Вищий державний навчальний заклад України
«Українська медична стоматологічна академія»
Українська Академія наук національного прогресу

Проблеми екології та медицини

Том 18 №3-4 2014

НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ЖУРНАЛ *Заснований в 1997 році*

Виходить 1 раз на 2 місяці

З м і с т

ОГЛЯДИ ЛІТЕРАТУРИ

IKK-IKB-NF-KB GENE MANIPULATIONS AND POLYMORPHISMS IN RELATION TO SUSCEPTIBILITY TO DIFFERENT DISEASES
Kaidashev I. P. ***3***

КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

РЕТРОСПЕКТИВНИЙ АНАЛІЗ ЗАХВОРЮВАНОСТІ НА ГРИП ТА ПНЕВМОНІЇ В ОКРЕМИХ РЕГІОНАХ УКРАЇНИ ТА СИНЕРГІЗМУ МІЖ НИМИ
[1]Дзюблик Я.О., [2]Соловйов С.О. ***19***

ENGLISH VERSION: RETROSPECTIVE ANALYSIS OF INFLUENZA AND PNEUMONIA MORBIDITY AND THEIR SYNERGISM IN SOME REGIONS OF UKRAINE
Dziublyk Ya. O., Soloviev S. O. ***23***

ОСОБЛИВОСТІ КЛІНІЧНИХ ПРОЯВІВ ТА ТЕРАПІЇ ІШЕМІЧНОЇ ХВОРОБИ СЕРЦЯ ІЗ СУПУТНІМ ХОЗЛ
Настрога Т.В. ***28***

ENGLISH VERSION: CLINICAL ASPECTS AND TREATMENT OF ISCHEMIC HEART DISEASE ASSOCIATED WITH COPD
Nastroha T.V. ***31***

ОСОБЛИВОСТІ ІМУННОГО СТАТУСУ ХВОРИХ НА АЛЕРГІЧНИЙ РИНІТ У ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ TLR 2,4 ТА ГАЛЕКТИНУ-10
Сакевич В. Д., Шликова О. А., Кайдашев І. П. ***34***

ENGLISH VERSION: FEATURES OF THE IMMUNE STATUS OF PATIENTS WITH ALLERGIC RHINITIS, DEPENDING ON TLR 2,4 AND 10 «GALECTIN» GENE POLYMORPHISM
Sakevych V. D., Shlykova O.A., Kaidashev I. P. ***39***

ПОШИРЕНІСТЬ СТЕНОЗУЮЧОГО ЛАРИНГОТРАХЕЇТУ У ДІТЕЙ М. ВІННИЦІ, ВІКОВІ ТА ГЕНДЕРНІ ОСОБЛИВОСТІ
Станіславчук Л.М. ***44***

ENGLISH VERSION: PREVALENCE OF LARYNGOTRACHEITIS IN CHILDREN OF VINNYTSYA CITY, AGE AND GENDER STRUCTURE
Stanislavchuk L.M. ***46***

СТОМАТОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ

ХРОНІЧНИЙ ПАРОДОНТИТ ЯК ФАКТОР РИЗИКУ ІНШИХ ХРОНІЧНИХ ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ЛЮДИНИ

Шинкевич В.І. 49

ENGLISH VERSION: CHRONIC PERIODONTITIS AS A RISK FOR CHRONIC INFLAMMATORY DISEASES OF HUMAN

Shynkevich V.I. 53

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

ВЛИЯНИЕ В ПОДОСТРОМ ОПЫТЕ ОЛИГОЭФИРЦИКЛОКАРБОНАТА НА ОБМЕН МОНОАМИНОВ И АКТИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ ДЕЗАМИНИРОВАНИЯ В СУБТОКСИЧЕСКИХ ДОЗАХ

Багмут И.Ю. 58

ENGLISH VERSION: INFLUENCE OF SUBACUTE EXPERIMENT WITH EXCHANGE OLIGOETHERCYKLOCARBONAT IN SUBTOXIC DOSES ON MONOAMINES AND ACTIVE PROCESSES DEAMINATION

Bagmut I.Yu. 61

ВЛИЯНИЕ МЕТФОРМИНА НА ЛИПИДНЫЙ ОБМЕН И ХРОНИЧЕСКОЕ ВОСПАЛЕНИЕ В ТКАНЯХ ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ ПРИ ДИЕТЕ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ФРУКТОЗЫ

Шлыкова О. А., Микитюк М. В., Боброва Н.Л, Измайлова О. В., Мамонтова Т.В., Баранова А. Ф., Веснина Л.Э., Кайдашев И. П. 64

ENGLISH VERSION: INFLUENCE OF METFORMIN ON LIPID METABOLISM AND CHRONIC INFLAMMATION IN THE LIVER TISSUES OF MICE ON A DIET RICH IN FRUCTOSE

Shlykova O.A. , Mikityuk M.V. , Bobrova N.L.. , Izmailova O.V. , Mamontova T.V. , Baranova A.F. , Vesnina L.E. , Kaidashev I.P. 67

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

РЕЗУЛЬТАТЫ 3-МЕСЯЧНОГО ЛЕЧЕНИЯ МЕТФОРМИНОМ ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА В СОЧЕТАНИИ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Лавренко А.В., Расин М.С., Савченко Л.Г., Мамонтова Т.В., Веснина Л.Э., Кайдашев И.П. 71

ENGLISH VERSION: RESULTS OF A 3 MONTH TREATMENT WITH METFORMIN IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS ASSOCIATED WITH ISCHAEMIC HEART DISEASE

Lavrenko A. V., Rasdin M. S., Savchenko L.G.,, Mamontova T. V., Vesnina L. E., Kaidashev I. P. 75

ОГЛЯДИ ЛІТЕРАТУРИ

© Kaidashev I. P.
УДК 616.1/4. – 002 – 008.9

IKK-IKB-NF-KB GENE MANIPULATIONS AND POLYMORPHISMS IN RELATION TO SUSCEPTIBILITY TO DIFFERENT DISEASES*

Kaidashev I. P.

Internal Disease Department Research Institute for Genetic and Immunological Grounds of Pathology and Pharmacogenetics
Ukrainian Medical Stomatological Academy

Адаптація організмів до навколишнього середовища, механічних, хімічних та мікробіологічних впливів вимагає індуцибельної регуляції експресії генів. Одним із найвідоміших індуцибельних транскрипційних факторів є NF-kB. NF-kB має еволюційне значення не тільки для імунної системи, але й для інших органів і систем, визначаючи на експресію генів, які регулюють виживання, диференціювання і проліферацію клітин. Сигнали NF-kB, опосередковані NEMO-залежними або NEMO-незалежними IKK комплексами, слід розглядати в контексті єдиної регулюючої або сигналізуючої системи. В даному огляді ми відстежуємо деякі з важливих відкриттів, що супроводжують опис єдиної системи IKK-IKB-NF-kB для канонічної і неканонічної сигналізації. Зокрема, ми описуємо мінливість генів цієї системи та її фенотипні наслідки. Генетичні порушення цієї системи призводили до змін органогенезу і регенерації, до злоякісних пухлин, аутоімунних і запальних захворювань. Всі члени IKK-IKB-NF-kB системи можуть стати предметом як дослідження, так і маніпуляції генами. Системний генетичний підхід може стати потужним інструментом для дослідження функцій системи IKK-IKB-NF-kB і для відкриття нових діагностичних і терапевтичних стратегій.

Ключові слова: NF-kB, поліморфізми, мутація, захворювання, запалення, злоякісне новоутворення

Introduction.

The adaptation of organisms to environmental, mechanical, chemical and microbiological stresses needs inducible regulation of gene expression. One of the most well-known inducible transcription factors is NF-kB. NF-kB has evolutionarily conserved importance not only for the immune system but also for other organs and systems influencing gene expression that impact cell survival, differentiation, and proliferation. The broken NF-kB regulation leads to severe pathological conditions and diseases [1; 2; 3; 4; 5; 6]. However, despite the progress that has been made in understanding the regulation of NF-kB, there is much that remains to be understood [7]. NF-kB signalling system is involved in the development and maintenance of immune system [8], heart and vessels [9; 10], liver [11; 12], pancreas [13], muscles [14], lung [15], brain [16] etc. Number of diseases involved NF-kB system, such as: autoimmune diseases, cancer, cardiovascular disease, metabolic diseases and other [17]

There are two major pathways of NF-kB activation – inflammation with proinflammatory cytokines production [1] and malignancy with NF-kB activation accompanied by subsequent up-regulation of proliferative and anti-apoptotic agents [18].

The great interest to and importance of this transcriptional factor are displayed in *PubMed*. Searching *PubMed* for “NF-kB” yields nearly 44,100 articles (16,600 in last 5 years). This huge amount of publications concerning NF-kB has made writing of this review too difficult. Therefore, in the current review, we observe the most fundamental and partly formalized aspects of NF-kB regulation and elucidate genetic variabilities of NF-kB system that can lead to the development of numerous diseases. Of course, it is absolutely impossible to cite all primary references, used in the review but the author recommends an important set of reviews [7; 19; 20; 21; 22; 23; 24; 25; 26].

In this review we describe gene variability and its phenotypic consequences in the context of IKK-IKB-NF-kB system integrity as a useful concept for the discovery of new diagnostic and therapeutic strategies.

General information about NF-kB system. NF-kB family of transcription factors consists of effectors of a signalling system that is responsive to a large number of stimuli, mediated by most members of the tumor necrosis factor receptor (TNFR) and Toll-like receptor (TRL) superfamilies and metabolic/genotoxic stress inducers. There are three major reasons for NF-kB activation – inflammatory signals, stress response signalling and developmental (organogenic) signalling.

Inflammatory signalling. Inflammatory signals, such as cytokins (TNF-α, IL-1β), microbial products (LPS, CpG) activate NF-kB system through “classical” or “canonical” pathway. Briefly, the binding of TNFR or TLR causes phosphorylation-dependent activation of IkB

* *To cite this English version: Kaidashev I. P. IKK-IKB-NF-KB gene manipulations and polymorphisms in relation to susceptibility to different diseases / / Problemy ekologii ta medytsyny. - 2014. - Vol 18, № 3-4. - P. 3 -18.*

kinase (IKK) complex which consists of two catalytic subunits, IKKα and IKKβ, and the scaffolding protein, IKKγ / NF-kB essential modulator (NEMO). Activated IKK complex phosphorylates IkBα,-β and-ε. IkBα is the predominant form of IkB in most cells, bound to RelA:p50 dimer. Phosphorylation of IkBβ signals the E3 ubiquitin ligase β-TrCp, which catalyzes K48-linked ubiquination of IkBα leading to its subsequent degradation by the 26 S proteasome [27]. Degradation of IkBα releases RelA:p50, allowing it to localize to nucleus to bind DNA and activate gene expression.

Recent studies demonstrated that three canonical IkB proteins IkBα,-β and-ε have distinct roles in the dynamic control of NF-kB activation and termination [28]. Different inflammatory stimuli elicit different IKK activation profiles, which induce distinct temporal profiles of NF-kB activity.

Stress response signalling. Homeostatic regulation of IkB synthesis and degradation renders the NF-kB system insensitive to a variety of perturbations. The differential degradation of free and bound IkB allows for compensation between IkBs [29]. Very short half-life of free IkB necessitates a high rate of constitutive IkB synthesis to maintain a small excess of free IkB in the cell that is critical for keeping basal IkB activity levels low. Very high constitutive IkB synthesis and degradation flux provides resistance of NF-kB system to transient alterations in translation rates that are a hallmark of metabolic stress agents (ultraviolet radiation, unfolded protein response, other ribotoxic stress) [30]. DNA damage initiates the activation of the nuclear kinase ataxia telangiectasia mutated (ATM), the primary regulator of the tumor suppressor and transcription factor p53, the sumoylation of NEMO by the sumo ligase PIASy, promoting the nuclear localization of NEMO [31]. The cytoplasmic ATM-NEMO complex associates with the protein ELKS, facilitating ATM-dependent activation of the canonical IKK complex, leading to IKBα degradation and NF-kB activation [32].

Developmental (organogenic) signaling. Noninflammatory signals activate NF-kB pathway through the noncanonical NF-kB signaling. The noncanonical NF-kB signal pathway is initiated by the stimulation of TNFR superfamily with its ligands, such as B-cell activating factor (BAFF), lymphotoxin β (LTβ) and receptor activator of NF-kB ligand (RANKL). The noncanonical pathway does not involve NEMO/IKKβ-containing kinase complex but utilizes IKKα-containing kinase complex with activation of NF-kB-inducing kinase (NIK). In certain condition this pathway may crosstalk with activation of canonical one [33].

Such signals lead to the generation of the RelB:p52 dimer and RelA:p50 (via degradation of IkBδ). IkBδ activity is the result of p100 dimerization (through their RHD-interacting domains) [34]. Noncanonical signals induce the degradation of IkBδ, realizing RelA:p50 and RelB:p50 to the nucleus. Due to changes in the synthesis of p100 and p52 after 3h of stimulating the shift of predominant dimer composition from Rel:p850 and RelB:p50 to RelA:p52 and RelB:p52 occurs.

Single NF-kB system for both canonical and non-canonical signaling. Today_the numerous interconnections between canonical and non-canonical NF-kB pathways are indicated. Studies with knockout animals revealed functional overlap and interdependencies between canonical and non-canonical pathways. In the context of this review, the highly attractive position was formulated by Hoffmann et al. [20] that NF-kB signaling mediated by NEMO-dependent or NEMO-independent IKK complexes should be considered within the context of a single regulatory or signaling system [35]. Important message that the NIK, long associated with the regulation of the noncanonical pathway does in fact regulate canonical NEMO-associated IKK activity [36].

Observations suggest that NEMO-dependent and-independent signaling should be viewed within the context of a single IKK-IKB-NF-kB signaling system, which mediates signaling from both inflammatory or organogenic stimuli in an integrated manner [37; 35]. This system consists of several different IKK kinase complexes, at least 5 IKBs and 15 potential NF-kB dimeric complexes that are interdependently regulated and temporally controlled through feedback.

The recent data about the members of IKK-IKB-NF-kB signaling system are summarized in **Table 1** for clear understanding of the whole cascade.

Table 1.
IKK-IKB-NF-kB signaling system

Kinases involved in NF-KB signaling			
Gene	Polypeptide	Function	
ikbka (*Chuk*) *ikbkb* *ikbkg*	IKK complex		
	IKK1 (α) IKK2 (β) IKK γ (NEMO)	catalystic subunit catalystic subunit regulatory subunit	
nik (*Map 3k14*)	NIK	NF-KB-inducing kinase	
IkB protein family members			
Gene	Polypeptide	Stimuli that induce degradation	Receptors which bind stimuli
nfkbia *nfkbib* *nfkbie*	IkBα IkBβ IkBε	TNF, LPS, IL-1	TCR, BCR, TLR, TNF-R, IL-1R
nfkb1	p 105	LPS (in B cells)	CD14, TLR4
nfkb2	p 100	LTβ, CD40L, BAFF, RANKL, 0X40	LTβR/RANKL, CD40, BAFF-R
NF-kB family members			
Gene	Polypeptide	Possible dimers	DNA targeting activity
rela *crel* *relb* *nfkb1* *nfkb2*	RelA cRel RelB p50 p52	RelA: p50, RelA: p52, RelA: cRel, RelA: RelA, cRel: p50, cRel: p52, c Rel: cRel, RelB: p50, RelB: p52	DNA binding and activation of gene transcription
		p52: p50, p52: p52, p50: p50	DNA binding without activation of gene transcription
		RelA: cRel, RelA: RelA, cRel: cRel	Do not bind DNA

All these molecules may have different genetic variants and mutations which can influence their physiological functions. The recent data were summarized by Sun and Zhang [38].

Mis-regulation of the NF-kB pathway, either by mutation or epigenetic mechanisms, is involved in many human and animal diseases, especially ones that are associated with chronic inflammation, immunodeficiency or

cancer. Mutations can be germline or somatic and include gene amplification (e.g., Rel), point mutations and deletions (Rel, NF-kB2, IKBα, NEMO) and chromosomal translocations (Bcl-3) [39].

Below we propose to discuss IKK-IKB-NF-kB signaling system in the context of two approaches: targeted modification of genes involved and naturally occurred gene variability.

Animal models in the study of IKK-IKB-NF-KB signaling system. The generation of animal models in which individual members of gene families are genetically altered is a particularly attractive way to elucidate their function. IKB-NF-kB family and the family of kinases involved in NF-kB signaling constitute an important system of transcription factors and regulatory proteins that control the expression of cellular and viral genes crucial for a variety of processes. The findings from knockout and transgenic mice developed to study IKB-NF-kB function in vivo revealed its role in embryogenesis, development, inflammatory and stress responses [40].

ikbka

IKK1^{AA} knock-in mice spleenocytes treated with LTBR agonists had defective expression of SIC (secondary lymphoid tissue chemokine), ELC (EBI1 ligand chemokine), BLC (B lymphoblastoid cell chemokine), SDF1 (stromal cell-derived factor 1) and BAFF, so IKK1 was crucial for the chemokines and cytokines production involved in lymphoid organogenesis [41].

IKK1^{AA} mice without functional IKK1 kinase activity fail in lactation during pregnancy [42].

Knockout of IKK1 severely impaired the ability of doxorubicin to initiate NF-kappa-B-binding activity. Thus, IKK1 plays a critical role in NF-kB-mediated chemoresistance in response to doxorubicin [43].

ikbkb

To elucidate the *in vivo* function of IKK-β (IKK2), IKK2-deficient mice were generated. The homozygous mouse embryo dies due to liver degeneration and apoptosis. IKK2-deficient embryonic fibroblasts have both reduced basal NF-kB activity and impaired cytokine-induced NF-kB activation. Similarly, basal and cytokine-inducible kinase activities of the IKK complex are greatly reduced in IKK2-deficient cells. Thus, IKK2 is crucial for liver development and regulation of NF-kB activity [44]. Mouse fibroblast cells that were isolated from IKK2-/- embryos showed a clear reduction in TNF-α and interleukin-1α-induced NF-kB activity and an enhanced apoptosis in response to TNF-α. These results show that IKK2 is essential for mouse development [45].

IKK2-deficient mice have a phenotype that is remarkably similar to that of mice deficient in both the RelA (p65) and NF-kB1 (p50/p105) subunits of NF-kB. Accordingly, IKK2-deficient cells are defective in activation of IKK and NF-kB in response to either TNF-α or interleukin-1. IKK2, but not IKK1, plays the major role in IKK activation and induction of NF-kB activity. In the absence of IKK2, IKK1 is unresponsive to IKK activators [46].

Conditional gene targeting was used to evaluate the role of these proteins in B cells in adult mice. B lineage-specific disruption of IKK2-specific signals by ablation of IKK2 activity leads to the disappearance of mature B-lymphocytes. The maintenance of mature B cells depends on IKK-mediated activation of NF-kB [47]. IKK2 deficiency inhibits NF-kB activation, but does not lead to keratinocytes hyperproliferation or dysplasia. Mice with epidermis-specific deletion of IKK2 develop a severe inflammatory skin disease, which is caused by a TNF-mediated, T-cell-independent inflammatory response in the skin. The critical function of IKK2-mediated NF-kB activity in epidermal keratinocytes is to regulate mechanisms that maintain the immune homeostasis of the skin [48]. Absence of IKK2 due to knockout resulted in impaired induction of NF-kB DNA-binding activity in response to doxorubicine [43]. Deletion of IKK2 in mice with model of Duchenne muscular dystrophy led to decreasing of inflammation and muscle necrosis, and restoration of muscle fibers' regeneration through the activation of muscle progenitor cells [49].

Transgenic expression of IKK2 in mice directly increased the activity of NF-kB in pancreatic acinar cells and induced pancreatitis [50].

ikbkg

Mutant *ikbkg* (NEMO/IKKγ-deficient mice) embryos die of severe liver damage due to apoptosis. NEMO-deficient primary murine embryonic fibroblasts (MEFs) lack detectable NF-kB DNA-binding activity in response to TNF-α, IL-1, and LPS. Consistent with these data, mutant MEFs show increased sensitivity to TNF-α-induced apoptosis. Thus, NEMO/IKKγ is an essential, noncatalytic component of the IKK complex [51].

The allele of *ikbkg* in mice that impaired Toll-like receptor signaling, lymph node formation, development of memory and regulatory T cells, and immunoglobulin production was described [52].

Disruption of the X-linked gene encoding NF-kB essential modulator (NEMO) produces male embryonic lethality, completely blocks NF-kB activation by proinflammatory cytokines, and interferes with the generation and/or persistence of lymphocytes. Heterozygous female mice develop patchy skin lesions with massive granulocyte infiltration and hyperproliferation and increased apoptosis of keratinocytes. Diseased animals present severe growth retardation and early mortality. Male lethality and strikingly similar skin lesions in heterozygous females are hallmarks of the human genetic disorder incontinentia pigmenti (IP) [53].

nik

Disruption of NIK locus by gene targeting (NIK$^{-/-}$ cells) led to the abnormalities in both lymphoid tissue development and antibody responses [54].

The loss of NIK activity due to knockout (*nik*$^{-/-}$) led to functional blockade of both alternative and classical NF-kB caused by cytoplasmic retention by p100. NIK- deficient osteoclasts precursors failed to differentiate [55].

Using transgenic mice with osteoclast-lineage expressing NIK lacking its TRAF 3 binding domain, Yang et al. [56] found that NIK controls activation of alternative NF-kB pathway, a critical pathway for osteoclast differentiation. Constitutive activation of NIK drives enhanced osteoclastogenesis and bone resorption.

nik $^{-/-}$ mice were completely resistant to antigen-induced arthritis which requires intact antigen presentation and lymphocyte function. *nik* $^{-/-}$ mice were also resistant to a genetic, spontaneous form of arthritis, generated in mice expressing both the KRN T cell receptor and H-2. Thus, *nik* is important in the immune and bone-destructive components of inflammatory arthritis and represents a possible therapeutic target for these diseases [57].

nic$^{-/-}$ mice had a complex phenotype consisting of immunosuppressions mediated by CD25$^-$ Foxp3$^-$ memory CD4$^+$ cells and, in the absence of those cells, hyperresponsive naïve CD4$^+$ T cells which caused autoimmune lesions after adoptive transfer into hosts deficient

in recombination-activating genes [58]. These findings showed the importance of p100 for the activation of naïve T cells.

A point mutation causing an amino acid substitution in the carboxy-terminal interaction domain of NIK results in autosomal recessive alymphoplasia (aly) in mice. This disorder is characterized by the systemic absence of lymph nodes and Peyer's patches, disorganized splenic and thymic structures with immunodeficiency [59]. Also aly/aly mice had the reduced serum levels of immunoglobulins and the absence of class switch to IgA [60].

A natural mutation of the gene encoding NIK in aly mice cripples the function of NIK in p100 processing, causing a severe defect in p52 production [61].

nfkbia

nfkbia knockouts result in lethality 7-10 days after birth due to hyperinflammation [62]. Mutation in kB enhancers of *nfkbia* promoter led to short lifespan, hypersensitivity to septic shock and abnormal T-cells development and attraction [63].

For investigation of IKBα the transgenic mice expressing the IKB-α S32/36A superrepressor protein under control of the mouse mammary tumor virus long terminal repeat promoter were generated. It was shown that mice had a transient delay in mammary ductal branching. Thus, IKBα and consequent activation of RelB/p52 involved in mammary gland development and carcinogenesis [64].

Mice with pancreas-specific deletion of *nfkbia* had constitutive activation of RelA and a gene expression profile consistent with NF-kB activation; development of acute pancreatitis in these mice was attenuated and trypsin activation was impaired [65].

nfkbib

Absence of IkBβ results in a dramatic reduction of TNF-α in response to LPS even though activation of NF-kB is normal. As a result, *nfkbib*$^{-/-}$ mice are resistant to LPS-induced septic shock and collagen-induced arthritis [66].

IκBβ-deficient mice proved to be highly refractory to LPS-induced lethality, accompanied by a strong reduction in sepsis-associated cytokine production. Further transcriptome analysis of LPS-stimulated wild-type and IkBβ-deficient bone marrow-derived macrophages revealed several other genes with known regulatory functions in innate immunity arguing that a subset of NF-kB target genes (including IL-1) is under control of IkBβ [67].

In the absence of IkBβ, IkB-α or other inhibitory proteins can regulate NF-kB functions essential to acute neutrophil emigration in the lungs [68].

nfkbie

nfkbie knockout mice are not lethal, but result in the increased expression of IL-1 alpha, IL-1β, IL-1Ra and IL-6 mRNA in contrast to GM-CSF, C-CSF, and IFN-γ which remain undetectable. Also 50% reduction of the $CD44^{-}$ $CD25^{+}$ T cell subspecies was shown in mutant mice. Knockout mice presented constitutive up-regulation of IgM and IgG1 isotypes [69].

Neither IKBα nor IKBε deficiency had major effects on NK cell generation, while their combined absence led to NF-kB hyperactivation, resulting in reduced NK cell numbers, incomplete NK cell maturation, and defective IFN-γ production [70].

nfkb1

Mice lacking the p50 subunit of NF-kB1 showed no developmental abnormalities, but exhibited multifocal defects in immune responses involving B lymphocytes and non-specific responses to infections. These mice were unable to clear L. *monocytogenes* and were more susceptible to S. *pneumonia* [71].

Deletion of p50 led to the extent of expansive remodelling and aggravated systolic dysfunction increasing of interstitial fibrosis and hypertrophy in the noninfarcted myocardium and inflammation in mice with myocardial ischemia [72].

In contrast, gene deletion of p50 in mice does not alter the hepatic inflammatory response to ischemia/reperfusion. Despite abrogation of DNA-binding by NF-kB p50/p65 complex, p65 was still observed in nuclear extracts suggesting that there may be functional redundancy amongst members of the Rel protein family in order to preserve the inflammatory response [73]. $p50^{-/-}$ mice demonstrated the enhanced premature cytoxicity of murine embryonic fibroblasts infected by murine encephalomyocarditis virus. These results showed that p50 is equally important in suppressing apoptosis during viral infection [74].

NF-kB1 deficiency in OTII cells (mouse OVA-specific $CD4^{+}$ T cells) results in impairment of IL-4 and IL-13 production and expression of CXCR5. These results suggest that NF-kB1 regulates the expression of CXCR5 on $CD4^{+}$ T cells primed in vivo, and thus selectively controls the B-cell response to alum OVA [75].

Yang et al. [76] found that in *nfkb1* (SSAA/SSAA) mice in which IKK target serines on p105 are mutated to alanines the agonist-induced release of TPL-2 kinase from its inhibitor p105 was prevented. The *nfkb1* (SSAA) mutation also prevented LPS-induced processing of p105 to p50 and reduced p50 levels. This *nfkb1* mutation resulted in less activation of NF-kB in $CD4^{+}$ T cells and proliferation of $CD4^{+}$ T cells after stimulation of the T cell antigen receptor. So, IKK-induced p105 proteolysis was therefore essential for optimal T cell antigen receptor-induced activation of NF-kB and mature $CD4^{+}$ T cell function [77].

nfkb2

nfkb2$^{-/-}$ mice showed a marked reduction in the B cell compartment in spleen, bone marrow, and lymph nodes. Spleen and lymph nodes of mutant mice presented on altered architecture with diffuse, irregular B cell areas and the absence of discrete perifollicular marginal and mantle zones. These animals presented a deficient immune response to T cell-dependent and-independent antigens [78]. p52 null mutant mice were impaired in their ability to generate antibodies to T-dependent antigens, consistent with an absence of B cell follicles and follicular dendritic cell networks in secondary lymphoid organs, and the inability to form germinal centers [79].

In *nfkb2*$^{-/-}$ mice microscopic inspection showed the absence of detectable Peyer's patches. Whole-mount in situ hybridization revealed the presence of IL-7 receptor-alpha spots in these mice, indicating no defect in Peyer's patches organogenesis in principle. Immunostaining showed that residual lymphocytes mainly consisted of T cells. B cells were reduced and accumulated as terminal extravasations. Organized follicular structures and follicular dendritic cell networks fail to form, and myeloid, but not lymphoid dendritic cells were obviously reduced. Expression of several chemokines was impaired in epithelial cells and in the subendothelial dome area that was not well defined [80]. In NF-kB2, encoding p100/p52, deficient mice the development of Peyer's patches was impaired [81].

Tucker et al. [82] generated novel mutation in *nfkb2* that prevents the processing of the inhibitory precursor,

p100, into the active subunit, p52. Mutant mice express a complex phenotype with abnormalities in a variety of tissues and with a spectrum that is more severe than in mice carrying a targeted deletion of *nfkb2*. Thus, NF-kB2 had a key role in the regulation of RelA activation (with p100 and p52 production).

T cells from *nfkb2*$^{-/-}$ mice which cannot generate the p52 component of noncanonical NF-kB2 were also costimulation independent, consistent with the negative role of this unprocessed protein in canonical NF-kB activation [83].

In transgenic mouse model with lymphocyte-targeted expression of p80HT, a lymphoma-associated NF-kB2 mutant, approximately 40% of mice showed elevated levels of monoclonal immunoglobulin in the serum and developed plasma cell tumors. B cells from these mice revealed affected survival and aberrant expression of cyclin D1, cyclin D2, IL-10 and IL-15 [84].

The generation of transgenic mice with targeted expression of p80HT, a lymphoma-associated NF-KB2 mutant, in lymphocytes led to marked expansion of peripheral B cell populations and develops predominantly small B cell lymphomas. These B cells showed specific resistance to apoptosis induced by cytokines deprivation and mitogenic stimulation [85].

In contrast to *nfkb2*$^{-/-}$ mice, which lack both p100 and p52, mice that lack only the inhibitory p100 precursor but still express the p52 subunit of NF-KB2 (p100$^{-/-}$) had markedly elevated the splenic marginal zone B cell numbers. Both cell-intrinsic mechanisms and increased stromal expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) contributed to the accumulation of B cells in the marginal zone in p100$^{-/-}$ spleens. p100 deficiency resulted in the absence of normal marginal sinus, strongly induced expression of mucosal addressing cell adhesion molecule-1 (MAdCAM)-1 and glycosylated cell adhesion molecule-1 (GlyCAM-1), and the formation of nonfunctional ectopic high endothelial venule (HEV)-like structures in the red pulps [86].

Mice lacking p100 (p100$^{-/-}$) but still containing a functional p52 protein had marked gastric hyperplasia, resulting in early postnatal death, alterations of hemotopoietic tissues, enlarged lymph nodes, increased lymphocyte proliferation, enhanced cytokine production in activated T cells. These data supposed that p100 was essential for the proper regulation of p52-containing Rel/NF-kB complexes [87].

In C57BL/6 mice a mutant strain with selective deficiency in recirculating B cells but not immature or peritoneal B1 cells was associated with a point mutation in the gene encoding NF-KB2, terminating the encoded protein within the DNA-binding domain. The mutation absence of p100 affects a cell autonomous process within B cells that is required for their accumulation after emigrating to peripheral lymphoid organs [88].

rela

In *rela*$^{-/-}$ mice deficiency of RelA/p65 protein results in embryonic lethality due to massive apoptosis in the fetal liver [89].

The *rel*$^{-/-}$ *tnfr*1$^{-/-}$ genotype results in defects in the immune system, confirming the requirement of RelA for the functioning of immune and inflammatory responses in cells [90].

crel$^{-/-}$ *rela*$^{-/-}$ mutation led to more severe disorders of innate immune-mediated inflammation than either of the single gene knockouts [91].

Immortalized mouse embryonic fibroblast cell lines prepared from RelA knockout mice had different phenotypes, based on their sensitivity to TNF-α-induced apoptosis, morphology, ability to form colonies in soft agar, and the presence of distinct kB site-binding complexes. These cell lines appear to have distinct alterations in the p53 pathway [92]. RelA-deficient mice showed the absence of Peyer's patches, lymph nodes and disorders of splenic microarchitecture and had a profound defect in T cell–dependent antigen responses [93].

Transgenic expression of p65 led to compensatory expression of the inhibitory subunit IKBα and, therefore, no clear phenotype. However, p65 transgenic mice given injections of cerulean, to induce acute pancreatitis, had higher levels of NF-kB activity in acinar cells, greater levels of inflammation, and more severe outcomes than control mice [50].

Knockdown of p65 in MDA-MB-468 breast cancer cells expressing recombinant transglutaminase 2 partially reduces resistance to doxorubicin, indicating that the drug resistance linked to overexpression of transglutaminase, through p65 [94].

Mutation of 41R and 42S in the Rel homology domain of p65 facilitate the interaction with the basal transcription factor IIB (TFIIB) [95].

The elimination in mice of both p65 (RelA) and STAT3, but neither alone, abrogated all acute phase responses measured. The failure to respond was consistent across multiple different infectious, inflammatory and noxious stimuli, including pneumococcal pneumonia [96].

Mutation of the threonine 505 (T505) phosphosite to alanine in p65 has wide-ranging effects on NF-kB function in mice. These include effects on chemotherapeutic drug-induced apoptosis and roles for this modification in autophagy, cell proliferation and migration [97]. Loss p65 decreased average spine head volume; all classes of dendritic spines in pyramidal neurons had smaller head diameters. These effects were consistent with weakened excitatory synaptic connectivity and fewer mature dendritic spines in the absence of p65 [98]. Ablation of 1 allele of the p65 was sufficient to improve pathology in mouse model of Duchenne muscular dystrophy with elevated IKK/NF-kB signaling [49].

Transfection with p65 siRNA attenuated the elastase-induced nuclear translocation of p65 NF-kB/Rel A, upregulation of Fas/FasL, caspase-3, DNA fragmentation, and apoptosis of Kupfer cells in NIH Swiss mice with acute pancreatitis [99].

crel

In domain mutation studies the removal of C-terminal activation domain of cRel led to enlarged lymph nodes and lymphoid hyperplasia [100].

crel$^{-/-}$ mice are not lethal and show several defects in the cell cycle progression and survival in B cells, defects in CD4 and CD8 T-cell responses, impaired cytokine production [101]. Generation of doubly deficient p50$^{-/-}$ *crel*$^{-/-}$ mice revealed that dendritic cells (DC3) developed normally, but CD40L^{-} and TRANCE-induced survival and IL-12 production was abolished [102].

crel$^{-/-}$ mice display a defect in the neutrophilic inflammatory response, associated with impaired induction of RANTES. The fibrogenic / wound-healing response to injury was also impaired and this was associated with deficiencies in the expression of fibrogenic genes, collagen I and alpha-smooth muscle actin. cRel deficient mice have smaller hearts at birth as well as during adulthood, and are protected from developing cardiac hypertrophy and fibrosis after chronic angiotensin infusion [103].

Absence of cRel was associated with blunted and delayed induction of forkhead box M1 (FoxM1) and its downstream targets cyclin B1 and Cdc 25C [104].

cRel partially compensates for the loss of RelA in *rela*$^{-/-}$ mice, suggesting that cRel and RelA have overlapping functions at least in fetal liver cells [105].

relb

relb $^{-/-}$ mice are unstable to form germinal centers and follicular dendritic cell networks upon antigen challenge in the spleen. Expression of homing chemokines is strongly reduced in *relb*$^{-/-}$ spleen with particularly low mRNA levels of the chemokine B lymphocyte chemoattractant [106]. Mice had phenotypic abnormalities including multifocal, mixed inflammatory cell infiltration in several organs, myeloid hyperplasia, spleenomegaly due to extramedullary hematopoiesis, and a reduced population of thymic dendritic cells [107]. In RelB null mice was shown that RelB selectively regulates a myeloid-related dendritic cell lineage [108].

It was demonstrated that *relb* $^{-/-}$ cells have decreased amounts of p100 protein and *nfkb2* $^{-/-}$ showed reduced level of RelB protein. Targeted disruption of RelB in mice results in anatomical defects of secondary lymphoid tissues. Development of Peyer's patch-organizing centers is impaired in RelB-deficient mice [81].

Synthesis control of RelB is the major determinant of noncanonical NF-kB dimer activation. Processing, not synthesis, of p100 and p105 is mechanistically linked via competitive dimerization with a limited pool of RelA and RelB. RelB was needed for the gene expression of SLC, ELC, BLC, SDF-1, BAFF in *relb* $^{-/-}$ and *nfkb2* $^{-/-}$ cells [109].

relb$^{-/-}$ fibroblasts have profound alterations of circadian genes expression. These findings revealed function for RelB as an important regulation of the mammalian circadian system in fibroblasts [110].

RelB silencing by small interfering RNA in dendritic cells led to maintain their immature status and slightly impaired immune surveillance of T cells [111].

Clinical observations of IKK-IkB-NF-kB genetic variability

ikbka

Recent data showed some gene variation in human *Ikbka* [112]. In literature there are few studies of association ikbka polymorphisms and clinical disorders. For example, there was no any major effect of *ikbka* polymorphism on the NF-kB pathway in rheumatoid arthritis (RA) susceptibility [113].

ikbkb

Recent evidence indicates that IKK2 may be a mediator of acquired forms of insulin-resistance. Linkage with four markers flanking the *ikbkb* gene was evaluated in 32 multigenerational families. Polymorphisms were identified in the 5' flanking region of *ikbkb* (-1775del/insC and-1547T > A), exon 11 (c.1083A > G, L361L) and in intron 12 (IVS12+14t > a). Results reflected that sequence differences in the *ikbkb* gene do not play a major role in either early-onset, autosomal dominant type 2 diabetes, or common forms with a later-onset [114].

The multilocus associations of inflammation genes and colorectal cancer risk were studied by the hapConstructor method to a multilocus investigation of candidate genes. The most significant finding was a combined genotype association across *ikbkb* SNP rs5029748 (1 or 2 variant alleles), *IL6* rs1800797 (1 or 2 variant alleles), and *nfkb1* rs4648110 (2 variant alleles) which conferred an ~80% decreased risk of colon cancer [115].

ikbkg

The range of diseases caused by NEMO mutations highlights the physiological importance of NEMO and the IKK complex. Null alleles of the x-linked gene encoding NEMO, IKBKG, cause the inflammatory skin disease incontinentia pigmenti in heterozygous females, and are lethal in heterozygous males, as they are in mice [116; 117; 51; 53].

Milder hypomorphic alleles are compatible with viability in males, but cause severe immune deficiency and developmental abnormalities of the teeth, hair, or sweat glands [118]. These abnormalities of ectodermal derivates are thought to result from disruption of EDAR signaling, yet there are reports of *ikbkg* mutations in immune-deficient patients without ectodermal dysplasia [119; 120]. Other mutations appear to disrupt EDAR signaling and CD40-mediated immunoglobulin-class switching but not TLR signaling, whereas another mutation disrupts EDAR signaling, another mutation disrupt EDAR signaling, but leaves TLR and CD40 signaling largely intact [121; 122].

Mutation in the 5' untranslated region of the *ikbkg* gene led to the immune deficiency in patient (recurrent sinopulmonary infections and dysgammaglobilinemia) due to defect in the p65 nuclear translocation [123].

N-terminal deletion of IKKγ (to inhibit the IKK complex) delayed growth kinetics, caused morphological changes and dramatically augmented apoptosis in keratinocytes [124]. Hypomorphic mutations in the zink finger domain of NEMO cause x-linked hyper-IgM syndrome with ectodermal dysplasia. The patient B cells stimulated with CD40 ligand are impaired in both p65 and cRel activation and whereas adaptation of IL-4 can enhance p65 activity, cRel activity remains deficient [125].

Ørstavik et al. [126] described the novel splicing mutation in *ikbkg* gene with severe immunodeficiency and heterogeneity of x-chromosome inactivation.

nik (Map3k14)

SNP array analysis revealed a gain of copy number for MAP3K14 in three classical Hodgkin lymphoma cell lines [127].

The CC genotype of *nik* (rs7222094) is associated with increased mortality and organ dysfunction in septic shock patients, perhaps due to altered regulation of NF-kB pathway genes, including CXCL10 [128].

The evidence of association with bone mineral density, bone geometric parameters and CTX-I (bone turnover marker) was found for SNPs in *nik* in 2359 men aged 40-79 years [129]. rs4792847 (*Map3k14*) showed evidence of association to treatment response in a large cohort of RA patients and were subsequently examined in an independent cohort of patients [130].

nfkbia

X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia with immunodeficiency is caused by hypomorphic mutations in *ikbkg* encoding NEMO/IKK gamma, the regulatory subunit of the IKB kinase (IKK) complex. Also an autosomal-dominant form of ectodermal dysplasia with immunodeficiency with heterozygous missense mutation at serine 32 of IKBα was described. This mutation is gain-of-function as it enhances the inhibitory capacity of IKBα by preventing its phosphorylation and degradation and results in impaired NF-kB activation. This disorder is characterized by a severe and unique T cell immunodeficiency-marked blood lymphocytosis, absence of detectable memory T cells, naïve T cells do not respond to CD3-TCR activity in vitro [131; 132].

Novel heterozygous mutation at amino acid 11 (W11X) IKB α was described in female patient with ectodermal dysplasia with immune deficiency. This mutant protein did not undergo ligand-induced phosphorylation

or degradation and retained NF-kB in the cytoplasm [133]. Fibroblasts isolated from a patient with growth failure and a heterozygous mutation of IKBα exhibit growth hormone insensitivity [134].

Some IKBα mutants – IKBα M (amino acids 1-317, Ser32, 36A), IKBα 243 N (amino acids 1-243), IKBα 244 C (amino acids 244-317) were constructed and transfected to ASTC-α-1 cells. IKBα M bounds with NF-kB and p53 in cytoplasm steadily, and inhibits both of the two signaling pathways. IKBα 244C may be co-factor in inducing apoptosis. The C-terminal of IKBα enhanced cell death [135].

In Hodgkin/Reed-Sternberg cells from Hodgkin's disease patients the mutations in the IKBα were detected. These mutations resulting in C-terminally truncated proteins were not able to inhibit NF-kB-DNA binding activity [136]. Inactivating mutation of *nfkbia* was described in patient with classic Hodgkin lymphoma. Multiple lesions in regulations of NF-kB signal pathway can likely cooperatively contribute to the strong NF-kB activity of lymphoma cells [137].

Hatta et al. [138] described a mutational analysis of IKBα for primary tumor cells obtained from patients with a variety of hematologic malignancies (acute myelogenous leukemia, chronic myelogenous leukemia, myelodysplastic syndrome, hairy cell leukemia, adult T-cell leukemia and mantle cell leukemia) as well as 15 leukemia, lymphoma, and myeloma cell lines. Authors supposed that mutations of IKBα could be rare events in these diseases, except for Hodgkin's lymphoma.

Mutations that cause premature termination of translation in three of the four copies on *nfkbia* revealed that absence of IKBα protein in human B-cell lymphoma cell line RC-K8. Also RC-K8 cells have a rearranged Rel locus that directs the production of chimeric protein, termed Rel-NRG (Non-Rel gene). In vivo, Rel-NRG cannot activate transcription of kB site reporter plasmid, suggesting that is a transcription regressing or blocking Rel protein [139].

nfkbia is often deleted but not mutated in glioblastomas, most deletions occur in nonclassical subtypes of the disease. Deletion of *nfkbia* and amplification of epidermal growth factor receptor (EGFR) show a pattern of mutual exclusivity. Restoration of the expression of nfkbia attenuated the malignant phenotype and increased the vulnerability to chemotherapy of cells. Thus, deletion of nfkbia has an effect that is similar to the effect of EGFR amplification in the pathogenesis of glioblastoma [140].

A full *nfkbia* gene was sequenced and nine novel SNPs and one GAA deletion were identified. There was no significant association of *nfkbia* variants with development of hepatocellular carcinoma among chronic hepatitis B patients [141]. These data were supported by Cheng et al. [142].

Recipients SNPs of *nfkbia* gene together with other genes SNPs can be used for clinical outcomes prognosis after allogenic stem-cell transplantation [143].

Three Canadian family-based studies and 1 Australian population-based case-control study were used to investigate association of 321 SNPs in 26 innate immunity genes with atopy, asthma, atopic asthma and airway hyperresponsiveness. *nfkbia* SNP was associated with atopic asthma [144].

The association between *nfkbia* polymorphisms and acute lung injury was observed in patients with severe trauma [145].

nfkbia polymorphism (-826T (CT+TT) and-881G (AG+GG)) seems to be related to susceptibility to develop oral cancer linked to betel nut and tobacco consumption. Patients with oral cancer who had at least one-519 T allele of *nfkbia* gene were at higher risk for developing distant metastasis, compared with those patients CC homozygotes [146].

The association between coding (non synonymous and synonymous) polymorphisms of *nfkbia* and other genes with measles-specific IL-2, IL-6, IFN-α, IFN-γ, IFN-λ-1 and TNF-α during measles vaccine immunity was described [147]. It was shown that *nfkbia* polymorphisms associate with susceptibility to invasive pneumococcal disease. Rare *nfkbia* mutations cause immunodeficiency with severe bacterial infection [148].

Meta-analysis of 14 studies in *PudMed* revealed that autoimmune and inflammatory diseases are associated with *nfkbia* gene – 826 C/T polymorphism, but not with 2758 A/G,- 881 A/G/, and – 279 C/T [149]. Association between *nfkbia* SNPs and Graves' disease was not found in the investigation of 481 patients and 455 healthy controls [150]. *nfkbia* 3' UTR AA genotype associated with Crohn's diseases and GG genotype with an increased risk for extensive colitis in Hungarian patients [151].

Chinese individuals ≥ 50 years of age carrying AG genotype (rs 696) of *nfkbia* may be at a risk of developing colorectal cancer and the GG genotype may be considered as a prognostic factor for Swedish Colorectal cancer patients [152]. The association of the AA genotype of *nfkbia* gene has been found latent autoimmune diabetes in adults [153]. The haplotype GTC (-881G/- 826t/- 297 c) of *nfkbia* is associated with higher risk of acute respiratory distress syndrome in Caucasians, particularly in male patients and in patients with direct lung injury [154]. The evidences were provided for associations of SNPs in *nfkbia* with severe carotid artery disease [155]. The AA genotype of *nfkbia* gene presents a risk for type 2 diabetes mellitus development but not for diabetic nephropathy alone [156]. A risk haplotype [GCCTATCA] of eight polymorphisms across *nfkbia* gene for multiple myeloma was identified [157].

nfkbib

The novel polymorphism of *nfkbib* (rs 3136641) associated with early viral infections and susceptibility to asthma and asthma related phenotypes [144]. COPD phenotype significantly associated with *nfkbib*/*sirt2* polymorphism (rs 2241704) [158]. Polymorphism of *nfkbib* did not reveal connection to ovarian cancer risk [159].

nfkbie

An *nfkbie* SNP associated with susceptibility to invasive pneumococcal disease [148]. Two *nfkbie* genes loci associated with rheumatoid arthritis susceptibility at 6p21.1, rs 2233434, and rs 77986492 were recognized in Japanese [160].

Similar data about relation of *nfkbie* genetic variation with susceptibility to RA were obtained in Spanish patients [113]. In patient with chronic lymphocytic leukemia the mutation of *nfkbie* was identified in cases with progressive disease [161].

nfkb1

NF-kB was mapped with greater resolution to 4q23 and these regions associated with certain types of acute lymphoblastic leukemia [162].

Karban et al. [163] indentified a common insertion/deletion promoter polymorphism (-94 ins/del ATTG, rs 28362491) in *nfkb1*(encodes p50 subunit), and provided evidence for functionality in a reporter assay as well as an association with ulcerative colitis. The same polymorphism is associated with superficial bladder cancer and melanoma [164; 165].

Association of this *nfkb1* gene polymorphism (the presence of deletion allele) with risk of alcohol liver cirrhosis was found in patients with alcohol dependence [166]. This polymorphism modifies the association between dietary polyunsaturated fatty acid intake and circulating HDL-cholesterol [167]. The meta-analysis (2,743

cases and 2,195 controls) demonstrated the association of *nfkb1*-94 ins/del ATTG polymorphism with cancer in Caucasian and Asian populations, and this association is ethno-specific [168]. A genetic association study revealed the-94 ins/del ATTG polymorphism was positively associated both with moderate/severe endometriosis and idiopathic infertility [169]. Patients with RA carrying the del/del genotype had higher risk of cardiovascular events than those with ins/ins genotype, while heterozygous patients had the intermediate risk [170]. A meta-analysis of seventeen studies did not found the association between this polymorphism and autoimmune and inflammatory diseases in the Caucasian population. However, an association was found in the Asian population [171].-94 ins/del ATTG *nfkb1* gene variant may contribute to lower myocardial infarction susceptibility via the potential reduction of activated NF-kB which in turn is related to plasma inflammatory marker (fibrinogen, C-reactive protein) reduction [172]. This polymorphism results in lower protein levels of NF-kB p 50 subunits. Nfkb1 ATTG(1) / ATTG(1) genotype was significantly associated with left ventricular dysfunction [173]. Also, this polymorphism contributes to the susceptibility of congenital heart diseases [174], increased mortality in sepsis [175], increased risk of renal cell carcinoma [176].

The *nfkb1* polymorphism-449 C > G (rs 72696119) in 5'-UTR was significantly associated with the development of ulcerative colitis [177].

Risk of non-Hodgkin's lymphoma is associated with *nfkb1* intronic tag SNP (rs 4648022) [178].

15 alleles for the *nfkb1* gene polymorphism (CA-repeats) were detected in Czech population. The alleles were ranging in size from 114-142 bp corresponding 10-25 CA repeats. Frequency of the A7 allele of *nfkb1* gene has been significantly increased in adults with diabetes mellitus type 1 [153].

Also, a significant combined effect of rs 3774959 and rs 3774964 in the *nfkb1* gene with rs 222991 in the REST (RE-A-silencing transcription factor) gene was associated with the risk of colorectal cancer [179]. Jiaox et al. [180] observed somatic mutations of NFKB1 in the preparations of 96 human breast cancers. In multiple myeloma mutations of nfkb1 selectively activate the classical NF-kB pathway [181].

In sporadic Parkinson's diseases patients detailed mutation analysis of the p50 subunit of nfkb1 did not reveal definable role of *nfkb1* polymorphism in the pathogenesis of these diseases [182].

nfkb2

In general, mutant NF-kB2 proteins can lead to the transformed phenotype and alterations in *nfkb2* may play role in lymphomagenesis [183].

Several chromosomal aberrations affecting *nfkb2* were described. In multiple myeloma, cloning and sequencing analysis of reciprocal breakpoint sites showed that they occurred within intron 15 of *nfkb2* and led to the complete deletion of 3' portion of the gene coding for the ankyrin domain. The novel regions involved in nfkb2 rearrangement originated from chromosome 7q 34, thus implying the occurrence of a t (7;10) (q34; q24) reciprocal chromosomal translocation. In T cells cutaneous lymphoma and B cell chronic lymphocytic leukemia, *nfkb2* rearrangements occurred, respectively, within exon 18 and 20 of the gene and involved recombinations with distinct regions of chromosome 10q 24. Rearrangement led to specific C-terminal truncations of NF-kB2 generating abnormal transcripts that coded for proteins lacking of the ankyrin domain that may be involved in tumorgenesis [184].

The new point mutation of p100 that is encoded by *nfkb2*, called p100 HB generates a premature stop-codon and thus the protein lacks the last 125 amino acids. This mutation was detected in several human tumor cell lines. Mutant protein has reduced inhibitory potency compared to p100 and translocates into the nucleus [185]. Constitutive processing of p100 occurs in certain lymphoma cells due to the loss of its C-terminal regulatory domain. The constitutive processing of C-terminal truncation mutants of p100 is associated with their active nuclear translocations. Mutation of the nuclear localization signal (NLS) of p100 abolishes its processing, and this defect can be rescued by fusion of a heterologous NLS to the animo- or carboxyl-terminus of the p100 mutant [186].

A C terminally-truncated form of NF-KB2 p100 (p85), produced in HUT-78 human leukemic cells, also activated transcription in yeast, under conditions where the normal p52 and p100 were not [187].

A rearranged *nfkb2*/p100 gene was isolated from adult T-cell leukemia-derived cell line, which was generated by a chromosomal translocation [188]. Acute lymphoblastic leukemia (ALL) might be associated with novel translocations found in the leukemic cells of ALL patients – t (5;10) (q 22; q 24). FISH and Southern blot hybridization studies have eliminated likely involvement of *nfkb2* on chromosome 10 [189]. It was shown that *nfkb2* gene duplication is associated with fetal pyelectasis in partial trisomy 10g (10 g 24.1→qter) [190].

In Japanese population three polymorphisms of *nfkb2* gene (1837T/C, 1867G/G in upstream region and 2584G/T within intron 1) is associated with inflammatory response and bone differentiation [191].

rela

Structural alterations of *rela* gene may represent rare events in lymphoid neoplasia. By means of PCR-SSCP analysis a single point mutation leading to amino acid substitution (codon 494, Glu-Asp) in the transactivating domain in one case of multiple myeloma was detected. This mutation may alter the specific structural conformation needed for the DNA interaction of RelA [192].

A novel member of the human NF-kB family, denoted RelA p43, the nucleotide sequence of which contains several exons as well as an intron of the RelA gene, was identified. p43 is expressed in all cell lines and tissues, exhibiting all the properties of a NF-kB proteins. Its sequence does not include a transactivation domain but it is able to potentiate RelA-mediated transactivation and stabilize dimmers comprising p50 [193].

Cai et al. [194] did not find any associations of 5 *rela* SPNs with pulmonary tuberculosis in the Chinese Han population.

Mutation of p65 at Ser 468 largely prevents p65 ubiquitinylation and proteasomal degradation. Phosphorylation of p65 at Ser 468 leads to ubiquitin proteasome-dependent removal of chromating-bound p 65, thus contributing to the selective termination of NF-kB-dependent gene expression [195]. The mutation S276A of p65 affected the expression of several genes that encode proteins involved in cell cycle regulation, signal transduction, transcription and metabolism [196]. Mutation Cys 38 Ser of p65 abolished the suppressive effect of picroliv on NF-kB-regulated gene products, and apoptosis enhancing. Thus, Cys 38 was important for phosphorylation and nuclear translocation of p65 [197]. Mutation S276A of p65 led to the inhibition of Schwann cell differentiation into a myelinating phenotype [198].

Three SNPs in the *rela* gene (rs11850062, rs 2306365, and rs 7119750) are significantly associated with schizophrenia [199].

crel

Starczynowski et al. [200] described point mutation of *crel* that changes serin (Ser) 525 (TCA) to proline (Pro) (CCA) within the cRel transactivation domain. This mutation was of germ-line origin and was identified in two human B-cell lymphomas. cRel-S525P had a reduced ability to activate the human manganese superoxide dismutase promoter and a reduced IKKα- and TNF-α-stimulated transactivation by GAL4-Rel protein.

A genome-wide association study of Hodgkin's lymphoma revealed new susceptibility locus at 2p 16.1 (rs 1432295, REL) [201]. A genome-wide association study of rheumatoid arthritis (RA) in 2418 cases and 4504 controls from North America identified an association at the REL locus, encoding *crel*, on chromosome 2p13 rs 13031237 and rs 2736340 [202]. Later significant evidence for association with susceptibility to RA was found to a SNP mapping tp the REL (rs 13017599) gene [203].

Psoriatic arthritis is associated with 2p16 near the REL locus. rs 13017599 and rs 702873 had significant link to psoriatic arthritis [204]. A genome-wide association between celiac disease and risk region 2p 16.1 (REL) (rs842647) was established [205]. The association of SNP REL (rs 842647) with celiac disease was identified in 157 Italian families [206]. For ulcerative colitis SNPs at chromosome 9q34 were determined to suppose REL as the putative candidate gene [207]. The Rel locus rs1303123 is strongly associated with rheumatoid arthritis in US, UK and Canadian populations [208].

relb

We have found the lack of publications about the relb polymorphisms/mutations in human.

Detectable nasopharyngeal shedding of severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus was associated with a member of NF-kB complex (reticuloendotheliosis viral oncogene homolog B [RelB]) [209].

General consideration on IKK-IKB-NF-kB Gene Variability Consequences. In table 2 we briefly summarized all data from animal models and clinical observations of IKK-IKB-NF-kB system gene variability.

Table 2.
IKK-IKB-NF-kB Gene Variability Consequences

Protein family	Gene	Normal phenotype and disorders
IKK complex	*ikbka*	Important for lymphoid and gland organogenesis (impair production of chemo- and cytokines involved in lymphoid organogenesis, lactation disorders during pregnancy)
	ikbkb	Crucial for liver development and regulation of NF-kB activity, development of mature B cells, regulation of immune homeostasis in the skin (liver degeneration and apoptosis, death as embryos, disappearance of B lymphocytes, severe epidermal inflammation due to TNF-mediated response)
	ikbkg	Liver development (lack of detectable NF-kB DNA-binding activity, severe liver damage due to apoptosis)
NIK	*nik*	Lymphoid tissue development and antibody responses (defect in secondary lymphoid tissue chemokine receptor signaling and homing) Alymphoplasia in mice (absence of lymph nodes and Peyer's patches, disorganized splenic and thymic structures with immunodeficiency, severe defect in p52 production) Osteoclastogenesis (blockade of both alternative and classic NF-kB activation, impaired osteoclast differentiation)
IKB protein family members	*nfkbia*	Embryo- and ontogenesis (lethality 7-10 days after birth), hyperinflammation, hypersensitivity to septic shock, delay in mammary ductal branching Abnormality in T cells development and attraction Mammary gland development and carcinogenesis Activation of NF-kB in pancreas lead to acute pancreatitis
	nfkbib	Cytokine production (strong reduction in sepsis-associated cytokine production after LPS stimulation, high refractory to LPS-induced lethality)
	nfkbie	Cytokine and antibody production (increased expression of IL-1α and IL-1β, IL-1Rα and IL-6 mRNA; up-regulation of IgM and IgG1 isotypes)
NF-kB family members	*nfkb1*	Cytokine production, B cell regulation (impairment of IL-4 and IL-13 production and CXCR5 expression on $CD4^+$ cells)
	nfkb2	Lymphoid organs development, antibody production, cytokines expression (Peyer's patches abnormalities, reduction of B cell compartments in spleen, bone marrow and lymph nodes, impair production of antibodies to T-depended antigens, absence of DC network, lymphoma, multiple myeloma, T cell cutaneous lymphoma, B cell chronic lymphocytic leukemia, inflammatory response, bone differentiation)
	rela	Lymphoid neoplasia, multiple myeloma, impaired expression of genes that encode proteins involved in cell cycle regulation, signal transduction, transcription and metabolism. Myelination inhibition, schizophrenia.
	crel	B-cell lymphomas, rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, celiac disease, ulcerative colitis
	relb	Severe acute respiratory syndrome (SARS)

Kinases involved in NF-kB signaling are highly important for tissue development, proliferation, apoptosis and inflammation. *ikbka* had crucial role in lymphoid and gland organogenesis. Liver development and regulation of NF-kB activity, development of mature B cells, and regulation of immune homeostasis in the skin depended on *ikbkb. ikbkg* is important for liver development.

NF-kB-inducing kinase gene (*nik*) is responsible for lymphoid tissue development (alymphoplasia) and antibody responses.

