

9. Keith C Meyer. Pulmonary fibrosis, part I: epidemiology, pathogenesis, and diagnosis. *Expert Review of Respiratory Medicine*. 2017;11(5).

10. Mora AL, Bueno M, Rojas M. Mitochondria in the spotlight of aging and idiopathic pulmonary fibrosis. *J Clin Invest*. 2017 Feb 1;127(2):405-14. doi: 10.1172/JCI87440. Epub 2017 Feb 1.

11. Richeldi L, Collard HR, Jones MG. Idiopathic pulmonary fibrosis. *Lancet*. 2017 May 13;389(10082):1941-52. doi: 10.1016/S0140-6736(17)30866-8. Epub 2017 Mar 30.

12. Suzuki A, Kondoh Y. The clinical impact of major comorbidities on idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Investig*. 2017 Mar;55(2):94-103. doi: 10.1016/j.resinv.2016.11.004. Epub 2017 Jan 14.

13. Walkoff L1, White DB1, Chung JH2, Asante D3, Cox CW1. The Four Corners Sign: A Specific Imaging Feature in Differentiating Systemic Sclerosis-related Interstitial Lung Disease From Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *J Thorac Imaging*. 2018 Jan 16. doi: 10.1097/RTI.0000000000000319. [Epub ahead of print]



УДК 616.233-002-007.272-053.2-039.35:575.22

[https://doi.org/10.26641/2307-0404.2018.1\(part 1\).127212](https://doi.org/10.26641/2307-0404.2018.1(part 1).127212)

**О.В. Кенс**<sup>1</sup>,  
**О.З. Гнатейко**<sup>1,2</sup>,  
**Н.С. Лук'яненко**<sup>1,2</sup>,  
**В.І. Бергтрам**<sup>3</sup>

## ПОШУК МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНОГО МАРКЕРА СХИЛЬНОСТІ ДО ПОВТОРНИХ ЕПІЗОДІВ ГОСТРОГО ОБСТРУКТИВНОГО БРОНХІТУ В ДІТЕЙ

*ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України»<sup>1</sup>*

*(дир. – проф. О.З. Гнатейко)*

*вул. Лисенка, 31а, Львів, 79008, Україна*

*Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького<sup>2</sup>*

*кафедра пропедевтики педіатрії та медичної генетики*

*(зав. – проф. О.Л. Личківська)*

*вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна*

*КЗ «Обласна дитяча клінічна лікарня «Охматдит ЛОР»<sup>3</sup>*

*відділення пульмоно-алергологічне*

*(зав. – В. І. Бергтрам)*

*вул. Лисенка, 31, Львів, 79008, Україна*

*SI "Institute of hereditary pathology of the National academy of medical sciences of Ukraine"<sup>1</sup>*

*Lysenko str., 31a, Lviv, 79008, Ukraine*

*Lviv National Medical University named after D. Halytskyi<sup>2</sup>*

*Department of propedeutics of pediatrics and medical genetics*

*Pekarska str., 69, Lviv, 79010, Ukraine*

*Municipal Institution Regional Children's Clinical Hospital "OKHMATDYT"<sup>3</sup>*

*Lysenko str., 31, Lviv, 79008, Ukraine*

*e-mail: ovkens@gmail.com*

**Ключові слова:** молекулярно-генетичне тестування, діти, поліморфізм С-33Т гена ІІ4, повторні епізоди гострого обструктивного бронхіту

**Key words:** molecular genetic testing, children, IL4 gene C-33T polymorphism, repeated episodes of acute obstructive bronchitis

**Реферат.** Молекулярно-генетическое тестирование однонуклеотидного полиморфизма С-33Т гена IL4 у детей с повторными эпизодами острого обструктивного бронхита. Кенс Е.В., Гнатейко О.З., Лукьяненко Н.С., Бергтравм В.И. Проведено молекулярно-генетическое тестирование однонуклеотидного полиморфизма С-33Т гена IL4 35 детям с повторными эпизодами острого обструктивного бронхита и 35 детям с острым бронхитом. Доказано, что наличие у ребенка генотипа 33СТ IL4 увеличивает риск возникновения повторных эпизодов острого обструктивного бронхита в 4 раза.

