

**О. О. Речкіна, В. О. Стриж, І. Ф. Ільїнська, Н. Г. Горovenко, З. І. Россоха,
С. П. Кир'яченко, Г. О. Варицька, Н. В. Промська, І. В. Копосова**
**ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ
ДІТЕЙ З ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНІВ СУДИННОГО ТОНУСУ**

ДУ «Національний інститут фізіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України»
Національна медична академія післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика
ДЗ «Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України»

**ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА
У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ ДЕТЕЙ С
ПОЛИМОРФИЗМОМ ГЕНОВ СОСУДИСТОГО ТОНУСА**

**Е. А. Речкина, В. А. Стриж, И. Ф. Ильинская, Н. Г. Горovenко,
З. И. Россоха, С. П. Кирьяченко, А. А. Варицкая, Н. В. Промская,
И. В. Копосова**

Резюме

Целью исследования было изучение изменений показателей гуморального иммунитета у детей с полиморфизмом ACE и AT2R генов.

Материалы и методы. Ретроспективно были проанализированы 112 иммунограмм детей, больных БА, которые проходили генетическое и иммунологическое обследование. Определяли содержание В-лимфоцитов и уровни Ig A, Ig M, Ig G, Ig E, средне- и низкомолекулярных циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови. Изменения показателей гуморального иммунитета оценивали по их частоте и выраженности.

Результаты. Было установлено, что при инсерционно-делеционном (ID) генотипе ACE ID уменьшается выраженность атопии (по уровням Ig E) по сравнению с группой пациентов с инсерционным (II) ACE ID генотипом. При делеционном генотипе ACE ID (DD) отмечается самое высокое из всех трех групп увеличение содержания В-клеток и уровней Ig E. Это говорит об истощении адаптационно-компенсаторных механизмов, в частности синтеза Ig G, который способен конкурентно взаимодействовать с Fc-фрагментом IgE-рецепторов на клетках-эффекторах аллергического воспаления. В 2 раза более высокий подъем уровней средномолекулярных ЦИК у больных БА детей с ACE ID и DD генотипами свидетельствует о большей напряженности аутоиммунных механизмов аллергического воспаления. Изменения гуморального иммунитета у детей с AT2R1 AC и CC генотипами характеризуется частым увеличением количества В-клеток и усилением синтеза иммуноглобулинов, в т.ч. Ig M и Ig E.

Выводы. Наличие гомозиготного инсерционного или делеционного генотипа ACE, а также наличие С аллеля в гене рецептора ангиотензина II AT2R1 обуславливает меньшую эффективность адаптационных иммунологических механизмов, что усиливает выраженность иммунопатологических реакций, в т.ч. атопии и аутоиммунного компонента аллергического воспаления.

Ключевые слова: бронхиальная астма, дети, гуморальный иммунитет, полиморфизм генов сосудистого тонуса.

Укр. пульмонол. журнал. 2018, № 4, С. 42–47.

Олена Олександрівна Речкіна

ДУ «Національний інститут фізіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України»,

Завідувачка відділенням дитячої пульмонології та алергології, доктор мед. наук

03038, Kyiv, 10, M. Amosova str.

Тел./факс: +380 44 273-31-26, rechkina@ifp.kiev.ua

**HUMORAL IMMUNITY CHANGES IN CHILDREN
WITH BRONCHIAL ASTHMA AND VASCULAR TONE
GENES POLYMORPHISM**

**O. O. Rechkina, V. O. Stryzh, I. F. Ilyinska, N. G. Gorovenko,
Z. I. Rossokha, S. P. Kiriachenko, H. O. Varytska,
I. V. Koposova**

Abstract

The aim of the study was to evaluate the changes in humoral immunity indices of children with ACE and AT2R gene polymorphisms.

Materials and methods. 112 immunograms of children with asthma who underwent genetic and immunological examination were retrospectively analyzed. The B-lymphocytes count and serum IgA, IgM, IgG, IgE, medium and low molecular weight circulating immune complexes were determined. Changes of humoral immunity indexes were evaluated by their frequency and severity.

Results. It was found that the insertion-deletion (ID) genotype of the ACE ID in children with asthma was associated with a reduction of the severity of atopy (according to IgE levels), compared with the group of patients with the insertion (II) ACE ID genotype. In the group of the deletion genotype ACE ID (DD) the highest of all three groups escalation of B cells content and IgE levels was found. This suggests the depletion of the adaptive-compensatory mechanisms, in particular the IgG synthesis, which can compete with Fc-fragments of Ig E receptors on the cells-effector of allergic inflammation. Twice higher levels of median-molecular levels in children with asthma with ACE ID ID and ACE ID DD genotypes indicated an increased activity in their autoimmune mechanisms of allergic inflammation. It has also been shown that changes in humoral immunity in children with AT2R1 AC and AT2R1 CC genotypes were characterized by a more frequent increase in B cell content and enhanced immunoglobulin synthesis, including Ig M and Ig E.