IkB protein family members participated in embryo- and ontogenesis, inflammation and malignancy. Disorders in *nfkbia* led to embryo lethality, mammary gland

carcinogenesis, hyperinflammation, *nfkbib* and *nfkbie* – to impaired cytokine production.

IkB and NF-kB families share two common genes – *nfkb1* and *nfkb2. nfkb1* is important for cytokine production and B cell regulation, *nfkb2* – for lymphoid organs development, antibody production, cytokines expression and bone differentiation. Moreover, *nfkb2* plays crucial role in lymphoproliferative diseases (lymphoma, multiple myeloma, T cell cutaneous lymphoma, B cell chronic lymphocytic leukemia, etc).

Other gene of NF-kB family members is *rela* that encode proteins involved in cell cycle regulation, signal transduction, transcription and metabolism. Its disorders led to lymphoid neoplasia, multiple myeloma and myelination inhibition (possibly, involved in schizophrenia pathogenesis). *crel* had importance for B-cell lymphomas and autoimmune diseases (rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, celiac disease, ulcerative colitis, etc). Impact of *relb* was limited by inflammatory disease (severe acute respiratory syndrome).

Conclusions.

In this review, we retrace some of the important discoveries that have accompanied the description of single IKK-IKB-NF-kB system for both canonical and non-canonical signaling. In particular, we describe gene variability of this system and its phenotypic consequences. IKK-IKB-NF-kB system is important for development/morphogenesis, apoptosis/survival and inflammation/stress. Genetic disorders of this system led to the impair organogenesis and regeneration, malignancy, autoimmune and inflammatory diseases. All members of IKK-IKB-NF-kB system can be the targets for gene investigation and manipulation. Genetic systemic approach can be a powerful tool for the investigation of IKK-IKB-NF-kB system functions and for the discovery of new diagnostic and therapeutic strategies.

Acknowledgements. The author wishes to thank Yulia Lysanets for technical support in manuscript preparation.

Conflicts of interest. The author declares no conflicts of interest.

References

1. *Lawrence T*. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2009; 1(6):a001651.
2. *Patel S, Santani D*. Role of NF-kappa B in the pathogenesis of diabetes and its associated complications. *Pharmacol Rep.* 2009; 61(4):595–603.
3. *Sanz AB, Sanchez-Niño MD, Ramos AM, Moreno JA, Santamaria B, Ruiz-Ortega M, Egido J, Ortiz A*. NF-kappaB in renal inflammation. *J Am Soc Nephrol*. 2010; 21(8):1254–1262.
4. *Demer L, Tintut Y*. The roles of lipid oxidation products and receptor activator of nuclear factor-κB signalling in atherosclerotic calcification. *Circ Res*. 2011; 108(12):1482–1493.
5. *Cai D, Liu T*. Inflammatory cause of metabolic syndrome via brain stress and NF-κB. *Aging (Albany NY)*. 2012; 4(2):98–115.
6. *Kaidashev IP*. NF-kB activation as a molecular basis of pathological process by metabolic syndrome. *Fiziol Zh* 2012; 58(1):93–101.
7. *Hayden MS, Ghosh S*. NF-κB, the first quarter-century: remarkable progress and outstanding questions. *Genes Dev*. 2012; 26(3):203–234.
8. *Hayden MS, Ghosh S*. NF-κB in immunobiology. *Cell Res.* 2011; 21(2):223–244.
9. *Tarantino G, Caputi A*. JNKs, insulin resistance and inflammation: A possible link between NAFLD and coronary artery disease. *World J Gastroenterol.* 2011; 17(33):3785–3794.
10. *Palomer X, Álvarez-Guardia D, Davidson MM, Chan TO, Feldman AM, Vázquez-Carrera M.* The interplay between NF-kappaB and E2F1 coordinately regulates inflammation and metabolism in human cardiac cells. *PLoS One*. 2011; 6(5):e19724.
11. *Sakaguchi S, Takahashi S, Sasaki T, Kumagai T, Nagata K*. Progression of alcoholic and non-alcoholic steatohepatitis: common metabolic aspects of innate immune system and oxidative stress. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2011; 26(1):30–46.
12. *Wullaert A, van Loo G, Heyninck K, Beyaert R*. Hepatic tumor necrosis factor signalling and nuclear factor-kappaB: effects on liver homeostasis and beyond. *Endocr Rev*. 2007; 28(4):365–386.
13. *Naamane N, van Helden J, Eizirik DL*. In silico identification of NF-kappaB-regulated genes in pancreatic beta-cells. *BMC Bioinformatics*. 2007; 8:55.
14. *Bakkar N, Guttridge DC*. NF-kappaB signalling: a tale of two pathways in skeletal myogenesis. *Physiol Rev.* 2010; 90(2):495–511.
15. *Londhe VA, Nguyen HT, Jeng JM, Li X, Li C, Tiozzo C, Zhu N, Minoo P*. NF-kB induces lung maturation during mouse lung morphogenesis. *Dev Dyn.* 2008; 237(2):328–338.
16. *Sarnico I, Lanzillotta A, Benarese M, Alghisi M, Baiguera C, Battistin L, Spano P, Pizzi M*. NF-kappaB dimers in the regulation of neuronal survival. *Int Rev Neurobiol*. 2009; 85:351–362.
17. *Kaidashev IP*. Role of NF-kB in functioning of separate tissues, development and syntropy of diseases in organism's main systems. *Zhurnal NAMN Ukrayiny.* 2012; 18(2):186–198.
18. *White KL, Rider DN, Kalli KR, Knutson KL, Jarvik GP, Goode EL.* Genomics of the NF-κB signalling pathway: hypothesized role in ovarian cancer. *Cancer Causes Control.* 2011; 22(5):785–801.
19. *Sen R, Baltimore D*. Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences. *Cell.* 1986; 46(5):705–716.
20. *Hoffmann A, Natoli G, Ghosh G*. Transcriptional regulation via the NF kappaB signalling module. *Oncogene.* 2006; 25(51):6706–6716.
21. *Ghosh S, May MJ, Kopp EB*. NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol.* 1998; 16:225–260.
22. *Lenardo MJ, Baltimore D*. NF-kappa B: a pleiotropic mediator of inducible and tissue-specific gene control. *Cell.* 1989; 58(2):227–229.
23. *Barnes PJ, Karin M.* Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med.* 1997; 336(15):1066–1071.
24. *Ghosh S, Baltimore D*. Activation in vitro of NF-kappa B by phosphorylation of its inhibitor I kappa B. *Nature*. 1990; 344:678–682.
25. *Ghosh S, Karin M*. Missing pieces in the NF-kappaB puzzle. *Cell.* 2002; 109:S81–S96.
26. *Sun SC, Liu ZG*. A special issue on NF-κB signalling and function. *Cell Res.* 2011; 21(1):1–2.
27. *Karin M, Ben-Neriah Y.* Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF-[kappa]B activity. *Annu Rev Immunol.* 2000; 18:621–663.
28. *Hoffmann A, Levchenko A, Scott ML, Baltimore D*. The IkappaB-NF-kappaB signalling module: temporal control and selective gene activation. *Science.* 2002; 298(5596):1241–1245.
29. *O'Dea EL, Barken D, Peralta RQ, Tran KT, Werner SL, Kearns JD, Levchenko A, Hoffmann A.* A homeostatic model of IkappaB metabolism to control constitutive NF-kappaB activity. *Mol Syst Biol*. 2007; 3:111.
30. *O'Dea EL, Kearns JD, Hoffmann A*. UV as an amplifier rather than inducer of NF-kappaB activity. *Mol Cell.* 2008; 30(5):632–641.
31. *Mabb AM, Wuerzberger-Davis SM, Miyamoto S.* PIASy mediates NEMO sumoylation and NF-kappaB activation in response to genotoxic stress. *Nat Cell Biol.* 2006; 8(9):986–993.
32. *Wu ZH, Shi Y, Tibbetts RS, Miyamoto S*. Molecular linkage between the kinase ATM and NF-kappaB signaling in response to genotoxic stimuli. *Science.* 2006; 311(5764):1141–1146.

33. *Pomerantz JL, Baltimore D*. Two pathways to NF-kappaB. *Mol Cell.* 2002; 10(4):693–695.
34. *Basak S, Hoffmann A*. Crosstalk via the NF-kappaB signaling system. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2008; 19(3–4):187–197.
35. *Shih VF, Tsui R, Caldwell A, Hoffmann A*. A single NFκB system for both canonical and non-canonical signaling. *Cell Res.* 2011; 21(1):86–102.
36. *Zarnegar B, Yamazaki S, He JQ, Cheng G.* Control of canonical NF-kappaB activation through the NIK-IKK complex pathway. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008; 105(9):3503–3508.
37. *O'Dea E, Hoffman A*. The Regulatory Logic of the NF-kB Signaling System. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2010; 2:a000216.
38. *Sun XF, Zhang H*. NFKB and NFKBI polymorphisms in relation to susceptibility of tumour and other diseases. *Histol Histopathol*. 2007; 22(12):1387–1398.
39. *Courtois G, Gilmore TD.* Mutations in the NF-kappaB signaling pathway: implications for human disease. *Oncogene.* 2006; 25(51):6831–6843.
40. *Attar RM, Caamaño J, Carrasco D, Iotsova V, Ishikawa H, Ryseck RP, Weih F, Bravo R*. Genetic approaches to study Rel/NF-kappa B/I kappa B function in mice. *Semin Cancer Biol*. 1997; 8(2):93–101.
41. *Dejardin E, Droin NM, Delhase M, Haas E, Cao Y, Makris C, Li ZW, Karin M, Ware CF, Green DR*. The lymphotoxin-beta receptor induces different patterns of gene expression via two NF-kappaB pathways. *Immunity.* 2002; 17(4):525–535.
42. *Cao Y, Bonizzi G, Seagroves TN, Greten FR, Johnson R, Schmidt EV, Karin M.* IKKalpha provides an essential link between RANK signaling and cyclin D1 expression during mammary gland development. *Cell.* 2008; 107(6):763–775.
43. *Bednarski BK, Ding X, Coombe K, Baldwin AS, Kim HJ*. Active roles for inhibitory kappaB kinases alpha and beta in nuclear factor-kappaB-mediated chemoresistance to doxorubicin. *Mol Cancer Ther.* 2008; 7(7):1827–1835.
44. *Tanaka M, Fuentes ME, Yamaguchi K, Durnin MH, Dalrymple SA, Hardy KL, Goeddel DV*. Embryonic lethality, liver degeneration, and impaired NF-kappa B activation in IKK-beta-deficient mice. *Immunity.* 1999; 10(4):421–429.
45. *Li Q, Van Antwerp D, Mercurio F, Lee KF, Verma IM*. Severe liver degeneration in mice lacking the IkappaB kinase 2 gene. *Science.* 1999; 284(5412):321–325.
46. *Li ZW, Chu W, Hu Y, Delhase M, Deerinck T, Ellisman M, Johnson R, Karin M.* The IKKbeta subunit of IkappaB kinase (IKK) is essential for nuclear factor kappaB activation and prevention of apoptosis. *JEM.* 1999; 189 (11):1839-1845.
47. *Pasparakis M, Schmidt-Supprian M, Rajewsky K*. IkappaB kinase signaling is essential for maintenance of mature B cells. *J Exp Med.* 2002; 196(6):743–752.
48. *Pasparakis M, Courtois G, Hafner M, Schmidt-Supprian M, Nenci A, Toksoy A, Krampert M, Goebeler M, Gillitzer R, Israel A, Krieg T, Rajewsky K, Haase I*. TNF-mediated inflammatory skin disease in mice with epidermis-specific deletion of IKK2. *Nature.* 2002; 417(6891):861–866.
49. *Acharyya S, Villalta SA, Bakkar N, Bupha-Intr T, Janssen PM, Carathers M, Li ZW, Beg AA, Ghosh S, Sahenk Z, Weinstein M, Gardner KL, Rafael-Fortney JA, Karin M, Tidball JG, Baldwin AS, Guttridge DC*. Interplay of IKK/NF-kappaB signaling in macrophages and myofibers promotes muscle degeneration in Duchenne muscular dystrophy. *J Clin Invest.* 2007; 117(4):889–901.
50. *Huang H, Liu Y, Daniluk J, Gaiser S, Chu J, Wang H, Li ZS, Logsdon CD, Ji B*. Activation of nuclear factor-κB in acinar cells increases the severity of pancreatitis in mice. *Gastroenterology.* 2013; 144(1):202–210.
51. *Rudolph D, Yeh WC, Wakeham A, Rudolph B, Nallainathan D, Potter J, Elia AJ, Mak TW*. Severe liver degeneration and lack of NF-kappaB activation in NEMO/IKKgamma-deficient mice. *Genes Dev.* 2000; 14(7):854–862.
52. *Siggs OM, Berger M, Krebs P, Arnold CN, Eidenschenk C, Huber C, Pirie E, Smart NG, Khovananth K, Xia Y, McInerney G, Karlsson Hedestam GB, Nemazee D, Beutler B.* A mutation of Ikbkg causes immune deficiency without impairing degradation of IkappaB alpha. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010; 107(7):3046–3051.
53. *Schmidt-Supprian M, Bloch W, Courtois G, Addicks K, Israël A, Rajewsky K, Pasparakis M*. NEMO/IKK gamma-deficient mice model incontinentia pigmenti. *Mol Cell.* 2000; 5(6):981–992.
54. *Yin L, Wu L, Wesche H, Arthur CD, White JM, Goeddel DV, Schreiber RD*. Defective lymphotoxin-beta receptor-induced NF-kappaB transcriptional activity in NIK-deficient mice. *Science.* 2001; 291(5511):2162–2165.
55. *Vaira S, Johnson T, Hirbe AC, Alhawagri M, Anwisye I, Sammut B, O'Neal J, Zou W, Weilbaecher KN, Faccio R, Novack DV*. RelB is the NF-kappaB subunit downstream of NIK responsible for osteoclast differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008; 105(10):3897–3902.
56. *Yang C, McCoy K, Davis JL, Schmidt-Supprian M, Sasaki Y, Faccio R, Novack DV.* NIK stabilization in osteoclasts results in osteoporosis and enhanced inflammatory osteolysis. *PLoS One.* 2010; 5(11): e15383.
57. *Aya K, Alhawagri M, Hagen-Stapleton A, Kitaura H, Kanagawa O, Novack DV.* NF-(kappa)B-inducing kinase controls lymphocyte and osteoclast activities in inflammatory arthritis. *J Clin Invest.* 2005; 115(7):1848–1854.
58. *Ishimaru N, Kishimoto H, Hayashi Y, Sprent J*. Regulation of naive T cell function by the NF-kappaB2 pathway. *Nat Immunol*. 2006; 7(7):763–772.
59. *Shinkura R, Kitada K, Matsuda F, Tashiro K, Ikuta K, Suzuki M, Kogishi K, Serikawa T, Honjo T*. Alymphoplasia is caused by a point mutation in the mouse gene encoding Nf-kappa b-inducing kinase. *Nat Genet*. 1999; 22(1):74–77.
60. *Fagarasan S, Shinkura R, Kamata T, Nogaki F, Ikuta K, Tashiro K, Honjo T*. Alymphoplasia (aly)-type nuclear factor kappaB-inducing kinase (NIK) causes defects in secondary lymphoid tissue chemokine receptor signaling and homing of peritoneal cells to the gut-associated lymphatic tissue system. *J Exp Med.* 2000; 191(9):1477–1486.
61. *Xiao G, Harhaj EW, Sun SC*. NF-kappaB-inducing kinase regulates the processing of NF-kappaB2 p100. *Mol Cell.* 2001; 7(2):401–409.
62. *Beg AA, Sha WC, Bronson RT, Baltimore D*. Constitutive NF-kappa B activation, enhanced granulopoiesis, and neonatal lethality in I kappa B alpha-deficient mice. *Genes Dev.* 1995; 9(22):2736–2746.
63. *Peng B, Ling J, Lee AJ, Wang Z, Chang Z, Jin W, Kang Y, Zhang R, Shim D, Wang H, Fleming JB, Zheng H, Sun SC, Chiao PJ*. Defective feedback regulation of NF-kappaB underlies Sjogren's syndrome in mice with mutated kappaB enhancers of the IkappaBalpha promoter. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010; 107(34):15193–15198.
64. *Demicco EG, Kavanagh KT, Romieu-Mourez R, Wang X, Shin SR, Landesman-Bollag E, Seldin DC, Sonenshein GE*. RelB/p52 NF-kappaB complexes rescue an early delay in mammary gland development in transgenic mice with targeted superrepressor IkappaB-alpha expression and promote carcinogenesis of the mammary gland. *Mol Cell Biol*. 2005; 25(22):10136–10147.
65. *Neuhöfer P, Liang S, Einwächter H, Schwerdtfeger C, Wartmann T, Treiber M, Zhang H, Schulz HU, Dlubatz K, Lesina M, Diakopoulos KN, Wörmann S, Halangk W, Witt H, Schmid RM, Algül H*. Deletion of IκBα activates RelA to reduce acute pancreatitis in mice through up-regulation of Spi2A. *Gastroenterology.* 2013; 144(1):192–201.
66. *Rao P, Hayden MS, Long M, Scott ML, West AP, Zhang D, Oeckinghaus A, Lynch C, Hoffmann A, Baltimore D, Ghosh S.* IkappaBbeta acts to inhibit and activate gene expression during the inflammatory response. *Nature.* 2010; 466(7310):1115–1119.
67. *Scheibel M, Klein B, Merkle H, Schulz M, Fritsch R, Greten FR, Arkan MC, Schneider G, Schmid RM.* IkappaBbeta is an essential co-activator for LPS-induced IL-1beta transcription in vivo. *J Exp Med*. 2010; 207(12):2621–2630.
68. *Mizgerd JP, Scott ML, Spieker MR, Doerschuk CM*. Functions of IkB proteins in inflammatory responses to Escherichia coli LPS in mouse lungs. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2002; 27(5):575–582.
69. *Mémet S, Laouini D, Epinat JC, Whiteside ST, Goudeau B, Philpott D, Kayal S, Sansonetti PJ, Berche P, Kanellopoulos J, Israël A*. IkappaBepsilon-deficient mice: reduction of one T cell precursor subspecies and enhanced Ig isotype switching and cytokine synthesis. *J Immunol.* 1999; 163(11):5994–6005.

70. *Samson SI, Mémet S, Vosshenrich CA, Colucci F, Richard O, Ndiaye D, Israël A, Di Santo JP*. Combined deficiency in IkappaBalpha and IkappaBepsilon reveals a critical window of NF-kappaB activity in natural killer cell differentiation. *Blood*. 2004; 103(12):4573–4580.
71. *Sha WC, Liou HC, Tuomanen EI, Baltimore D*. Targeted disruption of the p50 subunit of NF-kappa B leads to multifocal defects in immune responses. *Cell*. 1995; 80(2):321–330.
72. *Timmers L, van Keulen JK, Hoefer IE, Meijs MF, van Middelaar B, den Ouden K, van Echteld CJ, Pasterkamp G, de Kleijn DP*. Targeted deletion of nuclear factor kappaB p50 enhances cardiac remodeling and dysfunction following myocardial infarction. *Circ Res*. 2009; 104(5):699–706.
73. *Kato A, Edwards MJ, Lentsch AB*. Gene deletion of NF-kappa B p50 does not alter the hepatic inflammatory response to ischemia/reperfusion. *J Hepatol*. 2002; 37(1):48–55.
74. *Schwarz EM, Badorff C, Hiura TS, Wessely R, Badorff A, Verma IM, Knowlton KU*. NF-kappaB-mediated inhibition of apoptosis is required for encephalomyocarditis virus virulence: a mechanism of resistance in p50 knockout mice. *J Virol*. 1998; 72(7):5654–5660.
75. *Serre K, Mohr E, Bénézech C, Bird R, Khan M, Caamaño JH, Cunningham AF, Maclennan IC*. Selective effects of NF-κB1 deficiency in CD4 T cells on Th2 and TFh induction by alum-precipitated protein vaccines. *Eur J Immunol*. 2011; 41(6):1573–1582.
76. *Yang HT, Papoutsopoulou S, Belich M, Brender C, Janzen J, Gantke T, Handley M, Ley SC*. Coordinate regulation of TPL-2 and NF-κB signaling in macrophages by NF-κB1 p105. *Mol Cell Biol*. 2012; 32(17):3438–3451.
77. *Sriskantharajah S, Belich MP, Papoutsopoulou S, Janzen J, Tybulewicz V, Seddon B, Ley SC*. Proteolysis of NF-kappaB1 p105 is essential for T cell antigen receptor-induced proliferation. *Nat Immunol*. 2009; 10(1):38–47.
78. *Caamaño JH, Rizzo CA, Durham SK, Barton DS, Raventós-Suárez C, Snapper CM, Bravo R*. Nuclear factor (NF)-kappa B2 (p100/p52) is required for normal splenic microarchitecture and B cell-mediated immune responses. *J Exp Med*. 1998; 187(2):185–196.
79. *Franzoso G, Carlson L, Poljak L, Shores EW, Epstein S, Leonardi A, Grinberg A, Tran T, Scharton-Kersten T, Anver M, Love P, Brown K, Siebenlist U*. Mice deficient in nuclear factor (NF)-kappa B/p52 present with defects in humoral responses, germinal center reactions, and splenic microarchitecture. *J Exp Med*. 1998; 187(2):147–159.
80. *Paxian S, Merkle H, Riemann M, Wilda M, Adler G, Hameister H, Liptay S, Pfeffer K, Schmid RM*. Abnormal organogenesis of Peyer's patches in mice deficient for NF-kappaB1, NF-kappaB2, and Bcl-3. *Gastroenterology*. 2002; 122(7):1853–1868.
81. *Yilmaz ZB, Weih DS, Sivakumar V, Weih F*. RelB is required for Peyer's patch development: differential regulation of p52-RelB by lymphotoxin and TNF. *EMBO J*. 2003; 22(1):121–130.
82. *Tucker E, O'Donnell K, Fuchsberger M, Hilton AA, Metcalf D, Greig K, Sims NA, Quinn JM, Alexander WS, Hilton DJ, Kile BT, Tarlinton DM, Starr R*. A novel mutation in the Nfkb2 gene generates an NF-kappa B2 "super repressor". *J Immunol*. 2007; 179(11):7514–7522.
83. *Giardino Torchia ML, Conze DB, Jankovic D, Ashwell JD*. Balance between NF-κB p100 and p52 regulates T cell costimulation dependence. *J Immunol*. 2013; 190 (2):549–555.
84. *McCarthy BA, Yang L, Ding J, Ren M, King W, ElSalanty M, Zakhary I, Sharawy M, Cui H, Ding HF*. NF-κB2 mutation targets survival, proliferation and differentiation pathways in the pathogenesis of plasma cell tumors. *BMC Cancer*. 2012; 12:203.
85. *Zhang B, Wang Z, Li T, Tsitsikov EN, Ding HF*. NF-kappaB2 mutation targets TRAF1 to induce lymphomagenesis. *Blood*. 2007; 110(2):743–751.
86. *Guo F, Weih D, Meier E, Weih F*. Constitutive alternative NF-kappaB signaling promotes marginal zone B-cell development but disrupts the marginal sinus and induces HEV-like structures in the spleen. *Blood*. 2007; 110(7):2381–2389.
87. *Ishikawa H, Carrasco D, Claudio E, Ryseck RP, Bravo R*. Gastric hyperplasia and increased proliferative responses of lymphocytes in mice lacking the COOH-terminal ankyrin domain of NF-kappaB2. *J Exp Med*. 1997; 186(7):999–1014.
88. *Miosge LA, Blasioli J, Blery M, Goodnow CC*. Analysis of an ethylnitrosourea-generated mouse mutation defines a cell intrinsic role of nuclear factor kappaB2 in regulating circulating B cell numbers. *J Exp Med*. 2002; 196(8):1113–1119.
89. *Beg AA, Sha WC, Bronson RT, Ghosh S, Baltimore D*. Embryonic lethality and liver degeneration in mice lacking the RelA component of NF-kappa B. *Nature*. 1995; 376(6536):167–170.
90. *Alcamo E, Mizgerd JP, Horwitz BH, Bronson R, Beg AA, Scott M, Doerschuk CM, Hynes RO, Baltimore D*. Targeted mutation of TNF receptor I rescues the RelA-deficient mouse and reveals a critical role for NF-kappa B in leukocyte recruitment. *J Immunol*. 2001; 167(3):1592–1600.
91. *Gugasyan R, Voss A, Varigos G, Thomas T, Grumont RJ, Kaur P, Grigoriadis G, Gerondakis S*. The transcription factors c-rel and RelA control epidermal development and homeostasis in embryonic and adult skin via distinct mechanisms. *Mol Cell Biol*. 2004; 24(13):5733–5745.
92. *Gapuzan ME, Schmah O, Pollock AD, Hoffmann A, Gilmore TD*. Immortalized fibroblasts from NF-kappaB RelA knockout mice show phenotypic heterogeneity and maintain increased sensitivity to tumor necrosis factor alpha after transformation by v-Ras. *Oncogene*. 2005; 24(43):6574–6583.
93. *Alcamo E, Hacohen N, Schulte LC, Rennert PD, Hynes RO, Baltimore D*. Requirement for the NF-kappaB family member RelA in the development of secondary lymphoid organs. *J Exp Med*. 2002; 195(2):233–244
94. *Ai L, Skehan RR, Saydi J, Lin T, Brown KD*. Ataxia-Telangiectasia, Mutated (ATM)/Nuclear Factor κ light chain enhancer of activated B cells (NFκB) signaling controls basal and DNA damage-induced transglutaminase 2 expression. *J Biol Chem*. 2012; 287(22):18330–18341.
95. *Xia C, Watton S, Nagl S, Samuel J, Lovegrove J, Cheshire J, Woo P*. Novel sites in the p65 subunit of NF-kappaB interact with TFIIB to facilitate NF-kappaB induced transcription. *FEBS Lett*. 2004; 561(1–3):217–222.
96. *Quinton LJ, Blahna MT, Jones MR, Allen E, Ferrari JD, Hilliard KL, Zhang X, Sabharwal V, Algül H, Akira S, Schmid RM, Pelton SI, Spira A, Mizgerd JP*. Hepatocyte-specific mutation of both NF-κB RelA and STAT3 abrogates the acute phase response in mice. *J Clin Invest*. 2012; 122(5):1758–1763.
97. *Msaki A, Sánchez AM, Koh LF, Barré B, Rocha S, Perkins ND, Johnson RF*. The role of RelA (p65) threonine 505 phosphorylation in the regulation of cell growth, survival, and migration. *Mol Biol Cell*. 2011; 22(17):3032–3040.
98. *Boersma MC, Dresselhaus EC, De Biase LM, Mihalas AB, Bergles DE, Meffert MK*. A requirement for nuclear factor-kappaB in developmental and plasticity-associated synaptogenesis. *J Neurosci*. 2011; 31(14):5414–2545.
99. *Peng Y, Gallagher SF, Landmann R, Haines K, Murr MM*. The role of p65 NF-kappaB/RelA in pancreatitis-induced Kupffer cell apoptosis. *J Gastrointest Surg*. 2006; 10(6):837–847.
100. *Carrasco D, Cheng J, Lewin A, Warr G, Yang H, Rizzo C, Rosas F, Snapper C, Bravo R*. Multiple hemopoietic defects and lymphoid hyperplasia in mice lacking the transcriptional activation domain of the c-Rel protein. *J Exp Med*. 1998; 187(7):973–984
101. *Mason NJ, Liou HC, Hunter CA*. T cell-intrinsic expression of c-Rel regulates Th1 cell responses essential for resistance to Toxoplasma gondii. *J Immunol*. 2004; 172(6):3704–3711.
102. *Ouaaz F, Arron J, Zheng Y, Choi Y, Beg AA*. Dendritic cell development and survival require distinct NF-kappaB subunits. *Immunity*. 2002; 16(2):257–270.
103. *Gaspar-Pereira S, Fullard N, Townsend PA, Banks PS, Ellis EL, Fox C, Maxwell AG, Murphy LB, Kirk A, Bauer R, Caamaño JH, Figg N, Foo RS, Mann J, Mann DA, Oakley F*. The NF-κB subunit c-Rel stimulates cardiac hypertrophy and fibrosis. *Am J Pathol*. 2012; 180(3):929–939.
104. *Gieling RG, Elsharkawy AM, Caamaño JH, Cowie DE, Wright MC, Ebrahimkhani MR, Burt AD, Mann J, Raychaudhuri P, Liou HC, Oakley F, Mann DA*. The c-Rel subunit of nuclear factor-kappaB regulates murine liver inflammation, wound-healing, and hepatocyte proliferation. *Hepatology*. 2010; 51(3):922–931.

105. *Grossmann M, Metcalf D, Merryfull J, Beg A, Baltimore D, Gerondakis S.* The combined absence of the transcription factors Rel and RelA leads to multiple hemopoietic cell defects. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999; 96(21):11848–11853.
106. *Weih DS, Yilmaz ZB, Weih F.* Essential role of RelB in germinal center and marginal zone formation and proper expression of homing chemokines. *J Immunol.* 2001; 167(4):1909–1919.
107. *Weih F, Carrasco D, Durham SK, Barton DS, Rizzo CA, Ryseck RP, Lira SA, Bravo R.* Multiorgan inflammation and hematopoietic abnormalities in mice with a targeted disruption of RelB, a member of the NF-kappa B/Rel family. *Cell.* 1995; 80(2):331–340.
108. *Wu L, D'Amico A, Winkel KD, Suter M, Lo D, Shortman K.* RelB is essential for the development of myeloid-related CD8alpha- dendritic cells but not of lymphoid-related CD8alpha+ dendritic cells. *Immunity.* 1998; 9(6):839–847.
109. *Basak S, Shih VF, Hoffmann A*. Generation and activation of multiple dimeric transcription factors within the NF-kappaB signaling system. *Mol Cell Biol.* 2008; 28(10):3139–3150.
110. *Bellet MM, Zocchi L, Sassone-Corsi P.* The RelB subunit of NFkB acts as a negative regulator of circadian gene expression. *Cell Cycle.* 2012; 11:3304–3311.
111. *Luo L, Sun Z, Fang Q, Huang S, Bai X, Luo G*. Effects of tolerogenic dendritic cells generated by siRNA-mediated RelB silencing on immune defense and surveillance functions of T cells. *Cell Immunol.* 2013; 282(1):28–37.
112. *Hagiwara K, Tsuchiya N, Takazoe M, Yamamoto K, Tokunaga K*. Identification of the gene variations in human IKKA *Immunogenetics*. 1999; 50(5–6):363–365.
113. *Dieguez-Gonzalez R, Akar S, Calaza M, Perez-Pampin E, Costas J, Torres M, Vicario JL, Velloso ML, Navarro F, Narvaez J, Joven B, Herrero-Beaumont G, Gonzalez-Alvaro I, Fernandez-Gutierrez B, de la Serna AR, Carreño L, Lopez-Longo J, Caliz R, Collado-Escobar MD, Blanco FJ, Fernandez-Lopez C, Balsa A, Pascual-Salcedo D, Gomez-Reino JJ, Gonzalez A*. Genetic variation in the nuclear factor kappaB pathway in relation to susceptibility to rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2009; 68(4):579–583.
114. *Menzaghi C, Plengvidhya N, Ma X, Warram JH, Shoelson SE, Doria A*. Genetic variability in insulin action inhibitor Ikkbeta (IKBKB) does not play a major role in the development of type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; Apr;87(4):1894–1897.
115. *Curtin K, Wolff RK, Herrick JS, Abo R, Slattery ML*. Exploring multilocus associations of inflammation genes and colorectal cancer risk using hapConstructor. *BMC Med Genet.* 2010; 11: 170.
116. *Smahi A, Courtois G, Vabres P, Yamaoka S, Heuertz S, Munnich A, Israël A, Heiss NS, Klauck SM, Kioschis P, Wiemann S, Poustka A, Esposito T, Bardaro T, Gianfrancesco F, Ciccodicola A, D'Urso M, Woffendin H, Jakins T, Donnai D, Stewart H, Kenwrick SJ, Aradhya S, Yamagata T, Levy M, Lewis RA, Nelson DL*. Genomic rearrangement in NEMO impairs NF-kappaB activation and is a cause of incontinentia pigmenti. The International Incontinentia Pigmenti (IP) Consortium. *Nature.* 2000; 405(6785):466–472.
117. *Makris C, Godfrey VL, Krähn-Senftleben G, Takahashi T, Roberts JL, Schwarz T, Feng L, Johnson RS, Karin M.* Female mice heterozygous for IKK gamma/NEMO deficiencies develop a dermatopathy similar to the human X-linked disorder incontinentia pigmenti. *Mol Cell*. 2000; 5(6):969–979.
118. *Zonana J, Elder ME, Schneider LC, Orlow SJ, Moss C, Golabi M, Shapira SK, Farndon PA, Wara DW, Emmal SA, Ferguson BM.* A novel X-linked disorder of immune deficiency and hypohidrotic ectodermal dysplasia is allelic to incontinentia pigmenti and due to mutations in IKK-gamma (NEMO). *Am J Hum Genet*. 2000; 67(6):1555–1562.
119. *Niehues T, Reichenbach J, Neubert J, Gudowius S, Puel A, Horneff G, Lainka E, Dirksen U, Schroten H, Döffinger R, Casanova JL, Wahn V*. Nuclear factor kappaB essential modulator-deficient child with immunodeficiency yet without anhidrotic ectodermal dysplasia. *J Allergy Clin Immunol.* 2004; 114(6):1456–1462.
120. *Orange JS, Levy O, Brodeur SR, Krzewski K, Roy RM, Niemela JE, Fleisher TA, Bonilla FA, Geha RS*. Human nuclear factor kappa B essential modulator mutation can result in immunodeficiency without ectodermal dysplasia. *J Allergy Clin Immunol.* 2004; 114(3):650–656.
121. *Jain A, Ma CA, Liu S, Brown M, Cohen J, Strober W*. Specific missense mutations in NEMO result in hyper-IgM syndrome with hypohydrotic ectodermal dysplasia. *Nat Immunol*. 2001; 2(3):223–228.
122. *Salt BH, Niemela JE, Pandey R, Hanson EP, Deering RP, Quinones R, Jain A, Orange JS, Gelfand EW*. IKBKG (nuclear factor-kappa B essential modulator) mutation can be associated with opportunistic infection without impairing Toll-like receptor function. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 121(4):976–982.
123. *Mooster JL, Cancrini C, Simonetti A, Rossi P, Di Matteo G, Romiti ML, Di Cesare S, Notarangelo L, Geha RS, McDonald DR*. Immune deficiency caused by impaired expression of nuclear factor-kappaB essential modifier (NEMO) because of a mutation in the 5' untranslated region of the NEMO gene. *J Allergy Clin Immunol*. 2010; 126(1):127–132.
124. *Leis H, Sanchis A, Pérez P.* Deletion of the N-terminus of IKKγ induces apoptosis in keratinocytes and impairs the AKT/PTEN signaling pathway. *Exp Cell Res.* 2007; 313(4):742–752.
125. *Jain A, Ma CA, Lopez-Granados E, Means G, Brady W, Orange JS, Liu S, Holland S, Derry JM.* Specific NEMO mutations impair CD40-mediated c-Rel activation and B cell terminal differentiation. *J Clin Invest.* 2004; 114(11):1593–1602.
126. *Ørstavik KH, Kristiansen M, Knudsen GP*. Novel splicing mutation in the NEMO (IKK-gamma) gene with severe immunodeficiency and heterogeneity of X-chromosome inactivation. *Am J Med Genet A*. 2006; 140(1):31–39.
127. *Otto C, Giefing M, Massow A, Vater I, Gesk S, Schlesner M, Richter J, Klapper W, Hansmann ML, Siebert R, Küppers R*. Genetic lesions of the TRAF3 and MAP3K14 genes in classical Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol*. 2012; 157(6):702–708.
128. *Thair SA, Walley KR, Nakada TA, McConechy MK, Boyd JH, Wellman H, Russell JA*. A single nucleotide polymorphism in NF-κB inducing kinase is associated with mortality in septic shock. *J Immunol.* 2011; 186(4):2321–2328.
129. *Roshandel D, Thomson W, Pye SR, Boonen S, Borghs H, Vanderschueren D, Huhtaniemi IT, Adams JE, Ward KA, Bartfai G, Casanueva FF, Finn JD, Forti G, Giwercman A, Han TS, Kula K, Lean ME, Pendleton N, Punab M, Wu FC, Holliday KL, O'Neill TW*. Polymorphisms in genes involved in the NF-κB signalling pathway are associated with bone mineral density, geometry and turnover in men. *PLoS One*. 2011; 6(11):e28031.
130. *Bowes JD, Potter C, Gibbons LJ, Hyrich K, Plant D, Morgan AW, Wilson AG, Isaacs JD, Worthington J, Barton A*. Investigation of genetic variants within candidate genes of the TNFRSF1B signalling pathway on the response to anti-TNF agents in a UK cohort of rheumatoid arthritis patients. *Pharmacogenet Genomics.* 2009; 19(4):319–323.
131. *Courtois G, Smahi A, Reichenbach J, Döffinger R, Cancrini C, Bonnet M, Puel A, Chable-Bessia C, Yamaoka S, Feinberg J, Dupuis-Girod S, Bodemer C, Livadiotti S, Novelli F, Rossi P, Fischer A, Israël A, Munnich A, Le Deist F, Casanova JL*. A hypermorphic IkappaBalpha mutation is associated with autosomal dominant anhidrotic ectodermal dysplasia and T cell immunodeficiency. *J Clin Invest.* 2003; 112(7):1108–1115.
132. *Puel A, Picard C, Ku CL, Smahi A, Casanova JL*. Inherited disorders of NF-kappaB-mediated immunity in man. *Curr Opin Immunol.* 2004; 16(1):34–41.
133. *McDonald DR, Mooster JL, Reddy M, Bawle E, Secord E, Geha RS*. Heterozygous N-terminal deletion of IkappaBalpha results in functional nuclear factor kappaB haploinsufficiency, ectodermal dysplasia, and immune deficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2007; 120(4):900–907.
134. *Wu S, Morrison A, Sun H, De Luca F.* Nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) p65 interacts with Stat5b in growth plate chondrocytes and mediates the effects of growth hormone on chondrogenesis and on the expression of insulin-like growth factor-1 and bone morphogenetic protein-2. *J Biol Chem*. 2011; 286(28):24726–24734.
135. *Li X, Xing D, Wang J, Zhu DB, Zhang L, Chen XJ, Sun FY, Hong A.* Effects of IkappaBalpha and its mutants on NF-kappaB and p53 signaling pathways. *World J Gastroenterol.* 2006; 2(41):6658–6664.

136. *Emmerich F, Meiser M, Hummel M, Demel G, Foss HD, Jundt F, Mathas S, Krappmann D, Scheidereit C, Stein H, Dörken B.* Overexpression of I kappa B alpha without inhibition of NF-kappaB activity and mutations in the I kappa B alpha gene in Reed-Sternberg cells. *Blood.* 1999; 94(9):3129–3134.
137. *Schmidt A, Schmitz R, Giefing M, Martin-Subero JI, Gesk S, Vater I, Massow A, Maggio E, Schneider M, Hansmann ML, Siebert R, Küppers R.* Rare occurrence of biallelic CYLD gene mutations in classical Hodgkin lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer.* 2010; 49(9):803–809.
138. *Hatta Y, Arima N, Machino T, Itoh T, Hashimoto S, Takeuchi J, Sawada U, Hayakawa S, Yamamoto T, Horie T.* Mutational analysis of IkappaBalpha in hematologic malignancies. *Int J Mol Med.* 2003; 11(2):239–242.
139. *Kalaitzidis D, Davis RE, Rosenwald A, Staudt LM, Gilmore TD*. The human B-cell lymphoma cell line RC-K8 has multiple genetic alterations that dysregulate the Rel/NF-kappaB signal transduction pathway. *Oncogene*. 2002; 21(57):8759–8768.
140. *Bredel M, Scholtens DM, Yadav AK, Alvarez AA, Renfrow JJ, Chandler JP, Yu IL, Carro MS, Dai F, Tagge MJ, Ferrarese R, Bredel C, Phillips HS, Lukac PJ, Robe PA, Weyerbrock A, Vogel H, Dubner S, Mobley B, He X, Scheck AC, Sikic BI, Aldape KD, Chakravarti A, Harsh GR.* NFKBIA deletion in glioblastomas. *N Engl J Med*. 2011; 364(7):627–637.
141. *Kim LH, Shin HD, Park BL, Jung JH, Kim JY, Kim YJ, Lee HS.* Identification of variants in NFKBIA and association analysis with hepatocellular carcinoma risk among chronic HBV patients. *Hum Mutat.* 2003; 21(6):652–653.
142. *Cheng CW, Su JL, Lin CW, Su CW, Shih CH, Yang SF, Chien MH.* Effects of NFKB1 and NFKBIA gene polymorphisms on hepatocellular carcinoma susceptibility and clinicopathological features. *PLoS One.* 2013; 8(2):e56130.
143. *Kim DD, Yun J, Won HH, Cheng L, Su J, Xu W, Uhm J, Gupta V, Kuruvilla J, Messner HA, Lipton JH.* Multiple single-nucleotide polymorphism-based risk model for clinical outcomes after allogeneic stem-cell transplantation, especially for acute graft-versus-host disease. *Transplantation.* 2012; 94(12):1250–1257.
144. *Daley D, Park JE, He JQ, Yan J, Akhabir L, Stefanowicz D, Becker AB, Chan-Yeung M, Bossé Y, Kozyrskyj AL, James AL, Musk AW, Laprise C, Hegele RG, Paré PD, Sandford AJ*. Associations and interactions of genetic polymorphisms in innate immunity genes with early viral infections and susceptibility to asthma and asthma-related phenotypes. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;130(6):1284–1293.
145. *Meyer NJ, Daye ZJ, Rushefski M, Aplenc R, Lanken PN, Shashaty MG, Christie JD, Feng R.* SNP-set analysis replicates acute lung injury genetic risk factors. *BMC Med Genet.* 2012; 16:13–52.
146. *Lin CW, Hsieh YS, Hsin CH, Su CW, Lin CH, Wei LH, Yang SF, Chien MH*. Effects of NFKB1 and NFKBIA gene polymorphisms on susceptibility to environmental factors and the clinicopathologic development of oral cancer. *PLoS One*. 2012; 7(4):e35078.
147. *Ovsyannikova IG, Haralambieva IH, Vierkant RA, Pankratz VS, Jacobson RM, Poland GA*. The role of polymorphisms in Toll-like receptors and their associated intracellular signaling genes in measles vaccine immunity. *Hum Genet.* 2011; 130(4):547–561.
148. *Chapman SJ, Khor CC, Vannberg FO, Frodsham A, Walley A, Maskell NA, Davies CW, Segal S, Moore CE, Gillespie SH, Denny P, Day NP, Crook DW, Davies RJ, Hill AV*. IkappaB genetic polymorphisms and invasive pneumococcal disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007; 176(2):181–187.
149. *Zhang GL, Zou YF, Feng XL, Shi HJ, Du XF, Shao MH, Gu Y, Zhou Q.* Association of the NFKBIA gene polymorphisms with susceptibility to autoimmune and inflammatory diseases: a meta-analysis. *Inflamm Res.* 2011; 60(1):11–18.
150. *Kurylowicz A, Miśkiewicz P, Bar-Andziak E, Nauman J, Bednarczuk T*. Association of polymorphism in genes encoding kappaB inhibitors (IkappaB) with susceptibility to and phenotype of Graves' disease: a case-control study. *Thyroid Res.* 2009; 2(1):10.
151. *Szamosi T, Lakatos PL; Hungarian IBD Study Group, Szilvasi A, Lakatos L, Kovacs A, Molnar T, Altorjay I, Papp M, Szabo O, Satori A, Tulassay Z, Miheller P, Horvath HC, Papp J, Tordai A, Andrikovics H.* The 3'UTR NFKBIA variant is associated with extensive colitis in Hungarian IBD patients. *Dig Dis Sci.* 2009; 54(2):351–359.
152. *Gao J, Pfeifer D, He LJ, Qiao F, Zhang Z, Arbman G, Wang ZL, Jia CR, Carstensen J, Sun XF*. Association of NFKBIA polymorphism with colorectal cancer risk and prognosis in Swedish and Chinese populations. *Scand J Gastroenterol*. 2007; 42(3):345–350.
153. *Katarina K, Daniela P, Peter N, Marianna R, Pavlina C, Stepanka P, Jan L, Ludmila T, Michal A, Marie C.* HLA, NFKB1 and NFKBIA gene polymorphism profile in autoimmune diabetes mellitus patients. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2007; 115(2):124–129.
154. *Zhai R, Zhou W, Gong MN, Thompson BT, Su L, Yu C, Kraft P, Christiani DC.* Inhibitor kappaB-alpha haplotype GTC is associated with susceptibility to acute respiratory distress syndrome in Caucasians. *Crit Care Med.* 2007; 35(3):893–898.
155. *Carlson CS, Heagerty PJ, Nord AS, Pritchard DK, Ranchalis J, Boguch JM, Duan H, Hatsukami TS, Schwartz SM, Rieder MJ, Nickerson DA, Jarvik GP.* TagSNP evaluation for the association of 42 inflammation loci and vascular disease: evidence of IL6, FGB, ALOX5, NFKBIA, and IL4R loci effects. *Hum Genet.* 2007; 121(1):65–75.
156. *Romzova M, Hohenadel D, Kolostova K, Pinterova D, Fojtikova M, Ruzickova S, Dostal C, Bosak V, Rychlik I, Cerna M.* NFkappaB and its inhibitor IkappaB in relation to type 2 diabetes and its microvascular and atherosclerotic complications. *Hum Immunol.* 2006; 67(9):706–713.
157. *Spink CF, Gray LC, Davies FE, Morgan GJ, Bidwell JL.* Haplotypic structure across the I kappa B alpha gene (NFKBIA) and association with multiple myeloma. *Cancer Lett.* 2007; 246(1–2):92–99.
158. *Bakke PS, Zhu G, Gulsvik A, Kong X, Agusti AG, Calverley PM, Donner CF, Levy RD, Make BJ, Paré PD, Rennard SI, Vestbo J, Wouters EF, Anderson W, Lomas DA, Silverman EK, Pillai SG*. Candidate genes for COPD in two large data sets. *Eur Respir J.* 2011; 37(2):255–263.
159. *White KL, Vierkant RA, Phelan CM.* Polymorphisms in NF-kappaB inhibitors and risk of epithelial ovarian cancer. *BVC Cancer,* 2009; 9:170.
160. *Myouzen K, Kochi Y, Okada Y, Terao C, Suzuki A, Ikari K, Tsunoda T, Takahashi A, Kubo M, Taniguchi A, Matsuda F, Ohmura K, Momohara S, Mimori T, Yamanaka H, Kamatani N, Yamada R, Nakamura Y, Yamamoto K*. Functional variants in NFKBIE and RTKN2 involved in activation of the NF-κB pathway are associated with rheumatoid arthritis in Japanese. *PLoS Genet.* 2012; 8(9):e1002949.
161. *Doménech E, Gómez-López G, Gzlez-Peña D, López M, Herreros B, Menezes J, Gómez-Lozano N, Carro A, Graña O, Pisano DG, Domínguez O, García-Marco JA, Piris MA, Sánchez-Beato M*. New mutations in chronic lymphocytic leukemia identified by target enrichment and deep sequencing. *PLoS One.* 2012; 7(6):e38158.
162. *Liptay S, Schmid RM, Perkins ND, Meltzer P, Altherr MR, McPherson JD, Wasmuth JJ, Nabel GJ.* Related subunits of NF-kappa B map to two distinct loci associated with translocations in leukemia, NFKB1 and NFKB2. *Genomics.* 1992; 13(2):287–292.
163. *Karban AS, Okazaki T, Panhuysen CI, Gallegos T, Potter JJ, Bailey-Wilson JE, Silverberg MS, Duerr RH, Cho JH, Gregersen PK, Wu Y, Achkar JP, Dassopoulos T, Mezey E, Bayless TM, Nouvet FJ, Brant SR*. Functional annotation of a novel NFKB1 promoter polymorphism that increases risk for ulcerative colitis. *Hum Mol Genet.* 2004; 13(1):35–45.
164. *Bu H, Rosdahl I, Sun XF, Zhang H.* Importance of polymorphisms in NF-kappaB1 and NF-kappaBIalpha genes for melanoma risk, clinicopathological features and tumor progression in Swedish melanoma patients. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2007; 133(11):859–866.
165. *Riemann K, Becker L, Struwe H, Rübben H, Eisenhardt A, Siffert W*. Insertion/deletion polymorphism in the promoter of NFKB1 as a potential molecular marker for the risk of recurrence in superficial bladder cancer. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2007; 45(8):423–430.
166. *Marcos M, Pastor I, González-Sarmiento R, Laso FJ*. A functional polymorphism of the NFKB1 gene increases the risk for alcoholic liver cirrhosis in patients with alcohol de-

pendence. *Alcohol Clin Exp Res.* 2009; 33(11):1857–1862.
167. *Fontaine-Bisson B, Wolever TM, Connelly PW, Corey PN, El-Sohemy A*. NF-kappaB-94Ins/Del ATTG polymorphism modifies the association between dietary polyunsaturated fatty acids and HDL-cholesterol in two distinct populations. *Atherosclerosis.* 2009; 204(2):465–470.
168. *Zou YF, Yuan FL, Feng XL, Tao JH, Ding N, Pan FM, Wang F.* Association between NFKB1-94ins/delATTG promoter polymorphism and cancer risk: a meta-analysis. *Cancer Invest.* 2011; 29(1):78–85.
169. *Bianco B, Lerner TG, Trevisan CM, Cavalcanti V, Christofolini DM, Barbosa CP*. The nuclear factor-kB functional promoter polymorphism is associated with endometriosis and infertility. *Hum Immunol.* 2012; 73(11):1190–1193.
170. López-*Mejías R, García-Bermúdez M, González-Juanatey C, Castañeda S, Miranda-Filloy JA, Gómez-Vaquero C, Fernández-Gutiérrez B, Balsa A, Pascual-Salcedo D, Blanco R, González-Álvaro I, Llorca J, Martín J, González-Gay MA*. NFKB1-94ATTG ins/del polymorphism (rs28362491) is associated with cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis*. 2012; 224(2):426–429.
171. *Zou YF, Wang F, Feng XL, Tao JH, Zhu JM, Pan FM, Su H.* Association of NFKB1-94ins/delATTG promoter polymorphism with susceptibility to autoimmune and inflammatory diseases: a meta-analysis. *Tissue Antigens.* 2011; 77(1):9–17.
172. *Boccardi V, Rizzo MR, Marfella R, Papa M, Esposito A, Portoghese M, Paolisso G, Barbieri M.*-94 ins/del ATTG NFKB1 gene variant is associated with lower susceptibility to myocardial infarction. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2011; 21(9):679–684.
173. *Mishra A, Srivastava A, Mittal T, Garg N, Mittal B.* Role of inflammatory gene polymorphisms in left ventricular dysfunction (LVD) susceptibility in coronary artery disease (CAD) patients. *Cytokine.* 2013; 12:1043–4666.
174. *Zhang D, Li L, Zhu Y, Zhao L, Wan L, Lv J, Li X, Huang P, Wei L, Ma M.* The NFKB1-94 ATTG insertion/deletion polymorphism (rs28362491) contributes to the susceptibility of congenital heart disease in a Chinese population. *Gene.* 2013; 516(2):307–310.
175. *Adamzik M, Schäfer S, Frey UH, Becker A, Kreuzer M, Winning S, Frede S, Steinmann J, Fandrey J, Zacharowski K, Siffert W, Peters J, Hartmann M.* The NFKB1 promoter polymorphism (-94ins/delATTG) alters nuclear translocation of NF-κB1 in monocytes after lipopolysaccharide stimulation and is associated with increased mortality in sepsis. *Anesthesiology.* 2013; 118(1):123–133.
176. *Cai H, Sun L, Cui L, Cao Q, Qin C, Zhang G, Mao X, Wang M, Zhang Z, Shao P, Yin C.* A Functional Insertion/Deletion Polymorphism (-94 ins/del ATTG) in the Promoter Region of the NFKB1 Gene Is Related to the Risk of Renal Cell Carcinoma. *Urol Int.* 2012; 91(2):206–212.
177. *Hayashi R, Tahara T, Yamaaki T, Saito T, Matsunaga K, Hayashi N, Fukumura A, Ozaki K, Nakamura M, Shiroeda H, Tsutsumi M, Shibata T, Arisawa T.*-449 C>G polymorphism of NFKB1 gene, coding nuclear factor-kappa-B, is associated with the susceptibility to ulcerative colitis. *World J Gastroentero.* 2012; 18(47):6981–6986.
178. *Cerhan JR, Liu-Mares W, Fredericksen ZS, Novak AJ, Cunningham JM, Kay NE, Dogan A, Liebow M, Wang AH, Call TG, Habermann TM, Ansell SM, Slager SL.* Genetic variation in tumor necrosis factor and the nuclear factor-kappaB canonical pathway and risk of non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008; 17(11):3161–3169.
179. *Yu Y, Liu H, Jin M, Zhang M, Pan Y, Zhang S, Li Q, Chen K.* The joint association of REST and NFKB1 polymorphisms on the risk of colorectal cancer. *Ann Hum Genet.* 2012; 76(4):269–276.
180. *Jiao X, Wood LD, Lindman M, Jones S, Buckhaults P, Polyak K, Sukumar S, Carter H, Kim D, Karchin R, Sjöblom T.* Somatic mutations in the Notch, NF-KB, PIK3CA, and Hedgehog pathways in human breast cancers. *Genes Chromosomes Cancer.* 2012; 51(5):480–489.
181. *Demchenko YN, Glebov OK, Zingone A, Keats JJ, Bergsagel PL, Kuehl WM*. Classical and/or alternative NF-kappaB pathway activation in multiple myeloma. *Blood.* 2010; 115(17):3541–3552.
182. *Wintermeyer P, Riess O, Schöls L, Przuntek H, Miterski B, Epplen JT, Krüger R.* Mutation analysis and association studies of nuclear factor-kappaB1 in sporadic Parkinson's disease patients. *J Neural Transm*. 2002; 109(9):1181–1188.
183. *Ciana P, Neri A, Cappellini C, Cavallo F, Pomati M, Chang CC, Maiolo AT, Lombardi L.* Constitutive expression of lymphoma-associated NFKB-2/Lyt-10 proteins is tumorigenic in murine fibroblasts. *Oncogene.* 1997; 14(15):1805–1810.
184. *Migliazza A, Lombardi L, Rocchi M, Trecca D, Chang CC, Antonacci R, Fracchiolla NS, Ciana P, Maiolo AT, Neri A.* Heterogeneous chromosomal aberrations generate 3' truncations of the NFKB2/lyt-10 gene in lymphoid malignancies. *Blood.* 1994; 84(11):3850–3860.
185. *Derudder E, Laferté A, Ferreira V, Mishal Z, Baud V, Tarantino N, Körner M*. Identification and characterization of p100HB, a new mutant form of p100/NF-kappa B2. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003; 308(4):744–749.
186. *Liao G, Sun SC*. Regulation of NF-kappaB2/p100 processing by its nuclear shuttling. *Oncogene.* 2003; 22(31):4868–4874.
187. *Epinat JC, Kazandjian D, Harkness DD, Petros S, Dave J, White DW, Gilmore TD.* Mutant envelope residues confer a transactivation function onto N-terminal sequences of the v-Rel oncoprotein. *Oncogene.* 2000; 19(5):599–607.
188. *Isogawa M, Higuchi M, Takahashi M, Oie M, Mori N, Tanaka Y, Aoyagi Y, Fujii M*. Rearranged NF-kappa B2 gene in an adult T-cell leukemia cell line. *Cancer Sci*. 2008; 99(4):792–798.
189. *Gough SM, Benjes SM, McDonald M, Heaton D, Ganly P, Morris CM.* Translocation (5;10)(q22;q24) in a case of acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet.* 2006; 165(1):36–40.
190. *Chen CP, Chen YJ, Tsai FJ, Chern SR, Wang W*. NFkappaB2 gene duplication is associated with fetal pyelectasis in partial trisomy 10q (10q24.1--> qter). *Prenat Diagn.* 2008; 28(4):364–365.
191. *Kajita M, Iwasaki H, Ota N, Shinohara Y, Kodaira M, Nakajima T, Emi M.* Novel single nucleotide polymorphisms of the human colony-stimulating factor 2 (CSF2) gene identified by sequencing the entire gene. *J Hum Genet.* 2001; 46(1):48–49.
192. *Trecca D, Guerrini L, Fracchiolla NS, Pomati M, Baldini L, Maiolo AT, Neri A.* Identification of a tumor-associated mutant form of the NF-kappaB RelA gene with reduced DNA-binding and transactivating activities. *Oncogene*. 1997; 14(7):791–799.
193. *Luco S, Delmas O, Vidalain PO, Tangy F, Weil R, Bourhy H.* RelAp43, a member of the NF-κB family involved in innate immune response against Lyssavirus infection. *PLoS Pathog.* 2012; 8(12):e1003060.
194. *Cai L, Deng SL, Liang L, Pan H, Zhou J, Wang MY, Yue J, Wan CL, He G, He L.* Identification of genetic associations of SP110/MYBBP1A/RELA with pulmonary tuberculosis in the Chinese Han population. *Hum Genet*. 2013; 132(3):265–273.
195. *Geng H, Wittwer T, Dittrich-Breiholz O, Kracht M, Schmitz ML*. Phosphorylation of NF-kappaB p65 at Ser468 controls its COMMD1-dependent ubiquitination and target gene-specific proteasomal elimination. *EMBO Rep*. 2009; 10(4):381–386.
196. *Prasad RC, Wang XL, Law BK, Davis B, Green G, Boone B, Sims L, Law M.* Identification of genes, including the gene encoding p27Kip1, regulated by serine 276 phosphorylation of the p65 subunit of NF-kappaB. *Cancer Lett.* 2009; 275(1):139–149.
197. *Anand P, Kunnumakkara AB, Harikumar KB, Ahn KS, Badmaev V, Aggarwal BB.* Modification of cysteine residue in p65 subunit of nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) by picroliv suppresses NF-kappaB-regulated gene products and potentiates apoptosis. *Cancer Res.* 2008; 68(21):8861–8870.
198. *Yoon C, Korade Z, Carter BD.* Protein kinase A-induced phosphorylation of the p65 subunit of nuclear factor-kappaB promotes Schwann cell differentiation into a myelinating phenotype. *J Neurosci.* 2008; 28(14):3738–3746.
199. *Hashimoto R, Ohi K, Yasuda Y, Fukumoto M, Yamamori H, Takahashi H, Iwase M, Okochi T, Kazui H, Saitoh O, Tatsumi M, Iwata N, Ozaki N, Kamijima K, Kunugi H, Takeda M*. Variants of the RELA gene are associated with

schizophrenia and their startle responses. *Neuropsychopharmacology.* 2011; 36(9):1921–1931.

