



СОДЕРЖАНИЕ КАЛЬПРОТЕКТИНА В СТУЛЕ И ЭОЗИНОФИЛЬНОГО ПРОТЕИНА X В МОЧЕ У МЛАДЕНЦЕВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ИНТЕРЛЕЙКИНА-10 (G1082A, C592A) И ТОЛЛ-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА 4 (ASP299GLY)

Н. М. Тихон, С. А. Ляликов, О. В. Горчакова

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Индивидуальные особенности формирования толерантности к антигенам пищи и комменсальных бактерий у младенцев могут быть обусловлены полиморфизмом генов цитокинов и толл-подобных рецепторов.

Цель. Установить частоту встречаемости разных генотипов полиморфизмов генов IL-10 (G1082A, C592A) и TLR 4 (ASP299GLY) у детей Гродненской области с разным семейным анамнезом по аллергии, проанализировать их связь с содержанием кальпротектина в стуле (ФКП) и эозинофильного протеина X (ЭоПХ) в моче у младенцев.

Материал и методы. В обследование включены 92 ребенка, у которых проанализировали полиморфизм локусов G1082A и C592A гена IL-10, Asp299Gly гена TLR 4. Содержание ФКП и ЭоПХ в моче определяли в динамике в возрасте детей 1 и 3 месяца.

Результаты. 80,4% детей были носителями мутантного аллеля в локусе G1082A и 48,9% в локусе C592A гена IL-10. 70,5% детей, родители которых не имели аллергических заболеваний в анамнезе, были носителями дикого аллеля G в локусе G1082A. Носительство мутантного аллеля A в локусе G1082A ассоциировано с более низкими концентрациями ФКП у младенцев в возрасте 1 месяц (для генотипа AA: 1,9 нг/мл [1,9; 3,1], GA: 15,9 нг/мл [1,9; 93,8]) и GG: 88,3 нг/мл [2,4; 230,1]). У гомозигот по мутантному аллелю содержание ЭоПХ (в 3 месяца) было достоверно ($p=0,019$) выше, чем у гетерозигот (3,2 нг/мл [2,4; 4,5] и 2,3 нг/мл [1,3; 3,3], соответственно).

Выводы. Носительство дикого аллеля G в локусе G1082A гена IL-10 ассоциировано с более высокими концентрациями кальпротектина в стуле младенцев в возрасте 1 месяц и значительно более низким содержанием эозинофильного протеина X в моче к трем месяцам жизни.

Ключевые слова: кишечная микробиота, дети, иммунная толерантность, биомаркеры.

Для цитирования: Тихон, Н. М. Содержание кальпротектина в стуле и эозинофильного протеина X в моче у младенцев в зависимости от полиморфизма генов интерлейкина-10 (G1082A, C592A) и толл-подобного рецептора 4 (ASP299GLY) / Н. М. Тихон, С. А. Ляликов, О. В. Горчакова // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2023. Т. 21, № 1. С. 58-63. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2023-21-1-58-63>

Введение

Состав интестинальной микробиоты младенцев имеет решающее значение для развития иммунной системы и для формирования иммунной толерантности к антигенам пищи и комменсальных бактерий. Особо важны первые 3 месяца жизни, когда aberrации в микробном составе кишечника оказывают наибольшее влияние на развивающуюся иммунную систему. Измененный состав микробиома кишечника и, как следствие, нарушение его метаболической активности в это «критическое окно» связаны с формированием атопии и развитием аллергических заболеваний у детей в последующем [1, 2, 3].

Важную роль в формировании ответа на антигены микробиоты играют рецепторы врожденной иммунной системы, а также регуляторные клетки и продуцируемые ими цитокины. Постоянное взаимодействие толл-подобных рецепторов (TLR) с антигенами кишечных микроорганизмов активирует транскрипционные факторы с последующей продукцией провоспалительных цитокинов. С другой стороны, продуцируемые регуляторными клетками цитокины, в частности интерлейкин-10 (IL-10), подавляют синтез и секрецию провоспалительных цитокинов, в том числе индуцированную толл-подобными рецеп-

торами [4]. Определенный вклад в индивидуальные особенности формирования толерантности к антигенам комменсальных бактерий и к антигенам пищи может вносить полиморфизм генов толл-подобных рецепторов и цитокинов. Отдельные полиморфизмы генов TLR ассоциированы с меньшей активностью воспалительного ответа вследствие структурных и/или функциональных особенностей рецепторов [5]. Полиморфизм генов регуляторных цитокинов влияет на концентрацию их в сыворотке крови: так, более высокие концентрации IL-10 отмечались у гомозигот по дикому аллелю G в локусе 1082 гена IL-10 [6, 7].