Conclusions. The presence of a homozygous insertive or deletion ACE genotype, as well as the presence of C allele in the gene of the receptor for angiotensin II AT2R1, results in less efficacy of adaptive immunological mechanisms, which leads to an increase in the severity of immunopathological reactions, including atopy and autoimmune component of allergic inflammation.

Key words: children with asthma, humoral immunity, vascular tone genes polymorphism.

Ukr. Pulmonol. J. 2018; 4: 42–47.

Elena A. Rechkina

National Institute of phthisiology and pulmonology

named after F. G. Yanovskii NAMS of Ukraine

Chief of Pediatric Pulmonology and Allergology dpt.

Doctor of medicine

10, M. Amosova str., 03038, Kyiv, Ukraine

Tel./fax: +38044 273-31-26, rechkina@ifp.kiev.ua

Бронхіальна астма (БА) є класичним прикладом мультифакторного захворювання, яке розвивається при взаємодії багатьох чинників зовнішнього середовища та спадкової схильності. Ген ACE кодує ангіотензинперетворюючий фермент — білок (карбоксипептидазу), що циркулює в позаклітинному просторі і відіграє важливу

роль в регуляції кров'яного тиску і балансу електролітів, каталізує розщеплення неактивного ангіотензину I до активного ангіотензину II. Ген ACE альтернативно сплайсується та продукує 2 ізозими: ACE1 (ендотеліальна або соматична форма) та ACE2 (тестикулярна форма), котрі проявляють однакову ферментативну активність. ACE1 експресується в багатьох тканинах (близько 72), включаючи васкулярні ендотеліальні клітини, ренальні епітеліальні клітини, тестикулярні клітини Лейдига, тонкій кишці, дванадцятипалій кишці, сім'яниках, простаті, леге-

©. Речкіна О. О., Стриж В. О., Ільїнська І. Ф., Горovenко Н. Г., Россоха З. І., Кир'яченко С. П., Варицька Г. О., Промська Н. В., Копосова І. В., 2018

www.search.crossref.org

DOI: 10.31215/2306-4927-2018-102-4-42-47

нях, легеневих кровоносних судинах, тоді як тестикулярний ізозим ACE2 експресується тільки в спермі. ACE будучи представлений як мембран-пов'язаний ензим на поверхні васкулярних ендотеліальних клітин, також циркулює в плазмі крові людини. Плазмовий ензим може бути синтезований васкулярним ендотелієм.

Інсерційно-делеційний поліморфізм (I/D) гену ACE виявляється у 16-му інтроні та полягає у вставці (інсерції I) або втраті (делеції - D) Alu-повтору, розміром у 289 пар нуклеотидів. Делеція Alu-повтору призводить до підвищення експресії гену ACE і збільшення концентрації ACE в крові, лімфі, тканинах і є чинником, який підвищує ризик розвитку серцево-судинних захворювань (інфаркту міокарда, гіпертрофії лівого шлуночка, ішемічної хвороби серця), хвороби нирок, атеросклерозу, хвороби Альцгеймера [1, 10]. При БА також було виявлено підвищення рівню ангіотензину, що обумовлювалося більш високою частотою D-алелю у хворих, ніж у загальній популяції. Встановлено взаємозв'язок генотипу DD з ризиком виникнення цього захворювання та його прогресування [4, 8, 11–13].

Було продемонстровано, що у хворих на БА збільшення концентрації ACE в крові індукує продукцію і секрецію адгезивних молекул, стимулює утворення вільних радикалів, пригнічує активність синтезу оксиду азоту, що негативно впливає на функції ендотелію. Було виявлено достовірну залежність тяжкості БА та варіанту поліморфізму гену ACE, що підтверджує його роль у патогенезі ендотеліальної дисфункції та порушенні респіраторного кровообігу [4, 8, 9].

Показано, що при генотипі II спостерігається нормальний рівень ACE в крові; при ID — підвищений рівень; при DD — значно підвищений рівень ACE у крові [1]. Основні ефекти ангіотензину II реалізуються його взаємодією з рецепторами, зокрема з рецепторами I типу (AT2R1 - angiotensin II type I receptor): звуження артерій, підвищення периферичного судинного опору і артеріального тиску, підвищення вироблення альдостерону. При активації цих рецепторів посилюються експресія факторів росту і проліферація гладкої мускулатури (механізми гіпертрофії серця), реалізуються механізми фіброзу міокарду, апоптозу кардіоміоцитів й епітеліальних клітин та оксидативного стресу. Існує точка зору, що рецептор ангіотензину II (Ang II) 1 типу (AT2R1) може бути пов'язаний з патогенезом БА. Він регулює поляризацію Т-хелперів за рахунок різних сигнальних шляхів, що модулюють алергічне запалення дихальних шляхів, а також бере участь у реконструкції дихальних шляхів та бронхоконстрикції, що може бути пов'язано з поліморфізмом гену AT2R1.

