

УДК: 616.248-085.37-053.2

DOI: 10.15587/2313-8416.2016.59327

## СТАН РЕМОДЕЛЮВАННЯ БРОНХІВ У ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ ШКОЛЯРІВ ЗА ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ СІМЕЙСТВА ГЛЮТАТІОН-S-ТРАНСФЕРАЗ

© О. К. Колоскова, Г. А. Білик

Встановлено, що у хворих бронхіальною астмою школярів делеційний поліморфізм генів *GSTT1* та *GSTM1* у гомозиготному стані трапляється утричі рідше порівняно з пацієнтами із генотипом *GSTT1+M1+* та більш, ніж удвічі підвищує ризик тяжкого перебігу захворювання. Доведено, що процеси ремоделінгу бронхів більш агресивні у хворих, які мають постійний контакт з тютюновим димом

**Ключові слова:** бронхіальна астма, ремоделювання бронхів, глутатіон-S-трансфераза, поліморфізм генів, школярі

**The aim of research** was to establish connection between the bronchi remodeling processes and allelic polymorphism of *GSTT<sub>1</sub>* and *GSTM<sub>1</sub>* genes in school-age children with bronchial asthma (BA) for optimization of results of the basic treatment.

**Methods:** 66 school children with bronchial asthma in the period without attacks underwent the complex examination. All patients underwent general clinic and spirographic examination, point assessment of the bronchial asthma controllability with the help of clinically-instrumental evaluation scale, the analysis of the sample of capillary blood by the method of multiplex polymerase chain reaction (PCR) for detecting the deletions in glutathione-s-transferase genes that is *GSTT<sub>1</sub>* and *GSTM<sub>1</sub>*.

**Results:** as the result of molecular and genetic analysis of studying of *GSTT<sub>1</sub>* and *GSTM<sub>1</sub>* genes polymorphism there were demonstrated that the (*GSTT<sub>1</sub>+M<sub>1</sub>+*) genotype homozygous on the normal copies was more often and took place in 40,9 % of children, «null genotype» – in 9 patients (13,64 %), *GSTT<sub>1</sub>-M<sub>1</sub>+* genotype was equally often, whereas the heterozygous *GSTT<sub>1</sub>+M<sub>1</sub>-* genotype was detected in every third patient (31,82 %).

**Conclusions:** The deletion polymorphism of *GSTT<sub>1</sub>* and *GSTM1* in homozygous state (so called “null genotype”) is three times less often in school children with bronchial asthma comparing with patients with *GSTT<sub>1</sub>+M<sub>1</sub>+* genotype, it raises more than twice the risk of the heavy clinical course of disease, associates with the low indices of bronchi lability. In patients with bronchial asthma even at preserved structure of glutathione-s-transferase genes (*GSTT<sub>1</sub>+M<sub>1</sub>+* genotype) the continuous contact with the tobacco smoke in family raises the content of endothelial factor of vessel growth (EFVG) in sputum in 1,25 times that underlines the more aggressive remodeling of respiratory tracts

**Keywords:** bronchial asthma, bronchi remodeling, glutathione-s-transferase, gene polymorphism, school children

### 1. Вступ

Попри численні фундаментальні проспективні дослідження останніх десятиліть, бронхіальна астма залишається «хворобою парадоксів», а контроль над недугою у ряді випадків не задовольняє ані лікарів, ані пацієнтів. Зокрема, із ремоделюванням дихальних шляхів, що тісно пов'язане з їх хронічним запаленням [1], пов'язують почасти недостатню ефективність регламентованого базисного протизапального лікування астми та її неконтрольований перебіг. Наведені клінічні особливості зумовили те, що останніми роками у науковій літературі накопичені результати вивчення ключових особливостей бронхіальної астми в дитячому віці, зокрема маркерів атопії, гіперсприйнятливості дихальних шляхів до прямих і непрямих бронхоспазмогенних чинників, а також характеру й активності місцевого запального процесу дихальних шляхів [2–4]. Це стало результатом, у тому числі, широкого впровадження в практику дитячої алергології доступних і водночас неінвазивних методів обстеження [5–7], оптимізації підходів до моніторингу гіперсприйнятливості дихальних шляхів та впро-

вадження сучасних статистичних методів аналізу одержаних результатів.

