній лабораторії Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова. Визначення рівня інтерлейкіна-6 (ІЛ-6) та інтерлейкіна-4 (ІЛ-4) у сироватці крові хворих і практично здорових дітей виконали за допомогою імуноферментного методу (ELISA) з використанням набору «Інтерлейкін-4-ИФА-БЕСТ» та «Інтерлейкін-6-ИФА-БЕСТ» (РФ) відповідно до інструкції фірми-виробника. Вміст ядерно-транскрипційного фактора NF- κ B у сироватці крові визначали імуноферментним методом з використанням набору «Human NF κ B ELISA Kit» (Elabscience, China) відповідно до інструкції фірми-виробника.

Загальну геномну ДНК виділяли з крові, використовуючи комплект реагентів для виділення ДНК із клінічного матеріалу «ДНК-сорб В». Генотипування гена IL4RA виконали за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Ампліфікацію відповідного фрагмента ДНК здійснювали з використанням специфічної пари праймерів RV1607 (Pr1) і RV1608 (Pr2), які розраховували з використанням комп'ютерної програми «Primer». Для розрахунків використали послідовність ДНК гена IL4R, що наявна в базі даних Genbank [7].

Статистичне опрацювання результатів виконали на персональному комп'ютері з використанням стандарт-

ного статистичного пакета Statistica 6,0. Для перевірки відповідності розподілу алелей і генотипів використовували закон Харді–Вайнберга. Відношення шансів розраховували за допомогою програмного калькулятора «Випадок – контроль». У разі $OR = 1$ розглядали як відсутність асоціації, $OR > 1$ – як позитивну асоціацію (підвищений ризик патології), $OR < 1$ – як негативну асоціацію (знижений ризик патології).

Результати

Дослідження зі з'ясування відмінностей вмісту інтерлейкінів у сироватці крові у хворих на БА дітей залежно від тяжкості перебігу, рівня контролю захворювання за генотипами поліморфізму Ile50Val гена IL4RA показали, що при інтермітувальному перебігу захворювання вміст IL-4, IL-6 і ядерно-транскрипційного фактора NF-kB підвищувалися незалежно від носійства генотипів A/A, A/G та G/G (табл. 1).

Порівнюючи вміст цих цитокінів при інтермітувальному перебігу БА та їхні рівні у практично здорових дітей, встановили підвищення IL-4 в носіїв генотипу A/A – в 1,63 раза ($p > 0,05$), генотипу A/G – в 1,53 раза ($p < 0,01$), генотипу G/G – в 1,62 раза ($p < 0,001$); IL-6 у носіїв генотипу A/A – в 1,70 раза ($p < 0,05$), A/G – в 1,82 раза ($p < 0,001$), G/G – в 3,02 раза ($p < 0,001$); ядерно-транскрипційного фактора NF-kB у носіїв генотипу A/A – в 2,15 раза ($p < 0,01$), носіїв генотипу A/G – в 1,59 раза ($p < 0,01$), G/G – в 1,57 раза ($p < 0,01$).

Рівні ядерно-транскрипційного фактора NF-kB у дітей, які хворі на інтермітувальну БА, за генотипами A/A, A/G та G/G поліморфізмом Ile50Val гена IL4RA відносно вмісту IL-4 були збільшеними в носіїв генотипу A/A в 1,65 раза ($p < 0,05$), генотипу A/G – в 1,45 ($p < 0,05$), мутантного генотипу G/G – в 1,45 раза ($p < 0,05$).

Порівняльний аналіз вмісту в сироватці крові IL-4 та IL-6, а також ядерно-транскрипційного фактора NF-kB у носіїв генотипу A/G поліморфізму Ile50Val гена IL4RA залежно від тяжкості перебігу БА та практично здорових дітей показав підвищені їхні рівні при персистувальній бронхіальній астмі.