200. *Starczynowski DT, Trautmann H, Pott C, Harder L, Arnold N, Africa JA, Leeman JR, Siebert R, Gilmore TD.* Mutation of an IKK phosphorylation site within the transactivation domain of REL in two patients with B-cell lymphoma enhances REL's in vitro transforming activity. *Oncogene.* 2007; 26(19):2685–2694.
201. *Enciso-Mora V, Broderick P, Ma Y, Jarrett RF, Hjalgrim H, Hemminki K, van den Berg A, Olver B, Lloyd A, Dobbins SE, Lightfoot T, van Leeuwen FE, Försti A, Diepstra A, Broeks A, Vijayakrishnan J, Shield L, Lake A, Montgomery D, Roman E, Engert A, von Strandmann EP, Reiners KS, Nolte IM, Smedby KE, Adami HO, Russell NS, Glimelius B, Hamilton-Dutoit S, de Bruin M, Ryder LP, Molin D, Sorensen KM, Chang ET, Taylor M, Cooke R, Hofstra R, Westers H, van Wezel T, van Eijk R, Ashworth A, Rostgaard K, Melbye M, Swerdlow AJ, Houlston RS.* A genome-wide association study of Hodgkin's lymphoma identifies new susceptibility loci at 191. 2p16.1 (REL), 8q24.21 and 10p14 (GATA3). *Nat Genet.* 2010; 42(12):1126–1130.
202. *Gregersen PK, Amos CI, Lee AT, Lu Y, Remmers EF, Kastner DL, Seldin MF, Criswell LA, Plenge RM, Holers VM, Mikuls TR, Sokka T, Moreland LW, Bridges SL Jr, Xie G, Begovich AB, Siminovitch KA*. REL, encoding a member of the NF-kappaB family of transcription factors, is a newly defined risk locus for rheumatoid arthritis. *Nat Genet.* 2009; 41(7):820–823.
203. *Bowes J, Ho P, Flynn E, Ali F, Marzo-Ortega H, Coates LC, Warren RB, McManus R, Ryan AW, Kane D, Korendowych E, McHugh N, FitzGerald O, Packham J, Morgan AW, Bruce IN, Barton A.* Comprehensive assessment of rheumatoid arthritis susceptibility loci in a large psoriatic arthritis cohort. *Ann Rheum Dis*. 2012; 71(8):1350–1354.
204. *Ellinghaus E, Stuart PE, Ellinghaus D, Nair RP, Debrus S, Raelson JV, Belouchi M, Tejasvi T, Li Y, Tsoi LC, Onken AT, Esko T, Metspalu A, Rahman P, Gladman DD, Bowcock AM, Helms C, Krueger GG, Koks S, Kingo K, Gieger C, Wichmann HE, Mrowietz U, Weidinger S, Schreiber S, Abecasis GR, Elder JT, Weichenthal M, Franke A.* Genome-wide meta-analysis of psoriatic arthritis identifies susceptibility locus at REL. *J Invest Dermatol.* 2012; 132(4):1133–1140.
205. *Trynka G, Zhernakova A, Romanos J, Franke L, Hunt KA, Turner G, Bruinenberg M, Heap GA, Platteel M, Ryan AW, de Kovel C, Holmes GK, Howdle PD, Walters JR, Sanders DS, Mulder CJ, Mearin ML, Verbeek WH, Trimble V, Stevens FM, Kelleher D, Barisani D, Bardella MT, McManus R, van Heel DA, Wijmenga C.* Coeliac disease-associated risk variants in TNFAIP3 and REL implicate altered NF-kappaB signaling. *Gut*. 2009; 58(8):1078–1083.
206. *Izzo V, Pinelli M, Tinto N, Esposito MV, Cola A, Sperandeo MP, Tucci F, Cocozza S, Greco L, Sacchetti L.* Improving the estimation of celiac disease sibling risk by non-HLA genes. *PLoS One.* 2011; 6(11):e26920.
207. *Janse M, Lamberts LE, Franke L, Raychaudhuri S, Ellinghaus E, Muri Boberg K, Melum E, Folseraas T, Schrumpf E, Bergquist A, Björnsson E, Fu J, Jan Westra H, Groen HJ, Fehrmann RS, Smolonska J, van den Berg LH, Ophoff RA, Porte RJ, Weismüller TJ, Wedemeyer J, Schramm C, Sterneck M, Günther R, Braun F, Vermeire S, Henckaerts L, Wijmenga C, Ponsioen CY, Schreiber S, Karlsen TH, Franke A, Weersma RK.* Three ulcerative colitis susceptibility loci are associated with primary sclerosing cholangitis and indicate a role for IL2, REL, and CARD9. *Hepatology*. 2011; 53(6):1977–1985.
208. *Eyre S, Hinks A, Flynn E, Martin P, Wilson AG, Maxwell JR, Morgan AW, Emery P, Steer S, Hocking LJ, Reid DM, Harrison P, Wordsworth P, Thomson W, Worthington J, Barton A*. Confirmation of association of the REL locus with rheumatoid arthritis susceptibility in the UK population. *Ann Rheum Dis.* 2010; 69(8):1572–1573.
209. *Chen WJ, Yang JY, Lin JH, Fann CS, Osyetrov V, King CC, Chen YM, Chang HL, Kuo HW, Liao F, Ho MS*. Nasopharyngeal shedding of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus is associated with genetic polymorphisms. *Clin Infect Dis.* 2006; 42(11):1561–1569.

Summary

The adaptation of organisms to environmental, mechanical, chemical and microbiological stresses needs inducible regulation of gene expression. One of the most well-known inducible transcription factors is NF-kB. NF-kB has evolutional importance not only for the immune system but also for other organs and systems influencing gene expression that impact cell survival, differentiation, and proliferation. NF-kB signaling mediated by NEMO-dependent or NEMO-independent IKK complexes should be considered within the context of a single regulatory or signaling system. In this review, we retrace some of the important discoveries that have accompanied the description of single IKK-IKB-NF-kB system for both canonical and non-canonical signaling. In particular, we describe gene variability of this system and its phenotypic consequences. Genetic disorders of this system led to the impairment of organogenesis and regeneration, malignancy, autoimmune and inflammatory diseases. All members of IKK-IKB-NF-kB system can be the targets for gene investigation and manipulation. Systemic genetic approach can be a powerful tool for the investigation of IKK-IKB-NF-kB system functions and for the discovery of new diagnostic and therapeutic strategies.

Keywords: NF-kB, polymorphisms, mutation, disease, inflammation, malignancy

Матеріал надійшов до редакції 10.09.2014

КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

© Дзюблик Я.О., Соловйов С.О.
УДК 616.921.5-06:616.24-002

РЕТРОСПЕКТИВНИЙ АНАЛІЗ ЗАХВОРЮВАНОСТІ НА ГРИП ТА ПНЕВМОНІЇ В ОКРЕМИХ РЕГІОНАХ УКРАЇНИ ТА СИНЕРГІЗМУ МІЖ НИМИ*

[1]Дзюблик Я.О., [2]Соловйов С.О.

[1]ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології імені Ф.Г. Яновського НАМН України». м. Київ

[2]Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ

Грипп является одной из наиболее актуальных проблем здравоохранения во всем мире, а эпидемии гриппа нередко сопровождаются повышением заболеваемости населения пневмониями. С использованием официальных статистических данных наблюдений был проведен анализ связи между заболеваемостью пневмониями и заболеваемостью гриппом в разных регионах Украины за период 2007-2011гг. Результаты исследования показали, что заболеваемость пневмонией за последние годы в Украине имеет сильную корреляционную связь с показателем заболеваемости гриппом.

Ключевые слова: Грипп, пневмония, корреляционная связь.

Актуальність.

Грип є найбільш розповсюдженим та масовим інфекційним захворюванням в усьому світі. За даними ВООЗ, щорічно на грип хворіють майже 100 млн людей у всьому світу, а в періоди пандемій їх загальна кількість збільшується в 4-5 разів. Відомо, що практично кожна третя людина в світі, як мінімум, щорічно хворіє на грип та гострі респіраторні вірусні захворювання [1]. Грип та інші ГРВІ в Україні є найбільш розповсюдженою інфекційною патологією. Згідно даних центру грипу та ГРВІ МОЗ України пік рівня захворюваності на грип в останні роки коливається від 17 до 45 на 100 тис. дорослого населення (рис. 1) [2].

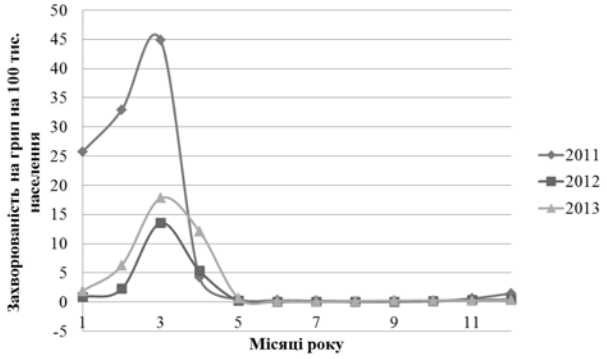


Рис. 1. Інтенсивний показник захворюваності на грип (2011-2013 рр.)

Ці дані дозволяють вважати грип стратегічно важливою медичною проблемою, яка потребує впровадження ефективних уніфікованих протиепідемічних заходів і їх чіткої координації для мінімізації рівню захворюваності, соціальних та економічних втрат. Не можна обминути і той факт, що смертність від грипу та його ускладнень займає перше місце серед всіх інфекційних захворювань, при цьому в структурі смертності на пацієнтів віком старших за 65 років припадає 80-90%. Серед пацієнтів більш молодого віку (45-64 років) без супутньої патології смертність від грипу та його ускладнень складає приблизно 2 випадки на 100 000 осіб [3]. Грип нерідко ускладню'ться негоспітальними бактеріальними інфекціями нижніх дихальних шляхів (НІНДШ), провідне місце серед яких займає пневмонія (рис. 1) [4, 5]. Пандемії грипу у 20-му сторіччі (1918, 1957 і 1968 рр.) показали, що грипозна інфекція сприяє еволюції *S. pneumoniae* (провідного патогену пневмонії) в організмі людини від синантропного організму до потенційно смертельного збудника [6-10]. Протягом цих пандемій більшість летальних випадків були пов'язані не з первинною вірусною інфекцією, а з вторинною бактеріальною, переважно пневмококовою, інфекцією. Так, постмортальне дослідження зразків легенів від 96 людей, хворих на грип під час пандемії 1918 р., виявило ко-інфекцію *S. pneumoniae* (23,2%), *S. haemolyticus* (18,0%), *S. aureus* (7,7%) і *H. influenzae* (4,7%) [11]. Аналогічна тенденція мала місце і під час пандемії «свинячого» або Каліфорнійського грипу A (H1N1) в 2009 році. В США при

* *Цитування при атестації кадрів: Дзюблик Я.О., Соловйов С.О. Ретроспективний аналіз захворюваності на грип та пневмонії в окремих регіонах україни та синергізму між ними //* Проблеми екології і медицини. – 2014. – Т. 18, № 3-4. – С. 19 –23.

досліджені зразків шматочків легенів, відібраних при аутопсії у хворих на пандемічний грип А (H1N1) було виявлено *S. pneumoniae* у 13% випадків. В дослідженнях, проведених в Аргентині та Японії, було встановлено, що приблизно в 50% випадків тяжкого перебігу захворювання вірус грипу був асоційований з пневмококами [12-14].

За статистичними даними, пневмонія посідає перше місце серед причин летальності і смертності від усіх інфекційних захворювань, шосте — серед усіх причин летальності і четверте — серед причин смертності у хворих старше 65 років. В різних країнах світу захворюваність на пневмонію коливається від 3,5 до 15 випадків на 1 тис. населення, а смертність — від 2 – 3 до 25%. В США щороку більше 4 млн. осіб хворіють на пневмонію, з них до 25% потребують лікування в умовах стаціонару [15, 16].

На основі різних спостережень, проведених в різних країнах світу, грип вважається важливим чинником високих темпів захворюваності на бактеріальні пневмонії, при цьому ступінь кореляційного зв'язку між захворюваністю на грип і бактеріальними пневмоніями коливається від низького до помірного [17]. Піки захворюваності на грип, а також бактеріальну пневмонію також збігаються в часі та спостерігаються переважно в зимовий період [18-21]. Тим не менше, в Україні відсутні чіткі дані, які б підтверджували можливий взаємозв'язок між захворюваністю на грип і негоспітальною пневмонією. Тому, метою даної роботи було проведення ретроспективного аналізу поширеності цих патологічних станів в нашій країні протягом 1998-2011 рр. та пошук можливого взаємозв'язку між ними.

Організація та методи досліджень.

Для досягнення поставленої мети були проаналізовані офіційні статистичні дані із довідників, які щорічно видаються Національною академією медичних наук, Центром медичної статистики МОЗ України, ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України й Центром грипу та ГРВІ МОЗ України [4, 22, 23].

Аналіз захворюваності на грип в Україні (на 100 тис. населення) за період з 1994 по 2010 рр. наочно демонструє чітку тенденцію до зниження захворюваності на грип як серед дорослих, так і серед дітей (рис. 2).

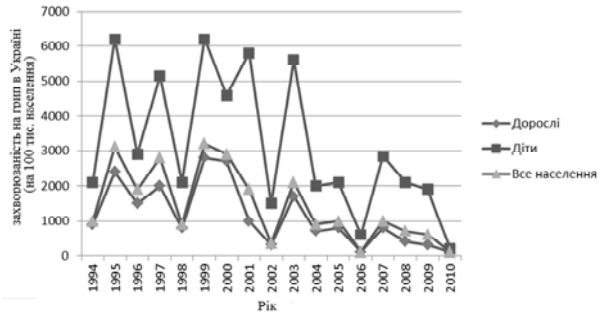


Рис. 2. Динаміка захворюваності на грип в Україні на 100 тис. населення (1994-2010 рр.)

Середні показники захворюваності на грип в окремих регіонах України з 1998 по 2010 рр. свідчать про те, що найбільш високі рівні захворюваності зареєстровано у Львівській області (2662,5 випадків на 100 000 населення), що у 493 рази перевищує відповідний показник у АР Крим (рис. 3).

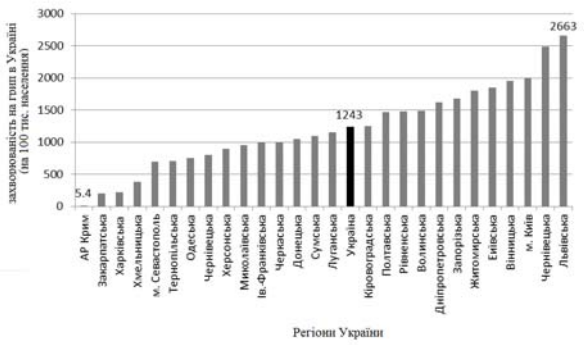


Рис. 3. Середній показник захворюваності на грип в регіонах України (1998-2010 рр.)

Захворюваність на грип у міжепідемічний період практично не зустрічається, а сезонне підвищення, звичайно, спостерігається у грудні, сягаючи піка у лютому та згасаючи в квітні (рис. 4).

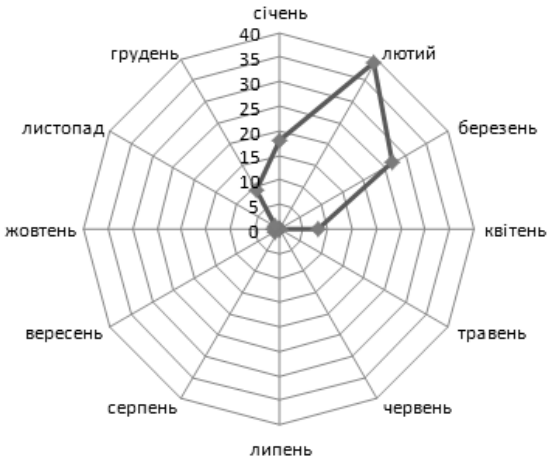


Рис. 4. Середній показник сезонності захворюваності на грип

До 2009 р. смертність від грипу залишалася на низькому рівні і не перевищувала 0,05 випадків на 100 000 населення Різке збільшення даного показника (майже у 30 разів) відмічено в період епідемічного сезону 2009-2010 рр. (рис. 5).

Рис. 5. Динаміка смертності від грипу та ГРВІ в Україні (2001-2010 рр.)

Офіційні статистичні дані, на жаль, далеко не повністю характеризують епідеміологічну ситуацію з негоспітальної пневмонії в Україні та окремих її регіонах. Це пов'язано з тим, що в офіційних статистичних документах наводиться захворюваність всіма видами пневмонії, включаючи як негоспітальну, так і нозокоміальну пневмонію. Проте, показники, наведені в цих документах, все ж таки дозволяють

виявити окремі тенденції, пов'язані з даною патологією (рис. 6).

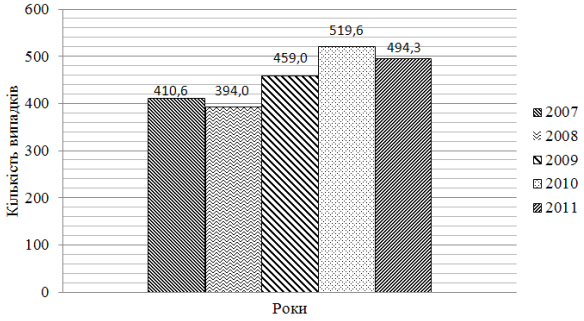
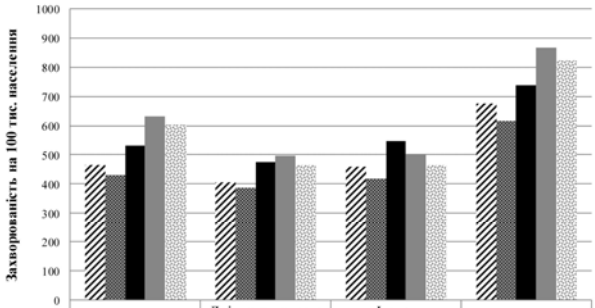


Рис. 6. Захворюваність на пневмонію дорослого населення України в 2007-2011 рр. (кількість випадків на 100 тис. населення)

Найбільш висока захворюваність на пневмонію в Україні за останні 5 років відмічалась у 2009-2010 роках. Так, у 2010 р. вона перевищувала відповідний показник 2008 р. на 24,2%, а у 2011 р. – на 5%. Аналіз захворюваності на пневмонію в 2007-2011 рр. був проведений у 4 регіонах України: Івано-Франківській, Вінницькій, Київській та Дніпропетровській областях (рис. 7). При цьому, даний показник був суттєво вищим за середньостатистичний показник по країні у Вінницькій, Івано-Франківській і Київській областях. В той самий час у Дніпропетровській області він виявився дещо нижчим відповідного показника по Україні в цілому. Крім того, наведені дані переконливо свідчать про те, що в усіх цих регіонах піки захворюваності на пневмонію припадали на 2009-2010 рр. Так, в Івано-Франківській області захворюваність у 2009 р. була на 11,7% вищою, ніж у 2008 р., а у 2010 р. – на 6% вищою, ніж у 2011 р. Відповідно. у Київській області показник захворюваності виріс, у порівнянні з 2008 р., у 1,2 рази, а у 2010 р., у порівнянні з 2011 р., він виявився вищим на 5%.



	Вінницька обл.	Дніпропетровська обл.	Івано-Франківська обл.	Київська обл.
2 007р.	468	406	460	678
2 008р.	432	389	419	616
2 009р.	532	476	548	740
2 010р.	631	498	504	868
2 011р.	605	466	466	825

Рис. 7. Захворюваність на пневмонію в деяких регіонах України на 100 тис. дорослого населення в 2007-2011 рр.

Аналіз статистичних даних проводився за допомогою програмного забезпечення. Кореляційний аналіз, а саме визначення коефіцієнта кореляції Пірсона та регресійний аналіз, проводили з використанням MS EXCEL 2010. Побудову кривих інтерполяції проводили з використанням пакету прикладних програм Mathcad 15.

За статистичними даними захворюваності на пневмонію в Вінницькій, Дніпропетровській, Івано-Франківській та Київській областях були побудовані відповідні лінійні регресійні моделі (рис. 8а-8г). Результати моделювання були зіставлені інтенсивному показнику захворюваності на грип у вказаних регіонах України.

а

б

в

г

Рис. 8а-8г. Регресійні лінійні моделі захворюваності на пневмонію в окремих областях України

Було виявлено, що існує сильний кореляційний зв'язок між інтенсивним показником захворюваності на грип в окремому регіоні та кутом нахилу регресійної моделі захворюваності на пневмонію

(коефіцієнт кореляції Пірсона становить 0,91). Тобто. чим інтенсивнішим є показник захворюваності на грип, тим, відповідно, більш інтенсивною є захворюваність на пневмонію в цьому регіоні (табл.).

Таблиця

Зв'язок між інтенсивним показником захворюваності на грип та захворюваністю на пневмонію в окремих регіонах

Область	Захворюваність на пневмонію (2007-2011 рр.) (регресійна модель)	Інтенсивний показник захворюваності на грип на 100 тис. населення (1998-2010 рр.)	Коефіцієнт кореляції Пірсона
Вінницька	y = 47,3x+391,7	1978,13	0,91
Дніпропетровська	y = 22,9x+378,3	1641,44	
Івано-Франківська	y = 9,7x+450,3	985,56	
Київська	y = 54,6x+581,6	1896,13	

Обговорення.

В результаті дослідження ми виявили, що захворюваність на пневмонію має тісний зв'язок з циркуляцією грипу як під час періоду сезонних епідемій. так і під час пандемії грипу (2009 р.) в Україні. Захворюваність на пневмонію має послідовну тенденцію до зростання на прикладі 4 регіонів України, що розглядаються, незважаючи на певні відмінності в строках і тривалості циркуляції грипу.

Враховуючи величезну значущість пневмонії сьогодні, навіть незначний зв'язок між захворюваністю на цю недугу та грипом є важливим відкриттям, оскільки певна частина пневмоній може бути попереджена шляхом вакцинації проти грипу. Аналіз статистичних даних являє першу спробу розуміння наслідків впливу циркуляції грипу на захворюваність пневмонією у країні з помірним кліматом.

Проведене дослідження має ряд обмежень. По-перше, воно проводилось з використанням даних із двох незалежних і незв'язаних систем спостережень за захворюваністю, в той час, як оптимальним має бути контроль кожного зараження грипом або пневмонією. Однак, відносна рідкість таких даних означає, що подібні дослідження, наразі не є можливими в Україні з урахуванням нинішньої системи моніторингу інфекційних захворювань. Крім того, оскільки навіть інфекція грипу середньої важкості може призвести до пневмонії, обстеження на грип повинно бути більш частим серед хворих на пневмонію. Ретроспективні когортні дослідження або дослідження "випадок-контроль" також є складними для проведення, оскільки на момент вторинної бактеріальної пневмонії, яка може виникнути близько одного тижня після інфікування грипом, чутливість доступних комерційних клінічних тестів на грип буде низькою серед дітей та дорослих. По-друге, наше дослідження не бере до уваги інші потенційні чинники, такі як холодні температури або циркуляцію респіраторно-синцитіального вірусу, який також вважається, в певних випадках, є передумовою захворювання на пневмонію [15, 16, 19].

Таким чином, ми виявили, що циркуляція грипу є асоційованою зі щорічним збільшенням захворюваності на пневмонію під час як сезонних епідемій, так і, особливо, під час пандемії грипу в Україні. У помірному кліматі, грип, ймовірно, грає посередню, але можливо запобіжну роль у сприйнятливості до захворювання на вторинну бактеріальну пневмонію. Саме виконання програм вакцинації проти грипу є найбільш ефективним методом профілактики цих захворювань.

Висновки.

В результаті дослідження було встановлено, що негоспітальні пневмонії займають провідне місце в структурі захворювань нижніх дихальних шляхів в Україні. Їх поширеність характеризується суттєвими відмінностями в різних регіонах України. При цьому, високі рівні захворюваності на пневмонію спостерігалися в Київській, Дніпропетровській, Вінницькій та Івано-Франківській областях. Результати дослідження показали наявність чіткого кореляційного зв'язку між захворюваністю на грип і пневмонією, що необхідно враховувати при розробці стратегій профілактики цих недуг.

Література

1. Зайцев А.А. Грипп: диагностика и лечение/ А.А. Зайцев, А.И. Синопальников // Русский медицинский журнал.– 2008.–№16(22).– С.1494–1496.
2. ГРИП ТА ГРВІ В УКРАЇНІ: Інформаційний бюлетень/К., 2013.-22 с.
3. Neuzil K.M. Influenza–associated morbidity and mortality in young and middle–aged women/ Neuzil K.M., Mitchel E.F., Griffin M.R.// JAMA.–1999.–№281.–P.901–907.
4. Порівняльні дані про розповсюдженість хвороб органів дихання і медичну допомогу хворим на хвороби пульмонологічного та алергологічного профілю в Україні за 2008– 2011 рр. [Текст]. Під ред. проф. Ю.І. Фещенка. – Київ, 2012. – 46 с.
5. Внебольничная пневмония у взрослых. Практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике/ Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Козлов Р.С. [и др.]//. –М., 2010. –106 с.
6. Morens DM. Predominant role of bacterial pneumonia as a cause of death in pandemic influenza: implications for pandemic influenza preparedness/ DM Morens, JK Taubenberger, AS Fauci// J. Infect. Dis.–2008.–Vol.198 (7).–P.962–970.
7. Brundage JF. Deaths from bacterial pneumonia during 1918–19 influenza pandemic/ JF Brundage, GD Shanks // Emerg. Infect. Dis.–2008.–Vol.14(8).–P.1193.
8. Chien YW. Bacterial pathogens and death during the 1918 influenza pandemic/ YW Chien, KP Klugman, DM Morens// N. Engl. J. Med.–2009.–Vol.361(26).–pp.2582–2583.
9. Petersdorf RG. Pulmonary infections complicating Asian influenza/ RG Petersdorf, JJ Fusco, DH Harter, WS Albrink // Arch. Int. Med.–1959.–Vol.103.–p.262.
10. Schwarzmann SW. Bacterial pneumonia during the Hong Kong influenza epidemic of 1968–1969: experience in a city–county hospital/ SW Schwarzmann, JL Adler, RJ Jr Sullivan, WM Marine.//Arch. Inter. Med.–1971–Vol.127(6).–P.1037.
11. Brundage JF. Deaths from bacterial pneumonia during 1918–19 influenza pandemic/ JF Brundage, GD Shanks // Emerg. Infect. Dis.–2008.–Vol.14(8).–P.1193.
12. Louie J. Bacterial coinfections in lung tissue specimens from fatal cases of 2009 pandemic influenza A (H1N1)–United States/ J Louie, C Jean, T Chen [et al] // MMWR.–2009.–Vol.58(38).–P.1071–1074.
13. Palacios G. Streptococcus pneumoniae coinfection is correlated with the severity of H1N1 pandemic influenza/

G Palacios, M Hornig, D Cisterna [et al]// PLoS One.–2009.–Vol.4 (12).–P. 8540.
14. Okada T. Characteristic findings of pediatric inpatients with pandemic (H1N1) 2009 virus infection among severe and nonsevere illnesses / T Okada, M Morozumi, K Matsubara [et al] // J. Infect. Chemother.– 2010.–Vol.1 (8).
15. WHO. The top 10 causes of death. Available at www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/index.html
16. Trends in pneumonia and influenza: morbidity and mortality. American Lung Association. April 2010. Available at http://www.lung.org/finding–cures/our–research/trend–reports/pi–trend–report.pdf
17. Talbot TR. Seasonality of invasive pneumococcal disease: temporal relation to documented influenza and respiratory syncytial viral circulation/ TR Talbot, KA Poehling, TV Hartert [et al]//Am J Med.–2005.–№118.–P.285–291.
18. Toschke AM. Temporal association between influenza outbreaks and invasive pneumococcal infections/ AM Toschke, S Arenz, R von Kries [et al]// Arch Dis Child.–2008.–Vol.93.–P.218–220.
19. Grabowska K. Invasive pneumococcal disease and number of excess cases due to influenza/ K Grabowska, L Hogberg, P Penttinen, A Svensson, K Ekdahl // BMC Infect Dis.–2006.–Vol.6.–P.58.
20. McCullers JA. Insights into the interaction between influenza virus and pneumococcus/ JA McCullers // Clin Microbiol Rev.–2006.–Vol.19.–P.571–582.
21. Watson M. New South Wales Pneumococcal Network. The association of respiratory viruses, temperature, and other climatic parameters with the incidence of invasive pneumococcal disease in Sydney, Australia/ M Watson, R Gilmour, R Menzies [et al] // Clin Infect Dis.–2006.–Vol.42.–P.211–215.
22. Порівняльні дані про розповсюдженість хвороб органів дихання і медичну допомогу хворим на хвороби пульмонологічного та алергологічного профілю в Україні за 2007 р. [Текст]. Під ред. проф. Ю.І. Фещенка. – Київ, 2008. – 40 с.
23. Ретроспективний аналіз захворюваності на грип та ГРВІ в Україні [Текст]/ Л.С. Некрасова, В.М. Світа, А.В. Александрін, В.В. Кестер. – Київ, 2011. – 46 с.

ENGLISH VERSION: RETROSPECTIVE ANALYSIS OF INFLUENZA AND PNEUMONIA MORBIDITY AND THEIR SYNERGISM IN SOME REGIONS OF UKRAINE*

Dziublyk Ya. O., Soloviev S. O.

Institute Phthisiology and Pulmonology named after F.G.Yanovsky AMS of Ukraine

National Medical Academy of Postgraduate Education named P. L. Shupik

Influenza is one of the most topical public health problems worldwide, and the increased morbidity of pneumonia during influenza epidemics is often observed. The aim of this study was to analyze the incidence of influenza and pneumonia in Ukraine for 1998-2011 years by means of retrospective analysis, and to find possible correlation between these conditions. Organization and methods. The data from official statistical sources, issued by National academy of medical sciences, National institute of phthisiology and pulmonology and Influenza control center were analyzed. Using data for Vinnitska, Dnipropetrovska, Ivano-Frankivska and Kyivska oblasts corresponding linear regression models were built. The results of the modeling were compared with morbidity indices for current regions of Ukraine. Results. A strong correlation was revealed between intensive index of influenza morbidity in each region and an angle of regression model for pneumonia (Pearson's correlation coefficient was 0,91). Conclusion. It was established that pneumonia held the leading place in the structure of low respiratory tract diseases in Ukraine. A clear correlation was revealed between influenza and pneumonia morbidity, which is worth to consider while making prevention programs for both diseases.

Key words: influenza, pneumonia, correlation.

Actuality.

Influenza is the most prevalent and massive infectious disease in the whole world. According to WHO, about 100 million of people suffer from influenza annually. This number increases during pandemic years by 4-5 times. It is well known, that each third taken subject has at least one episode of influenza or common cold a year [1]. In Ukraine influenza and other viral respiratory infections are the dominating infectious pathologies. According to the data, published by MOH of Ukraine influenza control center, the peak level of morbidity for the last years is within the range from 17 to 45 cases per 100 000 of adult population (Fig. 1).

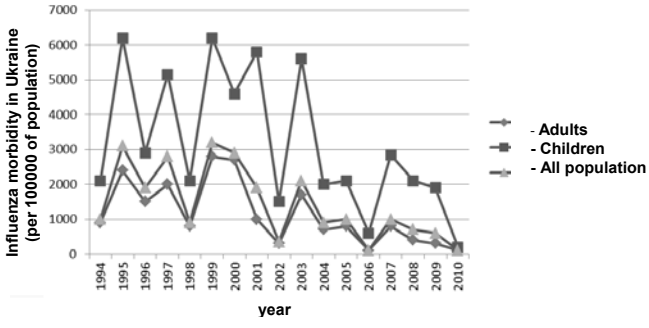


Fig. 1. Intensive influenza morbidity index (2011-2013 years)

These data make influenza a strategically important medical problem, requiring introduction of an effective anti-epidemic measures and their strict coordination in order to minimize morbidity and economic burden. In the structure of mortality and complication influenza also

* *To cite this English version: Dziublyk Ya. O., Soloviev S. O.. Retrospective analysis of influenza and pneumonia morbidity and their synergism in some regions of Ukraine / / Problemy ekologii ta medytsyny. - 2014. - Vol 18, № 3-4. - P. 23 -27.*

holds the first place among all infectious diseases. The mortality is higher in elderly, accounting for 80–90% of cases for 65 and older age group. In the age group 45–64 years the influenza mortality is 2 cases per 100 000 inhabitants [2]. The most common complications of influenza are community-acquired bacterial infections of respiratory tract, mainly pneumonia (Fig.1) [3]. Influenza pandemics in 1918, 1957 and 1968 revealed the shift of S. pneumonia (pneumonia pathogen) from a synantropic microorganism to potentially lethal pathogen [5]. Most of lethal outcomes during those pandemics were caused rather by pneumococcal infection than viral infection. An 96 autopsies findings during 1918 pandemic revealed co-infection with *S. pneumoniae* (23,2%), *S. haemolyticus* (18,0%), *S. aureus* (7,7%) and *H. influenzae* (4,7%) [10]. Same was true for California H1N1 influenza pandemic in 2009. In USA from autopsy lung specimens *S. pneumoniae* was isolated in 13% of cases. In clinical studies, conducted in Argentina and Japan, it was estimated that about 50% of severe cases of influenza had been associated with pneumococci [11-13].

Based on statistical data, pneumonia is a leading cause of death among all infectious disease, and the fourth – among death causes for the people aged 65 years and older. Pneumonia incidence varies in the world from 3,5 to 15 cases per 1000 inhabitants with mortality rate from 3 to 25%. About 4 million people in USA suffer from pneumonia annually, 25% of them require hospitalization [14, 15].

Different world surveys report influenza as an important factor, facilitating high rates of bacterial pneumonia morbidity. At the same time a grade of correlation between influenza and pneumonia varies from low to moderate [16]. The pikes of pneumonia and influenza morbidity overlay, especially in winter season [17-20]. Nevertheless, for Ukraine there are no such data, which could clearly demonstrate such correlation. Hence, the aim of this study was to analyze the incidence of influenza and pneumonia in Ukraine for 1998-2011 years by means of retrospective analysis, and to find possible correlation between these conditions.

Organization and methods.

The data from official statistical sources, issued by National academy of medical sciences, National institute of phthisiology and pulmonology and Influenza control center were analyzed [3, 21, 22].

The analysis of influenza morbidity (per 100 000 inhabitants) clearly demonstrated a decrease of this index both in children and in adults (Fig. 2).

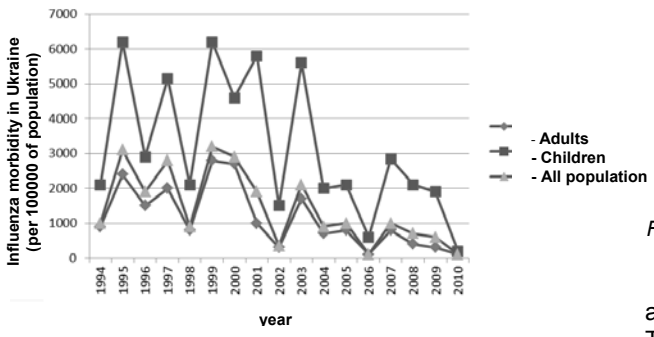


Fig. 2. Incidence of influenza in Ukraine per 100 000 inhabitants (1994-2010 years.)

The highest levels of morbidity for the period 1998-2010 were registered in Lviv oblast (2662,5 cases per 100 000 inhabitants), which was 493 times higher than in Crimea Republic (Fig. 3).

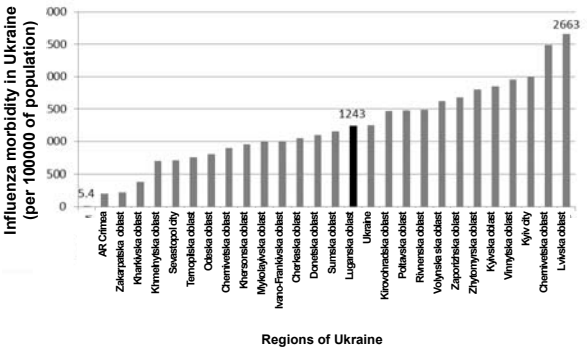


Fig. 3. Mean incidence of influenza by oblasts in Ukraine (1998-2010 years)

The influenza incidence between epidemics is literally not observed. A seasonal growth is observed in December, reaching the maximum in February, almost disappearing in April (Fig. 4).

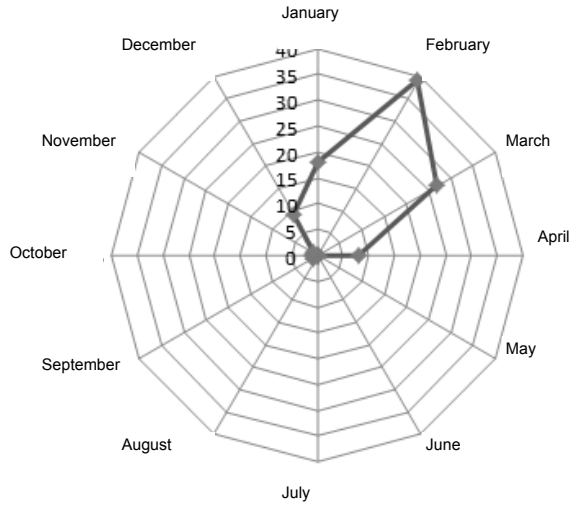


Fig. 4. Mean index of seasonal incidence of influenza

Until 2009 the mortality due to influenza was low – 0,05 cases per 100 000 inhabtants. A prominent (30-fold) increase of this index was registered in epidemic season in 2009-2010 (Fig. 5).

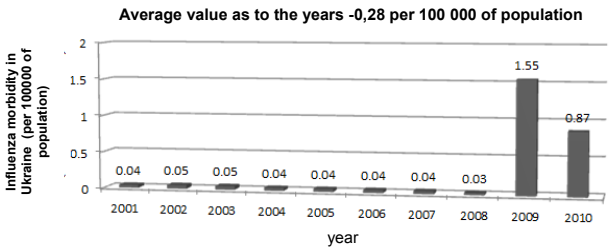


Fig. 5. Mean mortality due to influenza and other viral respiratory infections in Ukraine (2001-2010 years)

Official statistics, unfortunately, doesn't fully describe a real epidemiology situation in Ukraine and its regions. The matter is that statistical reports do not differentiate between community-acquired and hospital pneumonia. But, despite this fact, these reports help to reveal certain trends (Fig. 6).

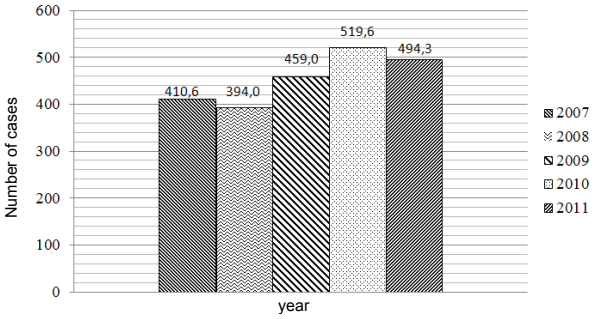
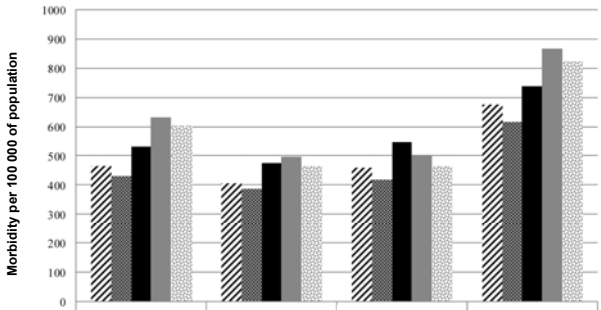


Fig. 6. Pneumonia morbidity in Ukraine in adults 2007-2011 years (per 100 000 inhabitants).

The highest numbers of morbidity were registered in 2009-2010. In 2010 it exceeded corresponding value of 2008 by 24,2%, in 2011 – by 5%. An analysis of morbidity was conducted in four oblasts of Ukraine: Ivano-Frankivska, Vinnytska, Kyivska and Dnipropetrovska (Fig. 7). This index was significantly higher than mean Ukrainian in such oblasts as Vinnytska, Ivano-Frankivska and Kyivska. In Dniproptrovska oblast this index was below the average value. The data presented convincingly demonstrate that maximums of morbiditity in current oblasts were noted in 2009-2010 years. In Ivano-Frankivsk oblast the incidence of pneumonia in 2009 was 11,7% higher than in 2008, and in 2010 – by 6% higher than in 2011. Correspondingly, in Kyivska oblast the morbidity index increased in comparison with 2008 by 1,2 times, in 2010 by 5% in comparison with 2011.

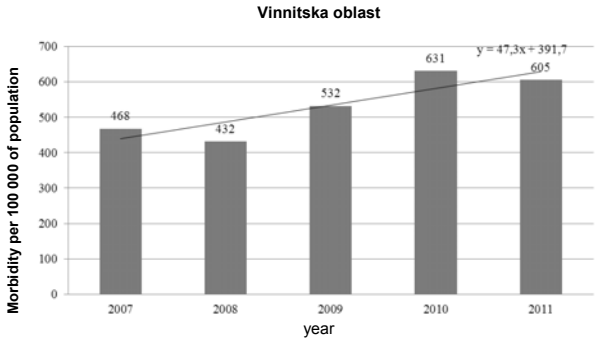


	Vinnytska oblast	Dnipropetrovska oblast	Ivano-Frankivska oblast	Kyivska oblast
2 007p.	468	406	460	678
2 008p.	432	389	419	616
2 009p.	532	476	548	740
2 010p.	631	498	504	868
2 011p.	605	466	466	825

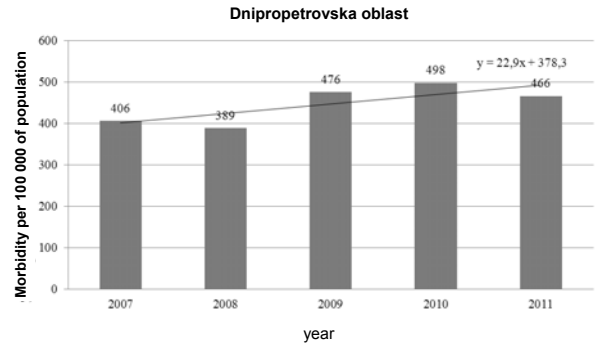
Fig. 7. Pneumonia morbidity in some oblasts of Ukraine per 100 000 inhabitants in 2007-2011 years.

A statistical analysis was performed using PC software. Pearson's correlation coefficient and correlation analysis were performed using MS EXCEL 2010. A construction of interpolation curves was done using Mathcad 15 software package.

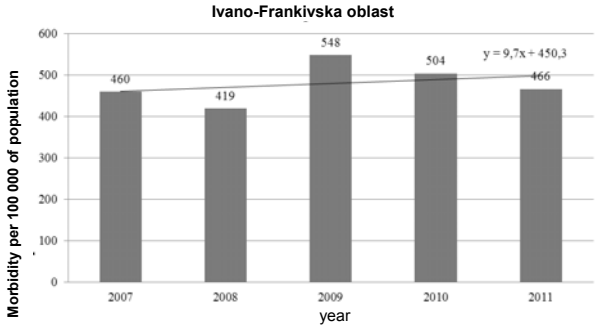
Using data for Vinnitska, Dnipropetrovska, Ivano-Frankivska and Kyivska oblasts corresponding linear regression models were built (Fig. 8). The results of the modeling were compared with morbidity indices for current regions of Ukraine.



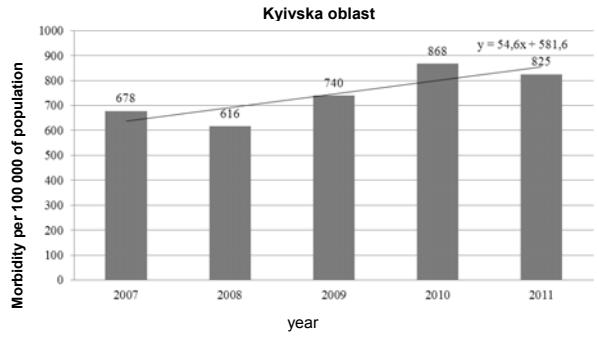
a



b



c



d

Fig. 8a-d. Linear regression models of pneumonia morbidity for some oblasts of Ukraine

A strong correlation was revealed between intensive index of influenza morbidity in each region and an angle of regression model for pneumonia (Pearson's correlation coefficient was 0,91). The more intensive was the influenza morbidity, the more intensive was the incidence of pneumonia in current region (Tab. 1).

Table 1
A correlation between intensive index of influenza morbidity and pneumonia incidence in some oblasts of Ukraine

Oblast	Pneumonia incidence (2007–2011 years) (regression model)	Influenza incidence (1998-2010 years)	Pearson's correlation coefficient
Vinnytska	y = 47,3x+391,7	1978,13	0,91
Dnipropetrovska	y = 22,9x+378,3	1641,44	
Ivano-Frankivska	y = 9,7x+450,3	985,56	
Kyivska	y = 54,6x+581,6	1896,13	

Discussion.

In current study we revealed that pneumonia morbidity was closely correlated with circulation of influenza virus both during epidemic and pandemic in 2009 in Ukraine. The pneumonia incidence had a trend towards the growth, which was demonstrated on example of four oblasts, despite certain differences in terms and duration of influenza virus circulation.

Considering the tremendous significance of pneumonia nowadays, even a weak correlation between this disease and influenza is a real breakthrough, since a number of cases may be prevented by influenza immunization. Current statistical analysis is the first attempt in understanding of influenza virus circulation and its influence on pneumonia incidence in a country with mild climate.

This study has some limitations. First, it utilized the data from two unrelated sources of survey data, while a control of either influenza or pneumonia was crucial. Unfortunately, under current condition this is impossible to achieve. Moreover, since even mild influenza can lead to pneumonia, the influenza tests should be widely used among pneumonia patients. Retrospective of case-control studies is difficult to conduct, since at the moment of manifestation of pneumonia the commercially available tests for influenza detection both in children and adults would become not useful. Second, in current study we didn't consider other potential factors as low temperature, circulation of respiratory syncytial virus, which are also pre-dispositive for pneumonia [15, 16, 19].

Thus, we revealed that circulation of influenza virus was associated with increasing incidence of pneumonia both during seasonal epidemics and pandemic in Ukraine. In mild climate the influenza plays a role of a messenger in pathogenesis of secondary bacterial pneumonia. Assuming this statement, it becomes reasonable to pay more attention on vaccination programs in order to prevent pneumonia.

Conclusion.

It was established that pneumonia held the leading place in the structure of lower respiratory tract diseases in Ukraine. Its incidence was characterized by certain differences between regions of the country. The highest values of morbidity were registered in Vinnitska, Dnipropetrovska, Ivano-Frankivska and Kyivska oblasts. The results of the study demonstrated a clear correlation between influenza and pneumonia morbidity, which is worth to consider while making prevention programs for both diseases.

References

1. Zayzev A.A. Gripp: diagnostika i lechenie/ A.A. Zay-zev, A.I. Sinopal'nikov // Russkiy medizinskiy zhur-nal.– 2008.–№16(22).– S.1494–1496.
2. GRIP TA GRVI V UKRAÏNI: Informaziyniy byuleten'/K., 2013.-22 s.
3. Neuzil K.M. Influenza–associated morbidity and mortality in young and middle–aged women/ Neuzil K.M., Mitchel E.F., Griffin M.R.// JAMA.–1999.–№281.–P.901–907.
2. Porivnyal'ni dani pro rozpovsyudzhenist' chvorob organiv dichannya i medichnu dopomogu chvorim na chvorobi pul'monologichnogo ta alergologichnogo profilyu v Ukraïni za 2008– 2011 rr. [Tekst]. Pid red. prof. Yu.I. Feschenka. – Kiïv, 2012. – 46 s.
3. Vnebol'nichnaya pnevmoniya u vzroslych. Prakticheskie rekomendazii po diagnostike, lecheniyu i profilakti-ke/ Chuchalin A.G., Sinopal'nikov A.I., Kozlov R.S. [i dr.]//. – M., 2010. –106 s.
4. Morens DM. Predominant role of bacterial pneumonia as a cause of death in pandemic influenza: implications for pandemic influenza preparedness/ DM Morens, JK Taubenberger, AS Fauci// J. Infect. Dis.–2008.–Vol.198 (7).–P.962–970.
5. Brundage JF. Deaths from bacterial pneumonia during 1918–19 influenza pandemic/ JF Brundage, GD Shanks // Emerg. Infect. Dis.–2008.–Vol.14(8).–P.1193.
6. Chien YW. Bacterial pathogens and death during the 1918 influenza pandemic/ YW Chien, KP Klugman, DM Morens// N. Engl. J. Med.–2009.–Vol.361(26).–P.2582–2583.
7. Petersdorf RG. Pulmonary infections complicating Asian influenza/ RG Petersdorf, JJ Fusco, DH Harter, WS Albrink // Arch. Int. Med.–1959.–Vol.103.–p.262.
8. Schwarzmann SW. Bacterial pneumonia during the Hong Kong influenza epidemic of 1968–1969: experience in a city–county hospital/ SW Schwarzmann, JL Adler, RJ Jr Sullivan, WM Marine.//Arch. Inter. Med.–1971–Vol.127(6).–p.1037.
9. Brundage JF. Deaths from bacterial pneumonia during 1918–19 influenza pandemic/ JF Brundage, GD Shanks // Emerg. Infect. Dis.–2008.–Vol.14(8).–P.1193.
10. Louie J. Bacterial coinfections in lung tissue specimens from fatal cases of 2009 pandemic influenza A (H1N1)–United States/ J Louie, C Jean, T Chen [et al] // MMWR.–2009.–Vol.58(38).–P.1071–1074.
11. Palacios G. Streptococcus pneumoniae coinfection is correlated with the severity of H1N1 pandemic influenza/ G Palacios, M Hornig, D Cisterna [et al]// PLoS One.–2009.–Vol.4 (12).–P. 8540.
12. Okada T. Characteristic findings of pediatric inpatients with pandemic (H1N1) 2009 virus infection among severe and nonsevere illnesses/ T Okada, M Morozumi, K Matsubara [et al]// J. Infect. Chemother.– 2010.–Vol.1 (8).
13. WHO. The top 10 causes of death. Available at www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/index.html
14. Trends in pneumonia and influenza: morbidity and mortality. American Lung Association. April 2010. Available at http://www.lung.org/finding–cures/our–research/trend–reports/pi–trend–report.pdf
15. Talbot TR. Seasonality of invasive pneumococcal disease: temporal relation to documented influenza and respiratory syncytial viral circulation/ TR Talbot, KA Poehling, TV Hartert [et al]//Am J Med.–2005.–№118.–P.285–291.
16. Toschke AM. Temporal association between influenza outbreaks and invasive pneumococcal infections/ AM Toschke, S Arenz, R von Kries [et al]// Arch Dis Child.–2008.–Vol.93.–P.218–220.
17. Grabowska K. Invasive pneumococcal disease and number of excess cases due to influenza/ K Grabowska, L Hogberg, P Penttinen, A Svensson, K Ekdahl // BMC Infect Dis.–2006.–Vol.6.–P.58.
18. McCullers JA. Insights into the interaction between influenza virus and pneumococcus/ JA McCullers // Clin Microbiol Rev.–2006.–Vol.19.–P.571–582.
19. Watson M. New South Wales Pneumococcal Network. The association of respiratory viruses, temperature, and other climatic parameters with the incidence of invasive pneumococcal disease in Sydney, Australia/ M Watson, R

Gilmour, R Menzies [et al] // Clin Infect Dis.–2006.– Vol.42.–P.211–215.

18. Porivnyal'ni dani pro rozpovsyudzhenist' chvorob organiv dichannya i medichnu dopomogu chvorim na chvorobi pul'monologichnogo ta alergologichnogo profilyu v Ukraïni za 2007 r. [Tekst]. Pid red. prof. Yu.I. Feschenka. – Kiïv, 2008. – 40 s.
19. Retrospektivniy analiz zachvoryuvanosti na grip ta GRVI v Ukraïni [Tekst]/ L.S. Nekrasova, V.M. Svita, A.V. Aleksandrin, V.V. Kester. – Kiïv, 2011. – 46 s.

Матеріал надійшов до редакції 10.09.2014

© Настрога Т.В.
УДК: 616.12 – 005.4 + 616.24] – 002.2 – 071 – 08

ОСОБЛИВОСТІ КЛІНІЧНИХ ПРОЯВІВ ТА ТЕРАПІЇ ІШЕМІЧНОЇ ХВОРОБИ СЕРЦЯ ІЗ СУПУТНІМ ХОЗЛ*

Настрога Т.В.

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

В статье приведен опыт терапии больных с сочетанной патологией ИБС и ХОБЛ с применением в комплексной терапии кардио- и ендотелий-протективного препарата – кардиоаргинина. При этом выявлено, что у больных основной группы, получавших кардиоаргинин, по сравнению с контрольной группой больных, отмечены достоверные различия в сроках исчезновения одышки (p<0,05), болевого синдрома (p<0,05), уменьшения уровня холестерина в крови (p<0,05), повышение АЧТВ. В процессе лечения у больных основной группы наблюдалось достоверное возрастание ОФВ1 на 9,8% (p<0,05); индекса Тиффно на 11,9% (p<0,05), тогда как у пациентов контрольной группы отмечено возрастание ОФВ1 на 6,9% (p>0,05); индекса Тиффно на 7,5% (p>0,05). Средняя ЧСС покоя у больных основной группы снизилась на 27,7% за минуту (p<0,05); тогда как у больных контрольной группы отмечено уменьшение ЧСС на 8% за минуту (p<0,05). У больных основной группы САД снизилось на 15,2% (p<0,05), ДАД - на 21,4% (p<0,05). Тогда как у больных контрольной группы САД снизилось на 6,1% (p>0,05), ДАД - на 8,2% (p>0,05). Включение в комплексную терапию кардиоаргинина способствовало росту ФВ на 9,02% (p<0,05), тогда как у больных, которые получали стандартную терапию, ФВ возросла на 5,3% (p>0,05). Положительная клиническая динамика у больных, получавших комплексную терапию с применением раствора кардиоаргинина способствовала сокращению сроков пребывания больного в стационаре на 1,6 суток.

Ключевые слова: кардиоаргинин, ишемическая болезнь сердца, хроническое обструктивное заболевание легких.

Вступ.

Нині фахівці в усьому світі констатують факт динамічної прогресії питомої ваги коморбідних патологічних станів. Проблема коморбідності є надзвичайно актуальною як для лікарів-терапевтів, так і кардіологів [6]. Поліморбідність патологій, як правило, зумовлює значні зміни класичної клінічної симптоматики перебігу захворювання [3,6,8], потребує призначення значної кількості медикаментів, що підвищує ризик медикаментозних ускладнень (розвиток побічних ефектів), а також може призвести до поліпрагмазії.

Одним з найбільш частих коморбідних ста нів є поєднання ішемічної хвороби серця (ІХС) і хронічного обструктивного захворювання легень (ХОЗЛ), поширеність яких коливається від 6,8 до 70,2%, в середньому 34,3% [1,2]. Сполучуваність ІХС та ХОЗЛ, за даними різних досліджень, у осіб старших вікових груп досягає 62%, а 15-річна виживаність таких пацієнтів становить не більше 25% [1, 2, 4,].

Синхронний перебіг ХОЗЛ та ІХС супроводжується синдромом "взаємного обтяження". Такому перебігу поєднаної патології сприяють певні патогенетичні фактори. Гіпоксія, що розвивається при ХОЗЛ та її компенсаторні механізми (еритроцитоз, тахікардія) сприяють підвищенню потреби міокарда в кисні в умовах недостатньої оксигенації крові і ведуть до погіршення мікроциркуляції [1, 10]. Поєднання ІХС і ХОЗЛ призводить до більш важкого клінічного перебігу захворювань, з прогресуванням серцевої недостатності, значним зниженням скорочувальної здатності міокарда з розвитком систолічної та діастолічної дисфункції лівого шлуночка, порушенням вегетативного балансу і погіршенням параметрів газообміну [2,6]. Лікування ІХС у поєднанні з ХОЗЛ має певні труднощі оскільки активне лікування одного захворювання складає високий ризик для загострення іншого захворювання. Так, застосування β-агоністів сприяє розвитку несприятливих серцево-судинних подій, одною з яких є тахікардія – сильний і незалежний фактор ризику для ІХС, а також інфаркту, раптової смерті. В той же час β-ареноблокатори – препарати вибору при лікуванні ІХС, здатні посилювати бронхіальну обструкцію і погіршувати перебіг ХОЗЛ [1,2].

Це потребує призначення адекватної терапії, яка буде клінічно ефективною, безпечною та доступною [5,9]. Особливий інтерес представляє препарат кардіоаргінін, що є кардіо- та ендотелій-протективним метаболічним засобом. Кардіоаргінін-Здоровье- комбінований препарат на основі амінокислоти аргініну, до складу якого входять диаргініну сукцинат, аргініну аспарагінат, калію аспарагінат, магнію аспарагінат. Таке поєднання обумовлює позитивні клінічні ефекти препарату, які полягають у зниженні артеріального тиску та усуненні ішемії міокарда, ендотеліальної дисфункції, покращенні коронарного кровообігу[5]. Крім того, препарат має антигіпоксичну, мембраностабілізуючу та антиоксидантну дії.

Мета - підвищити ефективність лікування хворих із поєднаною патологією на ІХС і ХОЗЛ з використанням у комплексному лікуванні хворих препарату – Кардіоаргінін-Здоров'я.

Матеріали і методи дослідження.

60 хворих на ІХС: стенокардію напруги стабільну ФК II, ХСН IIA стадії зі збереженою систолічною функцією лівого шлуночка (ЛШ) у поєднанні з ХОЗЛ групи В-С.

* Цитування при атестації кадрів: *Настрога Т.В. Особливості клінічних проявів та терапії ішемічної хвороби серця із супутнім ХОЗЛ* // Проблеми екології і медицини. – 2014. – Т. 18, № 3-4. – С. 28 –30.

Діагноз був верифікований на основі даних об'єктивного обстеження, анамнезу, загальноклінічного обстеження, біохімічного (загальний холестерин (ЗХ), тригліцериди, ліпіди низької щільності (ЛПНЩ), протромбіновий індекс (ПІ), фібриноген, активований частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ), рентгенограми органів грудної клітки, електрокардіографії (ЕКГ), ехокардіографії (ЕхоКГ), велоергометрії (ВЕМ). Діагноз ХОЗЛ ґрунтувався у відповідності з наказом МОЗ України № 555 від 27.06.2013р. [6], на основі даних анамнезу, рентгенографії органів грудної клітки, визначення функції зовнішнього дихання (ФЗД), проведення проби з бронхолітиком.