Поліморфізм гену AT2R1 проявляється заміною нуклеотиду аденіну (A) на цитозин (C) у некодуючій області гену. Частота мутантного варіанта гену у популяції сягає 14–17 %, а успадкування мутації відбувається за аутосомно-домінантним типом. Наявність алелю ризику C (поліморфізм A1166C, A > C) призводить до підвищеного рівня експресії рецепторів та їхньої чутливості до нормального рівня ангіотензину II. Це спричиняє гіперактивність ренінангіотензинової системи, викликає серцево-судинні захворювання, мікросудинні ускладнення,

посилює ендотеліальну дисфункцію. Вважається, що поліморфізм A1166C гену AGTR1 може бути генетичним маркером для патофізіології алергічного запалення дихальних шляхів, ремоделювання та бронхоконстрикції при БА [13].

У ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України» був розроблений спосіб прогнозування ступеня тяжкості БА у дітей шляхом визначення поліморфізму генів серцево-судинного тону (ACE, AT2R1) та встановлення особливостей взаємодії між ними. В процесі роботи було зроблено висновок, що при наявності комбінації генотипів 1166CC за геном DD за геном ACE прогнозується тяжкий ступінь перебігу БА [6]. З огляду на те, що це могло обумовлюватися в т.ч. й імунологічними порушеннями, метою даного дослідження було вивчення змін показників гуморального імунітету у дітей з поліморфізмом вищевказаних генів.

Матеріали та методи дослідження

Проаналізовано імунограми 112 дітей, хворих на БА, які перебували на лікуванні у дитячій клініці інституту та проходили комплексне обстеження, в тому числі імунологічне й молекулярно-генетичне. Серед обстежених було 80 хлопчиків і 32 дівчинки з середнім віком (9,0 ± 0,4) роки: у віці до 7 років була 31 дитина (27,7 %), 7–10 років — 58 (51,8%), 11–14 років — 11 (9,8 %) та старших за 14 років — 12 (10,7 %) осіб.

Генотипування зразків крові дітей виконувалось у молекулярно-генетичній лабораторії ДЗ «Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України». Визначення поліморфізму генів проводилося у декілька етапів. На першому етапі здійснювали виділення геномної ДНК із замороженої крові комерційним набором «ДНК-сорб-В» (ЦНДІ Епідеміології Міністерства охорони здоров'я РФ), на другому — аельспецифічну ПЛР в термоциклері «FlexCyler» (Analytic Jena, Німеччина) із додержанням відповідного до протоколу температурного режиму реакції та модифікованих протоколів з олігонуклеотидними праймерами. Аналіз поліморфізму A1166C гену AT2R1 та I/D гену ACE проводили комерційним набором Master MixPCR (фірми «NEOGEN», Україна), після чого здійснювали електрофорез фрагментів у 2,0 % агарозному гелі з додаванням бромистого етидію та подальшою візуалізацією в комп'ютерній системі Vitran.

Імунологічне обстеження включало визначення вмісту В-клітин — (CD3-CD19+ лімфоцитів), який здійснювали методом проточної лазерної цитометрії (проточний цитофлуориметр "FACSCalibur", Канада) з використанням анти-CD моноклональних антитіл із подвійною міткою („Beckman Coulter", США) [5], концентрацій імуноглобулінів основних класів А, М, G та Е у сироватці крові, які визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням комерційних тест-систем «ХЕМА-МЕДІКА» (Москва, Росія). Рівні циркулюючих імуних комплексів (ЦІК) оцінювали у тесті мікропреципітації в поліетиленгліколі з використанням комерційних тест-систем «ХЕМА-МЕДІКА» (Москва, Росія) і обліком результатів на аналізаторі-спектрофотометрі mQuant

(BioTek, США) [7]. Для обчислення абсолютного вмісту в периферійній крові В-клітин користувалися показниками кількості лімфоцитів, визначеними за даними лейкограми.

З огляду на різні референтні діапазони показників, які притаманні окремим віковим категоріям дітей, і невелику кількість спостережень, середні значення показників не мають інформативного значення. Тому оцінювали зміни кожного показника за їх частотою та ступенем.

Ступінь змін імунологічних показників визначали у % відхилення даного показника від нижньої межі референтних значень (зменшення, зниження, послаблення) або у % відхилення даного показника від верхньої межі референтних значень (збільшення, підвищення, посилення) за формулою:

$$\text{ПВП} = 100 \times (\text{П}_{\text{хвор.}} - \text{П}_{\text{реф.}}) / \text{П}_{\text{реф.}} (\%);$$

де ПВП — відсоток відхилення показника, $\text{П}_{\text{хвор.}}$ — показник хворого, $\text{П}_{\text{реф.}}$ — показник верхньої або нижньої межі референтного діапазону.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою ліцензійних програмних продуктів, які входять у пакет Microsoft Office Professional 2000, ліцензія Russian Academic OPEN NO LEVEL № 17016297 на персональному комп'ютері IBM Atlon у програмі Excel. Для

перевірки нормальності розподілу даних в окремих вибірках використовували функцію NORMSAMP-1, вбудовану в середовище Excel. Аналіз індивідуальних змін імунологічних показників здійснювали методом альтернативного варіювання [2].