Оцінюючи вміст протизапального IL-4 при персистувальному перебігу БА за гомозиготним генотипом A/A поліморфізму Ile50Val гена IL4RA, встановили тенденцію до підвищення його рівня, що не мала статистично значущих відмінностей порівняно з рівнем IL-4 в осіб з інтермітувальним перебігом захворювання. Аналіз вмісту прозапального цитокіну IL-6 за генотипом A/A поліморфізму Ile50Val гена IL4RA в пацієнтів із персистувальним перебігом захворювання показав вірогідну різницю підвищення його вмісту ($4,65 \pm 0,38$ пг/мл) порівняно з показниками IL-6 при інтермітувальній БА ($p < 0,001$).

Під час вивчення впливу на регуляторні механізми хронічного запального процесу низької інтенсивності, котрі відбуваються при БА, ядерно-транскрипційний фактор NF-kB залежно від тяжкості захворювання у хворих за генотипами поліморфізму Ile50Val гена IL4RA вірогідно доведено, що його вміст у носіїв генотипу A/A при персистувальному перебігу захворювання перевищував рівні протизапального IL-4 в 1,42 раза ($p < 0,05$).

У дітей, які хворі на БА та є носіями генотипу G/G поліморфізму Ile50Val гена IL4RA, при персистуваль-

ному перебігу захворювання виявлені підвищені рівні IL-4 у 2,37 раза ($p < 0,05$), IL-6 у 2,63 раза ($p < 0,001$), ядерно-транскрипційного фактора NF-kB – у 2,79 раза ($p < 0,05$) порівняно з вмістом цих цитокінів у практично здорових дітей.

Не встановили вплив ядерно-транскрипційного фактора NF-kB на регуляцію вивільнення IL-4 та IL-6 у носіїв генотипу G/G поліморфізму Ile50Val гена IL4RA при персистувальному перебігу захворювання.

При персистувальній бронхіальній астмі рівень протизапального IL-4 був підвищеним у 2,02 раза, однак статистичних відмінностей не мав ($p > 0,05$). Вміст ядерно-транскрипційного фактора NF-kB був підвищеним у 2,3 раза порівняно з практично здоровими дітьми ($p < 0,001$).

У дітей, які хворі на БА та є носіями генотипу G/G поліморфного маркера Ile50Val гена IL4RA, при персистувальному перебігу захворювання визначається підвищення рівнів цитокінів: інтерлейкіна-4 у 2,37 раза ($p < 0,05$), інтерлейкіна-6 у 2,63 раза ($p < 0,001$), ядерно-транскрипційного фактора NF-kB у 2,79 раза ($p < 0,05$) порівняно з вмістом цих цитокінів у практично здорових дітей. При персистувальному перебігу захворювання в носіїв генотипу G/G поліморфного маркера Ile50Val гена IL4RA не встановили переважання його вмісту порівняно з IL-4 та IL-6.

Надалі вивчали сироватковий вміст прозапальних і протизапальних цитокінів за поліморфізмом Ile50Val гена IL4RA, які характеризують активність бронхіальної астми у дітей з різними рівнями контролю захворювання (табл. 2).

Вміст IL-4 в сироватці крові становив $6,10 \pm 0,47$ пг/мл і в 1,24 раза перевищував вміст IL-4 у дітей при контрольованій БА, в 1,41 раза – при неконтрольованому рівні захворювання.

У носіїв генотипу A/A при контрольованому рівні захворювання IL-4 був вищим у 1,89 раза ($p < 0,05$), при частково контрольованому – в 2,35 раза ($p < 0,05$), при неконтрольованому перебігу вміст не мав вірогідної різниці. За результатами дослідження особливостей вмісту цитокінів у сироватці крові дітей, які хворі на БА, з гомозиготним генотипом A/A поліморфного маркера Ile50Val гена IL4RA, вміст IL-4 виявлено в пацієнтів із частково контрольованим рівнем захворювання.

Відзначимо, що майже однаковий підвищений вміст IL-6 виявили в носіїв генотипу A/A поліморфізму Ile50Val гена IL4RA при контрольованому, частково контрольованому та неконтрольованому рівні atopічної БА.

Порівняльний аналіз вмісту IL-6 залежно від рівня контролю захворювання показав його підвищення (в 1,93 раза; $p < 0,01$) тільки у хворих із частково контрольованим рівнем порівняно з практично здоровими дітьми.

