

УДК: 616.248-053.2-078-092:612.017  
DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.3.49.2023.7

## РІВНІ ІЛ-4 ТА $\gamma$ -ІНТЕРФЕРОНУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ДІТЕЙ ЯК ПРЕДИКТОРИ ФОРМУВАННЯ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ

*Н. І. Макєєва, В. В. Андрущенко,  
В. М. Малахова, В. М. Цимбал,  
Н. П. Алексєєва*

Харківський національний медичний університет  
(м. Харків, Україна)

### Резюме

**Вступ.** Розповсюдженість астми продовжує зростати із року в рік. Серед хронічних захворювань астма займає лідируючу позицію. Формування запалення, як гострого так і хронічного, тісно пов'язане з дією цитокінів (прозапальних та протизапальних). Т-хелпери-2-лімфоцитів вивільнює ІЛ 4, що запускає вироблення імуноглобуліну-Е (IgE) антитіл, які створюють умови для виникнення алергії та активують запальні клітини. Регуляторами цього процесу є Т-хелпери-1 лімфоцитів, які генерують цитокіни (IFN- $\gamma$ ), що пригнічує активність Th-2. Порушення співвідношення клонів Th-1/Th-2-го типу лімфоцитів є предметом для дискусії щодо раннього виявлення астми та прогнозування формування цього захворювання.

**Метою дослідження** було оцінити рівні ІЛ-4 та  $\gamma$ -інтерферону в сироватці крові дітей з transient wheezing та хворих на астму.

**Матеріал та методи дослідження.** У дослідженні взяли участь 121 дитина. Пацієнтів розподілили на групи: 1 група – діти з transient wheezing (TW) (n = 81), 2 група – діти з лікар-діагностованою астмою (DDA) (n = 15), 3 група – практично здорові діти (n = 25).

ІЛ-4 та  $\gamma$ -інтерферон в сироватці крові були проаналізовані методом ELISA за допомогою комерційних наборів (Human IL-4 та Human  $\gamma$ -інтерферон «Вектор Бест-Україна»).

Проведено аналіз даних за допомогою Statsoft Statistica версії 8 (Tulsa, OK) та статистичної програми MedCalc версії 17.2.

Заплановані клінічні дослідження здійснювалися після отримання схвалення місцевого комітету з етики (протокол № 2015/01 від 1.02.2015 р.) і проводилися відповідно до принципів Гельсінської декларації, зміненої в жовтні 2013 року.

Дане дослідження виконано в рамках НДР кафедри педіатрії № 2 Харківського національного медичного університету «Медико-біологічні аспекти адаптації дітей з соматичною патологією в сучасних умовах. Прогнозування контролю бронхіальної астми у дітей з урахуванням маркерів запалення та стану аерогематичного бар'єру легень» (номер державної реєстрації 0120U102471).

**Результати дослідження.** Було встановлено, що у дітей 1 та 2 груп у розпалі клінічних проявів wheezing вірогідно підвищувалися рівні ІЛ-4 та знижувалися рівні  $\gamma$ -інтерферону у сироватці крові. Найвищі показники ІЛ-4 та найнижчі показники  $\gamma$ -інтерферону сироватки крові були виявлені у пацієнтів з DDA.

Рівні ІЛ-4 вище ніж 15,33 пг/мл та  $\gamma$ -інтерферону нижче ніж 98,62 пг/мл в сироватці крові у дітей з рецидивами wheezing можна розглядати, як можливий показник формування астми.

**Висновки:** ІЛ-4 та  $\gamma$ -інтерферон у сироватці крові приймає участь у регулюванні алергійних запальних процесів в організмі. Статистично значуще підвищення рівня ІЛ-4 та зниження рівня  $\gamma$ -інтерферону у сироватці крові пацієнтів з астмою ймовірно вказує на формування хронічної форми запалення.

**Ключові слова:** бронхіальна астма; транзиторий візінг; ІЛ-4;  $\gamma$ -інтерферон; діти.

### Вступ

Розповсюдженість астми в останні роки зростає. Ця нозологічна форма є однією з найпоширеніших серед хронічних захворювань [1] та має багато різних фенотипів та різноманітних тригерів формування та прогресування [2,3]. Гетерогенність астми проявляється різним ступенем вираженості бронхообструкції, великою різноманітністю клінічних симптомів, різною частотою проявів загострення, індивідуальною відповіддю кожного пацієнта на проведення базисної терапії [2-4]. Насамперед, астма являє собою запальний процес у бронхіальній стінці, який являє собою хронічне запалення бронхів, що зберігається навіть у безсимптомний період [5,6]. За типом запального процесу виділяють основні чотири механізми, такі як еозинофільний, нейтрофільний, змішаний гранулоцитаний та малогранулоцитарний [7-9].

Як правило, дебют астми припадає на дитячий вік. За даними сучасних досліджень формування цього захворювання майже у 50% хворих починається у віці до трьох років [10,11].

Проявами дебюту астми у дітей є повторні епізоди бронхообструкції. Діагностика формування астми у дітей до 6 років має ряд обмежень, пов'язаних зі складністю ідентифікувати фенотип хрипів у цьому віці [12]. Повторні епізоди бронхообструкції мають велику кількість етіологічних факторів та є проявами багатьох нозологічних форм [13]. Вони спостерігаються при наявності сторонніх тіл бронхолегеневої системи, при захворюваннях гастроезофагальної зони, можуть бути проявами вроджених вад серця та магістральних судин, вроджених захворювань, що впливають на обмінні процеси тощо. На сьогоднішній день ще не визначено надійних біомаркерів, які дозволяють відрізнити неастматичні хрипи від астми, особливо у дітей раннього віку. Різні моделі прогнозування астми є практичним інструментом управління для використання у дітей до 5 років з рецидивним свистячим диханням, але чутливість та специфічність їх обмежені, особливо у випадках, коли епізоди свистячого дихання повторюються не часто [14].