Результати та їх обговорення

Результати вивчення частоти змін гуморального імунітету у хворих на БА дітей з поліморфізмом гену ACE представлені у табл. 1.

Як свідчать наведені дані, збільшення вмісту В-клітин відбувалося у 22,2 % хворих на БА дітей з інсерційним генотипом за геном ACE, у 32,0 % дітей з ID генотипом та у кожної другої дитини з DD генотипом ($p < 0,05$). Рівні Ig A у сироватці крові більшості дітей цих трьох груп не відрізнялися від референтних: при генотипах II, ID та DD — у 81,0 %, 75,0 % та 64,5 % обстежених відповідно. Проте тенденція до частішого виявлення підвищених рівнів Ig A у сироватці крові при делеційному поліморфізмі за геном ACE спостерігалася досить чітко. Найчастіше високі рівні Ig G були зафіксовані у групі хворих на БА дітей з інсерційним генотипом — у 61,9 % випадків, у 50,0 % дітей з генотипом ID і тільки у 38,5 % з генотипом DD ($p < 0,05$). У пацієнтів цих трьох груп відмінностей за частотою змін рівнів Ig E, середніх та дрібних ЦІК у крові виявлено не було.

Таблиця 1

Частота та спрямованість змін В-системного імунітету у хворих на бронхіальну астму дітей в залежності від поліморфізму гену ACE

Показники та напрямок їх змін	Частота змін показників (%) у групах хворих на бронхіальну астму дітей з генотипом:								
	ACE II			ACE ID			ACE DD		
	n	n ¹	% (M ± m)	n	n ¹	% (M ± m)	n	n ¹	% (M ± m)
Вміст В-клітин - CD3+19-лімфоцитів (10⁹/л)									
— зменшення		2	11,1 ± 5,2		3	12,0 ± 4,6		1	8,3 ± 5,6
— без змін	18	12	66,7 ± 7,9	25	14	56,0 ± 7,0	12	5	41,7 ± 10,1*
— збільшення		4	22,2 ± 6,9		8	32,0 ± 6,6		6	50,0 ± 10,2*
Вміст Ig A (г/л)									
— зменшення		1	4,8 ± 3,3		—	—		1	7,7 ± 5,2
— без змін	21	17	81,0 ± 6,1	32	24	75,0 ± 5,4	13	8	64,5 ± 9,4
— збільшення		3	14,3 ± 5,4		8	25,0 ± 5,4		4	30,8 ± 9,1
Вміст Ig M (г/л)									
— зменшення		1	4,8 ± 3,3		—	—		—	—
— без змін	21	10	47,6 ± 7,7	32	22	68,8 ± 5,8*	13	7	53,8 ± 9,8
— збільшення		10	47,6 ± 7,7		10	31,2 ± 5,8		6	46,2 ± 9,8
Вміст Ig G (г/л)									
— зменшення		—	—		2	6,2 ± 3,0		—	—
— без змін	21	8	38,1 ± 7,5	32	14	43,8 ± 6,2	13	8	61,5 ± 9,5*
— збільшення		13	61,9 ± 7,5		16	50,0 ± 6,3		5	38,5 ± 9,5*
Рівень Ig E (МО/л)									
— без змін	28		25,7 ± 5,8	47	15	31,9 ± 6,8	30	7	23,3 ± 7,7
— збільшення			74,3 ± 5,8		32	68,1 ± 6,8		23	76,7 ± 7,7
Рівень середньомолекулярних циркулюючих імунних комплексів (у. о.)									
— без змін	20		65,0 ± 7,7	27	14	51,9 ± 6,8	13	8	61,5 ± 9,5
— збільшення			35,0 ± 7,7		13	48,1 ± 6,8		5	38,5 ± 9,5
Рівень низькомолекулярних циркулюючих імунних комплексів (у. о.)									
— без змін	20		60,0 ± 7,5	28	14	50,0 ± 6,7	13	5	38,5 ± 9,5
— збільшення			40,0 ± 7,5		14	50,0 ± 6,7		8	61,5 ± 9,5

Примітка: n — загальна кількість дітей у групі; n¹ - кількість дітей у групі з даною ознакою; * — різницю показника в порівнянні з показником групи хворих на бронхіальну астму дітей з генотипом II статистично підтверджено ($p < 0,05$); # — різницю показника в порівнянні з показником групи хворих на бронхіальну астму дітей з генотипом ID статистично підтверджено ($p < 0,05$).

