



Ю. А. Бисюк<sup>1</sup>, А. И. Курченко<sup>1</sup>, В. Е. Кондратюк<sup>1</sup>, А. И. Дубовой<sup>2</sup>

## Иммунитет к эндотоксину и Asp299Gly полиморфизм гена TLR-4 у взрослых больных с ранним и поздним началом бронхиальной астмы

<sup>1</sup>Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, г. Киев,

<sup>2</sup>ГУ «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, эндотоксины, полиморфизм генетический.

Полиморфизм Asp299Gly гена TLR-4 может быть связан с риском возникновения бронхиальной астмы. С целью изучения полиморфизма Asp299Gly гена TLR-4 и состояния антиэндотоксинового иммунитета исследовано 262 пациентов с ранним и 69 с поздним началом астмы. Состояние антиэндотоксинового иммунитета оценивали с помощью определения специфических антиэндотоксиновых антител классов А, М, G и sCD14 методом иммуноферментного анализа. Для оценки полиморфизма использовали метод аллель-специфической полимеразной цепной реакции с электрофоретической детекцией. Установлено, что риск развития астмы раннего начала в популяции АР Крым связан с генотипами AG и GG полиморфного участка Asp299Gly гена TLR-4. У пациентов с астмой позднего начала для генотипа AA по сравнению с AG наблюдается увеличение уровня антиэндотоксинового IgM и снижение уровня sIgA.

## Імунітет до ендотоксину та Asp299Gly поліморфізм гена TLR-4 у дорослих хворих на бронхіальну астму з раннім і пізнім початком

Ю. А. Бісюк, А. І. Курченко, В. Є. Кондратюк, А. І. Дубовий

Поліморфізм Asp299Gly гена TLR-4 може бути пов'язаний із ризиком виникнення бронхіальної астми. З метою вивчення поліморфізму Asp299Gly гена TLR-4 і стану антиендотоксинувого імунітету дослідили 262 пацієнтів із раннім і 69 із пізнім початком астми. Стан антиендотоксинувого імунітету оцінювали за допомогою визначення специфічних антиендотоксинувих антитіл класів А, М, G і sCD14 методом імуноферментного аналізу. Для оцінювання поліморфізму використовували метод аллель-специфічної полімеразної ланцюгової реакції з електрофоретичною детекцією. Встановили, що ризик розвитку астми раннього початку в популяції АР Крим пов'язаний із генотипами AG і GG поліморфної ділянки Asp299Gly гена TLR-4. У пацієнтів з астмою пізнього початку для генотипу AA в порівнянні з AG спостерігається збільшення рівня антиендотоксинувих IgM і зниження рівня sIgA.

**Ключові слова:** бронхіальна астма, ендотоксини, поліморфізм генетичний.

*Запорізький медичний журнал. – 2015. – №3 (90). – С. 86–90*

## Immunity to endotoxin and Asp299Gly polymorphism of TLR-4 in adult patients with early and late onset of asthma

Yu. A. Bisyuk, A. I. Kurchenko, V. E. Kondratiuk, A. I. Dubovyi

**Aim.** The gene polymorphism of Asp299Gly TLR-4 may be associated with the risk of asthma development.

**Methods and results.** The gene polymorphism of TLR-4 (Asp299Gly) receptor has been researched in 262 early-onset and in 69 late-onset asthma patients. The state of anti-endotoxin immunity was assessed by determination of specific antibodies to the endotoxin of A, M, G classes and sCD14 by ELISA. The polymorphism was analyzed by the allele-specific polymerase chain reaction with electrophoretic detection. It was estimated that the risk of early-onset asthma in the population of Crimea is associated with genotypes AG and GG (Asp299Gly) of TLR-4. There were increased levels of anti-endotoxin IgM and decreased of sIgA in patients with late-onset asthma and AA genotype as compared to other genotypes.

**Conclusion.** The gene polymorphism of Asp299Gly TLR-4 is associated with the risk of early-onset asthma development in Crimea population.