Дослідження функції зовнішнього дихання, яке є одним з головних досліджень для підтвердження діагнозу, у дітей цієї вікової групи має певні труднощі [1]. Нові дослідження ставлять перед науковою спільнотою все нові та нові запитання. Пошук біомаркерів астми є пріоритетним завданням науковців. Від їх інформативності залежить не тільки вчасно встановлений діагноз та коректно призначена терапія, але й якість майбутнього життя пацієнта [15].

Відкриття біологічного маркера, що зможе передбачити розвиток астми, мало б велике клінічне значення. На сьогоднішній день дослідниками використовується достатня кількість біомаркерів астми та хронічного алергічного запалення, а саме: фракційна концентрація оксиду азоту в повітрі, що видихається (FeNO) [16], еозинофіли крові, sIgE, періостин, фактор Виллебранда [17] та інші, але жоден з них не був визнаний ідеальним [18, 19]. До нині немає надійного біологічного маркера для діагностики астми у дітей дошкільного віку. Саме тому на сучасному етапі розширення діагностичних критеріїв щодо раннього виявлення астми та прогнозування її формування, залишається актуальним.

Відомо, що найрозповсюдженішим механізмом розвитку хронічного запалення у дітей, є розвиток астми за еозинофільним типом [20, 21]. Центральним цитокином, що відповідає алергічним запаленням є ІЛ-4 [22]. Він розглядається одним із головних протизапальних цитокинів, котрий регулює диференціювання В-клітин та сприяє підвищенню секреції IgE, накопиченню еозинофілів у периферичній крові, скеровує диференціацію Т-лімфоцитів у Т-хелпери 2-го типу (Th2-хелпери) [23, 24]. З іншого боку, ланка імунної відповіді в диференціюванні лімфоцитів у Т-хелпери 1-го типу (Th1-хелпери) зазнає зворотних змін. Опосередковано про це ми можемо судити за рівнями  $\gamma$ -інтерферону. Одним з напрямків функцій  $\gamma$ -інтерферону є стимуляція імунної відповіді на боротьбу з вірусними інфекціями.  $\gamma$ -інтерферон є майже єдиним представником II типу інтерферонів, специфічним для активації клітин імунної системи за 1-м типом [25]. Хоча В-лімфоцити відповідають гуморальній відповіді імунної системи, є дослідження, що підтверджують продукцію В-лімфоцитами  $\gamma$ -інтерферону у відповідь на бактеріальні інфекції, сприяючи активації макрофагів [26]. Сучасні дослідження мають суперечливі відомості щодо показників  $\gamma$ -інтерферону при астмі [27, 28]. У нашому дослідженні ми провели діагностичну та прогностичну оцінку рівнів ІЛ-4 та  $\gamma$ -інтерферону в сироватці крові дітей з з transient wheezing (TW) та лікар-діагностованою астмою (DDA) та оцінили взаємозв'язок цих показників.

### Матеріал та методи дослідження

**Дизайн дослідження.** Це було продольне когортне дослідження в період з 2016 року по 2020 рік, у яке увійшли діти з recurrent wheezing, що проходили лікування та обстеження у дитячій клініці. Критерії включення: підписання інформованої згоди батьками пацієнта; вік пацієнта від 1,5 до 6 років; поточний епізод хрипів під час перебування є третім і більше. Критерії виключення: вроджені та хронічні серцево-легеневі або неврологічні захворювання; спадкові захворювання, що призводять до

змін у функціонуванні дихальних шляхів, у тому числі, муковісцидоз; доведений імунодефіцит; підтверджена або підозрювана гостра або хронічна бактеріальна інфекція дихальних шляхів; підозрювані або підтверджені захворювання гастроєзофагальної зони; попереднє лікування антилейкотрієновими препаратами або системними кортикостероїдами; пацієнти, які отримували внутрішньовенну терапію менш ніж за 48 годин до дослідження.

До першого етапу дослідження було включено 100 пацієнтів віком від 1,5 років до 6 років. Пацієнти відповідали критеріям включення та не мали критеріїв виключення. Пацієнтам проводили специфічне лікування відповідно до світових рекомендацій GINA 2019. Всім пацієнтам провели збір клінічного анамнезу, фізикальне обстеження та лабораторну оцінку. Також було проведено дослідження рівнів ІЛ-4 та  $\gamma$ -інтерферону в сироватці крові. Контрольну групу склали 25 здорових дітей подібного віку та статі, які не мали ознак хронічних захворювань та не мали ознак гострих захворювань протягом останніх трьох місяців, що звернулися до стаціонару для планового контролю стану здоров'я або щеплення. Батьків усіх пацієнтів і дітей контрольної групи було поінформовано про цілі дослідження, а перед включенням у дослідження було отримано письмову інформовану згоду обох батьків.

Другий етап дослідження включав в себе повторний виклик пацієнтів на обстеження при досягненні ними 6-ти річного віку. 4 пацієнти вибули з-під нагляду (один змінив номер телефону, двоє переїхали до іншої країни, батьки однієї дитини відмовилися від продовження участі у дослідженні). Таким чином, до другого етапу дослідження увійшли 96 дітей (96%) (рис. 1).