Таблиця 2

Виразність змін В-системного імунітету у хворих на бронхіальну астму дітей при поліморфізмі гену ACE

Показники та напрямки їх змін	Виразність змін показників (у %) у групах хворих на бронхіальну астму дітей з генотипом:											
	ACE II				ACE ID				ACE DD			
	n	M	Me	Межі коливань	n	M	Me	Межі коливань	n	M	Me	Межі коливань
Вміст В-клітин — D3+19-лімфоцитів (10 ⁹ /л)												
— зменшення	2	14,9	14,9	10,6-19,2	4	24,6	27,3	3,7-40,2	1	20,5	20,5	20,5
— збільшення	4	62,4	71,4	3,9-103,0	9	69,4	50,0	16,4-156,9	6	92,4**	102,2	21,2-129,5
Вміст Ig A (г/л)												
— зменшення	1	100,0	100,0	100,0	-	-	-	-	1	11,1	11,1	11,1
— збільшення	3	25,4	10,0	6,2-60,0	8	26,7	18,0	5,0-60,0	4	27,3	20,0	4,0-65,0
Вміст Ig M (г/л)												
— зменшення	1	9,1	9,1	9,1	-	-	-	-	-	-	-	-
— збільшення	10	135,0	121,8	11,1-327,8	10	100,9	64,9	9,4-340,0	6	67,3**	68,1	16,7-116,7
Вміст Ig G (г/л)												
— зменшення	-	-	-	-	2	13,2	13,2	1,3-25,0	-	-	-	-
— збільшення	13	30,8	26,7	1,0-100,0	16	31,8	23,7	7,3-69,3	5	39,0	31,1	16,1-90,0
Рівень Ig E (МО/л)												
— збільшення	26	765,2	697,8	55,6-3172,2	32	637,6*	488,5	6,7-2296,7	23	863,9**	497,7	31,7-3808,3
Рівень середньомолекулярних циркулюючих імунних комплексів (у.о.)												
— збільшення	7	68,3	55,0	10,3-150,0	13	139,4*	137,5	12,5-342,5	5	121,0*	72,5	55,0-310,0
Рівень низькомолекулярних циркулюючих імунних комплексів (у.о.)												
— збільшення	8	108,1	104,5	4,5-224,5	13	139,4	137,5	12,5-342,5	8	84,3#	60,0	2,5-264,0

Примітка: * — різницю показника в порівнянні з показником групи хворих на бронхіальну астму дітей з генотипом II статистично підтверджено ($p < 0,05$); # — різницю показника в порівнянні з показником групи хворих на бронхіальну астму дітей з генотипом ID статистично підтверджено ($p < 0,05$).

Делеційний поліморфізм гену ACE у хворих на БА дітей супроводжувався максимальним збільшенням вмісту В-клітин (у середньому на 92,4 %, Me = 102,2 % у порівнянні з M = 62,4 %, Me = 71,4 % та M = 62,4 %, M = 69,4 % при генотипах II та ID, відповідно; $p < 0,05$). Саме у цій групі спостерігалось найменш виразне збільшення

рівнів Ig M та найбільш суттєве зростання рівнів Ig E ($p < 0,05$). Звертає на себе увагу те, що у дітей з делеційним та інсерційно-делеційним генотипами за геном ACE мало місце більш суттєве підвищення рівнів середньомолекулярних ЦІК (M = 139,4 %, Me = 137,5 %, та M = 121,0 %, Me = 72,5 %), ніж у пацієнтів з генотипом II

Таблиця 3

Частота та спрямованість змін В-системного імунітету у хворих на бронхіальну астму дітей в залежності від поліморфізму гену AT2R1

Показники та напрямки їх змін	Генотипи					
	AT2R1 AA			AT2R1 AC та CC		
	n	n ¹	(M ± m) %	n	n ¹	(M ± m) %
Вміст В-клітин—CD3+19-лімфоцитів (10 ⁹ /л)						
— зменшення	24	4	16,7 ± 5,4	33	3	9,1 ± 2,1
— без змін		11	45,8 ± 7,2		20	60,6 ± 9,3
— збільшення		9	37,5 ± 7,0		10	90,3 ± 3,7*
Вміст Ig A (г/л)						
— зменшення	29	-	-	37	2	5,4 ± 2,6
— без змін		24	82,8 ± 5,0		25	67,6 ± 5,4*
— збільшення		5	17,2 ± 5,0		10	27,0 ± 5,2
Вміст Ig M (г/л)						
— зменшення	29	-	-	37	1	2,7 ± 1,9
— без змін		19	65,5 ± 6,2		20	54,1 ± 5,8
— збільшення		10	34,5 ± 6,2		16	43,2 ± 5,8
Вміст Ig G (г/л)						
— зменшення	29	2	6,9 ± 3,3	37	-	-
— без змін		14	48,3 ± 6,6		16	43,2 ± 5,8
— збільшення		13	44,8 ± 6,2		21	56,8 ± 5,8
Рівень Ig E (МО/л)						
— без змін	50	16	32,0 ± 6,6	62	15	24,2 ± 5,4
— збільшення		34	68,0 ± 6,6		47	75,8 ± 5,4
Рівень середньомолекулярних циркулюючих імунних комплексів (у.о.)						
— без змін	24	13	54,2 ± 7,2	36	22	61,1 ± 5,7
— збільшення		11	45,8 ± 7,2		14	38,9 ± 5,7
Рівень низькомолекулярних циркулюючих імунних комплексів (у.о.)						
— без змін	25	12	48,0 ± 7,1	36	19	52,8 ± 5,9
— збільшення		13	52,0 ± 7,1		17	47,2 ± 5,9