**Key words:** Bronchial Asthma, Endotoxins, Polymorphism, Genetic.

*Zaporozhye medical journal 2015; №3 (90): 86–90*

В Украине частота бронхиальной астмы (БА), по данным кросс-секционного исследования, составляет 2,77% [1]. Астма относится к гетерогенным заболеваниям с вовлечением огромного количества эндогенных и экзогенных факторов [2]. В патогенезе БА ключевым моментом является хроническое воспаление, которое зависит от модификационного влияния факторов окружающей среды, в том числе микроорганизмов и их продуктов [3].

Одним из модификаторов иммунного ответа является эндотоксин грамотрицательных бактерий [4]. Эндотоксин или липополисахарид (ЛПС) при попадании в организм связывается со специфическим белком LBP (Lipopolysaccharide binding protein) с последующим присоединением к рецеп-

торам CD14 и TLR-4 (Toll like receptor-4) на поверхности моноцитов, макрофагов и гранулоцитов [5]. Активация данных рецепторов приводит к синтезу провоспалительных цитокинов, в микроокружении которых происходит дополнительная активация Т-хелперов 1 типа [6]. Т-хелперы 1 типа в основном обладают протекторными свойствами по отношению к развитию БА, но чрезмерная экспозиция ЛПС может вызвать противоположный эффект, что, возможно, связано с полиморфизмом генов, кодирующих рецепторы к эндотоксину [7].

Ген TLR4 расположен в хромосоме 9q32-33. Полиморфный участок Asp299Gly (rs4986790) гена TLR4 представляет собой однонуклеотидную замену аденина (А) на гуанин (G)



в положении +896 экзона 3, приводящую к аминокислотной замене аспарагиновой кислоты (Asp) на глицин (Gly) в 299 положении полипептидной цепи рецептора [8].

Повышенный риск развития БА у лиц с гетерозиготным генотипом AG (Asp299Gly) связывают с ответом иммунной системы на эндотоксин. У пациентов с астмой уровень эндотоксин-индуцированной секреции ИЛ-12 значительно ниже при AG генотипе, чем AA, что создаёт условия для активации Т-хелперов 2 типа и переключения иммунного ответа на синтез IgE [9].

В недавно проведённом мета-анализе (12 исследований случай-контроль с вовлечением 1838 пациентов с БА и 1764 контроля) не удалось найти значительной гетерогенности между исследованиями и определить существенную связь между Asp299Gly полиморфизмом и астмой [10].

Следует заметить, сегодня все исследования, которые проводятся в этом направлении, в том числе мета-анализы, повторяют одно и тоже разделение пациентов на атопическую и неатопическую БА, хотя полиморфизм Asp299Gly TLR-4 может быть связан и с другими фенотипами БА, что требует дальнейшего изучения. Кроме того, во многих исследованиях не учитывается состояние антиэндотоксинового иммунитета.

По результатам кластерного анализа у пациентов с тяжёлой астмой обнаружено, что астма раннего начала манифестируется до 40 лет, характеризуется наличием атопии и назначением более 3 контролирующих препаратов, а позднего начала чаще наблюдается у женщин после 40 лет и связана с повышенной потребностью в использовании оральных кортикостероидов [11].

В популяции АР Крым исследований по изучению полиморфизма Asp299Gly гена TLR-4, его связи с состоянием антиэндотоксинового иммунитета и пенетрацией астмы раннего и позднего начала не проводилось.

#### Цель работы

Изучить полиморфизм Asp299Gly гена TLR-4, его связь с состоянием антиэндотоксинового иммунитета и пенетрацией астмы раннего и позднего начала в популяции АР Крым.

#### Пациенты и методы исследования

Для исследования полиморфизма Asp299Gly гена рецептора TLR-4 в популяции Крыма принимали участие только те пациенты и добровольцы, которые родились в этом регионе.

В исследования включен 331 больной БА. Диагноз, лечение бронхиальной астмы проводились в соответствии с критериями действующего приказа МЗ Украины № 128 от 19.03.2007 г. Для разделения пациентов с астмой раннего и позднего начала использовали возраст начала появления симптомов. Для астмы раннего начала – манифестация симптомов до 40 лет включительно; позднего – после 40.