Фекальный кальпротектин (ФКП) – неинвазивный маркер, используемый для оценки активности воспаления в желудочно-кишечном тракте разной этиологии [8]. У здоровых младенцев первых месяцев жизни уровень ФКП может быть значительно выше, чем в другие возрастные периоды, что, как предполагается, обусловлено ответом мукозальной иммунной системы на быстрое увеличение количества и разнообразия кишечной микробиоты после рождения. Поэтому кальпротектин рассматривают в качестве биомаркера, характеризующего процесс становления паттерна кишечного микробиома у младен-

цев [9, 10]. К достаточно изученным маркерам аллергического воспаления, используемым для оценки активности аллергических заболеваний, относят медиаторы, выделяемые из гранул эозинофилов при их активации. Один из медиаторов – эозинофильный протеин X (ЭоПХ). У детей первого года жизни еще до появления клинических симптомов аллергического заболевания или до того, как уровень sIgE в крови достигнет диагностически значимых значений, может иметь место аллергическое воспаление низкой степени активности [11, 12, 13].

Несмотря на то, что рецепторы врожденной иммунной системы и иммунорегуляторные цитокины являются ключевыми звеньями мукозального иммунного ответа, публикации о связи полиморфизма этих рецепторов и цитокинов непосредственно с биомаркерами, характеризующими формирование толерантности к антигенам комменсальных бактерий и пищевым антигенам, а не только с течением аллергических заболеваний немногочисленны, некоторые результаты получены только в экспериментах на животных [14, 15].

Цель исследования – установить частоту встречаемости разных генотипов полиморфизмов генов IL-10 (G1082A, C592A) и TLR 4 (ASP299GLY) у детей Гродненской области с разным семейным анамнезом по аллергии, проанализировать их связь с содержанием кальпротектина в стуле и эозинофильного протеина X в моче у младенцев.

Материал и методы

Для участия в пилотном исследовании были отобраны 92 ребенка, проживающих в Гродненской области, согласно следующим критериям: возраст от 0 до 1 месяца; письменное информированное согласие родителей ребенка на участие в исследовании. Критерии невключения: недоношенность, ребенок, родившийся в результате ЭКО, родовые травмы, тяжелое течение сопутствующей соматической патологии. Критерии исключения: отказ родителей от участия в исследовании, отсутствие комплаентности.

Проводимое исследование соответствует этическим принципам и одобрено комитетом по биомедицинской этике УО «Гродненский государственный медицинский университет», протокол № 2 от 12.02.2021 г.

Материалы для исследования: стул, моча, соскоб буккального эпителия. Определение кальпротектина в стуле и эозинофильного протеина X в моче проводили методом ИФА («Fine test», Китай). При наличии острого инфекционного заболевания забор биологического материала проводился не ранее чем через 2 недели после завершения инфекционного эпизода. Фекальный кальпротектин (n=40) и эозинофильный протеин X в моче (n=80) определяли дважды в возрасте 1 и 3 месяца.

Экстракция геномной ДНК осуществлялась из буккального эпителия («ALPREP», Aligned Techno, РБ). Генотипирование олигонуклеотидных полиморфизмов G1082A (rs1800896) и

C592A (rs1800872) гена IL-10, полиморфизма Asp299Gly (rs4986790) гена TLR 4 проводилось в соответствии с протоколами фирмы-производителя («Синтол», РФ) методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени на амплификаторе (Rotor Gene Q5 plex HRM, QIAGEN, Германия).

Статистический анализ выполнен с использованием программы Statistica 10.0, лицензионный номер AXXAR207F394425FA-Q. Количественные переменные представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей (Me [Q1; Q3]) при распределении, отличающемся от нормального. Качественные переменные описывали абсолютными и относительными частотами. Две независимые группы сравнивали с помощью U-критерия Манна-Уитни, более двух независимых групп – с помощью теста Краскела-Уоллиса. Статистически значимыми различия в группах были приняты на уровне значимости $p < 0,05$, для промежуточных значений $0,05 < p < 0,10$ обсуждала тенденцию к различиям.

Результаты и обсуждение

В обследование были включены 92 ребенка с разным аллергологическим анамнезом. Из них 55 детей (59,7%) имели родственников первой степени родства с каким-либо аллергическим заболеванием и 37 детей (40,2%) – без отягощенного анамнеза по аллергии. У обследуемых лиц проанализировали частотное распределение аллелей и генотипов двух полиморфных локусов промоторного региона интерлейкина 10 (G1082A, C592A) и одного однонуклеотидного полиморфизма Asp299Gly в гене рецептора врожденного иммунитета TLR 4 (табл. 1). Распределение частот генотипов в полиморфных локусах G1082A, C592A и Asp299Gly в когорте обследуемых детей соответствовало ожидаемому равновесию Харди-Вайнберга.

