

Dudnyk V. M., Kutsak O. V. Features prevalence of polymorphism Ile50Val gene IL4RA in patients with bronchial asthma and healthy children school age Vinnichina. Journal of Education, Health and Sport. 2017;7(5):934-943. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1206402>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/5382>
<https://pbn.nauka.gov.pl/sedno-webapp/works/860625>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 1223 (26.01.2017).
1223 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7
© The Author (s) 2017;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland
Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.
Received: 05.05.2017. Revised: 23.05.2017. Accepted: 31.05.2017.

UDK: 616.248-053.2:575.113(477.44)

FEATURES PREVALENCE OF POLYMORPHISM Ile50Val GENE IL4RA IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA AND HEALTHY CHILDREN SCHOOL AGE VINNICHINA

V. M. Dudnyk, MD, Professor, O. V. Kutsak, postgraduate

Vinnitsa National Pirogov Memorial Medical University, Vinnitsa, Ukraine

Department of Pediatrics №2

Abstract

Today, the mechanism of development of bronchial asthma (BA) is interpreted from the molecular-genetic point of view, taking into account the polymorphism of genes that affect the formation and clinical manifestations of it. Studying the genetic aspects of bronchial asthma in children is aimed at studying various associations of polymorphisms of genes of interleukin ligands and their receptors.

The aim - to evaluate the prevalence of genotypes and alleles for the gene polymorphism Ile50Val IL4RA in patients with asthma and healthy school children Vinnitsa region.

Materials and methods. We examined 75 children of school age, patients with atopic bronchial asthma and 25 practically healthy children aged 6 to 18 years living in Vinnitsa region. The genotyping of IL4RA, SNP polymorphism Ile50Val was carried out using a polymerase chain reaction (PCR). The odds ratio was calculated to determine the risk of developing asthma in carriers of various alleles and genotypes of the IL4RA gene.

Results and discussion. Homozygous genotype A / A Vinnichiny among school children suffering from asthma occurs in 4.34 times ($p < 0,05$) more often and genotype G / G - 4.2 times ($p < 0,05$) less compared to practically healthy children with prevalence 1.6 times allele a carriers

($p < 0,05$), respectively, carrier genotype a / a and a allele is associated with the development of asthma and is a marker of increased risk of disease, and the presence of the genotype G / G and allele G - "unfavorable" to the development of bronchial asthma. The distribution of the frequency of genotypes for the Ile50Val polymorphism of the IL4RA gene is independent of sex and indicates a collision between heterozygous genotype A / G patients among boys in 1.84 times, and among girls - by 1.3 times compared with native homozygous genotype A / A ($p < 0,001$) and, respectively, 8.74 and 9 times - compared with a mutant genotype G / G ($p < 0.001$).

Conclusions. Established that the carrier genotype A / A and A allele associated with the development of asthma and the presence of the genotype G / G and G alleles can be considered a factor that affects the "unfavorable" development of asthma in children of school age.

Key words: bronchial asthma, children, polymorphism of gene IL4RA.

ОСОБЛИВОСТІ ПОШИРЕНOSTІ ПОЛІМОРФІЗМУ Ile50Val ГЕНА IL4RA У ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ ТА ПРАКТИЧНО ЗДОРОВИХ ДІТЕЙ ШКІЛЬНОГО ВІКУ ВІННИЧЧИНИ

В. М. Дудник, д.м.н., професор, завідувача кафедри, О. В. Куцак аспірант

**ВНМУ імені М. І. Пирогова, Вінниця, Україна
Кафедра педіатрії №2**

Анотація

Беручи до уваги численні дослідження, направлені на вивчення патогенетичних механізмів виникнення бронхіальної астми (БА), розширення діагностичного пошуку за допомогою додаткових лабораторно-інструментальних методів обстеження, розробки профілактичних заходів, продовжує спостерігатись зростання захворюваності та труднощі в досягненні медикаментозного контролю над перебігом БА [1]. На сьогодні механізм розвитку даної патології трактується з молекулярно-генетичної точки зору з урахуванням поліморфізму генів, що впливають на формування та клінічні її прояви [2].