Повторно проводилась оцінка критеріїв включення та виключення з дослідження. Повторно проводилось підписання інформованих згод для продовження участі у дослідженні. Після повторної оцінки критеріїв у дослідження увійшло 96 пацієнтів. Проведена повторна оцінка анамнестичних даних, що ґрунтувалися на рекомендаціях GINA 2019 та включали симптоми (кашель та хрипи) протягом більше ніж 10 днів під час інфекції верхніх дихальних шляхів, понад 3 епізоди хрипів на рік, кашель між епізодами та наявність atopічного дерматиту або харчової алергії або сімейної історії астми. Були виявлені пацієнти, яким за цей період була встановлена астма та діти, яким була встановлена астма при візиті на повторне обстеження. Діагноз астми був встановлений дитячим спеціалістом з респіраторних захворювань (пульмонологом або алергологом) відповідно до рекомендацій GINA. У дітей до 5 років діагноз астми встановлювали на підставі рецидивуючих хрипів, алергічних захворювань в анамнезі, сенсibiliзації алергенами, астми в анамнезі у родичів першого ступеня спорідненості, відповіді на лікування бронхолітиками та клінічного покращення протягом 3 місяців на тлі прийому ІГКС. У дітей старше 5 років діагноз астми базувався на типових респіраторних симптомах та результатах дослідження функції легень.

Після верифікації діагнозу діти були розподілені на 2 групи. До 1 групи увійшли 81 пацієнт із транзиторними свистячими хрипами (ТХ), у яких симптом свистячого дихання припинився під час спостереження; до 2 групи – 15 дітей з діагностованою лікарем астмою.

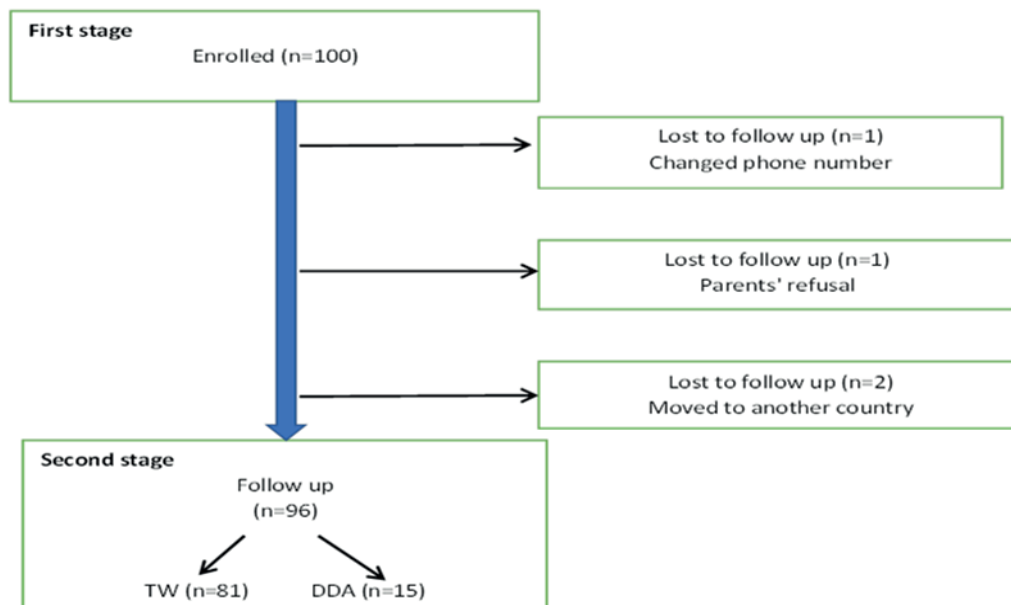


Рис. 1. Блок-схема, що ілюструє дизайн дослідження та процедури визначення рівнів ІЛ-4 та  $\gamma$ -інтерферону в сироватці крові дітей.

*TW* – транзиторні свистячі хрипи. *DDA* – діагностована лікарем астма.

Дослідження рівня ІЛ-4 та  $\gamma$ -інтерферону в сироватці крові. Дослідження рівнів ІЛ-4 та  $\gamma$ -інтерферону в сироватці крові пацієнтів та в контрольній групі визначалися на першому етапі клінічної роботи. Визначення рівнів ІЛ-4 та  $\gamma$ -інтерферону в сироватці крові пацієнтів визначалися в перші 2 дні клінічних проявів бронхообструкції, до початку терапії.

Зразки крові були відібрані вранці, до прийняття їжі, за стандартною методикою венепункції, або з венозного катетеру при його наявності. Blood samples were drawn by a trained pediatric phlebotomist nurse. Кров відбиралася у спеціальні пробірки з активатором згортання із гелем. Після збору зразки проходили центрифугування протягом 10 хвилин при швидкості 1300 об./хв. До проведення дослідження заморожені зразки зберігалися при температурі  $-30^{\circ}\text{C}$ . Через 6 місяців, після відбору першого зразка, сироватка у пробірках була одночасно розморожена та досліджена на вміст кількості ІЛ-4 та  $\gamma$ -інтерферону.

Рівень ІЛ-4 у сироватці крові були проаналізовані методом ELISA за допомогою комерційних наборів (Human ІЛ-4, «Вектор Бест-Україна», номер каталогу: А-8754), та  $\gamma$ -інтерферону в сироватці крові був проаналізований методом ELISA за допомогою комерційних наборів (Human  $\gamma$ -інтерферон, «Вектор Бест-Україна», номер каталогу: А-8752).

Усі статистичні аналізи проводили за допомогою пакетної програми StatSoft STATISTICA версії 8 (Талса, Оклахома) та статистичного програмного забезпечення MedCalc версії 17.2. Було використано тест Шапіро-Вілка, а також досліджено гістограму та графік q-q для оцінки нормальності. З урахуванням, що розподіл вибірки був відмінним від нормального, визначали медіану ( $Me$ ) та інтерквартильний розмах ( $Lq$  – нижній квартиль;  $Uq$  – верхній квартиль). Для порівняння двох вибірок використовували непараметричний U-критерій Манна-Уїтні ( $MW$ ), для розрахунку двох відносних показників використовувався  $\chi^2$  точний критерій Фі-