Сироватковий вміст ядерно-транскрипційного фактора NF-kB у носіїв генотипу A/A поліморфізму Ile50Val гена IL4RA перевищував у дітей з частково контрольованим рівнем у 2,93 раза ($p < 0,001$) порівняно з практично здоровими дітьми, а порівняно з дітьми з контрольованим рівнем – в 1,33 раза ($p < 0,05$), неконтрольованим рівнем – в 1,53 раза ($p < 0,05$). Перевищували також порівняно з практично здоровими дітьми показники вмісту ядерно-транскрипційного фактора NF-kB у дітей із контрольованим рівнем захворювання в 2,21 раза

Таблиця 1. Вміст інтерлейкіна-4, інтерлейкіна-6 та ядерно-транскрипційного фактора NF-κB у дітей, які хворі на бронхіальну астму, за генотипами поліморфізму Ile50Val гена IL4RA залежно від тяжкості перебігу захворювання

Перебіг БА	Цитокини	Носії генотипів					
		A/A		A/G		G/G	
		n	M ± m	n	M ± m	n	M ± m
Інтермітувальний, n = 23	ІЛ-4	7	4,23 ± 0,42	15	4,20 ± 0,33*	1	3,80**
	ІЛ-6	7	4,59 ± 0,66*	15	5,80 ± 0,35	1	8,50**
	NF-κB	7	6,99 ± 0,77	15	6,09 ± 0,43	1	5,40**
Персистувальний, n = 52	ІЛ-4	19	5,25 ± 0,32	29	4,40 ± 0,28**	4	5,58 ± 0,99*
	ІЛ-6	19	4,65 ± 0,38*	29	5,48 ± 0,39	4	7,40 ± 0,69***
	NF-κB	19	7,47 ± 0,53	29	6,93 ± 0,47	4	7,85 ± 1,30*
Практично здорові діти, n = 25	ІЛ-4	2	2,60 ± 1,20	16	2,75 ± 0,18	7	2,35 ± 0,25
	ІЛ-6	2	2,70 ± 0,50	16	3,18 ± 0,26	7	2,81 ± 0,28
	NF-κB	2	3,25 ± 0,65	16	3,82 ± 0,30	7	3,43 ± 0,35

*: $p < 0,05$ – різниця вірогідна між групами хворих і практично здорових дітей; **: $p < 0,01$ – різниця вірогідна між групами хворих і практично здорових дітей; ***: $p < 0,001$ – різниця вірогідна між групами хворих і практично здорових дітей.

Таблиця 2. Вміст інтерлейкіна-4, інтерлейкіна-6 та ядерно-транскрипційного фактора NF-κB у хворих на бронхіальну астму дітей за генотипами поліморфізму Ile50Val гена IL4RA залежно від рівня контролю захворювання

Рівень контролю БА	Цитокини	Носії генотипів					
		n	A/A	n	A/G	n	G/G
Контрольований, n = 25	ІЛ-4	8	4,91 ± 0,38*	16	4,29 ± 0,40**	1	3,80***
	ІЛ-6	8	4,66 ± 0,75	16	5,83 ± 0,59**	1	8,50***
	NF-κB	8	7,19 ± 0,31***	16	7,22 ± 0,87**	1	5,40
Частково контрольований, n = 20	ІЛ-4	7	6,10 ± 0,47*	11	4,28 ± 0,41*	2	5,55 ± 1,75
	ІЛ-6	7	5,21 ± 0,44**	11	5,37 ± 0,54**	2	7,35 ± 1,15**
	NF-κB	7	9,53 ± 0,91***	11	6,40 ± 0,54**	2	7,75 ± 2,35
Неконтрольований, n = 30	ІЛ-4	11	4,32 ± 0,40	17	4,06 ± 0,34*	2	5,60 ± 1,70
	ІЛ-6	11	4,00 ± 0,46	17	5,37 ± 0,46**	2	7,45 ± 1,25**
	NF-κB	11	6,03 ± 0,53*	17	6,29 ± 0,53**	2	7,95 ± 2,15
Практично здорові діти, n = 25	ІЛ-4	2	2,6 ± 1,20	16	2,75 ± 0,18	7	2,35 ± 0,25
	ІЛ-6	2	2,70 ± 0,50	16	3,18 ± 0,26	7	2,81 ± 0,28
	NF-κB	2	3,25 ± 0,65	16	3,82 ± 0,30	7	3,43 ± 0,35