Уровни антиэндотоксиновых антител классов А, М, G (соответственно анти-ЭТ-IgA, анти-ЭТ-IgM и анти-ЭТ-IgG) в сыворотке и секреторного антиэндотоксинового иммуноглобулина А (анти-ЭТ-sIgA) в индуцированной мокроте определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа по протоколам, разработанным в лаборатории клинической иммунологии ЦНИЛ ГУ «Крымский государствен-

ный медицинский университет имени С.И. Георгиевского» [12–13]. Уровни анти-ЭТ-IgA, анти-ЭТ-IgM и анти-ЭТ-IgG выражали в условных единицах оптической плотности конечного продукта ферментативной реакции.

Уровень sCD14 в сыворотке и индуцированной мокроте определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-системы «Hbt Human sCD14 ELISA Kit, Product Number: НК320» производства «Nucult biotechnology» (Голландия). Оптическую плотность определяли на анализаторе «StatFax 2100» на длине волны 450 нм. Содержание sCD14 в сыворотке выражали в мкг/мл, в индуцированной мокроте – в нг/мл.

Для анализа полиморфизма гена TLR-4 (Asp299Gly) был использован метод аллель-специфической полимеразной цепной реакции с электрофоретической детекцией. Выделение ДНК осуществлялось из цельной крови пациентов с БА и здоровых добровольцев при помощи набора «ДНК-экспресс кровь» («Литех», РФ) согласно инструкции производителя. Постановка аллель-специфической ПЦР выполнялась с помощью наборов «Мутация толл-подобного рецептора 4 Asp299Gly, rs4986790» («Литех», РФ) согласно инструкции производителя. Детекцию продуктов амплификации осуществляли методом горизонтального электрофореза с помощью готового набора («Литех», РФ).

Группу контроля для генетического исследования составили 285 пациентов, а для оценки антиэндотоксинового иммунитета привлекли 92 практически здоровых лиц, проживающих в АР Крым. Все волонтеры исследовались на предмет аллергической патологии посредством изучения анамнеза и проведения кожных аллерготестов. Для кожных прик-тестов использовали аллергены производства «Иммунолог», г. Винница.

Все результаты подвергнуты статистической обработке для параметрических и непараметрических критериев с использованием программы «Minitab 16». При анализе проверки распределения на нормальность использовали тест Колмогорова-Смирнова, сравнение центральных тенденций двух независимых выборок с использованием U-критерия Манна-Уитни и сравнение средних двух независимых выборок по критерию Стьюдента. Количественные переменные представлены в виде средних значений и среднеквадратических отклонений для параметрических методов и медианы с 1 и 3 квартилем для непараметрических. Для установления распределения генотипов соответственно закону Харди-Вайнберга использовали точный тест Фишера и  $\chi^2$ . Для определения разницы в частоте генотипов, аллелей контроля и больных с бронхиальной астмой была использована логистическая регрессия с помощью on-line калькулятора (<http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>).

В нашей работе риск по аллелю G подразумевал доминантную модель G, когда частота генотипа AG объединяется с генотипом GG и сравнивается с генотипом AA. Подсчёт частоты аллеля А проводили по формуле: частота аллеля А =  $n_{AA} \times 2 + n_{AG}$ , где  $n_{AA}$  – количество исследуемых пациентов с генотипом AA,  $n_{AG}$  – количество с генотипом AG. Для аллеля G использовалась аналогичная формула: частота аллеля G =  $n_{GG} \times 2 + n_{AG}$ , где  $n_{GG}$  – количество исследуемых с генотипом GG,  $n_{AG}$  – количество с генотипом AG.



От пациентов, волонтеров получено добровольное письменное согласие на участие в научном исследовании, на которое есть разрешение комиссии по биоэтике ГУ «КГМУ имени С.И. Георгиевского».

**Результаты и их обсуждение**

При разделении пациентов в зависимости от начала появления симптомов выявлено 262 пациента с ранним и 69 с поздним началом БА.

Различия в частоте генотипов и аллелей TLR-4 (Asp299Gly) рецептора здоровых волонтеров и больных с бронхиальной астмой раннего начала в популяции АР Крым представлены в таблице 1.