шера. Різницю параметрів, що порівнювали за двома точками, вважали статистично значущою при  $p < 0,05$ . При порівнянні показників, які характеризувалися порівнянням більше 2 точок, використовували Н критерій дисперсійного аналізу Краскла-Уолліса ( $KW$ ), а відмінності вважали вірогідними з урахуванням поправки Бонферроні. Кореляцію між параметрами визначали за допомогою рангового кореляційного аналізу Спірмена ( $r$ );  $p < 0,05$  вважали статистично значущою різницею. Криві робочих характеристик приймача ( $ROC$ ) були намальовані для змінних, щоб визначити оптимальні значення «відсічення» для прогнозування кінцевої точки. Статистичні «порогові» значення були розраховані шляхом мінімізації відстані між точкою зі специфічністю=1 і чутливістю=1 та різними точками на кривій  $ROC$ . Для аналізу  $ROC$  площа під кривою ( $AUC$ ) 1,0 вказує на ідеальну дискримінацію, тоді як площа 0,5 вказує на те, що тест розрізняє не краще, ніж випадково. Точка відсікання кожної змінної та чутливість, специфічність, відношення позитивної правдоподібності (+LR), відношення негативної правдоподібності (-LR) цієї точки «відсікання» була отримана за допомогою індексу Юдена. Щоб визначити найбільш надійний інструмент скринінгу серед цих чотирьох змінних, було виконано попарне порівняння цих змінних шляхом визначення відмінностей між площею під кривою за допомогою методу Хенлі та Макніла.

Заплановані клінічні дослідження були проведені після отримання схвалення місцевого комітету з етики (протокол № 2015/01 від 01.02.2015 р.) і проводилися відповідно до принципів Гельсінської декларації, зміненої в жовтні 2013 року.

Дана стаття виконана в рамках НДР кафедри педіатрії № 2 Харківського національного медичного університету «Медико-біологічні аспекти адаптації дітей з соматичною патологією в сучасних умовах. Прогнозування контролю бронхіальної астми у дітей з урахуванням

маркерів запалення та стану аерогематичного бар'єру легень» (номер державної реєстрації 0120U102471).

### Результати дослідження та їх обговорення

Серед обстежених 96 пацієнтів із рецидивуючими хрипами, 84,38% склали діти з транзиторними хрипами (ТХ), у яких симптом хрипів припинився під час спостереження, та 15,62% склали діти, що мали діагноз астми. При порівнянні груп за віком та статтю, необхідністю проведення оксигенотерапії під час wheezing, достовірної різниці не виявлено. Відносна кількість па-

цієнтів з підвищенням швидкості зсідання еритроцитів (ESR) та підвищенням С-реактивного протеїну (CRP), у період розпаду клінічних симптомів, відмінностей між групами не мали. Анамнестичні чинники, такі як, наявність атопічного дерматиту та харчової алергії у дитини, алергійних захворювань та астми у родичів, старт wheezing на першому році життя були вірогідно частішими у пацієнтів з лікар-діагностованою астмою. Виявлення у лабораторних даних підвищеного рівня еозинофілів та високих показників Ig E частіше спостерігалися у пацієнтів з астмою (табл. 1).

Таблиця 1

#### Клініко-лабораторні дані пацієнтів

Показники	ТХ	Астма	p
Стать, Д/Х	48/33	10/5	p>0,05
Вік, років на момент першого етапу дослідження Me (Lq; Uq)	2,58 (1,55; 4,10)	2,00 (1,50; 3,11)	p>0,05
Вік, роки на момент заключного етапу дослідження Me (Lq; Uq)	7,09 (6,00; 9,90)	6,50 (6,00; 7,80)	p>0,05
Наявність атопічного дерматиту та харчової алергії у дітей	45,7% (37/81)	86,7% (13/15)	p=0,0018
Наявність обтяженого сімейного алергологічного анамнезу та астми у родичів	6,2% (5/81)	73,3% (11/15)	p<0,001
Поява хрипів на першому році життя	48,1% (39/81)	80,0% (12/15)	p=0,0267
Киснева терапія під час обструкції	9,9% (8/81)	13,3% (2/15)	p=0,3641
Показники крові з високим вмістом еозинофілів, клітини, мл	8,7% (7/81)	60,0% (9/15)	p<0,001
Підвищені рівні Ig E, МО/мл (більше ніж 50 МО/мл)	25,9% (21/81)	86,7% (13/15)	p<0,001
Прискорене ШОЕ, мм/год (більше ніж 15 мм/год)	32,1% (26/81)	33,3% (5/15)	p=0,4697
Підвищені рівні СРБ, мг/л (більше 6 мг/л)	19,7% (16/81)	13,3% (2/15)	p=0,2632

### Рівні ІЛ-4 та $\gamma$ -інтерферону в сироватці крові.

Статистична обробка за допомогою тесту Краскла-Уоліса виявила, що критерій Н для таких параметрів, як рівні ІЛ-4 становив (N=55,4226; p<0,001) та  $\gamma$ -інтерферону (N=69,9710; p<0,001) був вірогідно високим. Тобто статистичні характеристики відповідних показників різних груп суттєво відрізняються та рівні цих

показників залежать від належності пацієнта до тієї чи іншої групи. Виявлено, що у дітей обох груп показники рівнів ІЛ-4 у сироватці крові були підвищені порівняно з групою контролю та найвищі показники спостерігалися у дітей із лікар-встановленою астмою. При цьому, рівні  $\gamma$ -інтерферону знижувалися у дітей обох груп та найнижчі показники були у пацієнтів з DDA (табл. 2).