Как видно из таблицы 1, в обследуемой когорте 80,4% детей были носителями мутантного аллеля А (АА, ГА) в локусе 1082 гена IL-10. Гомозигота по дикому аллелю GG в этом локусе встречалась реже (19,6%), чем гомозигота по мутантному аллелю АА (36,9%).

В свою очередь для локуса 592 гена IL-10, наоборот, 85,9% детей были носителями дикого аллеля (СС и СА), в то время как носителями мутантного аллеля А были только 48,9% детей. Наименьшее разнообразие в распределении частот встречаемости разных генотипов отмечалось для полиморфного локуса Asp299Gly гена рецептора TLR 4 – в обследуемой когорте определялось только два из трех возможных генотипов и доминирующим была гомозигота дикого аллеля АА (90,2%).

Семейный анамнез по аллергии статистически значимо (Kruskal-Wallis, $p = 0,033$) влиял на частоту распределения генотипов полиморфного локуса C592A гена IL-10 и с тенденцией к достоверности (Median test, $\chi^2 = 5,94$, $p = 0,051$) для локуса G1082A гена IL-10. Среди детей, у которых ни один из родителей не страдал аллергическими заболеваниями (n=44), было меньше

Таблица 1. – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфных локусов G1082A, A592C гена IL-10 и Asp299Gly гена TLR 4 в группе обследуемых

Table 1. – Distribution of genotypes and allele frequency of IL-10 (G1082A, C592A) and TLR 4 (Asp299Gly) gene polymorphisms in studied cases

Ген, полиморфный локус	Генотипы/Аллели	Количество случаев	
		n	%
IL-10 G1082A, rs1800896	GG	18	19,6
	GA	40	43,5
	AA	34	36,9
	Аллель G	76	41,3
	Аллель A	108	58,7
IL-10 C592A, rs1800872	CC	47	51,1
	CA	32	34,8
	AA	13	14,1
	Аллель C	126	68,5
	Аллель A	58	31,5
TLR 4 Asp299Gly, rs4986790	AA	83	90,2
	AG	9	9,8
	GG	0	0
	Аллель A	175	95,1
	Аллель G	9	4,9

(29,5%) гомозиготных AA по мутантному аллелю в локусе G1082A, но чаще (в 70,45% случаев) регистрировалось носительство дикого аллеля G. Для полиморфизма C592A отмечались схожие закономерности – существенно более часто (63,6%) дети были гомозиготами по дикому аллелю CC в группе с неотягощенным семейным аллергоанамнезом. Среди детей, имеющих родственников первой степени родства с каким-либо аллергическим заболеванием, особенностей распределения частот генотипов изучаемых полиморфизмов не выявлено. Вероятно, это обусловлено тем, что группа обследуемых с отягощенным анамнезом по аллергическим заболеваниям была неоднородна, включала детей с отягощенным анамнезом по материнской, отцовской линии и/или со стороны сиблинга. В этом контексте следует отметить, что в литературе продолжает обсуждаться факт разного влияния материнской и отцовской наследственности на риск манифестации аллергического заболевания у ребенка, данные часто противоречивы, зависят от вида аллергического заболевания у отца и матери, пола ребенка [16, 17]. Относительно небольшое количество детей в группах в рамках пилотного исследования не позволило провести анализ распределения частот генотипов изучаемых полиморфизмов у детей в зависимости от того, отягощен аллергоанамнез у них по материнской, отцовской линии и/или со стороны сиблинга.

На следующем этапе был проведен анализ взаимосвязи изучаемых полиморфизмов генов с содержанием в стуле кальпротектина, а также эозинофильного протеина X в моче у младенцев.