**Abstract.** Molecular-genetic testing of single-nucleotide polymorphism C-33T of IL4 gene in children with recurrent episodes of acute obstructive bronchitis. Kens O.V., Gnateyko O.Z., Lukyanenko N.S., Bergtravm V.I. The molecular genetic testing of the IL4 gene of a single nucleotide polymorphism C-33T was performed in 35 children with recurrent episodes of acute obstructive bronchitis and 35 children with acute bronchitis. It has been proved that the presence of a child's genotype 33CT IL4 increases the risk of recurrent acute obstructive bronchitis by 4 times.

У структурі захворюваності дітей від 0 до 14 років захворювання органів дихання посідають перше місце та становлять 62,0-65,0%. За останні десять років частота патології бронхолегеневої системи в дітей збільшилася в 3,6 разу, переважно за рахунок гострих та рецидивуючих запальних захворювань верхніх та нижніх дихальних шляхів [2].

Разом з високим рівнем захворюваності на гострі респіраторні захворювання (ГРЗ), у дітей, що часто хворіють, наявна висока частота гострого обструктивного бронхіту (ГОб), який, за даними різних авторів, виникає в 10,0-30,0% дітей, що значно ускладнює процес лікування таких дітей в амбулаторних умовах. Чимало пацієнтів цієї групи вимагають стаціонарного лікування, що у свою чергу є не лише економічно невигідним для держави, а і стресовою ситуацією як для дитини, так і її батьків [3].

У випадках повторних (2-3 рази та більше протягом року) епізодів бронхіту з бронхообструктивним синдромом (БОС) мова йде про повторні епізоди ГОб [1].

На цей час відомо, що в межах кожної популяції в індивідуумів існують спадкові варіації в послідовності ДНК, так звані поліморфізми, які зустрічаються в людському геномі з частотою 1 на 1000 пар основ. Незважаючи на таку розповсюдженість, лише невелика частина з них є функціонально значущою, тобто призводить до зміни продукції білків, у тому числі цитокінів, тим самим визначаючи індивідуальну відповідь організму на пошкоджуючі фактори.

Ген IL4 часто називають «критичним цитокіном запалення». Протизапальний цитокін, він активує гуморальний імунітет, контролює проліферацію та диференціацію В-клітин і Т-хелперів, посилює вироблення імуноглобуліну Е, що може провокувати розвиток алергічних реакцій та запалення дихальних шляхів. Крім того, він підвищує цитокінетичну активність макрофагів, сприяє міграції у вогнище запалення нейтрофілів, посилює продукцію колонієстимулюючих факторів [6].

Найбільш функціональні значення мають поліморфізми С-590Т, С-33Т гена IL4. У ряді досліджень показана асоціація цих поліморфізмів з розвитком ряду захворювань, таких як atopічна бронхіальна астма, хронічне обструктивне захворювання легенів [5, 7].

Ці дані говорять про те, що ген IL4 відіграє важливу роль у розвитку запальної реакції будь-якого генезу, а також бере безпосередню участь в регуляції імунної відповіді. Саме тому дослідження поліморфних варіантів цього гена є надзвичайно важливим у дітей з частими ГРЗ та повторними епізодами ГОб.

Отже, проблема виявлення дітей з повторними епізодами гострого обструктивного бронхіту і підвищеним ризиком формування в них бронхіальної астми є актуальною та перспективною. Впровадження методів ранньої діагностики дозволить проводити своєчасні лікування і профілактику ГОб, що сприятиме зменшенню захворюваності дітей.

Мета – пошук молекулярно-генетичного маркера, асоційованого з підвищеною схильністю дітей до повторних епізодів гострого обструктивного бронхіту.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Обстежено 59 дітей у віці від 2 до 8 років з повторними епізодами ГОб (I-ГОб) та 35 дітей такого ж віку, які хворіли на гострий бронхіт (ГБ) не частіше 1-2 разів на рік і склали групу порівняння (II-ГБК). Всі діти знаходилися на стаціонарному лікуванні в пульмоно-алергологічному відділенні КЗ ЛОР ЛОДКЛ «ОХМАТДИТ». Молекулярно-генетичне дослідження провели 35 дітям з повторними епізодами ГОб (I-ГОб), його результати порівнювали з даними 35-ти дітей з ГБ (II-ГБК).