*: $p < 0,05$ – різниця вірогідна між групами хворих і практично здорових дітей; **: $p < 0,01$ – різниця вірогідна між групами хворих і практично здорових дітей; ***: $p < 0,001$ – різниця вірогідна між групами хворих і практично здорових дітей.

($p < 0,001$), з неконтрольованим рівнем бронхіальної астми – в 1,86 раза ($p < 0,05$).

У носіїв генотипу A/A поліморфізму Ile50Val гена IL4RA при контрольованому рівні захворювання вміст ядерно-транскрипційного фактора NF-κB перевищував ІЛ-4 в 1,46 раза ($p < 0,05$), частково контрольованому – в 1,56 раза ($p < 0,05$), неконтрольованому – в 1,4 раза ($p < 0,05$). Сироватковий вміст ядерно-транскрипційного фактора NF-κB порівняно з ІЛ-6 також вірогідно підвищувався: при контрольованому рівні БА – в 1,46 раза ($p < 0,05$), частково контрольованому – в 1,83 ($p < 0,05$), неконтрольованому – в 1,53 раза ($p < 0,05$).

Виявили, що майже однаковий підвищений вміст ІЛ-4 в носіїв генотипу A/G поліморфізму Ile50Val гена IL4RA був у дітей із контрольованим (4,29 ± 0,40 пг/мл), частково контрольованим (4,28 ± 0,41 пг/мл) і неконтрольованим рівнем (4,06 ± 0,34 пг/мл). Вміст ІЛ-6 змінюється в носіїв генотипу A/G незалежно від контрольованості захворювання.

Досліджуючи вміст ядерно-транскрипційного фактора NF-κB і рівні ІЛ-6 генотипу A/A поліморфізму Ile50Val гена IL4RA, встановили, що при контрольованому рівні захворювання ядерно-транскрипційний фактор NF-κB перевищував рівні ІЛ-6, а також перевищував вміст при частково контрольованому та неконтрольованому рівнях захворювання.

Аналізуючи результати дослідження вмісту цитокинів у хворих, носіїв генотипу A/G поліморфізму Ile50Val гена IL4RA, порівняно з майже здоровими дітьми, встановили вірогідно підвищені рівні ІЛ-4 (в 1,56 раза; $p < 0,01$), ІЛ-6 (в 1,83 раза; $p < 0,01$) та NF-κB (в 1,89 раза; $p < 0,01$) при контрольованому рівні захворювання. Визначили підвищення вмісту ІЛ-4 в дітей, які хворі на частково контрольовану БА, в 1,56 раза (4,28 ± 0,41 пг/мл; $p < 0,05$), а у хворих із неконтрольованим перебігом патології – в 1,48 раза (4,06 ± 0,34 пг/мл; $p < 0,05$).

Результати дослідження ІЛ-6 залежно від рівня контролю захворювання показали, що при частково контрольованому перебігу патології його рівень перевищував в 1,69 раза (5,37 ± 0,54 пг/мл; $p < 0,01$) показники вмісту у практично здорових дітей. Рівень ядерно-транскрипційного фактора NF-κB у хворих, які є носіями генотипу A/G поліморфізму Ile50Val гена IL4RA, порівняно з практично здоровими дітьми мав тенденцію до активізації та становив 6,40 ± 0,54 пг/мл ($p < 0,01$). Підвищений вміст цих цитокинів виявили при контрольованому рівні: ІЛ-4 – в 1,61 раза ($p < 0,001$), ІЛ-6 – в 3,02 раза (8,50 пг/мл; $p < 0,001$). Прозапальний інтерлейкін-6 значно активізувався та перевищував рівні зазначеного цитокину у 2,65 раза, становлячи 7,35 ± 1,15 пг/мл ($p < 0,01$).