### 2. Обґрунтування дослідження

На даний час виявлено та вивчено близько 200 генів, пов'язаних із розвитком БА, так званих генів-кандидатів. Вони переважно представлені генами схильності до атопії та бронхіальної астми, проте окремі дослідники додатково вирізняють окрему групу генів таких, як гени факторів антигенного розпізнавання та гуморальної імунної відповіді (*HLA-DRB*, *MGF*) [8], гени факторів запалення (*LTC4S*, *NOS*, *HRF*) [9], гени рецепторів цитокінів та агентів запалення (*GRL*, *ADRB2*) [10, 11], гени внутрішньоклітинних сигнальних молекул (*STAT6*, *NFYB*, *NFKB1*) [12, 13] і гени біотрансформації ксенобіотиків (*NAT2*, *NAT9*, *GSTM*, *GSTT*, *CYP1A*) [14–17].

Водночас, останні технологічні досягнення у генотипуванні призвели до швидкого збільшення кількості досліджених генів схильності до БА, проте результати багатьох досліджень досить неоднорідні, і часто навіть суперечливі. Зокрема, недостатньо вивченим залишається питання взаємозв'язку осо-

бливостей перебігу астми за наявності відхилень у функціонуванні генів, що відповідають за активність II фази детоксикації, зокрема у розрізі прогресування необоротних змін у бронхах на прикладі пошкодження епітеліально-мезенхімального комплексу [18] чи прогресування ремоделінгу бронхів [1].

**3. Ціль дослідження**

На підставі результатів комплексного клінічно-параклінічного обстеження встановити взаємозв'язок процесів ремоделювання бронхів із алельним поліморфізмом генів *GSTT<sub>1</sub>* та *GSTM<sub>1</sub>* у хворих на бронхіальну астму дітей шкільного віку для оптимізації результатів базисного лікування.

**4. Матеріали і методи дослідження**

У позанападному періоді комплексно обстежено 66 школярів, які хворіють на бронхіальну астму, з приводу чого знаходяться на диспансерному обліку. Обстеження проводилося з дотриманням принципів біоетики, за поінформованої згоди батьків на базі пульмоалергологічного відділення Обласної дитячої клінічної лікарні (м. Чернівці). Поряд із загальноклінічним обстеженням, з використанням спірографії вивчали неспецифічну гіперсприйнятливність бронхів за допомогою бронхомоторної проби з фізичним навантаженням та наступною інгаляцією швидкодіючого β<sub>2</sub>-агоніста із визначенням сумарного показника лабільності бронхів (ПЛБ) [19]. Бальна оцінка контрольованості бронхіальної астми здійснювалася за допомогою клінічно-інструментальної оціночної шкали (КІО) [20], згідно якої 10 і нижче балів відображували контрольовану БА, 11–16 балів – частково контрольоване захворювання, а вище 17 балів – неконтрольований варіант БА.

З метою виявлення делецій у генах сімейства глутатіон-S-трансфераз, а саме *GSTT<sub>1</sub>* та *GSTM<sub>1</sub>*, проводили дослідження проби капілярної крові методом мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) на кафедрі молекулярної генетики та біотехнології Чернівецького національного університету ім. Ю. Федьковича (зав. – д. біол. н., проф. Р. А. Волков). Загальну геномну ДНК виділяли з крові згідно стандартного протоколу [21, 22]. Аналіз результатів ПЛР проводили методом електрофорезу у 2 % агарозному гелі за Маніатіс та співав. (1984) [23]. Для візуалізації фрагментів ДНК гель забарвлювали етидієм бромідом та фотографували в ультрафіолетовому світлі на установці GelDoc 2000 (BioRad, США). Для визначення довжини отриманих фрагментів їх електрофоретичну рухливість порівнювали з рухливістю ДНК-маркера GeneRuler DNA LeaderMix (Fermentas, Литва). Очікувану довжину фрагментів ДНК (431 нп для *GSTT<sub>1</sub>* та 120 нп для *GSTM<sub>1</sub>*) розраховували за допомогою пакету програм комп'ютерної обробки даних DNASTAR з використанням послідовності генів *GSTT<sub>1</sub>* та *GSTM<sub>1</sub>*, присутніх у базі даних Genbank. Гомозиготні форми із делецією обох копій генів *GSTT<sub>1</sub>*

та *GSTM<sub>1</sub>* ідентифікували за відсутності відповідного фрагменту на електрофореграмі і позначали як *T<sub>1</sub>-* та *M<sub>1</sub>-* (генотип *GSTT<sub>1</sub>-M<sub>1</sub>*). Відповідно, наявність таких фрагментів на електрофореграмах свідчила про гомо- (*GSTT<sub>1</sub>+M<sub>1</sub>*), або гетерозиготність по нормальній копії гену (генотипи *GSTT<sub>1</sub>+M<sub>1</sub>-*, або *GSTT<sub>1</sub>-M<sub>1</sub>+*).