Пацієнти були розподілені на дві групи: перший – контрольній (n=30) – призначали комплексну базисну терапію (нітрати, комбіновані інгаляційні глюкокортикостероіди та β2-агоністи пролонгованої дії, статини, антикоагулянти), в якості метаболічної терапії-розчин глюкози 5% з панангіном внутрішньовенно крапельно №5). У другій групі – основній (n=30) – до базисної терапії був доданий розчин кардіоаргініну по 5,0 внутрішньовенно крапельно на 5% розчині глюкози 100,0 мл 1раз на добу №5. Групи були співставні за віком та статтю, а також ступенем серцевої і дихальної недостатності.

Результати та їх обговорення.

Основною скаргою хворих на ІХС із супутнім ХОЗЛ була задишка – у 46 хворих (76,6%). Скарги на задишку в спокої відмічали 8 хворих (13,3%). Скарги на кашель з виділенням харкотиння були виявлені у 24 хворих (46,6%), при цьому кашель, переважно в нічний час відмічали (58%). Скарги на серцебиття відмічено у 32 хворих (53,3%). Біль в ділянці серця відмічено у 27 хворих (45%), у 55% хворих мала місце безбольова ішемія міокарда.

Таким чином, отримані дані свідчать, що у хворих із поєднаним перебігом ІХС і ХОЗЛ відсутні чіткі клінічні прояви ІХС, що утруднює своєчасну діагностику стенокардії. Однією з ймовірних причин такого перебігу ІХС є тривала гіпоксія, яка сприяє підвищенню порога больової чутливості у відповідних центрах мозку та активації процесів вільно-радикального окислення, є одним з механізмів розвитку безбольової ішемії міокарда, що співпадає з думкою авторів [1].

При оцінці ефективності терапії враховувалась динаміка клінічної картини. Оцінювались строки зникнення проявів основних синдромів: больового, та задишки, як показника серцевої і дихальної недостатності. При цьому виявлено, що у хворих основної групи, що отримували кардіоаргінін, порівняно з контрольною групою хворих, відмічено достовірні розбіжності в строках зникнення задишки ($p<0,05$), больового синдрому ($p<0,05$), суттєве зниження рівня артеріального тиску (АТ), а також зменшення рівня холестерину в крові ($p<0,05$), підвищення АЧТЧ. Отримані результати подано на рисунках 1, 2.

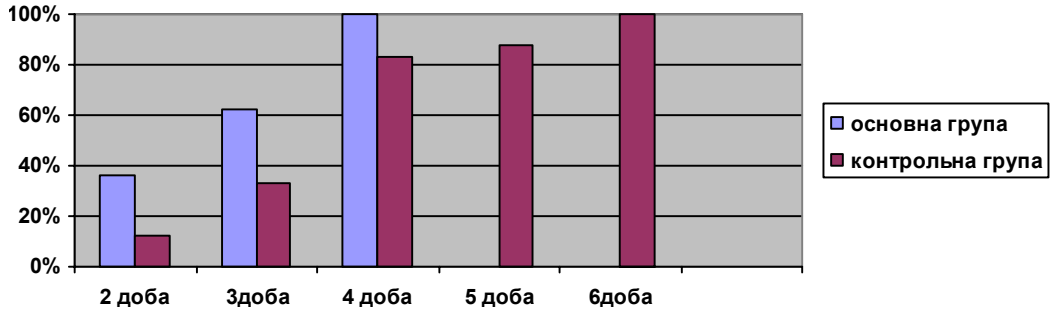


Рис.1.Терміни зникнення задишки

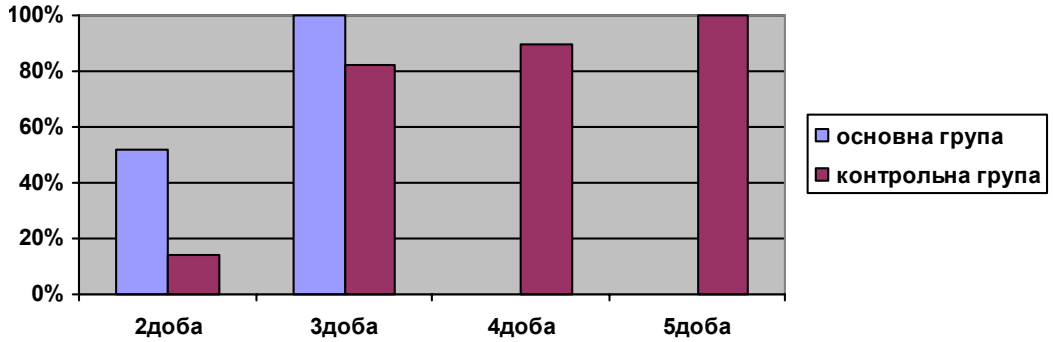


Рис.2. Терміни зникнення больового синдрому

Позитивна клінічна динаміка у хворих, що отримували комплексну терапію із застосуванням розчину кардіоаргініна сприяла скороченню термінів перебування хворого у стаціонарі на 1,6 доби. У процесі лікування було констатовано, що при додаванні до комплексної терапії препарату Кардіоаргінін-Здоров'я у хворих на ІХС у поєднанні з ХОЗЛ поліпшувалась якість життя пацієнтів, збільшувалась толерантність до фізичних навантажень.

При вивчені біохімічних показників отримані результати наведено у таблиці.

Як свідчать наведені результати, в процесі лікування у хворих, що отримували до комплексної терапії додатково кардіоаргінін, відмічено суттєве зниження рівнів холестерину на 22% (з 5,44±0,45 до 4,2±0,37 ммоль/л) ($p<0,05$); підвищення АЧТЧ на 10,2% (з 36,1±1,2 до 41,5±0,9с) ($p<0,05$). Тоді як у хворих, що отримували загальноприйняту терапію відповідні показники покращились не суттєво. Отримані результати дозволяють припустити, що комплексна терапія із застосуванням кардіоаргініну сприяє поліпшенню реологічних властивостей крові.

Таблиця

Біохімічні показники у хворих на ІХС та у хворих на ІХС у поєднанні з ХОЗЛ у процесі лікування

Показник	Контрольна група (n=25)		Основна група (n=25)	
	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування
ЗХ ммоль/л	5,36±0,62	4,6±0,46	5,44±0,45	4,2±0,37*
Тригліцериди, ммоль/л	2,1±0,31	2,0±0,24	1,95±0,23	1,84±0,32
ЛПНЩ, ммоль/л	3,9±0,5	3,80±0,34	4,97±0,71	3,53±0,89
ПІ,%	89,7±2,4	85,5±1,89	92,8±2,7	84,2±2,24
АЧТЧ, с.	37,2±1,4	39,5±0,82	36,1±1,23	41,5±1,9 *
Фібриноген, г/л	4,8±0,57	4,2±0,49	5,1±0,42	4,0±0,54

*Примітка: *розбіжності достовірні при порівнянні показників до і після лікування*

Поряд з цим, у процесі лікування у хворих основної групи спостерігалося вірогідне зростання $ОФВ_1$ на 9,8% (з50,52±2,02% до (56,04±1,9%) (p<0,05); зростання індексу Тіффно на 11,9% (з 51,61±2,50% до 58,65±2,03%)(p<0,05), тоді як у пацієнтів контрольної групи відмічено зростання $ОФВ_1$ на 6,9% (з 50,92±1,43% до 54,73±2,09%) (p>0,05); індексу Тіффно на 7,5% (з 52,2±2,80 до 56,45±2,24) (p>0,05).

Покращення функції зовнішнього дихання обумовлено підвищенням концентрації NO в бронхіальному дереві, що співпадає з думкою авторів [8].

Застосування загальноприйнятих схем терапії у пацієнтів на ХОЗЛ у поєднанні з ІХС сприяло певній клінічній ефективності лікування. Додаткове призначення до лікування Кардіоаргініну-Здоров'я сприяло більш швидкому. порівняно з контрольною підгрупою, регресу вказаних вище симптомів.

При вивченні показників гемодинаміки у хворих на ІХС у поєднанні з ХОЗЛ на початку обстеження відмічено тахікардію, яка частково була пов'язана з лікуванням інгаляційними агоністами та сприяла підвищенню потреби міокарда у кисні, що є небажаним для ІХС. На тлі лікування середня ЧСС спокою у хворих основної групи знизилась на 27,7% (з 95,8±3,2 до 69,2 ±4,1 за хвилину) (p<0,05); тоді як у хворих контрольної групи відмічено зменшення ЧСС на 8% (з 93,2±4,2 до 75,3±3,6 за хвилину) (p<0,05).

Суттєво знизилися середні величини САТ і ДАТ у групи хворих, що отримували додатково Кардіоаргінін-Здоров'я. Так, у хворих основної групи САТ знизився зі 146,3±4,4 до121,8±3,7 ммрт.ст., (p<0,05), що склало 15,2%. ДАТ знизився з 92,2±3,1до 73,4±4,3 ммрт.ст. (p<0,05), що склало на 21,4%. Тоді як у хворих, контрольної групи САТ знизився зі 144,9±3,7 до 136,1±4,9 ммрт.ст. (p>0,05) що склало 6,1%, ДАТ знизився з 90,8±2,0 до 82,8±1,8 ммрт.ст. (p>0,05) що склало 8,2%.

Показники гемодинаміки свідчили про покращення скоротливості міокарда лівого шлуночка серця. Так, включення до лікувального комплексу кардіоаргініну сприяло зростанню ФВ на 9,02% (з 50,9±2,1% до 56,4±1,8%) (p<0,05), тоді як у хворих, які отримували стандартну терапію, ФВ зросла на 5,3% з (52,2±2,7% до 55,1±2,3%) (p>0,05).

Отримані результати дозволяють припустити, що кардіоаргінін сприяє поліпшенню реологічних властивостей крові, як антиагрегантний засіб, вазодилататор, для профілактики атеросклерозу.

Таким чином, комплексна терапія хворих з поєднаною патологією на ІХС і ХОЗЛ з використанням кардіоаргініну сприяє більш швидкому усуненню клінічних проявів захворювання, скороченню термінів перебування хворого у стаціонарі, поліпшенню якості життя пацієнтів.

Література.

1. Амеліна Т. М. Оптимізація лікування хворих на ішемічну хворобу серця в поєднанні з супутнім хронічним обструктивним захворюванням легень I-II стадії: дис. канд. мед. наук: 14.01.02 / Т. М. Амеліна.- 2009. – 147 с.
2. Амосова К. М., Особливості діагностики та лікування ішемічної хвороби серця у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень. /Амосова К. М.,. Конопльова Л. Ф, Січінава Д. Ш.// Український пульмонологічний журнал.- 2009.- №2 – С.22.
3. Березин А.Е. Хроническая обструктивная болезнь легких и кардиоваскулярный риск / Березин А.Е.// Український медичний часопис.- 2009.- №2 (70) – С.62-68.
4. Дудка П.Ф. Гемореологічний статус у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень / Дудка П.Ф., Добрянський Д.В., Ільницький Р.І., Іорданова Н.Х. // Український хіміотерапевтичний журнал - 2012.- № 3(26). – С.48-51.
5. Катеренчук И.П. Кардиальные эффекты аргинина и эффективность кардиоаргинина при сердечно-сосудистой патологии./ Катеренчук И.П.// Здоров'я України. - 2012.- С.76.
6. Наказ Міністерства охорони здоров'я 27.06.2013р. N555. Хронічне обструктивне захворювання легені. Адаптована клінічна настанова, заснована на доказах.
7. Полумисков В.Ю. Кардиопротекторы мексикор и эмоксипин при лечении ИБС и гипертонического криза./ Полумисков В.Ю., Голиков А.П., Михин В.П. // Рязанский медицинский вестник.-2004.-№21(161)- С.14-18.
8. Тюрина С.Н. Влияние аргинина цитрата на проходимость бронхов и функцию эндотелия у больных со стенокардией напряжения и сопутствующим хроническим обструктивным бронхитом // Здоров'я України – 2010. – С.20-23.
9. Фадєєнко Г.Д. Коморбідність і високий кардіоваскулярний ризик – ключові питання сучасної медицини / Фадєєнко Г.Д., Гріднєв О.Є., Несен А.О. [та ін.] //Український терапевтичний журнал. - 2013. – №1 - С. 102-107.
10. Di Napoli P. Long term cardioprotective action of trimetazidine and potential effect on the inflammatory process in patients with ischaemic dilated cardiomyopathy / P. Di Napoli, A.A. Taccardi, A. Barsotti // Heart. – 2005. – Vol.91. – P. 161-165.
11. Чучалин А.Г. Хроническая обструктивная болезнь легких и сопутствующие заболевания./ Чучалин А.Г. // Здоров'я України.-.2010.- №2(231).- С.26.

ENGLISH VERSION: CLINICAL ASPECTS AND TREATMENT OF ISCHEMIC HEART DISEASE ASSOCIATED WITH COPD*

Nastroha T.V.

The higher state educational establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

The article presents the experience of therapy in patients with ischemic heart disease and comorbidity with COPD in the complex treatment of cardio protective and endothelium protective drug - kardioarhinin. It was found that patients of the group treated with kardioarhinin, compared with a control group of patients, showed a significant difference in terms of the disappearance of dyspnea (p <0 , 05), pain (p <0.05), a significant lowering of blood pressure (BP) and reducing of blood cholesterol levels (p <0.05), increasing of aPTT. In the course of treatment in the study group there was a significant increase in FEV1 of 9.8% (p <0.05); index Tiffno 11.9% (p <0.05), whereas patients of the control group noted an FEV1 increase 6.9% (p> 0.05); Tiffno index by 7.5% (p> 0.05). The average resting heart rate of the study group decreased by 27.7% per minute (p <0.05); whereas patients of the control group displade a decrease of the heart rate of 8% per minute (p <0.05). Patients of the main group had SBP decreased by 15.2% (p <0.05), diastolic blood pressure - 21.4% (p <0.05). Whereas patients of the control group had SBP decreased by 6.1% (p> 0.05), DBP - 8.2% (p> 0.05). Inclusion to the complex therapy of kardioarhinin boosted EF to 9.02% (p <0.05), whereas patients who received standard therapy, EF increased by 5.3% (p> 0.05). Positive clinical dynamics of patients treated with combined therapy by using a solution of kardioarhinin enhanced the quality of life, increased exercise capacity, reduced the period of hospital stay of 1.6 days.

Keywords: kardioarhinin, ischemic heart disease, chronic obstructive pulmonary disease.

Nowadays experts ascertain the fact of dynamic progression of comorbid pathological conditions. The problem of comorbidity is extremely important for both physicians and cardiologists [6]. Multimorbidity of pathologies usually causes a significant change of the classical clinical symptoms of the disease [3,6,8], requires the appointment of a significant number of medications that increase the risk of drug complications (side effects) and can lead to polypharmacy.

One of the most frequent comorbid conditions is a combination of ischemic heart disease (IHD) and chronic obstructive pulmonary disease (COPD), prevalence of which ranges from 6.8 to 70.2%, averaging 34.3% [1,2]. Compatibility of ischemic artery disease and COPD, according to various studies in older age groups is 62%, and 15-year survival of these patients is less than 25% [1, 2, 4].

Simultaneous course of COPD and coronary artery disease syndrome accompanied by "mutual burdens." Such a course of comorbidity contribute to certain pathogenic factors. Hypoxia that develops in COPD and its compensatory mechanisms (polycythemia, tachycardia) contribute to myocardial oxygen demand in low oxygenation of the blood and lead to deterioration of microcirculation [1, 10]. The combination of coronary artery disease and COPD leads to a more severe clinical course of disease progression of heart failure, a significant decrease in contractility of the myocardium to the development of systolic and diastolic left ventricular dysfunction, disturbance of vegetative balance and worsening gas exchange parameters [2,6]. Treatment of coronary artery disease in combination with COPD has some difficulties as active treatment of one disease is at high risk for aggravation of a disease. Thus, the use of β-agonists contributes to the development of adverse cardiovascular events, one of which is tachycardia – a strong and independent risk factor for coronary artery disease and heart attack, sudden death. At the same time, β arenoblokatory – drugs of choice in the treatment of coronary artery disease, can enhance bronchial obstruction and worsen COPD [1,2].

It requires the appointment of adequate therapy which will be clinically effective, safe and affordable [5,9]. The particular interest is kardioarhinin that is cardio and endothelium-protective metabolic remedy. Kardyoarhinin-Zdorovya is a combined drug based on the amino acid arginine, which includes dyarhinin succinate, arginine asparahinat, asparahinat potassium, magnesium asparahinat. This combination makes the positive clinical effects of the drug, which is the reducing of blood pressure and elimination of myocardial ischemia, coronary endothelial dysfunction, improving blood circulation [5]. In addition, the drug has antihypoxic, membranstable and antioxidant action.

Purpose – to improve treatment for patients with comorbidity of coronary artery disease and COPD using a drug – Kardioarhinin-Zdorovya.

Object of study – 60 patients with coronary artery disease: stable effort angina FC II, IIA stage heart failure with preserved systolic function in conjunction with the COPD group B-C.

The diagnosis was verified on the basis of physical examination, medical history, general clinical examination, biochemical (total cholesterol-TC, triglycerides, low-density lipids – LDL, prothrombin index, fibrinogen, activated partial thromboplastin time), X-ray of the chest, electrocardiography (ECG), echocardiography (EhoKS), bicycle ergometry (VEM). The diagnosis of COPD was based in accordance with the orders of the Ministry of Health of Ukraine № 555 from 27.06.2013r. [6], based on the clinical history, X-ray of the chest, the definition of respiratory function (ERF), the samples with bronchial spasmolytic.

Patients were divided into two groups: the first – control (n = 30) – were administered a comprehensive base-

* *To cite this English version: Nastroha T. V.. Clinical aspects and treatment of ischemic heart disease associated with COPD / / Problemy ekologii ta medytsyny. - 2014. - Vol 18, № 3-4. - P. 31 -33.*

line therapy (nitrates, combined inhaled glucocorticosteroids and long-acting β2-agonists, statins, anticoagulants) as metabolic therapy – Dextrose 5% with Panangin intravenously №5). The second group – the main (n = 30) – to the basic treatment was added a solution of 5.0 kardioarhiniu intravenously withf 5% glucose solution 100.0 1 time per day №5. The groups were comparable for age and sex, and degree of cardiac and respiratory failure.

The main complaint of patients with coronary artery disease with concomitant COPD was dyspnea – 46 patients (76.6%). Complaints of dyspnea at rest noted 8 patients (13.3%). Complaints of cough with phlegm were found in 24 patients (46.6%), with cough, mostly at night noted (58%). Complaints of palpitations was seen in 32 patients (53.3%). Heart pain noted 27 patients (45%), 55% of patients had myocardial silent ischemia.

Thus, the obtained data show that patients with combined IHD and COPD have no clear clinical manifestations of ischemic heart disease, which complicates the timely diagnosis of angina. One of the possible reasons for this course of ischemic heart disease is prolonged hypoxia, which contributes to the threshold of pain sensitivity in the respective centers of the brain and activation of free radical oxidation is one of the mechanisms of silent myocardial ischemia, which coincides with the opinion of the authors [1].

Potency assignment included the dynamics of clinics. Estimated timing of the disappearance of the main manifestations of syndromes: pain, and dyspnea, as an indicator of cardiac and respiratory failure. It was found that patients of the group treated with kardioarhinin compared with a control group of patients showed a significant difference in terms of the disappearance of dyspnea (p <0, 05), pain (p <0.05), a significant lowering of blood pressure (BP) and reduce blood cholesterol levels (p <0.05) increase of activated partial thromboplastin time. The results are presented in Figures 2, 3.

Patients treated with combined therapy using solution of kardioarhinin had a positive clinical dynamics which helped to reduce terms patient's stay in hospital by 1.6 days.

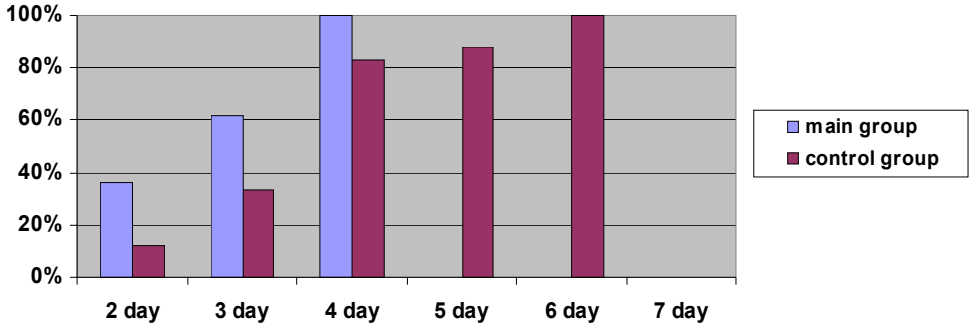


Fig.1. Terms of dyspnea disappearance

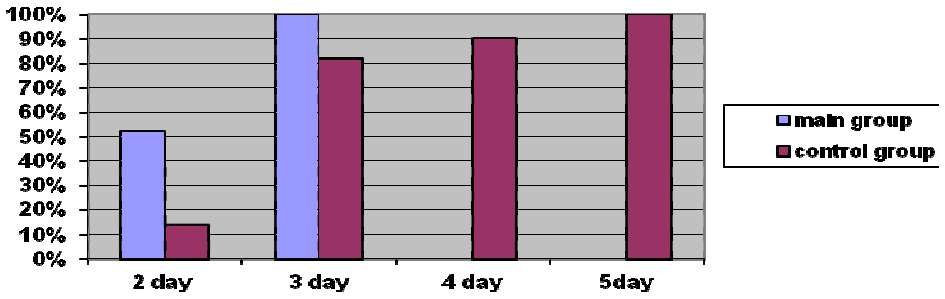


Fig.2. Terms of pain syndrome disappearance

Therapy with Kardioarhinin-Zdorovye which was added to therapy of patients with IHD associated with COPD improved quality of life of patients, increased tolerance to physical exercise.

There are such biochemical parameters listed in the table.

Tabl.
Biochemical parameters in patients with ischemic heart disease and in patients with ischemic heart disease associated with COPD during treatment.

Measure	Control group (n=25)		Main group (n=25)	
	Before treatment	After treatment	Before treatment	After treatment
Cholesterol Mmol/L	5,36±0,62	4,6±0,46	5,44±0,45	4,2±0,37*
Triglycerides Mmol/L	2,1±0,31	2,0±0,24	1,95±0,23	1,84±0,32
low-density lipids Mmol/L	3,9±0,5	3,80±0,34	4,97±0,71	3,53±0,89
prothrombin index,%	89,7±2,4	85,5±1,89	92,8±2,7	84,2±2,24
APTt, s.	37,2±1,4	39,5±0,82	36,1±1,23	41,5±1,9 *
Fibrinogen, g/l	4,8±0,57	4,2±0,49	5,1±0,42	4,0±0,54

*Note: * significant differences before and after treatment*

As evidenced by the results in the treatment of patients who received adjuvant therapy in addition to kardioarhinin a significant decrease cholesterol levels by 22% (from 5,44 ± 0,45 to 4,2 ± 0,37) mmol / l (p <0.05); APTT increase by 10.2% (from 36,1 ± 1,2 to 41,5 ± 0,9s) (p <0.05) were detrected. While in patients who received conventional therapy appropriate indicators were not significantly improved.

The results suggest that combined therapy with using of kardioarhinin improves blood rheology.

In addition, the course of treatment in patients of group showed significant increase in FEV1 of 9,8% (from 50,52±2,02)% to (56,04±1,9)% (p<0,05); Tiffno growth index by 11,9% – (from 51,61±2,50)% to (58,65±2,03)%(p<0,05), whereas in the control group of patients seen at 6,9% (from 50,92±1,43)% to (54,73±2,09)% (p>0,05); Tiffno growth index by 7,5% (from 52,2±2,80)% to (56,45±2,24)% (p>0,05).

Improvement of respiratory function due to increased concentration of NO in the bronchial tree, which coincides with the opinion of the authors [8].

The use of conventional regimens in patients with COPD in conjunction with coronary artery disease contributed to certain clinical treatment. Additional assignment of Kardioarhinin-Zdorovye promoted faster (compared with the control group) regression of the symptoms showed above.

In hemodynamic studies in patients with coronary artery disease in combination with COPD tachycardia, was marked which was partially related to treatment with inhaled b-agonists and contributed to an increase in myocardial oxygen demand, which is undesirable for CHD. The average heart rate in patients of main group decreased from 95,8 ± 3,2 to 69,2 ± 4,1 min (p <0.05) – 27.7%; while patients in the control group a decrease in heart rate from 93,2 ± 4,2 to 75,3 ± 3,6 min (p <0.05) – 8% was observed

The averages SBP and DBP were significantly decreased in patients who got aditionally Kardioarhinin-Zdorovye. Thus, in patients of main group SBP decreased from 146,3 ± 4,4 mmHg do121,8 ± 3,7 (p <0.05), which accounted for 15.2%. DBP decreased from 92,2 ± 3,1do 73,4 ± 4,3 (p <0.05) – 21.4%. While in patients in the control group SBP decreased from 144,9 ± 3,7 to 136,1 ± 4,9 mm (p> 0.05) – 6.1%, DBP decreased from 90,8 ± 2,0 to 82,8 ± 1,8 (p> 0.05) – 8.2%.

Hemodynamic measures shows the improvement in left ventricular contractility of the heart. Thus, the inclusion of a medical complex kardioarhinin boosted ejection of 50,9 ± 2,1% to 56,4 ± 1,8% (p <0.05), ie by 9.2%, whereas in patients receiving standard therapy, ejection fraction increased from 52,2 ± 2,7% to 55,1 ± 2,3% (p> 0.05) – 5.3%.

The results suggest that kardioarhinin improves blood rheology, as antiplatelet agent for the prevention of atherosclerosis, as vasodilator.

Thus, the complex therapy of patients with comorbidity with ischemic heart disease and COPD using kardioarhinin promotes more rapid elimination of clinical manifestations of the disease, reducing the period of stay of patients in hospitals, improving the quality of life of patients.

Reference.

1. Amelina T. M. Optimizaziya likuvannya chvorich na ishemichnu chvorobu serzya v poednanni z suputnim chronichnim obstruktivnim zachvoryuvannyam legen' I-II stadiї: Dis. kand. nauk: 14.01.02- 2009.
2. Amosova K. M., Osoblivosti diagnostiki ta likuvannya ishemichnoi chvorobi serzya u chvorich na chronichne obstruktivne zachvoryuvannya legen'. /Amosova K. M.,. Konopl'ova L. F, Sichinava D. Sh.// Ukrains'kiy pul'monologichniy zhurnal.- 2009.- №2 – S.22.
3. Berezin A.E. Chronicheskaya obstruktivnaya bolnzn' legkich i kardiovaskulyarnyy risk / Berezin A.E.// Ukrains'kiy medichniy chasopis.- 2009.- №2 (70) – S.62-68.
4. Dudka P.F. Gemoreologichniy status u chvorich na chronichne obstruktivne zachvoryuvannya legen' / Dudka P.F., Dobryans'kiy D.V., Il'niz'kiy R.I., Iordanova N.Ch. // Ukrains'kiy chimioterapevtichniy zhurnal- № 3(26). – 2012.- S.48-51.
5. Katerenchuk I.P. Kardial'nye effekty arginina i effektivnost' kardioarginina pri serdechno-sosudistoy patologii./ Katerenchuk I.P.// Zdorov'ya Ukraini.- 2012.- S.76.
6. Nakaz Ministerstva ochoroni zdorov'ya 27.06.2013r. N555. Chronichne obstruktivne zachvoryuvannya legeni. Adaptovana klinichna nastanova, zasnovana na dokazach.
7. Polumiskov V.Yu. Kardioprotektory meksikor i emoksipin pri lechenii IBS i gipertonicheskogo kriza / Polumiskov V.Yu., Golikov A.P., Michin V.P. // Ryazanskiy medizinskiy vestnik.-2004.-№21(161)-S.14-18.
8. Tyurina S.N. Vliyanie arginina zitrata na prochodimost' bronchov i funkziyu endoteliya u bol'nych so stenokardiey napryazheniya i soputstvuyuschim chronicheskim obstruktivnym bronchitom // Zdorov'ya Ukraini – 2010. – S.20-23.
9. Fadєenko G.D. Komorbidnist' i visokiy kardiovaskulyarniy rizik – klyuchovi pitannya suchasnoi medizini / Fadeenko G.D., Gridnev O.Є., Nesen A.O. [ta in.] //Ukrains'kiy terapevtichniy zhurnal- 2013. –№1- S. 102-107.
10. Di Napoli P. Long term cardioprotective action of trimetazidine and potential effect on the inflammatory process in patients with ischaemic dilated cardiomyopathy / P. Di Napoli, A.A. Taccardi, A. Barsotti // Heart. – 2005. – Vol.91. – P. 161-165.
11. Chuchalin A.G. Chronicheskaya obstruktivnaya bolezn' legkich i soputstvuyuschie zabolevaniya./ Chuchalin A.G. // Zdorovya Ukraïni.-.2010.- №2(231).- S.26.

Матеріал надійшов до редакції 17.09.2014

© Сакевич В. Д., Шликова О. А., Кайдашев І. П.
УДК 616.5-002.2.:575

ОСОБЛИВОСТІ ІМУННОГО СТАТУСУ ХВОРИХ НА АЛЕРГІЧНИЙ РИНІТ У ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ TLR 2,4 ТА ГАЛЕКТИНУ-10*

Сакевич В. Д., Шликова О. А., Кайдашев І. П.

Науково-дослідний інститут генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

В исследовании приведены теоретическое обобщение и новое решение научной задачи иммунологии и аллергологии по определению генетической детерминированности при аллергическом рините путем исследования роли толл-подобных рецепторов врожденного иммунитета с полиморфизмом TLR2 (rs5743708), TLR 4 (rs4986790) и CLC-10 (rs420297). В обследованных больных АР в 76% случаев имеет наследственную природу преимущественно со стороны матери (36%), начинается преимущественно в детском и подростковом возрасте (88%) и в 44% сопровождается другой аллергической патологией. При исследовании иммунного статуса больных АР у 15% больных наблюдали умеренную и высокую эозинофилия, повышение среднего уровня общего иммуноглобулина Е, высокие значения которого достоверно были установлены у больных со средне- тяжелой формой течения (p = 0,0008), рост относительного количества $CD4^+$ $CD25^+$ $Foxp^+3$ Трег клеток со снижением содержания IL- 10 и повышением IL- 4. Выявлена достоверная разница между частотами генотипов в группах контроля и больных АР за полиморфизмом гена TLR 4 (Asp299Gly). Впервые исследованы популяционную распространенность полиморфизма rs420297 гена галектину- 10 среди лиц, проживающих в Полтавской области (CC-76%; CT-22%; TT-2%) Обнаружена достоверная разница между частотами генотипов в группах контроля и больных АР (p = 0,04), полиморфизм rs420297 гена CLC-10 достоверно чаще встречается в группе больных АР. Выявлена достоверная ассоциация между наличием полиморфной аллели гена CLC-10 и уровнями $CD4^+$, $CD4^+$ $CD25^+$, в группе гомозиготных носителей полиморфной аллели Т и аллеля С гена CLC-10 установлена достоверная ассоциация между наличием полиморфной аллели гена CLC-10 и уровнями $CD4^+CD25^+Foxp3^+$, $CD4^+$.

Ключевые слова: аллергический ринит, состояние клеточного и гуморального иммунитета полиморфизм, Toll-подобные рецепторы, галектин-10.

Алергічні захворювання, зокрема, такі поширені, як бронхіальна астма, алергічний риніт, атопічний дерматит з кожним роком стають все більш актуальною та серйозною проблемою [Kumar A., Yhosh B., 2009]. Алергічний риніт (АР) – це захворювання, що характеризується IgE-опосередкованим імунологічним запаленням, що розвивається в результаті попадання алергенів на слизову оболонку носа [Van Cauwenberge P.B. et al., 2001].

У даний час визнана точка зору, згідно з якою АР є мультифакторним захворюванням (МФЗ). Сьогодні поширеною концепцією є наслідування алергічних захворювань та визначена досить велика кількість генів, що опосередковує їх маніфестацію. Однак результати численних досліджень суперечливі: молекулярно-генетичні основи формування захворювання поки вивчені недостатньо. Все це перетворює АР в серйозну медико-соціальну проблему і диктує необхідність дослідження причин і імунологічних механізмів розвитку даного захворювання для розробки адекватних лікувально-профілактичних заходів, що враховують етнічну приналежність, імунологічну реактивність і генетичні особливості хворих.

Метою дослідження було визначення ролі поліморфізмів генів, що контролюють структурні та регуляторні елементи неспецифічної резистентності організму (толл-подібних рецепторів: 2258G/A гену TLR2 (rs5743708), 896A/G гену TLR4 (rs4986790) та гену галектину-10 (rs420297 C/T)) у патогенезі АР, для поглиблення знань про імунологічні механізми розвитку цього захворювання.

Матеріали та методи дослідження.

Для вирішення висунутих завдань проведено обстеження 45 пацієнтів віком від 19 до 65 років хворих на АР, на стадії клінічної ремісії захворювання, які перебували на диспансерному обліку в поліклінічному відділенні четвертої міської клінічної лікарні та алергологічному відділенні Полтавської обласної клінічної лікарні ім.Скліфосовського. Групу порівняння склали 95 практично здорових осоіб з банку ДНК Науково-дослідного інституту генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія», які були анкетовані та клінічно обстежені для виключення алергічних захворювань.

Діагноз АР встановлювали на основі критеріїв діагностики ARIA (2008) за алгоритмом діагностики прийнятим в Україні та затвердженим МОЗ України. Якість життя хворих визначали за допомогою загальновизнаних опитувальників (Adult Rhinoconjunctivitis

* Цитування при атестації кадрів: *Сакевич В. Д., Шликова О. А., Кайдашев І. П. Особливості імунного статусу хворих на алергічний риніт у залежності від поліморфізму генів TLR 2,4 та галектину-10* // Проблеми екології і медицини. – 2014. – Т. 18, № 3-4. – С. 34 – 39.

Quality of Life Questionnaire). Алергологічне обстеження проводилося за загальноприйнятою методикою шляхом постановки шкірних prick-тестів (ТОВ «Імунолог», Вінниця, Україна).

Отримання периферичної крові пацієнтів здійснювали шляхом забору крові з кубітальної вени натщесерце одноразовим пластиковим шприцом в об'ємі 1 мл у стерильну суху скляну пробірку з гепарином (25 ОД/мл) для отримання суспензії мононуклеарних клітин периферичної крові; в об'ємі 4 мл у вакуумну пробірку з ЕДТА (8,4 мг К3EDTA) для виділення ДНК; та в об'ємі 5 мл у стерильну суху скляну пробірку без додавання антикоагулянтів для отримання сироватки.

Отримання суспензії мононуклеарних клітин периферичної крові здійснювали шляхом центрифугування в градієнті щільності фікол-верографіну (1,077 г/мл). Сироватку виділяли з периферичної крові, зібраної натщесерце у стерильну суху скляну пробірку без додавання антикоагулянтів, шляхом інкубування та центрифугування [Беркало Л.В. та ін., 2003]. Виділення геномної ДНК проводили методом фенол-хлороформної екстракції [Епринцев А.Т. и др. 2008]. Визначення поліморфізмів толл-подібних рецепторів: 2258G/A гену TLR2, 896A/G гену TLR4 проведено методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Ампліфікацію проводили за допомогою ампліфікатора «Терцик» («ДНК-Технология», Москва) за відповідною програмою з використанням специфічних олігонуклеотидних праймерів із наступним рестрикційним аналізом [Ізмайлова О.В. та ін., 2011]. Детекція продуктів ампліфікації проведена за допомогою електрофорезу в 3% агарозному гелі («Helikon», Москва) в 1 х ТВЕ (50 мМ трис-H_3BO_3 та 2 мМ ЕДТА, рН 8.0) з подальшою візуалізацією результатів у УФ-світлі та фотографуванням.

Для визначення поліморфізму генів проводили виділення геномної ДНК з периферичної крові обстежуваних за допомогою набору «ДНК-экспресс-кровь» (ООО НПФ «Литех», Россия), ампліфікували за допомогою алель-специфічної полімеразної ланцюгової реакції в 35 мкл реакційної суміші з додаванням по 5 пкмоль специфічних праймерів. Продукти ампліфікації гену галектину-10 ідентифікували за допомогою флуорисцентної реєстрації накопичення ДНК за каналами флюоресценції.

Фенотип лімфоцитів аналізували за допомогою визначення рівнів експресії поверхневих антигенів клітин CD4, CD25 та внутрішньоклітинного білка $Foxp3^+$ методом проточної цитофлюориметрії («EPICS XL-MCL»(«Beckman Coulter»,США) за стандартною методикою, використовуючи відповідні моноклональні антитіла (виробництво «Сорбент», Росія; «eBioscience», США).

З метою визначення стану гуморальної ланки імунітету хворих на АР визначали рівень загального IgE в сироватці крові визначали за принципом двосайтового (сендвіч) імуноферментного аналізу за допомогою тест-системи ІФА для кількісного визначення загального IgE (ТОВ «Укрмед-Дон», Україна). Кількісне визначення інтерлейкіну-4 та інтерлейкіну – 10 у хворих на АР проводили за допомогою тест-системи ІФА для кількісного визначення інтерлейкіну – 4 та інтерлейкіну – 10 ТОВ «Укрмед-Дон» (Україна) згідно інструкцій до наборів. Оптичну густину досліджуваних зразків визначали на імуноферментному аналізаторі "Stat-Fax 2100" (USA) при довжині хвилі 450 нм.

Статистичну обробку отриманих результатів провели за допомогою статистичного пакету STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc., USA) згідно з рекомендаціями. Порівняння частот генотипів між досліджуваними групами проводили шляхом аналізу таблиць спряженості за допомогою точного тесту Фішера. Для порівняння частот алелей використовували критерій χ^2. Для оцінки достовірності відмінностей між групами використовували точний двосторонній критерій Фішера (для малих груп). Для усіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення.

Вивчення обстежуваних 45 хворих на АР віком від 19 до 65 років (серед яких жінки склали 49%, а чоловіки 51%) показало, що в залежності від періодичності впливу алергену, характеру перебігу та частоти симптомів у 27% (12 хворих) виявлений цілорічний (або персистуючий) АР та у 73% (33 хворих) сезонний (або інтермітуючий) АР. Ступінь тяжкості захворювання оцінювався на основі загальноприйнятих критеріїв діагностики ARIA (2008) [Brozek J.L. et al., 2008] з урахуванням анамнестичних показників, тяжкості клінічних проявів, їх впливу на загальний стан та якість життя (працездатність, навчання, відпочинок, денну активність, сон та ін.), частоти застосування лікарських засобів та їх ефективності. На основі цього встановили легкий перебіг – у 11 (25%), середньо-важкий – у 32 (71%), важкий – у 2 (4%) обстежених хворих на АР. Ускладнений АР виявлений у 32% обстежених хворих. Серед них найбільш поширеними виявились: риносинусит полипозний-18%, середній отит-9%, дисфункція євстахієвих труб та ларингіт – 6%.

Анамнестично встановлено, що розвиток захворювання пов'язаний із впливом алергенів на організм переважно в дитячому віці – 56% (25 хворих), а також в підлітковому та молодому відповідно – 32% (14 хворих) та 12% (6 хворих), що зумовлено особливостями імунної системи в дитячому віці [Дранник Г.Н., 2010]. Наявність алергічних захворювань у родичів I-II ступеню спорідненості з боку матері виявлена в 35%, з боку батька – у 30%, з боку обох батьків-у 11% усіх обстежених хворих на АР, що узгоджується з науковими даними щодо переважного зв'язку з алергічними захворюваннями з боку матері [Охотникова Е.Н.,2008].

При алергологічному обстеженні хворих на АР у 89% пацієнтів були виявлені позитивні шкірні проби на пилкові, грибкові, побутові, епідермальні та харчові алергени, при чому у 7% мала місце сенсибілізація до однієї групи алергену, у 29%-до двох груп, у 36%-до трьох груп, у 13%-до чотирьох груп, а в 4%-до всіх п'яти груп алергенів.

Концепція наслідування АР, що реалізується дисфункцією імунної системи, доведена клінічними спостереженнями та в наш час не викликає сумнівів [Охотникова Е.Н.. 2008]. У патогенезі АР зазвичай провідними розглядають IgE-опосередковані імунні реакції [Дранник Г.Н., 2010]. Результати численних досліджень спонукали учених до пошуку нових концепцій імунопатогенезу АР. Відкриття Т-регуляторних (T_{reg}) клітин визначає шлях до розуміння механізмів периферичної толерантності та індукції Тх1-та Тх2 – опосередкованих імунних реакцій, дисбаланс яких супроводжує розвиток АР. Відомо, що важливим є не стільки співвідношення Тх1> <Тх2, скільки активація відповідних Т-регуляторів імунної відповіді [Титова

Н.Д., 2009]. Крім того, вважається доведеним, що лише на ранніх стадіях формування АР домінує Тх1 вплив, а пізніше дисбаланс Тх1/Тх2 визначається на користь Тх2. Слід зазначити, що в більшості випадків чхання, свербіж у носі, ринорея, закладенність носа були сильніше виражені саме в пізню фазу алергічної реакції 1 типу, де провідну роль відіграють Тх2 [Lityvakova L.I. et al., 2001].

Досліджені показники периферичної крові та показники імунного статусу хворих на АР в стадії ремісії (рівень лейкоцитів, відносна кількість лімфоцитів, відносна кількість еозинофілів) в цілому відповідали нормальним показникам практично здорових осіб (табл.1) [Литвинов А.В., 2007].

Таблиця 1
Імунологічні показники обстежених хворих на АР

Показник	Показники практично здорових осіб	Показники хворих на АР, n=45
Загальний IgE, МОд/мл	0 – 130	198,2 ± 11,42
$CD4^+$,%	39 ± 5	40,5 ± 1,02
$CD4^+/CD25^+$,%	9,4 ± 2,05	16,5 ± 1,9 (0,25)
$CD4^+CD25^+Foxp3^+$,%	5-10% від $CD4^+$	4,66± 0,38
ІЛ-10, пг/мл	0-50 пг/мл	0,35 ± 0,016
ІЛ-4,пг/мл	0-20пг/мл	50,34 ± 3,58

Однак у 15% пацієнтів виявлена еозинофілія зі збільшенням абсолютної та відносної кількості еозинофілів При визначенні рівня загального IgE у 76% пацієнтів відзначається достовірне підвищення показників, рівень загального IgE становив 198,2 ± 11,42 МО/мл, що підтверджує провідну роль IgE-опосередкованих імунних реакцій при атопії [Johansson S.G.O et al., 2001; Kaidashev I.P., 2009].

Слід зазначити зростання відносної кількості $CD4^+CD25^+Foxp3^+$Treг клітин у порівнянні з показниками практично здорових людей, що узгоджується з результатами сучасних досліджень [Bellinghausen I. et. al., 2003; Schmidt-Weber C.B. et. al., 2005]. Отримані дані підтверджують концепцію, що імунна відповідь на алергени у здорових осіб та хворих на алергію є результатом співвідношення між алергенспецифічними Treг клітинами та Th2 клітинами [Bellinghausen I. et. al., 2003; Takahashi T. et al., 2000].

Виявлені порушення цитокінової регуляції у обстеженних хворих на АР, а саме підвищення вмісту IL-4 (84%)-що підсилює виживання еозинофілів. В середньому показник складав 50,34 ± 3,58 пг/мл, що в 2,5 рази перевищує значення показників здорових осіб.

Важливими складовими клітинної імунної відповіді є Treг клітини, що регулюють функцію Т-хелперів та Т-цитотоксичних клітин, забезпечуючи спрямованість Th1/Th2 типів імунної відповіді. Дослідження останніх років вказують на існування індуцибельних IL-10-продукуючих Treг клітин [Фрейдлин И.С., 2005; Бережная Н.М., 2013]. За нашими даними рівень супресорного цитокіна IL-10 у хворих на АР у середньому склав 0,35 ± 0,016 пг/мл.

Згідно з сучасними дослідженями, гени атопії та пов'язаних з нею станів сконцентровано в основному у 10 ділянках геному людини [Carroll W., 2005]. Існують відомості щодо асоціації алергічного риніту із поліморфізмом гену TIM-1 [Mou Z. et al., 2010], CD14 [Han D et al., 2010],TLR 2-4 [Kang I.. et al., 2010], RNAse 3[Kang I. et al, 2010].

З метою визначення ролі поліморфізму окремих генів, які контролюють структурні та регуляторні елементи неспецифічної резистентності організму, в розвитку алергічного риніту, визначена розповсюдженість поліморфізму гену TLR2 (rs5743708), гену TLR 4 (rs4986790) та гену CLC-10 (rs420297) в групі спостереження і в групі популяційного контролю, проведено аналіз імунологічних показників та клінічних проявів у хворих з поліморфними варіантами досліджуваних генів. Шляхом молекулярно-генетичного дослідження серед хворих на АР було виділено носіїв поліморфних алелей та проведено аналіз розподілу генотипів за досліджуваними поліморфізмами.

В осіб, що входили до групи контролю, частота генотипу TLR2 GG становила 97,8%; частота гетерозиготного генотипу GA – 2,2%, поліморфний генотип AA не був виявлений. У групі хворих на АР відповідні результати були такими: GG – 93,3%, GA – 6,6% та AA також не був виявлений. Не виявлено достовірного зв'язку між частотою появи поліморфної алелі A в групі контролю та хворих на АР (χ^2 = 0,74; p = 0,34). Отримані результати відсутності асоціації поліморфізму 2258G/A гену TLR2 з АР узгоджуються з іншими науковими даними [Modrzynski M., 2007].

При дослідженні поліморфізму гену rs4986790 TLR4 в групі контролю частота поліморфного генотипу AA становила 95,6%, гетерозиготного генотипу AG – 4,5%, поліморфний генотип GG не виявлений. У хворих на АР відповідно: AA – 92,3%, AG – 7,7% та GG – не виявлений. Достовірно значно вищою виявилася різниця між частотами генотипів у групах контролю та хворих на АР (p = 0,03). Частота поліморфної алелі G в групі хворих на АР склала 7,7% (χ^2 = 3,58; p = 0,06) у порівнянні з групою контролю, виявлена різниця на рівні статистичної тенденції [Davila I. et al., 2009].

Функціональний поліморфізм гена TLR4 полягає в заміні аспарагінової кислоти на гліцинову Asp299Gly1187 (rs4986790) [Montes A.H. et al., 2006]. У результаті знижується здатність TLR4 до розпізнавання відповідних лігандів або до проведення внутрішньоклітинних сигналів, що призводить до менш вираженої активації клітин імунної системи після зустрічі з патогеном. [Schnare M. et al., 2006; Байракова О.Л. и др., 2008].Функціональний поліморфізм TLR4 порушує регуляцію вродженої імунної відповіді, що є основним чинником дисбалансу Т1/Т2-хелперів [Симбирцев А.С., 2005]. Подібний механізм відіграє вирішальну роль у формуванні хронічного запального процесу та привертає увагу як потенційний чинник ризику розвитку атопічної патології, зокрема АР [Kang I. et al., 2010].

При дослідженні поліморфізму rs420297 C/T гену CLC-10 у групі контролю частота генотипу CC становила 75,56%, гетерозиготного генотипу CT – 22,22%, генотип TT – 2,22%. У хворих на АР відповідно: CC – 57,78%, CT – 24,44% та TT – 17,78%.

Виявлена достовірна різниця між частотами генотипів у групах контролю та хворих на АР (p = 0,04). Достовірно значно вищою виявилася різниця за частотою поліморфної алелі Т в групі хворих на АР-30% (χ^2 = 6,42; p = 0,011), у порівнянні з групою контролю. У дослідженнях закордонних учених вивченню асоціації алергічного риніту із поліморфізмом гену галектину-10 (CLC-10) останнім часом приділяється особлива увага [Bryborn M. et al., 2010].

Генетичні маркери можуть визначати схильність до захворювання або бути асоційованими з відповідними патогенетично значущими показниками. Тому в межах пропонованого дослідження було вивчено вплив поліморфізму гену TLR2 (rs5743708), гену TLR 4 (Asp299Gly) та гену CLC-10 (rs420297) на перебіг та особливості клінічних проявів АР. Під час аналізу відмінності за частотою виявлення цілорічної та сезонної форми перебігу між групами хворих на АР залежно від генотипів поліморфізму 2258G/A гену TLR2 та гену TLR 4 (Asp299Gly) не мали статистичної значущості.

Слід зазначити наявність вірогідних відмінностей між групами залежно від генотипів поліморфізму гену TLR4 Asp 299 Gly за наявністю супутніх алергічних захворювань. Достовірно, що частіше у цих хворих на АР виявляли супутню БА (p=0,0003), супутній АД (0,0031) та БА у поєднанні з АД (p=0,0005). Вірогідні відмінності між групами залежно від генотипів поліморфізму rs420297 C/T гену галектину-10 були виявлені за клінічними формами АР. Достовірно, що частіше у хворих на АР з поліморфною алеллю галектину-10 виявляли цілорічну форму АР (p=0,0001).

Як зазначалося раніше, порушення рівноваги Т1\Т2-хелперів з переважанням Th-2 імунної відповіді відіграє провідну роль в розвитку АР. У відповідь на вплив алергенів у хворих на АР відбувається вивільнення Th2-цитокінів та індукується активація еозинофілів, опасистих клітин та підвищений синтез IgE. Існують відомості, що зазначені реакції відбуваються опосередковано через TLR2,4 [Крючко Т.О. та ін., 2011; Ahmad-Nejad P. et al., 2004]. Відомо також, що галектин-10 є необхідним для здійснення регуляторної активності T_{reg} клітин [Kubach I. et al., 2007].

З метою виявлення відмінностей між хворими на АР залежно від досліджуваних поліморфізмів гену імунологічними показниками було проведене порівняння відповідних груп з використанням критерію Манна-Уітні.

Виявлена достовірна різниця між групами хворих на АР з наявністю алелі А гену TLR2 та гомозиготними носіями алелі G за показником $CD4^+$ ($U_{(n=42;n=3)}$ = 12,00; p=0,020).

Виявлена достовірна різниця між групами хворих на АР з наявністю поліморфної алелі Т гену CLC-10 та гомозиготними носіями алелі С за показником $CD4^+$ ($U_{(n=26;n=9)}$ = 139,50; p=0,014). Слід зазначити, що рівень експресії молекул $CD4^+$ у хворих на АР з алеллю Т гену галектину-10 в середньому мав тенденцію до збільшення, а у хворих на АР носіїв алелі С не виходив за межі показників практично здорових осіб (табл.2).

Таблиця 2

Відмінності за імунологічними показниками хворих на АР залежно від генотипів поліморфізму гену галектину-10

Показник	Хворі на АР з генотипами СТ+ТТ, (n=19)	Хворі на АР з генотипом СС, (n=26)
$CD4^+$,%	44,14±1,92	37,92±1,37
U, p	$U_{(n=26;n=19)}$ = 139,50; p=0,014	
$CD4^+$ $CD25^+$,%	11,09±1,32	21,16±2,96
U, p	$U_{(n=26;n=19)}$ = 136,00; p=0,012	
Загальний IgE, МОд/мл	234,86±12,46	171,48±15,74
U, p	$U_{(n=26;n=19)}$ = 138,50; p=0,013	
ІЛ-4,пг/мл	61,61±5,30	42,11± 4,22
U, p	$U_{(n=26;n=19)}$ = 123,00; p=0,004	
ІЛ-10, пг/мл	0,303±0,11	0,394±0,024
U, p	$U_{(n=26;n=19)}$ = 136,50; p=0,011	

U, p-відмінності між групами за критерієм Манна-Уітні

Також група хворих на АР з алеллю Т гену CLC-10 достовірно відрізнялась за вищим значенням рівня $CD4^+CD25^+$ ($U_{(n=26;n=9)}$ = 136,00; p=0,012) від групи хворих на АР гомозиготних носіїв алелі С. Отже, галектин-10 є необхідним для здійснення регуляторної активності T_{reg} клітин.

При порівнянні показників загального IgE у груп хворих залежно від генотипів поліморфізму гену CLC-10 достовірно були встановлені вищі значення рівню IgE у хворих на АР з алеллю Т гену CLC-10 ($U_{(n=26;n=9)}$ =138,50; p=0,013) який становив 234,86±12,46 МО/мл.

Виявлені порушення цитокінової регуляції з достовірним підвищенням показників ІЛ-4, що підсилює виживання еозинофілів. Між групами хворих залежно від поліморфізму гену CLC-10 встановлені достовірно вищі значення показників ІЛ-4 у хворих на АР з алеллю Т гену CLC-10 ($U_{(n=26;n=9)}$ =123,00; p=0,004), рівень якого становив 61,61±5,30 пг/мл.

Рівень супресорного цитокіна ІЛ-10 у хворих на АР у середньому склав 0,35 ± 0,016 пг/мл. Це може бути пов'язаним з різними формами АР, коли у хворих з хронічною формою процесу рівень концентрації ІЛ-10 може значно знижуватись порівняно з показниками гострої стадії захворювання (може пояснюватися збільшенням концентрації у сироватці цитокінів Тх-1 профілю) або залишатися підвищеним відповідно до показників норми [Дранник Г.Н., 2010]. Між групами хворих залежно від поліморфізму гену галектину-10 була виявлена різниця за показниками рівню IL10; вищі значення якого достовірно були встановлені у хворих на АР гомозиготних носіїв алелі С ($U_{(n=26;n=9)}$ =136,50; p=0,038) та склали 0,394±0,024 пг/мл.

Виявлена достовірна різниця між групами хворих на АР гомозиготними носіями алелі Т гену CLC-10 та гомозиготними носіями алелі С за показником $CD4^+$ ($U_{(n=26;n=19)}$ = 37,00; p=0,006). Також група хворих на АР гомозиготних носіїв алеллі Т гену CLC-10 достовірно відрізнялась за вищим значенням рівня $CD4^+CD25^+Foxp3^+$% ($U_{(n=26;n=8)}$ = 52,50; p=0,037) від групи хворих на АР гомозиготних носіїв алелі гену CLC-10 (табл. 3).

Таблиця 3
Відмінності за імунологічними показниками хворих на АР залежно від генотипів поліморфізму гену галектину-10 гомозиготних носіїв

Показник	Хворі на АР з генотипом ТТ гену галектину-10, (n=8)	Хворі на АР з генотипом СС гену галектину-10, (n=26)
$CD4^+$,%	46,96±2,30	37,91± 1,37
U, p	$U_{(n=8;n=26)}$ = 37,00; p=0,006	
$CD4^+CD25^+Foxp3^+$,% (тис/мкл)	6,61±1,54	4,08± 0,35
U, p	$U_{(n=8;n=26)}$ = 52,50; p=0,037	

U, p˙відмінності між групами за критерієм Манна-Уітні.

Отримані результати підтверджують, що, незважаючи на значну внутріклітинну експресію галектину-10 в $CD25^+$ T_{reg} клітинах, він безпосередньо не бере участі в пригніченні функції $CD25^+$ T_{reg} клітин, однак специфічна блокада галектину-10 відновлює проліферативну здатність $CD25^+$ T_{reg} клітин та підсилює їх супресивні функції. Отже, галектин-10 є необхідним для здійснення регуляторної активності T_{reg} клітин [Kubach I. et al., 2007].

Отже, виявлені в результаті дослідження зміни і взаємозв'язки клініко-імунологічних показників у хворих на АР носіїв поліморфних алелей генів TLR2, TLR 4, CLC-10 дозволяють припустити важливе значення зазначених поліморфізмів у визначенні перебігу АР, наявності супутньої патології, полівалентної алергії у хворих на АР та реалізації імунних механізмів у патогенезі захворювання.

Висновки

1. В обстежених хворих АР у 76% випадків має спадкову природу переважно з боку матері (36%), розпочинається переважно в дитячому і підлітковому віці (88%) і в 44% супроводжується іншою алергічною патологією. Визначені клінічні форми АР-у 27% цілорічний та у 73% сезонний, за ступенем тяжкості виявили: легкий – у 32%, середньотяжкий –у 62%, тяжкий – у 6% перебіг захворювання. При алергологічному обстеженні у 89% хворих на АР виявили позитивні шкірні проби на побутові, епідермальні, пилкові, харчові та грибкові алергени. У 82% хворих виявлена полівалентна сенсибілізація до двох і більше груп алергенів.

2. При дослідженні імунного статусу хворих АР у 15% хворих спостерігали еозинофілію, підвищення середнього рівня загального імуноглобуліну Е, зростання відносної кількості $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Трег клітин із зниженням вмісту IL-10 та підвищенням IL-4.

3. У групі хворих на АР встановлена розповсюдженність поліморфізму гену TLR2 (rs5743708): генотип GG становив 93,3%, генотип GA – 6,6%, генотип AA не зустрічався. Виявлена достовірна різниця між групами хворих на АР з наявністю поліморфної алелі гену TLR2 та гомозиготними носіями алелю G за показником $CD4^+$ ($U_{(n=42;n=3)}$ = 12,00; p=0,020).

4. У групі хворих на АР встановлена розповсюдженність поліморфізму гену TLR 4 (Asp299Gly): генотип AA становив 92,3%, генотип AG – 7,7%, генотип GG не зустрічався. Виявлена достовірна різниця між частотами генотипів у групах контролю та хворих на АР (p = 0,03). У хворих на АР носіїв алелю G за поліморфізмом 896A/G гену TLR4 виявлена атопічна патологія: супутня БА (p=0,0003), супутній АД (0,0031) та БА у поєднанні з АД (p=0,0005).

5. Розповсюдженість поліморфізму rs420297 гену галектину-10 серед осіб, що проживають в Полтавській області складає СС-76%; СТ-22%; ТТ-2%. Виявлена достовірна різниця між частотами генотипів у групах контролю та хворих на АР (p = 0,04), поліморфізм rs420297 гену CLC-10 достовірно частіше зустрічається в групі хворих на АР. Виявлена достовірна різниця за частотою алелю Т CLC-10 в групі хворих на АР-30%, у порівнянні з групою контролю-13% ($\chi 2$ = 6,42; p = 0,011). Розвиток та перебіг алергічного риніту асоційований з поліморфізмом rs420297 гену CLC-10 (достовірно частіше у хворих на АР з мутантною алеллю CLC-10 виявляли цілорічну форму АР (p=0,0001)).

6. Виявлена достовірна асоціація між наявністю поліморфної алелі гену CLC-10 та рівнями $CD4^+$ (p=0,014), $CD4^+$ $CD25^+$ (p=0,012), в групі гомозиготних носіїв поліморфної алелі Т та алелі С гену CLC-10, встановлена достовірна асоціація між наявністю поліморфної алелі гену CLC-10 та рівнями CD4+CD25+Foxp3+ (p=0,037), CD4+ (p=0,014). Встановлено, що особи які несуть поліморфну алель гену CLC-10 мають достовірно вищі рівні IgE (p=0,013) та ІЛ-4 (p=0,004) та нижчий рівень IL10 (p=0,038).

Література.