Распределения генотипов (табл. 1) контроля (AA – 85%, AG – 14%, GG – 1%) и больных астмой раннего начала (AA – 78%, AG – 21%, GG – 1%) находились в соответствии с законом Харди-Вайнберга и достоверно не отличались ( $\chi^2 = 5,127, p = 0,077$ ). При использовании модели с риском по аллелю G установлено, что у пациентов с астмой раннего начала частота генотипа AG+GG встречается чаще, а AA –

реже по сравнению с контролем (ОШ = 1,636,  $\chi^2 = 4,97, p = 0,026$ ). Частота аллеля G (12%) также превалирует в данной группе по отношению к контролю (G – 8%; ОШ = 1,529,  $\chi^2 = 4,34, p = 0,037$ ). Анализ результатов, представленных в таблице 1, позволил нам выявить связь мутантного аллеля G с риском развития астмы раннего начала.

Следующим этапом работы стал анализ частоты генотипов у больных с астмой позднего начала по сравнению с контролем (табл. 2).

В контрольной группе (табл. 2) частота распределения генотипов AA – 85%, AG – 14%, GG – 1% достоверно не отличалась ( $\chi^2 = 0,09, P = 0,955$ ) от БА позднего начала (AA – 84%, AG – 15%, GG – 1%). Анализ риска по аллелю G выявил, что частота генотипа AG+GG у больных с поздним началом БА (16%) достоверно (ОШ=1,067,  $p=0,859$ ) не отличалась от контроля (15%). Частота аллелей для контроля и больных БА с поздним началом также достоверно не отличалась ( $p=0,810$ ).

Таблица 1

**Частота распределения генотипов TLR-4 (Asp299Gly) у больных астмой раннего начала и здоровых волонтеров**

Показатели	Контроль, n=285	Астма раннего начала, n=262	ОШ, ДИ, $\chi^2, p$
Распределение генотипов			
AA	242 (85%)	203 (78%)	$\chi^2=5,127, p=0,077$
AG	40 (14%)	56 (21%)	
GG	3 (1%)	3 (1%)	
Риск по аллелю G ([AA]<->[AG+GG])			
AA	242 (85%)	203 (78%)	ОШ=1,636, ДИ=[1,059–2,527] $\chi^2=4,97, p=0,026$
AG+GG	43 (15%)	59 (22%)	
Разница частот аллелей			
A	524 (92%)	462 (88%)	[A]<->[G] ОШ=1,529, ДИ=[1,023–2,284] $\chi^2=4,34, p=0,037$ [G]<->[A] ОШ=0,654, ДИ=[0,438–0,977] $\chi^2=4,34, p=0,037$
G	46 (8%)	62 (12%)	

Примечания: ОШ – отношение шансов, ДИ – 95% доверительный интервал, p – достоверность различий.

Таблица 2

**Частота распределения генотипов TLR-4 (Asp299Gly) рецептора у больных бронхиальной астмой позднего начала и здоровых волонтеров**

Показатели	Контроль, n=285	Астма позднего начала, n=69	ОШ, ДИ, $\chi^2, p$
Распределение генотипов			
AA	242 (85%)	58 (84%)	$\chi^2=0,09, p=0,955$
AG	40 (14%)	10 (15%)	
GG	3 (1%)	1 (1%)	
Риск по аллелю G ([AA]<->[AG+GG])			
AA	242 (85%)	58 (84%)	ОШ=1,067, ДИ=[0,519–2,196] $\chi^2=0,03, p=0,859$
AG+GG	43 (15%)	11 (16%)	
Разница частот аллелей			
A	524 (92%)	126 (91%)	[A]<->[G] ОШ=1,085, ДИ=[0,558–2,108] $\chi^2=0,06, p=0,810$ [G]<->[A] ОШ=0,922, ДИ=[0,474–1,791] $\chi^2=0,06, p=0,810$
G	46 (8%)	12 (9%)	

Примечания: ОШ – отношение шансов, ДИ – 95% доверительный интервал, p – достоверность различий.