Примітка: n — загальна кількість дітей у групі; n¹ — кількість дітей у групі з даною ознакою; * — різницю показника в порівнянні з показником групи хворих на бронхіальну астму дітей з генотипом AC та CC статистично підтверджено ($p < 0,05$).

Таблиця 4

Виразність змін В-системного імунітету у хворих на бронхіальну астму дітей в залежності від поліморфізму гена AT2R1, (%)

Показники та напрямок їх змін	Генотипи							
	AT2R1 AA				AT2R1 AC та CC			
	n	M	Me	Межі коливань	n	M	Me	Межі коливань
Вміст В-клітин — D3+19-лімфоцитів (10 ⁹ /л)								
— зменшення	4	19,4	23,2	3,7–27,5	3	26,4	28,5	10,6–40,2
— збільшення	9	75,6*	49,4	16,4–156,9	10	74,8*	76,7	3,9–128,4
Вміст Ig A (г/л)								
— зменшення	–	–	–	–	2	55,1	55,1	11,1–99,0
— збільшення	5	14,4	6,2	5,0–35,0	10	32,7*	20,5	4,0–65,0
Вміст Ig M (г/л)								
— зменшення	–	–	–	–	1	9,1	9,1	9,1
— збільшення	10	97,1	70,1	9,4–340,0	16	112,0*	70,6	11,1–327,8
Вміст Ig G (г/л)								
— зменшення	2	13,2	13,2	1,3–25,0	–	–	–	–
— збільшення	13	28,7	25,6	1,0–69,3	21	34,8	29,8	1,5–100,0
Рівень Ig E (МО/л)								
— збільшення	34	655,0	421,1	6,7–2296,7	47	806,4*	523,5	6,7–3808,3
Рівень середньомолекулярних циркулюючих імунних комплексів (у.о.)								
— збільшення	11	131,1	112,5	15,0–342,5	14	103,8	75,0	10,3–310,0
Рівень низькомолекулярних циркулюючих імунних комплексів (у.о.)								
— збільшення	13	135,3	80,0	12,5–384,5	17	116,5	58,5	2,5–360,0

Примітка. * — різницю показника в порівнянні з показником групи хворих на бронхіальну астму дітей з генотипом AC та CC статистично підтверджено ($p < 0,05$).

(M 68,3 %, Me = 55,0 %; $p < 0,05$), що свідчить про більшу активацію у цих двох групах аутоімунного компонента алергічного запалення (табл. 2). Слід зазначити, що при гетерозиготному поліморфному варіанті за геном ACE спостерігалось максимальне зростання рівнів низькомолекулярних ЦІК (в середньому на 139,4 %; $p < 0,05$), яке, як правило, має інфекційне походження.

У 37,5 % хворих на БА дітей з генотипом AA за геном AT2R1 відбувалося збільшення вмісту В-клітин (табл. 3) і в 2,4 рази частіше у групі дітей з генотипами AC та CC (90,3 %; $p < 0,05$). Це супроводжувалося чітко простеженою тенденцією до частішої гіперімунноглобулінемії. Підвищення рівнів середніх та дрібних ЦІК в обох групах фіксувалися практично з однаковою частотою.

У хворих на БА дітей з AA генотипом за геном AT2R1 виразність збільшення вмісту В-клітин у крові була дещо

більшою, ніж у групі дітей з AC та CC генотипами, проте рівні Ig A, Ig M та Ig E, навпаки, суттєвіше зростали саме в останній групі обстежених пацієнтів. Будь яких відмінностей за виразністю підвищення рівнів середніх та дрібних ЦІК в цих групах хворих на БА дітей знайдено не було (табл. 4).