Таблиця 2

#### Рівні ІЛ-4 та $\gamma$ -інтерферону у сироватці крові дітей з recurrent wheezing в період розпаду клінічних проявів, Me (Lq; Uq)

Параметри	Діти (n=121)			Вірогідність різниці та рівень значущості
	TW (n=81)	DDA (n=15)	Control (n=25)	
ІЛ-4, пг/мл	7,56 (4,35; 10,02)	32,14 (19,34; 36,19)	3,71 (3,10; 4,00)	$p_{TW-DDA} = 0,0001$ $p_{TW-control} = 0,0010$ $p_{DDA-control} < 0,001$
$\gamma$ -інтерферон, пг/мл	113,97 (106,48; 120,09)	81,42 (78,26; 89,63)	130,24 (120,79; 130,81)	$p_{TW-DDA} < 0,001$ $p_{TW-control} = 0,0023$ $p_{DDA-control} < 0,001$

**Кореляція між ІЛ-4 та  $\gamma$ -інтерфероном.** Кореляція між рівнями ІЛ-4 та  $\gamma$ -інтерферону усіх дітей з recurrent wheezing (n=96) становила  $r = -0,68$ , p<0,001. Статистично значущим був зв'язок між параметрами у дітей з астмою (n=15) –  $r = -0,58$ , p<0,001. Обчислення кореляційного зв'язку у дітей з транзиторним wheezing (n=81) статистичного взаємозв'язку не встановило –  $r = -0,01$ , p>0,005.

Проведена статистична обробка з визначенням прогностичної значимості рівнів показників ІЛ-4 та  $\gamma$ -інтерферону у сироватці крові. Виявленні взаємозв'язки між рівнями показників при ранніх епізодах wheezing та розвитком астми. Визначені «cut-off» point цих рівнів з достовірними показниками чутливості та специфічності методу (табл. 3).

Таблиця 3

#### Прогностичні критерії для ІЛ-4 та $\gamma$ -інтерферону

Показники	AUC	«cut-off» point	Se, %	95% CI	Sp, %	95% CI	+LR	-LR
ІЛ-4, пг/мл	0,932	> 15,33	93,33	68,1-99,8	78,79	61,1-91,0	4,40	0,085
$\gamma$ -інтерферон, пг/мл	0,954	≤ 98,62	100,00	78,2-100,0	77,78	60,8-89,9	4,50	0,00

У даному дослідженні мало місце підвищення рівнів ІЛ-4 у сироватці крові в усіх пацієнтів з recurrent wheezing, з найвищими показниками у дітей, які сформували астму. Це розглядалось, як прояв алергічного запалення, бо ІЛ-4 стимулює підвищення продукцію ІgE, сприяє накопиченню еозинофілів у периферичній крові та тканинах [23, 24]. Це підтверджують існуючі дослідження, що доводять наявність алергічного запалення у пацієнтів: з atopічним дерматитом [29] і алергічним ринітом [30] у дітей, астмою у дорослих [31]. У нашому дослідженні приймали участь діти дошкільного віку, які мали в анамнезі recurrent wheezing та яким до 6-річного віку встановили діагноз лікар-встановленої астми або transient wheezing. Рівні ІЛ-4 у сироватці крові були підвищені, порівняно з групою контролю, у пацієнтів з transient wheezing та вірогідно підвищені у дітей з астмою. Тому опираючись на наукові дослідження, можна припустити, що підвищення рівнів ІЛ-4 у сироватці крові таких пацієнтів не тільки вказує на алергічний характер запалення, але й є проявом хронічного алергічного запалення, у нашому випадку – бронхів.

Нами визначено, що рівні  $\gamma$ -інтерферону були знижені у дітей з recurrent wheezing. Найнижчі показники виявлені у дітей з астмою. Відомо, що  $\gamma$ -інтерферон продукується Т-хелперами 1 класу. Він також відноситься до цілого ряду білків, що призводять до різноманітних клітинних реакцій, що стимулює протівірусну активність та є єдиним представником II типу інтерферонів зі специфічною, вираженою протівірусною активністю [25, 32]. Крім цього  $\gamma$ -інтерферон має властивість до інгібування секреторної активності Т-хелперів 2 класу. Враховуючи це, зниження рівнів  $\gamma$ -інтерферону сироватки крові вірогідно пов'язано з підвищенням активності Т-хелперів 2 класу, що опосередковано можливо розглядати як прояв алергічного запалення. Існують наукові роботи, які показують зниження рівнів  $\gamma$ -інтерферону у дітей, що часто хворіють [33]. Доведено, що зниження рівнів  $\gamma$ -інтерферону відповідало еозинофільному типу запалення у дорослих мишей з астмою [34]. Виявлені в нашій роботі знижені рівні  $\gamma$ -інтерферону в пацієнтів з wheezing, не пов'язаного з вірусними тригерами. Нами було трактовано зниження рівнів  $\gamma$ -інтерферону у дітей до 6 років з recurrent wheezing як вірогідний прояв хронічного алергічного запалення.

Нами був виявлений зворотній зв'язок між рівнями ІЛ-4 та  $\gamma$ -інтерферону, що є логічним, беручи до уваги відповідність цих показників до різних типів імунної відповіді. При цьому статистично достовірними були виявлені зв'язки у пацієнтів з лікар-діагностованою астмою. Подібні зв'язки були продемонстровані в сучасних наукових роботах при вивченні хронічного запалення при астмі у мишей [27, 34]. Дане дослідження підтверджує вірогідний зворотній зв'язок у дітей з хронічним алергічним запаленням.

Проведений аналіз ROC дозволив визначити значення «відсічення» ІЛ4 та  $\gamma$ -інтерферону в сироватці

криві, що мали прогностичну значимість щодо формування астми. Встановлено, що критерій ІЛ-4  $>15,33$  пг/мл та  $\gamma$ -інтерферону  $\leq 98,62$  пг/мл мали прогностичну значимість при формуванні астми у дітей з recurrent wheezing.