Таблица 3

**Показатели антиэндотоксинового иммунитета в зависимости от генотипов TLR-4 (Asp299Gly) рецептора у больных бронхиальной астмой раннего начала**

Показатель, единицы измерения	Контроль, (n=92)	AA, (n=203)	AG+GG, (n=59)	P, T, К-У
Анти-ЭТ-IgA (ед.опт.пл.)	0,266 (0,184–0,354)	0,253 (0,211–0,313)	0,269 (0,183–0,337)	0,829
Анти-ЭТ-IgM (ед.опт.пл.)	0,322 (0,203–0,400)	0,413 <sup>a</sup> (0,320–0,509)	0,399 <sup>a</sup> (0,328–0,472)	<0,001
Анти-ЭТ-IgG (ед.опт.пл.)	0,357 (0,261–0,442)	1,053 <sup>a</sup> (0,800–1,308)	0,958 <sup>a</sup> (0,690–1,297)	<0,001
Анти-ЭТ-sIgA (ед.опт.пл.)	0,178 (0,119–0,217)	0,154 (0,116–0,196)	0,164 (0,125–0,192)	0,076
sCD14, сыворотка (мкг/мл)	4,99 (3,53–6,90)	5,43 (3,89–7,25)	5,62 (4,17–8,39)	0,059
sCD14, индуцированная мокрота (нг/мл)	6,7 (4,3–9,3)	8,8 <sup>a</sup> (5,6–11,7)	9,1 <sup>a</sup> (6,2–11,5)	<0,001

Примечания: а – достоверность различий контроля и групп AA, AG + GG,  $p < 0,05$ ; б – достоверность различий групп AA и AG + GG,  $p < 0,05$ ; T, К-У – тест Краскела–Уоллиса.

Таблица 4

**Показатели антиэндотоксинового иммунитета в зависимости от генотипов TLR-4 (Asp299Gly) рецептора у больных бронхиальной астмой позднего начала**

Показатель, единицы измерения	Контроль, (n=92)	AA, (n=58)	AG, (n=11)	P, T, К-У
Анти-ЭТ-IgA (ед.опт.пл.)	0,266 (0,184–0,354)	0,255 (0,174–0,322)	0,242 (0,207–0,298)	0,801
Анти-ЭТ-IgM (ед.опт.пл.)	0,322 (0,203–0,400)	0,412 <sup>a, б</sup> (0,303–0,493)	0,333 <sup>б</sup> (0,161–0,376)	0,001
Анти-ЭТ-IgG (ед.опт.пл.)	0,357 (0,261–0,442)	0,955 <sup>a</sup> (0,746–1,302)	0,901 <sup>a</sup> (0,502–1,397)	<0,001
Анти-ЭТ-sIgA (ед.опт.пл.)	0,178 (0,119–0,217)	0,142 <sup>a</sup> (0,099–0,197)	0,175 (0,150–0,206)	0,042
sCD14, сыворотка (мкг/мл)	4,99 (3,53–6,90)	5,95 (4,07–7,91)	4,68 (4,14–8,37)	0,094
sCD14, индуцированная мокрота (нг/мл)	6,7 (4,3–9,3)	11,6 <sup>a</sup> (6,1–23,92)	9,7 <sup>a</sup> (7,4–18,9)	<0,001

Примечания: а – достоверность различий контроля и групп AA, AG + GG,  $p < 0,05$ ; б – достоверность различий групп AA и AG + GG,  $p < 0,05$ ; T, К-У – тест Краскела–Уоллиса.

Выявленные нами распределения генотипов Asp299Gly TLR-4 могут служить дополнительным критерием, который свидетельствует о повышенном риске развития астмы раннего начала у пациентов с генотипами AG или GG.

Риск развития БА раннего начала у пациентов с генотипами AG или GG может быть связан с состоянием антиэндотоксинового иммунитета (табл. 3).

Уровни Анти-ЭТ-IgA, Анти-ЭТ-sIgA и sCD14 в сыворотке (табл. 3) для всех генотипов достоверно не отличались от контроля ( $p > 0,05$ ). В свою очередь содержание антиэндотоксиновых антител класс M, G и sCD14 в индуцированной мокроте достоверно ( $p < 0,001$ ) превышали значения контроля. При сравнении данных показателей в зависимости от генотипов Asp299Gly достоверных отличий установить не удалось.

Следующим этапом работы стал анализ показателей антиэндотоксинового иммунитета у пациентов с БА позднего начала (табл. 4).

