

УДК 616.248-07-478.75+575.22

**АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА
С159Т РЕЦЕПТОРА CD14 И
АНТИЭНДОТОКСИНОВОГО ИММУНИТЕТА
У ПАЦИЕНТОВ С РЕФРАКТЕРНОЙ
/КОРТИКОСТЕРОИД-ЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ
АСТМОЙ**

**Бисюк Ю. А., Курченко А.И., Кондратюк В.Е.,
Дубовой А.И.**

**Кафедра клинической иммунологии и
аллергологии с секцией медицинской генетики
Национального медицинского университета
им. А.А. Богомольца**

Изучен С159Т полиморфизм гена CD14 рецептора и антиэндоотоксиновый иммунитет у 291 пациента с кортикостероид-чувствительной и у 40 с рефрактерной бронхиальной астмой. В популяции АР Крым риск развития рефрактерной астмы значительно снижен (ОШ= 0,467, ДИ=[0,240-0,910], $p= 0,023$) при наличии генотипов СТ или ТТ полиморфного участка (С159Т) гена CD14 рецептора. Для пациентов с кортикостероид-чувствительной астмой и ТТ генотипом CD14 рецептора наблюдается гиперпродукция антиэндоотоксиновых антител класса М и sCD14.

Ключевые слова: бронхиальная астма, эндотоксин, полиморфизм С159Т рецептора CD14.

Рефрактерная БА относится к фенотипу, который характеризуется тяжёлым персистирующим течением с частыми обострениями и резистентностью к кортикостероидной терапии [1].

В патогенезе данного фенотипа БА хроническое воспаление может быть связано с превалированием нейтрофилов в очаге поражения. Эндотоксин грамотрицательных бактерий через активацию рецепторного комплекса CD14/TLR-4/MD2 потенцирует синтез провоспалительных медиаторов, которые в большинстве своих случаев являются хемоаттрактантами для нейтрофилов [2]. Для пациентов, которые чувствительны к ингаляционным кортикостероидами эндотоксин может вызывать положительный эффект в виде переключения иммунного ответа с Th2 на Th1, особенно если имеется высокий уровень IgE [3].

Такие дуальные эффекты эндотоксина могут быть связаны с полиморфизмом генов, которые кодируют CD14 рецептор. Данный ген локализован в длинном плече 5 хромосомы в близости к локусу 5q31-q33, в котором находятся гены, ответственные за синтез IgE. Полиморфизм гена рецептора CD14 в 159 позиции промоторного участка с замещением цитозина (С-cytosine) тиминном (Т-Thymine) и присутствием в популяции гомозигот по цитозину и тимину (СС, ТТ) и

гетерозиготы цитозин-тимин (СТ) является наиболее часто изучаемым [4].

В одном исследовании было обнаружено, что ТТ генотип связан с высоким уровнем циркулирующего sCD14 и слабыми положительными кожными тестами, а для СС генотипа характерны высокий уровень общего IgE и резко положительные кожные пробы [5].

В популяции АР Крым не проводились исследования по изучению состояния антиэндоотоксинового иммунитета с учётом полиморфизма С159Т гена рецептора CD14 у больных с рефрактерной и кортикостероид-чувствительной астмой.

Цель исследования – изучить полиморфизм С159Т гена рецептора CD14 и состояние антиэндоотоксинового иммунитета у больных с рефрактерной и кортикостероид-чувствительной бронхиальной астмой в популяции АР Крым.

Материалы и методы

В исследования был включён 331 больной БА. Диагноз был поставлен и лечение бронхиальной астмы проводилось в соответствии с критериями действующего приказа МЗ Украины № 128 от 19.03.2007 г.

Рефрактерную БА определяли по следующим критериям: приём низких доз (до 10 мг в пересчёте на преднизолон) оральных кортикостероидов с высокими дозами ингаляционных кортикостероидов в комбинации с β_2 агонистами длительного действия более 6 месяцев; ОФВ₁ меньше 80% от должного; наличие более 3 обострений за последний год [6].

Для анализа полиморфизма гена С159Т CD14 был использован метод аллель-специфической полимеразной цепной реакции с электрофоретической детекцией. Выделение ДНК осуществлялось из цельной крови пациентов с БА и здоровых добровольцев с помощью набора «ДНК-экспресс кровь» («Литех», РФ) согласно инструкции производителя. Постановка аллель-специфической ПЦР осуществлялась с помощью набора «Мутация антигена дифференцировки моноцитов С-159Т» («Литех», РФ) согласно инструкции производителя. Идентификация продуктов амплификации осуществлялась методом горизонтального электрофореза с помощью набора производства «Литех», РФ.