Це дослідження має ряд обмежень. По-перше, близько 46% дітей мали коморбідні захворювання – atopічний дерматит або харчову алергію, що можливо впливало на підвищення рівнів ІЛ 4 у сироватці крові. Таким чином, рівні показників цього цитокіну, які були отримані нами у дітей з астмою, могли мати більш високі показники через супутні алергічні захворювання [22]. Ще одним обмеженням дослідження є те, що астма являє собою гетерогенне захворювання та має багато фенотипів. Є види астми, механізмом розвитку яких є нейтрофільний і паугранулацитарний фенотип. Найбільш поширеним є еозинофільний тип запалення, який пов'язаний з еозинофільною клітинною інфільтрацією і потовщенням зони базальної мембрани. Проведене дослідження та обрані нами цитокіни відображають саме зазначений тип запалення, тобто у цьому дослідженні ураховувався еозинофільний фенотип захворювання.

#### Висновки:

1. Рівень ІЛ-4 у сироватці крові достовірно підвищувався в дітей у розпалі wheezing. Найвищі показники ІЛ-4 у сироватці крові виявлені у дітей, які мали сформувану астму.

2. Вміст  $\gamma$ -інтерферону в сироватці крові статистично достовірно знижений у дітей з recurrent wheezing. Найнижчі показники виявлені у дітей з астмою. Низький рівень  $\gamma$ -інтерферону опосередковано вказує на наявність алергічного запалення.

3. ІЛ-4 та  $\gamma$ -інтерферон, а також їх взаємодія при астмі, залучені у регулюванні алергічних запальних процесів в організмі та мають вплив на формування хронічного запалення дихальних шляхів.

4. Рівні ІЛ-4 вище ніж 15,33 пг/мл та  $\gamma$ -інтерферону нижче ніж 98,62 пг/мл у сироватці крові в дітей з рецидивами wheezing можна розглядати як можливий показник прогнозування формування астми.

**Перспективи подальших досліджень:** визначення критеріїв ранньої діагностики БА у дітей з рецидивуючими свистячими хрипами.

**Конфлікт інтересів.** Усі перелічені автори зробили достатній внесок у проект, щоб бути включеними в якості авторів, і всі ті, хто має право бути автором, вказані в авторській підбірці. Наскільки нам відомо, жодного конфлікту інтересів, фінансового чи іншого, немає. Ми включили подяки, конфлікти інтересів та джерела фінансування після обговорення.

**Фінансування.** Ми вдячні Харківському національному медичному університету за фінансування та можливість проведення дослідження.