Содержание Анти-ЭТ-IgA (табл. 4) у пациентов с БА позднего начала и генотипами AA и AG достоверно не отличалось ( $p = 0,801$ ) от контрольной группы, а уровень анти-ЭТ-sIgA в индуцированной мокроте при генотипе AA был достоверно ниже ( $p = 0,042$ ). У пациентов с генотипом AA уровень анти-ЭТ-IgM был достоверно выше ( $p = 0,001$ ) в сравнении с генотипом AG и контролем. Уровни анти-ЭТ-IgG и sCD14 в индуцированной мокроте были достоверно выше контроля ( $p < 0,001$ ), но не отличались в зависимости от исследуемых генотипов.

Таким образом, для астмы раннего генеза нами установлено: превалирование генотипов AG и GG по сравнению с

контролем не связано с состоянием антиэндотоксинового иммунитета как на местном, так и системном уровне. Отсутствие связи полиморфизма Asp299Gly гена TLR-4 с пенетрацией астмы позднего начала, с одной стороны, возможно, исключает важность изучаемой проблемы для данного фенотипа, с другой, для генотипа AA по сравнению с AG наблюдается активация гуморального и адаптивного (увеличение уровня анти-ЭТ-IgM) и дефицит эндобронхиального (снижение уровня анти-ЭТ-sIgA) иммунного ответа.

В исследовании, проведенном в популяции Турции, установлено, что у детей полиморфизм Asp299Gly связан с риском развития лёгкой астмы и обладает протективными свойствами в отношении развития тяжёлой [14]. В другом исследовании показано: среднетяжёлая и тяжёлая атопическая астма связана с генотипом AG, а лёгкая – с AA [15].

Для более широкого понимания связи полиморфизма Asp299Gly гена TLR-4 с развитием БА, очевидно, нужно провести анализ частоты генотипов гена данного рецептора с учётом других фенотипов, эндотипов эндотоксин-зависимого воспаления, что позволит комплексно оценить взаимосвязи в контексте изучаемой проблемы.

#### Выводы

1. Риск развития астмы раннего начала в популяции АР Крым связан с генотипами AG и GG полиморфного участка Asp299Gly гена TLR-4.

2. У пациентов с астмой позднего начала для генотипа AA по сравнению с AG (Asp299Gly, TLR-4) наблюдается активация гуморального и адаптивного (увеличение уровня анти-ЭТ-IgM) и дефицит эндобронхиального (снижение уровня анти-ЭТ-sIgA) иммунного ответа.