Таким чином при інсерційно-делеційному генотипі за геном ACE у хворих на БА дітей зменшується виразність atopії за рівнями Ig E порівняно з групою пацієнтів з інсерційним генотипом (табл. 5). При делеційному генотипі у хворих на БА дітей відзначається найвище з усіх трьох груп зростання вмісту В-клітин та рівнів Ig E. Це говорить про виснаження адаптаційно-компенсаторних механізмів, зокрема синтезу Ig G, що здатен конкурентно взаємодіяти з Fc фрагментами Ig E-рецепторів на клітинах-ефекторах алергічного запалення.

Таблиця 5

Зміни гуморального імунітету у хворих на бронхіальну астму дітей з поліморфізмом генів судинного тону; (%)

Показники	Генотипи									
	ACE II		ACE ID		ACE DD		AT2R1 AA		AT2R1 AC та CC	
	Частота	Виразність	Частота	Виразність	Частота	Виразність	Частота	Виразність	Частота	Виразність
Патологічні — збільшення / зростання:										
— вмісту В-клітин	22,2	62,4	32,0	69,4	50,0*#(↓)	92,4** (↑)	37,5	75,6	90,3 ⁵ (↑)	74,8 ⁵ (↓)
— рівнів Ig M	47,6	135,0	31,2	100,9	116,2	67,3** (↓)	34,5	97,1	43,2	112,0 ⁵ (↑)
— рівнів Ig E	74,3	765,2	68,1	637,3*(↑)	76,7	863,9** (↑)	68,0	655,0	75,8	806,4 ⁵ (↑)
— рівнів середніх ЦІК	35,0	68,3	48,1	139,4 ()	38,5	121,0*(↑)	45,8	131,1	38,9	103,8
— рівнів дрібних ЦІК	40,0	108,1	50,0	139,4	61,5	84,3#(↓)	52,0	135,3	47,2	116,5
Адаптаційні										
Зменшення вмісту В-клітин	11,1	14,9	12,0°	24,6	8,3°	20,5	16,7°	19,4	9,1°	26,4°
Збільшення рівнів Ig G	61,9	30,8	50,0	31,8	38,5*(↓)	39,0	44,8	28,7	56,8	34,8
Референтні рівні Ig E	25,7°	–	31,9°	–	23,3°	–	32,0°	–	24,2°	–

Примітка: ° — різницю між частотою патологічних та адаптаційних імунологічних змін статистично підтверджено ($p < 0,05$); * — різницю показника у порівнянні з показником групи хворих на бронхіальну астму дітей з генотипом ACE ID статистично підтверджено ($p < 0,05$); # — різницю показника у порівнянні з показником групи хворих на бронхіальну астму дітей з генотипом ACE ID статистично підтверджено ($p < 0,05$); ⁵ — різницю показника у порівнянні з показником групи хворих на бронхіальну астму дітей з генотипом AT2R1 AA статистично підтверджено ($p < 0,05$).

Вдвічі вищий підйом рівнів середньомолекулярних ЦІК у хворих на БА дітей з ACE ID та ACE DD генотипами свідчить про більшу напруженість у дітей цих двох груп аутоімунних механізмів алергічного запалення й обумовлює доцільність проведення їм системної ензимотерапії з наступною ентросорбцією. Особливості змін гуморального імунітету у дітей з AT2R1 AC та AT2R1 CC генотипами характеризується частішим зростанням вмісту В-клітин та посиленням синтезу імуноглобулінів, у т. ч. Ig M та Ig E.

Отже, за результатами цього дослідження можна вважати доведеним, що наявність гомозиготного інсерційного або делеційного генотипу ACE, а також наявність С алеля у гені рецептору до ангіотензину II має наслідком меншу ефективність адаптаційних імунологічних механізмів, що призводить до більш виразних імунопатологічних реакцій, у т.ч. посиленню atopії та аутоімунного компонента алергічного запалення. В той же час інсерційно-делеційний генотип за геном ACE, імовірно має протективне значення в імунопатогенезі БА у дітей. Але останнє потребує подальшого вивчення.

