

УДК 616.248-053.2:577.112

**В.М.Дудник, О.В.Куцак**

## **Вміст ядерного транскрипційного фактора NF-κB у сироватці крові дітей, хворих на бронхіальну астму, залежно від важкості та рівня контролю захворювання**

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

SOVREMENNAYA PEDIATRIYA.2018.3(91):8-11; doi 10.15574/SP.2018.91.8

**Мета:** оцінити зміни вмісту ядерно-транскрипційного фактора (ЯТФ) NF-κB у сироватці крові дітей, хворих на бронхіальну астму (БА), залежно від важкості та рівня контролю захворювання.

**Матеріали і методи.** Вміст ЯТФ NF κB визначали у 70 дітей шкільного віку з БА. У 23 хворих був інтермітуючий перебіг, у 47 — персистуючий перебіг БА. Контрольована БА складала 19,14%, частково контрольована — 31,91%, неконтрольована — 48,95%. Контрольну групу склали 25 практично здорових дітей відповідного віку. Вміст ЯТФ NF κB у сироватці крові визначали імуноферментним методом з використанням набору Human NF κB ELISA Kit (Elabscience, China) відповідно до інструкції фірми-виробника.

**Результати.** У сироватці крові дітей з БА виявлено високий вміст ЯТФ NF-κB —  $7,15 \pm 0,25$  пг/мл, що у 1,95 рази більше, ніж у практично здорових дітей ( $3,66$  пг/мл,  $p < 0,001$ ). Вміст NF-κB при інтермітуючій БА був у 1,86, а при персистуючій — у 2,05 рази вищим порівняно з практично здоровими дітьми ( $p < 0,001$ ). При контрольованому перебігу БА показник NF-κB у сироватці крові становив  $8,79 \pm 0,72$  пг/мл, при частково контрольованому —  $7,63 \pm 0,68$  пг/мл, при неконтрольованому —  $6,41 \pm 0,41$  пг/мл, що вище у 2,4 рази відносно показника практично здорових дітей —  $3,66 \pm 0,21$  пг/мл ( $p < 0,001$ ). Вміст ЯТФ NF-κB у дітей з контрольованим перебігом БА у 1,15 рази вищий, ніж при частково контрольованому, а при неконтрольованому — у 1,4 рази ( $p < 0,001$ ). Високий вміст NF-κB у дітей з БА порівняно з практично здоровими дітьми спостерігався у віковому періоді 13–18 років ( $7,70 \pm 0,53$  пг/мл;  $p < 0,001$ ). У групі практично здорових дітей вміст ЯТФ NF-κB був у межах референтних величин та становив у віці 6–13 років  $3,34 \pm 0,26$  пг/мл, а у віці 13–18 років —  $4,35 \pm 0,29$  пг/мл.

**Висновки.** Встановлено зміни вмісту ЯТФ NF-κB у сироватці крові дітей з БА залежно від важкості та рівня контролю захворювання. Основна функція NF-κB полягає у швидкому включенні протизапальних генів незалежно від важкості перебігу БА та рівня контролю, лише з тією різницею, що за персистуючого перебігу БА експресія ЯТФ NF-κB вища, і він в більшій мірі активізує інші білки, які, в свою чергу, можуть активізувати експресію самого ЯТФ NF-κB. Рівні ЯТФ NF-κB в крові при БА не залежать від віку хворих.

**Ключові слова:** бронхіальна астма, діти, ядерно-транскрипційний фактор (NF-κB).

### **NF-κB level in blood serum of children with bronchial asthma depending on the severity and level of disease control**

*V.M.Dudnyk, O.V.Kutsak*

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine

**Objective:** to evaluate the changes of the nuclear factor K-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-κB) in blood serum in children with bronchial asthma (BA), depending on the severity and level of disease control.

**Material and methods.** NF-κB level was detected in 70 school-aged children with BA, who were treated at the Pulmonologic Department of VOCCH from 2016 to 2017. Twenty three patients had intermittent course of the disease and 47 had persistent BA. Controlled BA was observed in 19.14% of cases, partly controlled — in 31.91%, uncontrolled — in 48.95% of patients. The control group comprised 25 apparently healthy children whose physical development corresponded to their age. The biochemical study was conducted in the Scientific-Research Clinical and Diagnostic Laboratory of the National Pirogov Memorial Medical University. The serum level of NF-κB was detected using Human NF-κB ELISA Kit (Elabscience, China) according to the manufacturer's instructions.