## Список литературы

1. Global asthma prevalence in adults: findings from the cross-sectional world health survey / T. To, S. Stanojevic, G. Moores et al. // *BMC Public Health*. – 2012. – Vol. 12. – №1. – P. 204.
2. Holgate S.T. Innate and adaptive immune responses in asthma / S.T. Holgate // *Nature medicine*. – 2012. – Vol. 18. – №5. – P. 673–683.
3. Lambrecht B.N. The immunology of asthma / B.N. Lambrecht, H. Hammad // *Nature immunology*. – 2014. – Vol. 16. – P. 45–56.
4. Immunopathogenesis of Allergic Asthma: More Than the Th2 Hypothesis / Y.-M. Kim, Y.-S. Kim, S.G. Jeon et al. // *Allergy Asthma Immunol Res*. – 2013. – Vol. 5. – №4. – P. 189–196.
5. Park B.S. Recognition of lipopolysaccharide pattern by TLR4 complexes / B.S. Park, J.-O. Lee // *Exp Mol Med*. – 2013. – Vol. 45. – №12. – e. 66.
6. Tesse R. Genetic variations in toll-like receptor pathway genes influence asthma and atopy / R. Tesse, R.C. Pandey, M. Kabesch // *Allergy*. – 2011. – Vol. 66. – №3. – P. 307–316.
7. Simpson A. The role of lipopolysaccharide in the development of atopy in humans / A. Simpson, F.D. Martinez // *Clin Exp Allergy*. – 2010. – Vol. 40. – №2. – P. 209–223.
8. Toll-like receptor 4 polymorphism and severity of atopy in asthmatics / I.A. Yang, S.J. Barton, S. Rorke et al. // *Genes Immun*. – 2004. – Vol. 5. – №1. – P. 41–45.
9. Lipopolysaccharide-induced immune responses in relation to the TLR4 (Asp299Gly) gene polymorphism / A. Lundberg, L.A. Wikberg, J. Ilonen et al. // *Clin Vaccine Immunol*. – 2008. – Vol. 15. – №12. – P. 1878–1883.
10. TLR4 +896A>G (Asp299Gly) polymorphism is not associated with asthma: a update meta-analysis / Y. Yingshui, R. Xiaohua, H. Lianping et al. // *Int J Clin Exp Med*. – 2014. – Vol. 7. – №12. – P. 5358–5361.
11. Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the severe asthma research program / W.C. Moore, D.A. Meyers, S.E. Wenzel et al. // *American journal of respiratory and critical care medicine*. – 2010. – Vol. 181. – №4. – P. 315–323.
12. Гордієнко А.І. Патент 70193 А Україна МКІ 7 А61К31/01 Спосіб визначення антитіл до ліполісахаридів грам негативних бактерій / А.І. Гордієнко, В.О. Білоглазов; завл. 29.12.2003 р.; опубл. 15.09.2004 р. // Бюл. № 9.
13. Гордиенко А.И. Использование твердофазного иммуноферментного анализа для определения общего и антиэндотоксинового секреторного IgA человека / А.И. Гордиенко // *Таврический медико-биологический вестник*. – 2009. – Т. 12. – №3. – С. 82–89.
14. The effect of polymorphisms at the CD14 promoter and the TLR4 gene on asthma phenotypes in Turkish children with asthma / C. Sackesen, C. Karaaslan, O. Keskin et al. // *Allergy*. – 2005. – Vol. 60. – №12. – P. 1485–1492.
15. Toll-like receptor 2 and Toll-like receptor 4 polymorphisms and susceptibility to asthma and allergic rhinitis: a case-control analysis / Y.M. Hussein, H.A. Awad, S.M. Shalaby et al. // *Cell Immunol*. – 2012. – Vol. 274. – №1–2. – P. 34–38.
- findings from the cross-sectional world health survey. *BMC Public Health*, 12(1), 204. doi:10.1186/1471-2458-12-204.
2. Holgate, S. (2012). Innate and adaptive immune responses in asthma. *Nat Med*, 18(5), 673–683. doi:10.1038/nm.2731.
3. Lambrecht, B., & Hammad, H. (2014). The immunology of asthma. *Nat Immunol*, 16(1), 45–56. doi:10.1038/ni.3049.
4. Kim, Y., Kim, Y., Jeon, S., & Kim, Y. (2013). Immunopathogenesis of Allergic Asthma: More Than the Th2 Hypothesis. *Allergy, Asthma & Immunology Research*, 5(4), 189. doi:10.4168/air.2013.5.4.189.
5. Park, B., & Lee, J. (2013). Recognition of lipopolysaccharide pattern by TLR4 complexes. *Exp Mol Med*, 45(12), e66. doi:10.1038/emmm.2013.97.
6. Tesse, R., Pandey, R., & Kabesch, M. (2010). Genetic variations in toll-like receptor pathway genes influence asthma and atopy. *Allergy*, 66(3), 307–316. doi:10.1111/j.1398-9995.2010.02489.x.
7. Simpson, A., & Martinez, F. (2010). The role of lipopolysaccharide in the development of atopy in humans. *Clinical & Experimental Allergy*, 40(2), 209–223. doi:10.1111/j.1365-2222.2009.03391.x.
8. Yang, I., Barton, S., Rorke, S., Cakebread, J., Keith, T., & Clough, J. et al. (2004). Toll-like receptor 4 polymorphism and severity of atopy in asthmatics. *Genes Immun*, 5(1), 41–45. doi:10.1038/sj.gene.6364037.
9. Lundberg, A., Wikberg, L., Ilonen, J., Vaarala, O., & Bottcher, M. (2008). Lipopolysaccharide-Induced Immune Responses in Relation to the TLR4(Asp299Gly) Gene Polymorphism. *Clinical And Vaccine Immunology*, 15(12), 1878–1883. doi:10.1128/cvi.00241-08.
10. Yingshui, Y., Xiaohua, R., Lianping, H., Jie, L., Yuelong, J., Weiwei, C., Chaopin, L. (2014). TLR4 +896A>G (Asp299Gly) polymorphism is not associated with asthma: a update meta-analysis. *International Journal Of Clinical And Experimental Medicine*, 7(12), 5358–5361.
11. Moore, W., Meyers, D., Wenzel, S., Teague, W., Li, H., & Li, X. et al. (2010). Identification of Asthma Phenotypes Using Cluster Analysis in the Severe Asthma Research Program. *Am J Respir Crit Care Med*, 181(4), 315–323. doi:10.1164/rccm.200906-0896oc.
12. Gordienko, A. I., Biloglazov, V. O. Patent 70193 A Ukrayina MKI 7 A61K31/01 Sposib viznachennya antitil do lipolisaharidiv gram negativnih bakteriy; Zav. 29.12.2003; Opubl. 15.09.2004, Byul. # 9 [in Ukraine].
13. Gordienko, A.I. (2009). Ispolzovanie tverdogfaznogo immunofermentnogo analiza dlya opredeleniya obshchego i antiendotoksinovogo sekretornogo IgA cheloveka [The use of ELISA for the determination of total and anti-endotoxin human secretory IgA]. *Tavricheskiy mediko-biologicheskij vestnik*. 12(3), 82–89. [in Ukraine].
14. Sackesen, C., Karaaslan, C., Keskin, O., Tokol, N., Tahan, F., & Civelek, E. et al. (2005). The effect of polymorphisms at the CD14 promoter and the TLR4 gene on asthma phenotypes in Turkish children with asthma. *Allergy*, 60(12), 1485–1492. doi:10.1111/j.1398-9995.2005.00874.x.
15. Hussein, Y., Awad, H., Shalaby, S., Ali, A., & Alzahrani, S. (2012). Toll-like receptor 2 and Toll-like receptor 4 polymorphisms and susceptibility to asthma and allergic rhinitis: A case-control analysis. *Cellular Immunology*, 274(1-2), 34–38. doi:10.1016/j.cellimm.2012.02.006.