1. Van Cauwenberge P.B., Ciprandi G., Vermeiren J.S.J. Epidemiology of Allergic Rhinitis. - The UCB Institute of allegy, 2001. – 27p
2. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / [Беркало Л.В., Бобович О.В., Боброва Н.О. та ін.]; під ред. проф. Кайдашева І.П. – Полтава : Полімет, 2003. – 320 с.
3. Ізмайлова О.В. Зв'язок поліморфізмів генів TLR2 та TLR4 зі схильністю до окремих урогенітальних інфекцій./ О.В. Ізмайлова, О.А. Шликова, Н.О. Боброва [та ін.].// Цитология и генетика – 2011. - № 4. – Р. 29-35.
4. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю.Реброва – М.: МедиаСфера, 2002.- 312 с.
5. Brozek J.L., Baena-Cagnani C.E, Bonini S. et al. Methodology for development the Allergic Rhinitis and its Impact of Asthma Guideline 2008 update // Allergy. - 2008.- Vol.63(1).- P.38-46
6. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология / Георгий Николаевч Дранник. – К.: ООО «Полиграф плюс», 2010. – 552 с.
7. Охотникова Е.Н. Аллергический «марш»: связь поколений и эскалация аллергии у детей (лекция) // Современ. педиатрия. - 2008. - №4(21). - С.190-197
8. Титова Н.Д. Значение врождённой системы иммунитета в возникновении аллергических заболеваний.// Иммунология, аллергология, инфектология.-2009-(3).- Р.32-39.
9. Lityvakova L.I., Baraniuk J.N. Nasal provocation testing: a reviw. Ann. Allergy Asthma Immunol. – 2001. - Vol. 86. - P. 355-364.
10. Норма в медицинской практике: Справочное пособие / Составит. А.В. Литвинов. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – 144 с.
11. Kaidashev I.P. The allergen-specific IgE reactivity pattern of Ukrainian allergic patients // Проблеми екології та медицини. -2009.- №2-3.- С.8-14

12. Bellinghausen I., Klostermann B., Knop J., Saloga J. HumanCD4$^+$CD25$^+$ T cells derived from the majority of atopic donors are able to suppress Thl and Th2 cytokine production // J. Allergy Clin. Immunol. – 2003. - Vol. 111. - P. 862-868
13. Фрейдин М.Б., Брагина Е.Ю., Огородова Л.М., Пузырев В.П. Полиморфизм генов глутатионтрансфераз ql и ml (GSTT1 и GSTM1) у больных атопнческой бронхиальной астмой в Западно-Сибирском регионе // Молекулярная биология. - 2002. - Т.36. - № 4. - С.630-634.
14. Han D., She W., Zhang L. Association of the CD 14 gene polymorphism C-159 T with allergic rhinitis// Am I Phinol Allergy. – 2010. – 24 (1). – P.1-3
15. Куценко, Н. Л. Полиморфизм Toll-подобного рецептора 2Arg753Gln связан с повышенным уровнем синтеза специфических иммуноглобулинов Е у больных аллергическими заболеваниями / Н.Л. Куценко, О. В. Измайлова, Л. Э. Веснина // Аллергология и иммунология. – 2011. –Т.12, №3. – С. 233 – 236.
16. I Dávila, J Mullol, M Ferrer, J Bartra, A del Cuvillo, J Montoro, I Jáuregui, J Sastre, A Valero; Genetic Aspects of Allergic Rhinitis // J Investig Allergol Clin Immunol. – 2009. - Vol. 19., Suppl. 1. – P. 25-31
17. Presymptomatic differences in Toll-like receptor function in infants who have allergy / S.L. Prescott, P. Noakes, B.W.Y. Chow [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2008. – V. 122, № 2. – P. 391–399
18. Human CD4$^+$ CD25$^+$ regulatory T cells: proteome analysis identifies galectin -10 as a novel marker essential for their anergi and suppressive function//Kubach I.,Lutter P., Bopp T. [et al.] //Blood.- 2007.-Vol.110(5).-P.1550-1558

ENGLISH VERSION: FEATURES OF THE IMMUNE STATUS OF PATIENTS WITH ALLERGIC RHINITIS, DEPENDING ON TLR 2,4 AND 10 «GALECTIN» GENE POLYMORPHISM*

Sakevych V. D., Shlykova O.A., Kaidashev I. P.

Research Institute for Genetic and Immunological Bases of Pathology and Pharmacogenetics of Higher State Education Establishment of Ukraine " Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava

The study presented theoretical generalization and a new resolve of scientific task in Immunology and Allergology concerning the definition of genetic determinism in allergic rhinitis by examining the role of Toll-like receptors of innate immunity by polymorphisms TLR2 (rs5743708), TLR 4 (rs4986790) and CLC-10 (rs420297). In examined patients in 76% of cases, AR is predominantly hereditary nature of the mother (36%), mostly begin in childhood and adolescence (88%) and 44% is accompanied by other allergic diseases. In the study of the immune status of patients with AR in 15% of patients one observed moderate and high eosinophilia, increase the average level of total immunoglobulin E, which is significantly higher values have been established in patients with moderate and severe forms of motion (p = 0.0008) increase in the relative number of CD4 CD25 MPER Foxp3 cells with reducing the amount of IL-10 and IL-4 increase. Significant differences between the frequencies of genotypes in the control group and patients with AR gene polymorphism by TLR 4 (Asp299Gly) were found. For the first time the population-based prevalence of polymorphism rs420297 gene «Galectin»u-10 among persons living in Poltava region (SS-76%, ST-22%, TT-2%) revealed significant differences between the frequencies of genotypes in the control group and patients with AR (p = 0.04), rs420297 polymorphism of the gene CLC-10 was significantly more common in patients with RA. Significant association between the presence of polymorphic alleles of the gene CLC-10 levels and CD4$^+$, CD4$^+$ CD25$^+$, in the group of homozygous carriers of polymorphic alleles T and C alleles of the gene CLC-10 were revealed. The authentic association between the presence of polymorphic alleles of the gene CLC-10 levels and CD4+CD25+Foxp3+, CD4+was found.

Keywords: allergic rhinitis, cellular and humoral immunity polymorphism, Toll-like receptors, «Galectin»-10.

Allergic diseases, including asthma, allergic rhinitis, atopic dermatitis every year become more urgent and serious problem. Allergic rhinitis (AR) is a disease characterized by IgE-mediated immunological inflammation that is caused by penetration of allergens on the nasal mucosa [1].

Currently recognized point of view, according to which AR is a multifactorial disease (MFZ). Now prevalent concept is an imitation of allergic diseases and identified quite a number of genes that mediate their demonstration. However, the results of numerous studies are controversial molecular genetic basis of disease formation yet insufficiently studied. This turns the AR into a serious medical and social problem and necessitates the study of the causes and immunological mechanisms of this disease to develop adequate therapeutic and preventive measures, taking into account ethnicity, immunological reactivity and genetic characteristics of patients.

The aim of the study was to determine the role of polymorphisms of genes that control the structural and regulatory elements of nonspecific resistance of the organism (Toll-like receptors: 2258G /A gene TLR2 (rs5743708), 896A / G gene TLR4 (rs4986790) and «Galectin»u-10 gene (rs420297 C / T)) in the pathogenesis of RA, to further the understanding of the immunological mechanisms of this disease.

Materials and methods.

To solve the nominated tasks examined 45 patients aged 19 to 65 patients with AR at the stage of clinical remission who were dispensary in outpatient department of the Fourth City Hospital and Allergic department of Poltava Regional Hospital im.Sklifosovskoho. Comparison group consisted of 95 healthy persons from DNA ofbank Research-Research Institute for Genetic and immunological bases of pathology and pharmacogenetics State Higher School of Ukraine "Ukrainian Medical

* *To cite this English version: Sakevych V. D., Shlykova O.A., Kaidashev I. P. Features of the immune status of patients with allergic rhinitis, depending on the gene polymorphism TLR 2,4 and 10 halektynu / / Problemy ekologii ta medytsyny. - 2014. - Vol 18, № 3-4. - P. 39 -43.*

Stomatological Academy", which were surveyed and clinically examined to rule out allergies.

The diagnosis is established based on the AR diagnostic criteria ARIA (2008) diagnostic algorithm adopted in Ukraine and approved by the Ministry of Health of Ukraine. The quality of life of patients was determined using generally recognized questionnaires (Adult Rhinoconjunctivitis Quality of Life Questionnaire). Allergic survey conducted by the conventional method by setting skin prick-tests (LLC «Immunologist ', Vinnitsa, Ukraine).

Getting the peripheral blood of patients was done by sampling blood from the vein kubitalnoyi fasting disposable plastic syringe in a volume of 1 ml in sterile dry glass tube with heparin (25 U / ml) to obtain a suspension of peripheral blood mononuclear cells ; in a volume of 4 ml in a vacuum tube with EDTA (8.4 mg K3EDTA) for DNA isolation ; and in the volume of 5 ml of sterile dry glass tube without the addition of anticoagulants for serum.

Getting the suspension of peripheral blood with mononuclear cells was carried out by centrifugation in density gradient fikol-verohrafinu (1,077g / ml). Serum was isolated from peripheral blood collected on an empty stomach in a sterile dry glass tube without the addition of anticoagulants by incubation and centrifugation [2]. Bold genomic DNA was performed by phenol-chloroform extraction. Determination of polymorphisms Toll-like receptors: 2258G / A gene TLR2, 896A / G TLR4 gene carried by polymerase chain reaction (PCR). Amplification was performed using Thermocyclers "Tertsyk" ("DNA Technology ", Moscow) for the corresponding program using specific oligonucleotide primers followed by restriction analysis [3]. Detection of amplification products carried by electrophoresis in 3% agarose gel («Helikon», Moscow) in 1 x TBE (50 mM Tris-H3BO3 and 2 mM EDTA, pH 8.0), followed by visualization of the results in UV light and taking pictures.

To determine gene polymorphism isolation of genomic DNA from peripheral blood of subjects with a set of "DNA Express-blood" (OOO NPF «Lyteh", Russia), amplified by allele-specific PCR in 35 ml of the reaction mixture with the addition of 5 pkmol specific primers was performed. Products gene amplification «Galectin»u 10 identified using fluorystsentnoyi registration accumulation of DNA fluorescence channels.

The phenotype of lymphocytes was analyzed by determining the expression levels of cell surface antigens CD4, CD25 and intracellular Foxp3 protein by flow tsytoflyuorymetriyi («EPICS XL-MCL» («Beckman Coulter», USA) by the standard method using the appropriate monoclonal antibody (production of " sorbent " Russia; «eBioscience», USA).

In order to determine the status of humoral immunity of patients with AR serum total IgE vyznachaly in serum were determined on the basis dvosaytovoho (sandwich) ELISA using ELISA test kits for the quantitative determination of total IgE (LLC "Ukrmed Don", Ukraine). Assay interleykinu-4 and interleukin-10 in patients with AR was performed using ELISA test kits for the quantitative determination of interleukin-4 and interleukin-10 of "Ukrmed Don" (Ukraine) according to the instructions sets. Optical density of the samples was determined by enzyme-linked immunosorbent analyzer "Stat-Fax 2100" (USA) at a wavelength of 450 nm.

Statistical analysis of the results conducted by using the statistical package STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc., USA) according to the recommendations [4]. Comparison of genotype frequencies between the study groups was performed by analysis of contingency tables using Fisher's exact test. To compare allele frequencies used criterion $\chi 2$. To assess the reliability of differences between groups using Fisher's exact two-sided test (for small groups). For all types of analysis considered differences statistically significant at $p < 0.05$.

Results and discussion.

The study examined 45 patients with AR aged 19 to 65 years (of which women accounted for 49% and men 51%) showed that, depending on the frequency of allergen exposure, the nature of the course and frequency of symptoms in 27% (12 patients) found year-round (or persistent) AR and 73% (33 patients) seasonal (or intermittent) AR. The severity of disease was assessed on the basis of generally accepted diagnostic criteria ARIA (2008) [5] on the basis of anamnestic indicators of severity of clinical manifestations and their impact on the overall status and quality of life (hard work, education, leisure, daily activities, sleep, etc.), the frequency of use of drugs and their effectiveness. Based on this set easy course-in 11 (25%), medium-heavy-in 32 (71%), heavy-in 2 (4%) patients suffering from RA. Complicated AR detected in 32% of patients. Among the most common were: rhinosinusitis polypoznyy-18%, otitis media-9%, dysfunction of Eustachian tubes and laryngitis-6%.

Medical history revealed that the disease is associated with allergen exposure on the body mainly in childhood-56% (25 patients) and in adolescence and young respectively-32% (14 patients) and 12% (6 patients), due to features of the immune system in children [6]. The presence of allergic diseases in relatives and II degree relatives of the mother was found in 35% of the father-in 30% of both parents-11% of surveyed patients with RA, which is consistent with the scientific evidence regarding preferential connection with allergic diseases of the mother [7].

When examining patients with AR in 89% of patients were found positive skin tests to pollen, fungal, household, epidermal and food allergens, with 7% occurred sensitization to one allergen group, 29%-to two groups, 36%-up to three groups, 13%-up to four groups, and 4%-to all five groups of allergens.

The concept of inheritance AR implemented dysfunction of the immune system, proven by clinical observations and nowadays there is no doubt [7]. In the pathogenesis of AR is usually considered major IgE-mediated immune responses [6]. Numerous studies have prompted scientists to explore new concepts immunopathogenesis of RA. Opening of T regulatory (Treg) cells determines the path to understanding the mechanisms of peripheral tolerance and the induction of Th1-and Th2-mediated immune responses, an imbalance which accompanies the development of RA. We know that it is important to not only the ratio of Th1 > < Th2, as appropriate activation of T regulatory immune response [8]. In addition, it is considered proven only in the early stages of forming AR dominated Th1 effect and later the imbalance of Th1 / Th2 determined in favor of Th2. It should be noted that in most cases, sneezing, itchy nose, rhinorrhea, nasal zakladennist were more pronounced in late phase of allergic reaction type 1, where the leading role was played by Th2 [9].

Were studied peripheral blood and indicators of immune status of patients with AR in remission (WBC, the relative number of lymphocytes, the relative number of eosinophils) generally answered the normal range of healthy individuals (tabl..1) [10].

Table 1
Immunological parameters examined patients with AR

Index	Indicators of healthy individuals	Performance of patients with AR, n=45
Total IgE, IU / mL	0 – 130	198,2 ± 11,42
$CD4^+$,%	39 ± 5	40,5 ± 1,02
$CD4^+/CD25^+$,%	9,4 ± 2,05	16,5 ± 1,9 (0,25)
$CD4^+CD25^+Foxp3^+$,%	5-10% of the $CD4^+$	4,66± 0,38
IL-10 pg / ml	0-50 pg / ml	0,35 ± 0,016
IL-4 pg / ml	0-20 pg / ml	50,34 ± 3,58

However, in 15% of patients had eosinophilia with increasing absolute and relative number of eosinophils in determining the level of total IgE in 76% of patients have a significant increase in performance, the level of total IgE was 198,2 ± 11,42 IU / ml, which confirms the leading role of IgE-mediated immune responses in atopy [11].

It should be noted increase in the relative number of CD4 CD25 Foxp3 MPER cells compared to healthy people, which is consistent with the results of current research [12]. These data support the concept that the immune response to allergens in healthy individuals and patients with allergies are the result of the ratio between allergenspecific MPER cells and Th2 cells [12].

The identified violations of cytokine regulation in the investigation of patients with RA, namely increasing the content of IL-4 (84%)-which enhances the survival of eosinophils. The average figure was 50,34 ± 3,58 pg / ml, which is 2.5 times higher than the values of healthy individuals.

Important components of the cellular immune response is MPER cells that regulate the function of T-helper and T-cytotoxic cells, providing direction Th1 / Th2 type immune response. Recent studies indicate the existence of inducible IL-10-producing cells MPER [13]. According to our data, the level of suppressor cytokine IL-10 in patients with AR averaged 0,35 ± 0,016 pg / ml.

According to current research, atopy genes and associated states are concentrated mainly in the 10 areas of the human genome [14]. There are data on the association of allergic rhinitis with gene polymorphism of TIM-1, SD14, TLR 2-4, RNAse.

To determine the role of polymorphisms of individual genes that control the structural and regulatory elements of nonspecific resistance of the organism in the development of allergic rhinitis, determined the prevalence of gene polymorphisms TLR2 (rs5743708), TLR 4 gene (rs4986790) and CLC-10 gene (rs420297) in group supervision and group of population control, the analysis of immunological parameters and clinical manifestations in patients with polymorphic variants studied genes. By molecular genetic study among patients with AR were allocated carriers of polymorphic alleles and analyzed the distribution of genotypes for the studied polymorphisms.

In individuals who were part of the control group, the frequency of TLR2 GG genotype was 97.8%; frequency of heterozygous genotype GA-2,2%, polymorphic genotype AA was not detected. In the group of patients with AR corresponding results were as follows: GG-93,3%, GA-6,6% and AA was also not detected. There was no significant association between the frequency of occurrence polymorphic allele A in the control group and patients with AR ($\chi2 = 0,74$; $p = 0.34$). The results are the lack of association of polymorphism 2258G / A gene TLR2 with AR are consistent with other scientific data [15].

To study the gene polymorphism rs4986790 TLR4 in the control group the frequency of polymorphic genotype AA was 95.6%, heterozygous genotype AG-4,5%, polymorphic genotype GG was not found. In patients with AR, respectively: AA-92,3%, AG-7,7% and GG-not found. Reliably was significantly higher difference between the frequencies of genotypes in the control group and patients with AR ($p = 0.03$). The frequency of polymorphic allele G in the group of patients with AR was 7,7% ($\chi2 = 3,58$; $p = 0.06$) compared with the control group, the difference was found at the level of a statistical trend [16].

Functional TLR4 gene polymorphism is the replacement of aspartic acid glycine Asp299Gly1187 (rs4986790). As a result of reduced ability to recognize relevant TLR4 ligands or for the intracellular signals, leading to a less pronounced activation of immune cells after meeting with the pathogen..Funktsionalnyy TLR4 polymorphism violates the regulation of the innate immune response that is essential imbalance T1 / T2-helper. This mechanism plays a crucial role in the formation of chronic inflammation and attracts attention as a potential risk factor for the development of atopic diseases, including AR [17].

Group, the frequency of CC genotype was 75.56% heterozygous genotype CT-22,22%, genotype TT-2,22%. In patients with AR, respectively: CC-57,78%, CT-24,44% and TT-17,78%.

Revealed significant differences between the frequencies of genotypes in the control group and patients with AR ($p = 0.04$). Reliably was significantly higher difference in frequency polymorphic allele T in a group of patients with AR-30% ($\chi2 = 6,42$; $p = 0.011$) compared with the control group. In studies of foreign scientists study the association of allergic rhinitis with gene polymorphism «Galectin»u-10 (CLC-10) has recently been given special attention [18].

Genetic markers may determine susceptibility to disease or be associated with the relevant pathogenetic significant figures. Therefore, within the proposed research studied the effect of the gene polymorphism of TLR2 (rs5743708), TLR 4 gene (Asp299Gly) and CLC-10 gene (rs420297) on the course and features of the clinical manifestations of RA. When analyzing the differences in the incidence of seasonal and year-round shape flow between groups of patients with AR depending on genotype polymorphism 2258G / A gene TLR2 and TLR 4 gene (Asp299Gly) had no statistical significance.

Note the presence of possible differences between groups based on genotype polymorphism of the gene TLR4 Asp 299 Gly in the presence of concomitant allergic diseases. Significantly, more commonly in those patients with AR showed concomitant asthma ($p = 0.0003$), concomitant AD (0.0031) and asthma in combination with AD ($p = 0.0005$). Probable differences between groups based on genotype polymorphism rs420297 C / T gene «Galectin»u-10 were detected in the clinical forms of AR. Significantly, more commonly in patients with AR polymorphic allele «Galectin»u-10 showed year-round shape AR ($p = 0.0001$).

As noted earlier, the imbalance T1 \ T2-helper cells with a predominance of Th-2 immune response plays a major role in the development of RA. In response to exposure to allergens in patients with AR is the release of cytokines and Th2-induced activation of eosinophils, mast cells and increased synthesis of IgE. There is evidence that these reactions occur indirectly through TLR2,4. We also know that «Galectin»-10 is necessary for the regulatory activity of Treg cells.

In order to detect differences between patients with AR, depending on the gene polymorphisms the study of immunological parameters was carried out by comparison of groups using Mann-Whitney.

Significant differences between the groups of patients with AR with the presence of allele A TLR2 gene and homozygous carriers of allele G in terms of CD4 (U (n = 42; n = 3) = 12,00; p = 0,020) were found.

Significant differences between the groups of patients with AR with the presence of polymorphic alleles of the T gene CLC-10 and homozygous carriers of allele C in terms of CD4 (U (n = 26; n = 9) = 139,50; p = 0,014) were revealed. It should be noted that the level of expression of CD4 molecules in patients with AR gene allele T «Galectin»u 10 on average tended to increase, and in patients with AR allele C carriers should not go beyond indicators of healthy individuals (Table 2).

Table 2

Differences in immunological parameters of patients with AR depending on genotype polymorphism of the gene «Galectin»u 10

Index	Patients with genotypes CT AR TT, (n = 19)	Patients with AR genotype CC, (n = 26)
$CD4^+$,%	44,14±1,92	37,92±1,37
U, p	$U_{(n=26;n=19)}$ = 139,50; p=0,014	
$CD4^+$ $CD25^+$,%	11,09±1,32	21,16±2,96
U, p	$U_{(n=26;n=19)}$ = 136,00; p=0,012	
Total IgE, IU / mL	234,86±12,46	171,48±15,74
U, p	$U_{(n=26;n=19)}$ = 138,50; p=0,013	
IL-4 pg / ml	61,61±5,30	42,11± 4,22
U, p	$U_{(n=26;n=19)}$ = 123,00; p=0,004	
IL-10 pg / ml	0,303±0,11	0,394±0,024
U, p	$U_{(n=26;n=19)}$ = 136,50; p=0,011	

U, p-the differences between the groups on the criterion Manna-Whitney

Also the group of patients with AR with T allele of the gene CLC-10 differed significantly at higher levels of the value CD4 CD25 (U (n = 26; n = 9) = 136,00; p = 0,012) from a group of patients with AR homozygous carriers of allele C. So «Galectin»-10 is necessary for the regulatory activity of Treg cells.

Comparing indicators of total IgE in patients based on genotype polymorphism of the gene CLC-10 was significantly higher values were established IgE levels in patients with AR gene allele T CLC-10 (U (n = 26; n = 9) = 138.50; p = 0.013), which was 234,86 ± 12,46 IU / ml.

Identified violations cytokine regulation with a significant increase in indicators of IL-4, which enhances the survival of eosinophils. Between groups of patients based on gene polymorphisms CLC-10 set significantly higher values of IL-4 in patients with AR gene allele T CLC-10 (U (n = 26; n = 9) = 123.00, p = 0.004), the level of which was 61,61 ± 5,30 pg / ml.

Level suppressor cytokine IL-10 in patients with AR averaged 0,35 ± 0,016 pg / ml. This may be associated with different forms of AR as in patients with a chronic form of the process of the concentration of IL-10 can significantly decrease performance compared to the acute stage of the disease (may be due to an increase in the concentration of serum cytokine profile of Th-1) or to remain elevated in accordance with indicators norm [6]. Between groups of patients based on gene polymorphisms «Galectin»u-10 was detected difference in performance level of IL10; which was significantly higher values were established in patients with AR homozygous carriers of allele C (U (n = 26 ; n = 9) = 136.50, p = 0.038) and amounted to 0,394 ± 0,024 pg / ml.

Significant differences between the groups of patients with AR homozygous carriers of the T allele of the gene CLC-10 and homozygous carriers of allele C in terms of CD4 (U (n = 26; n = 19) = 37,00; p = 0,006 were revealed. Also the group of patients with AR homozygous carriers of the T allele of the gene CLC-10 differed significantly at higher levels of the value of CD4 CD25 Foxp3% (U (n = 26; n = 8) = 52,50; p = 0,037) from a group of patients with homozygous carriers of AR allele of the gene CLC-10 (Table. 3).

Table 3

Differences in immunological parameters of patients with AR depending on genotype polymorphism of the gene «Galectin»u 10 homozygous carriers

Index	Patients with genotype TT AR gene «Galectin» 10, (n = 8)	Patients with genotype SS AR gene «Galectin» 10, (n = 26)
$CD4^+$,%	46,96±2,30	37,91± 1,37
U, p	$U_{(n=8;n=26)}$ = 37,00; p=0,006	
$CD4^+CD25^+Foxp3^+$,%	6,61±1,54	4,08± 0,35
U, p	$U_{(n=8;n=26)}$ = 52,50; p=0,037	

U, p-the differences between the groups on the criterion Manna-Whitney.

These results confirm that, despite a significant intracellular expression of «Galectin»u-10 in CD25 Treg cells, it is not involved in the suppression CD25 Treg cells, but the specific blockade «Galectin»u-10 restores proliferative capacity of CD25 Treg cells and enhances their suppressive function. So «Galectin»-10 is necessary for the regulatory activity of Treg cells.

Thus, detected changes and the relationship of clinical and immunological parameters in patients with AR and polymorphic alleles of genes TLR2, TLR 4, CLC-10 suggest the importance of these polymorphisms in determining the course of RA, presence of comorbidity, polyvalent allergy in patients AR and implementation of immune mechanisms in the pathogenesis of the disease.

Findings

1. In patients examined AR in 76% of cases there is largely hereditary nature of the mother (36%), wich predominantly begins in childhood or adolescence (88%) and 44% is accompanied by other allergic diseases. clinical forms AR-27% year-round and seasonal 73%, severity found: light-32%, 62%-in intermedius, hard-6% of the disease were defined. With Allergic examination in 89% of patients with AR positive skin tests for domestic, epidermal, pollen, food and fungal allergens were revealed. In 82% of patients polyvalent sensitization to two or more groups of allergenswas found.

2. In the study of the immune status of patients with AR in 15% of patients one observed eosinophilia, increase in the average level of total immunoglobulin E, increase the relative number of CD4 CD25 Foxp3 cells MPER of reducing the amount of IL-10 and IL-4 increase.

3. In the group of patients with AR TLR2 (rs5743708):gene polymorphism prevalence was found: GG genotype was 93.3%, genotype GA-6,6%, genotype AA met. Significant differences between the groups of patients with AR with the presence of polymorphic alleles of TLR2 gene and homozygous carriers of allele G in terms of CD4 (U (n = 42; n = 3) = 12,00; p = 0,020) were revealed.

4. In the group of patients with AR TLR 4 (Asp299Gly): gene polymorphism prevalence AA genotype was 92.3%, genotype AG-7,7%, genotype GG was found. Significant differences between the frequencies of genotypes in the control group and patients with AR (p = 0.03) were revealed. In patients with AR allele G carriers for polymorphism 896A / G TLR4 gene atopic lesions concomitant asthma (p = 0.0003), concomitant AD (0.0031) and asthma in combination with AD (p = 0.0005) were revealed..

5. Prevalence gene polymorphism rs420297 «Galectin»-10 among persons living in Poltava Oblast is the SS-76%; ST-22%; TT-2%. Revealed significant differences between the frequencies of genotypes in the control group and patients with AR (p = 0.04) gene polymorphism rs420297 CLC-10 was significantly more common in the group of patients with RA. Revealed significant differences in frequency of T allele CLC-10 in the group of patients with AR-30%, compared with the control group-13% ($\chi 2 = 6,42$; p = 0.011). The development and course of allergic rhinitis is associated with a gene polymorphism rs420297 CLC-10 (significantly more often in patients with AR mutant allele CLC-10 showed year-round shape AR (p = 0.0001)).

6. The significant association between the presence of polymorphic alleles of the gene CLC-10 levels and CD4 (p = 0,014), CD4 CD25 (p = 0,012), the group of homozygous carriers of polymorphic alleles T and C alleles of the gene CLC-10 were observed; significant association between the presence of polymorphic alleles of the gene CLC-10 levels and CD4 CD25 Foxp3 (p=0,037), CD4 (p = 0,014) were determined. It has bee established that persons who are polymorphic allele of the gene CLC-10 have significantly higher levels of IgE (p = 0.013) and IL-4 (p = 0.004) and lower levels of IL10 (p = 0.038).

References.

1. Van Cauwenberge P.B., Ciprandi G., Vermeiren J.S.J. Epidemiology of Allergic Rhinitis. - The UCB Institute of allegy, 2001. – 27p
2. Metodi klinichnich ta eksperimental'nich doslidzhen' v medizini / [Berkalo L.V., Bobovich O.V., Bobrova N.O. [ta in.]; pid red. prof. Kaydasheva I.P. – Poltava : Polimet, 2003. – 320 s.
3. Izmaylova O.V. Zv'yazok polimorfizmiv geniv TLR2 ta TLR4 zi schil'nistyu do okremich urogenital'nich infekziy./ O.V. Izmaylova, O.A. Shlikova, N.O. Bobrova [ta in.].// Zitologiya i genetika-2011.- № 4. –S. 29-35.
4. Rebrova O.Yu. Statisticheskiy analiz medizinskich dannych. Primenenie paketa prikladnych programm STATISTICA / O.Yu.Rebrova – M.: MediaSfera, 2002.- 312s.
5. Brozek J.L., Baena-Cagnani C.E, Bonini S. et al. Methodology for development the Allergic Rhinitis and its Impact of Asthma Guideline 2008 update // Allergy.- 2008.- Vol.63(1).- P.38-46
6. Drannik G.N. Klinicheskaya immunologiya i allerogologiya / Georgiy Nikolaevch Drannik. – K.: OOO «Poligraf plyus», 2010. – 552 s.
7. Ochotnikova E.N. Allergicheskiy «marsh»: svyaz' pokoleniy i eskalaziya allergii u detey (lekziya) // Sovremen. pediatriya. - 2008. - №4(21). - S.190-197
8. Titova N.D. Znachenie vrozhdyennoy sistemy immuniteta v vozniknovenii allergicheskich zabolevaniy.// Immunologiya, alergologiya, infektologiya.-2009-(3).- S.32-39
9. Lityvakova L.I., Baraniuk J.N. Nasal provocation testing: a reviw. Ann. Allergy Asthma Immunol. – 2001.- Vol. 86.- P. 355-364.
10. Norma v medizinskoy praktike: Spravochnoe posobie / Sostavit. A.V. Litvinov. – M.: MEDpress-inform, 2007. – 144 s.
11. Kaidashev I.P. The allergen-specific IgE reactivity pattern of Ukrainian allergic patients // Problemi ekologii ta medicini. -2009.- №2-3.- S.8-14
12. Bellinghausen I., Klostermann B., Knop J., Saloga J. HumanCD4$^+$CD25$^+$ T cells derived from the majority of atopic donors are able to suppress Thl and Th2 cytokine production. J. Allergy Clin. Immunol.- 2003- Vol. 111.-P. 862-868
13. Freydin M.B., Bragina E.Yu., Ogorodova L.M., Pu-zyrev V.P. Polimorfizm genov glutationtransferaz ql i ml (GSTT1 i GSTM1) u bol'nych atopncheskoy bron-chial'noy astmoy v Zapadno-Sibirskom regione // Mo-lekulyarnaya biologiya. - 2002. - T.36.,№ 4. - S.630-634.
14. Han D., She W., Zhang L. Association of the CD 14 gene polymorphism C-159 T with allergic rhinitis// Am I Phinol Allergy. – 2010. – 24 (1). – P.1-3
15. Kuzenko, N. L. Polimorfizm Toll-podobnogo rezeptora 2Arg753Gln svyazan s povyshennym urovnem sinteza spezificheskich immunoglobulinov E u bol'nych allergicheskimi zabolevaniyami / N.L. Kuzenko, O. V. Izmaylova, L. E. Vesnina // Allergologiya i immunolo-giya. – 2011. –T.12, №3. – S. 233 – 236.
16. I Dávila, J Mullol, M Ferrer, J Bartra, A del Cuvillo, J Montoro, I Jáuregui, J Sastre, A Valero; Genetic Aspects of Allergic Rhinitis //J Investig Allergol Clin Immunol.-2009,- Vol. 19, Suppl. 1.P. 25-31
17. Presymptomatic differences in Toll-like receptor function in infants who have allergy / S.L. Prescott, P. Noakes, B.W.Y. Chow [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2008. – V. 122, № 2. – P. 391–399
18. Human CD4$^+$ CD25$^+$ regulatory T cells: proteome analysis identifies galectin -10 as a novel marker essential for their anergi and suppressive function//Kubach I.,Lutter P., Bopp T.[et al.] //Blood.- 2007.-Vol110(5).-P.1550-1558

Матеріал надійшов до редакції 10.09.2014

© Станіславчук Л.М.
УДК: 616.23:616.22-002-053.2(477.44)

ПОШИРЕНІСТЬ СТЕНОЗУЮЧОГО ЛАРИНГОТРАХЕЇТУ У ДІТЕЙ М. ВІННИЦІ, ВІКОВІ ТА ГЕНДЕРНІ ОСОБЛИВОСТІ*

Станіславчук Л.М.

Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова

Цель работы. Изучить распространенность СЛТ у детей г. Винницы за период 1995-2008 гг., возрастные и гендерные особенности. Материалы и методы. Проведен анализ распространенности СЛТ у детей в возрасте до 14 лет включительно в г. Виннице за период 1995-2008 гг. по данным обращения за медицинской помощью. Изучена возрастная структура и частота СЛТ в зависимости от пола. Результаты. В течение 14 лет было зарегистрировано 4914 случаев СЛТ у детей. В процессе наблюдения выявлено как периоды спада частоты заболевания (1996, 1998, 1999 и 2002 года), так и более длительные периоды роста (1997, 2000, 2001, 2003, 2005, 2006, 2007 и 2008 года). Средняя частота заболевания за весь период наблюдения составила 62,8 случая на 10 тыс. детского населения. По сравнению с 1995 годом частота СЛТ в 2008 году выросла в 1,67 раза (с 57,8 до 96,6 на 10 тыс. детского населения). Частота СЛТ у детей первых четырех лет жизни была выше, чем в среднем в популяции: у детей до 1 года-в 2,3 раза, от 1 до 2 лет-в 4,7 раза, от 2 до 3 лет-в 3,9 раза и от 3 до 4 лет – в 2,5 раза. На первые четыре года жизни пришлось 70,9% случаев СЛТ, с пиком на втором году жизни. Среди больных преобладали мальчики, их в среднем было в 2,2 раза больше чем девочек.

Ключевые слова: распространённость стенозирующего ларинготрахеита, возрастная структура, гендерная структура.

Стенозуючий ларинготрахеїт (СЛТ) – синдром, який виникає в результаті обструкції верхніх дихальних шляхів і характеризується раптовим початком, сиплим голосом, гавкаючим кашлем і стенотичним диханням. Серед респіраторних захворювань, з приводу яких діти надходять до відділення невідкладної терапії, до 15% випадків припадає на СЛТ [2]. Щороку від 3% до 8% дітей переносить СЛТ. Переважно це діти дошкільного віку, частіше від 6 місяців до 3 років [1,4,9]. Ризик захворювання найвищий на другому році життя. Починаючи зі шкільного віку він швидко зменшується [6]. Іноді випадки СЛТ спостерігаються у підлітків і рідко – у дорослих [8]. Хлопчики хворіють у 2-2,5 рази частіше, ніж дівчатка відповідного віку [1,3,5-7].

Мета роботи. Вивчити поширеність СЛТ у дітей м. Вінниці за період 1995-2008 рр., його вікові та гендерні особливості.

Матеріали і методи дослідження.

Проведено аналіз випадків СЛТ у дітей віком до 14 років включно в м. Вінниці за період 1995-2008 рр. за даними станції швидкої медичної допомоги та обласної клінічної дитячої інфекційної лікарні. Вивчали поширеність СЛТ, його вікову структуру та частоту в залежності від статі. При проведенні статистичного аналізу використовувався пакет прикладних програм Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). При порівнянні категоризованих величин у таблицях співпряженості використано метод хі-квадрат Пірсона (Chi-square test), а у чотирипільних таблицях співпряженості – точний критерій Фішера (Fisher exact).

Результати досліджень та їх обговорення.

Протягом 14 років було зареєстровано 4914 випадків СЛТ. Максимальна кількість випадків спостерігалась у 2008 році (480), мінімальна – у 2002 році (263). Найбільша кількість випадків захворювання була у дітей віком від 1 до 2 років (24,4% від загальної кількості випадків) та від 2 до 3 років (20,5%). Дещо менше випадків зареєстровано у дітей від 3 до 4 років (13,4%) та у дітей першого року життя (12,6%). Вцілому на перші чотири роки життя припало 70,9% випадків СЛТ у дітей (Рис.1).

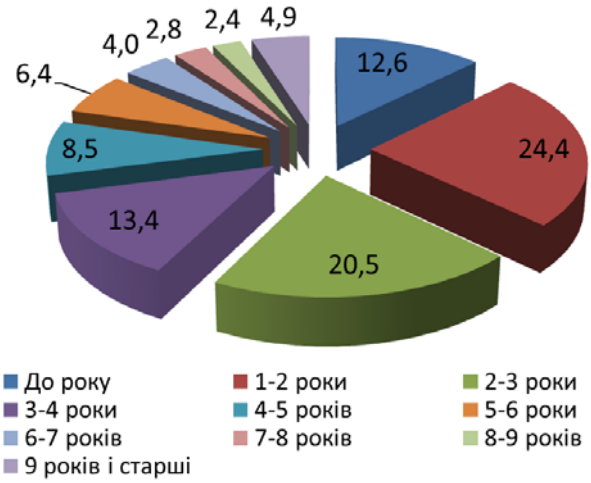


Рис. 1. Вікова структура СЛТ у дітей м. Вінниці, за період 1995-2008 рр, (% від загальної кількості випадків захворювання)

В процесі спостереження виявлено як періоди спаду частоти захворювання (1996, 1998, 1999 та 2002 роки), так і більш тривалі періоди зростання (1997, 2000, 2001, 2003, 2005, 2006, 2007 та 2008 роки), які і визначили загальну тенденцію до зростання частоти СЛТ (Рис. 2).

* Цитування при атестації кадрів: *Станіславчук Л.М.. Поширеність стенозуючого ларинготрахеїту у дітей м. Вінниці, вікові та гендерні особливості* // Проблеми екології і медицини. – 2014. – Т. 18, № 3-4. – С. 44 –46.

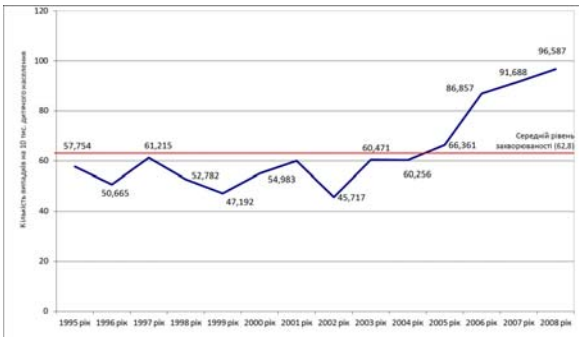


Рис. 2. Динаміка щорічної частоти СЛТ у дітей м. Вінниці, за період 1995-2008 рр, (кількість випадків на 10 тис. дитячого населення).

Середня частота захворювання за весь період склала 62,8 випадків на 10 тис. дитячого населення, з коливаннями від 45,7 – у 2002 році до 96,6-у 2008. Порівняно з 1995 роком частота СЛТ у 2008 році зросла в 1,67 раза (з 57,8 до 96,6 на 10 тис. дитячого населення).

Що стосується вікових особливостей (Рис. 3), то найвищою частота СЛТ була у дітей віком від 1 до 2 років (291,0) і залишалась високою у віковій групі від 2 до 3 років (242,5). Дещо меншою вона була у дітей віком від 3 до 4 років (159,0) та дітей першого року життя (144,9). Отже, частота СЛТ у дітей перших чотирьох років життя була вищою, ніж в середньому в популяції: у дітей до 1 року – в 2,3 раза, від 1 до 2 років – у 4,7 раза, від 2 до 3 років – у 3,9 раза і від 3 до 4 років – у 2,5 раза. Починаючи з шестирічного віку частота захворювання стає меншою. ніж в середньому в дитячій популяції і в подальшому продовжує зменшуватись.

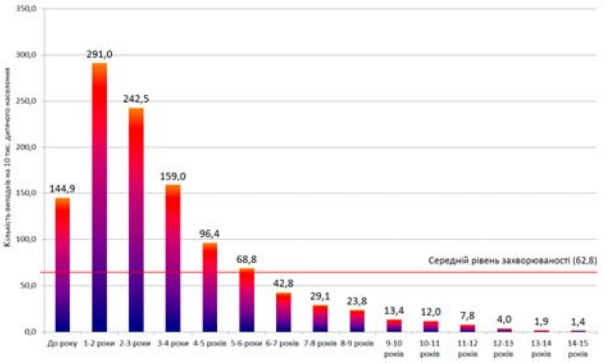


Рис. 3. Середня частота СЛТ у дітей різних вікових груп м. Вінниці за період 1995-2008 рр, (кількість випадків на 10 тис. дитячого населення).

Періоди максимальної та мінімальної частоти СЛТ за період спостереження у вікових групах до 6 років не збігались, а у дітей шкільного віку внаслідок незначної частоти захворювання істотних підйомів та спадів не спостерігалось.

Серед хворих переважали хлопчики, в цілому їх було у 2,2 рази більше, ніж дівчаток (Табл.).

Таблиця

Вікова та гендерна структура СЛТ у дітей м. Вінниці, 1995-2008 рр.

	Стать						Співвідношення хлопчики/дівчатка
	Чоловіча		Жіноча		Всього		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
До року	428	12,7	193	12,4	621	12,6	2,2
1-2 роки	799	23,8	400	25,7	1199	24,4	2,0
2-3 роки	689	20,5	320	20,6	1009	20,5	2,2
3-4 роки	436	13,0	221	14,2	657	13,4	2,0
4-5 років	285	8,5	131	8,4	416	8,5	2,2
5-6 роки	221	6,6	92	5,9	313	6,4	2,4
6-7 років	134	4,0	64	4,1	198	4,0	2,1
7-8 років	106	3,2	33	2,1	139	2,8	3,2
8-9 років	92	2,7	28	1,8	120	2,4	3,3
9-10 років	51	1,5	22	1,4	73	1,5	2,3
10-11 років	51	1,5	20	1,3	71	1,4	2,6
11-12 років	31	0,9	18	1,2	49	1,0	1,7
12-13 років	19	0,6	7	0,4	26	0,5	2,7
13-14 років	9	0,3	4	0,3	13	0,3	2,3
14-15 років	7	0,2	3	0,2	10	0,2	2,3
Всього	3358	100,0	1556	100,0	4914	100,0	2,2

Спостерігались коливання цього показника в різних вікових групах від 1,7 (вікова група від 11 до 12 років) до 3,3 (вікова група від 8 до 9 років) без будь-яких чітких закономірностей.

Висновки.

1. Частота СЛТ у дітей м. Вінниці за період 1995-2008 рр. становить 62,8 випадка на 10 тис. дитячого населення, з коливаннями від 45,7 у 2002 році до 96,6-у 2008 зі стійкою тенденцією до зростання в останні 5 років спостереження.

2. Переважна кількість випадків СЛТ припадає на дітей перших чотирьох років життя з піком частоти випадків на другому році життя.

3. У всіх вікових групах СЛТ частіше спостерігається у хлопчиків, ніж у дівчаток.

Перспективою подальшого дослідження може стати вивчення частоти СЛТ у дітей на територіях з різним рівнем техногенного забруднення атмосферного повітря.

Література

1. Мітін Ю.В. Гострий стенозуючий ларинготрахеобронхіт у дітей / Ю.В. Мітін // Журнал практичного лікаря.-2000.-№ 6. – С. 2-4.
2. Cherry J.D. Clinical practice. Croup / J.D. Cherry // N Engl J Med.-2008.-Vol. 358, № 4. – P. 384–391.
3. Croup: an 11-year study in a pediatric practice / F.W. Denny, T.F. Murphy, W.A. Jr. Clyde, [et al.] // Pediatrics.-1983. – Vol. 71, № 6. – P. 871–876.

4. Johnson D. Croup / D. Johnson // Clinical Evidence.-2009.-№ 3. – P. 321.
5. Knutson D., Aring A. Viral croup / D. Knutson, A. Aring // Am Fam Physician. – 2004.-Vol. 69, № 3. – P. 535–540.
6. Mietens C., Lütkemeyer B., Köhler S. Epidemiology and symptoms of stenosing laryngotracheitis (pseudo-croup) in 1322 inpatients in Bochum in the last 17 years / C. Mietens, B. Lütkemeyer, S. Köhler // Monatsschr Kinderheilkd. – 1984. – Vol. 132, № 9. – P. 646-653.
7. Croup Hospitalizations in Ontario: A 14-Year Time-Series Analysis / A.O. Segal, E. J. Crighton, R. Moineddin, [et al.] // Pediatrics. – 2005. – Vol. 116, № 1. – P. 51–55.
8. Sobol S.E., Zapata S. Epiglottitis and croup / S.E. Sobol, S.Zapata // Otolaryngol Clin North Am.-2008. – Vol. 41, № 3. – P. 551–566.
9. Worrall G. Croup / G. Worrall // Can Fam Physician. – 2008. – Vol. 54, № 4. – P. 573-574.

ENGLISH VERSION: PREVALENCE OF LARYNGOTRACHEITIS IN CHILDREN OF VINNYTSYA CITY, AGE AND GENDER STRUCTURE*

Stanislavchuk L.M.

Vinnytsya National Medical University n.a. M.I.Pirogov

Objective. The prevalence of laryngotracheitis (LT) in children of Vinnitsa city in 1995-2008, age and gender structure was investigated. Materials and Methods. The prevalence of LT in children under 15 years in Vinnytsya city between 1995-2008, age and gender structure was analyzed. Results. During 14 years there were registered 4914 cases of LT in children. It was established the fluctuation of croup morbidity which characterized by periods of decrease of morbidity (1996, 1998, 1999, 2002 years), and longer periods of increase of morbidity (1997, 2000, 2001, 2003, 2005, 2006, 2007, 2008 years). The average incidence rate was 62.8 cases per 10 thousand of child population. Compared with 1995, the frequency of LT in 2008 increased by 1.67 times (from 57.8 to 96.6 per 10 thousand child population). The frequency of LT in children during the first four years of life was higher than the average in the population: in infants in 2.3 times, from 1 to 2 years by 4.7 times, from 2 to 3 years by 3.9 times and in children from 3 to 4 years by 2.5 times. In the age group under 5 years there where registered 70.9% of total cases of LT with peak between ages 1 and 2 years. Since the age of six frequency of disease is less than the average in pediatric populations and subsequently continued to decline. Morbidity of boys was by 2.2 times higher than girls.

Key words: prevalence of laryngotracheitis, age structure, gender structure, children.

The study was performed as a part of planned scientific research work of Department of Paediatric Infectious Diseases of Vinnytsya National Medical University n.a. M.I.Pirogov “Modern aspects of aetiology, patomorfogenesis, clinics, diagnosis of viral infections in children. Approaches to treatment”, state registration № 0109U004521.

Laryngotracheitis (LT) is a syndrome that occurs as a result of upper airway obstruction and characterized by sudden onset, hoarse voice, barking cough and inspiratory stridor. LT accounts for approximately 15% of respiratory tract disease seen in Emergency Department in the pediatric age group [2]. LT occurs in about 6% to 8% of children annually. These are mainly pre-school children, often between the ages of 6 months and 3 years [1, 4, 9]. The highest risk of disease is in the second year of life. Since school age it decreases rapidly [6]. Sometimes there are cases of LT in adolescents and rarely-in adults [8]. Boys suffer 2-2.5 times more likely than girls of appropriate age [1,3,5-7].

Objective of the study was the prevalence of LT in children of Vinnytsya city for the period 1995-2008 years, age and gender characteristics.

Materials and methods.

The cases of SLT in children under 15 years in the Vinnytsya city, between 1995-2008, was analyzed according to the Emergency Department and Regional Clinical Hospital of Paediatric Infectious Diseases. We studied the prevalence of LT, its age and gender structure. Statistical analysis was performed by using the package Statistics 6.0 (StatSoft Inc., USA). For comparing of the categorized variables we used Pearson's chi-square test, and Fisher exact.

Results and discussion.

Within 14 years there were registered 4914 cases of LT. The maximum number of cases was observed in 2008 (480), the lowest-in 2002 (263). The highest number of cases was in children aged from 1 to 2 years (24.4% of cases) and from 2 to 3 years (20.5%). Slightly fewer cases were registered in children from 3 to 4 years (13.4%) and infants (12.6%). In general, 70.9% of total cases LT in children accounted for the age group under 5 years (Fig.1).

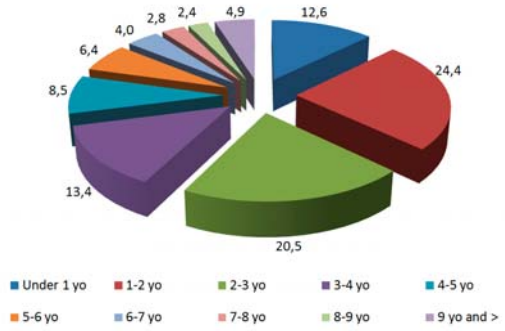


Fig.1 The age structure of LT in children of Vinnitsa city, between1995-2008, (% of total cases of LT).

During the observation there were periods of decline in the frequency of the disease (1996, 1998, 1999, 2002)

* *To cite this English version: Stanislavchuk L.M. Prevalence of laryngotracheitis in children of Vinnytsya city, age and gender structure / / Problemy ekologii ta medytsyny. - 2014. - Vol 18, № 3-4. - P. 46 -48.*

and longer periods of growth (1997, 2000, 2001, 2003, 2005, 2006, 2007 and 2008) which determined the general trend to increase the frequency of LT (Fig. 2). The average incidence for the entire period was 62.8 cases per 10 thousands of child population, with a range from 45.7 in 2002 to 96.6 in 2008. Compared to 1995 frequency of LT in 2008 increased by 1.67 times (from 57.8 to 96.6 per 10 thousands of child population).

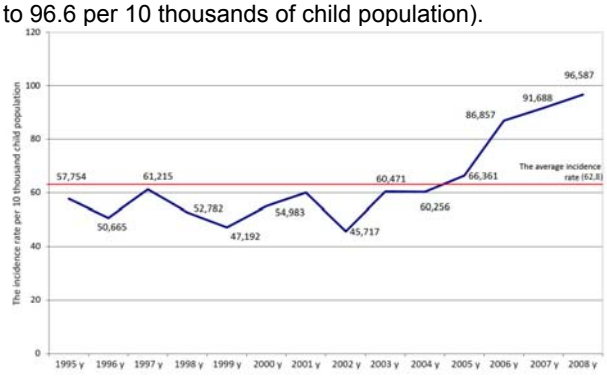


Fig.2. Dynamics of annual rate of LT in children of Vinnitsa city, 1995-2008, (number of cases per 10 thousand child population).

With regard to age structure (Fig. 3), the highest frequency of LT was in children aged from 1 to 2 years (291.0) and remained high in the age group from 2 to 3 years (242.5).

Somewhat less it was in children aged from 3 to 4 years (159.0) and in infants (144.9). The frequency of LT in children during the first four years of life was higher than the average in the population: in infants in 2.3 times, from 1 to 2 years in 4.7 times, from 2 to 3 years in 3.9 times and in children from 3 to 4 years in 2.5 times. Since the age of six frequency of disease was less than the average in paediatric population and subsequently continued to decline.

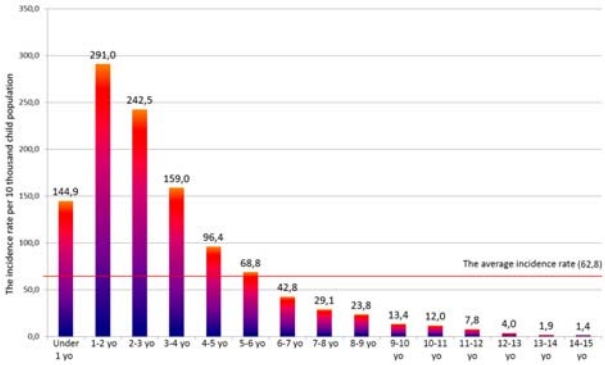


Fig.3.The average incidence rate of LT depending on the age group in children of Vinnitsa city, 1995-2008, (number of cases per 10 thousand child population).

Periods of maximum and minimum frequency of LT during the period of observation in the age groups under 6 years do not coincide, and in school-age children due to low disease frequency ups and downs were not observed.

Among the patients boys dominated– 2.2 times more than girls (Table).

Table

Age and gender structure of LT in children of Vinnitsa city in 1995-2008.

	Sex						Ratio boys /girls
	Boys		Girls		Total		
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
Under 1 yo	428	12,7	193	12,4	621	12,6	2,2
1-2 yo	799	23,8	400	25,7	1199	24,4	2,0
2-3 yo	689	20,5	320	20,6	1009	20,5	2,2
3-4 yo	436	13,0	221	14,2	657	13,4	2,0
4-5 yo	285	8,5	131	8,4	416	8,5	2,2
5-6 yo	221	6,6	92	5,9	313	6,4	2,4
6-7 yo	134	4,0	64	4,1	198	4,0	2,1
7-8 yo	106	3,2	33	2,1	139	2,8	3,2
8-9 yo	92	2,7	28	1,8	120	2,4	3,3
9-10 yo	51	1,5	22	1,4	73	1,5	2,3
10-11 yo	51	1,5	20	1,3	71	1,4	2,6
11-12 yo	31	0,9	18	1,2	49	1,0	1,7
12-13 yo	19	0,6	7	0,4	26	0,5	2,7
13-14 yo	9	0,3	4	0,3	13	0,3	2,3
14-15 yo	7	0,2	3	0,2	10	0,2	2,3
Total	3358	100,0	1556	100,0	4914	100,0	2,2

There were fluctuations in this indicator in different age groups from 1.7 (age group from 11 to 12 years) to 3.3 (age group from 8 to 9 years) without any clear patterns.

Conclusions.

1. The frequency of LT in children of Vinnytsya city for the period 1995-2008 constitutes 62.8 cases per 10 thousands of child population, with a range from 45.7 in 2002 to 96.6-in 2008 with strong upward trends in last 5 years of observation.

2. The most cases of LT are registered in children of the first four years of life with a peak of incidences in the second year of life.

3. In all age groups LT is more common in boys than in girls.

Prospects for further research could be the study of the frequency of LT in children in areas with different levels of air pollution.

References

1. Mitin Yu.V. Gostriy stenozuyuchiy laringotracheobronchit u ditey / Yu.V. Mitin // Zhurnal praktichnogo likarya.-2000.-№ 6. – S. 2-4.
2. Cherry J.D. Clinical practice. Croup / J.D. Cherry // N Engl J Med.-2008.-Vol. 358, № 4. – P. 384–391.
3. Croup: an 11-year study in a pediatric practice / F.W. Denny, T.F. Murphy, W.A. Jr. Clyde, [et al.] // Pediatrics.-1983. – Vol. 71, № 6. – P. 871–876.

4. Johnson D. Croup / D. Johnson // Clinical Evidence.-2009.-№ 3. – P. 321.
5. Knutson D., Aring A. Viral croup / D. Knutson, A. Aring // Am Fam Physician. – 2004.-Vol. 69, № 3. – P. 535–540.
6. Mietens C., Lütkemeyer B., Köhler S. Epidemiology and symptoms of stenosing laryngotracheitis (pseudo-croup) in 1322 inpatients in Bochum in the last 17 years / C. Mietens, B. Lütkemeyer, S. Köhler // Monatsschr Kinderheilkd. – 1984. – Vol. 132, № 9. – P. 646-653.
7. Croup Hospitalizations in Ontario: A 14-Year Time-Series Analysis / A.O. Segal, E. J. Crighton, R. Moineddin, [et al.] // Pediatrics. – 2005. – Vol. 116, № 1. – P. 51–55.
8. Sobol S.E., Zapata S. Epiglottitis and croup / S.E. Sobol, S.Zapata // Otolaryngol Clin North Am.-2008. – Vol. 41, № 3. – P. 551–566.
9. Worrall G. Croup / G. Worrall // Can Fam Physician. – 2008. – Vol. 54, № 4. – P. 573-574.

Матеріал надійшов до редакції 04.09.2014

СТОМАТОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ

© Шинкевич В.І.
УДК: 616-002.2+616.314.18-002.2

ХРОНІЧНИЙ ПАРОДОНТИТ ЯК ФАКТОР РИЗИКУ ІНШИХ ХРОНІЧНИХ ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ЛЮДИНИ*

Шинкевич В.І.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Понимание сущности зубного налета/биопленки и ответа на нее со стороны макроорганизма хозяина обеспечивает необходимую основу для понимания хронического пародонтита и его взаимосвязей с общими хроническими воспалительными заболеваниями человека, а также для обоснования лечения. Статья поможет читателю понять не только механизмы воздействия зубного налета при пародонтите, но и почему эффективная борьба с ним может улучшить общее здоровье, а также причины большей или меньшей индивидуальной склонности к пародонтиту за счет внутренних или системных факторов. Проанализированы основные направления лечения хронического пародонтита, среди которых снятие зубных отложений и антибиотикотерапия остаются первой линией и составляют одновременно профилактику сердечно-сосудистых заболеваний, диабета, внутрибольничных пневмоний и неблагоприятного влияния на беременность.

Ключевые слова: хронический пародонтит, системное воспаление, лечение, профилактика, пародонтопатогенная микробная биопленка, генетический дисбиоз

Хронічний пародонтит (ХП) розвивається внаслідок порушеної відповіді макроорганізму на пародонтопатогенні представники під'ясенної мікробіоти [9] і, разом із супутнім гінгівітом, становить найпоширеніше хронічне запальне захворювання у людини. Недавнє обстеження дорослого населення США показало поширеність ХП 47% серед дорослих [28]. Пародонтит має багатофакторну етіологію, у вигляді поєднання загальних генетичних варіант, які змінюють реакцію на під'ясенну мікрофлору, що веде до початку і прогресування захворювання [9]. Пародонтопатогенними наразі називають грамнегативні бактерії: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*. ХП робить внесок у посилення системного запалення за рахунок впливів бактерій, що потрапляють у тканини, гемо- та лімфоциркуляцію через пародонтальні кишені [4]. Ці бактерії активують гострофазові реакції печінки, імунні клітини, зокрема, нейтрофіли, що призводить до «оксидативного стресу». Підтверджено, що саме запальна відповідь макроорганізму «господаря» на бактерії і їх продукти викликає ці порушення. Така відповідь відбувається на низькому рівні, але триває роками й посилює загальне, системне запалення, що є основою розвитку багатьох захворювань, пов'язаних з віком [2, 13].