## Література:

1. Global Initiative for Asthma (GINA). The Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Initiative for Asthma (2022 Report) [Internet]. 2022[cited 2023 Aug 14]. Available from: <https://ginasthma.org/gina-reports/>
2. Schoettler N, Strek ME. Recent Advances in Severe Asthma: From Phenotypes to Personalized Medicine. *Chest*. 2020;157(3):516-28. doi: 10.1016/j.chest.2019.10.009
3. Khalaf K, Paoletti G, Puggioni F, Racca F, De Luca F, Giorgis V, et al. Asthma from immune pathogenesis to precision medicine. *Semin Immunol* [Internet]. 2019[cited 2023 Aug 14]; 46:101294. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1044532319300016?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.smim.2019.101294
4. Agache I. Severe asthma phenotypes and endotypes. *Semin Immunol* [Internet]. 2019[cited 2023 Aug 14];46:101301. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1044532319300399?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.smim.2019.101301
5. Jiang Y, An R, Cheng L, Yue Q, Zhang H, Zhang Y, et al. Classification of non-acute bronchial asthma according to allergy and eosinophil characteristics: a retrospective study. *Allergy Asthma Clin Immunol* [Internet]. 2021[cited 2023 Aug 14];17(1):45. Available from: <https://aacjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13223-021-00546-1> doi: 10.1186/s13223-021-00546-1
6. Guo J, Zhu W, Wang H, Holt PG, Zhang G, Liu C. Risk factors and prognosis of recurrent wheezing in Chinese young children: a prospective cohort study. *Allergy Asthma Clin Immunol* [Internet]. 2019[cited 2023 Aug 14];15:38. Available from: <https://aacjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13223-019-0351-4> doi: 10.1186/s13223-019-0351-4
7. Papi A, Brightling C, Pedersen SE, Reddel HK. Asthma. *Lancet*. 2018;391(10122):783-800. doi: 10.1016/S0140-6736(17)33311-1
8. Israel E, Reddel HK. Severe and Difficult-to-Treat Asthma in Adults. *N Engl J Med*. 2017;377(10):965-76. doi: 10.1056/NEJMra1608969
9. Al-Moamary MS, Alhaider SA, Alangari AA, Idrees MM, Zeitouni MO, Al Ghobain MO, et al. The Saudi Initiative for Asthma – 2021 Update: Guidelines for the diagnosis and management of asthma in adults and children. *Ann Thorac Med*. 2021;16(1):4-56. doi: 10.4103/atm.ATM\_697\_20
10. Akar-Ghibril N, Casale T, Custovic A, Phipatanakul W. Allergic Endotypes and Phenotypes of Asthma. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2020;8(2):429-40. doi: 10.1016/j.jaip.2019.11.008
11. Bao Y, Chen Z, Liu E, Xiang L, Zhao D, Hong J. Risk factors in preschool children for predicting asthma during the preschool age and the early school age: a systematic review and meta-analysis. *Curr Allergy Asthma Rep* [Internet]. 2017[cited 2023 Aug 14];17(12):85. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11882-017-0753-7> doi: 10.1007/s11882-017-0753-7
12. Boulet LP, Reddel HK, Bateman E, Pedersen S, FitzGerald JM, O'Byrne PM. The Global Initiative for Asthma (GINA): 25 years later. *Eur Respir J* [Internet]. 2019[cited 2023 Aug 14];54(2):1900598. Available from: <https://erj.ersjournals.com/content/erj/54/2/1900598.full.pdf> doi: 10.1183/13993003.00598-2019
13. Popović-Grle S, Štajduhar A, Lampalo M, Rnjak D. Biomarkers in Different Asthma Phenotypes. *Genes (Basel)* [Internet]. 2021[cited 2023 Aug 14];12(6):801. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4425/12/6/801> doi: 10.3390/genes12060801
14. Castro-Rodriguez JA, Cifuentes L, Martinez FD. Predicting Asthma Using Clinical Indexes. *Front Pediatr* [Internet]. 2019[cited 2023 Aug 14];7:320. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fped.2019.00320/full> doi: 10.3389/fped.2019.00320
15. Oppenheimer J, Hoyte FCL, Phipatanakul W, Silver J, Howarth P, Lugogo NL. Allergic and eosinophilic asthma in the era of biomarkers and biologics: similarities, differences and misconceptions. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2022;129(2):169-80. doi: 10.1016/j.anai.2022.02.021
16. Makieieva N, Malakhova V, Vasylenko Y, Tsymbal V. Are level of IL-13 and IL-4 predictive for formation of chronic inflammation in children with asthma? *Adv Respir Med*. 2020; 88: 320-6. doi: 10.5603/ARM.a2020.0108
17. Makieieva N, Malakhova V, Vasylenko Y, Biriukova M. Is Willebrand Factor Indicative of Chronic Inflammation in Children with Asthma? *Turk Thorac J*. 2020;21(6):362-6. doi:10.5152/TurkThoracJ.2019.19051
18. Gans MD, Gavrilova T. Understanding the immunology of asthma: Pathophysiology, biomarkers, and treatments for asthma endotypes. *Paediatr Respir Rev*. 2020;36:118-27. doi: 10.1016/j.prrv.2019.08.002
19. Diamant Z, Vijverberg S, Alving K, Bakirtas A, Bjerner L, Custovic A, et al. Toward clinically applicable biomarkers for asthma: An EAACI position paper. *Allergy*. 2019;74(10):1835-51. doi: 10.1111/all.13806
20. Fahy JV. Type 2 inflammation in asthma – present in most, absent in many. *Nat Rev Immunol*. 2015;15(1):57-65. doi: 10.1038/nri3786
21. Licari A, Castagnoli R, Brambilla I, Marseglia A, Tosca MA, Marseglia GL, et al. Asthma Endotyping and Biomarkers in Childhood Asthma. *Pediatr Allergy Immunol Pulmonol*. 2018;31(2):44-55. doi: 10.1089/ped.2018.0886
22. Dubin C, Del Duca E, Guttman-Yassky E. The IL-4, IL-13 and IL-31 pathways in atopic dermatitis. *Expert Rev Clin Immunol*. 2021;17(8):835-52. doi: 10.1080/1744666X.2021.1940962
23. Pavord ID, Afzalnia S, Menzies-Gow A, Heaney LG. The current and future role of biomarkers in type 2 cytokine-mediated asthma management. *Clin Exp Allergy*. 2017;47(2):148-60. doi: 10.1111/cea.12881
24. Syabbalo N. Biomarkers for Diagnosis and Management of Eosinophilic Asthma. *Ann Clin Med Res* [Internet]. 2020[cited 2023 Aug 14];1(1):1003. Available from: <https://www.remedypublications.com/open-access/biomarkers-for-diagnosis-and-management-of-eosinophilic-asthma-5986.pdf>
25. Alspach E, Lussier DM, Schreiber RD. Interferon  $\gamma$  and Its Important Roles in Promoting and Inhibiting Spontaneous and Therapeutic Cancer Immunity. *Cold Spring Harb Perspect Biol* [Internet]. 2019[cited 2023 Aug 14];11(3): a028480. Available from: <https://cshperspectives.cshlp.org/content/11/3/a028480.long> doi: 10.1101/cshperspect.a028480
26. Muntaka S, Almuhan Y, Jackson D, Singh S, Afryic-Asante A, Cámara M, et al. Gamma Interferon and Interleukin-17A Differentially Influence the Response of Human Macrophages and Neutrophils to *Pseudomonas aeruginosa* Infection. *Infect Immun*. 2019;87(2): e00814-18. doi: 10.1128/IAI.00814-18
27. Huang M, Mehrabi Nasab E, Athari SS. Immunoregulatory effect of mesenchymal stem cell via mitochondria signaling pathways in allergic asthma. *Saudi J Biol Sci*. 2021;28(12):6957-62. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.07.071
28. Xu C, Song Y, Wang Z, Jiang J, Piao Y, Li L, et al. Pterostilbene suppresses oxidative stress and allergic airway inflammation through AMPK/Sirt1 and Nrf2/HO-1 pathways. *Immun Inflamm Dis*. 2021;9(4):1406-17. doi: 10.1002/iid.3490
29. Peters N, Peters AT. Atopic dermatitis. *Allergy Asthma Proc*. 2019;40(6):433-6. doi: 10.2500/aap.2019.40.4265

30. Nur Husna SM, Md Shukri N, Mohd Ashari NS, Wong KK. IL-4/IL-13 axis as therapeutic targets in allergic rhinitis and asthma. PeerJ [Internet]. 2022[cited 2023 Aug 14];10: e13444. Available from: <https://peerj.com/articles/13444/> doi: 10.7717/peerj.13444
31. Hammad H, Lambrecht BN. The basic immunology of asthma. Cell. 2021;184(6):1469-85. doi: 10.1016/j.cell.2021.02.016
32. Kang S, Brown HM, Hwang S. Direct Antiviral Mechanisms of Interferon-Gamma. Immune Netw [Internet]. 2018[cited 2023 Aug 14];18(5): e33. Available from: <https://immunenetw.org/DOIx.php?id=10.4110/in.2018.18.e33> doi: 10.4110/in.2018.18.e33
33. Ботьбот ЮК, Таран ОМ. Особливості функціонування системи інтерферону у дітей раннього віку. Медичні перспективи. 2007; XII(4):72-78.
34. Muralidharan A, Uddin MB, Bauer C, Wu W, Bao X, Sun K. IFN- $\gamma$  Attenuates Eosinophilic Inflammation but Is Not Essential for Protection against RSV-Enhanced Asthmatic Comorbidity in Adult Mice. Viruses[Internet]. 2022[cited 2023 Aug 14];14(1):147. Available from: <https://www.mdpi.com/1999-4915/14/1/147> doi: 10.3390/v14010147