Обговорення

БА – це полігенне захворювання зі складним типом успадкування. Нині доведено, що в основі хвороби – спадкова схильність [8]. Увагу науковців викликають інтерлейкіни, які відіграють ключову роль у реалізації atopічних реакцій та асоціації atopії з поліморфізмом генів α -ланцюга рецептора до ІЛ-4 (IL4RA), особливо до поліморфних варіантів Ile50Val. [9]. Дослідження поліморфізму Ile50Val гена IL4RA в дитячого населення англійців, європейців, японців і голландців показало асоціацію з atopічними захворюваннями та розвитком atopічної БА [10].

За результатами дослідження можна припустити, що при персистувальному перебігу захворювання в організмі дитини вмикаються механізми відповіді на специфічний для бронхіальної астми запальний процес, а саме відбувається підвищення вмісту названих генетичних чинників, що перебувають у тісному регуляторному взаємозв'язку, порушення якого може спричинити ускладнення захворювання.

При інтермітувальному перебігу захворювання рівні ІЛ-4, ІЛ-6 та ядерно-транскрипційного фактора NF- κ B підвищуються незалежно від носійства генотипів A/A, A/G чи G/G поліморфізму Ile50Val гена IL4RA та не мають вірогідної різниці.

Сироватковий вміст ядерно-транскрипційного фактора NF- κ B генотипу A/G поліморфізму Ile50Val гена IL4RA порівняно з ІЛ-6 також вірогідно підвищувався. При контрольованому рівні БА – в 1,46 раза ($p < 0,05$), частково контрольованому – в 1,83 ($p < 0,05$), неконтрольованому – в 1,53 раза ($p < 0,05$), що може вказувати на чималу регуляторну функцію ядерно-транскрипційного фактора NF- κ B на запальний процес у легенях незалежно від рівня контролю захворювання.

У носіїв генотипу G/G поліморфізму Ile50Val гена IL4RA вміст ІЛ-4, ІЛ-6 та ядерно-транскрипційного фактора NF- κ B були підвищеними незалежно від контрольованості БА і мали майже однаковий вміст при контрольованому, частково контрольованому та неконтрольованому рівнях захворювання.

Висновки

1. У дітей, які хворі на бронхіальну астму, спостерігали підвищення вмісту в сироватці крові протизапального ІЛ-4 у носіїв генотипу A/A – в 1,63 раза ($p < 0,05$), генотипу A/G – в 1,53 раза ($p < 0,01$), генотипу G/G в 1,62 раза ($p < 0,001$); прозапального ІЛ-6 у носіїв генотипу A/A – в 1,7 раза ($p > 0,05$), A/G – в 1,82 раза ($p < 0,001$), G/G – в 3,02 раза ($p < 0,001$); ІЛ-6 підвищений переважно у носіїв гомозиготного генотипу A/A – в 1,59 раза, у носіїв гетерозиготного генотипу A/G в 1,35 раза ($p < 0,05$). При персистувальному перебігу виявили підвищення вмісту прозапального ІЛ-6 в 1,59 раза ($p < 0,01$) тільки у носіїв мутантного генотипу G/G.

2. У носіїв генотипів A/A, A/G і G/G за поліморфізмом Ile50Val гена IL4RA дітей, які хворі на інтермітувальну бронхіальну астму, рівні ядерно-транскрипційного фактора NF- κ B були збільшеними, зокрема у носіїв генотипу A/A у 2,15 раза ($p < 0,01$), A/G – в 1,59 ($p < 0,01$), генотипу G/G – в 1,57 раза ($p < 0,01$), у 2,3 раза порівняно з практично здоровими дітьми ($p < 0,001$).