Бронхіальна астма являється комплексним захворюванням в патогенезі розвитку якого поєднуються багатокомпонентні генетичні аспекти та вплив факторів навколишнього середовища [6]. У зв'язку з тим, що внесок різних генів у формування

генетичної схильності до патології суттєво різняться в різних популяціях, важливим було оцінити поширеність генотипів та алелей за поліморфізмом Ile50Val гена IL4RA у хворих на бронхіальну астму та практично здорових дітей шкільного віку Вінниччини, оскільки саме він являється геном рецепторів цитокінів та медіаторів запалення [3, 4]. У віковому аспекті БА найбільше реєструється в шкільному віці. [7].

Ключові слова: бронхіальна астма, діти, поліморфізм гена IL4RA.

Мета дослідження - оцінити особливості поширеності генотипів та алелей за поліморфізмом Ile50Val гена IL4RA, у хворих на бронхіальну астму та практично здорових дітей шкільного віку Вінниччини.

Матеріали та методи дослідження. Нами було обстежено 75 дітей шкільного віку, хворих на atopічну бронхіальну астму, які знаходилися на стаціонарному лікуванні в пуль-монологічному відділенні Вінницької обласної дитячої клінічної лікарні (Україна). Групу контролю становили 25 практично здорових дітей, віком від 6 до 18 років, які проживають на Вінниччині.

Діагноз БА встановлювали з урахуванням рекомендацій керівництва з лікування і профілактики бронхіальної астми «The Global Initiative for Asthma» (GINA 2016,2017) та Наказу МОЗ України № 868 від 08.10.2013р. Матеріали дослідження не суперечать основним біотичним нормам Гельсінської декларації прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації, Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1977р.), відповідним положенням ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародному кодексу медичної етики (1983 р.) та законам України і можуть бути використані в науковій роботі.

Генотипування IL4RA проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Загальну геномну ДНК виділяли з крові пацієнтів з використанням комплексу реагентів для виділення ДНК з клінічного матеріалу «ДНК-сорб В». Ампліфікацію відповідного фрагменту ДНК здійснювали з використанням специфічної пари праймерів RV1607 (Pr1) та RV1608 (Pr2), які розраховували з використанням комп'ютерної програми "Primer". Для розрахунків було використано послідовність ДНК гена IL4R, яка наявна у базі даних Genbank [5].

Математичну обробку отриманих результатів виконували на персональному комп'ютері з використанням стандартного статистичного пакету прикладних програм «STATISTICA 6,0». Розподіл частот генотипів у вибірці, що досліджується, перевіряли, на відповідність рівноваги 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 та їх обговорення. Наведені результати генотипування за поліморфізмом Ile50Val гена IL4RA, серед дітей шкільного віку мешканців Вінниччини (табл.1) свідчать про те, що в групі практично здорових дітей гетерозиготний генотип A/G зустрічався найчастіше та переважав кількість дітей, носіїв генотипу A/A в 8 разів, а генотипу G/G – в 2,29 рази ($p<0.05$).

Таблиця 1

Розподіл дітей, хворих на бронхіальну астму та практично здорових дітей за поліморфізмом Ile50Val гена IL4RA

Генотип	Носії генотипу A/A		Носії генотипу A/G		Носії генотипу G/G	
	n	%	n	%	n	%
Хворі на БА, n=75	26	34,68**	44	58,68*	5	6,67**
Практично здорові діти, n=25	2	8,00	16	64,00	7	28,00

Примітка: * - $p<0.05$ – різниця достовірна між групами носіїв генотипів;

** – $p<0.05$ – різниця достовірна між групами носіїв генотипів хворих та практично здорових дітей.

При вивченні особливостей розподілу хворих на бронхіальну астму та практично здорових дітей (табл. 2) за алелями гена IL4RA, поліморфізм Ile50Val, встановлено, що серед пацієнтів, хворих на БА, також статистично значимо частіше зустрічалися носії генотипу A/G, які в 1,69 рази перевищували пацієнтів з генотипом A/A та в 8,8 рази – з генотипом G/G ($p<0.05$).