Показником процесу ремоделювання дихальних шляхів (РДШ) слугував вміст ендотеліального фактора росту судин (VEGF), який визначали у надосадовій рідині, отриманій після центрифугування одержаного спонтанним відкашлюванням або індукованого мокротиння, з використанням імуноферментного аналізу (реагенти “ИФА-Бест” ЗАТ „Вектор-Бест, РФ”).

Отримані результати дослідження аналізувалися методом біостатистики та клінічної епідеміології. Статистичний аналіз здійснювали за допомогою програми Statistica-v.6.0 на комп'ютері типу IBM. При нормальному розподілі та великих вибірках використовували параметричні методи аналізу статистичних гіпотез (критерії Стьюдента, Фішера), а в малих вибірках – непараметричні (критерій Вілкоксона-Манна-Вітні). При проведенні популяційного аналізу оцінювали атрибутивний (АР) та відносний ризик (ВР), а також співвідношення шансів (СШ) з обчисленням довірчих інтервалів для відносного ризику та відношення шансів (95 % ДІ).

**5. Результати дослідження**

У результаті проведеного молекулярно-генетичного аналізу по дослідженню поліморфізму генів *GSTT<sub>1</sub>* та *GSTM<sub>1</sub>* в обстежених школярів, які страждають на бронхіальну астму, показано, що гомозиготний по нормальних копіях генотип (*GSTT<sub>1</sub>+M<sub>1</sub>*) траплявся найчастіше і мав місце у 40,9 % дітей, «нульовий генотип» – у 9 хворих (13,64 %), з такою ж частотою траплявся генотип *GSTT<sub>1</sub>-M<sub>1</sub>+*, натомість гетерозиготний генотип *GSTT<sub>1</sub>+M<sub>1</sub>-* визначався у кожного третього хворого (31,82 %).

Відповідно до даних результатів дослідження сформовані клінічні групи порівняння. До складу I групи увійшли 27 дітей (генотип *GSTT<sub>1</sub>+M<sub>1</sub>*), до II – 9 хворих (генотип *GSTT<sub>1</sub>-M<sub>1</sub>*), до III групи – 21 хворий із генотипом *GSTT<sub>1</sub>+M<sub>1</sub>-*, та останню IV групу сформували 9 пацієнтів із «нульовим генотипом». У табл. 1 наведена загальна характеристика хворих залежно від їх генотипу. Отримані дані дають підстави вважати, що за основними клінічними характеристиками групи порівняння були співставні.

Таблиця 1

Загальна клінічна характеристика груп залежно від генотипу (M±m)

Фенотипи БА	К-сть дітей	Хлопчики, % (P±Sp)	Сільські мешканці, % (P±Sp)	Середній вік, роки (M±m)	Тривалість захворювання, роки (M±m)
I – <i>GSTT<sub>1</sub>+M<sub>1</sub></i>	27	66,67*±5,80	48,15*±6,15	10,96±0,60	6,07±0,70
II – <i>GSTT<sub>1</sub>-M<sub>1</sub></i>	9	55,56*±6,12	55,56*±6,12	10,0±1,04	5,11±0,81
III – <i>GSTT<sub>1</sub>+M<sub>1</sub>-</i>	21	66,67*±5,80	61,9*±5,98	11,19±0,72	5,19±0,72
IV – <i>GSTT<sub>1</sub>-M<sub>1</sub>-</i>	9	44,44*±6,12	66,67*±5,80	9,67±0,91	4,00±1,31

Примітка: \* – P<0,05

Розподіл дітей груп порівняння за тяжкістю перебігу БА представлено у табл. 2. Із наведених даних видно, що вірогідних відмінностей у групах порівняння за тяжкістю перебігу захворювання не встановлено, причому у II–IV групах мала місце тенденція до переважання важкого персистування БА.