## References

1. To, T., Stanojevic, S., Moores, G., Gershon, A., Bateman, E., Cruz, A., & Boulet, L. (2012). Global asthma prevalence in adults:

## Сведения об авторах:

Бісюк Ю. А., к. мед. н., доцент каф. клінічної імунології та алергології з секцією медичної генетики, Національний медичний університет ім. А. А. Богомольця, E-mail: bisyuk@gmail.com.

Курченко А. І., д. мед. н., професор, зав. каф. клінічної імунології та алергології з секцією медичної генетики, Національний медичний університет ім. А. А. Богомольця.

Кондратюк В. Є., д. мед. н., професор, зав. каф. пропедевтики внутрішньої медицини № 2, Національний медичний університет ім. А. А. Богомольця. Дубовий А. І., аспірант каф. внутрішньої медицини № 2, ГУ «Кримський державний медичний університет ім. С. І. Георгієвського».

## Відомості про авторів:

Бісюк Ю. А., к. мед. н., доцент каф. клінічної імунології та алергології з секцією медичної генетики, Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, E-mail: bisyuk@gmail.com.

Курченко А. І., д. мед. н., професор, зав. каф. клінічної імунології та алергології з секцією медичної генетики, Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця.

Кондратюк В. Є., д. мед. н., професор, зав. каф. пропедевтики внутрішньої медицини № 2, Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця. Дубовий А. І., аспірант каф. внутрішньої медицини № 2, ДУ «Кримський державний медичний університет ім. С. І. Георгієвського».

## Information about authors:

Bisyuk Yu. A., MD, PhD, Associate-Professor of the Department of Clinical Immunology and Allergology with Section of Medical Genetics, Bogomolets National Medical University, E-mail: bisyuk@gmail.com.

Kurchenko A. I., MD, PhD, DSci, Professor, Head of the Department of Clinical Immunology and Allergology with Section of Medical Genetics, Bogomolets National Medical University.

Kondratiuk V. E., MD, PhD, DSci, Professor, Head of the Department of Propedeutics of Internal Medicine 2, Bogomolets National Medical University.

Dubovyi A. I., MD, PhD Student of Department of Internal Medicine 2, State Institution «Crimea State Medical University named after S.I. Georgievsky».

Поступила в редакцію 11.03.2015 г.