## LEVELS OF IL-4 AND $\gamma$ -INTERFERON IN CHILDREN'S BLOOD SERUM AS PREDICTORS OF ASTHMA FORMATION

*N. I. Makieieva, V. V. Andrushchenko, V. M. Malakhova, V. M. Tsybal, N. P. Aliksieieva*

Kharkiv National Medical University  
(Kharkiv, Ukraine)

### Summary

The prevalence of asthma continues to increase every year. Asthma is the leading chronic disease. Inflammation, both acute and chronic, is closely related to the action of cytokines (pro- and anti-inflammatory). T-helper 2 lymphocytes release IL-4, which triggers the production of immunoglobulin E (IgE) antibodies, which set the stage for allergy and activate inflammatory cells. The regulators of this process are T helper-1 lymphocytes, which produce cytokines (IFN-gamma) that suppress Th-2 activity. Disturbances in the ratio of Th-1/Th-2 lymphocyte clones are a subject of debate in the early detection of asthma and the prediction of the development of this disease.

**The aim** of the study was to evaluate the levels of IL-4 and  $\gamma$ -interferon in the blood serum of children with transient wheeze and asthma.

**Material and methods.** 121 children were included in the study. The patients were divided into groups: group 1 – children with transient wheezing (TW) (n = 81), group 2 – children with doctor-diagnosed asthma (DDA) (n = 15), group 3 – healthy children (n = 25).

IL-4 and  $\gamma$ -interferon in blood serum were analyzed by ELISA using commercial kits (human IL-4 and human  $\gamma$ -interferon «Vector Best-Ukraine»). Data were analyzed using Statsoft Statistica version 8 (Tulsa, OK) and the MedCalc version 17.2 statistical program.

The planned clinical trials were conducted after obtaining the approval of the local ethics committee (date: February 1, 2015; number: 2015/01) and were conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki, as amended in October 2013.

This article was conducted within the framework of the Department of Pediatrics No. 2 of Kharkiv National Medical University «Medical and biological aspects of adaptation of children with somatic pathology to modern conditions. Prediction of asthma control in children taking into account inflammatory markers and the state of the airway barrier of the lungs» (state registration number 0120U102471).

**Results.** It was found that in children of the first and second groups, in the midst of clinical manifestations of wheezing, IL-4 levels significantly increased and serum  $\gamma$ -interferon levels decreased. The highest levels of IL-4 and the lowest levels of serum  $\gamma$ -interferon were found in patients with DDA.

Serum levels of IL-4 above 15.33 pg/mL and  $\gamma$ -interferon below 98.62 pg/mL in children with wheezing episodes may be considered as a possible indicator of asthma development.

**Conclusions.** Serum IL-4 and  $\gamma$ -interferon are involved in the regulation of allergic inflammatory processes in the body. A statistically significant increase in IL-4 levels and a decrease in  $\gamma$ -interferon levels in the blood serum of patients with asthma is likely to indicate the development of a chronic form of inflammation.

**Key words:** Asthma; Transient wheezing; IL-4;  $\gamma$ -interferon; Children.

### Контактна інформація:

**Хамраєв Абдурашид Джуракулович** – д.мед.н., професор кафедри госпітальної дитячої хірургії Ташкентського педіатричного медичного інституту (м. Ташкент, Республіка Узбекистан)

**e-mail:** [abdurashid-56@rambler.ru](mailto:abdurashid-56@rambler.ru)

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-7651-8901>

**Рахмонов Дільшод Бурхонович** – к.мед.н., заступник, головний лікар обласної багатопрофільної дитячої лікарні м. Самарканд (м. Самарканд, Республіка Узбекистан)

**e-mail:** [dilshod.rahmonov81@mail.ru](mailto:dilshod.rahmonov81@mail.ru)

**ORCID:** <https://orcid.org/0009-0004-8838-2855>

**Хамроєв Улугбек Абдурашидович** – к.мед.н., завідувач кафедри госпітальної хірургії новонароджених республіканського перинатального центру Ташкентського педіатричного медичного інституту (м. Ташкент, Республіка Узбекистан)

**e-mail:** [ulugbek307@rambler.ru](mailto:ulugbek307@rambler.ru)

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-6269-5862>

### Contact Information:

**Abdurashid Khamraev** – Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Hospital Pediatric Surgery of the Tashkent Pediatric Medical Institute (Tashkent, Republic of Uzbekistan)

**e-mail:** [abdurashid-56@rambler.ru](mailto:abdurashid-56@rambler.ru)

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-7651-8901>

**Dilshod Rakhmonov** – PhD of the Deputy, Chief physician of the regional multidisciplinary children's hospital of Samarkand (Samarkand, Republic of Uzbekistan)

**e-mail:** [dilshod.rahmonov81@mail.ru](mailto:dilshod.rahmonov81@mail.ru)

**ORCID:** <https://orcid.org/0009-0004-8838-2855>

**Ulugbek Khamroev** – PhD of the Department of Hospital neonotals surgery of the Republic Perinatals Center Tashkent Pediatric Medical Institute (Tashkent, Republic of Uzbekistan)

**e-mail:** [ulugbek307@rambler.ru](mailto:ulugbek307@rambler.ru)

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-6269-5862>



Надійшло до редакції 03.06.2023 р.  
Підписано до друку 15.08.2023 р.