**Results.** In the blood serum of children with BA, the high levels of NF-κB were revealed —  $7.15 \pm 0.25$  pg/mL that was 1.95-fold increase compared with the apparently healthy children —  $3.66$  pg/mL, ( $p < 0.001$ ). Analysing the results according to the course of the disease, it was revealed that the NF-κB levels were 1.86 and 2.05 times higher, than in the apparently healthy children for intermittent and persistent BA, respectively ( $p < 0.001$ ). According to the BA control, the results were as follows: with controlled BA, the serum level of NF-κB was  $8.79 \pm 0.72$  pg/mL, with the partly controlled BA —  $7.63 \pm 0.68$  pg/mL, with an uncontrolled form of the disease —  $6.41 \pm 0.41$  pg/mL and was 2.4-fold than the levels in the apparently healthy children —  $3.66 \pm 0.21$  pg/mL ( $p < 0.001$ ). The level of NF-κB in the controlled BA was 1.15 times higher, than in the partly controlled disease or 1.4-fold increase in case of uncontrolled BA ( $p < 0.001$ ). A high level of NF-κB in comparison with apparently healthy children was observed in the age of 13–18 years ( $7.70 \pm 0.53$  pg/mL,  $p < 0.001$ ). In the group of apparently healthy children, NF-κB level was within the reference values and made up  $3.34 \pm 0.26$  pg/mL at the age of 6-13 years, and at the age of 13-18 years -  $4.35 \pm 0.29$  pg/mL.

**Conclusions.** The study revealed the changes of the nuclear factor K-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-κB) in the serum of children with BA, depending on the severity and level of disease control. The main function of NF-κB is the rapid incorporation of anti-inflammatory genes, regardless of the BA severity and control level, only with the difference that in the persistent BA, the expression of NF-κB is higher that allows greatly activating other proteins, which in turn, may activate the expression of NF-κB itself. We observed a lower rate of NF-κB in the children with intermittent BA compared to persistent BA in 1.15 times, and the level of NF-κB in controlled BA was 12.8% higher than that in partly controlled or uncontrolled BA - 29.8% ( $p < 0.001$ ). The levels of NF-κB in serum of children with BA do not depend on the age of the patients.

**Key words:** bronchial asthma, children, nuclear transcription factor (NF-κB).

### **Содержание ядерно-транскрипционного фактора NF-κB в сыворотке крови детей, больных бронхиальной астмой, в зависимости от тяжести и уровня контроля заболевания**

*В.М. Дудник, О.В. Куцак*

Винницкий национальный медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Украина

**Цель** — оценить изменения содержания ядерно-транскрипционного фактора (ЯТФ) NF-κB в сыворотке крови детей, больных бронхиальной астмой (БА), в зависимости от тяжести и уровня контроля заболевания.

**Материалы и методы.** Содержание ЯТФ NF-kB определяли у 70 больных БА детей школьного возраста, лечившихся в пульмонологическом отделении ВОДКБ с 2016 по 2017 гг. У 23 больных было интермиттирующее течение, у 47 — персистирующее течение БА. Контролируемая БА составила 19,14%, частично контролируемая — 31,91%, неконтролируемая — 48,95%. Контрольную группу составили 25 практически здоровых детей соответствующего возраста. Содержание ЯТФ NF-kB в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с использованием набора Human NF-kB ELISA Kit (Elabscience, China) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя.

**Результаты.** В сыворотке крови детей с БА определялось высокое содержание ЯТФ NF-kB —  $7,15 \pm 0,25$  пг/мл, что в 1,95 раза выше, чем у практически здоровых детей ( $3,66$  пг/мл),  $p < 0,001$ . Содержание ЯТФ NF-kB при интермиттирующей БА было в 1,86, а при персистирующей — в 2,05 раза выше по сравнению с практически здоровыми детьми ( $p < 0,001$ ). При контролируемом течении БА показатель ЯТФ NF-kB в сыворотке крови составил  $8,79 \pm 0,72$  пг/мл, при частично контролируемом —  $7,63 \pm 0,68$  пг/мл, при неконтролируемом —  $6,41 \pm 0,41$  пг/мл, что выше в 2,4 раза относительно показателя практически здоровых детей —  $3,66 \pm 0,21$  пг/мл ( $p < 0,001$ ). Содержание ЯТФ NF-kB у детей с контролируемым течением БА в 1,15 раза выше, чем при частично контролируемом, а при неконтролируемом — в 1,4 раза ( $p < 0,001$ ). Высокое содержание NF-kB у детей с БА по сравнению с практически здоровыми детьми наблюдалось в возрастном периоде 13–18 лет ( $7,70 \pm 0,53$  пг/мл,  $p < 0,001$ ). В группе практически здоровых детей содержание ЯТФ NF-kB было в пределах референтных величин и составляло в возрасте 6–13 лет  $3,34 \pm 0,26$  пг/мл, а в возрасте 13–18 лет —  $4,35 \pm 0,29$  пг/мл.