3. У носіїв гомозиготного генотипу A/A при контрольованому перебігу захворювання, вміст ІЛ-4 становив $4,91 \pm 0,38$ пг/мл і був вищим у 1,89 раза порівняно з практично здоровими дітьми ($p < 0,05$), при частково контрольованому – у 2,35 раза ($p < 0,05$), при неконтрольованому перебігу – у 2,4 раза ($p < 0,05$). У носіїв генотипу A/G як при контрольованому, так і при частково контрольованому рівні захворювання вміст ІЛ-4 підвищений в 1,6 раза ($p < 0,01$), при неконтрольованому – в 1,5 раза ($p < 0,05$).

4. Сироватковий вміст ядерно-транскрипційного фактора NF- κ B у носіїв генотипів A/A, A/G за поліморфізмом Ile50Val гена IL4RA був підвищеним у дітей із контрольованим рівнем в 1,3 раза ($p < 0,05$), неконтрольованим – у 1,5 раза ($p < 0,05$) та у 2,9 раза ($p < 0,001$) порівняно з практично здоровими дітьми. Вміст ядерно-транскрипційного фактора NF- κ B у носіїв генотипу G/G у сироватці крові суттєво не впливає на рівень контролю захворювання.

Перспективи подальших досліджень полягають у зіставленні можливості генетичної детермінантності перебігу захворювання, цитокінового та імунного статусу в дітей, які хворі на бронхіальну астму.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Відомості про авторів:

Дудник В. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. педіатрії № 2, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.

Мороз Л. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. інфекційних хвороб та епідеміології, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.

Заїчко Н. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. біологічної та загальної хімії, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.

Куцак О. В., аспірант каф. педіатрії № 2, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.

Сведения об авторах:

Дудник В. М., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. педиатрии № 2, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.

Мороз Л. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. инфекционных заболеваний и эпидемиологии, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.

Заичко Н. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. биологической и общей химии, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.

Куцак О. В., аспирант каф. педиатрии № 2, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.

Information about authors:

Dudnyk V. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pediatrics N 2, Vinnytsia National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.

Moroz L. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Vinnytsia National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.

Zaichko N. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Biological and General Chemistry, Vinnytsia National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.

Kutsak O. V., MD, Postgraduate student, Department of Pediatrics N 2, Vinnytsia National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 23.04.2018

Після доопрацювання / Revised: 11.05.2018

Прийнято до друку / Accepted: 15.05.2018

Список літератури

- [1] Литвинець Л.Я. Концепція динаміки змін показників імунного статусу у дітей з бронхіальною астмою залежно від ступеня контрольованості недуги / Л.Я. Литвинець // Перинатологія і педіатрія. – 2011. – №2(46). – С. 104–406.
- [2] Охотнікова О.М. Генетичні аспекти алергічних захворювань / О.М. Охотнікова, Н.Ю. Яковлева // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2017. – №2(99). – С. 61–66.
- [3] Тяжка О.В. Прогнозування особливостей клінічного перебігу бронхіальної астми у дітей / О.В. Тяжка, Ю.О. Савенко // Современная педиатрия. – 2014. – №7(63). – С. 120–123.
- [4] Уманець Т.Р. Клініко-анамнестичні особливості фенотипів бронхіальної астми у дітей / Т.Р. Уманець // Перинатологія і педіатрія. – 2013. – №2(46). – С. 69–71.
- [5] Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної діагностики. «Бронхіальна астма у дітей»: наказ МОЗ України від 08.10.2013 р. №868 / М.К. Хобзей, Ю.Г. Антипкін, В.Ф. Лапшин та ін. – К., 2013. – 54 с.
- [6] Генетика atopії: сучасний стан / М.Б. Фрейдін, В.П. Пузирев, Л.М. Огородова, О.Ю. Брагіна // Весник ВОГіС. – 2013. – №3(10). – С. 492–503.
- [7] Чернишова О.Є. Диференційний підхід до лікування й вторинної профілактики бронхіальної астми на тлі персистуючих інфекцій у дітей / О.Є. Чернишова // Здоровье ребенка. – 2016. – №8(76). – С. 24–55.
- [8] Global strategy for the diagnosis and management of asthma in children 5 years and younger [Electronic resource]. – Retrieved from http://www.ginasthma.org/pdf/GINA_Report_2017.pdf. – Title from screen.
- [9] Human interleukin 4 receptor confers biological responsiveness and defines a novel receptor superfamily / R.L. Idzerda, C.J. March, B. Mosley, et al. // J. Exp. Med. – 1990. – Vol. 171. – Issue 3. – P. 861–873.
- [10] Ile50Val variant of IL4Rα upregulates IgE synthesis and associates with atopic asthma / H. Mitsuyasu, K. Izuhara, X.-Q. Mao, et al. // Nature Genetics. – 1998. – Vol. 19. – Issue 2. – С. 119–120.