Таблиця 2

Розподіл груп порівняння пацієнтів за тяжкістю бронхіальної астми (%)

Групи	Кількість дітей	Інтермітуюча	Легка персистуюча	Середньо-тяжка	Тяжка персистуюча
I група	27	–	3,7	48,1	48,1
II група	9	–	–	44,4	55,6
III група	21	4,8	4,8	33,3	57,1
IV група	9	–	–	33,3	66,7

Таблиця 3

Середні показники вмісту ендотеліального фактору росту судин (VEGF (пг/мл) у дітей груп порівняння

Групи	Кількість дітей	VEGF (пг/мл) (M±m)	ІМТ (кг/м <sup>2</sup> ) (M±m)
I група	27	155,8±25,49	20,12±0,77
II група	9	50,0±1,87	18,87±0,76
III група	21	114,23±28,32	19,23±0,53
IV група	9	80,0±26,51	17,85±1,17

У представників I групи вмісту VEGF у мокротинні хворих груп порівняння зменшувався від 186,5 пг/мл при неконтрольованому перебігу БА до 107,16 пг/мл при контрольованому варіанті. Майже аналогічні закономірності встановлено і для хворих III групи: коливання даного фактору від 89,5 пг/мл за наявності контролю недуги до 190,67 пг/мл при його втраті.

Проте найнижчим даний маркер РДШ відмічався у мокротинні представників IV групи (генотип  $GSTT_1-M_1-$ ): від 55,0 до 95,0 пг/мл.

При вивченні впливу тютюнового диму на перебіг БА встановлено, що у загальній когорті обстежених дітей визначений вірогідний ризик більш агресивних процесів ремоделювання бронхів ( $VEGF \geq 120$  пг/мл) у хворих, які мали постійний контакт з тютюновим димом: ВШ=2,9 (95 % ДІ: 1,5–5,6), ВР=1,8 (95 % ДІ: 1,5–2,2), АР=0,26.

При оцінці залежності вмісту VEGF у хворих груп порівняння від показників фізичного розвитку встановлено, що найвищий індекс маси тіла виявився у хворих I групи – 20,12±0,77 кг/м<sup>2</sup> за генотипу  $GSTT_1+M_1+$ , а найнижчим – у дітей IV групи – 17,85±1,17 кг/м<sup>2</sup> за генотипу  $GSTT_1-M_1-$ , що асоціювало із аналогічною тенденцією у вмісті в мокротинні показника ендотеліального фактору росту судин (VEGF), який є віддзеркаленням процесу ремоделювання дихальних шляхів (табл. 3). Проте, у хворих зі збереженими алелями вивчених генів (генотип  $GSTT_1+M_1+$ ) вміст VEGF суттєво не залежав від показника ІМТ та становив у середньому 153,30 пг/мл у дітей із ІМТ більше 20 кг/м<sup>2</sup> та 160,43 пг/мл у пацієнтів із ІМТ менше

20 кг/м<sup>2</sup>. Натомість у хворих із так званим «нульовим генотипом» за ІМТ>20 кг/м<sup>2</sup> вміст VEGF у мокротинні в середньому сягав 90,0 пг/мл, а в однолітків із даним генотипом та ІМТ<20 кг/м<sup>2</sup> – лише 40,0 пг/мл (P<0,05).

**6. Обговорення результатів дослідження**

При порівняльному аналізі вмісту VEGF у мокротинні хворих груп порівняння при різних показниках контролю БА за клінічно-інструментальною шкалою показано, що при неконтрольованому перебігу БА рівень VEGF у представників всіх груп порівняння був вищим, ніж при контрольованому варіанті БА.

З урахуванням згубного впливу тютюнового диму на перебіг БА і стан дихальної системи в цілому, проаналізована частота пасивного тютюнопаління у родинах, де виховувались обстежені діти. Не виступали «пасивними курцями» 64,29 % хворих I групи, усі представники II групи, 27,27 % дітей III групи та 60,0 % представників групи порівняння. Найнижчими показники ремоделінгу бронхів були у II групі, представники якої не знаходилися під згубним впливом тютюнопаління батьків, а найвищими – у I та III групах зі збереженим геном  $GSTT_1$ . Причому у «пасивних курців», які входили до складу I групи (генотип –  $GSTT_1+M_1+$ ) вміст ендотеліального фактору росту судин (VEGF) у мокротинні був у 1,25 разу вищий, ніж у дітей даної групи, на яких тютюновий дим удома не впливав.