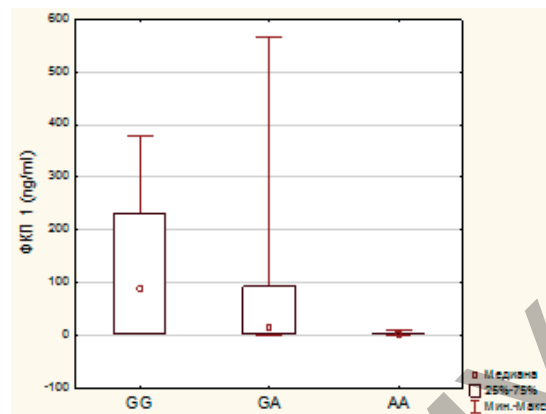


Рисунок 1. – Концентрация фекального кальпротектина у младенцев в возрасте 1 месяц в зависимости от генотипа локуса G1082A гена IL-10

Figure 1. – Fecal calprotectin concentration in 1 month old infants depending on genotype of IL-10 G1082A gene polymorphism

Концентрация ФКП статистически значимо (Median test, $p=0,019$) зависела от генотипа полиморфизма G1082A гена IL-10 (рис. 1).

Согласно данным, приведенным в таблице 2, наличие мутантного аллеля A в локусе G1082A ассоциировано с более низкими концентрациями ФКП в стуле младенцев в возрасте 1 месяц: у детей с генотипом AA медиана концентрации ФКП ниже, чем у детей с гетерозиготным генотипом и у детей с гомозиготным полиморфным вариантом GG. Однако различия в концентрации ФКП между группами детей с разным генотипом были статистически не значимы, вероятно, в связи с небольшим количеством детей в группах.

Таблица 2. – Концентрация фекального кальпротектина (нг/мл) у младенцев в 1 месяц в зависимости от генотипа полиморфного локуса G1082A гена IL-10

Table 2. – Fecal calprotectin concentration (ng/ml) in 1 month old infants depending on genotype of IL-10 G1082A gene polymorphism

Генотип IL-10-G1082A n		ФКП 1			
		Me	Q ₁ -Q ₃	Min-Max	
0	GG	7	88,3	2,4-230,1	1,8-379,6
1	GA	15	15,9	1,9-93,8	1,3-564,6
2	AA	6	1,9	1,9-3,1	1,6-11,3
$P_{0-1}, P_{1-2}, P_{0-2} > 0,05$					

Связи полиморфизма локуса G1082A с концентрацией ФКП у ребенка в 3 месяца не обнаружено. Не выявлено также влияния полиморфизма гена IL-10 в локусе C592A и гена TLR 4 в локусе Asp299Gly на концентрации ФКП в стуле младенцев в возрасте 1 и 3 месяца. В последнем случае отсутствие связи, вероятно, обусловлено низким процентом носителей мутантного аллеля в исследуемой когорте, то есть низким полиморфизмом, в связи с чем этот локус в дальнейшем исключен из анализа.

Таблица 3. – Концентрация эозинофильного протеина X (нг/мл) в моче у детей в возрасте 1 месяц (ЭоПХ-1) и 3 месяца (ЭоПХ-2) в зависимости от генотипа полиморфного локуса G1082A гена IL-10

Table 3. – Urine eosinophil protein X concentration (ng/ml) in 1 month old infants and 3 months old infants depending on genotype of IL-10 G1082A gene polymorphism

	Генотип IL-10-G1082A	ЭоПХ-1 (нг/мл)				ЭоПХ-2 (нг/мл)			
		n	Me	Q ₁ -Q ₃	Min-Max	n	Me	Q ₁ -Q ₃	Min-Max
0	GG	17	2,7	2,3-3,7	1,2-6,3	17	2,4	1,8-2,9	0,8-5,1
1	GA	35	2,5	1,9-3,3	1,1-5,0	33	2,3	1,3-3,3	0,1-4,9
2	AA	29	2,8	2,3-4,1	1,1-11,4	27	3,2	2,4-4,5	0,8-6,1
		$P_{0,1}, P_{1,2}, P_{0,2} > 0,05$				$P_{1,2} = 0,019$			

Результаты анализа зависимости концентрации эозинофильного протеина X в моче у младенцев в возрасте 1 и 3 месяца от генотипа полиморфного локуса G1082A гена IL-10 представлены в таблице 3. Концентрация эозинофильного протеина X в моче младенцев в возрасте 1 месяц значимо не различалась в группах детей с разным генотипом полиморфного локуса G1082A.

У детей в возрасте 3 месяца концентрация эозинофильного протеина X в моче статистически значимо (Kruskal-Wallis test, $p=0,017$) зависела от генотипа полиморфизма G1082A гена IL-10 (рис. 2).