References

- [1] Lytvynets, L. Ya. (2011). Kontseptsia dynamiky zmin pokaznykiv imunnoho statusu u ditei z bronkhialnoiu astmoiu zalezno vid stupenia kontrolovanosti neduhy [The concept of the dynamics of changes in the immune status of children with bronchial asthma, depending on the degree of control of the disease]. *Perynatolohiia i pediatriia*, 2(46), 104–406. [in Ukrainian].
- [2] Okhotnikova, O. M., & Yakovleva, N. Yu. (2017). Genetychni aspekty alerhichnykh zakhvoriuvan [Genetic aspects of allergic diseases. Clinical Pediatrics]. *Klinichna imunolohiia. Alerholohiia. Infektolohiia.*, 2(99), 61–66. [in Ukrainian].
- [3] Tyazhkaya, A. V., & Savenko, Yu. A. (2014). Prohnozuvannya osoblyvostei klinichnoho perebihu bronkhialnoi astmy u ditei [Prediction of the features of the clinical course of asthma in children]. *Sovremennaya pediatriya*, 7(63), 120–123. [in Ukrainian]. doi: 10.15574/SP.2014.63.120.
- [4] Umanets, T. R. (2013). Kliniko-anamnesticnyi osoblyvosti fenotypiv bronkhialnoi astmy u ditei [Clinical and anamnestic features of phenotypes of bronchial asthma in children]. *Perynatolohiia i pediatriia*, 2(46), 69–71. [in Ukrainian].
- [5] Khobzei, M. K., Antypkin, Yu. H., Lapshyn, V. F., Umanets, T. R., Berezhnyi, V. V., Besh, L. V., et al. (2013) Unifikovanyi klinichnyi protokol pervynnoi, vtorynnoi (spetsializovanoi) medychnoi diahnostryky «Bronkhialna astma u ditei» [Unified clinical protocol of primary, secondary (specialized) medical diagnostics. «Bronchial asthma in children»]. Kyiv. [in Ukrainian].
- [6] Freidin, M. B., Puzyrev, V. P., Ohorodova, L. M., & Brahina, O. Yu. (2013). Henetyka atopii: suchasnui stan [Genetics of Atopy: the present state]. *Vesnik VOGiS*, 3(10), 492–503. [in Ukrainian].
- [7] Chernyshova, O. Ye. (2016). Dyferentsiinyi pidkhd do likuvannya i vtorynnoi profilaktyky bronkhialnoi astmy na tli persystuiuchoi infektsii u ditei [Differential approach to the treatment and secondary prevention of bronchial asthma against the background of persistent infections in children.]. *Zdorov'e rebenka*, 8(76), 24–55. [in Ukrainian].
- [8] Global strategy for the diagnosis and management of asthma in children 5 years and younger. Retrieved from http://www.ginasthma.org/pdf/GINA_Report_2017.pdf.
- [9] Idzerda, R. L., March, C. J., Mosley, B., Lyman, S. D., Vanden Bos, T. V., Gimpel, S. D., et al. (1990). Human interleukin 4 receptor confers

- biological responsiveness and defines a novel receptor superfamily. *J. Exp. Med.*, 171(3), 861–873.
- [10] Mitsuyasu, H., Izuhara, K., Mao, X.-Q., Gao, P.-S., Arinobu, Y., Enomoto, T., et al. (1998). Ile50Val variant of IL4Rα upregulates IgE synthesis and associates with atopic asthma. *Nature Genetics*, 19(2), 119–120. doi: 10.1038/472.