**Выводы.** Выявлены изменения содержания ЯТФ NF-kB в сыворотке крови детей с БА в зависимости от тяжести и уровня контроля заболевания. Основная функция NF-kB состоит в быстром включении противовоспалительных генов, независимо от тяжести течения БА и уровня контроля, только с той разницей, что при персистирующем течении БА экспрессия ЯТФ NF-kB выше, и он в большей мере активизирует другие белки, которые, в свою очередь, могут активизировать экспрессию самого ЯТФ NF-kB. Уровни ЯТФ NF-kB в крови при БА не зависят от возраста больных.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, дети, ядерно-транскрипционный фактор (NF-kB).

## Вступ

Бронхіальна астма — це захворювання, в основі якого лежить хронічне, алергічне запалення бронхів, за участі цілого ряду клітин та медіаторів запалення. Розвиток БА відбувається внаслідок дисрегуляції та дисбалансу вродженої та адаптивної імунної відповіді, яка порушується у хворих дітей [5]. Такі обставини характеризують БА як глобальну медико-соціальну проблему та зумовлюють необхідність її подальшого всебічного вивчення [1, 3, 6].

На сьогодні очевидна генетично зумовлена активність клітин імунної відповіді та медіаторів запалення у сироватці крові, а також встановлена ключова роль ядерного транскрипційного фактора (ЯТФ) NF-kB у патогенезі БА. Слід зазначити, що пригнічення ЯТФ NF-kB може як послаблювати запалення та імунні реакції, так і посилювати клітинну загибель, оскільки цей фактор призводить до експресії ряду молекул, що сприяють виживанню клітин. Подібні дослідження при БА у дітей, зокрема визначення цитокінів та інших прозапальних молекул, експресія яких регулюється ЯТФ NF-kB, у літературних джерелах висвітлені поодинокі [8]. Транскрипційні фактори регулюють експресію білків, характерних для розвитку та перебігу БА, у тому числі інтерлейкінів, IgE, а також проліферацію ключових клітин БА — еозинофілів, В-лімфоцитів, Т-хелперів. Дотепер роль багатьох факторів ідентифікована, однак внесок деяких елементів даних транскрипційних факторів у розвиток і перебіг БА у достатній мірі не вивчені, особливо у дітей [4].

Тому дослідження генотипових ознак дасть можливість уточнити патогенетичні механізми розвитку БА, формування клінічного перебігу

захворювання, розробити ряд заходів для попередження даної патології та адекватної її терапії, що дозволить зменшити медикаментозне навантаження на дитячий організм [9].

**Мета:** оцінити зміни вмісту ЯТФ NF-kB у сироватці крові дітей, хворих на БА, залежно від важкості та рівня контролю захворювання.

## Матеріал і методи дослідження

У дослідження було включено 70 дітей шкільного віку, хворих на atopічну БА. Контрольну групу склали 25 практично здорових дітей відповідного віку.

Клінічний діагноз встановлювався згідно із затвердженим МОЗ України (наказ № 868 від 08.10.2013 р.) протоколом та з дотриманням Глобальної ініціативи з бронхіальної астми (The Global Initiative for Asthma GINA 2016,2017) [5,7,10]. Біохімічне дослідження проводилися в науково-дослідній клініко-діагностичній лабораторії Вінницького національного медичного університету імені М.І.Пирогова. Вміст ЯТФ NF-kB у сироватці крові визначали імуноферментним методом з використанням набору Human NF-kB ELISA Kit (Elabscience, China) відповідно до інструкції фірми-виробника.

Дослідження виконані відповідно до принципів Гельсінської Декларації. Протокол дослідження ухвалений Локальним етичним комітетом (ЛЕК) установи. На проведення досліджень було отримано поінформовану згоду батьків дітей (або їхніх опікунів).