Європейські вчені передбачають найближчим часом зростання поширеності тяжких форм пародонтиту внаслідок збільшення населення у світі, пов'язаного з подовженням тривалості життя і зменшенні видалення зубів з 1990 по 2010 рік. Тяжкі форми пародонтиту складатимуть проблему для суспільної охорони здоров'я, а також епідеміологічний перехід до неінфекційних захворювань, що визначається вже зараз в багатьох країнах [30].

Зв'язок між хронічним пародонтитом і системними запальними захворюваннями підозрюють давно, але років 20 тому пародонтит розглядався як наслідок чи навіть прояв таких захворювань та/або станів таких як психоемоційний стрес, куріння, ІХС, вік. Сьогодні детально встановлено, що і ХП порушує загальний стан, наприклад при діабеті, або виступає фактором ризику, зокрема, атеросклерозу [2].

Докази взаємозв'язків між хронічним пародонтитом і діабетом наступні. Діабет 2-го типу розвивається на фоні системного запалення, що призводить до ослаблення функції β-клітин підшлункової залози, апоптозу і резистентності до інсуліну. Сучасні дані підтверджують посилення системного запалення (біомаркери гострої фази і оксидативного стресу), що розвивається внаслідок потрапляння мікроорганізмів і факторів вірулентності з пародонту в циркуляцію, забезпечуючи тим самим ймовірний механізм негатив-

* Цитування при атестації кадрів: *Шинкевич В.І. Хронічний пародонтит як фактор ризику інших хронічних запальних захворювань людини* // Проблеми екології і медицини. – 2014. – Т. 18, № 3-4. – С. 49 –53.

ного впливу ХП на діабет та його ускладнення. Епідеміологічні дані послідовно і надійно доводять, що важкий пародонтит негативно впливає на глікемічний контроль при цукровому діабеті та глікемію у пацієнтів без діабету. Крім того, у пацієнтів з цукровим діабетом, існує пряма кореляція між тяжкістю пародонтиту та ускладненнями діабету. Нові докази демонструють, що пацієнти з пародонтитом важкого ступеня мають підвищений ризик діабету. Дослідження по лікуванню: рандомізовані клінічні випробування чітко відображають, що пародонтальна терапія приводить до зменшенням на 0,4% HbA1C за три місяці, цей клінічний ефект еквівалентний додатковому застосуванню другого препарату у фармакотерапії діабету [14].

Докази взаємозв'язків між хронічним пародонтитом і серцево-судинними захворюваннями наступні. При ХП бактерії з пародонтальних кишень потрапляють у кровоток та активують запальну імунну відповідь за кількома механізмами. На тваринних моделях продемонстровано, що запальна реакція сприяє формуванню, визріванню і загостренню атеросклеротичних бляшок. Узгоджені епідеміологічні дані відображають, що пародонтит є ризиком для розвитку у майбутньому серцево-судинних захворювань, незалежно від інших супутніх й сприятливих факторів. Дослідження по лікуванню наводять помірні докази, що пародонтальна терапія зменшує системне запалення, що підтверджується зниженням С-реактивного білку і рівня оксидативного стресу, й призводить до поліпшення клінічних та біохімічних показників функції судинного ендотелію [4, 13].

Докази взаємозв'язків між хронічним пародонтитом та несприятливими наслідками при вагітності полягають в наступному. Пародонтопатогенні мікроорганізми, потрапляючи у кровообіг, досягають оточуючого середовища плода, де запускають запальні та імунні реакції, що впливають на фетоплацентарний блок. Ці бактерії можуть, також, потрапляти до печінки, спричиняючи продукцію прозапальних факторів, які потім потрапляють до плоду. Епідеміологія, відображена в клінічних дослідженнях: низька вага при народженні, дострокові пологи і прееклампсія були пов'язані з наявністю пародонтиту у матері (за умов врівноваження всіх інших факторів ризику). Проте, ступінь асоціативних зв'язків між ХП і несприятливими результатами вагітності коливається між дослідженнями, а деякі автори не знаходять їх взагалі. Неоднорідність даних пояснюється відмінностями в організації досліджень, різними популяціями і різними методами оцінки і класифікації захворювань пародонту. Результати клінічних досліджень показали, що, загалом, зняття зубних відкладень, що проводилися протягом другого триместру вагітності, з або без антибактеріальної терапії, дещо поліпшували несприятливі наслідки вагітності, такі як передчасні пологи і низьку вагу новонародженого. Але деякі клінічні дослідження повідомляли про значний сприятливий ефект, можливо, що у певних популяціях вагітних пародонтальна терапія справді необхідна. Причинами неузгодженості результатів різних досліджень може бути те, що взаємозв'язки між пародонтитом і наслідками вагітності є більш складними, ніж сучасне розуміння, також на результати дослідження могли впливати тип та час лікування й способи відбору пацієнтів.

Пародонтит та інші захворювання. Існують припущення про зв'язок між захворюваннями пародонту і хронічними обструктивними захворюваннями дихальних шляхів, хронічними захворюваннями нирок, ревматоїдним артритом, когнітивними порушеннями, ожирінням, метаболічним синдромом і деякими видами раку. На сьогоднішній день ґрунтовно доведено, що мікроорганізми біоплівки пародонтальних кишень здатні викликати внутрішньолікарняну пневмонію у пацієнтів, які перебувають на штучній вентиляції легень. Докази полягають у тому, що виявлені респіраторні патогени мають походження з ротової/пародонтальної біоплівки, які могли бути аспіровані пацієнтами з певними ризиками в умовах стаціонару, що призводить до внутрішньолікарняної пневмонії. Епідеміологічні дані підтримують роль ротової/пародонтальної біоплівки, яка становить резервуар респіраторних патогенів у пацієнтів з поганою гігієною порожнини рота та ХП. Дослідження режимів лікування (контрольовані рандомізовані випробування) відображають чітку роль гігієни порожнини рота у попередженні внутрішньолікарняної пневмонії у стаціонарних хворих [13].

Спільні запально-деструктивні механізми для хронічного пародонтиту і системних запальних захворювань можуть бути опосередковані матриксними металопротеїназами (ММП), сериновими протеїназами ПМЯЛ-походження, плазміногеном, фагоцитарним механізмом, механізмами RANKL-активації остеобластів [31], NFκB [2] та ін. Так, клінічно-значимими є поліморфізм 5A(-1612)6A) гену ММП-3, поліморфізм C(-799)T гену ММП-8 та поліморфізм C(-1562)T гену ММП-9, які зустрічаються достовірно частіше і серед хворих на серцево-судинні захворювання, і на ревматоїдний артрит, і на ХП [8]. Певні поліморфізми гену ІЛ-1 пов'язують одночасно з пародонтитом і діабетом [10].

Інші зв'язки ХП із системними запальними захворюваннями підозрюють на основі даних про вивчення мікробних біоплівок людини і відповідей макроорганізму на них ще до їх проникнення крізь бар'єрні тканини – слизові та шкірні покриви, тобто це локальна колонізація, селекція та накопичення певних видів бактерій [26].

Досить давно визнано, що людина є, так званим, «супра-організмом» [32] і 90% клітин нашого організму – це бактеріальні клітини, які вважаються нормальною мікрофлорою. Наприклад, в кишечнику мікробіом у 150 разів перевершує власний геном людини. Зазвичай, поняття «мікробні хвороби» включає в себе інфекції, такі як віспа, туберкульоз або ВІЛ, викликані певним патогенним вірулентним мікроорганізмом, і, як правило, передаються від людини до людини. Деякі мікроорганізми чи їх штами можуть викликати більш ніж одне захворювання (наприклад кишкова паличка, що викликає інфекцію шлунково-кишкового такту, сечових шляхів, а також менінгіт). Проте, деякі бактерії, їх L-форми, віруси і т.д. можуть спричиняти одне й те саме захворювання у чутливих осіб, наприклад, ревматоїдний артрит [12].

Нещодавно визначено групу станів, що розвиваються, ймовірно, в результаті дисбіозу, або, альтернативно характеризуючи, в результаті нерозпізнання чи порушеної відповіді на нормальну мікрофлору, серед них: запальне захворювання кишечника, псоріаз, бактеріальний вагіноз і запальні захворювання пародонту (ЗЗП). Ці чотири хвороби, як припускають, мають спільні риси з боку їх епідеміології, патогенезу, генетики і мікробіологічних знахідок [19]. Загальною рисою цих захворювань є те, що вони не звичайні ін-

фекції, викликані окремими видами бактерій, але є результатом дисбіозу, тобто зміни нормальної мікрофлори, або нерозпізнання нормальної мікрофлори в різних середовищах організму. Можливо припустити, що призводять до цих захворювань або генетичні дефекти у системі розпізнавання та шляхах реагування на патогенні мікроорганізми, або змінена мікробна колонізація, або нездатність розпізнати нормальну мікрофлору. Для визначення цих механізмів і застосовують термін «генетичний дисбіоз», що лежить в основі концепції інфектогеноміки [25], яка наразі розглядає два різних шляхи: розпізнавання бактерій і проліферація бактерій.

Бактеріальне розпізнавання. Ссавці мають широкий спектр рецепторів розпізнавання паттернів (pattern-recognition receptors, PRR), які розпізнають еволюційно-консервативні компоненти мікроорганізмів, так звані патоген-асоційовані молекулярні шаблони або паттерни (pathogen-associated molecular patterns, PAMP). До них відносяться Toll-подібні рецептори (TLR), NOD-подібні рецептори, RIG-I-подібні рецептори, С-тип-лектин-подібні рецептори, рецептори-«сміттяри», або скавенджер-рецептори, вроджені ДНК-рецепторні протеїни звані AIM2-подібними рецепторами, компоненти комплементу і пептидоглікан-розпізнавальні протеїни. Окрім цих білків, які, головним чином, пов'язані з клітинами, існує також цілий ряд розчинних PRR; коллектини, фіколіни, пентраксини, галектини, CD14 і натуральний IgM. Кожна родина цих білків складається ще з кількох членів. Численні PRR додатково взаємодіють з різними допоміжними білками, забезпечуючи селективну клітинну сигналізацію, що відбувається при зв'язуванні PRR з мікроорганізмами (чи їх компонентами), і в результаті клітина генерує про- та/або протизапальні протеїни, наприклад, цитокіни.

Мутації промоторних регіонів і кодуючих сегментів окремих генів PRR можуть призводити як до порушення експресії цих рецепторів, так і до зміни їх здатності розпізнавати відповідні мікробні компоненти. Також, зміни у взаємодії PRR і обов'язкових допоміжних білків можуть бути фактором порушення процесу рецепторного зв'язування/розпізнавання. Накопичено дані про вплив генів необхідних для мікробного розпізнавання на присутність певних мікроорганізмів у пародонтальній [17] і вагінальній біоплівках [18, 29]. Особливості експресії та сигналізації від TLR слизової оболонки порожнини рота є важливим для розуміння схильності до інфекцій й розвитку захворювань, зокрема, поліморфізми генів, які кодують рецептори TLR2 та TLR4 можуть зумовлювати схильність до інфекції певними мікроорганізмами [7]. За цих умов, припускають, що генетичні чинники, які детермінують аномальний епітеліальний бар'єр (через дефекти в PRR і вроджених імунних сигнальних шляхах) можуть викликати зміни мікробного складу і ініціювати запальний каскад, призводячи до хронічних захворювань і навіть раку [24].

Бактеріальна проліферація. Так само як і процеси бактеріального розпізнавання, загальні генетичні варіанти людини, очевидно, будуть відповідати за створення сприятливого середовища для росту конкретних патогенних бактерій у біоплівках. Наприклад, припускається, що генетичні варіанти, що сприяють надмірній запальній відповіді створюють сприятливе середовище для селективного росту конкретних бактерій у біоплівках, які, внаслідок особливостей метаболізму, добре ростуть в таких умовах. Результати досліджень при пародонтиті підтверджують, що поліморфні гени цитокінів пов'язані із селективним і переважним ростом певних видів мікроорганізмів у під'ясенній біоплівці [17]. Аналогічно до пародонтиту, при інших захворюваннях людини може відбуватися посилення росту певних представників біоплівки у мікросередовищі більшого чи меншого запалення. Не виключено, що мутації в імунорегуляторних генах, або генах, які беруть участь у прозапальних каскадах, можуть призводити до нестримного запалення в кишечнику, а також, що запалення може впливати на склад мікрофлори, спотворюючи його на користь патологічних мікроорганізмів. Однак, остаточно не з'ясовано, що є первинним: запальна дерегуляція чи мікробний зсув.

Генетичний дисбіоз при хронічному пародонтиті. Останнім часом показано, що конкретні генетичні варіанти, що порушують запальну реакцію (наприклад, гени ІЛ-1 і ІЛ-6), пов'язані з періодонтопатогенними бактеріями (наприклад, A.actinomycetemcomitans і P.gingivalis) у складі під'ясенної бляшки [19]. Це може слугувати обґрунтуванням можливості розвитку дисбіозу за рахунок більш патогенної мікрофлори (у тому числі патогенних бактерій, які добре ростуть в запалених середовищах), можливо за рахунок специфічних генетичних варіант господаря [27].

Отже, концепція інфектогеноміки може відображати генетичну зумовленість макроорганізму визначати склад мікробної біоплівки. Згідно традиційному умовному поділу імунітету на ланки вродженого та адаптивного, можливо аналогічно розглянути і механізми господаря із контролю біоплівки. Рецепторний вроджений апарат розпізнавання і реагування на склад мікроорганізмів представлений численними родинами PRR та вже згаданий вище. А от порушення специфічної імунної відповіді на пародонтопатогенні бактерії у складі біоплівки також привносить у деструкцію тканин при пародонтиті: чутливість макроорганізму до пародонтопатогенної мікрофлори близько 50% зумовлена генетичними особливостями адаптивних імунних механізмів [15, 33]. Генетичні особливості клітинно-опосередкованої імунної відповіді тісно пов'язані з розвитком ХП [16, 23]. Поліморфізми, які призводять до зниження рівнів антитіло-опосередкованої відповіді, зокрема на *Porphyromonas gingivalis*, також пов'язані з більш тяжкими формами ХП [11]. Очевидно, охарактеризовані механізми «чутливості» макроорганізму до пародонтопатогеної мікрофлори у складі біоплівки також беруть участь у забезпеченні її селекції і колонізації, навіть не залежно від вірулентності.

Отже, генетичний дисбіоз розглядається провідними українськими науковцями [2] як механізм, що пов'язує захворювання, які залучають кілька бар'єрних поверхонь, та/або слизових оболонок. Так, поєднання деяких захворювань ШКТ й хронічного катарального гінгівіту раніше пояснювали дисбіозом кишечника [5]. Якщо розглядати дисбіоз як генетично зумовлений, то роль мікробної біоплівки буде дещо вторинна, й зрозумілим стає відносна ефективність пробіотикотерапії [1].

З практичної точки зору, відомості про складні взаємозв'язки, безперервні патогенетичні кола при системних хронічних запальних захворюваннях і ЗЗП можуть призвести до пародоксального висновку про приреченість до захворювання, але це не зовсім вір-

но. Основний висновок – це необхідність постійного підтримуючого та комплексного лікування ЗЗП. Лікування і профілактика ЗЗП становить одночасно і профілактику системних запальних захворювань. Системні запальні захворювання, а також ВІЛ та фактори: паління, стрес, прийом певних медикаментів, можуть впливати на перебіг будь-якої форми хронічного пародонтиту, внаслідок неспецифічного взаємозв'язку з ними. На контраст до захворювань, проявом яких є пародонтит: синдроми Дауна, Папільона-Лефевра, дефіциту лейкоцитарної адгезії, гематологічні розлади, гіпофосфатазія та ін. [22].

Європейська федерація пародонтології (European Federation of Periodontology, EFP) нещодавно звернулася до всіх стоматологічних та медичних працівників із закликом до направлення діяльності за формулою «Здоров'я пародонту для кращого життя», що обґрунтовано доведеними зв'язками між ХП і серцево-судинними захворюваннями, діабетом, несприятливими наслідками при вагітності [13]. Маніфест передбачає фундаментальні зміни ролі стоматолога і закликає упорядковано діяти в напрямку профілактики, ранньої діагностики та ефективного лікування запальних захворювань пародонту з метою подолання шкідливих стоматологічних і загальних впливів на здоров'я людини і суспільство вцілому. Стоматологи мають впроваджувати зміни стилю життя своїх пацієнтів зі зменшення паління та зайвої ваги, пропагувати здорове харчування і фізичні вправи. Таким чином, обізнаний у даній сфері стоматолог має повною мірою брати участь в профілактичній медицині і користуватися підтримкою медичних колег інших спеціальностей в найкращих інтересах громадської охорони здоров'я. Основна доказова база, подана вище, широко відома, але використовуються, переважно, для внутрішнього користування між колегами.

Розвиваються способи терапії ХП, що модулюють відповідь макроорганізму господаря або, як передбачається, блокують механізми, відповідальні за руйнування пародонтальних тканин. Розроблені новітні препарати (бортезоміб, інфліксімаб, етанерцепт, вазоактивний кишковий пептид, інгібітори оксид синтази та деносумаб) є результатом нашого кращого розуміння патогенезу запальної деструкції, і за ними, можливо, майбутнє пародонтології [20]. Однак, складність та багатокомпонентність порушень імунних процесів при пародонтиті у locus morbid свідчить про те, що навряд чи цитокінотерапія або терапевтична імунорегуляція стануть рутиною пародонтологічного лікування найближчим часом. Очевидно, що чисельність мікробної біоплівки і пародонтопатогенів у її складі сьогодні ми реально можемо контролювати лише за допомогою антибіотиків (якщо йдеться про проникли мікроорганізми) [6] та механічним і антисептичним усуненням мікробних зубних відкладень (деконтомінація [3]) при пародонтологічній терапії.

Певна проблема постає, коли ми розуміємо, що більшість стоматологів є загально практикуючими спеціалістами, але не фахівцями-пародонтологами. Тож необхідно зауважити, що найскладніша та найгеніальніша ортопедична конструкція, реставрація чи ортодонтичні зусилля не будуть мати належного успіху без пародонтологічного підтримуючого лікування.

Майбутні стратегії лікування запальних захворювань пародонту направлені на поліпшення здатності господаря запобігати колонізації та усунути певні види мікроорганізмів. Оцінка зубного нальоту/біоплівки і відповіді на неї забезпечує необхідну основу для розуміння процесу захворювання та обґрунтування лікування. Ця інформація допоможе читачеві зрозуміти не тільки шляхи впливу зубного нальоту на тканини порожнини рота, але і чому звичайна ефективна очистка може поліпшити здоров'я ясен і чому певні особи мають більшу схильність до ХП, ніж інші за рахунок внутрішніх або системних факторів [21].

Висновки. Необхідне постійне, з певною періодичністю, пародонтологічне лікування ХП та інших ЗЗП - підхід, який одночасно становить профілактику системних запальних захворювань.

Контроль мікробної біоплівки при ХП сьогодні можливий, очевидно, лише завдяки системній антибіотикотерапії.

Література

1. Застосування препаратів «Лісобакт» та «Лацидофіл®-WM» може підвищувати ефективність комплексного лікування хронічного катарального гінгівіту I-II ступеня тяжкості в дітей віком 12-15 років / П.М. Скрипников, Т.В. Поліщук, О.А. Шликова, В.І. Шинкевич // Український стоматологічний альманах. - 2012. - №5.- С.91-98.
2. Кайдашев И.П. Роль NFκB в функционировании отдельных тканей, развитии и синтропии заболеваний основных систем организма / И.П. Кайдашев // Журнал НАМН України.-2012.-Т.18, № 2145.-С.186-198.
3. Мазур И.П. Клиническая и микробиологическая эффективность применения местных противомикробных и антисептических препаратов при лечении заболеваний пародонта / И.П. Мазур, Н.А. Бакшутова, Д.М. Ставская // Современная стоматология.-2014.- Т. 70, №1-С.20-26.
4. Мамонтова Т.В. Микрофлора ротовой полости как фактор развития заболеваний сердечно-сосудистой системы / Т.В. Мамонтова, Л.Э. Веснина, И.П. Кайдашев // Український медичний часопис.-2014.- Т. 102., №4 -С.1-8.
5. Поліщук Т.В. Діагностика дисбіозу при хронічному катаральному гінгівіті методом мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції з реєстрацією даних в реальному часі / Т.В. Поліщук, П.М. Скрипников, І.П. Кайдашев // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії.-2012.- Т.2, № 37-38,-Вип. 1-2.-С. 57-61.
6. Скрипников П.М. Концентрація аланін- та аспартатамінотрансфераз у пародонтальних кишенях як маркер активності запалення при консервативному лікуванні хронічного генералізованого пародонтиту із застосуванням азитроміцину / Скрипников П.М., Непокупна-Слободянюк Т.С., Шинкевич В.І. // Проблеми екології та медицини.-2013.- Т.17, №5-6, - С.46-55.
7. Шинкевич В.І. Роль Toll-рецепторів у патогенезі захворювань слизової оболонки порожнини рота / В.І. Шинкевич, І.П. Кайдашев // Проблеми екології та медицини.-2010.- Т.14, №3-4.-С.12-16.
8. Шинкевич В.І. Роль поліморфізмів матриксних металопротеїназ при системних хронічних запальних захворюваннях і хронічному пародонтиті / В.І. Шинкевич // Проблеми екології та медицини.-2013.- Т.17, №1-2. - С.26-35
9. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions / R.C. Page, S. Offenbacher, H.E. Schroeder [et al.] // Periodontology.-2000.-Vol.14.-P.216-248.
10. Association between interleukin-1 genotype and periodontal disease in a diabetic population / S. Guzman, M. Karima, H.Y. Wang, T.E. Van Dyke // J Periodontol.-2003.-Vol.74.-P.1183-1190.
11. Association of the FcγRIIB-nt645+25A/G polymorphism with the expression level of the FcγRIIb receptor, the antibody response to Porphyromonas gingivalis and the severity of periodontitis / N. Sugita, R. Iwanaga, T. Kobayashi, H. Yoshie // J Periodontal Res.-2012.-Vol.47, N 1.-P.105-113.
12. Benedek T.G. The history of bacteriologic concepts of rheumatic fever and rheumatoid arthritis / T.G. Benedek // Semin Arthritis Rheum.-2006.-Vol.36.-P.109-123.

13. Chapple I.L.C. Manifesto for a paradigm shift: periodontal health for a better life / I.L.C. Chapple, N.H.F. Wilson // British Dental Journal.-2014.-N 216.-P.159-162.
14. Effects of periodontal non-surgical therapy plus azithromycin on glycemic control in patients with diabetes: a randomized clinical trial [Електронний ресурс] / Botero JE, Yepes FL, Ochoa SP, et al. // J Periodontal Res.-2013.-Vol. 27.-Doi: 10.1111/jre.12058
15. Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis / B.S. Michalowicz, S.R. Diehl, J.C. Gunsolley [et al.] // J Clin Periodontol.-2000.-Vol.71.-P.1699-1707.
16. Exploring the genetic basis of chronic periodontitis: a genome-wide association study / K. Divaris, K.L. Monda, K.E. North [et al.] // Hum Mol Genet.-2013.-Vol.22, N 11.-P.2312-2324.
17. Gene polymorphisms and the prevalence of key periodontal pathogens / L. Nibali, D.R. Ready, M. Parkar [et al.] // J Dent Res.-2007.-Vol.86.-P.416-420.
18. Gene polymorphisms of toll-like and related recognition receptors relation to the vaginal carriage of Gardnerella vaginalis and Atopobium vaginae / H. Verstraelen, R. Verhelst, L. Nuytinck [et al.] // J Reprod Immunol.-2009.-Vol.79.-P.163-173.
19. Genetic dysbiosis: the role of microbial insults in chronic inflammatory diseases / L. Nibali, B. Henderson, S.T. Sadiq, N. Donos // J Oral Microbiol.-2014.-Doi: 10.3402/jom.v6.22962.
20. Gokhale S.R. Future prospects of systemic host modulatory agents in periodontal therapy / S. R. Gokhale, A.M. Padhye // British Dental Journal. - 2013. - Vol. 214. - P. 467-471. www.nature.com/bdj/journal/v214/n9/full/sj.bdj.2013.432.html WT.mc_id=EMI_BDJ_1410_Perio1 - a2
21. Hasan A. A clinical guide to periodontology: Pathology of periodontal disease /A. Hasan, R. M. Palmer // British Dental Journal.-2014.-Vol. 216.-P. 457-461.
22. Highfield J. Diagnosis and classification of periodontal disease / J. Highfield // Aust Dent J.-2009.-Vol.54.- Suppl 1.-P.S11-S26.
23. Influence of cytotoxic T lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) gene polymorphisms in periodontitis / Houshmand B, Rafiei A, Hajilooi M. // Arch Oral Biol.-2012.-Vol.57, N 9.-P.1218-1224.
24. Karin M. Innate immunity gone awry: linking microbial infections to chronic inflammation and cancer / M. Karin, T. Lawrence, V. Nizet // Cell.-2006.-Vol.124.-P.823-835.
25. Kellam P. Infectogenomics: insights from the host genome into infectious diseases / P. Kellam, R.A. Weiss // Cell.-2006.-Vol.124.-P.695-697.
26. Marsh P.D. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? / P.D. Marsh // Microbiology.-2003.-Vol. 149, N 2.-P. 279-294.
27. Nibali L. Periodontal infectogenomics / L. Nibali, N. Donos, B. Henderson // J Med Microbiol.-2009.-Vol.58.-P.1269-1274.
28. Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010 / P.I. Eke, B.A. Dye, L. Wei [et al.] // J Dent Res.-2012.-Vol.91.-P.914-920.
29. Relationship between a toll-like receptor-4 gene polymorphism, bacterial vaginosis-related flora and vaginal cytokine responses in pregnant women / M.R. Genc, S. Vardhana, M.L.Delaney [et al.] // Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.-2004.-Vol.116.-P.152-156.
30. Richards D. Review finds that severe periodontitis affects 11% of the world population / Derek Richards // Evid Based Dent.-2014.-Vol.15.-P.70-71.
31. Role of periodontal pathogenic bacteria in RANKL-mediated bone destruction in periodontal disease / Kajiya M, Giro G, Taubman MA, [et al.] // J Oral Microbiol.-2010.-Doi: 10.3402/jom.v2i0.5532.
32. Ruby E. Microbiology – we get by with a little help from our (little) friends / E. Ruby, B. Henderson, M. McFall-Ngai // Science.-2004.-Vol.303.-P.1305–1307.
33. Van der Weijden G.A. A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis / G.A. Van der Weijden, M.F. Timmerman // J Clin Periodontol.-2002.-Vol.29.-Suppl. 3.-P.55-71.

ENGLISH VERSION: CHRONIC PERIODONTITIS AS A RISK FOR CHRONIC INFLAMMATORY DISEASES OF HUMAN*

Shynkevich V.I.

Department of postgraduate education for dentists, Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

Assessment of dental plaque and the host response provides an essential basis to understand the disease process and treatment rationale. This information will help the reader to understand not only the way that plaque may have an impact on oral tissues but also why regular effective cleaning may improve periodontal health and why some individuals appear to have a greater susceptibility to periodontitis than others, either intrinsically or in relation to various systemic factors. The paper analyzes the main trends of chronic periodontitis treatment, including dental plaque removal and antibioticotherapy as the first line which can prevent of cardiovascular disease, diabetes, nosocomial pneumonia and adverse pregnancy outcomes iat the same time.

Key words: chronic periodontitis, systemic inflammation, treatment, prevention, microbial biofilm periodontopathogens, genetic dysbiosis

Chronic periodontitis (CP) is due to an aberrant response to periodontopathogenic members of the subgingival microbiota [9] and, together with its non-destructive partner condition, gingivitis, is one of the most prevalent chronic inflammatory conditions of humanity. A recent survey in an US adult population of 3,742 individuals revealed a prevalence of 47% for periodontitis [28]. Periodontitis has a multifactorial aetiology, where the combination of common genetic variants alters the response to the sub-gingival microbiota, predisposing to disease onset and progression [9]. Periodontopathogenic bacteria include gram-negative bacteria such as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythia*. Periodontitis increases systemic inflammation, by means of bacteria entering the hemo- and lympho- virculation via periodontal pockets [4]. These bacteria activate an acute-phase response by the liver and activate immune cells, such as neutrophils,

* *To cite this English version: Shynkevich V.I. Chronic periodontitis as a risk for chronic inflammatory diseases of human // Problemy ekologii ta medytsyny. - 2014. - Vol 18, № 3-4. - P. 53 -57.*

to generate 'oxidative stress' in the circulation. It appears that it is not the bacteria, but the inflammatory response to them that causes the mayhem. The reaction to the bacteri ticks over at a slow, low-grade, but relentless pace over many years, and in doing so contributes to the overall 'inflammatory burden' that drives many of the inflammatory diseases of ageing [2, 13].

European scientists predict increasing burden of severe periodontitis due to the growing world population associated with an increasing life expectancy and a massive decrease in the prevalence of tooth loss throughout the world from 1990 to 2010. These changes underscore the enormous public health challenge posed by severe periodontitis and are the epidemiologic transition to noncommunicable diseases occurring in many countries [30].

The association between chronic periodontitis and systemic inflammatory diseases suspected long ago, but over 20 years ago periodontitis was seen as a consequence or even a manifestation of systemic diseases and/or conditions such as psycho-emotional stress, smoking, cardiovascular diseases, age. Today consistent evidences found that the CP affects general condition of patient with diabetes, and predisposes, for example, to atherosclerosis [2].

The evidence for an association between diabetes and periodontitis is as follows: Type-2 diabetes is preceded by systemic inflammation, leading to reduced pancreatic β-cell function, apoptosis and insulin resistance. Increasing evidence supports elevated systemic inflammation (acute-phase and oxidative stress biomarkers), resulting from the entry of periodontal organisms and their virulence factors into the circulation, thus providing biologically plausible mechanisms underpinning the adverse impact of periodontitis upon diabetes and its complications. Epidemiological data – consistent and robust evidence is available which demonstrates that severe periodontitis adversely affects glycaemic control in diabetes and glycaemia in non-diabetes patients. In addition, in patients with diabetes, there is a direct and dose-dependent relationship between periodontitis severity and diabetes complications. Emerging evidence indicates an increased risk for diabetes onset in patients with severe periodontitis. Randomised clinical trials consistently demonstrate that mechanical periodontal therapy associates with approximately a 0.4% reduction in HbA1C at three months, a clinical impact equivalent to adding a second drug to a pharmacological regime for diabetes [14].

The evidence for an association between cardiovascular diseases and periodontitis is as follows. The bacteria, entering into the blood stream et CP, activate the host's inflammatory-immune response by multiple mechanisms. Several animal models have demonstrated that the host's inflammatory response favours atheroma formation, maturation and exacerbation. Epidemiological data – there is consistent epidemiological evidence that CP imparts increased risk for future cardiovascular disease, independently of other confounding factors. Intervention studies – there is moderate evidence that periodontal treatment reduces systemic inflammation as evidenced by reductions in C-reactive protein and oxidative stress, and leads to improvements of surrogate clinical and biochemical measures of vascular endothelial function [4, 13].

The evidence for an association between adverse pregnancy outcomes and periodontitis is as follows. Oral microorganisms and their products enter the blood circulation and travel directly to the foetal environment where they cause inflammatory and immune responses affecting the foeto-placental unit. These bacteria in the circulation may also circulate to the liver, where inflammatory agents are produced, which in turn then circulate to the developing foetus. In clinical studies, low birth weight, pre-term birth and pre-eclampsia have all been associated with the presence of periodontitis in the mother, when all other risk factors have been accounted for. However, the strength of the connection found between periodontitis and these pregnancy outcomes varies between studies, and some show no association. The heterogeneity of data is likely due to differences in the study designs, study populations and different methods used for assessing and classifying periodontal disease. Intervention studies – results from clinical trials have shown that, in general, scaling and root debridement carried out during the second trimester of pregnancy, with or without antibiotic therapy, does not significantly improve adverse pregnancy outcomes, such as preterm birth and low birth weight. However, some clinical trials did report a favourable effect overall and it is possible that certain populations of pregnant women may benefit from periodontal therapy, even though others will not. One reason for negative study results may be that the interaction between periodontitis and pregnancy outcomes is more complex than our current understanding and the study results may have been affected by the type and timing of treatment employed and by the types of patients selected.

Periodontitis and other diseases. There is emerging evidence for associations between periodontal diseases and chronic obstructive airways disease, chronic kidney disease, rheumatoid arthritis, cognitive impairment, obesity, metabolic syndrome and some cancers. To date, the only evidence for causality is in relation to respiratory microorganisms that colonise the oral/periodontal biofilm and may subsequently cause a hospital-acquired pneumonia (nosocomial pneumonia) in ventilated patients. The evidence is that respiratory pathogens arising from oral/periodontal biofilm reservoirs may be aspirated in certain risk patients within hospital environments and result in a nosocomial pneumonia. Epidemiological data supports a role for the oral/periodontal biofilm acting as a reservoir for respiratory pathogens in patients with poor oral hygiene and periodontitis, which may cause nosocomial pneumonia. Randomised controlled trials strongly support a role for improving oral hygiene in the prevention of nosocomial pneumonias in acute care hospital environments [13].

Common inflammatory and destructive mechanisms at chronic periodontitis and systemic inflammatory diseases can be mediated by matrix metalloproteinases (MMP), PMN-derived serine proteases, plasminogen-dependent, phagocytic mechanism, mechanisms of RANKL-activation of osteoblasts [31], NFκB-dependent mechanisms [2] and others. Thus, clinically significant polymorphism are 5A (-1612) 6A) gene MMP-3 polymorphism C (-799) T MMP-8 gene polymorphism and C (-1562) T MMP-9 gene, are found significantly more often among patients with both cardiovascular diseases, rheumatoid arthritis and CP [8]. Certain gene polymorphisms of IL-1, is associated with both periodontitis and diabetes [10].

Other links of chronic periodontitis with systemic inflammatory diseases are suspected on basis of microbial biofilm study and human responses before enter-

ing through barrier skin and mucosa; namely local colonization, selection and accumulation of certain bacteria [26].

It is now recognised that humans are supra-organisms [32] with 90% of the cells in the human body being bacterial, termed the normal bacterial microbiota. It is estimated that in the human gut, the microbiome outnumbers the human genome by 150-fold. The traditional meaning of 'microbial disease' includes infections such as smallpox, tuberculosis or AIDS, caused by colonisation and infection by a specific pathogenic microbe, usually transmitted between individuals. Some microbes or even microbial strains may indeed be responsible for more than one disease state, an example being *E. coli*, associated with gastro-intestinal and urinary infections as well as meningitis. However, some bacterium, bacterial L-form, virus and so forth are the cause of many major idiopathic. An example of this is rheumatoid arthritis, which was thought to be caused by a wide variety of microorganisms [12].

Recent research has identified a group of conditions probably resulting from dysbiosis, or alternatively referred to as originating from a misrecognition or aberrant response to the normal microbiota, including inflammatory bowel disease, psoriasis, bacterial vaginosis and periodontal diseases (PD). These four diseases seem to cluster together from an epidemiological, pathogenic, genetic and microbial standpoint, with similarities between them being recently reported [19]. A common feature of the diseases described above is that they are not, like common infections, caused by individual bacterial species. Rather, they appear to be the result of a dysbiosis, which is a change in the normal microbiota, or of misrecognition of the normal microbiota within different body environments. A sensible hypothesis is that genetic defects in the recognition and response pathways that the host uses to identify microbial pathogens predispose to either altered microbial colonisation or to the misrecognition of normal microbiota that lead to these diseases. We could refer to 'genetic dysbiosis' to define this mechanism. This underpins the concept of infectogenomics [25], for which two distinct pathways have been recognised: bacterial recognition and bacterial proliferation.

Bacterial recognition. Mammals have a very wide variety of pattern-recognition receptors (PRRs), which recognise evolutionarily-conserved constituents of microbes called pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). These include the toll-like receptors (TLRs), NOD-like receptors, RIG-I-like receptors, C-type-lectin like receptors, scavenger receptors, innate DNA receptor proteins termed AIM2-like receptors, members of the complement pathways and peptidoglycan-recognition proteins (PRPs). In addition to these proteins, which are mainly cell-bound, there are also a range of soluble PRRs including collectins, ficolins, pentraxins, galectins, CD14 and natural IgM. Each of these families of proteins contains multiple members. In addition, these various receptor-based and soluble PRRs generally interact with various accessory proteins to allow for selective cell signaling; and the target cell generates pro- and/or anti-inflammatory proteins such as cytokines.

Mutations in the promoter regions and coding segments of the individual PRR genes may result in either altered expression of PRRs or differences in the ability to recognise the microbial constituents that they bind to respectively. In addition to the influence of PRR production and PRR kinetics of binding, changes in the interaction between the PRR and obligatory accessory proteins may be a factor in this 'binding/recognition' process. Initial evidence has recently been produced for the effect of microbial recognition genes on microbial presence in periodontal [17] and vaginal biofilms [18, 29]. Features of expression and signaling from oral mucosa TLRs are important for understanding the susceptibility to infection and disease; thus genes polymorphisms of TLR2 and TLR4 may cause susceptibility to infection by certain microorganisms [7]. In these conditions, a proposed hypothesis is that genetic factors which may determine an aberrant epithelial barrier (through defects in PRRs and innate immune signalling pathways) may induce microbial shifts and an inflammatory cascade which can give rise to chronic diseases and even cancer [24].

Bacterial proliferation. As well as affecting bacterial recognition, common human genetic variants are likely to be responsible for creating a favourable environment for fostering the growth of specific pathogenic bacteria within biofilms. The hypothesis is that genetic variants predisposing to an excessive inflammatory response create a favourable environment for the selective growth of specific bacteria within the human biofilms, which, due to specific characteristics in their metabolism, grow well in more inflamed environments. Initial evidence in periodontitis suggests that cytokine gene polymorphisms may select and favour the growth of certain components of the sub-gingival biofilm. Periodontitis studies confirm that some cytokine gene polymorphisms are associated with selective and predominant growth of certain types of microorganisms in subgigival biofilm [17]. Similarly to periodontitis, other human diseases might be affected by the overgrowth of certain components of the biofilms upon stimulation by a more or less 'inflamed' environment. It has been hypothesized that mutations in genes involved in immune regulatory mechanisms or pro-inflammatory pathways could lead to unrestrained inflammation in the intestine and that inflammation can influence the composition of the microbiota, skewing it in favour of pathological microorganisms. However, doubts still exist on whether the inflammatory deregulation is the cause, or actually the consequence of a microbial shift in such cases.

Genetic dysbiosis in periodontitis. A recent study has shown that specific genetic variants that violate the inflammatory response (eg, IL-1, IL-6 genes) associated with periodontopathogenetic bacteria (eg A.actinomycetemcomitans and P.gingivalis) in sub-gingival plaque [19]. This adds to the evidence suggesting that periodontal 'dysbiosis' or a shift towards a more pathogenic microbiota (including *A.actinomycetemcomitans*) that may be due to specific genetic variants in the host [27].

Thus, the concept of *infectogenomics* highlights the macroorganism/host genetic predetermination in control microbial biofilm composition. According to conditional division of immunity to innate and adaptive it may be to consider similarly host mechanisms of biofilm restriction. Receptor innate mechanisms of recognition and response to microbial composition represented numerous families and PRRs mentioned above. But aberrant specific immune response to periodontopathogenic bacteria in biofilm also contributes to tissue destruction in periodontitis: host sensitivity to periodontopathogenic microflora of about 50% is due to genetic characteristics of adaptive immune mechanisms [15, 33]. Genetic features of cell-mediated immune response is closely associated

with the development of CP [16, 23]. Polymorphisms that lead to lower levels of antibody-mediated responses, in particular to Porphyromonas gingivalis, are also associated with more severe forms of CP [11]. Obviously, the mechanisms described as 'sensitivity' to periodontopathogenic microorganisms in biofilm also takes part in microbial selection and colonization, even regardless of the virulence.

Thus, genetic dysbiosis is considered by leading Ukrainian scientists [2] as a mechanism that links diseases that involve multiple barrier surfaces and/or mucous membranes. So, the combination of some diseases of gastrointestinal tract and chronic catarrhal gingivitis previously explained by intestinal dysbiosis [5]. As we was look on dysbiosis like genetically predetermined, the role of microbial biofilms become secondary, and limited efficacy of probiotics become clear [1].

In practical terms, information about complex relationships, continuous circle in systemic pathogenesis of chronic inflammatory diseases and PD may lead to the paradox conclusion about predetermination of disease, but it is not quite true. The main conclusion - is the need for constant maintenance and complex treatment of PD. Periodontal treatment and prevention is both the prevention of systemic inflammatory diseases. Factors which modify risk, such as cigarette smoking, stress, drugs or sex hormones, and some systemic inflammatory diseases, such as diabet, HIV can affect the course of all types of periodontal disease. It was concluded that there was insufficient evidence that there is a specific periodontitis associated with these diseases. In contrast, periodontitis as a manifestation of systemic disease includes various haematological disorders such as acquired neutropenia and leukaemia; various genetic disorders such as familial and cyclic neutropenia, Down syndrome, leukocyte adhesion deficiency syndrome, Papillon-Lefèvre syndrome, Chediak-Higashi syndrome, histiocytosis syndromes, hypophosphatasia and others [22].

The European Federation of Periodontology (EFP) has recently launched a manifesto for a paradigm shift: 'periodontal health for a better life' for all dental and health professionals that reasonably proven by links between CP and cardiovascular diseases, diabetes, adverse pregnancy outcomes [13]. The manifesto promotes a fundamental shift in the role of dental healthcare professionals and encourages orderly work towards prevention, early diagnosis and effective treatment of inflammatory periodontal diseases in order to reduce harmful dental and overall impact on human health and society in general. The dental team's role emphasises in promoting behaviour change in their patients aimed at reducing smoking and obesity levels, by promoting healthy nutrition and exercise. So knowledgeable in this area dentist engages fully in preventive medicine in support of medical colleagues in the best interests of public health. The main evidence is presented above and known quite wide, but are used primarily for internal.

Various host modulatory therapies have been developed or proposed to block pathways responsible for periodontal tissue break down. The newer drugs like bortezomib, infliximb, etanercept, vasoactive intestinal peptide, nitric oxide synthase inhibitors and denosumab are developed as a result of better understanding of pathogenesis of inflammatory tissue destruction and may represent [20]. However, the complexity of immune disorders in periodontitis indicates that it is unlikely cytokine therapy or therapeutic immunoregulation become routine of periodontal treatment soon. Obviously, with the number of microbial biofilms and periodontopathogens in them today, we really can control them only with antibiotics (in the case of microorganisms penetrated) [6] and by mechanical and antiseptic removal of microbial dental plaque (decontamination [3]) as periodontal therapy.

A certain problem arises when we realize that most dentists are rather general practitioners, than experts in periodontology. Therefore, it should be noted that the most complex and the best prosthetic, restoration or orthodontic forces will not have full success without proper periodontal maintenance treatment.

The future strategy of periodontal therapy is aimed at improving of host ability to prevent microbial colonization and eliminate certain microorganisms. An appreciation of dental plaque and the host response provides an essential basis from which to understand the disease process and treatment rationale. This information will help the reader to understand not only the way that plaque may have an impact on oral tissues but also why regular effective cleaning may improve periodontal health and why some individuals appear to have a greater susceptibility to periodontitis than others, either intrinsically or in relation to various systemic factors [21].

Conclusions.

Chronic periodontitis requires lifelong treatment, with regular intervals, - an approach that is simultaneously preventing for systemic inflammatory diseases. Microbial biofilm control in chronic periodontitis is now really possible evidently only by systemic antibiotic therapy.

References

1. Zastosuvannya preparativ «Lisobakt» ta «Lazidofil®-WM» mozhe pidvischuvati efektivnist' kompleksnogo likuvannya chro-nichnogo kataral'nogo gingivitu I-II stupenya tyazhkosti v ditey vikom 12-15 rokiv / P.M. Skripnikov, T.V. Polischuk, O.A. Shlikova, V.I. Shinkevich // Ukrains'kiy stomatologichniy al'manach. - 2012. - №5.- S.91-98.
2. Kaydashev I.P. Rol' NFkB v funkzionirovanii otdel'nych tkaney, razvitii i sintropii zabolevaniy osnovnych sistem organizma / I.P. Kaydashev // Zhurnal NAMN Ukraini.-2012.-T.18, № 2145.-C.186-198.
3. Mazur I.P. Klinicheskaya i mikrobiologicheskaya effektivnost' primeneniya mestnych protivomikrobnych i antiseptic-heskich preparatov pri lechenii zabolevaniy parodonta / I.P. Mazur, N.A. Bakshutova, D.M. Stavskaya // Sovremennaya stoma-tologiya.-2014.- T. 70, №1.-S.20-26.
4. Mamontova T.V. Mikroflora rotovoy polosti kak faktor razvitiya zabolevaniy serdechno-sosudistoy sistemy / T.V. Mamontova, L.E. Vesnina, I.P. Kaydashev // Ukrains'kiy medichniy chasopis.-2014.- T. 102, № 4.-C.1-8.
5. Polischuk T.V. Diagnostika disbiozu pri chronichnomu kataral'nomu gingiviti metodom mul'tipleksnoi polimeraznoi lanzyugovoi reakzii z reestrazieyu danich v real'nomu chasi / T.V. Polischuk, P.M. Skripnikov, I.P. Kaydashev // Aktual'ni problemi suchasnoi medizini: Visnik Ukrains'koi medichnoi stomatologichnoi akademii.-2012.- T.2, № 37-38. - S. 57-61.
6. Skripnikov P.M. Konzentraziya alanin- ta aspartat-aminotransferaz u parodontal'nich kishenyach yak marker aktivnosti zapalennya pri konservativnomu likuvanni chronichnogo generalizovanogo parodontitu iz zastosuvannyam azitromizinu / Skripnikov P.M., Nepokupna-Slobodyanyuk T.S., Shinkevich V.I. // Problemi ekologii ta medizini.-2013.- T.17, №5-6. - S.46-55.
7. Shinkevich V.I. Rol' Toll-rezeptoriv u patogenezi zachvoryuvan' slizovoï obolonki porozhnini rota / V.I. Shinkevich, I.P. Kaydashev // Problemi ekologii ta medizini.-2010.- T.14, №3-4.-S.12-16.
8. Shinkevich V.I. Rol' polimorfizmiv matriksnich metaloproteinaz pri sistemnich chronichnich zapal'nich zachvoryuvannyach i chronichnomu parodontiti / V.I. Shinkevich //

Problemi ekologiї ta medizini.-2013.-, T.17, №1-2. - S.26-35.
9. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions / R.C. Page, S. Offenbacher, H.E. Schroeder [et al.] // Periodontology.-2000.-Vol.14.-P.216-248.
10. Association between interleukin-1 genotype and periodontal disease in a diabetic population / S. Guzman, M. Karima, H.Y. Wang, T.E. Van Dyke // J Periodontol.-2003.-Vol.74.-P.1183-1190.
11. Association of the FcγRIIB-nt645+25A/G polymorphism with the expression level of the FcγRIIb receptor, the antibody response to Porphyromonas gingivalis and the severity of periodontitis / N. Sugita, R. Iwanaga, T. Kobayashi, H. Yoshie // J Periodontal Res.-2012.-Vol.47, N 1.-P.105-113.
12. Benedek T.G. The history of bacteriologic concepts of rheumatic fever and rheumatoid arthritis / T.G. Benedek // Semin Arthritis Rheum.-2006.-Vol.36.-P.109-123.
13. Chapple I.L.C. Manifesto for a paradigm shift: periodontal health for a better life / I.L.C. Chapple, N.H.F. Wilson // British Dental Journal.-2014.-N 216.-P.159-162.
14. Effects of periodontal non-surgical therapy plus azithromycin on glycemic control in patients with diabetes: a randomized clinical trial [Електронний ресурс] / Botero JE, Yepes FL, Ochoa SP, et al. // J Periodontal Res.-2013.-Vol. 27.-Doi: 10.1111/jre.12058
15. Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis / B.S. Michalowicz, S.R. Diehl, J.C. Gunsolley [et al.] // J Clin Periodontol.-2000.-Vol.71.-P.1699-1707.
16. Exploring the genetic basis of chronic periodontitis: a genome-wide association study / K. Divaris, K.L. Monda, K.E. North [et al.] // Hum Mol Genet.-2013.-Vol.22, N 11.-P.2312-2324.
17. Gene polymorphisms and the prevalence of key periodontal pathogens / L. Nibali, D.R. Ready, M. Parkar [et al.] // J Dent Res.-2007.-Vol.86.-P.416-420.
18. Gene polymorphisms of toll-like and related recognition receptors relation to the vaginal carriage of Gardnerella vaginalis and Atopobium vaginae / H. Verstraelen, R. Verhelst, L. Nuytinck [et al.] // J Reprod Immunol.-2009.-Vol.79.-P.163-173.
19. Genetic dysbiosis: the role of microbial insults in chronic inflammatory diseases / L. Nibali, B. Henderson, S.T. Sadiq, N. Donos // J Oral Microbiol.-2014.-Doi: 10.3402/jom.v6.22962.
20. Gokhale S.R. Future prospects of systemic host modulatory agents in periodontal therapy / S. R. Gokhale, A.M. Padhye // British Dental Journal.-2013.-Vol.214.-P. 467-471. http www.nature.com/bdj/journal/v214/n9/full/sj.bdj.2013.432.html WT.mc_id=EMI_BDJ_1410_Perio1 - a2
21. Hasan A. A clinical guide to periodontology: Pathology of periodontal disease /A. Hasan, R. M. Palmer // British Dental Journal.-2014.-Vol. 216.-P. 457-461.
22. Highfield J. Diagnosis and classification of periodontal disease / J. Highfield // Aust Dent J.-2009.-Vol.54.- Suppl 1.-P.S11-S26.
23. Influence of cytotoxic T lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) gene polymorphisms in periodontitis / Houshmand B, Rafiei A, Hajilooi M. // Arch Oral Biol.-2012.-Vol.57, N 9.-P.1218-1224.
24. Karin M. Innate immunity gone awry: linking microbial infections to chronic inflammation and cancer / M. Karin, T. Lawrence, V. Nizet // Cell.-2006.-Vol.124.-P.823-835.
25. Kellam P. Infectogenomics: insights from the host genome into infectious diseases / P. Kellam, R.A. Weiss // Cell.-2006.-Vol.124.-P.695-697.
26. Marsh P.D. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? / P.D. Marsh // Microbiology.-2003.-Vol. 149, N 2.-P. 279-294.
27. Nibali L. Periodontal infectogenomics / L. Nibali, N. Donos, B. Henderson // J Med Microbiol.-2009.-Vol.58.-P.1269-1274.
28. Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010 / P.I. Eke, B.A. Dye, L. Wei [et al.] // J Dent Res.-2012.-Vol.91.-P.914-920.
29. Relationship between a toll-like receptor-4 gene polymorphism, bacterial vaginosis-related flora and vaginal cytokine responses in pregnant women / M.R. Genc, S. Vardhana, M.L.Delaney [et al.] // Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.-2004.-Vol.116.-P.152-156.
30. Richards D. Review finds that severe periodontitis affects 11% of the world population / Derek Richards // Evid Based Dent.-2014.-Vol.15.-P.70-71.
31. Role of periodontal pathogenic bacteria in RANKL-mediated bone destruction in periodontal disease / Kajiya M, Giro G, Taubman MA, [et al.] // J Oral Microbiol.-2010.-Doi: 10.3402/jom.v2i0.5532.
32. Ruby E. Microbiology – we get by with a little help from our (little) friends / E. Ruby, B. Henderson, M. McFall-Ngai // Science.-2004.-Vol.303.-P.1305–1307.
33. Van der Weijden G.A. A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis / G.A. Van der Weijden, M.F. Timmerman // J Clin Periodontol.-2002.-Vol.29.-Suppl. 3.-P.55-71.

Матеріал надійшов до редакції 17.09.2014

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

© Багмут И.Ю.
УДК 616 – 008.9: 615.27] – 092.9

ВЛИЯНИЕ В ПОДОСТРОМ ОПЫТЕ ОЛИГОЭФИРЦИКЛОКАРБОНАТА НА ОБМЕН МОНОАМИНОВ И АКТИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ ДЕЗАМИНИРОВАНИЯ В СУБТОКСИЧЕСКИХ ДОЗАХ*

Багмут И.Ю.

Харьковская академия последипломного образования, Харьков, Украина

Відома провідна роль обміну біогенних моноамінів при розвитку захворювань центральної нервової системи (ЦНС), серцево-судинної системи (ССС), психічних і онкологічних захворюваннях та ін. При цьому спостерігається патогенетичне значення порушення каталітичної активності моноамінооксидази (МАО), які забезпечують окисне дезамінування первинних, вторинних і третинних моноамінів і підтримують на певному фізіологічному рівні вміст катехоламінів, серотоніну, гістаміну, триптаміну та ін. Це знаходить своє місце при багатьох захворюваннях і патологічних станах:опроміненні, злоякісному рості, гіпервітамінозі Д, холодовому стресі, гіпоксії, гіперхолестеринемії, черепно-мозковій травмі. Метою роботи було вивчення активності МАО і змісту деяких біогенних моноамінів та їх попередників під впливом субтоксичних доз олігоефірциклокарбонату в плазмі крові, печінці та головному мозку щурів.. На 40 білих щурах популяції Вістар в підгострому досліді вивчено дію малих субтоксических доз нової хімічної речовини, що відноситься до простих поліефірів-олігоефірциклокарбонату марки П-803. У печінці і головному мозку оцінювалося вміст адреналіну, норадреналіну, ДОФА, дофаміну, серотоніну, триптофану. Зміст ДОФА, дофаміну, адреналіну, норадреналіну, серотоніну, триптофану, активність тромбоцитарної МАО-В і зміст моноамінів визначали також і в плазмі крові. Вивчення впливу обміну біогенних моноамінів в головному мозку під впливом субтоксических доз олігоефірциклокарбонату виявило підвищення рівня ДОФА-попередника дофаміну на 34,27% і 28,16%, відповідно під впливом 1/10 і 1/100 LD_{50}. В печінці відзначалося зниження вмісту ДОФА, дофаміну, норадреналіну та адреналіну під впливом олігоефірциклокарбонату в дозі 1/10 і 1/100 LD_{50}. Речовина в 1/1000 LD50 не порушувала обмін біогенних моноамінів. Аналіз результатів обміну серотоніну в печінці і головному мозку виявив зниження триптофану та підвищення рівня серотоніну під впливом олігоефірциклокарбонату в 1/10 і 1/100 LD_{50}. Визначення вмісту в сироватці крові біогенних моноамінів виявило зниження рівня дофаміну, адреналіну, норадреналіну та їх попередника ДОФА на тлі підвищення серотоніну. Активність тромбоцитарної моноамінооксидази (МАО-В) була значно підвищена під впливом ксенобіотику в 1/10 і 1/100 LD_{50}. Висновки: 1. Олігоефірциклокарбонат П-803 в 1/10 і 1/100 LD50 активує процеси окисного дезамінування на тлі інгібування в малих дозах ерготропної функції організму, яка пов'язана з посиленням трофотропної, як захисно-пристосувальної реакції, що спрямоване на забезпечення сталості внутрішнього середовища організму. 2. В 1/1000 LD_{50} ксенобіотик не впливає на порушення обміну моноамінів і процесів окисного дезамінування. 3. Досліджено інтенсивність обміну біогенних амінів в клітинних структурах, яка проявляється активуванням процесів окисного дезамінування і посиленням трофотропної функції організму, що свідчить про активність патологічного процесу у сироватці крові, печінці та головному мозку щурів.

Ключові слова: ксенобіотик, адреналін, норадерналін, ДОФА, дофамін, серотонін, триптофан, плазма крові, печінка і головний мозок щурів.

Данная работа является фрагментом НИР ХНМУ «Вивчення механізмів біологічної дії простих поліефірів у зв'язку з проблемою охорони навколишнього середовища», государственный регистрационный номер 0110U001812.

В последнее время трудно найти уголок планеты, на котором не отразилась бы деятельность человека. Возросла доля отрицательного влияния на биосферу химической промышленности органического синтеза, поверхностно-активных веществ (ПАВ), синтетических моющих средств (СМС), пестицидов, гербицидов, алкилирующих соединений, простых полиэфиров, макроциклов и др. [1]. За последние десятилетия во всем мире синтезированы десятки миллионов химических веществ, которые являются зачастую высо-

* Цитування при атестації кадрів: *Багмут И.Ю. Влияние в подостром опыте олигоэфирциклокарбоната на обмен моноаминов и активность процессов дезаминирования в субтоксических дозах* // Проблеми екології і медицини. – 2014. – Т. 18, № 3-4. – С. 58 –61.

костабильными, токсичными и обладают выраженной биотропностью и способностью оказывать отдаленные последствия их влияния: генотоксичность, мутагенез, канцерогенез, тератогенез, иммунологическая недостаточность и др. Значительная химическая нагрузка на биосферу создала новую экологическую ситуацию, которая способна формировать развитие многих заболеваний и патологических состояний. С развитием научно-технического прогресса антропогенная деятельность продолжает создавать такие условия труда и быта, которые ограничивают или суживают диапазон влияния на человека факторов природной окружающей среды, прежде всего естественного происхождения – ультрафиолетового излучения, водных объектов, лесных массивов и др. Все это отражается на резистентности и реактивности организма к воздействию вредных физических, химических, биологических и социально-средовых факторов. Исследования свидетельствуют, что адекватный количественный и качественный ответ организма на воздействие отрицательных источников – это основа физиологически полной и своевременной адаптации к изменениям, происходящим в среде обитания человека и является залогом сохранения и укрепления здоровья. Вместе с тем, длительное и негативное влияние на организм химических веществ в субтоксических дозах, способно привести к нарушению гомеостаза, срыву защитно-приспособительных механизмов адаптации и развитию патологических состояний. За последние десятилетия собралось достаточно сведений, которые убедительно показывают ведущую роль обмена биогенных моноаминов при формировании заболеваний центральной нервной системы (ЦНС), сердечно-сосудистой системы (ССС), психических и онкологических заболеваниях и др. При этом отмечается патогенетическое значение нарушения каталитической активности моноаминооксидаз, которые обеспечивают окислительное дезаминирование первичных, вторичных и третичных моноаминов. Таким образом, моноаминооксидазы (МАО) поддерживают на определенном физиологическом уровне содержание катехоламинов, серотонина, гистамина, триптамина и др. [2,3,4,5,6,7,8]. Изменение свойств и активности МАО обнаружены пи многих заболеваниях и патологических состояниях: облучении, злокачественном росте, гипервитаминозе Д, холодовом стрессе, гипоксии, гиперхолестеринемии, черепно-мозговой травме [9,10,11,12,13,14,15]. В литературе имеются данные, свидетельствующие о наличии прямой корреляционной связи между интенсивностью обмена биогенных аминов в клеточных структурах и степенью активности патологического процесса в различных органах. Учитывая выше сказанное актуальным являлось изучение активности МАО и содержания некоторых биогенных моноаминов и их предшественников под влиянием субтоксических доз олигоэфирциклокарбоната в различных органах и тканях.