Варто зауважити, що за наявності так званого «нульового генотипу» за вивченими генами у хворих незначно зростав ризик важкого персистування БА по відношенню до носіїв генотипу  $GSTT_1+M_1+$ : відношення шансів (ВШ) – 2,15 (95 % ДІ: 1,2–3,82), відносний ризик (ВР) – 1,39 (95 % ДІ: 1,02–1,88), атрибутивний ризик (АР) – 0,2. Оцінка контролю БА у дітей груп порівняння засвідчила найгірший його рівень за наявності генотипу  $GSTT_1+M_1-$  – (22,2±1,62) балів, а найкращий при «нульовому генотипі» – (17,83±2,65) балів.

Цікавою видалася встановлена певна закономірність у розподілі показників фізичного розвитку у пацієнтів груп порівняння. Показано, що надмірна маса тіла (ІМТ>20 кг/м<sup>2</sup>) у представників I групи (генотип  $GSTT_1+M_1+$ ) на противагу одноліткам із «нульовим генотипом» та надмірною масою тіла асоціює з помірним ризиком більш агресивних процесів РДШ (вміст VEGF у надосадовій рідині мокротиння більше 90,0 пг/мл): ВШ=2,33 (95 % ДІ: 1,2–32,4), ВР=1,67 (95 % ДІ: 1,5–2,9) та АР=0,21.

При вивченні показників лабільності бронхів у пробі з фізичним навантаженням та інгаляцією бронхолітика, встановлено, що середнє значення показника лабільності бронхів у хворих без поліморфізму генів  $GSTT_1$  та  $GSTM_1$  (I група) становило (25,49±3,64) %, у II групі порівняння – (25,24±7,41) %, у хворих із генотипом  $GSTT_1+M_1-$  – (28,17±6,07) %, а у дітей із «нульовим генотипом» – лише (12,36±3,72) % ( $P_{I,IV,III,IV} < 0,05$ ). Таким чином, за відсутності поліморфізму гену  $GSTT_1$  має місце найвища лабільність

бронхів. Натомість делеції даного гену асоціюють із зниженням відповіді дихальних шляхів та спазмогенні та бронхоспазмолітичні чинники, що може непрямо свідчити про наявність структурних змін внаслідок їх ремоделінгу.

Таким чином, отримані результати обстеження хворих на БА школярів підкреслили те, що БА є мультифакторним захворюванням, у прогресуванні якого беруть участь як генетичні, так і епігенетичні чинники, які впливають на тяжкість і контрольованість клінічної картини, а також морфологічні зміни у дихальних шляхах.

## 7. Висновки

1. Делеційний поліморфізм генів *GSTT<sub>1</sub>* та *GSTM<sub>1</sub>* у гомозиготному стані (так званий «нульовий генотип») утричі рідше трапляється у хворих на бронхіальну астму школярів порівняно з пацієнтами із генотипом *GSTT<sub>1</sub>+M<sub>1</sub>+*, більше ніж удвічі він підвищує ризик тяжкого перебігу захворювання ( $r=0,72$ ,  $P=0,046$ ), асоціює з низькими показниками лабільності бронхів, проте за нього меншим є вміст ендотеліального фактору росту судин (VEGF) у мокротинні хворих.

2. Процеси ремоделінгу дихальних шляхів є більш агресивними (вміст у мокротинні  $VEGF \geq 120$  пг/мл) у хворих, які мають постійний контакт з тютюновим димом (ВШ=2,9).

3. У хворих на бронхіальну астму навіть за збереженої структури генів сімейства глутатіон-S-трансфераз (генотип *GSTT<sub>1</sub>+M<sub>1</sub>+*) постійний контакт з тютюновим димом у родині підвищує у 1,25 разу вміст VEGF у мокротинні, що підкреслює агресивніший ремоделінг дихальних шляхів.