Статистична обробка отриманих результатів була проведена за допомогою програми Statistica 6,0, із застосуванням параметричних і непа-

Таблиця 1

Вміст ядерного транскрипційного фактора NF-kB у сироватці крові хворих на бронхіальну астму та здорових дітей (M±m)

Показник	Діти з БА			Практично здорові діти (n=25)
	Загальна група (n=70)	Інтермітуюча БА (n=23)	Персистуюча БА (n=47)	
NF kB, пг/мл	7,15±0,25*	6,44±0,37*	7,51±0,31*	3,66±0,21

Примітка: \*різниця достовірна між групами хворих та практично здорових дітей p<0,001.

Таблиця 2

Вміст ядерного транскрипційного фактора NF-kB у сироватці крові дітей, хворих на бронхіальну астму, залежно від рівня контролю захворювання (M±m)

Показник	Рівень контролю бронхіальної астми			Практично здорові діти (n=25)
	Контрольована (n=9)	Частково контрольована (n=15)	Неконтрольована (n=23)	
NF kB, пг/мл (n=47)	8,79±0,72*	7,63±0,68*	6,41±0,41*	3,66±0,21

Примітка: \* різниця достовірна між групами хворих та практично здорових дітей p<0,001.

раметричних методів оцінки отриманих результатів. Оцінювали правильність розподілу ознак за кожним з отриманих варіаційних рядів, середні значення кожної ознаки, що вивчалася, стандартні помилки та відхилення. Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами при правильному розподілі визначали за допомогою критерію Стьюдента для незалежних величин, а в інших випадках за допомогою U-критерія Мана–Вітні. Усі результати вважалися достовірними, якщо p<0,05.

### Результати дослідження та їх обговорення

За результатами обстеження у дітей з БА рівень ЯТФ NF-kB у периферичній крові становив 7,15±0,25 пг/мл, що у 1,95 разу вище, ніж у практично здорових дітей (3,66 пг/мл, p<0,001) (табл.1).

Оцінка вмісту ЯТФ NF-kB у сироватці крові хворих на БА залежно від важкості перебігу захворювання засвідчила у 1,15 рази нижчі показники ЯТФ NF-kB у дітей, хворих на інтермітуючу БА, порівняно з пацієнтами, що страждали на персистуючу БА (6,44±0,37 пг/мл та 7,15±0,25 пг/мл відповід-

но). Вміст ЯТФ NF-kB при інтермітуючій БА був у 1,86, а при персистуючій – у 2,05 рази вищим порівняно з практично здоровими дітьми (p<0,001).

У результаті дослідження вмісту ЯТФ NF-kB у сироватці крові у хворих на БА залежно від рівня контролю захворювання (табл. 2) були встановлені (у 2,4 разу) вищі його значення у пацієнтів, хворих на контрольовану БА, відносно показників практично здорових дітей (p < 0,001).

Слід зауважити, що в літературних джерелах визначення вікових рівнів ЯТФ NF-kB у сироватці крові пацієнтів, хворих на БА, та у практично здорових дітей висвітлені недостатньо [2]. Результати проведених досліджень показали, що в групі практично здорових дітей вміст ЯТФ NF-kB був у межах референтних величин та становив у віці 6–13 років 3,34±0,26 пг/мл, а у віці 13–18 років – 4,35±0,29 пг/мл. (табл. 3). Натомість у пацієнтів 6–12 років середній рівень NF-kB був у 2,07 разу вищим середніх величин практично здорових дітей даного віку (p<0,001). Високий вміст ЯТФ NF-kB порівняно з практично здоровими дітьми спостерігався й у

Таблиця 3

Вміст ядерно-транскрипційного фактора NF-kB у сироватці крові хворих на бронхіальну астму та здорових дітей залежно від віку

Група дітей	Ядерно-транскрипційний фактор NF-kB, пг/мл			
	6–13 років		14–18 років	
	n	M±m	n	M±m
Хворі на бронхіальну астму (n=70)	47	6,92±0,30*	23	7,70±0,53*
Практично здорові діти (n=25)	16	3,34±0,26	9	4,35±0,29

Примітка: \* – різниця достовірна між віковими групами практично здорових дітей p<0,001.

віковому періоді 13–18 років ( $7,70 \pm 0,53$  пг/мл;  $p < 0,001$ ).

### Висновки

1. У сироватці крові дітей, хворих на БА, виявлено високий вміст ЯТФ NF- $\kappa$ B, який у 1,95 разу перевищував показники практично здорових дітей.