Материалы и методы исследования

В работе было использовано новое химическое вещество, относящееся к простым полиэфирам – олигоэфирциклокарбонат марки П-803. Это соединение нашло широкое применение для получения пластмасс, пенопластов, эпоксидных смол, лаков, эмалей, пенополиуретанов и др. [1]. Выбор данного соединения обоснован большими объемами производства, широким контактом с населением и отсутствием прогностической характеристики потенциальной опасности для человека и теплокровных животных. На основании оценки параметров острой токсичности олигоэфирциклокарбонат относится к малотоксичным соединениям, не обладающим кумулятивными свойствами и видовой чувствительностью. Среднесмертельная доза (LD_{50}) была установлена на уровне 18,75 г/кг массы животного, а коэффициент кумуляции (Кк) на уровне 7,82. Программа исследований предусматривала проведение подострого токсикологического опыта на половозрелых белых крысах популяции Вистар, массой 180-200 г. В соответствии с условиями эксперимента животным ежедневно, утром до кормления, на протяжении 45 суток, с помощью металлического зонда водились перорально водные растворы вещества из расчета 1/10; 1/100; 1/1000 LD_{50}. Контрольная группа животных получала соответствующие объемы питьевой воды. В эксперименте было использовано 40 белых крыс при соблюдении биоэтики и принципов «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для научных и других целей»-Страсбург, 1985 г. Программа исследования предусматривала определение активности тромбоцитарной МАО-В по скорости образования продукта реакции дезаминирования – бензальдегида [16]. Содержание ДОФА, дофамина, адреналина, норадреналина, серотонина, триптофана в плазме крови определяли спектрофлуориметрическим методом на спектрофотометре фирмы «Хитачи»-МПР-4 [17]. В печени и головном мозге оценивалось содержание адреналина, норадерналина, ДОФА, дофамина, серотонина, триптофана. Исследования выполнялись по методу Y. Endo, Y. Odura [18]. Для связывания биогенных моноаминов их предшественников была использована карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) фирмы «Reanal», емкость 0,6-0,8 мэкв/ч. Окисление катехоламинов и ДОФА производили методом, описанным у G. Slabo и соавт. [19]. Спектрофлуориметрическое определение уровней биогенных моноаминов и их предшественников осуществлялось на спектрофотометре фирмы «Хитачи» МПР – 4, после колоночной хроматографии. Количественные их уровни оценивались по калибровочным кривым. Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с использованием критерия Стьюдента-Фишера.

Результаты исследования и их обсуждение

Изучение влияния обмена биогенных моноаминов в головном мозге под влиянием субтоксических доз олигоэфирциклокарбоната обнаружило повышение уровня ДОФА – предшественника дофамина на 34,27% и 28,16%, соответственно под влиянием 1/10 и 1/100 LD_{50}. При этом отмечалось снижение дофамина на 31,77% и 28,24%, норадреналина на 46,16% и 19,24%, адреналина на 69,77% и 34,89%, соответственно в условиях токсификации белых крыс 1/10 и 1/100 LD_{50} (табл.1). В дозе 1/1000 LD_{50} ксенобиотик не нарушал обмен моноаминов в головном мозге.

Таблица 1

Влияние олигоэфирциклокарбоната П-803 в субтоксических дозах на обмен моноаминов в головном мозге в подостром опыте (мкг/г ткани)

Показатели	Группа наблюдения, LD_{50} (M±m)			
	Контроль (n=10)	1/10(n=10)	1/100(n=10)	1/1000(n=10)
ДОФА	2,13±0,12	2,86±0,17*	2,73±0,21*	2,25±0,23
Дофамин	3,40±0,37	2,32±0,28*	2,44±0,26*	3,48±0,27
Норадреналин	0,78±0,06	0,42±0,04*	0,63±0,07*	0,75±0,14
Адреналин	0,43±0,08	0,13±0,015*	0,28±0,09*	0,45±0,16

*Примечание: * различия достоверные p<0,05*

В печени отмечалось снижение содержания ДОФА, дофамина, норадреналина и адреналина под влиянием олигоэфирциклокарбоната в дозе 1/10 и 1/100 LD_{50} (табл.2) Вещество в 1/1000 LD_{50} не нарушало обмен биогенных моноаминов. Так, было обнаружено снижение ДОФА на 36,80% и 23,46%, дофамина на 46,83% и 28,39%, норадреналина на 50,62% и 28,40%, адреналина на 59,10% и 50,0%, соответственно под влиянием 1/10 и 1/100 LD_{50}.

Таблица 2

Влияние олигоэфирциклокарбоната П-803 на обмен моноаминов в подостром опыте в печени под влиянием субтоксических доз (мкг/г ткани)

Показатели	Группа наблюдения, LD_{50} (M±m)			
	Контроль (n=10)	1/10(n=10)	1/100(n=10)	1/1000(n=10)
ДОФА	4,05±0,36	2,56±0,42*	3,10±0,28*	3,85±0,25
Дофамин	1,73±0,19	0,92±0,07*	1,24±0,14*	1,83±0,21
Норадреналин	0,81±0,09	0,40±0,05*	0,58±0,12*	0,78±0,08
Адреналин	0,22±0,03	0,09±0,002*	0,11±0,02*	0,23±0,04

*Примечание: * различия достоверные p<0,05*

Анализ результатов обмена серотонина в печени и головном мозге обнаружил снижение триптофана и повышение уровня серотонина под влиянием олигоэфирциклокарбоната в 1/10 и 1/100 LD_{50}. (табл. 3). Триптофан в печени снижался на 72,52% и 47,99%, в головном мозге на 30,53% и 28,34%, соответственно у групп животных, токсифицированных 1/10 и 1/100 LD_{50}. При этом, серотонин в печени повышался на 228,07% и 127,36%, а в головном мозге на 119,02% и 62,31%, соответственно под влиянием 1/10 и 1/100 LD_{50}.

Таблица 3

Влияние олигоэфицрклокарбоната на обмен серотонина в печени и головном мозге под влиянием субтоксических доз (мкг/г ткани)

Показатели/органы	Группа наблюдения, LD_{50} (M±m)			
	Контроль (n=10)	1/10(n=10)	1/100(n=10)	1/1000(n=10)
Печень/триптофан	13,9±1,25	3,82±0,36*	7,23±0,65*	14,5±1,17
Печень/серотонин	2,85±0,74	9,35±0,78*	6,48±0,54*	3,16±0,26
Головной мозг/триптофан	5,93±0,82	4,12±0,37*	4,25±0,46*	5,88±0,62
Головной мозг/серотонин	2,68±0,37	5,87±0,42*	4,35±0,36*	2,74±0,28

*Примечание: * различия достоверные p<0,05*

Определение содержания в сыворотке крови биогенных моноаминов выявило снижение уровня дофамина, адреналина, норадреналина и их предшественника ДОФА на фоне повышения серотонина (табл.4). Активность тромбоцитарной моноаминооксидазы (МАО-В) была значительно повышена под влиянием ксенобиотика в 1/10 и 1/100 LD_{50}, что указывает на усиление процессов окислительного дезаминирования в этих дозах. Олигоэфирциклокарбонат в 1/1000 LD_{50} не оказывал влияние на обмен биогенных моноаминов.

Таблица 4

Влияние олигоэфирциклокарбоната П-803 на активность тромбоцитарной МАО-В и содержание моноаминов в сыворотке крови под влиянием субтоксических доз ксенобиотка.

Показатели	Группа наблюдения, LD_{50} (M±m)			
	Контроль (n=10)	1/10(n=10)	1/100(n=10)	1/1000(n=10)
Дофамин (мкмоль/л)	0,83±0,05	0,52±0,04*	0,63±0,05*	0,86±0,08
Серотонин (мкмоль/л)	0,29±0,02	0,94±0,08*	0,77±0,06*	0,31±0,05
МАО-В (нмоль/мг белка·мин.)	0,37±0,04	0,85±0,06*	0,68±0,05*	0,41±0,06
Адреналин (нмоль/л)	2,40±0,25	0,46±0,03*	0,62±0,07*	2,30±0,35
Норадреналин (нмоль/л)	2,56±0,19	0,52±0,07*	1,25±0,11*	2,44±0,22
ДОФА (нмоль/л)	17,80±2,65	5,87±0,62*	8,38±0,76*	15,69±1,85

*Примечание: * различия достоверные p<0,05*

Выводы:

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют, что олигоэфирциклокарбонат П-803 в 1/10 и 1/100 LD_{50} активирует процессы окислительного дезаминирования на фоне ингибирования в этих дозах эрготропной функции организма, которая сопряжена с усилением трофотропной, как защитно-приспособительной реакции, что направлено на обеспечение постоянства внутренней среды организма. В 1/1000 LD_{50} ксенобиотик не влияет на наруше-

ние обмена моноаминов и процессов окислительного дезаминирования.

Литература

1. Жуков В.И., Попова Л.Д., Зайцева О.В., Кратенко Р.И. и др. Простые и макроциклические эфиры: Научные основы охраны водных объектов. – Харьков, Торнадо, 2000,-438 с.
2. Акопян А.А.. Арутнян М.В., Агавелян А.М.. Роль моноаминооксидазы в патологии толстой кишки // Вопросы мед химии. - 1994. – Т. 40,№6. – С. 54-57.
3. Акопян А.А., Промыслов М.Ш. Моноаминооксидаза мозга при черепномозговой травме. // Вопросы мед химии. - 1984. – Т.30,№ 1. – С. 75-77.
4. Бурчинский С.Г., Кузнецов С.М. Моноаминооксидаза мозга и ее ингибиторы в геронтологии // Вопросы мед химии. - 1988. – №4. – С. 2-9.
5. Ашмарина И.П., Ступалова П.В.. Нейрохимия. Москва, 1996. – 427 с.
6. Горошинская И.А. Роль моноаминооксидазы в реакции организма на экстремальное воздействие. Диссертация на соискание ученой степени д.б.наук, Ростов – на – Дону, 1998. – 411 с.
7. Камышанская Н.С., Гокин В.З.,Войтенко Н.Н. Множественные формы МАО головного мозга крысы при экстремальной каталонии // Вопросы мед химии. - 1990. – Т.36,№5. – С. 32–34.
8. Горкин В.З., Овчинникова Л.Н. Система Аминооксидаз: современные достижения в исследовании природы, функций и их нарушений // Вопросы мед химии. – 1993. – Т.39,№4. – С. 2-10.
9. Горкин В.З. Аминооксидазы и их значение в медицине. Москва. – 1981. – 334 с.
10. Горкин В.З. Современные достижения в исследованиях специфического ингибирования и природы МАО (обзор). Вопросы мед химии, 1982. – №2. – С. 2–9.
11. Типтон К.Ф. Ингибиторы МАО и прессорный ответ на пищевые амины // Вопросы мед химии. - 1997. – Т.43,№6. – С. 494–498.
12. Levitt P., Pintar J.E. and Breakefield X.O. // Proc. Natl. Acad. Sci. – 1982. – Vol. 79. – P. 6385–6389.
13. Рамсэй Р. Механистическое исследование по МАО: значение для МАО – А и МАО – В в in situ // Вопросы мед химии. - 1997. – Т. 43,№6. – С. 457-469.
14. Медведев А.Е.. Горкин В.З. Роль моноаминооксидаз в регуляции энергетических функций митохондрий // Вопросы мед химии. - 1991. – Т. 37,№ 5. – С. 2–6.
15. Медведев А.Е., Типтон К.Ф. Окислительная модификация моноаминооксидаз // Вопросы мед химии. - 1997. – Т.43,№6. – С. 417–418.
16. Волошина О.Н., Москвитина Т.А. Способ определения моноаминооксидазной активносоти тромбоцитов // Лабораторное дело. - 1985. – №5. – С. 289.
17. Матлина Э.Ш. Методы исследования некоторых гормонов и медиаторов. Москва. – 1965. – 205 с.
18. Endo Y., Ogura Y. Arapid and simple determination of histamine and polyamines // Japan J. Pharmacol. – 1975.-№ 25. – P. 610-612.
19. Slabo G., Kovaes G.L. Teleqdy G. A modified sereening method for rapid simultaneous determination of dopamine, noradrenaline and serotonin in the same brain region // Acta Physiol. Hung. – 1983. – Vol. 61 (1–2). – P. 51-57.

ENGLISH VERSION: INFLUENCE OF SUBACUTE EXPERIMENT WITH EXCHANGE OLIGOETHERCYKLOCARBONAT IN SUBTOXIC DOSES ON MONOAMINES AND ACTIVE PROCESSES DEAMINATION*

Bagmut I.Yu.

Kharkov Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkov, Ukraine

Abstract. The effects of small doses of a new sub-toxic chemical substance belonging to polyethers-oligoethercyklocarbonat type P-803 was investigated n 40 white Wistar rats in the subacute experiment. In the liver and brain adrenaline, noradrenaline, DOPA, dopamine, serotonin, tryptophanwere rated. DOPA content, dopamine, epinephrine, norepinephrine, serotonin, tryptophan platelet activity and MAO-B were determined as the content of monoamines and plasma. Studies suggest that oligoethercyklocarbonat P-803 in 1/10 and 1/100 LD_{50} activates processes of oxidative deamination on the background of inhibition ergotropic function at these doses.

Keywords: xenobiotic, adrenaline, noradernalin, DOPA, dopamine, serotonin, tryptophan, blood plasma, liver and brain of rats.

This work is a piece of research KhNMU "Study of mechanisms of biological action of simple polyethers have problems in health circumflex media", state registration number 0110U001812.

Introduction.

It has been lately become hard to find a corner of the planet, which would not bee affected human activities. The proportion of negative impact on the biosphere by chemical organic synthesis, surface-active agents (surfactants), detergents (CMC), pesticides, herbicides, alkylating agents, polyether macrocycles and others is signyficant[1]. Over the past decade the world synthesized tens of millions of chemicals that are often highly stable, toxic and have a pronounced biotropic and ability to provide long-term consequences of their influence: genotoxicity, mutagenesis, carcinogenesis, teratogenesis, immune deficiency, etc. Much of the chemical load on the biosphere has created a new environmental situation, which can shape the development of many diseases and pathological state. Development of scientific and technological progress, human activities continues to create such working and living conditions that limit or narrow the range of effects on the human factors of the natural environment, primarily of natural origin-ultraviolet radiation, water bodies, forests, etc. All this is reflected in the resistance and reactance to the effects of harmful physical, chemical, biological and socio-environmental factors. Studies suggest that an adequate qualitative and quantitative impact on the body's response to negative sources is the basis of full and timely physiologically adaptation to the changes in the human environment and the key to the preservation and promotion of health. However, long-lasting and negative impact on the body of chemicals in sub-toxic doses, can lead to disruption of homeostasis, disruption of protective and adaptive mechanisms of adaptation and the develop-

* *To cite this English version: Bagmut I.Yu. Influence of subacute EXPERIMENT with exchange oligoethercyklocarbonat In subtoxic Doses On monoamines and active processes deamination / / Problemy ekologii ta medytsyny. - 2014. - Vol 18, № 3-4. - P. 61 -63.*

ment of pathological conditions. Over the past decade enough information, have gathered which clearly shows the leading role of exchange biogenic monoamines in the formation of diseases of the central nervous system (CNS), cardiovascular system (CVS), mental diseases and cancer, etc. Pathogenic significance of violations of the catalytic activity of monoamine oxidase, which ensure oxidative deamination of primary, secondary and tertiary monoamineshave been noted. Thus, monoamine oxidase (MAO) is maintained at a certain level of physiological content of catecholamines, serotonin, histamine, tryptamine, etc. [2,3,4,5,6,7,8]. Changing the properties of MAO activity and found at many diseases and pathological conditions: irradiation, malignant growth, hypervitaminosis D, cold stress, hypoxia, hypercholesterolemia, traumatic brain injury [9,10,11,12,13,14,15]. In the literature, there is evidence of a direct correlation between the intensity of the exchange of biogenic amines in cellular structures and the degree of activity of the pathological process in different organs. Given the above said current study was aumed at MAO activity and the content of some biogenic monoamines and their precursors under the influence of subtoxic doses oligoethercyklocarbonat in various organs and tissues.

Materials and methods

The study used a new chemical substance belonging to polyethers-oligoethercyklocarbonat type P-803. This compound is widely used to produce plastics, foams, epoxy resins, lacquers, enamels, polyurethane and others [1]. Selecting this connection justified large volumes of production, extensive contacts with the population and the lack of prognostic characteristics of the potential hazard to humans and warm-blooded animals. On the basis of estimates of the parameters of acute toxicity oligoethercyklocarbonat relates to compounds of low toxicity to non-cumulative properties and species sensitivity. The mean dose (LD_{50}) was set at 18,75 g / kg of animal weight and the ratio of commutation (Kc) at 7,82. The research program included a subacute toxicology experience on mature white Wistar rats weighing 180-200 g in accordance with the conditions of the experiment the animals every day, in the morning before feeding, for 45 days, with a metal probe were carried out orally with aqueous solutions of substances on the basis of 1/10; 1/100; 1/1000 of LD_{50}. The control group received the appropriate volume of drinking water. The experiment used 40 white rats in compliance with the principles of bioethics and the "European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for research and other purposes"-Strasbourg, 1985 exploration program included the determination of the activity of platelet MAO-B from the rate of the reaction product of deamination-benzaldehyde [16]. Contents of DOPA, dopamine, epinephrine, norepinephrine, serotonin, tryptophan in blood plasma was measured by a spectrophotometer spectrofluorimetric firm "Hitachi"-MNR-4 [17]. In the liver and brain adrenaline, noradrenaline, DOPA, dopamine, serotonin, tryptophan were rated. Studies were carried out by the method of Y. Endo, Y. Odura [18]. To bind biogenic monoamine precursors was used carboxymethylcellulose (CMC) of the firm «Reanal», capacity 0,6-0,8 mEq/h Oxidation of catecholamines and DOPA produced by the method described in G. Slabo et al. [19]. Spectrofluorimetric determination of levels of biogenic monoamines and their precursors was carried out with a spectrophotometer by "Hitachi" MNR-4 column chromatography. Quantitative levels were assessed by calibration curves. Statistical processing of the results was carried out using Student's t test, Fisher.

Results and discussion

Studying the influence of exchange of biogenic monoamines in the brain influenced by subtoxic doses of oligoethercyklocarbonat detected improving DOPA-dopamine precursor at 34,27% and 28,16%, respectively, under the influence of 1/10 and 1/100 of LD_{50}. At the same time, a decrease of dopamine at 31,77% and 28,24%, 46,16% for norepinephrine and 19,24%, 69,77% for adrenaline and 34,89%, respectively, in terms of white rats toxification 1/10 and 1/100 of LD_{50} (Table 1). At a dose of 1/1000 LD_{50} xenobiotic didnot violate the exchange of monoamines in the brain.

Table 1

Effect of P-803 oligoethercyklocarbonat in subtoxic doses exchange monoamines in the brain in the subacute experiment (mkg/g tissue)

Indicators	Monitoring Group, LD_{50} (M ± m)			
	Control(n=10)	1/10(n=10)	1/100(n=10)	1/1000(n=10)
DOPA	2,13±0,12	2,86±0,17*	2,73±0,21*	2,25±0,23
Dopamine	3,40±0,37	2,32±0,28*	2,44±0,26*	3,48±0,27
Norepinephrine	0,78±0,06	0,42±0,04*	0,63±0,07*	0,75±0,14
Adrenaline	0,43±0,08	0,13±0,015*	0,28±0,09*	0,45±0,16

*Note: * The differences are significant, p<0,05*

In marked reduction of liver DOPA, dopamine, norepinephrine and epinephrine oligoethercyklocarbonat influenced in a dose of 1/10 and 1/100 of LD_{50} (Table 2) Substance 1/1000 of LD_{50} not disturb the exchange of biogenic monoamines. Thus, it was found to decrease by 36,80% DOPA and 23,46%, 46,83% for dopamine and 28,39%, 50,62% for norepinephrine and 28,40%, 59,10% for adrenaline and 50,0%, respectively, under the influence of 1/10 and 1/100 of LD_{50}.

Table 2

Effect of P-803 oligoethertcyklocarbonat exchange monoamines in subacute experiment in the liver under the influence of sub-toxic doses (mg/g tissue)

Indicators	Monitoring Group, LD50 (M ± m)			
	Control (n=10)	1/10(n=10)	1/100(n=10)	1/1000(n=10)
DOPA	4,05±0,36	2,56±0,42*	3,10±0,28*	3,85±0,25
Dopamine	1,73±0,19	0,92±0,07*	1,24±0,14*	1,83±0,21
Norepinephrine	0,81±0,09	0,40±0,05*	0,58±0,12*	0,78±0,08
Adrenaline	0,22±0,03	0,09±0,002*	0,11±0,02*	0,23±0,04

*Note: * The differences are significant, p<0,05*

Analysis of the results of serotonin metabolism in the liver and found a reduction in brain tryptophan and serotonin levels increase under the influence oligoethercyklocarbonat in 1/10 and 1/100 LD_{50}. (Table 3). Tryptophan in the liver decreased by 72,52% and 47,99% in the brain at 30,53% and 28,34%, respectively, in groups of animals toxification 1/10 and 1/100 of LD_{50}. Thus, in the liver increased serotonin by 228,07%, and 127,36%, and in brains at 119,02% and 62,31%, respectively, under the influence of 1/10 and 1/100 of LD_{50}.

Table 3

Effect of P-803 oligoethercyklocarbonat on serotonin metabolism in the liver and brain influenced by subtoxic doses (mg/g tissue)

Indicators/bodies	Monitoring group, LD50 (M ± m)			
	Control (n=10)	1/10(n=10)	1/100(n=10)	1/1000(n=10)
Liver/tryptophan	13,9±1,25	3,82±0,36*	7,23±0,65*	14,5±1,17
Liver/serotonin	2,85±0,74	9,35±0,78*	6,48±0,54*	3,16±0,26
Brain/tryptophan	5,93±0,82	4,12±0,37*	4,25±0,46*	5,88±0,62
Brain/serotonin	2,68±0,37	5,87±0,42*	4,35±0,36*	2,74±0,28

*Note: * The differences are significant, p<0,05*

Determination of serum levels of biogenic monoamines revealed a decrease in the level of dopamine, epinephrine, norepinephrine and their precursor DOPA against increase serotonin (Table 4). Activity of thrombocyte monoamine oxidase (MAO-B), was significantly enhanced under the influence of xenobiotic 1/10 and 1/100 of LD50, indicating increased oxidative deamination of these doses. Oligoethercyklocarbonat in 1/1000 LD_{50} had no impact on the exchange of biogenic monoamines.

Table 4

Effect of P-803 oligoethercyklocarbonata activity platelet MAO-B and the content of monoamines in serum influenced xenobiotic subtoxic doses.

Indicators	Monitoring Group, LD_{50} (M ± m)			
	Control (n=10)	1/10(n=10)	1/100(n=10)	1/1000(n=10)
Dopamine (mmol/l)	0,83±0,05	0,52±0,04*	0,63±0,05*	0,86±0,08
Serotonin (mmol/l)	0,29±0,02	0,94±0,08*	0,77±0,06*	0,31±0,05
MAO-B (nmol/mg protein•min.)	0,37±0,04	0,85±0,06*	0,68±0,05*	0,41±0,06
Adrenaline (nmol/L)	2,40±0,25	0,46±0,03*	0,62±0,07*	2,30±0,35
Norepinephrine (nmol/L)	2,56±0,19	0,52±0,07*	1,25±0,11*	2,44±0,22
DOPA (nmol/L)	17,80±2,65	5,87±0,62*	8,38±0,76*	15,69±1,85

*Note: * The differences are significant, p <0.05*

Conclusions.

Thus, studies show that oligoethercyklocarbonat P-803 in 1/10 and 1/100 LD_{50} activates processes of oxidative deamination on the background of inhibition at these doses ergotropic functions of the body, which is associated with increased trophotropic as protective and adaptive response that aimed at ensuring the stability of the internal environment of the body. In 1/1000 LD_{50} xenobiotic does not affect the metabolism of monoamines and oxidative deamination.

References

1. Zhukov V.I., Popova L.D., Zaitseva O.V., Kratenko R.I. etc. Simple and macrocyclic ethers: Scientific basis for the protection of water bodies.-Kharkov, Tornado, 2000. – P.-438.
2. Hakobyan A.A., Arutnyan M.V., Agavelyan A.M., Role of monoamine oxidase in the pathology of the colon // Questions honey Chemistry. - 1994.-T. 40,№ 6.-P. 54-57.
3. Hakobyan A.A., Promyslov M.S. Monoamine oxidase in the brain cranial injury. // Questions honey Chemistry. - 1984.-T.30,№ 1.-P. 75-77.
4. Burchinsky S.G., Kuznetsov S.M. Monoamine oxidase inhibitors and brain in gerontology // Questions honey Chemistry. - 1988.-№ 4.-P. 2-9.
5. Ashmarina I.P., Stupalova P.V. Neurochemistry. Moscow, 1996.-427 p.
6. Goroshinskaya I.A. Role of monoamine oxidase in the body's response to extreme impact. Dissertation for the degree d.b.nauk, Rostov-on-Don, 1998. – 411 p.
7. Kamyshanskaya N.S., Gokin V.Z., Voitenko N.N. Multiple forms of rat brain MAO under extreme catatonia // Questions honey Chemistry. - 1990.-T.36,№ 5.-P. 32-34.
8. Gorkin V.Z., Ovchinnikov L.N., Aminooxidaz system: recent advances in the study of nature, functions and their disorders // Questions honey chemistry.-1993.-T.39,N 4.-P. 2-10.
9. Gorkin V.Z. Aminooxidazy and their importance in medicine. Moscow.-1981. – P.-334.
10. Gorkin V.Z. Recent advances in research and the nature of the specific inhibition of MAO (review) // Questions honey Chemistry. - 1982.-№ 2.-P. 2-9.
11. Tipton K.F. MAO inhibitors and the pressor response to dietary amines // Questions honey chemistry. - 1997.-V.43,№ 6.-P. 494-498.
12. Levitt P., Pintar J.E. and Breakefield X.O. // Proc. Natl. Acad. Sci. – 1982.- Vol. 79.-P. 6385-6389.
13. Ramsay R. Mechanistic study MAO: implications for MAO-A and MAO – B and in situ // Questions honey chemistry. - 1997.-T. 43,№ 6.-P. 457-469.
14. Medvedev A.E. Gorkin V.Z. Role of monoamine oxidase in the regulation of mitochondrial energy functions // Questions of medical chemistry.- 1991.-T. 37,№ 5.-P. 2-6.
15. Medvedev A.E., Tipton K.F. Oxidative modification of monoamine oxidase // Questions of medical chemistry. - 1997.-V.43,№ 6.-P. 417-418.
16. Voloshin O.N., Moskvitina T.A. A method for determining platelet activity of monoamine oxidase // Laboratory business. - 1985.-№ 5.-P. 289.
17. Matlina E.S. Methods of investigation of certain hormones and neurotransmitters. Moscow.-1965. – P.-205.
18. Endo Y., Ogura Y. Arapid and simple determination of histamine and polyamines // Japan J. Pharmacol.-1975.-№ 25.-P. 610-612.
19. Slabo G., Kovaes G.L. Teleqdy G. A modified sereening method for rapid simultaneous determination of dopamine, noradrenaline and serotonin in the same brain region // Act. Physiol. Hung.-1983.-Vol. 61 (1-2).-P. 51-57.

Матеріал надійшов до редакції 02.09.2014

© Шлыкова О. А., Микитюк М. В., Боброва Н.Л, Измайлова О. В., Мамонтова Т.В., Баранова А. Ф., Веснина Л.Э., Кайдашев И. П.
УДК 615.276–612.062

ВЛИЯНИЕ МЕТФОРМИНА НА ЛИПИДНЫЙ ОБМЕН И ХРОНИЧЕСКОЕ ВОСПАЛЕНИЕ В ТКАНЯХ ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ ПРИ ДИЕТЕ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ФРУКТОЗЫ*

Шлыкова О. А., Микитюк М. В., Боброва Н.Л, Измайлова О. В., Мамонтова Т.В., Баранова А. Ф., Веснина Л.Э., Кайдашев И. П.
Высшее учебное заведение Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава

Досліджено вплив метформіну на ліпідний обмін і рівень експресії прозапальних факторів у тканинах печінки мишей, що знаходились на дієті з високим вмістом фруктози (ДВВФ) (60 г фруктози/100 г корму). Визначено концентрації загального холестерину (ЗХ), триглицеридів (ТГ), церулоплазміна (ЦП), глюкози у сироватці крові та експресію mRNA інгібітора NF-kB (IkBα), мРНК фактора некрозу пухлин α (TNFα) в гомогенатах тканин печінки 3-х місячних мишей лінії BALBc масою 25-30 г. Продемонстровано, що збільшення вмісту фруктози в раціоні харчування призводить до підвищення концентрації глюкози, ЗХ і ТГ у крові мишей. Посилюються прояви системної запальної відповіді, про що свідчить зростання рівня ЦП у сироватці крові і рівня експресії мРНК TNFα в тканинах печінки тварин, що знаходились на ДВВФ. Метформін у дозі 50 мг/кг/доб. знижував продукцію ТГ у сироватці крові мишей, що знаходились на ДВВФ, сприяв нормалізації печінкового глюконеогенезу. Введення метформіну спричиняло протизапальну дію, шляхом зниження концентрації сироваткового ЦП та експресії мРНК TNFα в тканинах печінки цих тварин. Таким чином, отримані дані свідчать про протективний ефект метформіну на ліпідний обмін, а також рівень експресії прозапальних факторів, пов'язаних з NF-kB-сигнальним шляхом у тканинах печінки мишей, які перебували на ДВВФ.

Ключові слова: дієта з високим вмістом фруктози, метформін, експресія, прозапальні фактори.

Многочисленные исследования показывают, что диета с высоким содержанием фруктозы (ДВСФ) вызывает различные патологические изменения, в том числе окислительный стресс, нарушение толерантности к глюкозе, инсулинорезистентность, сахарный диабет 2 типа, болезни печени, артериальную гипертензию и другие сердечно-сосудистые заболевания [16]. Показано, что нарушения липидного обмена при развитии стресса гепатоцитов у животных, находящихся на ДВСФ, происходит в результате перенагрузки фруктозного метаболизма [11]. Увеличение продукции липидов в печени способствует повышению митохондриального бета-окисления жирных кислот, генерации продуктов пероксидации, которые стимулируют IkB-киназу (IKK), а следовательно и активацию NFkB [7]. Известно, что в тесной связи с активацией провоспалительных ядерных транскрипционных факторов (ЯТФ), прежде всего NFkB, находятся молекулярные механизмы развития хронического низкоинтенсивного системного воспаления (ХСВ) [5].

В последние годы была сформулированна концепция перманентной активации NF-kB (долгосрочной и низкоинтенсивной), как возможного типового патологического процесса, который обуславливает взаимосвязь инсулинорезистентности, хронического воспаления, артериальной гипертензии, эндотелиальной дисфункции и дислипидемии (Кайдашев І.П., 2012). В связи с этим, актуальным является поиск методов снижения транскрипционной активности NF-kB (диета, физические нагрузки, лечебные препараты), которые будут устранять молекулярную основу развития метаболического/инсулинорезистентного синдрома и снижать риск сердечно-сосудистых заболеваний [2]. В ранее проведенных исследованиях было показано, что метформин снижает активацию NFkB, возможно, за счет ингибирования активации IKK [1].

Цель работы: исследование влиния метформина на уровень глюкозы, липидный обмен и уровень экспрессии провоспалительных факторов в тканях печени мышей, которые находились на диете с высоким содержанием фруктозы.

Материалы и методы исследования

Эксперимент проведен на 3-х месячных мышах линии BALBc массой 25-30г, которых содержали в полипропиленовых клетках в контролированных условиях 12 часового светового/12 часового темнового цикла. Животные находились на стандартном рационе питания (60% растительного крахмала) и воде в неограниченном доступе одну неделю. Исследование проведено в соответствии с разрешением комиссии по биоэтике Высшего государственного учебного заведения Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия».

Через неделю акклиматизационного периода животные были разделены на 4 группы поровну: 1 группа – мыши, находящиеся на стандартном рационе питания и воде; 2 группа – мыши, находящиеся на стандартном рационе питания и воде, которым вводили метформин (per os) в дозе 50 мг/кг с 85-ого дня эксперимента в течении 49 дней [14,15]; 3 группа – мыши, которые находились на ДВСФ (60г фрукто-

* Цитування при атестації кадрів: *Шлыкова О. А., Микитюк М. В., Боброва Н.Л, и др. Влияние метформина на липидный обмен и хроническое воспаление в тканях печени мышей при диете с высоким содержанием фруктозы* // Проблеми екології і медицини. – 2014. – Т. 18, № 3-4. – С. 64 –67.

зы/100г корма); 4 группа – мыши, находящиеся на ДВСФ, которым вводили метформин (per os) в дозе 50 мг/кг с 85-ого дня эксперимента в течении 49 дней.

В состав стандартного рациона питания входила зерновая смесь (пшеница, овес, ячмень, просо), кукуруза, семена подсолнечника, горох, зерновой гранулят, орехи, сухие фрукты. Минеральные компоненты: соли кальция, фосфора, калия, натрия. Витамины: А, В1, В2, Д3, Е, Н. Содержание питательных веществ: сырой протеин – 11%, сырой жир – 4,0%, сырая клетчатка – 10,0%, кальций – 0,15%, фосфор – 0,1%, влага – 10%.

На 134 день эксперимента после 12-часового периода голодания животным проводили определение концентрации глюкозы в сыворотке крови до и через 120 минут после нагрузки глюкозой (2г/кг) (тест на толерантность к глюкозе). Концентрацию глюкозы (ГЛ) определяли в крови из хвостовой вены, при помощи глюкометра «ГЛЮКОФОТ» со стандартными индикаторными-полосками «ГЕМОГЛАН» (ПВП «НОРМА», Украина).

На 135 день экспериментального периода животные были умервщлены путем цервикальной дислокации. Кровь отбирали в сухие пластиковые пробирки. Сыворотку отделяли центрифугированием при 400g 10 минут. В сыворотке крови определяли концентрацию общего холестерина (ОХ) и триглицеридов (ТГ) с помощью наборов реагентов (LACHEMA, Чехия), концентрацию церулоплазмина (ЦП) методом ферментативного окисления п-фенилдиамина [3]. Проводили забор тканей печени на льду и гомогенизировали ее в охлажденном 0,1М фосфатном буфере, pH 7,4. В гомогенате печени определяли содержание матричной РНК (mRNA) ингибитора NF-kB (IkBα) и mRNA фактора некроза опухоли α (TNFα), выделенную при помощи комплекта реагентов «Рибозоль-В» (AmpliSens, Россия). Для получения кДНК в реакции обратной транскрипции использовали праймер олиго (dT) 18 и обратную транскриптазу M-MuLV (SibEnzyme, Россия). Анализировали экспрессию генов методом ПЦР в режиме «реального времени», применяя олигонуклеотидные праймеры к кДНК IkBα:
5'-TGAAGGACGAGGAGTACGAGC-3';
5'-TTCGTGGATGATTGCCAAGTG-3'
и TNFα: 5'-CCCTCACACTCAGATCATCTTCT-3';
5'-GCTACGACGTGGGCTACAG-3', в присутствии красителя SYBR Green I («Синтол», Россия) с использованием детектирующего амплификатора ДТ-322 («ДНК-Технология», Россия) путем относительного количественного анализа. В качестве референтного гена использовали ген глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназы (GAPDH):
5'-AACTTTGGCATTGTGGAAGG-3';
5'-GGATGCAGGGATGATGTTCT-3 '

Для анализа данных применяли относительный Ct метод с расчетом ΔCt [18].

Результаты обработаны статистически при помощи программы STATISTICA 6.0. (“StatSoft”, США). Данные приведены в виде выборочного среднего (M), выборочного стандартного отклонения (S/D). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты и их обсуждение

Как показали наши исследования в течении экспериментального периода наблюдалось постепенное увеличение массы тела в исследуемых группах мышей. В таблице 1 показано, что окончательная средняя масса тела мышей (г) составляла в 1 группе - 32,9±2,0; во 2, 3 и 4: 34,7±2,33; 29,9±5,29; 31,1±2,08, соответственно. Следует отметить, что средние значения окончательной массы тела мышей существенно не отличались друг от друга по группам.

Таблица 1.
Изменение массы тела в исследуемых группах животных (M ±SD).

Показатель	Группы			
	1	2	3	4
Исходная масса тела, г	28,4±2,2	31,2±1,56	25,9±2,1	29,2±1,13
Масса тела ч/з 84 дня, г	32,6±2,8	33,7±0,77	28,8±3,2	30,3±1,36
Масса тела ч/з 134 дня, г	32,9±2,0	34,7±2,33	29,9±5,29	31,1±2,08

При определении толерантности к глюкозе, в исследуемых группах мышей было отмечено статистически значимое возрастание концентрации ГЛ натощак в крови мышей находящихся на ДВСФ, в отличие от мышей 1 группы (p=0,0059) (рис.1). Под влиянием метформина концентрация глюкозы в сыворотке крови мышей 4 группы снижалась в сравнении с 3 группой мышей (p=0,052) (рис.1)

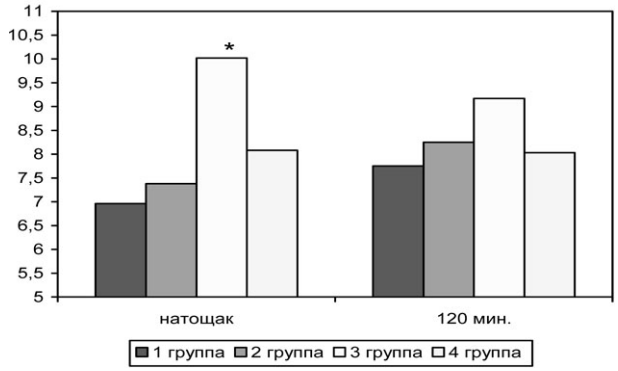


Рисунок 1. Уровень глюкозы в группах исследуемых животных натощак и через 120 минут после нагрузки глюкозой (2г/кг).

*Примечание: * – p<0,05 по сравнению с 1 группой.*

В наших исследованиях под воздействием ДВСФ изменялись процессы липогенеза в клетках печени, о чем свидетельствовало повышение уровня ОХ до 3,05±0,57 ммоль/л и ТГ до 2,15±0,42 ммоль/л в сыворотке крови 3 группы мышей по сравнению с мышами 1 группы, которые находились на стандартном рационе питания без добавления фруктозы (p<0,05) (табл.2).

Таблица 2.
Изменения уровня общего холестерина и триглицеридов в сыворотке крови исследуемых животных (M ±SD).

Показатель	Группы			
	1	2	3	4
ОХ, ммоль/л	1,6 ± 0,38	1,75 ± 0,31	3,05 ± 0,57*	2,6 ± 0,46
ТГ, ммоль/л	1,13 ±0,57	1,3 ± 0,35	2,15 ± 0,42*	1,48 ± 0,23**

*Примечание: * – p<0,05 по сравнению с 1 группой;*
*** – p<0,05 по сравнению с 3 группой.*

Метформин снижал интенсивность липогенеза в клетках печени 4 группы мышей, о чем свидетельствовало уменьшение уровня ТГ (1,48±0,23 ммоль/) по сравнению с 3 группой (2,15±0,23 ммоль/л) (p=0,049), уровень ОХ статистически значимо не изменялся (p=0,2) (табл.2).

В тоже время по данным гистологических исследований не наблюдалось клинически значимых структурных изменений тканей печени ни у одной из групп мышей. Также не изменялись показатели коэффициента массы печени в исследуемых группах животных, которые составили для 1 группы - 0,056 ±0,008, 2 группы - 0,054 ±0,003, 3 группы - 0,06 ±0,009, 4 группы - 0,061 ±0,01.

На следующем этапе работы оценивали проявления системного воспалительного ответа. В качестве маркеров воспалительного процесса определяли уровень ЦП в сыворотке крови и экспрессиию мРНК TNFα и IκBα в гомогенатах тканей печени. В предыдущих исследованиях Кайдашев И. П. и соавт., 2008, было предположено, что содержание ЦП в сыворотке крови может служить маркером повышенного риска воспаления при метаболическом синдроме, и на ряду с другими показателями, позволит оценить уровень развития системного воспалительного ответа [4]. Как видно из данных, представленных на рисунке 2, увеличение содержания фруктозы в рационе питания привело к достоверному увеличению уровня церулоплазмина в сыворотке крови 3 группы мышей 297,65 ± 17,07 мг/л по сравнению с 1 группой – 221,9 ± 18,5 мг/л (p=0,0004).

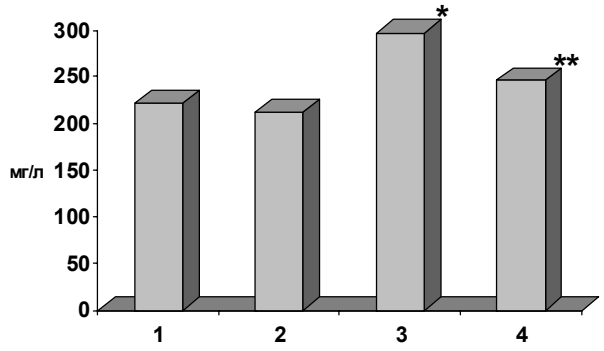


Рисунок 2. Изменения уровня церулоплазмина в группах исследуемых животных.

*Примечание: * – p<0,05 по сравнению с 1 группой; ** – p<0,05 по сравнению с 3 группой.*

Была изучена экспрессия мРНК TNFα и IkBα в тканях печени мышей при увеличении содержания фруктозы в рационе питания и при воздействии метформина.

В группе животных, находящихся на ДВСФ усиливалась экспрессия мРНК TNFα и практически не изменялась экспрессия мРНК IkBα (табл.3).

Под воздействием метформина уменьшались проявления хронического воспаления за счет снижения уровня церулоплазмина в сыворотке крови животных 4 группы (246,67±15,41 мг/л) в сравнении с 3 группой (297,65±17,07 мг/л) (p=0,0044) (рис.2). Под влиянием метформина снижался уровень экспрессии мРНК TNFα в клетках печени, исследуемых животных. Метформин практически не влиял на экспрессию мРНК IκBα (табл.3).

В нашем исследовании продемонстрировано, что увеличение содержания фруктозы в рационе питания приводит к повышению концентрации глюкозы, ОХ и ТГ в крови мышей. Усиливаются проявления системного воспалительного ответа, о чем свидетельствует повышение уровня церулоплазмина в сыворотке крови и уровня экспрессии мРНК TNFα в тканях печени животных находящихся на ДВСФ. В тоже время, мы не наблюдали в танях увеличения массы тела и структурных изменений тканей печени мышей при высоком потреблении фруктозы с пищей.

Таблица 3.
Изменения уровня относительных экспрессий мРНК TNFα и мРНК IkBα в тканях печени исследуемых животных (M ±SD).

Показатель	Группы			
	1	2	3	4
Экспрессия ФНО-альфа, ΔCt	14,67 ±0,74	11,62 ±0,78	12,42 ±0,94*	14,75 ±1,04**
Экспрессия IkB-альфа, ΔCt	11,2 ±1,04	10,0 ±0,28	10,62 ±0,88	11,2 ±1,97

*Примечание: * – p<0,05 по сравнению с 1 группой; ** – p<0,05 по сравнению с 3 группой.*

Полученные данные об изменении процесса липогенеза в клетках печени мышей на ДВСФ согласуются с исследованиями Basciano H.et all, 2005, в которых показано, что большое поступление фруктозы в печень, активирует метаболизм глюкозы и пути ее усвоения, и приводит к значительному повышению скорости de novo липогенеза, синтеза триглицеридов (ТГ), что обусловлено высоким потоком глицерина и ацил частей молекул фруктозного катаболизма. Эти метаболические нарушения, по всей видимости, могут быть одной из причин, лежащих в основе индукции резистентности к инсулину, которая часто наблюдается у людей и животных при большом потреблении фруктозы с пищей. [8].

Отсутствие увеличения массы тела мышей, изменений массы и структуры печени в наших исследованиях возможно связано с большим содержанием пищевых волокон в рационе их питания. Многочисленные экспериментальные и клинические исследования показали благотворное влияние диеты с высоким содержанием пищевых волокон на течение метаболического синдрома [6, 9, 10].

Усиление системного воспалительного ответа в наших исследованиях, подтверждается повышением концентрации сывороточного церулоплазмина и экспрессии мРНК TNFα в печени, а как известно TNFα является маркером активации NFkB. Существуют данные, показывающие, что печеночная инсулинорезистентность индуцированная активацией NFkB связана с повышением экспрессии TNFα, IL-6 и IL-1 [12].

В предыдущих наших исследованиях было выдвинуто предположение, что метформин влияет на NFkB-сигнальный путь, возможно изменяя активность IKK [1]. Активация IKK является одним из ключевых медиаторов инсулинорезистентности, о чем свидетельствует повышение чувствительности к инсулину при направленных нарушениях в гене IKK [17] Учитывая, что в данном исследовании активация NFkB в тканях печени мышей может быть связана с избыточной экспрессией IKK и вызывает резистентность печени, скелетных мышц к действию инсулина и признаки системной воспалительной реакции (увеличение сывороточного IL-6) [13], мы продолжили изучение влияния метформина на NFkB-сигнальный путь в эксперименте.

В нашем исследовании, метформин в дозе 50 мг/кг снижал продукцию триглицеридов в клетках печени мышей находящихся на ДВСФ, способствовал нормализации печеночного глюконеогенеза. Введение метформина оказывало противовоспалительное действие, путем снижения концентрации сывороточ-

ного церулоплазмина и экспрессии мРНК TNFα в тканях печени этих животных.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о протективном эффекте метформина на углеводный, липидный обмен, а также уровень экспрессии провоспалительных факторов, связанных с NFkB-сигнальным путем в тканях печени мышей, которые находились на диете с высоким содержанием фруктозы.

Литература

1. Влияние метформина на продукцию провоспалительных цитокинов и инсулинорезистентность (NFkB-сигнальный путь) / Лавренко А. В. [и др.] // Проблемы эндокринологии. - 2012. - №2. – С. 25 – 28
2. Кайдашев І.П. Активація NF-kB при метаболічному синдромі / І. П. Кайдашев // Фізіол. Журн. -2012. – Т.58, №1. – С. 93-101
3. Колб В. Г., Калашников В. С. Клиническая биохимия. – Минск: Беларусь,1976. – С. 219 – 220
4. Куценко Л. А. Место церулоплазмина среди белков острой фазы как маркера системного воспаления / Л. А. Куценко, И. П. Кайдашев // Лабораторна діагностика. – 2011. – 3(57). –С. 59 – 68
5. Лавренко А. В. 4Метформин и пиоглитазон как средства борьбы с системным воспалением низкой интенсивности / А. В. Лавренко, Н. И. Винник, С. М. Расин, М. С. Расин, И. П. Кайдашев // Проблеми екології та медицини. – 2012. – Т. 16., №3-4. – С. 3 – 8.
6. Activation 15 of the AMP activated protein kinase by short-chain fatty acids is the main mechanism underlying the beneficial effect of a high fiber diet on the metabolic syndrome / Hu GX, Chen GR, Xu H, Ge RS, Lin J. // Med Hypotheses. -2010. – Vol.74(1). – P. 123-126.
7. Arkan M. C. 3Hevener AL,Greten FR, et al. IKK-beta links inflammation to obesity-induced insulin resistance / M. C. Arkan, A. L. Hevener, F. R. Greten [et all.] // Nat.Med. – 2005. – N 11. – P. 191-198.
8. Basciano H. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia [Електронний ресурс] / H. Basciano, L. Federico, A. Khosrow // Nutrition & Metabolism. – 2005. - **2**:5. – Режим доступу до журн.: doi:10.1186/1743-7075-2-5.
9. Ferguson L. R. Is the dietary fibre concept becoming too hard to digest? / L. R. Ferguson // British Journal of Nutrition. – 2008. - N 100. – P. 693–694
10. Health benefits of dietary fiber / James W Anderson, Pat Baird, Richard H Davis [et all.] // Nutrition Reviews®. - Vol. 67(4). – P. 188–205.
11. Kelley G. L. High dietary fructose induced a hepatic stress response resulting in cholesterol and lipid dysregulation / G. L. Kelley, G. Allan, S. Azhar // Endocrinology. - 2004. - N 145. – P. 548 – 555.
12. Lazar M. A. 16 The tumoral side of insulin resistance / M. A. Lazar // Nat Med. – 2006. – N.12. – P.43 -44.
13. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB / D. Cai, M. Yuan, D. F. Frantz [et all.] // Nat Med. - 2005. – Vol. 11. – Vol. 183–190
14. Metformin inhibits hepatic gluconeogenesis in mice independently of the LKB1/AMPK pathway via a decrease in hepatic energy state / M. Foretz [et all.] // The Journal of Clinical Investigation. – Vol.120, N.7. - P. 2355 – 2369.
15. Metformin therapy in a hyperandrogenic anovulatory mutant murine model with polycystic ovarian syndrome characteristics improves oocyte maturity during superovulation / Sabatini M. E. Et all // Journal of Ovarian Research. – 2011. Vol. – 4. – P. 8.
16. Poss 1A. P. A high fructose diet impairs spatial memory in male rats / A. P. Poss [et all.] // Neurobiol Learn Men. - 2009. - Vol. 92, N. 3. – P. 410 – 416.
17. Reversal of obesity- and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of Ikkbeta / Yuan M., Konstantopoulos N., Lee J. [et all.] // Science. – 2001. – Vol. 293(5535). – P. 1673–1677
18. Schmittgen T. D., Livak K. J. Analyzing real-time PCR data by the comparative C_t method / T. D. Schmittgen, K. J. Livak // NATURE PROTOCOLS. – 2008. - Vol.3, N.6. – P. 1101 – 1108.

<u>ENGLISH VERSION:</u> INFLUENCE OF METFORMIN ON LIPID METABOLISM AND CHRONIC INFLAMMATION IN THE LIVER TISSUES OF MICE ON A DIET RICH IN FRUCTOSE*

Shlykova O.A. , Mikityuk M.V. , Bobrova N.L.. , Izmailova O.V. , Mamontova T.V. , Baranova A.F. , Vesnina L.E. , Kaidashev I.P.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

The effect of metformin on lipid metabolism and the expression of pro-inflammatory factors in the liver tissue of mice that were on a diet rich in fructose (DRF) (60 g fructose / 100 g of food) has been studied. The concentrations of total cholesterol (TC), triglycerides (TG), ceruloplasmin (CP), glucose in serum and mRNA expression of inhibitor of NF-kB (IkBα), mRNA of tumor necrosis factor α (TNFα) have been determined in homogenates of liver tissues in 3-months-aged mice of BALBc line weighing 25-30 g. It has been demonstrated that increasing the content of fructose in the diet leads to increased concentrations of glucose, TC and TG in the blood of mice. Manifestations of systemic inflammatory response become stronger, as evidenced by the increase in CP in the blood serum and the expression level of mRNA of TNFα in liver tissues of animals that were on a DRF. Metformin in the dose of 50 mg / kg per day reduced the production of triglycerides in the blood serum of mice that were on a DRF; it contributed to the normalization of hepatic gluconeogenesis. Administering metformin caused anti-inflammatory effect by lowering serum CP and expression of mRNA of TNFα in liver tissues of these animals. Thus, the data suggest the protective effect of metformin on lipid metabolism and the expression of pro-inflammatory factors associated with NF-kB-signaling pathway in the liver tissues of mice which were on a DRF.

Keywords: diet rich in fructose, metformin, expression, proinflammatory factors.

Numerous studies display that diet rich in fructose (DRF) causes various pathological changes, including oxidative stress, impaired glucose tolerance, insulin resistance, type 2 diabetes, liver conditions, hypertension

* *To cite this Shlykova O.A., Mikityuk M.V. , Bobrova N.L. , at all. Influence of metformin on lipid metabolism and chronic inflammation in the liver tissues of mice on a diet rich in fructose / / Problemy ekologii ta medytsyny. - 2014. - Vol 18, № 3-4. - P. 67 -70.*

and other cardiovascular diseases [16]. It is shown that lipid metabolism in the development of stress of hepatocytes in animals on DRF occurs in the result of fructose metabolism overload [11]. It is assumed that the increased production of lipids in the liver enhances mitochondrial beta-oxidation of fatty acids, generation of peroxidation products that stimulate IkB-kinase (IKK), and therefore the activation of NFkB [7]. It is known that molecular mechanisms of chronic low-level systemic inflammation (CSI) are closely associated with the activation of proinflammatory nuclear transcription factors (NTF), primarily NFkB [5].

In recent years, the concept of permanent NF-kB activation (long-term and low-intensity) has been formulated as a possible model of pathological process that determines the relationship between insulin resistance, chronic inflammation, hypertension, endothelial dysfunction and dyslipidemia (I.P. Kaidashev, 2012). In this regard, the search for methods to reduce the transcriptional activity of NF-kB (diet, exercise, therapeutic drugs) is relevant, since it will eliminate the molecular basis of the metabolic / insulin resistance syndrome and reduce the risk of cardiovascular diseases [2]. Previous studies have shown that activation of metformin reduces NFkB, possibly by inhibiting the activation of IKK [1].

The aim of the research is to study the influence of metformin on blood glucose, lipid metabolism and the level of expression of proinflammatory factors in the liver tissues of mice that were on a diet rich in fructose.

Materials and methods of the research

The experiment was performed on mice of BALBc line aged 3 months, weighing 25-30 g, kept in polypropylene cages under controlled conditions of 12 hours light / 12 hours dark cycle. Animals were on a standard diet (60% of vegetable amylum) and with unlimited access to water for one week. The study was conducted in accordance with authorization of the Bioethics Commission of Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy".

In a week after acclimation period, the animals were divided into four equal groups: group 1 – mice on a standard diet and water; group 2 – mice on a standard diet and water, which were administered metformin (per os) in a dose of 50 mg / kg from the 85th day of the experiment for 49 days [14, 15]; group 3 – mice on a DRF (60 g fructose / 100 g of food); group 4 – mice on a DRF, which were administered metformin (per os) in a dose of 50 mg / kg from the 85th day of the experiment for 49 days.

The standard diet comprised the grain mixture (wheat, oats, barley, and millet), maize, sunflower seeds, peas, corn granules, nuts, and dried fruit. Mineral component were: calcium, phosphorus, potassium, sodium. Vitamins: A, B1, B2, D3, E, N. The nutrient content: crude protein – 11%; crude fat – 4.0%; crude fiber – 10.0%; calcium – 0.15%, phosphorus – 0 1%; moisture – 10%.

On the 134th day of the experiment, after 12-hour fasting period, the concentration of glucose in blood serum of animals was determined before and in 120 minutes after the glucose load (2 g / kg) (test the glucose tolerance). The concentration of glucose (GL) was determined in blood from the tail vein using "GLYUKOFOT" glucometer with standard indicator strips "GEMOGLAN" (PIE "NORM", Ukraine).

On the 135th day of the experimental period, the animals were euthanized by cervical dislocation. Blood was collected in dry plastic vials. Serum was separated by centrifugation at 400 g for 10 minutes. In blood serum, concentration of total cholesterol (TC) and triglycerides (TG) using the reagents kit (LACHEMA, Czech Republic), the concentration of ceruloplasmin (CP) by enzymatic oxidation of p-phenyldiamine were determined [3]. The sampling of liver tissue was performed and homogenised on ice in refrigerated 0.1M phosphate buffer, pH 7.4. In liver homogenate, the content of RNA messenger (mRNA), NF-kB inhibitor (IkBα) and mRNA of tumor necrosis factor α (TNFα), isolated using the reagents kit "Ribo-sol-B" (AmpliSens, Russia), were determined. For obtaining cDNA in the reverse transcription reaction, primer oligo (dT) 18 and reverse transcriptase M-MuLV (SibEnzyme, Russia) were used. Gene expression was analyzed by PCR method in "real time", using oligonucleotide primers for cDNA IkBα: 5'-TGAAGGACGAGGAGTACGAGC-3'; 5'-TTCGTGGATGATTGCCAAGTG-3' and TNFα: 5'-CCCTCACACTCAGATCATCTTCT-3'; 5'-GCTACGACGTGGGCTACAG-3', in the presence of the dye SYBR Green I ("Synthol", Russia), using the detecting amplifier DT-322 ("DNA Technology", Russia) via relative quantitative analysis. The gene of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) was used as a reference gene: 5'-AACTTTGGCATTGTGGAAGG-3'; 5'-GGATGCAGGGATGATGTTCT-3'.

For data analysis, relative Ct method with the calculation formula ΔCt was used [18].

The results were processed statistically using the program STATISTICA 6.0. ("StatSoft", USA). The data are presented as the sample average (M), the sample standard deviation (S / D). The critical level of significance when testing the statistical hypotheses was set at 0.05.

Results and discussion

As our research has shown, the gradual increase in body weight of mice in the studied groups during the trial period was observed. Table 1 displays that the final average body weight of mice (g) in group 1 was 32,9 ± 2,0; in groups 2, 3 and 4: 34,7 ± 2,33; 29,9 ± 5,29; 31,1 ± 2,08, respectively. It should be noted that the average value of the final weight of mice in groups did not differ significantly from each other.

Table 1.
Change in body weight in the studied groups of animals (M ± SD).

Parameter	Groups			
	1	2	3	4
Initial body weight, g	28,4±2,2	31,2±1,56	25,9±2,1	29,2±1,13
Body weight in 84 days, g	32,6±2,8	33,7±0,77	28,8±3,2	30,3±1,36
Body weight in 134 days, g	32,9±2,0	34,7±2,33	29,9±5,29	31,1±2,08

When determining the glucose tolerance, a statistically significant increase in concentration of GL (in fasting state) in the blood of mice on DRF was observed, unlike the mice of group 1 (p = 0.0059) (Fig.1). Under the influence of metformin, glucose concentration in the blood serum of mice from group 4 was reduced in comparison with group 3 (p = 0.052) (Figure 1)

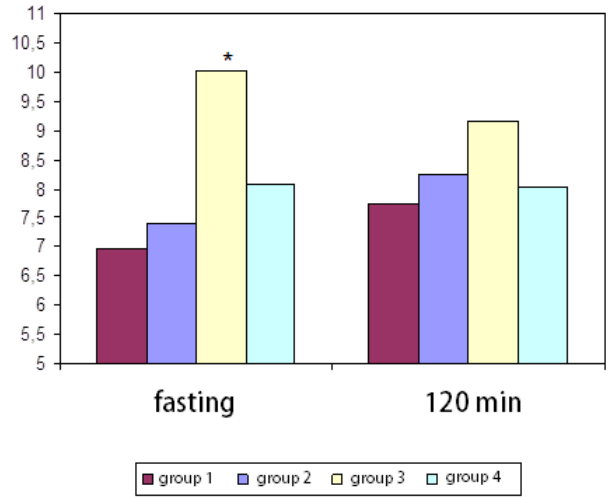


Figure 1. Glucose level in groups of studied animals in fasting state and in 120 min after the glucose load (2 g / kg).