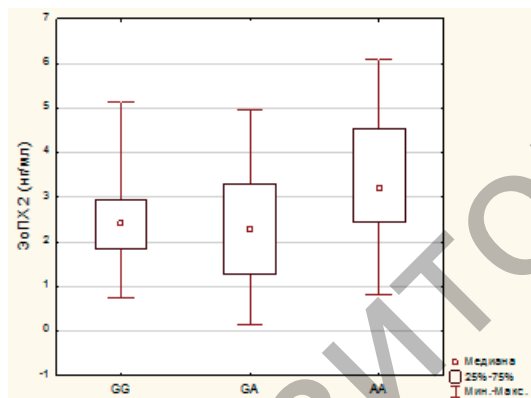


Рисунок 2. – Концентрация эозинофильного протеина X у младенцев в возрасте 3 месяца в зависимости от генотипа локуса G1082A гена IL-10
Figure 2. – Urine eosinophil protein X concentration in 3 months old infants depending on genotype of IL-10 G1082A gene polymorphism

Не выявлено связи между концентрацией эозинофильного протеина X в моче у обследуемых детей с полиморфизмом гена IL-10 в локусе C592A и гена TLR 4 в локусе Asp299Gly.

Таким образом, носительство дикого аллеля G в локусе G1082A гена IL-10 ассоциировано с более высокими концентрациями кальпротектина в стуле у младенцев в возрасте 1 месяц, что может свидетельствовать о более интенсивном иммунном ответе мукозальной иммунной системы на антигены комменсальных бактерий, активно заселяющих кишечник ребенка после рождения, важно также отметить, что это воспаление не носит эозинофильного характера. К трем месяцам жизни уровень ФКП уже не зависит от варианта генотипа полиморфного локу-

са G1082A, в то время как концентрация эозинофильного протеина X в моче, обусловленного активацией эозинофилов и характеризующего уровень эозинофильного воспаления, у гомозигот по мутантному аллелю AA существенно выше, чем у носителей дикого аллеля G. Следовательно у детей с неотягощенным семейным анамнезом

по аллергии, чаще являющихся носителями дикого аллеля G полиморфизма G1082A гена IL-10, заселение микробиотой протекает с более выраженным иммунным ответом на антигены комменсальных бактерий и, что характерно, в первые три месяца жизни воспаление будет не эозинофильного характера, в отличие от гомозигот по мутантному аллелю, у которых воспалительный ответ мукозальной иммунной системы на первом месяце жизни гораздо слабее, но уже к трехмесячному возрасту появляются признаки активации эозинофилов, возможно, в ответ на контакт с определенными пищевыми антигенами. Полученные результаты обосновывают необходимость продолжить работу с целью изучения катамнеза обследованных детей.

Выводы

1. В обследуемой когорте 80,4% детей были носителями мутантного аллеля в локусе G1082A (AA, GA) и 48,9% в локусе C592A (AA, CA) гена IL-10. Локус Asp299Gly гена рецептора TLR 4 характеризовался низким полиморфизмом, только 9,8% детей были носителями мутантного аллеля G.

2. На частоту распределения генотипов статистически значимо ($p=0,033$) для полиморфного локуса C592A и с тенденцией к достоверности ($p=0,051$) для локуса G1082A влиял семейный анамнез по аллергии. 70,5% детей, родители которых не имели аллергических заболеваний в анамнезе, были носителями дикого аллеля G в локусе G1082A и 60,3% были гомозиготы по дикому аллелю в локусе C592A.

3. Генотип полиморфизма G1082A гена IL-10 оказывал статистически значимое влияние на содержание фекального кальпротектина у детей в возрасте 1 месяц ($p=0,019$) и концентрацию эозинофильного протеина X в моче в возрасте 3 месяца ($p=0,017$). Носительство мутантного аллеля A в локусе G1082A ассоциировано с более низкими концентрациями кальпротектина в стуле у младенцев в сравнении с гомозиготами по дикому аллелю (для генотипа AA: 1,9 нг/мл [1,9; 3,1], GA: 15,9 нг/мл [1,9; 93,8]) и GG: 88,3 нг/мл [2,4; 230,1]). У гомозигот по мутантному аллелю содержание ЭоПХ было достоверно ($p=0,019$) выше, чем у гетерозигот (3,2 нг/мл [2,4; 4,5] и 2,3 нг/мл [1,3; 3,3], соответственно).

4. Не установлено значимого влияния полиморфизма локуса C592A гена интерлейкина 10 и локуса Asp299Gly гена рецептора TLR 4 на кон-

центрации фекального кальпротектина и эозинофильного протеина X у обследуемых детей.