2. Рівень ЯТФ NF- $\kappa$ B при інтермітуючій БА у 1,86, а при персистоуючій — у 2,05 разу вищий порівняно з практично здоровими дітьми ( $p < 0,001$ ).

3. Вміст ЯТФ NF- $\kappa$ B у дітей з контрольованим перебігом БА у 1,15 разу вищий, ніж при частково-контрольованому, а при неконтрольованому — у 1,4 разу ( $p < 0,001$ ).

4. Рівень ядерно-транскрипційного фактору NF- $\kappa$ B у хворих 6–12 років був у 2,07 разу ( $p < 0,001$ ) вищим, ніж у практично здорових

дітей, а у віковій групі 13–18 років виявився вищим лише у 1,8 рази ( $p < 0,001$ ).

Таким чином, на підставі отриманих результатів дослідження, можна припустити, що основна функція NF- $\kappa$ B полягає у швидкому включенні протизапальних генів незалежно від важкості перебігу БА та рівня контролю, лише з тією різницею, що при персистоуючому перебігу БА експресія ЯТФ NF- $\kappa$ B вища, і він в більшій мірі активізує інші білки, які, в свою чергу, можуть активізувати експресію самого ЯТФ NF- $\kappa$ B. Рівні ЯТФ NF- $\kappa$ B у крові при БА не залежать від віку хворих.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у вивченні взаємодії ядерно-транскрипційних факторів у регуляції патогенетичних особливостей контролю БА та перебігу захворювання.

*Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.*

### ЛІТЕРАТУРА

1. Геппе НА. (2013). Бронхиальная астма у детей: вопросы дефиниций и тактики ведения. Фарматека. 1. 61–66.
2. Горбась В.А, Сміян О.І. (2009). Роль прозапального (ІЛ-8) та проти-запального (ІЛ-4) інтерлейкіну в активності запального процесу при бронхолегеневій патології в дітей шкільного віку. Здоров'я ребенка. Клінічна Педіатрія. 5(20): 74–77.
3. Крючко Т.О. (2013). Підхід до лікування бронхіальної астми у дітей з обтяженим генетичним анамнезом. Здоров'я України. Педіатрія. 4: 41–49.
4. Майданик В.Г, Сміян О.І, Січненко П.І. та ін. (2017). Бронхіальна астма у дітей. Навчальний посібник. За редакцією проф. В.Г. Майданика, проф. О.І. Сміян. Суми: Сумський державний університет: 11–14.
5. Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при бронхіальній астмі: наказ МОЗ України від 08.10.2013 р. №868. <http://www.moz.gov.ua>.
6. Расин МС, Кайдашев ИП. (2014). Роль ядерных транскрипционных факторов в синтропии современной внутренней патологии (обзор литературы). Український медичний часопис. 1(99): 17–21.
7. Global strategy for the diagnosis and management of asthma in children 5 years and younger (2017). [http://www.ginasthma.org/pdf/GINA\\_Report\\_2017.pdf](http://www.ginasthma.org/pdf/GINA_Report_2017.pdf).
8. Idzerda RL, March CJ, Mosley B, Lyman SD, Bos TV, Gimpel SD, Din WS, Grabstein KH, Widmer MB, Park LS, Cosman D, Beckmann MP. (2012). Human interleukin 4 receptor confers biological responsiveness and defines a novel receptor superfamily. J Exp Med. 171:861–873.
9. 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 JM. (2010). Ile50Val variant of IL4R? upregulates IgE synthesis and associates with atopic asthma. Nature Genetics. 196: 119–120.
10. Nishimuta T, Kondo N, Hamasaki Y. (2011). Japanese Guideline for Childhood Asthma Allergy International. 60 (2): 147–169.
11. Tiegs G. (2010). Cellular and cytokine-mediated mechanisms of inflammation and its modulation in immune-mediated liver injury. Z Gastroenterol. 45:63–70.

### Сведения об авторах:

**Дудник Вероника Михайловна** — д.мед.н., проф., зав. каф. педіатрії №2 Вінницького НМУ імені Н.І. Пирогова. Адрес: г. Вінниця, ул. Пирогова, 56.

**Куцак Олеся Владимировна** — аспірант каф. педіатрії №2 Вінницького НМУ імені Н.І. Пирогова. Адрес: г. Вінниця, ул. Пирогова, 56.

Статья поступила в редакцию 21.11.2017 г.