4. Незважаючи на відсутність поліморфізму генів *GSTT<sub>1</sub>* та *GSTM<sub>1</sub>* надмірна маса тіла ( $IMT > 20$  кг/м<sup>2</sup>) підвищує ризик більш агресивних процесів ремоделювання бронхів (ВШ=2,33).

## Література

1. Jeffery, P. K. Remodeling and Inflammation of Bronchi in Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease [Text] / P. K. Jeffery // Proceedings of the American Thoracic Society. – 2004. – Vol. 1, Issue 3. – P. 176–183. doi: 10.1513/pats.200402-009ms

2. Brannan, J. D. Bronchial hyperresponsiveness in the assessment of asthma control [Text] / J. D. Brannan // Chest. – 2010. – Vol. 138, Issue 2. – P. 11S–17S. doi: 10.1378/chest.10-0231

3. Busse, W. W. The relationship of airway hyperresponsiveness and airway inflammation [Text] / W. W. Busse // Chest. – 2010. – Vol. 138, Issue 2. – P. 4S–10S. doi: 10.1378/chest.10-0100

4. Broide, D. Immunologic and inflammatory mechanisms that drive asthma progression to remodeling [Text] / D. H. Broide // Journal of Allergy and Clinical Immunology. – 2008. – Vol. 121, Issue 3. – P. 560–570. doi: 10.1016/j.jaci.2008.01.031

5. Pavord, I. D. Inflammometry: the current state of play [Text] / I. D. Pavord, P. G. Gibson // Thorax. – 2012. – Vol. 67, Issue 3. – P. 191–192. doi: 10.1136/thoraxjnl-2012-201712

6. Уманець, Т. П. Оцінка запальних змін дихальних шляхів у дітей із бронхіальною астмою [Текст] / Т. П. Уманець // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2010. – № 5. – С. 32–35.

7. Brightling, C. E. Sputum induction in asthma [Text] / C. E. Brightling // Chest. – 2006. – Vol. 129, Issue 3. – P. 503–504. doi: 10.1378/chest.129.3.503

8. Joubert, B. R. Evaluation of genetic susceptibility to childhood allergy and asthma in an African American urban population [Text] / B. R. Joubert, D. M. Reif, S. W. Edwards, K. A. Leiner, E. E. Hudgens, P. Egeghy et. al // BMC Medical Genetics. – 2011. – Vol. 12, Issue 1. – P. 25. doi: 10.1186/1471-2350-12-25

9. Barnes, P. J. Exhaled Nitric Oxide in Pulmonary Diseases [Text] / P. J. Barnes, R. A. Dweik, A. F. Gelb, P. G. Gibson, S. C. George, H. Grasemann // Chest. – 2010. – Vol. 138, Issue 3. – P. 682–692. doi: 10.1378/chest.09-2090

10. Thakkinstian, A. Systematic review and meta-analysis of the association between  $\beta$ 2-adrenoceptor polymorphisms and asthma: a HuGe review [Text] / A. Thakkinstian // American Journal of Epidemiology. – 2005. – Vol. 162, Issue 3. – P. 201–211. doi: 10.1093/aje/kwi184

11. Rebordosa, C. ADRB2 Gly16Arg polymorphism, asthma control and lung function decline [Text] / C. Rebordosa, M. Kogevinas, S. Guerra, F. Castro-Giner, D. Jarvis, L. Cazzolletti et. al // European Respiratory Journal. – 2011. – Vol. 38, Issue 5. – P. 1029–1035. doi: 10.1183/09031936.00146310

12. Schroer, K. T. Downregulation of glutathione S-transferase pi in asthma contributes to enhanced oxidative stress [Text] / K. T. Schroer, A. M. Gibson, U. Sivaprasad, S. A. Bass, M. B. Ericksen, M. Wills-Karp et. al // Journal of Allergy and Clinical Immunology. – 2011. – Vol. 128, Issue 3. – P. 539–548. doi: 10.1016/j.jaci.2011.04.018

13. Wu, W. Role of GSTM1 in resistance to lung inflammation [Text] / W. Wu, D. Peden, D. Diaz-Sanchez // Free Radical Biology and Medicine. – 2012. – Vol. 53, Issue 4. – P. 721–729. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.05.037

14. Koloskova, O. C. Indices of exhaled breath condensate in children with bronchial asthma under the deletion polymorphism of genes GSTT1 and GSTM1 [Text] / O. C. Koloskova, T. M. Bilous, L. V. Mikaluk // European Journal of Medicine. – 2014. – Vol. 5, Issue 3. – P. 149–154. doi: 10.13187/ejm.2014.5.149