*Note: * – p <0.05 as compared with group 1.*

In our studies, the lipogenesis processes in liver cells varied under the influence of DRF, as evidenced by the increase in TC to 3.05 ± 0.57 mmol / l and triglyceride to 2.15 + 0.42 mmol / l in the serum of group 3 as compared with mice of group 1, who were on a standard diet with no added fructose (p <0.05) (Table 2).

Table 2.
Changes in the level of total cholesterol and triglycerides in the serum of studied animals (M + SD).

Parameter	Groups			
	1	2	3	4
TC, mmol / l	1,6 ± 0,38	1,75 ± 0,31	3,05 ± 0,57*	2,6 ± 0,46
TG, mmol / l	1,13 ±0,57	1,3 ± 0,35	2,15 ± 0,42*	1,48 ± 0,23**

*Note: * – p <0.05 as compared with group 1;*
*** – p <0.05 as compared with group 3.*

Metformin reduced the intensity of lipogenesis in liver cells of group 4, as evidenced by reduction in triglycerides (1,48 ± 0,23 mmol / l) as compared to group 3 (2,15 ± 0,23 mmol / l) (p = 0.049), the TC level did not significantly change (p = 0.2) (Table 2).

At the same time, according to histological studies, no clinically significant structural changes in liver tissues were observed in the studied groups of mice. The indicators of liver mass coefficient in the studied groups of animal did not change as well, amounting in group 1 – 0,056 ± 0,008, group 2 – 0,054 ± 0,003, group 3 – 0,06 ± 0,009, group 4 – 0,061 ± 0,01.

At the next stage of work, manifestations of systemic inflammatory response were assessed. As markers of the inflammatory process, the level of CP in blood serum and the expression of mRNA of TNFα and IκBα in liver homogenates were determined. In previous studies of I. P. Kaidashev et al., 2008, it was assumed that the contents of CP in serum may be a marker of increased risk of inflammation and metabolic syndrome, and along with other indicators, it will allow assessing the level of systemic inflammatory response [4]. As seen from the data presented in Figure 2, the increase in fructose content in the diet led to a significant increase in the level of ceruloplasmin in serum of group 3 – 297.65 + 17.07 mg / l as compared with group 1 – 221.9 + 18,5 mg / l (p = 0.0004).

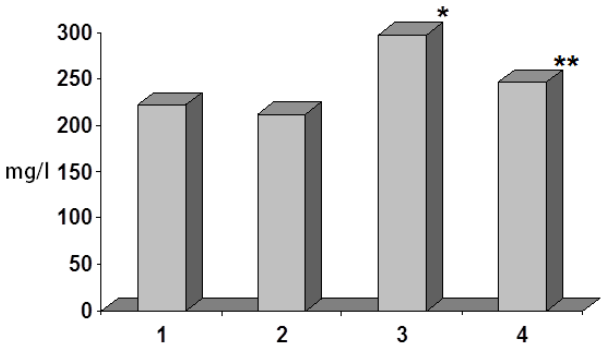


Figure 2. Changes in the level of ceruloplasmin in groups of studied animals.

*Note: * – p <0.05 as compared with group 1;*
*** – p <0.05 as compared with group 3.*

The expression of mRNA of TNFα and IkBα in liver tissues of mice by increasing the content of fructose in the diet, as well as under exposure to metformin, was studied.

In the group of animals on a DRF, expression of mRNA of TNFα increased and expression of mRNA of IkBα did not virtually change (Table 3).

Under the action of metformin, the manifestations of chronic inflammation reduced due to decrease of ceruloplasmin level in serum of animals from group 4 (246,67 ± 15,41 mg / l) as compared to group 3 (297,65 ± 17,07 mg / L) (p = 0.0044) (Figure 2). Under the influence of metformin, expression of mRNA of TNFα in liver cells decreased. Metformin had virtually no effect on expression of mRNA of IκBα (Table 3).

Table 3.
Changes in the relative mRNA expression of mRNA of TNFα and IkBα in liver tissues of studied animals (M ± SD).

Parameter	Groups			
	1	2	3	4
Expression of TNF-alpha, ΔCt	14,67 ±0,74	11,62 ±0,78	12,42 ±0,94*	14,75 ±1,04**
Expression of IkB-alpha, ΔCt	11,2 ±1,04	10,0 ±0,28	10,62 ±0,88	11,2 ±1,97

*Note: * – p <0.05 as compared with group 1;*
*** – p <0.05 as compared with group 3.*

In our study it has been demonstrated that the increase of fructose content in the diet leads to increased concentrations of glucose, TC and TG in the blood of mice. Manifestations of systemic inflammatory response are exacerbated, as evidenced by the increase in the level of ceruloplasmin in serum and the level of expression of mRNA of TNFα in liver tissues of animals that were on DRF. At the same time, we observed no increase in body mass and structural changes in the liver tissue of mice by high fructose intake with food.

The data on the changes in the process of lipogenesis in liver cells of mice on a DRF are consistent with studies of H. Basciano et al, 2005, in which it is shown that large admission of fructose to the liver activates the metabolism of glucose and the way of its assimilation, leads to a significant increase in the rate of de novo lipogenesis, the synthesis of triglycerides (TG), which is due to the high flux of glycerol and acyl molecule units of fructose catabolism. These metabolic disorders appear to be one of the reasons underlying the induction of insulin resistance, which is often observed in humans and animals with large consumption of dietary fructose [8].

No increase in body weight of mice, as well as the lack of changes in weight and structure of the liver in our studies may be due to the high content of dietary fiber in the diet of mice. Numerous experimental and clinical studies have shown beneficial effects of a diet high in dietary fiber for metabolic syndrome [6, 9, 10].

Strengthening the systemic inflammatory response in our study is confirmed by an increased concentration of serum ceruloplasmin and expression of mRNA of TNFα in the liver, and as is known, TNFα is a marker of activation of NFkB. There is evidence to show that hepatic insulin resistance induced by NFkB activation is associated with increased expression of TNFα, IL-6 and IL-1 [12].

In our previous studies it has been suggested that metformin affects NFkB-signaling pathway, possibly by changing the activity of IKK [1]. IKK activation is one of the key mediators of insulin resistance, as evidenced by the increased sensitivity to insulin at directed disorders in IKK gene [17]. Considering the fact that in this study the activation of NFkB in the liver of mice may be associated with overexpression of IKK, causing resistance of liver and skeletal muscle to the action of insulin and signs of systemic inflammatory response (increase of serum IL-6) [13], we continued to study the effect of metformin on NFkB-signaling pathway in the experiment.

In our study, metformin at 50 mg / kg reduced the production of triglycerides in liver cells of mice that were on DRF, facilitated normalization of hepatic gluconeogenesis. Administering metformin has anti-inflammatory effect, by reducing the concentration of serum ceruloplasmin and expression of mRNA of TNFα in liver tissues of these animals.

Thus, the findings suggest that metformin has protective effect on carbohydrate and lipid metabolism, as well as the level of expression of proinflammatory factors associated with NFkB-signaling pathway in liver tissues of mice that were on a diet rich in fructose.

References

1. Vliyanie metformina na produkziyu provospalitel'nych zitokinov i insulinorezistentnost' (NFkB-signal'nyy put') / Lavrenko A. V. [i dr.] // Problemy endokrinologii. - 2012. - №2. – S. 25 – 28
2. Kaydashev I.P. Aktivaziya NF-kB pri metabolichnomu sindromi / I. P. Kaydashev // Fiziol. Zhurn. -2012. – T.58, №1. – S. 93-101
3. Kolb V. G., Kalashnikov V. S. Klinicheskaya biochimiyayu – Minsk: Belarus',1976. – S. 219 – 220
4. Kuzenko L. A. Mesto zeruloplazmina sredi belkov ostroy fazy kak markera sistemnogo vospaleniya / L. A. Kuzenko, I. P. Kaydashev // Laboratorna diagnostika. – 2011. – 3(57). –S. 59 – 68
5. Lavrenko A. V. Metformin i pioglitazon kak sredstva bor'by s sistemnym vospaleniem nizkoy intensivnosti / A. V. Lavrenko, N. I. Vinnik, S. M. Rasin, M. S. Rasin, I. P. Kaydashev // Problemi ekologiї ta medizini. – 2012. – T. 16., №3-4. – S. 3 – 8.
6. Activation of the AMP activated protein kinase by short-chain fatty acids is the main mechanism underlying the beneficial effect of a high fiber diet on the metabolic syndrome / Hu GX, Chen GR, Xu H, Ge RS, Lin J. // Med Hypotheses. -2010. – Vol.74(1). – P. 123-126.
7. Arkan M. C. Hevener AL,Greten FR, et al. IKK-beta links inflammation to obesity-induced insulin resistance / M. C. Arkan, 3 A. L. Hevener, F. R. Greten [et all.] // Nat.Med. – 2005. – N 11. – P. 191-198.
8. Basciano H. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia [Elektronniy resurs] / H. Basciano, L. Federico, A. Khosrow // Nutrition & Metabolism. – 2005. - **2**:5. – Режим доступу до журн.: doi:10.1186/1743-7075-2-5.
9. Ferguson L. R. Is the dietary fibre concept becoming too hard to digest? / L. R. Ferguson // British Journal of Nutrition. – 2008. - N 100. – P. 693–694
10. Health benefits of dietary fiber / James W Anderson, Pat Baird, Richard H Davis [et all.] // Nutrition Reviews®. - Vol. 67(4). – P. 188–205.
11. Kelley G. L. High dietary fructose induced a hepatic stress response resulting in cholesterol and lipid dysregulation / G. L. Kelley, G. Allan, S. Azhar // Endocrinology. - 2004. - N 145. – P. 548 – 555.
12. Lazar M. A. The tumoral side of insulin resistance / M. A. Lazar // Nat Med. – 2006. – N.12. – P.43 -44.
13. Local 19 and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB / D. Cai, M. Yuan, D. F. Frantz [et all.] // Nat Med. - 2005. – Vol. 11. – Vol. 183–190
14. Metformin 7 inhibits hepatic gluconeogenesis in mice independently of the LKB1/AMPK pathway via a decrease in hepatic energy state / M. Foretz [et all.] // The Journal of Clinical Investigation. – Vol.120, N.7. - P. 2355 – 2369.
15. Metformin therapy in a hyperandrogenic anovulatory mutant murine model with polycystic ovarian syndrome characteristics improves oocyte maturity during superovulation / Sabatini M. E. Et all // Journal of Ovarian Research. – 2011, 4:8
16. Poss A. P. A high fructose diet impairs spatial memory in male rats / A. P. Poss [et all.] // Neurobiol Learn Men. - 2009. - Vol. 92, N. 3. – P. 410 – 416.
17. Reversal of obesity- and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of Ikkbeta / Yuan M., Konstantopoulos N., Lee J. [et all.] // Science. – 2001. – Vol. 293(5535). – P. 1673–1677
18. Schmittgen T. D., Livak K. J. Analyzing real-time PCR data by the comparative C_t method / T. D. Schmittgen, K. J. Livak // NATURE PROTOCOLS. – 2008. - Vol.3, N.6. – P. 1101 – 1108

Матеріал надійшов до редакції 10.09.2014

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

© Лавренко А.В., Расин М.С., Савченко Л.Г., Мамонтова Т.В., Веснина Л.Э., Кайдашев И.П
УДК 616.379-008.64-06+616.127-005.4]:615.349

РЕЗУЛЬТАТЫ 3-МЕСЯЧНОГО ЛЕЧЕНИЯ МЕТФОРМИНОМ ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА В СОЧЕТАНИИ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА*

Лавренко А.В., Расин М.С., Савченко Л.Г., Мамонтова Т.В., Веснина Л.Э., Кайдашев И.П.

ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава

У 52 пацієнтів, що страждають на цукровий діабет 2 типу та ІХС вивчено вплив включення метформіну (1 г на добу) до комплексної терапії протягом 3-х місяців, порівняно з вихідним рівнем та результатами, отриманими через 1 місяць лікування. Через 3 місяці у хворих зберігається тенденція до поліпшення клінічних показників: зниженню функціонального класу стенокардії напруги, ступеня тяжкості серцевої недостатності, артеріального тиску, а також зберігається досягнуте зниження індексу маси тіла. Відзначається подальше поліпшення показників ліпідного обміну: зниження рівня загального холестерину, тригліцеридів та індексу атерогенності. Зберігається досягнутий за 1 місяць рівень глікозильованого гемоглобіну, С-пептиду, індексу інсулінорезистентності та системного запалення. Отримані результати свідчать про те, що призначення метформіну пацієнтам, які страждають на ЦД 2 типу та ІХС протягом 3 місяців, є ефективним і безпечним методом лікування таких пацієнтів.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, ішемічна хвороба серця, інсулінорезистентність, метформін, системне запалення, стенокардія напруги.

Вопрос об эффективности метформина у больных с сахарным диабетом (СД) 2 типа на фоне ИБС, а также фармакодинамические эффекты продолжает дискутироваться [1,3,4]. В предыдущих работах мы описывали эффективность и безопасность метформина как начальной сахароснижающей терапии больных СД 2 типа в сочетании с ИБС через 1 месяц лечения метформином. Были изучены клиническое течение, антропометрические данные, показатели углеводного, липидного обменов и системного воспаления. Полученные результаты показали улучшение клинического состояния, снижение массы тела, снижение уровня общего холестерина, уровня липопротеидов низкой плотности, гликозилированного гемоглабина, С-пептида, индекса инсулинорезистентности, маркеров системного воспаления, повышение уровня липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) [2].

Целью данной работы явилось изучение эффективности среднесрочного включения метформина в комплексную терапию больных с СД 2 типа в сочетании с ИБС для обоснования рациональных сроков, доз применения препарата.

Материалы и методы исследования

В клиническое исследование были включены 52 мужчины в возрасте 45-65 лет, которые страдали ИБС в сочетании с СД 2 типа. Исследование проводилось в период с 2008 по 2010 гг. на базе 1-й городской клинической больницы г. Полтавы и Научно-исследовательского института генетических и иммунологических основ развития патологии и фармакогенетики Украинской медицинской стоматологической академии. Перед началом исследования было получено одобрение комиссии по биоэтике этого учреждения.

СД 2 типа и ИБС диагностировались у пациентов согласно критериям ВОЗ.

До включения в клиническое исследование все больные проходили скрининговое обследование для верификации диагнозов СД 2 типа и ИБС. После скрининга были отобраны 52 пациента, которые принимали в течении месяца стандартный комплекс медикаментозной терапии: ацетилсалициловая кислота 75 мг 1 раз в день на ночь, бисопролол 5-10 мг 1 раз в день, аторвастин 10 мг 1 раз в день утром, нитроглицерин 0,5 мг (при приступах стенокардии), также

*Цитування при атестації кадрів: *Лавренко А.В., Расин М.С., Савченко Л.Г. и др. Результаты 3 месячного лечения метформином пациентов с сахарным диабетом 2 типа в сочетании с ишемической болезнью сердца х* // Проблеми екології і медицини. – 2014. – Т. 18, № 3-4. – С. 71 –74.

больные получали рекомендации по поводу диеты и изменения образа жизни.

В первый день исследования у всех пациентов были взяты образцы крови и проведено клиническое обследование. После этого в комплексную терапию был включен метформин в дозе 500 мг 2 раза в день (Сиофор, Берлин-Хеми), т.е. больным была впервые назначена медикаментозная терапия пероральным сахароснижающим препаратом. Повторные обследования выполнялись через 1 месяц и 3 месяца. У больных оценивались антропометрические показатели – рост, вес, рассчитывали индекс массы тела (ИМТ). Все больные были обследованы общеклинически, что включало: общий анализ крови, общий анализ мочи, анализ крови на сахар, анализ мочи на сахар, биохимический анализ крови, общий холестерин, α-холестерин, триглицериды, β-липопротеиды, общие липиды, УЗД почек, УЗД сердца, ЭКГ. Все методы были рутинными и направлены на верификацию и установление степени тяжести основного заболевания, а также выявление сопутствующей патологии.

Характер изменений течения ИБС оценивали по функциональному классу стенокардии напряжения, тяжести артериальной гипертензии, тяжести сердечной недостаточности.

Исследование изменений липидного обмена у пациентов проводились биохимическими методами при помощи определения концентрации общего холестерина, холестерина ЛПВП, общих липидов, триглицеридов, β-липопротеидов в сыворотке крови при помощи наборов реагентов (Био-Ла-Тест, Чехия).

Углеводный обмен исследовали при помощи определения концентрации глюкозы и гликозилированого гемоглобина (HbA1c) в крови пациентов. При определении гликозилированого гемоглобина пользовались набором «Гликозилированый гемоглобин» (Био-Ла-Тест, Чехия).

Концентрацию С-пептида определяли в сыворотке крови иммуноферментным методом при помощи тест-систем (DRG International, Inc., США).

Для оценки инсулинорезистентности использовали предложенный нами индекс инсулинорезистентности рассчитанный по формуле:

$$\frac{\text{концентрация С– пептидаХ концентрацию HbA1c}}{9{,}71},$$

который у здоровых людей должен быть около 1.

Изучение иммунного и воспалительного ответа проводили путем определения основных регуляторов – интерлейкина-1 (ИЛ-1), интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-8 (ИЛ-8). Для определения использовали наборы реагентов для количественного определения человеческих интерлейкинов (ИЛ-1 бета; ИЛ-6; ИЛ-8) в биологических жидкостях человека и в культуральных средах (ЗАО «Вектор-Бест», Россия).

Для оценки иммунного статуса организма исследовали провоспалительный цитокин, важный низкомолекулярный медиатор межклеточных взаимодействий – фактор некроза опухолей (ФНО). Количественный уровень альфа ФНО определяли при помощи набора реагентов для количественного определения человеческого альфа ФНО в биологических жидкостях человека и в культуральных средах (ЗАО «Вектор-Бест». Россия).

Статистическую обработку результатов исследования проводили при помощи стандартной программы STATISTICA 6.0 (StatSoft, США) с расчетом среднего арифметического, среднеквадратического отклонения, вероятности полученных результатов t-тестом для попарносвязанных и для независимых величин. Для отдельных показателей достоверность отличий рассчитывали непараметрическими методами по Уилкоксону и Ван-дер-Вердену. Разница частот оценивалась расчетом критерия χ^2 с поправкой Йейтса.

Результаты и их обсуждение

В рамках клинического исследования нами была сформирована группа пациентов страдавших СД 2 типа на фоне ИБС, которая отвечала критериям ВОЗ и ISPAD.

Таблица 1

Особенности течения СД 2 типа у пациентов с ИБС в динамике лечения

Группа (n=52)	Стенокардия напряжения		Артериальная гипертензия		Хроническая сердечная недостаточность	
	ФКII	ФКIII	Легкая ст.	Средне тяжелая ст.	NYHA I	NYHA II
До лечения метформином	47	5	14	38	22	30
Через 1 месяц терапии метформином	49	3	24	28	31	21
Через 3 месяца терапии метформином	51	1	28	24	37	15
χ^2 Пирсона, df=1 (1 месяц)	χ^2 = 0,135; p = 0,713		χ^2 = 3,359; p = 0,067		χ^2 = 2,462; p = 0,117	
χ^2 Пирсона, df=1 (3 месяца)	χ^2 = 1,592; p = 0,207		χ^2 = 6,750; p = 0,009		χ^2 = 7,678; p = 0,006	

Как видно, из данных табл. 1, пациенты с СД 2 типа на фоне ИБС, включенных в исследование, были представлены преимущественно лицами с стабильной стенокардией второго функционального класса, преобладали больные с артериальной гипертензией средней тяжести и 2 стадией сердечной недостаточности.

Эти данные подтверждают то, что были включены пациенты с ИБС, у которых ранее отмечался такой важный синдром как артериальная гипертензия.

Длительность ИБС в группе была от 1 до 10 лет, ожирения – от 1 до 5 лет, гипертонической болезни – от 1 до 10 лет.

Как представлено в табл. 1, среди пациентов преобладали имеющие стенокардию, напряжения ФКII, артериальную гипертензию легкой степени – 14, среднетяжелую – 38, хроническую сердечную недостаточность I степени – 22, а II – 30 пациентов. Включение метформина в комплексную терапию ИБС привело к улучшению клинического течения ИБС уже на первом месяце приема метформина. А через 3 месяца отмечалось достоверное снижение функционального класса стенокардии напряжения, а также тенденция к снижению уровня артериального давления и стадии хронической сердечной недостаточности.

Таблица 2

Антропометрические данные у пациентов больных ИБС и сахарным диабетом 2 типа в динамике лечения

Группа пациентов (n=52)	Вес, кг	Рост, см	Объём талии, см	Индекс массы тела, у.е.
До начала лечения метформином	112,1±7,4	176,0±6,55	118,2±7,1	35,4±4,1
Через 1 месяц терапии метформином	111,7±6,2*		116,6±5,3*	34,1±3,6*
Через 3 месяца терапии метформином	110,8±4,7*		113,6±3,9*	33,8±2,9*

**достоверность отличий при сравнении с показателями до начала лечения метформином (p<0,05)*

Как следует из таблицы 2, антропометрические показатели через 3 месяца лечения метформином не отличались от соответствующих показателей через 1 месяц и были достоверно меньшими, чем до лечения.

Таблица 3

Показатели липидного обмена у пациентов, страдающих сахарным диабетом 2 типа на фоне ИБС в динамике лечения

Группа пациентов (n=52)	Общий холестерин, ммоль/л	Холестерин ЛПВП, моль/л	Триглицериды ммоль/л	Индекс атерогенности	Холестерин ЛПНП, моль/л
До начала лечения метформином	6,58±0,27	1,30±0,04	2,14±0,19*	4,07±1,18	4,31±0,42
Через 1 месяц терапии метформином	5,04±0,21*	1,41±0,03*	1,53±0,11*	2,57±1,08*	2,97±0,20*
Через 3 месяца терапии метформином	4,53±0,19**	1,40±0,01*	1,33±0,09*	2,12±1,05**	2,77±0,16**

*Примечание: * p < 0,05 в сравнении с показателями до лечения,*

*** - p < 0,05 в сравнении с показателями через 1 месяц терапии метформином*

Через 3 месяца терапии метформином отмечено дальнейшее (по сравнению срезультатами 1-месячной терапии) снижение уровня общего холестерина за счет ХЛПНП и индекса атерогенности.

Таблица 4

Показатели углеводного обмена, состояния цитокинов та клеточных факторов у пациентов с метаболическим синдромом в динамике лечения

Группы пациентов (n=52)	Гликозилированный гемоглобин, мкмоль фруктозы/г $HbA1_c$	С пептид, нг/мл	Индекс ИР	ИЛ-1β, пг/мл	ИЛ-6, пг/мл	ИЛ-8, пг/мл	ФНО-α, пг/мл
До назначения метформина	5,23±0,75	13,63±1,52	7,35±0,88	17,92 ± 1,8	41,4±12,8	35,7±8,6	24,92±3,1
Через 1 месяц терапии метформином	4,84±0,45*	8,14±1,74*	4,10±0,82*	7,67±1,8*	19,4±1,8*	18,52±2,2*	18,52±1,9*
Через 3 месяца терапии метформином	4,10±0,27**	8,01±1,57*	4,03±0,72*	7,07±1,4**	19,1±1,5*	18,15±1,9*	18,42±1,8*

Примечание: здесь и далее - p < 0,05 в сравнении с показателями до лечения,

*** - p < 0,05 в сравнении с показателями через 1 месяц*

Как видно из данных, представленных в (табл. 4), через 3 месяца лечения метформином продолжалось снижение уровня $HbA1_c$ и ИЛ1β. Остальные показатели оставались на уровне, достигнутом после лечения в течение 1 месяца.

Полученные нами результаты показали, что стабильное течение СД 2 типа у больных на фоне ИБС, получавших современный комплекс медикаментозной терапии, характеризуется преимущественно избыточной массой тела, умеренными нарушениями липидного обмена и наличием инсулинорезистентности с выраженной активностью системного воспаления. Эти данные явились обоснованием включения в стандартный комплекс терапии метформина.

Как видно из табл. 2, кратковременное применение метформина уже в течении 1 месяца вызвало достоверное уменьшение массы тела, объема талии и ИМТ (p<0,05), а через 3 месяца подтвердило уменьшение антропометрических показателей. Наблюдались тенденции к снижению уровня общего холестерина. Однако, достоверных применений показателей, характеризовавших липидный обмена за 1 месяц выявлено не было. А через 3 месяца наблюдалась тенденция к нормальным показателям липидного обмена. Подобным же образом, не наблюдалось достоверного снижения уровня показателей, характеризующих уровень инсулинорезистентности. Тем не менее, индекс инсулинорезистентности снижался на 45,3%.

Важным явилось зарегистрированное достоверное снижение концентраций ИЛ-1β и ИЛ-6 в сыворотке (табл.4) до 8,69±6,94 и 9,33±9,84 пг/мл, соответственно (p<0,05). Уровень ИЛ-8 снижался не достоверно вследствие индивидуальной вариабельности показателей после лечения. Концентрация ФНО-α изменялась не достоверно.

Полученные результаты показывают, что системное воспаление играет важную роль как в развитии СД 2 типа, так и ИБС. Особенно важными в практическом отношении представляются данные о том, что современная комплексная медикаментозная терапия ИБС, включающая нитраты, ацетилсалициловую кислоту, β-адреноблокатор и статин, не приводит к достаточному снижению уровня системного воспаления, а у больных с СД 2 типа и к снижению инсулинорезистентности.

Данные, касающиеся концентрации провоспалительных цитокинов у пациентов с СД 2 типа на фоне ИБС, хорошо согласуются с результатами М.Н. Мамедова [5] полученными для пациентов с различным клиническим течением ИБС и различными факторами риска. Авторы справедливо делают вывод о присутствии системного воспаления у больных дестабилизации атеросклеротического процесса и его усилении при нестабильном (прогрессирующем) течении стенокардии. Как известно, в качестве основного молекулярного механизма действия метформина рассматривается подавление им комплекса 1 дыхательной цепи, что ведет к снижению продукции АТФ, увеличению соотношения АМФ/АДФ/АТФ и угнетению глюконеогенеза [11]. Полученные нами данные подчеркивают одновременное снижение активности клеток иммунной системы, продуцирующих цитокины воспаления, что также может быть следствием вышеозначенного процесса, но играет самостоятельную роль как фактор снижения инсулинорезистентности.

Выводы: через 3 месяца лечения метформином больных с СД 2 типа на фоне ИБС, по сравнению с результатами полученными через 1 месяц лечения, найдено следующее:

1. У больных сохраняется тенденция к улучшению клинических показателей, снижению функционального класса стенокардии напряжения, степени тяжести сердечной недостаточности, артериального давления, а также сохраняется достигнутое снижение индекса массы тела.

2. Отмечается дальнейшее улучшение показателей липидного обмена: снижение уровня общего холестерина, триглицеридов и индекса атерогенности.

3. Сохраняется достигнутый за 1 месяц уровень гликозилированного гемоглобина, С-пептида, индекса инсулинорезистентности и системного воспаления.

4. Полученные результаты свидетельствуют о том, что назначение метформина пациентам, страдающим СД 2 типа и ИБС в продолжение 3 месяцев, является эффективным и безопасным методом лечения таких пациентов.

Литература

1. Волков В. И. Ишемическая болезнь сердца и сахарный диабет / В. И. Волков, С. А. Серик // Здоров'я Укавїни. – 2007. – № 1. – С. 7-8.
2. Лавренко А.В. Эффективность метформина как начальной сахароснижающей терапии у пациентов с ИБС и СД 2 типа / Лавренко А.В., Куценко Л.А., Солохина И.Л. [и др.] // Лікарська справа. – 2011. – № 1-2 (1108). – С. 89-95.
3. Лутай М.И. Атеросклероз: современный взгляд на патогенез / Укр. кардіол. журнал. – 2003. - №1. - С. 12-16.
4. Лутай М.И., Голикова И.П., Деяк С.И., Слободской В.А. Системное воспаление у пациентов с ишемической болезнью сердца: взаимосвязь с клиническим течением и наличием факторов риска / Український медичний часопис. - 2006. - №2 (52). - С. 80-83.
5. Мамедов М.Н. Значимость метаболического синдрома в клинической практике: диагностические основы и пути медикаментозной коррекции / М. Н. Мамедов // Новости медицины и фармации. – 2007. - № 10. – С. 16-17.
6. Маньковский Б.М. Эффективность лечения пациентов с сахарным диабетом 2 типа: результаты проспективного исследования TARGET-CONTROL / Ліки України. – 2009. - № 10 (136). – С.13-16.
7. Медикаментозне лікування стабільної стенокардії. Методичні рекомендації Робочої групи з проблем атеросклерозу та хронічних форм ІХС Асоціації кардіологів України. – Київ, 2008. – 62 с.
8. Талаева Т. В. Инсулинорезистентность: патогенетическая значимость и возможности фармакологической коррекции / Український кардіологічний журнал. – 2009. - № 1. – С. 64-82.
9. Уникальные эффекты метформина в лечении метаболического синдрома / Мкртумян А. М., Бирюкова Е. В., Маркина н. В., Гарбузова М.А. // Русский медицинский журнал. – 2009. – Т. 17. № 10. – С. 692-698.
10. Anselmino M., Bartnik M., Malmberg K., Ryden L. Management of coronary artery disease in patients with and without diabetes mellitus. Acute management reasonable but secondary prevention unacceptably poor: a report from the Euro Heart Survey on Diabetes and the heart / Eur. J. Cardiovasc. Prev. Reh. - 2007. – Vol. 14 (1). – P. 28-36.
11. Graham Rena, Ewan R.Pearson, and KeiSakamoto. Molecular mechanism faction of metformin: old or new insights Diabetologia.-2013.-Vol. 56.-P. 1898–1906.
12. Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases: executive summary. The Task Force on diabetes and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for the Study of Diabetes (EASD) / Eur. Heart J. – 2007. – Vol. 28. – P.88-136.
13. Guidelines on the management of stable angina pectoris: executive summary. The Task Force on the Management of Stable Angina Pectoris of the European Society of Cardiology / Eur. Heart J. – 2006. - Vol. 27. - P. 1345-1381.
14. UKPDS Group. Effect of blood glucosae control with metformin on complication in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34) / Lancet. – 1998. – Vol. 352 (9131). – P. 854-865.

ENGLISH VERSION: RESULTS OF A 3 MONTH TREATMENT WITH METFORMIN IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS ASSOCIATED WITH ISCHAEMIC HEART DISEASE*

Lavrenko A. V., Rasdin M. S., Savchenko L.G.,, Mamontova T. V., Vesnina L. E., Kaidashev I. P.

MSEI of Ukraine «Ukrainian Medical Stomatological Academy«, Poltava

The aim of the research was to investigate the effectiveness of mid-term inclusion of Metformin in the complex therapy in patients with diabetes type 2 in combination with IHD for the rational justification of timing, doses of the drug. Materials and methods. 52 man suffering from diabetes type 2 on background of ischaemic heart disease have been observed. An effect of included Metformin at mid-term rate (3 months) was estimated. The blood rates are observed (total cholesterol (TC), HDL-cholesterol, total lipids (TL), triglycerides (TG), β-lipoproteins, glycated hemoglobin, C-peptide) and anti inflammatory markers (IL-1β, IL-6, IL-8 and TNF-α). Results. In patients with diabetes type 2 on background of ischaemic heart disease during 3 months under the action of metformin significant decrease in body weight, waist circumference, BMI, concentration of total cholesterol, C-peptide and insulin resistance index and cytokines level IL-1β, IL-6 and TNF-α were observed. Conclusion. The obtained results indicate the purpose of Metformin prescription in patients with diabetes type 2 and IHD in the continuation of 3 months; it is an effective and safe method of treatment of such patients.

Key words: type 2diabetes mellitus, ischaemic heart disease, insulin resistance, Metformin, systemic inflammation, angina pectoris.

The question about the effectiveness of Metformin in patients with type 2 diabetes mellitus on background of ischaemic heart disease, and pharmacodynamic effects continues to be discussed [1,3,4]. In previous work, we have described the efficacy and safety of Metformin as initial insulin therapy for diabetes type 2 in combination with ischaemic heart disease after 1 month of treatment with Metformin. The clinical trials, anthropometric data, carbohydrate and lipid metabolism and systemic inflammation have been studied. The results showed improvement in clinical condition, reduction of body weight, lower total cholesterol, low-density lipoproteins, glycated hemoglobin, C-peptide, index of insulin resistance, markers of systemic inflammation, increased levels of high-density lipoproteins [2].

The aim of this work was to study the effectiveness of mid-term inclusion of Metformin in the complex therapy of patients with diabetes type 2 in combination with IHD for the rational justification of timing, doses of the drug.

Materials and methods

52 men aged 45-65 years were included in the clinical study, they suffered from ischaemic heart disease in combination with diabetes type 2. The study was conducted in the period from 2008 to 2010 on the basis of the 1st City Clinical Hospital, Poltava and Research Institute of the genetic and immunological basis for the development of pathology and pharmacogenetics of the Ukrainian medical stomatological academy. Before beginning the study an approval from the Commission of bioethics was obtained.

Patients were diagnosed with diabetes type 2 and IHD according to WHO criteria.

All patients underwent a screening examination for verification of diabetes type 2 diagnoses and ischaemic heart disease before the clinical study. There were 52 selected patients after screening who took a standard complex drug therapy within a month: acetylsalicylic acid 75 mg 1 time a day at night, bisoprolol 5-10 mg 1 time a day, atorvastin 10 mg 1 time a day, nitroglycerin 0.5 mg (angina). All patients have got an advice about diet and lifestyle changes.

During the first day of the study all patients were taking blood samples and performed clinical examination. After that, in the combined therapy Metformin at a dose of 500 mg 2 times a day was included (Siofor, Berlin-Chemie), i.e. firstly a drug therapy by oral hypoglycemic drug was assigned. A second survey was carried out after 1 month and 3 months. Anthropometric indicators (height, weight, calculated the body mass index (BMI) were evaluated. All patients were examined clinically including: blood analysis, urine analysis, blood sugar analysis, urine sugar analysis, biochemical blood analysis, total cholesterol, α-cholesterol, triglycerides, lipoprotein, total lipids, ultrasound of kidney, ultrasound of the heart, ECG. All methods were routine and aimed at verifying and determining the severity of the main disease, and identification of comorbidity.

The character of changes of the current disease was assessed by functional class of exertional angina, severity of hypertension, the severity of heart failure.

The study of changes in lipid metabolism in patients was conducted by means of biochemical methods determining the concentrations of total cholesterol, cholesterol high density lipoprotein (HDL), total lipids, triglycerides, lipoproteins in blood serum using reagent kits (Bio-La-Test, Czech Republic).

Carbohydrate metabolism was investigated by determining the concentration of glucose and glycosylating hemoglobin (HbA1c) in the blood of patients. Determination of glycosylated hemoglobin was performed using "Glycosylamines hemoglobin" (Bio-La-Test, Czech Republic).

The concentration of C-peptide was determined in serum by ELISA using test system (DRG International, Inc. USA).

For the insulin resistance estimation are used our proposed index of insulin resistance calculated by the formula:

$$\frac{\text{Concentration of C-peptide} \times \text{concentration of HbA1c}}{9{,}71},$$

* *To cite this English version: Lavrenko A. V., Rasdin M. S., Savchenko L.G., at all. Results of a 3 month treatment with Metformin in patients with type 2 diabetes mellitus associated with ischaemic heart disease / / Problemy ekologii ta medytsyny. - 2014. - Vol 18, № 3-4. - P. 75 -78.*

which in healthy people should be about 1.

The study of the immune and inflammatory response was performed by determination of the major regulator of interleukin - 1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8). The reagent kits are used for determination of the quantitative determination of human interleukin (IL-1 beta, IL-6, IL-8) in human biological fluids and in culture substrate (Russia, IL-1 beta ELISA-BEST, JSC "Vector-Best).

For estimation of the organism immune status a proinflammatory cytokine has been studied. It is an important molecular mediator of intercellular interactions - alpha TNF (tumor necrosis factor). Quantitative levels of TNF alpha were determined using a set of reagents for the quantitative determination of human alpha TNF in biological fluids of human and cultural environments (Russia, alpha TNF-ELISA-the BEST, JSC "Vector-best").

Statistical analysis of results were performed using the standard STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA) with the calculation of the arithmetic mean, standard deviation, probability of the obtained results of T-test for the pair bonded and independent variables (t). For selected indicators, the reliability of differences was calculated by nonparametric methods of Wilcoxon and Van der Waerden. The difference frequency was estimated by calculating χ2.

Research results and discussion

In clinical research, we have formed a group of patients suffering from diabetes type 2 on background of ischaemic heart disease, which has criteria of WHO and ISPAD.

Table 1

Peculiarities of the course of diabetes type 2 in patients with ischaemic heart disease in the dynamics of treatment

Group (n=52)	Angina		Arterial hypertension		Chronic heart failure	
	FC II	FC III	Easy art.	Medium heavy art.	NYHA I	NYHA II
Before treatment Metformin	47	5	14	38	22	30
After 1 month of therapy with Metformin	49	3	24	28	31	21
After 3 months of therapy with Metformin	51	1	28	24	37	15
χ2 Pearson, df=1 (for 1 month)	χ^2 = 0,135; p = 0,713		χ^2 = 3,359; p = 0,067		χ^2 = 2,462; p = 0,117	
χ2 Pearson, df=1 (for 3 months)	χ^2 = 1,592; p = 0,207		χ^2 = 6,750; p = 0,009		χ^2 = 7,678; p = 0,006	

As can be seen from the data oftable. 1, the patients with diabetes type 2 on background of ischaemic heart disease mostly with stable angina of second functional class were represented. The patients with moderate arterial hypertension and 2-stage heart failure are dominated.

These data confirm that included patients with ischemic heart disease who have previously experienced such an important syndrome as hypertension.

The duration of CHD in the group was from 1 to 10 years, obesity from 1 to 5 years, hypertension from 1 to 10 years.

As shown in table. 1, among patients prevailed with angina FC II, mild arterial hypertension - 14, moderate - 38, chronic heart failure of first degree at 22, and II - 30 patients. The inclusion of Metformin in the complex therapy of IHD has resulted in improved clinical course of the disease during the first month of Metformin. But after 3 months there was a reliable decrease in functional class of exertional angina, and a tendency to decrease blood pressure levels and stages of chronic heart failure.

Table 2

Anthropometric data from patients with ischaemic heart disease and diabetes mellitus type 2 in the dynamics of treatment

Patients (n=52)	Weight, kg	Height, cm	Waist circumference, cm	The body mass index, c.u.
Before treatment with Metformin	112,1±7,4	176,0±6,55	118,2±7,1	35,4±4,1
After 1 month of therapy with Metformin	111,7±6,2*		116,6±5,3*	34,1±3,6*
After 3 months of therapy with Metformin	110,8±4,7*		113,6±3,9*	33,8±2,9*

** the reliability of differences between the groups before treatment (p is >0,05)*

After 3 months of Metformin therapy as follows from table 2, anthropometric indicators after 3 months of treatment with Metformin did not differ from the respective figures in 1 month and were significantly lower than before treatmen.

Table 3

Lipid metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus on the background of IHD in the dynamics of treatment

Patients (n=52)	Total cholesterol, mmol/l	The HDL cholesterol, mol/l	Triglycerides mmol/l	The atherogenic index	The LDL-C, mol/l
Before with treatment Metformin	6,58±0,27	1,30±0,04	2,14±0,19*	4,07±1,18	4,31±0,42
After 1 month of therapy with Metformin	5,04±0,21*	1,41±0,03*	1,53±0,11*	2,57±1,08*	2,97±0,20*
After 3 months of therapy with Metformin	4,53±0,19**	1,40±0,01*	1,33±0,09*	2,12±1,05**	2,77±0,16**

*Note: here and after: * - p <0,05 compared to before treatment,*
*** - p <0,05 in comparison with indicators 1 month*

After 3 months of Metformin therapy, reduction in total cholesterol due to HPNP and atherogenic index. continued (compared with 1-month therapy results)

Table 4

Indicators of carbohydrate metabolism, cytokines and cellular factors in patients with metabolic syndrome in the dynamics of treatment

Patients (n=52)	Glycosylated hemoglobin, μmol of fructose/g HB with A1	C-peptide, ng/ml	Index IR	IL-1β, pg/ml	IL-6, pg/ml	IL-8, pg/ml	TNF-α, pg/ml
Before the Metformin prescription	5,23±0,75	13,63±1,52	7,35±0,88	17,92 ± 1,8	41,4±12,8	35,7±8,6	24,92±3,1
After 1 month of therapy with Metformin	4,84±0,45*	8,14±1,74*	4,10±0,82*	7,67±1,8*	19,4±1,8*	18,52±2,2*	18,52±1,9*
After 3 months of therapy with Metformin	4,10±0,27**	8,01±1,57*	4,03±0,72*	7,07±1,4**	19,1±1,5*	18,15±1,9*	18,42±1,8*

*Note: here and after: * - p <0,05 compared with the rates before treatment,*
*** - p <0,05 in comparison with indicators in a 1 month*

As can be seen from the data presented (table. 4), after 3 months of treatment with Metformin the level of $HbA1_c$ and IL1β has decreased. Other indicators remained at the level achieved after treatment during 1 month.

Our results showed that stable process of diabetes type 2 for patients with coronary artery disease treated using modern complex drug therapy is characterized by predominantly overweight, moderate disturbances of lipid metabolism and presence of insulin resistance with pronounced activity of systemic inflammation. These data are grounds for the inclusion of Metform in standard complex therapy.

As can be seen from the table. 2, short-term use of Metformin for the last 1 month has caused a significant decrease in body weight, waist circumference and BMI (p<0,05), but after 3 months has confirmed the reduction of anthropometric indicators. Tendencies towards lower levels of total cholesterol have been observed too. However, reliable applications performance characteristic of lipid metabolism for 1 month have not been identified. But after 3 months there was a tendency to normal lipid metabolism. Similarly, it was not observed a significant decrease of the level of indicators characterizing the level of insulin resistance. However, the index of insulin resistance was decreased by 45,3%.

Very important was a registered significant decrease in the concentrations of IL-1β and IL-6 in serum (table.4) to 8.69±6,94 and 9.33±9,84 pg/ml, respectively . The level of IL-8 was decreased significantly due to individual variability parameters after treatment. The concentration of TNF-α was not changed significantly.

The results show that systemic inflammation plays an important role in the development of diabetes type 2 and IHD. Especially important in practical terms, there is evidence that modern integrated medical therapy of ischaemic heart disease, including nitrates, acetylsalicylic acid, β-blocker and a statin, does not lead to sufficient reduction of the level of systemic inflammation, and in patients with diabetes type 2 and reduce the insulin resistance.

Data concerning the concentration of proinflammatory cytokines in patients with diabetes type 2 on background of ischaemic heart disease co-ordinate with the results of M. Mamedov [5] derived from patients with different clinical IHD and various risk factors. The authors rightly conclude that the presence of systemic inflammation in patients destabilization of the atherosclerotic process and its increasing in unstable (progressive) angina process. As you know, as a primary molecular mechanism of action of Metformin is considered the inhibition of complex 1 of the respiratory chain, which leads to decreased production of ATP, the increase in the ratio of AMP/ADP/ATP and inhibition of gluconeogenesis [11]. Our findings emphasize the simultaneous reduction in the activity of immune system cells that produce cytokines inflammation, which can also be a result of the above process, but plays an independent role as a factor in the reduction of insulin resistance.

Conclusions: after 3 months of treatment with Metformin patients with diabetes type 2 on background of ischaemic heart disease, compared with the results obtained after 1 month of treatment displayed:

1. Patients have a tendency towards improvements of clinical rates, reduction in the functional class of exertional angina, the severity of heart failure, blood pressure, and also saved the achieved reduction of body mass index.
2. The further improvement in lipid metabolism was noted: the reduction of total cholesterol, triglycerides, and atherogenic index.
3. Saving of a level of glycated hemoglobin C-peptide, index of insulin resistance and systemic inflammation was achieved in 1 month,.
4. Obtained results indicate that Metformin prescription for the patients with diabetes type 2 and IHD during 3 months is an effective and safe method of treatment of such patients.

References

1. Volkov V.I. Ischaemic heart disease and diabetes / V. I. Volkov, S. A. Serik // Zdorov'ya Ukraini. - 2007. No. 1. - P. 7-8.
2. Lavrenko A. V. Effectiveness of Metformin as initial insulin therapy in patients with ischaemic heart disease and diabetes type 2 / Lavrenko, A. V., Kutsenko L. A. Solokhina I. L. [and others] // Likars'ka sprava. - 2011. - № 1-2 (1108). - P. 89-95.
3. Lutay M. I. Atherosclerosis: a modern view of the pathogenesis / Ukr. cardol. mag. - 2003. No. 1. - P. 12-16.
4. Lutay M. I., I. Golikov I. P., Deak S. I., Slobodskoy V. A. Systemic inflammation in patients with ischaemic heart disease: correlation with clinical course and risk factors / Ukrainskiy medichniy chasopis. - 2006. - №2 (52). - P. 80-83.
5. Mamedov M. N. The significance of the metabolic syndrome in clinical practice: diagnostic principles and ways of correct medication / M. Mamedov // News of medicine and pharmacy. - 2007. No. 10. - P. 16-17.
6. Mankovsky B. M. Effectiveness of treatment of patients with diabetes type 2: results of a prospective study TAR-

GET-CONTROL / Liki Ukraini. - 2009. - № 10 (136). - P. 13-16.
7. Medical treatment of stable angina. Methodical Recommendation of working groups about problems of atherosclerosis and chronic forms of IHD/ Association of cardiologists of Ukraine. - Kyiv, 2008. – P. 62 .
8. Talaeva T. V. Insulin resistance: pathogenetic significance and possibilities of pharmacological correction / Ukrainian cardiological mag. - 2009. No. 1. - P. 64-82.
9. Unique effects of Metformin in the treatment of metabolic syndrome / Mkrtumyan A. M., Biryukov,E. V., N. Markina N.V., Garbuzova M. A. // Russian medical mag. - 2009. T. 17, No. 10. - P. 692-698.
10. Anselmino M., Bartnik M., Malmberg K., Ryden L. Management of coronary artery disease in patients with and without diabetes mellitus. Acute management reasonable but secondary prevention unacceptably poor: a report from the Euro Heart Survey on Diabetes and the heart / Eur. J. Cardiovasc. Prev. Reh. - 2007. – Vol. 14 (1). – P. 28-36.
11. Graham Rena, Ewan R.Pearson, and KeiSakamoto. Molecular mechanism faction of metformin: old or new insights Diabetologia.-2013.-Vol. 56.-P. 1898–1906.
12. Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases: executive summary. The Task Force on diabetes and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for the Study of Diabetes (EASD) / Eur. Heart J. – 2007. – Vol. 28. – P.88-136.
13. Guidelines on the management of stable angina pectoris: executive summary. The Task Force on the Management of Stable Angina Pectoris of the European Society of Cardiology / Eur. Heart J. – 2006. - Vol. 27. - P. 1345-1381.
14. UKPDS Group. Effect of blood glucosae control with metformin on complication in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34) / Lancet. – 1998. – Vol. 352 (9131). – P. 854-865.

Матеріал надійшов до редакції 16.09.2014

Інформація для авторів

З метою дотримання міжнародних правил оформлення, авторам рекомендується ознайомитися з “Єдиними Вимогами до Рукописів для Біомедичних Журналів” на www.icmje.org.

У якості невід’ємної частини процесу публікації, автори, рецензенти і редактори повинні повідомити про будь-які конфлікти інтересів і надати детальну інформацію, підписавши форму Заяви про Службову Етику та надіславши її на адресу редакції журналу. Автори рукописів зобов’язані поважати право приватності пацієнта. Перед початком дослідження пацієнт повинен заповнити і розписатися у формі Заяви про Інформовану Згоду. До статті додається акт експертної комісії про відсутність конфіденційної інформації та направлення установи. В направленні засвідчується, що жодна частина рукопису не була опублікована і не прийнята до друку іншими виданнями.

Статті публікуються українською, російською або англійською мовами. Авторський оригінал подається у двох примірниках, що складаються із основного тексту (стаття – 15 сторінок, огляд – 20 сторінок, коротке повідомлення – 7 сторінок); списку літератури (статті – до 20, огляди – до 50, короткі повідомлення – до 15 джерел); таблиць; ілюстрацій (не більше 4); назв рисунків; анотацій українською, російською та англійською мовами (орієнтовно 250 слів), що повинні містити обґрунтування мети, матеріалів та методів, результати дослідження.

На першій сторінці зазначаються: шифр УДК; прізвища авторів, ініціали, наукові ступені та звання; назва статті; установи, де працюють автори, місто; ключові слова – від 5 до 10 слів або словосполучень, що розкривають зміст статті. Назва статті російською, українською та англійською мовами повинна бути стислою і не перевищувати 120 символів. Підзаголовок є прийнятним. Текст статті повинен бути структурований наступним чином: вступ, мета, матеріал і методи, результати та висновок. На останній сторінці тексту власноручні підписи всіх авторів: прізвище, ім’я та по-батькові, поштова адреса, номери телефонів (службовий, домашній), за якими редакція буде контактувати із авторами. Подаючи статтю до редакції, автори тим самим підтверджують оригінальність роботи. Це означає, що авторські права або будь-які інші права власності третіх осіб не порушуються. Підписами автори засвідчують, що жодна частина рукопису не була опублікована і не прийнята до друку іншими виданнями. Текст друкується шрифтом не менше 2,8 мм на білому папері через два інтервали, на аркушах формату А4 (210×297 мм), поля з усіх боків по 20 мм. Крім двох роздрукованих копій, матеріал потрібно надати на компакт-диску, текст статті повинен бути у форматі Microsoft Word. Латинські терміни, іншомовні слова повинні бути надруковані курсивом. Тільки загальновживані скорочення можуть подаватися без пояснення. Скорочення у назві статті не є прийнятними. Всі величини приводяться в одиницях СІ, однак допустимими є й інші загальновживані позначення та одиниці вимірювання (l, min., h, C, Da, cal). Ілюстрації (рисунки, фотографії) повинні бути пронумеровані. Назви рисунків повинні бути надруковані на окремій сторінці. Малюнки повинні бути виконані з використанням інструментів, доступних у текстових редакторах або в Excel. Фотографії повинні бути високоякісними. Таблиці розміщуються на окремих аркушах, нумеруються послідовно, кожна сторінка супроводжується коротким заголовком. Рисунки є доповненням до тексту статті і не повинні повторювати інформації, поданої у рукописі. На звороті рисунків олівцем ставлять їхні порядкові номери, зазначають прізвище першого автора, скорочену назву статті. Список літератури оформлюється на окремих сторінках без скорочень. Автори подаються за абеткою, спочатку джерела кирилицею, потім латиницею. Посилання у тексті позначаються цифрами у [квадратних] дужках. Порядок оформлення списку літератури: для монографій – Прізвище, ініціали. Назва книги. Місце видання: видавництво, рік видання. Кількість сторінок; для журналів – Прізвище, ініціали. Назва статті. Назва журналу. Том, номер. Рік: сторінки, на яких вміщено статтю.

Одночасно, автори надають повний переклад тексту, підрисуночних підписів і табличних матеріалів англійською мовою. У переліку використаної літератури посилання, наведені кирилицею, транслітеруються із застосуванням програми “Trans 1.02” або подібних програм.

Усі рукописи журналу рецензовані незалежними експертами. Процедура рецензування включає перевірку статті протягом двох тижнів двома спеціалістами, призначеними редакційною радою. Рукопис із рецензією надсилається автору для внесення коректив перед остаточним поданням статті до редакції журналу.

Після публікації статті автори передають авторські права редакції журналу. Редакція залишає за собою право змінювати і виправляти рукопис, однак внесені корективи не повинні змінювати загального змісту та наукового значення статті.

Залучаючи до дослідження пацієнтів, автори несуть відповідальність за виконання етичних стандартів Гельсінкської декларації 1975 із поправками 2005 року. Рукопис повинен містити наступний пункт: “Ми заявляємо, що під час дослідження права пацієнтів були враховані у відповідності до вимог Гельсінкської конвенції”. При виникненні сумнівів щодо відповідності рукопису до вимог Гельсінкської декларації, автори будуть зобов’язані відзвітуватися про сумнівні аспекти дослідження і обґрунтувати підстави свого підходу.

Якщо дослідження виконується без залучення лабораторних тварин, рукопис повинен містити наступний пункт: “Ми заявляємо, що ми не проводимо досліджень на тваринах”. Дослідження, які проводяться на тваринах, повинні відбуватися у відповідності із встановленими інституціональними нормами використання лабораторних тварин. Науковці повинні керуватися принципами гуманного ставлення до тварин, що використовуються в дослідах. Необхідно подати наступну інформацію: вид тварин, генетичний статус: лінія (згідно правил стандартного позначення ліній лабораторних тварин); категорія лабораторних тварин або їх мікробіологічний статус; маса та вік тварин на початку експерименту; карантин або тривалість періоду акліматизації під час перевезення тварин на великі відстані; утримання тварин під час експерименту (параметри мікроклімату, температура, вологість, об’єм повітря, світловий режим, тип клітки, тип підстилки). Автори повинні підтвердити відповідність нормативам утримання та годування тварин (Європейська конвенція по захисту хребтових тварин, що використовуються з експериментальною або іншою метою. – Страсбург, 1986), наявність сертифікату якості, а також повідомити джерело набуття тварин. Необхідно описати всі процедури, які виконуються на тварині, дози препаратів, що вводилися, хірургічні втручання та інші дії, а також відмітити використання при цьому методів анестезії (див. інформацію про Права Людини і Тварини).

Ці правила поширюються на всі види рукописів, у тому числі статті, короткі доповіді, коментарі до клінічних випробувань. Рукописи, які не відповідають цим вимогам, будуть повернені авторам для корекції.

Information for authors

In order to comply with the international regulations, the authors are strongly encouraged to consult the “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals” at www.icmje.org.

As an integral part of the publication process, the authors, reviewers and editors are required to confirm whether they have any conflicts of interest to declare, and to provide details of these in the following Conflict of Interest Statement Form. The authors of the articles will respect the patients' right to privacy. Upon the familiarization with the abovementioned details, the patient must complete the Standard Statement of Informed Consent Form. The lack of confidential data must be certified by the act of expert committee attached to the article. The referral from the corresponding establishment with the statement that neither part of the suggested research has been published or accepted for publication in other journals must be sent with it as well.

Articles in Ukrainian, Russian or English are accepted for publication in The Medical and Ecological Problems. The article is submitted to journal in two copies. The article comprises the text of the research (15 pages for articles, 20 pages for reviews, 7 pages for brief reports); the list of cited literature (20 positions at most for articles; 50 positions at most for reviews; 15 positions at most for brief reports); tables, figures (no more than 4); legends and captions; summaries in Ukrainian, Russian and English (approximately 250 words) providing the arguments in support of the aim of the research, explanation of materials and methods, the results and conclusions.

The first page contains UDC code, author's record (name, initials, scholar degrees, title, the title of the article, institution, city) and keywords – from 5 to 10 words or phrases revealing the content of the article. Title of the paperin Russian, Ukrainian and English should be concise, it must not exceed 120 characters. A subtitle is acceptable. The text of original papers must be divided into paragraphs, including introduction, the aim of the research, materials and methods, results and conclusions. The last page must be manually signed by author(s) of the article, featuring first name, last name and patronymic, address, telephone numbers (office, home) for Editorial office to keep contact with. By submitting a paper to the editor, authors thereby confirm the original form of the articles, which means that the copyright or any other property rights of the third parties are not violated. The author(s) sign the article thereby certifying that neither part of the suggested research has been published or accepted for publication in other journals. The text of the manuscript must be in printing type no less than 2,8 mm, double-spaced, on A4-size sheets (210×297 mm); margins from each side – 20 mm. Along with 2 printed copies, the manuscript is provided in Microsoft Word format on electronic media. Latin notions and foreign words must be typed in italics. Only common abbreviations may be left unexplained. No abbreviations are acceptable in the title. All values are set in SI units; however, other generally used abbreviations and units (l, min., h, C, Da, cal) are also accepted. Figures (drawings, photographs)must be numbered. Figure captions are to be printed on a separate page. Drawings should be prepared using tools available in Word processors or in Excel. Photographs must be of high quality. Tablesshould be on separate sheets, numbered consecutively and headed by a concise title. Figures are adjuncts to the text and should not repeat material presented therein. On the reverse side of the figures it is necessary to write with a pencil their sequence numbers, name of the first author and the short title of the article. The list of cited literature is provided on a separate page without abbreviations. The authors are stated in alphabetical order, at first the sources in Cyrillic alphabet, then in Roman alphabet. The references in the text are indicated in [square] brackets. The cited works are to be compiled in the following way: for monographies – Name, initials. Book name. Place of publication. Publishing house, year. Total number of pages; for journals – Name, initials. Article name. Abbreviated name of journal. Volume, number: pages containing the article.

At the same time the authors provide full translation of the article's text, picture captions and table materials into English. In the list of references, the Cyrillic positions must be transliterated with the use of “Trans 1.02” or similar programs.

The original papers are peer-reviewed. Usually editorial staff chooses two readers who review papers during two weeks. The manuscript with review is sent to authors and after being corrected is delivered to editorial office for final acceptance.

Upon publication of the paper, the authors transfer the copyright to the Editorial office of the journal. The Editorial office reserves the right to alter and correct the manuscript considered for publication in the way that will not change its overall content and value.

When reporting experiments on human subjects, authors should indicate whether the procedures were performed in accordance with the ethical standards of Helsinki Declaration of 1975 as revised in 2005. Therefore the manuscript must include the following clause: “We declare that during research the rights of patients were taken into consideration according to Helsinki Convention”. If doubts for that matter arise, the authors must account for the doubtful aspects of the study and explain the reasons for their approach.

If the research does not presuppose experiments on laboratory animals, the article must include the following statement: “We declare that we do not perform research on animals”. When reporting experiments on animals, authors should indicate whether the institutional and national guides for care and use of laboratory animals were respected. The authors must follow the principles of humane attitude to animals used in experiments. They must submit the following information: type of animals, genetic status: the line (according to standard rules of defining the lines of laboratory animals); the category of laboratory animals or their microbiological status; weight and age of animals at the beginning of the experiment; quarantine or acclimatization period during transportation over long distances; maintenance conditions during the experiment (microclimate parameters, temperature, humidity, air volume, light conditions, cage type, type of bedding material). The authors must prove the compliance with normative standards on animals maintenance and foddering (European Convention for the Protection of vertebral animals used in experiments or other purposes. – Strasbourg, 1986) and provide the information as to the acquisition source of animals, as well as the quality certificate. It is necessary to describe all procedures performed on animals, introduced doses of medications, surgical interventions and other actions, the use of anesthesia methods (See Statement of Human and Animal Rights).

The abovementioned requirements must apply to all original papers, including original research, brief reports, case reports and also for comments on clinical trials. Manuscripts that do not meet these requirements will be returned to authors for correction.