Матеріалом для дослідження служила ДНК, виділена з лейкоцитів периферійної крові пацієнтів. Специфічність продуктів ПЛР та аналіз рестриктних фрагментів проводився шляхом електрофорезу в 2-3% агарозному гелі протягом 30-40 хвилин при напрузі 100 V. Електрофореграма

сканувалась на ультрафіолетовому транслюмінаторі. Отримані сигнали порівнювались з маркерами довжин і на основі цього детектувались розміри отриманих фрагментів [4]. Згідно з вимогами з біоетики “Про проведення лабораторних досліджень біологічного матеріалу”, від батьків кожної дитини отримана письмова згода на дослідження біоматеріалу.

Клінічна частина роботи виконувалась на базі пульмоно-алергологічного відділення КЗ ЛОР ЛОДКЛ «ОХМАТДИТ», молекулярно-генетичне дослідження виконане в Державній установі «Інститут спадкової патології НАМН України» (директор – д. мед. н., проф. О.З. Гнатейко).

Результати статистично обробили на персональному комп’ютері з використанням програм Microsoft Excel 7,0 та з обчисленням значень се-

редньої арифметичної ( $M$ ), помилки середньої арифметичної ( $m$ ), критерію Стьюдента ( $t$ ), ступеня вірогідності ( $p$ ), критерію Пірсона ( $\chi^2$ ) та відношення шансів (OR). Статистично значущими вважали відмінності при  $p < 0,01$  та  $p < 0,05$ .

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Порівнювані групи дітей не мали відмінностей у розподілі за віком та статтю. У двох групах дітей була приблизно однакова кількість хлопчиків та дівчаток (58,0% та 42,0%), віком від двох до восьми років.

Порівняльний аналіз клінічного стану обстежених дітей з повторними епізодами ГОБ та дітей з ГБ за даними клінічного, рентгенологічного огляду та лабораторними показниками поданий у таблиці 1.

Таблиця 1

### Порівняльний аналіз клінічного стану дітей 2-8 років з повторними епізодами гострого обструктивного бронхіту з даними дітей групи порівняння з гострим бронхітом

Клінічні прояви	Частота клінічних та лабораторних проявів у групах дітей			
	І-ГОБ		ІІ-ГБК	
	n=59	q	n=35	q
Блідість шкірних покривів	39	0,66*	7	0,20
Зниження сатурації	36	0,61*	—	—
Аускультативні зміни	54	0,92*	5	0,14
Коробковий перкуторний звук	51	0,86*	—	—
Рентгенологічні ознаки бронхіту	44	0,75*	10	0,29
Лейкоцитоз	16	0,27	12	0,34
Еозинофілія	31	0,53*	4	0,11
Лімфоцитоз	34	0,58**	9	0,26

Примітки: \* – вірогідна різниця показника між даними дітей з повторними епізодами ГОБ та дітей групи порівняння,  $p < 0,01$ , \*\* – вірогідна різниця показника між даними дітей з повторними епізодами ГОБ та дітей групи порівняння,  $p < 0,05$ , q – частота відхилення параметра від норми чи від референтного значення.

Проведене дослідження показало, що в дітей з повторними епізодами ГОБ достовірно високою була частота клінічних проявів гіпооксигенації: блідість шкірних покривів, зниження сатурації, аускультативних (таких як сухі свистячі хрипи) та перкуторних змін у легенях, рентгенологічних ознак обструктивного бронхіту, еозинофілії та лімфоцитозу в загальному аналізі крові, порівняно з даними дітей з ГБ (табл. 1).

На наступному етапі роботи проводилося молекулярно-генетичне дослідження поліморфного локусу C-33T гена *IL4* у дітей з повторними епізодами ГОБ порівняно з даними дітей з ГБ. Отримані результати представлено в таблиці 2.

Зареєстровано достовірно вищу частоту генотипу 33СТ у дітей з повторними епізодами ГОБ порівняно з даними дітей з ГБ (63,0% проти 29,0% в групі порівняння,  $p < 0,01$ ).

Встановлено достовірно вищу частоту генотипу СС у дітей з ГБ порівняно з даними дітей з повторними епізодами ГОБ (51,0% проти 26,0% у групі дітей з повторними епізодами ГОБ,  $p < 0,05$ ).