ЛІТЕРАТУРА

1. Рузов ВИ, и др. Генетические маркеры нарушений ритма сердца у пациентов с контролируемой и неконтролируемой артериальной гипертензией. Ульяновский медико-биологический журнал. 2013;(3):28-32.
2. Лапач СН, Чубенко АВ, Бабич ПН. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев: Морион. 2000;320 с.
3. Пасиешвили ТМ, Железнякова НМ. Клиническое и прогностическое значение полиморфизма гена АПФ у больных бронхиальной астмой и ожирением. Крымский терапевтический журнал. 2015;24(1):65-68.
4. Зяблицев СВ, и др. Полиморфизм гена ангиотензин-превращающего фермента у пациентов с бронхиальной астмой. Питання експериментальної та клінічної медицини. 2012;16(2):36-40.
5. Кудрявцев ИВ, и др. Протоочная цитометрия в экспериментальной биологии. Екатеринбург: РИО УрО РАН. 2012;192 с.
6. Речкина ОО, Горовенко НГ, Сстриж ВО. Прогнозування ступеня тяжкості перебігу бронхіальної астми за генетичними маркерами у дітей. Укр. пульмонолог. журнал. 2016;(4):28-32.
7. Ковальчук ЛВ, и др. Система цитокинов, комплемента и современные методы иммунного анализа. М: Изд-во Российского гос. Мед. Ун-та. 2001;81 с.
8. Magalhaes GS, et al. Chronic allergic pulmonary inflammation is aggravated in angiotensin-(1-7) Mas receptor knockout mice. Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 2016;311(6):1141-1148.
9. Yildiz P, et al. Endothelial Dysfunction in Patients with Asthma: The Role of Polymorphisms of ACE and Endothelial NOS Genes. Journal of Asthma. 2009;41(2):159-166.
10. Gard PR. Implications of the angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism in health and disease: a snapshot review. Int. J. Mol. Epid. Genet. 2010;(1):145-147.
11. Urhan M, et al. High Frequency of DD Polymorphism of the Angiotensin-Converting Enzyme Gene in Turkish Asthmatic Patients. Allergy and Asthma Proceedings. 2004;25(4):243-247.
12. El-Shafei MS, Farres MN, Shahin RY. Evaluation of angiotensin converting enzyme gene polymorphism and susceptibility to bronchial asthma among Egyptians. Allergologia et Immunopathologia. 2012;40(5):275-280.
13. Cortez M, et al. The role of type 1 angiotensin 2 receptor polymorphism in asthmatic patients. Clin. Transl. Allergy. 2013;3(1):17.

REFERENCES

1. Ruzov VI, et al. *Geneticheskiye markery narusheniy ritma serdtsa u patsiyentov s kontroliruyemoy i nekontroliruyemoy arterialnoy gipertenziyey* (Genetic markers of heart rhythm disturbances in patients with controlled and uncontrolled arterial hypertension). *Ulyanovskiy mediko-biologicheskij zhurnal*. 2013;(3):28
2. Lapach SN, Chubenko AV, Babich PN. *Statisticheskiye metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniyem Excel* (Statistical methods in biomedical research using Excel). Kiyev: Morion. 2000;320 p.
3. Pasiyeshvili TM, Zheleznyakova NM. *Klinicheskoye i prognosticheskoye znacheniyе polimorfizma gena APF u bolnykh bronkhialnoy astmoy i ozhireniyem* (Clinical and prognostic value of ACE gene polymorphism in patients with bronchial asthma and obesity). *Krymskiy terapevticheskij zhurnal*. 2015;24(1):65-68.
4. Zyblytsev SV, et al. *Polimorfizm gena angiotenzin-prevrashchayushchego fermenta u patsiyentov s bronkhialnoy astmoy* (Polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene in patients with bronchial asthma). *Pytannya eksperymentalnoyi ta klinichnoyi medytyny*. 2012;16(2):36-40.
5. Kudryavtsev IV, et al. *Protochnaya tsytometriya v eksperymentalnoy biologii* (Flow cytometry in experimental biology). Ekaterynburg: RYO UrO RAN. 2012;192 p.
6. Rechkina OO, Horovenko NH, Stryzh VO. *Prognozuvannya stupenya tyazhkosti perebigu bronkhialnoyi astmy za genetychnymy markeramy u ditey* (Prediction of the severity of bronchial asthma in children with genetic markers). *Ukr. Pulmonol. Zhurnal*. 2016;(4):28-32.
7. Kovalchuk LV, et al. *Sistema tsytokynov, komplementa i sovremennyye metody immunnogo analiza* (System of cytokines, complement and modern methods of immune analysis). M: Yzdvo Rossyiskoho hos. Med. Un-ta. 2001;81 p.
8. Magalhaes GS, et al. Chronic allergic pulmonary inflammation is aggravated in angiotensin-(1-7) Mas receptor knockout mice. Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 2016;311(6):1141-1148.
9. Yildiz P, et al. Endothelial Dysfunction in Patients with Asthma: The Role of Polymorphisms of ACE and Endothelial NOS Genes. Journal of Asthma. 2009;41(2):159-166.
10. Gard PR. Implications of the angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism in health and disease: a snapshot review. Int. J. Mol. Epid. Genet. 2010;(1):145-147.
11. Urhan M, et al. High Frequency of DD Polymorphism of the Angiotensin-Converting Enzyme Gene in Turkish Asthmatic Patients. Allergy and Asthma Proceedings. 2004;25(4):243-247.
12. El-Shafei MS, Farres MN, Shahin RY. Evaluation of angiotensin converting enzyme gene polymorphism and susceptibility to bronchial asthma among Egyptians. Allergologia et Immunopathologia. 2012;40(5):275-280.
13. Cortez M, et al. The role of type 1 angiotensin 2 receptor polymorphism in asthmatic patients. Clin. Transl. Allergy. 2013;3(1):17.