Литература

1. Bifidobacteria-mediated immune system imprinting early in life / B. M. Henrick [et al.] // *Cell*. – 2021. – Vol. 184, № 15. – P. 3884-3898.e11. – doi: 10.1016/j.cell.2021.05.030.
2. Stiemsma, L. T. Asthma and the microbiome: defining the critical window in early life / L. T. Stiemsma, S. E. Turvey // *Allergy Asthma Clin Immunol*. – 2017. – Vol. 13. – P. 3. – doi: 10.1186/s13223-016-0173-6.
3. Emerging evidence of the role of gut microbiota in the development of allergic diseases / K. Simonyte Sjödin [et al.] // *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. – 2016. – Vol. 16, № 4. – P. 390-395. – doi: 10.1097/ACI.0000000000000277.
4. Regulation of Intestinal Immune Responses through TLR Activation: Implications for Pro- and Prebiotics / S. de Kivit [et al.] // *Front Immunol*. – 2014. – Vol. 5. – P. 60. – doi: 10.3389/fimmu.2014.00060.
5. Toll-Like Receptor-4 Gene (Asp299Gly) polymorphism in allergic conjunctivitis / S. A. Baoumy [et al.] // *Egypt J Immunol*. – 2022. – Vol. 29, № 1. – P. 1-12.
6. Interleukin 10 -1082 G/A Gene Polymorphism and Susceptibility to Bronchial Asthma in Children: A Single-Center Study / H. M. El Maghraby [et al.] // *J Interferon Cytokine Res*. – 2021. – Vol. 41, № 10. – P. 385-390. – doi: 10.1089/jir.2021.0136.
7. Association of IL-10 gene promoter polymorphisms with food allergy susceptibility and serum IL-10 level in a pediatric Caucasian population / N. Nedelkopoulou [et al.] // *Pediatr Allergy Immunol*. – 2021. – Vol. 32, № 3. – P. 552-559. – doi: 10.1111/pai.13407.
8. The Use of Fecal Calprotectin Testing in Paediatric Disorders: A Position Paper of the European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition Gastroenterology Committee / C. R. Koninckx [et al.] // *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. – 2021. – Vol. 72, № 4. – P. 617-640. – doi: 10.1097/MPG.0000000000003046.
9. Jeong, S. J. The role of fecal calprotectin in pediatric disease / S. J. Jeong // *Korean J Pediatr*. – 2019. – Vol. 62, № 8. – P. 287-291. – doi: 10.3345/kjp.2019.00059.
10. Fecal calprotectin levels in the babies with infantile colic / N. Karabayir [et al.] // *Journal of Child*. – 2021. – Vol. 21, № 2. – P. 105-110. – doi: 10.26650/jchild.2021.775736.
11. Fecal Calprotectin and Eosinophil-Derived Neurotoxin in Children with Non-IgE-Mediated Cow's Milk Protein Allergy / M. Roca [et al.] // *J Clin Med*. – 2021. – Vol. 10, № 8. – P. 1595. – doi: 10.3390/jcm10081595.
12. Chawes, B. L. Low-grade disease activity in early life precedes childhood asthma and allergy / B. L. Chawes // *Dan. Med. J*. – 2016. – Vol. 63, № 8. – P. B5272.
13. Eosinophil-derived neurotoxin: A biologically and analytically attractive asthma biomarker / B. Rutten [et al.] // *PLoS One*. – 2021. – Vol. 16, № 2. – P. e0246627. – doi: 10.1371/journal.pone.0246627.
14. Toll-like receptor 2 impacts the development of oral tolerance in mouse pups via a milk-dependent mechanism / B. Dawod [et al.] // *J Allergy Clin Immunol*. – 2020. – Vol. 146, № 3. – P. 631-641.e8. – doi: 10.1016/j.jaci.2020.01.049.
15. A comprehensive understanding of the gut mucosal immune system in allergic inflammation / D. Tokuhara [et al.] // *Allergol Int*. – 2019. – Vol. 68, № 1. – P. 17-25. – doi: 10.1016/j.alit.2018.09.004.
16. Paternal vs. Maternal Factors in Childhood Atopic Dermatitis / A. R. Vaughn [et al.] // *Dermatitis*. – 2017. – Vol. 28, № 4. – P. 241-245. – doi: 10.1097/DER.0000000000000305.
17. Impact of parental asthma, prenatal maternal asthma control, and vitamin D status on risk of asthma and recurrent wheeze in 3-year-old children / H. Mirzakhani [et al.] // *Clin Exp Allergy*. – 2019. – Vol. 49, № 4. – P. 419-429. – doi: 10.1111/cea.13320.