15. Kiyohara, C. Genetic Susceptibility to Atopic Dermatitis [Text] / C. Kiyohara, K. Tanaka, Y. Miyake // Allergology International. – 2008. – Vol. 57, Issue 1. – P. 39–56. doi: 10.2332/allergolint.r-07-150

16. Kabesch, M. Epigenetic mechanisms and the relationship to childhood asthma [Text] / M. Kabesch, S. Michel, J. Tost // European Respiratory Journal. – 2010. – Vol. 36, Issue 4. – P. 950–961. doi: 10.1183/09031936.00019310

17. Piacentini, S. Glutathione S-transferase polymorphisms, asthma susceptibility and confounding variables: a meta-analysis [Text] / S. Piacentini, R. Polimanti, I. Simonelli, S. Donno, P. Pasqualetti, D. Manfellotto, M. Fuciarelli // Molecular Biology Reports. – 2013. – Vol. 40, Issue 4. – P. 3299–3313. doi: 10.1007/s11033-012-2405-2

18. Ferrara, N. The biology of VEGF and its receptors [Text] / N. Ferrara, H.-P. Gerber, J. LeCouter // Nature Medicine. – 2003. – Vol. 9, Issue 6. – P. 669–679. doi: 10.1038/nm0603-669

19. Silverman, M. Standardization of exercise tests in asthmatic children [Text] / M. Silverman, S. D. Anderson // Ar-

chives of Disease in Childhood. – 1972. – Vol. 47, Issue 256. – P. 882–889. doi: 10.1136/adc.47.256.882

20. Boulet, L.-P. How should we quantify asthma control? [Text] / L.-P. Boulet, V. Boulet, J. Milot // Chest. – 2002. – Vol. 122, Issue 6. – P. 2217–2223. doi: 10.1378/chest.122.6.2217

21. Выделение ДНК из крови [Электронный ресурс]. – Практическая молекулярная биология. – Режим доступа: <http://molbiol.edu.ru>

22. Sherratt, P. J. Glutathione-S-transferases [Text] / P. J. Sherratt, J. D. Hayes. – Enzyme Systems That Metabolise Drugs and Other Xenobiotics, 2002. – P. 319–353. doi: 10.1002/0470846305.ch9

23. Green, M. R. Molecular cloning: A laboratory Manual (Fourth Edition) [Text] / M. R. Green, J. Sambrook. – Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012. – 2028 p.

#### References

1. Jeffery, P. K. (2004). Remodeling and Inflammation of Bronchi in Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Proceedings of the American Thoracic Society, 1 (3), 176–183. doi: 10.1513/pats.200402-009ms

2. Brannan, J. D. (2010). Bronchial Hyperresponsiveness in the Assessment of Asthma Control. Chest, 138 (2), 11S–17S. doi: 10.1378/chest.10-0231

3. Busse, W. W. (2010). The Relationship of Airway Hyperresponsiveness and Airway Inflammation. Chest, 138 (2), 4S–10S. doi: 10.1378/chest.10-0100

4. Broide, D. H. (2008). Immunologic and inflammatory mechanisms that drive asthma progression to remodeling. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 121 (3), 560–570. doi: 10.1016/j.jaci.2008.01.031

5. Pavord, I. D., Gibson, P. G. (2012). Inflammometry: the current state of play. Thorax, 67 (3), 191–192. doi: 10.1136/thoraxjnl-2012-201712

6. Umanets, T. R. (2010). Otsinka zapalnih zmin dihalnih shlyahiv u ditey iz bronhialnoy astmoyu. Pediatriya, akusherstvo ta ginekologiya, 5, 32–35.