Проведене дослідження показало, що наявність у дитини генотипу 33СТ *IL4* асоційована зі схильністю до розвитку повторних епізодів ГОБ у дітей та збільшує ризик їх виникнення в 4 рази (OR 4,23, 95% CI 1,55 – 11,55).

Таблиця 2

**Аналіз розподілу генотипів за поліморфним локусом С-33Т гена *IL4***

Генотипи	I-ГОБ, n=35		II-ГБК, n=35		$\chi^2$	p	OR, 95% CI
	n	%	n	%			
СС	9	26,0**	18	51,0	4,88	<0,05	0,89 (0,34–2,32)
СТ	22	63,0*	10	29,0	8,29	<0,01	4,23 (1,55–11,55)
ТТ	4	11,0	7	20,0	0,97	>0,05	0,52 (0,14–1,95)

Примітки: \* – вірогідна різниця показника між даними дітей з повторними ГОБ та дітей групи порівняння,  $p < 0,01$ , \*\* – вірогідна різниця показника між даними дітей з повторними епізодами ГОБ та дітей групи порівняння,  $p < 0,05$ .

**ПІДСУМОК**

У дітей з повторними епізодами гострого обструктивного бронхіту порівняно з даними дітей з гострим бронхітом діагностована достовірно вища частота таких клінічних проявів, як блідість, наявність хрипів при аускультатії, коробковий перкуторний звук, зниження сатурації  $O_2$ , еозинофілія та лімфоцитоз, рентгеноло-

гічні ознаки бронхіту. Доведено, що наявність у дитини генотипу 33СТ гена *IL4* збільшує ризик виникнення повторних епізодів гострого обструктивного бронхіту в 4 рази. А носійство генотипу 33СС у дітей є протективним по відношенню до повторних епізодів гострого обструктивного бронхіту.

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Жукова О.В. Распределение расходов на фармакотерапию острого обструктивного бронхита у детей в реальной клинической практике с учетом фармакоэкономических исследований / О.В. Жукова, С.В. Кононова, Т.М. Конюшкіна // Фарматека. – 2013. – № 18. – С. 29-33.
2. Захворювання органів дихання в практиці сімейного лікаря / В.М. Ждан, Л.І. Гуріна, М.Ю. Бабаніна [та ін.]. – Київ; Полтава, 2008. – 3 с.
3. Маланичева Т.Г. Терапия рецидивирующих бронхитов у детей с частыми респираторными заболеваниями, имеющих нарушения микробиоценоза носоглотки / Т.Г. Маланичева, А.М. Закирова, А.Г. Овчинникова // Лечащий врач. – 2014. – №. 9. – С. 26-29.
4. Trajkov D. Association of cytokine gene polymorphisms with chronic obstructive pulmonary disease in Macedonians / D. Trajkov, J. Mirkovska-Stojkovikj,

- A. Petlichkovski // Iran. J. Allergy, Asthma Immunol. – 2009. – Vol. 8, N 1. – P. 31-42.
5. Immunological parameters and gene polymorphisms (C-590T *IL4*, C-597A *IL10*) in severe bronchial asthma in children from the Krasnoyarsk region, west Siberia / M. Smolnikova, S. Smirnova, M. Freidin [et al.] // Inter. J. Circumpolar Health. – 2013. – Vol. 72. – P. 72-78.
6. Relationship between polymorphisms in *IL4* and asthma in Japanese women: the Kyushu Okinawa Maternal and Child Health Study / Y. Miyake, K. Tanaka, M. Arakawa [et al.] // J. Investigational Allergol. Clin. Immunol. – 2013. – Vol. 23, N 4. – P. 242-247.
7. Yang H. J. Association between the interleukin-4 gene C-589T and C-33T polymorphisms and asthma risk: a meta-analysis / H. J. Yang // Arch. Med. Res. – 2013. – Vol. 44. – P. 127-135.

**REFERENCES**

1. Zhukova OV, Kononova SV, Konyushkina TM. [Distribution of expenses for pharmacotherapy of acute obstructive bronchitis in children in real clinical practice, taking into account pharmacoeconomic studies]. Farmateka. 2013;18:29-33. Russian.