Таблиця 2

Розподіл дітей, хворих на бронхіальну астму та практично здорових дітей за алелями поліморфізму Ile50Val гена IL4RA

Частота алеля	Носії алелі А		Носії алелі G	
	n	%	n	%
Практично здорові діти, n=25	10	40,00**	15	60,00**
Хворі на БА, n=75	48	64,00*	16	36,00

Примітка: * - $p<0,05$ – різниця достовірна між групами носіїв алелей;

** – $p<0,05$ – різниця достовірна між групами носіїв алелей практично здорових дітей та хворих на БА.

Отримані дані розподілу пацієнтів за алелями об'єктивно засвідчили, що серед хворих на БА, статистично значимо в 1,78 рази зустрічалися носії алелі А порівняно з дітьми, носіями алелі G ($p < 0,01$). Отже, у групі дітей, хворих на БА, також найбільша кількість носіїв генотипу A/G з переважанням пацієнтів, носіїв алелі А.

Порівняльний аналіз між пацієнтами та практично здоровими дітьми встановив, що гомозиготний генотип A/A серед хворих на БА зустрічається в 4,34 рази ($p < 0,05$) частіше, а генотип G/G – в 4,2 рази ($p < 0,05$) рідше, порівняно з практично здоровими дітьми, при цьому у групі хворих дітей на БА, статистично значимо в 1,6 рази частіше, ніж у практично здорових дітей, виявлені носії алелі А ($p < 0,05$).

На наступному етапі роботи було проведено дослідження з метою оцінки ризику розвитку БА серед дітей Вінниччини у разі носійства поліморфізму Ile50Val гена IL4RA, (табл. 3; табл. 4).

Таблиця 3

Модель наслідування бронхіальної астми у дітей (тест хі-квадрат, $df = 1$) за поліморфізмом Ile50Val гена IL4RA

Алелі	Хворі на БА, n = 75	Практично здорові діти, n = 25	χ^2	p	OR	
					знач.	95% CI
Алель А	0.640	0.400	8.87	0.003	2.67	1.38 – 5.14
Алель G	0.360	0.600			0.38	0.19 – 0.72

Таблиця 4

Модель наслідування бронхіальної астми у дітей (тест хі-квадрат, $df = 2$) за поліморфізмом Ile50Val гена IL4RA

Генотипи	Хворі на БА, n = 75	Практично здорові діти, n = 25	χ^2	p	OR	
					знач.	95% CI
Генотип A/A	0.347	0.080	11.96	0.003	6.10	1.33 – 27.93
Генотип A/G	0.587	0.640			0.80	0.31 – 2.04
Генотип G/G	0.067	0.280			0.18	0.05 – 0.65

Вивчення особливостей розподілу алелів та генотипів у дітей Вінниччини, свідчать про те, що діти у разі носійства алелю А гена IL4RA, поліморфізм Ile50Val, мають підвищений ризик патології [OR=2,67, 95% CI [1,38 – 5,14)]. У разі носійства алелю G - знижений ризик розвитку захворювання [OR=0,38, 95% CI [0,19 – 0,72]; модель достовірна при ($\chi^2=8,87$ p=0,003). У разі носійства гомозиготного генотипу A/A гена IL4RA, поліморфізм Ile50Val, у хворих на БА, і практично здорових дітей частота становила 0,347 та відповідно 0,080. При цьому визначався підвищений ризик патології ($\chi^2=11,96$; p<0003; OR=6,10; 95% CI [1.33 – 27.93], а у разі носійства гетерозиготного генотипу AG отримані результати свідчать про знижений ризик виникнення БА (OR=0,80, 95% CI 0,31–2,04). Слід зазначити, що у дітей Вінниччини у разі носійства генотипу GG може бути також знижений ризик розвитку даного захворювання (OR=0,18, 95% CI 0,05 – 0,65; модель достовірна при $\chi^2=11,96\%$; p=0,003).

Сумарна частота генотипів A/A + AG у дітей, хворих на БА (табл. 5), значимо в 1,3 рази вище ніж у практично здорових дітей (OR=5,44, 95% CI 1,55–19,18; модель достовірна при $\chi^2=8,08$, p=0,004).

Таблиця 5

**Домінантна модель наслідування бронхіальної астми у дітей
(тест хі-квадрат, df = 1)**

Генотипи	Хворі на БА, n = 75	Практично здорові діти, n=25	χ^2	p	OR	
					знач.	95% CI
Генотип A/A+ AG	0.933	0.720	8.08	0.004	5.44	1.55 – 19.18
Генотип G/G	0.067	0.280			0.18	0.05 – 0.65

Аналіз розподілу досліджуваних груп залежно від статі за поліморфізмом Ile50Val гена IL4RA показав, що хлопчиків, носіїв алелі G, у групі практично здорових дітей було на 26,34% (в 1,71 рази) більше порівняно з носіями алелі А (табл. 6). В той же час кількість дівчаток, носіїв алелі А та алелі G, була однаковою (алель А – 50%; алель G – 50%) з переважанням дівчаток, носіїв алелів А на 13,16% порівняно з хлопчиками (p<0,05).