7. Brightling, C. E. (2006). Sputum Induction in Asthma. Chest, 129 (3), 503–504. doi: 10.1378/chest.129.3.503

8. Joubert, B. R., Reif, D. M., Edwards, S. W., Leiner, K. A., Hudgens, E. E., Egeghy, P. et al (2011). Evaluation of genetic susceptibility to childhood allergy and asthma in an African American urban population. BMC Medical Genetics, 12 (1), 25. doi: 10.1186/1471-2350-12-25

9. Barnes, P. J., Dweik, R. A., Gelb, A. F., Gibson, P. G., George, S. C., Grasemann, H. et al (2010). Exhaled Nitric Oxide in Pulmonary Diseases. Chest, 138 (3), 682–692. doi: 10.1378/chest.09-2090

10. Thakkinstian, A. (2005). Systematic Review and Meta-Analysis of the Association between 2-Adrenoceptor Poly-

morphisms and Asthma: A HuGE Review. American Journal of Epidemiology, 162 (3), 201–211. doi: 10.1093/aje/kwi184

11. Rebordosa, C., Kogevinas, M., Guerra, S., Castro-Giner, F., Jarvis, D., Cazzoletti, L. et al (2011). ADRB2 Gly16Arg polymorphism, asthma control and lung function decline. European Respiratory Journal, 38 (5), 1029–1035. doi: 10.1183/09031936.00146310

12. Schroer, K. T., Gibson, A. M., Sivaprasad, U., Bass, S. A., Ericksen, M. B., Wills-Karp, M. et al (2011). Downregulation of glutathione S-transferase pi in asthma contributes to enhanced oxidative stress. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 128 (3), 539–548. doi: 10.1016/j.jaci.2011.04.018

13. Wu, W., Peden, D., Diaz-Sanchez, D. (2012). Role of GSTM1 in resistance to lung inflammation. Free Radical Biology and Medicine, 53 (4), 721–729. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.05.037

14. Koloskova, O. C., Bilous, T. M., Mikaluk, L. V. (2014). Indices of exhaled breath condensate in children with bronchial asthma under the deletion polymorphism of genes GSTT1 and GSTM1. European Journal of Medicine, 5 (3), 149–154. doi: 10.13187/ejm.2014.5.149

15. Kiyohara, C., Tanaka, K., Miyake, Y. (2008). Genetic Susceptibility to Atopic Dermatitis. Allergology International, 57 (1), 39–56. doi: 10.2332/allergolint.r-07-150

16. Kabesch, M., Michel, S., Tost, J. (2010). Epigenetic mechanisms and the relationship to childhood asthma. European Respiratory Journal, 36 (4), 950–961. doi: 10.1183/09031936.00019310

17. Piacentini, S., Polimanti, R., Simonelli, I., Donno, S., Pasqualetti, P., Manfredotto, D., Fuciarelli, M. (2013). Glutathione S-transferase polymorphisms, asthma susceptibility and confounding variables: a meta-analysis. Molecular Biology Reports, 40 (4), 3299–3313. doi: 10.1007/s11033-012-2405-2

18. Ferrara, N., Gerber, H.-P., LeCouter, J. (2003). The biology of VEGF and its receptors. Nature Medicine, 9 (6), 669–676. doi: 10.1038/nm0603-669

19. Silverman, M., Anderson, S. D. (1972). Standardization of Exercise Tests in Asthmatic Children. Archives of Disease in Childhood, 47 (256), 882–889. doi: 10.1136/adc.47.256.882

20. Boulet, L.-P., Boulet, V., Milot, J. (2002). How Should We Quantify Asthma Control? Chest, 122 (6), 2217–2223. doi: 10.1378/chest.122.6.2217

21. Vyidelenie DNK iz krovi. Prakticheskaya molekulyarnaya biologiya. Available at: <http://molbiol.edu.ru>

22. Sherratt, P. J., Hayes, J. D. (2002). Glutathione S-transferases. Enzyme Systems That Metabolise Drugs and Other Xenobiotics, 319–352. doi: 10.1002/0470846305.ch9

23. Green, M. R., Sambrook, J. (2012). Molecular cloning: A laboratory Manual (Fourth Edition). Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2028.

*Дата надходження рукопису 10.12.2015*

**Колоскова Олена Костянтинівна**, доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри, кафедра педіатрії та дитячих інфекційних хвороб, Буковинський державний медичний університет, пл. Театральна, 2, м. Чернівці, Україна, 58002  
E-mail: koloskov-elena@yandex.ua

**Білик Галина Анатоліївна**, аспірант, кафедра педіатрії та дитячих інфекційних хвороб, Буковинський державний медичний університет, пл. Театральна, 2, м. Чернівці, Україна, 58002  
E-mail: panovasacura@gmail.com