2. Zhdan VM, Gurina LI, Babanina Myu, et al. [Diseases of the respiratory organs in the practice of a family doctor]. Poltava. 2008;3. Ukrainian.
3. Malanicheva TG, Zakirova AM, Ovchinnikova AG. [Therapy of recurrent bronchitis in children with

frequent respiratory diseases, with disturbances in the microbiocenosis of the nasopharynx]. *Lechashchiy vrach*. 2014;9:26-29. Russian.

4. Trajkov D, Mirkovska-Stojkovikj J, Petlichkovski F. Association of cytokine gene polymorphisms with chronic obstructive pulmonary disease in Macedonians. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2009;8(1):31-42.

5. Smolnikova M, Smirnova S, Freidin M and other. Immunological parameters and gene polymorphisms (C-590T IL4, C-597A IL10) in severe bronchial asthma in

children from the Krasnoyarsk region, west Siberia. *Int J Circumpolar Health*. 2013;72:72-78.

6. Miyake Y, Tanaka K, Arakawa M and other. Relationship between polymorphisms in IL4 and asthma in Japanese women: the Kyushu Okinawa Maternal and Child Health Study. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2013;23(4):242-7.

7. Yang HJ. Association between the interleukin-4 gene C-589T and C-33T polymorphisms and asthma risk: a meta-analysis. *Med Res Arch*. 2013;44:127-35.



УДК 618.11-008.6-092.9:547.993:661.693

[https://doi.org/10.26641/2307-0404.2018.1\(part 1\).127240](https://doi.org/10.26641/2307-0404.2018.1(part 1).127240)

**О.А. Кондрацька<sup>1</sup>,  
Н.Г. Грушка<sup>1</sup>,  
В.Г. Каплуненко<sup>2</sup>,  
С.І. Павлович<sup>1</sup>,  
В.О. Срібна<sup>1</sup>,  
Р.І. Янчій<sup>1</sup>**

## **ПРОТЕКТИВНИЙ ЕФЕКТ ЦИТРАТУ ГЕРМАНІЮ ПРИ ЕНДОТОКСИН-ІНДУКОВАНИЙ ОВАРІАЛЬНІЙ ДИСФУНКЦІЇ В МИШЕЙ**

*Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України<sup>1</sup>*

*вул. Богомольця, 4, Київ, 01024, Україна*

*ТОВ «Нанотехнології і наноматеріали»<sup>2</sup>*

*вул. Казимира Малевича, 84, Київ, 03150, Україна*

*Bogomoletz Institute of Physiology of NAS of Ukraine<sup>1</sup>*

*Bogomoletz str., 4, Kyiv, 01024, Ukraine "Nanomaterials and Nanotechnologies" LTD<sup>2</sup>*

*Kazimir Malevich str., 84, Kyiv, 03150, Ukraine*

*e-mail: elena-shepel@ukr.net*

**Ключові слова:** *цитрат германію, ліпополісахарид, ооцити, клітини гранульози, ушкодження ДНК, апоптоз, некроз*

**Key words:** *germanium citrate, lipopolysaccharide, oocytes, granulosa cells, DNA damage, apoptosis, necrosis*

**Реферат.** Протективний ефект цитрата германія при ендотоксин-індукованої овариальної дисфункції у мишей. Кондрацька О.А., Грушка Н.Г., Каплуненко В.Г., Павлович С.І., Срібна В.А., Янчій Р.І. Известно, что эндотоксин грамотрицательных бактерий – липополисахарид (ЛПС) вызывает нарушение репродуктивной функции у женщин. Овариальную дисфункцию при эндотоксемии воспроизводили введением ЛПС самкам мышей (3 мг/кг) и исследовали возможное протективное действие цитрата германія (Ge), полученного с помощью нанотехнологии. Введение ЛПС приводило через 24 часа к патологическим изменениям в яичниках: угнетению мейотического созревания ооцитов *in vitro*, повреждению ДНК в клетках гранулы (по оценке методом ДНК-комет) и снижению их жизнеспособности за счет усиления как некроза, так и апоптоза. Предобработка мышей цитратом Ge (100 мкг/кг, внутривентриально дважды: за 24 и 1 час до ЛПС) эффективно снижала генотоксический стресс и клеточную гибель. Инъекции цитрата Ge в условиях действия