Таблиця 6

**Розподіл практично здорових дітей за поліморфізмом Pe50Val гена IL4RA,
залежно від статі.**

Стать	Алелі				Генотип					
	A		G		A/A		A/G		G/G	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Хлопчики, n=19	7	36,84	12	63,16*	2	10,52	10	52,64*	7	36,84
Дівчатка, n=6	3	50,00	3	50,00	-	-	6	100	-	-

Примітка: * - $p < 0,05$ – різниця достовірна між групами носіїв генотипу.

** - $p < 0,005$ – різниця достовірна між групами носіїв алелей.

Оцінка результатів дослідження розподілу практично здорових дітей за генотипами залежно від статі за мутацією Pe50Val гена IL4RA показала, що носіїв гетерозиготного генотипу A/G як хлопчиків, так і дівчаток було найбільше, причому хлопчиків в 5,0 разів ($p < 0,05$) більше порівняно з носіями генотипу A/A та в 1,43 рази - порівняно з носіями гомозиготного генотипу G/G.

Розподіл дітей, хворих на бронхіальну астму, за алелями та генотипами залежно від статі свідчить проте, що як хлопчиків так і дівчаток, носіїв гена IL4RA за поліморфізмом Pe50Val, було майже однаково (табл. 7).

Таблиця 7

**Розподіл частоти алелей та генотипів гена IL4RA серед дітей, хворих на
бронхіальну астму, залежно від статі**

Стать	Алелі				Генотип					
	A		G		AA		AG		GG	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Хлопчики, n=58	37	63,79*	21	36,21	19	32,76	35	60,34**	4	6,9
Дівчатка, n=17	12	70,59*	5	29,41	7	41,18	9	52,94**	1	5,88

Примітка: * - $p < 0,05$ – різниця достовірна між групами носіїв алелей.

** - $p < 0,05$ – різниця достовірна між групами носіїв генотипів.

Натомість, при порівнянні між собою носіїв алелей A та G залежно від статі було встановлено, що хлопчиків з алеллю A, хворих на бронхіальну астму, зустрічалося

в 1,76 разів більше порівняно з дітьми, носіями алелею G ($p < 0.05$). Дівчатка, носії алелі А, також значно переважали осіб з алеллю G (в 2,4 рази).

Оцінка розподілу носіїв за генотипами залежно від статі за мутацією Ile50Val гена IL4RA свідчить про збільшення серед дітей Вінниччини гетерозиготного генотипу A/G серед хворих хлопчиків в 1,84 рази порівняно з носіями генотипу A/A та в 8,74 рази - порівняно з генотипом G/G. Дівчаток з гетерозиготним генотипом A/G було 52,94% і майже в 1,3 рази більше порівняно з пацієнтами з гомозиготним генотипом A/A та в 9,00 рази – з генотипом G/G ($p < 0,001$).

Отже, на підставі отриманих відомостей щодо розподілу хворих на бронхіальну астму та практично здорових дітей Вінниччини за алелями та генотипами за поліморфізмом Ile50Val гена IL4RA, було встановлено, що носійство генотипу A/A та алелі А статистично значимо асоціюється з розвитком БА і являється маркером підвищеного ризику виникнення захворювання, а наявність генотипу G/G та алелі G дає підстави стверджувати, що наявність цього генотипу можна вважати одним із генетичних факторів, які впливають на «несприятливість» розвитку бронхіальної астми у дітей.

Висновки

1. Гомозиготний генотип A/A серед школярів Вінниччини, хворих на бронхіальну астму, зустрічається в 4,34 рази ($p < 0,05$) частіше, а генотип G/G – в 4,2 рази ($p < 0,05$) рідше, порівняно з практично здоровими дітьми з переважанням в 1,6 рази носіїв алелі А ($p < 0,05$), відповідно, носійство генотипу A/A та алелі А асоціюється з розвитком бронхіальної астми і являється маркером підвищеного ризику виникнення захворювання, а наявність генотипу G/G та алелі G - «несприятливість» до розвитку бронхіальної астми.