References

1. Henrick BM, Rodriguez L, Lakshmikanth T, Pou C, Henckel E, Arzoomand A, Olin A, Wang J, Mikes J, Tan Z, Chen Y, Ehrlich AM, Bernhardsson AK, Mugabo CH, Ambrosiani Y, Gustafsson A, Chew S, Brown HK, Prambs J, Bohlin K, Mitchell RD, Underwood MA, Smilowitz JT, German JB, Frese SA, et al. Bifidobacteria-mediated immune system imprinting early in life. *Cell*. 2021;184(15):3884-3898. e11. doi: 10.1016/j.cell.2021.05.030.
2. Stiemsma LT, Turvey SE. Asthma and the microbiome: defining the critical window in early life. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2017;13:3. doi: 10.1186/s13223-016-0173-6.
3. Simonyte Sjödin K, Vidman L, Rydén P, West CE. Emerging evidence of the role of gut microbiota in the development of allergic diseases. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2016;16(4):390-395. doi: 10.1097/ACI.0000000000000277.
4. de Kivit S, Tobin MC, Forsyth CB, Keshavarzian A, Landay AL. Regulation of Intestinal Immune Responses through TLR Activation: Implications for Pro- and Prebiotics. *Front Immunol*. 2014;5:60. doi: 10.3389/fimmu.2014.00060.
5. Baoumy SA, Taha SI, Sallam DE, Alashry AIA, Fouad SH, Hegab MA. Toll-Like Receptor-4 Gene (Asp299Gly) polymorphism in allergic conjunctivitis. *Egypt J Immunol*. 2022;29(1):1-12.
6. El Maghraby HM, Ismail NA, Hussein S, Sabbah NA, Abdallah LA. Interleukin 10 -1082 G/A Gene Polymorphism and Susceptibility to Bronchial Asthma in Children: A Single-Center Study. *J Interferon Cytokine Res*. 2021;41(10):385-390. doi: 10.1089/jir.2021.0136.
7. Nedelkopoulou N, Taparkou A, Raftopoulou S, Gidaris D, Xinias I, Mavroudi A, Dhawan A, Farmaki E. Association of IL-10 gene promoter polymorphisms with food allergy susceptibility and serum IL-10 level in a pediatric Caucasian population. *Pediatr Allergy Immunol*. 2021;32(3):552-559. doi: 10.1111/pai.13407.
8. Koninckx CR, Donat E, Benninga MA, Broekaert IJ, Gottrand F, Kolho KL, Lionetti P, Miele E, Orel R, Papadopolou A, Pienar C, Schäppi MG, Wilschanski M, Thapar N. The Use of Fecal Calprotectin Testing in Paediatric Disorders: A Position Paper of the European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition Gastroenterology Committee. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2021;72(4):617-640. doi: 10.1097/MPG.0000000000003046.
9. Jeong SJ. The role of fecal calprotectin in pediatric disease. *Korean J Pediatr*. 2019;62(8):287-291. doi: 10.3345/kjp.2019.00059.
10. Karabayir N, Ozden TA, Durmaz O, Gokcay G. Fecal calprotectin levels in the babies with infantile colic.

- Journal of Child.* 2021;21(2):105-110. doi: 10.26650/jchild.2021.775736.
11. Roca M, Donat E, Rodriguez Varela A, Carvajal E, Cano F, Armisen A, Ekoff H, Cañada-Martínez AJ, Rydell N, Ribes-Koninckx C. Fecal Calprotectin and Eosinophil-Derived Neurotoxin in Children with Non-IgE-Mediated Cow's Milk Protein Allergy. *J Clin Med.* 2021;10(8):1595. doi: 10.3390/jcm10081595.
 12. Chawes BL. Low-grade disease activity in early life precedes childhood asthma and allergy. *Dan. Med. J.* 2016;63(8):B5272
 13. Rutten B, Young S, Rhedin M, Olsson M, Kurian N, Syed F, Beech A, Fidock M, Newbold P, Singh D, Platt A, Hughes G. Eosinophil-derived neurotoxin: A biologically and analytically attractive asthma biomarker. *PLoS One.* 2021;16(2):e0246627. doi: 10.1371/journal.pone.0246627.
 14. Dawod B, Haidl ID, Azad MB, Marshall JS. Toll-like receptor 2 impacts the development of oral tolerance in mouse pups via a milk-dependent mechanism. *J Allergy Clin Immunol.* 2020;146(3):631-641.e8. doi: 10.1016/j.jaci.2020.01.049.
 15. Tokuhara D, Kurashima Y, Kamioka M, Nakayama T, Ernst P, Kiyono H. A comprehensive understanding of the gut mucosal immune system in allergic inflammation. *Allergol Int.* 2019;68(1):17-25. doi: 10.1016/j.alit.2018.09.004.
 16. Vaughn AR, Sivamani RK, Lio PA, Shi VY. Paternal vs. Maternal Factors in Childhood Atopic Dermatitis. *Dermatitis.* 2017;28(4):241-245. doi: 10.1097/DER.0000000000000305.
 17. Mirzakhani H, Carey VJ, Zeiger R, Bacharier LB, O'Connor GT, Schatz MX, Laranjo N, Weiss ST, Litonjua AA. Impact of parental asthma, prenatal maternal asthma control, and vitamin D status on risk of asthma and recurrent wheeze in 3-year-old children. *Clin Exp Allergy.* 2019;49(4):419-429. doi: 10.1111/cea.13320.