2. Розподіл частоти генотипів за поліморфізмом Ile50Val гена IL4RA не залежить від статі і свідчить про збільшення гетерозиготного генотипу A/G серед хворих хлопчиків в 1,84 рази, а серед дівчаток – в 1,3 рази порівняно з носіями гомозиготного генотипу A/A ($p < 0,001$) та, відповідно, в 8,74 і 9 разів - порівняно з мутантним генотипом G/G ($p < 0,001$).

Список літератури:

1. Недельська С.М., Таран Н.М. Клініко-імунологічні особливості алерген специфічної імунотерапії бронхіальної астми в дітей. Здоров'є ребенка. 2014;. (5); 56-59.

2. Колоскова О.К., Безруков Л.О., Білоус Т.М., Григола О.Г., Ортеменко Є.П. Значення поліморфізму генів глутатіон – s – трансфераз (GSTM1, GSTT1) при різних запальних фенотипах бронхіальної астми в дітей. *Здоровье ребенка*. 2014;(6); 45-47.
3. Охотнікова О.М., Яковлева Н.Ю. Генетичні аспекти алергічних захворювань. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія*. 2017; 2 (99); 61-66.
4. Іванова Л.А. Поліморфізм генів глутатіон – s – трансферази T1, M1 та неспецифічна гіперсприйнятливність бронхів при еозинофільній бронхіальній астмі у дітей. *Астма та Алергія*, 2015; (2); 42-46.
5. Mitsuyasu H., Izuhara K., Mao X.-Q., Gao P.-S., Arinobu Y., Enomoto T., Kawai M., Sasaki S., Dake Y., Hamasaki N., Shirakawa T., Hopkin J.M. Ile50Val variant of IL4R α upregulates IgE synthesis and associates with atopic asthma. - *Nature Genetics* 2000;(19); 119 – 120.
6. Майданик В.Г., Сміян О.І. Бронхіальна астма у дітей. Навчальний посібник. 2017; 51-55.
7. Global strategy for the diagnosis and management of asthma in children 5 years and younger [Electronic resource]. Access mode: http://www.ginasthma.org/pdf/GINA_Report_2017pdf. – Title from screen.

References:

1. Nedelskaya SM, Taran NM. Clinico-immunological features of the allergen specific immunotherapy of bronchial asthma in children.[Clinical Pediatrics]. *Child health*, 2014;5: 56-59.(in Ukrainian)
2. Koloskova OK, Bezrukov LO, Belous TM, Grigola OG, Ortemenko EP. Value of polymorphism of glutathione - s - transferase genes (GSTM1, GSTT1) with different inflammatory phenotypes of bronchial asthma in children.[Clinical Pediatrics]. *Child health*, 2014; 66: 45-47.(in Ukrainian)
3. Okhotnikova OM, Yakovleva NYu. Genetic aspects of allergic diseases. [Clinical Pediatrics]. *Clinical Immunology. Allergology. Infectology*, 2017;2(99):61-66. doi: 10.1016/j.jaci.2017.12.668.(in Ukrainian).
4. Ivanova LA. Polymorphism of glutathione - s - transferase genes T1, M1 and nonspecific hypersensitivity of bronchi with eosinophilic bronchial asthma in children.[Clinical Pediatrics]. *Asthma and Allergy*, 2015; 2: 42-46. (in Ukrainian)

5. Mitsuyasu H., Izuhara K., Mao X.-Q., Gao P.-S., Arinob Y., Enomoto T., Kawai M., Sasaki S., Dake Y., Hamasaki N., Shirakawa T. ., Hopkin JM The Ile50Val variant of IL4R α upregulates IgE synthesis and associates with atopic asthma. [Electronic resource]. *Nature Genetics* 2000; 19: 119-120. doi: 10.1038/472. (in Russian)

6. Maidanik VG, Smiyan.OI. Bronchial asthma in children. [Electronic resource]. *Tutorial*. Sumy State University 2017;243:51-55. (in Ukrainian)

7. Global strategy for the diagnosis and management of asthma in children 5 years and younger [Electronic resource]. Access mode: http://www.ginasthma.org/pdf/GINA_Report_2017.pdf. - Title from screen.