FECAL CALPROTECTIN AND URINE EOSINOPHIL PROTEIN X CONCENTRATIONS IN INFANTS DEPENDING ON INTERLEUKIN 10 (G1082A, C592A) AND TOLL-LIKE RECEPTOR 4 (ASP299GLY) GENE POLYMORPHISMS

N. M. Tsikhan, S. A. Lialikau, V. U. Harchakova
Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

Background. Cytokine and toll-like receptor gene polymorphisms may impact oral tolerance formation in infants.

Objective: To determine the genotype distribution of IL-10 (G1082A, C592A) and TLR 4 (Asp299Gly) gene polymorphisms in children with different family history of allergy residing in Grodno region; to analyze the association between gene polymorphisms and concentrations of fecal calprotectin (FCP) and urine eosinophil protein X (UEoPX) in infants.

Material and Methods. 92 infants were recruited and analyzed for IL-10 (G1082A, C592A) and TLR 4 (Asp299Gly) gene polymorphisms. Concentrations of FCP and UEoPX were examined in dynamics in children aged 1 and 3 months.

Results. 80.4% and 48.9% of infants were carriers of the mutant allele of the G1082A and C592A polymorphisms respectively. 70.5% of children with negative family history of allergy were carriers of the wild G allele of G1082A polymorphism. Carriage of the mutant A allele of G1082A polymorphism is associated with lower FCP concentration in infants aged 1 month (AA: 1.9 ng/mL [1.9; 3.1], GA: 15.9 ng/mL [1.9; 93.8]) and GG: 88.3 ng/mL [2.4; 230.1]). The level of UEoPX in 3 months old infants with homozygote AA genotype was significantly ($p=0.019$) higher than in infants with heterozygote CA genotype (3.2 ng/ml [2.4; 4.5] and 2.3 ng/ml [1.3; 3.3] respectively).

Conclusion. Carriage of the wild G allele of G1082A polymorphism is associated with higher fecal calprotectin concentration in one month old infants and significantly lower level of urine eosinophil protein X in 3 months old infants.

Keywords: intestinal microbiota, children, immune tolerance, biomarkers.

For citation: Tsikhan NM, Lialikau SA, Harchakova VU. Fecal calprotectin and urine eosinophil protein x concentrations in infants depending on interleukin 10 (G1082A, C592A) and toll-like receptor 4 (ASP299GLY) gene polymorphisms. *Journal of the Grodno State Medical University.* 2023;21(1):58-63. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2023-21-1-58-63>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственной программы научных исследований на 2021-2025 гг. ГПНИ 4 «Трансляционная медицина», подпрограмма 4.2 «Фундаментальные аспекты медицинской науки», задание 3.32 (01.01.2022 - 31.12.2024; № госрегистрации 20220218, от 28.02.2022) и «Гранта для аспирантов, докторантов и ППС УО «ГрГМУ»» (приказ № 214 от 01.06.2021).

Financing. The study was carried out with the financial support of the State Research Program for 2021-2025 №4 "Translational Medicine", subprogram 4.2 "Fundamental Aspects of Medical Science", task 3.32 (01.01.2022 - 31.12.2024; State Registration № 20220218, dated 28.02.2022) and «Grodno State Medical University Grant for PhD students» (order № 214 dated 01.06.2021).

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local ethics committee.

Об авторах / About the authors

*Тихон Наталья Михайловна / Tsikhan Natallia, e-mail: tsikhannat@gmail.com, ORCID: 0000-0002-7803-5460

Ляликов Сергей Александрович / Lialikay Siarhey, e-mail: lalikov@tut.by

Горчакова Ольга Владимировна / Harchakova Volha, e-mail: daniil_go@inbox.ru, ORCID: 0000-0001-9998-4350

* – автор, ответственный за переписку / corresponding author

Поступила / Received: 27.10.2022

Принята к публикации / Accepted for publication: 25.01.2023