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

Уровни антиэндоотоксиновых антител классов А, М, G (соответственно анти-ЭТ-IgA, анти-ЭТ-IgM и анти-ЭТ-IgG) в сыворотке и секреторного антиэндоотоксинового иммуноглобулина А (анти-ЭТ-sIgA) в индуцированной мокроте определяли

методом твердофазного иммуноферментного анализа по протоколам, разработанным в лаборатории клинической иммунологии ЦНИЛ ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского» [7-8]. 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.

Все полученные 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. При множественном сравнении показателей антиэндотоксинового иммунитета использовали критерий Краскела-Уоллиса.

Для установления распределения генотипов соответственно закону Харди-Вайнберга использовали точный тест Фишера и χ^2 . Для определения разницы в частоте генотипов и аллелей контроля и больных с бронхиальной астмой была использована логистическая регрессия с помощью on-line калькулятора (<http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hw1.pl>).

В нашей работе риск по аллели Т подразумевал доминантную модель Т, когда частота генотипа СТ объединяется с генотипом ТТ и сравнивается с генотипом СС. Для модели с риском по аллели С генотип СС объединяется с генотипом СТ и сравнивается с генотипом ТТ. Подсчёт частоты аллели С проводили по следующей формуле: частота аллеля С = $n_{CC} \times 2 + n_{CT}$, где n_{CC} – количество исследуемых с генотипом СС, n_{CT} – количество исследуемых с генотипом СТ; для аллели Т использовалась аналогичная формула: частота аллели Т = $n_{TT} \times 2 + n_{CT}$, где n_{TT} – количество исследуемых с генотипом СС, n_{CT} – количество исследуемых с генотипом СТ.

У всех пациентов и 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 обсуждение

В нашей работе было выявлено 291 пациент с кортикостероид-чувствительной и 40 с рефрактерной БА.

Различия в частоте генотипов и аллелей CD14 (C159T) рецептора здоровых волонтеров и больных с кортикостероид-чувствительной БА в популяции АР Крым представлены в таблице 1.

Таблица 1 . Частота распределение генотипов CD14 (C159T) рецептора у больных с кортикостероид-чувствительной БА и здоровых волонтеров

Показатели	Контроль, n (%)	Кортикостероид-чувствительная БА, n (%)	ОШ, ДИ, χ^2 , P
Распределение генотипов			
СС	97 (34%)	84 (29%)	$\chi^2 = 2,204, P = 0,332$
СТ	146 (51%)	155 (53%)	
ТТ	42 (15%)	52 (18%)	
Риск по аллелю Т ([СС]<->[СТ+ТТ])			
СС	97 (34%)	84 (29%)	ОШ= 1,271, ДИ=[0,894-1,809] $\chi^2 = 1,79, p = 0,181$
СТ+ТТ	188 (66%)	207 (71%)	
Риск по аллелю С ([СС+СТ]<->[ТТ])			
СС+СТ	243 (85%)	239 (82%)	ОШ= 0,794, ДИ=[0,510-1,239] $\chi^2 = 1,03, p = 0,309$
ТТ	42 (15%)	52 (18%)	
Разница частот аллелей			
С	340 (60%)	323 (55%)	[С]<->[Т] ОШ= 1,185, ДИ=[0,938-1,498] $\chi^2 = 2,03, p = 0,154$
Т	230 (40%)	259 (45%)	

Примечание: ОШ – отношение шансов, ДИ – 95% доверительный интервал, P – достоверность различий.

Распределения генотипов (таблица 1) контроля (СС – 34%, СТ – 51%, ТТ – 15%) и больных с кортикостероид-чувствительной БА (СС – 29%, СТ – 53%, ТТ – 18%) находились в соответствии с законом Харди-Вайнберга и достоверно не отличались ($\chi^2 = 2,204$, $P = 0,332$). При сравнении частот аллелей (таблица 1) и генотипов с

учётом риска по аллелю Т и С достоверных отличий не выявлено.

Анализ результатов, представленных в таблице 1, не выявил связи частоты распределения генотипов и аллелей у больных с кортикостероид-чувствительной БА по сравнению с контролем.

Следующим этапом работы стал анализ частоты генотипов у больных с рефрактерной БА в сравнении с контролем (таблица 2).

Таблица 2. Частота распределение генотипов CD14 (C159T) рецептора у больных с рефрактерной БА и здоровых волонтеров

Показатели	Контроль, n (%)	Рефрактерная БА, n (%)	ОШ, ДИ, χ^2 , P
Распределение генотипов			
СС	97 (34%)	21 (52%)	$\chi^2 = 5,292$, $P = 0,070$
СТ	146 (51%)	14 (35%)	
ТТ	42 (15%)	5 (13%)	
Риск по аллелю Т ([СС]<->[СТ+ТТ])			
СС	97 (34%)	21 (52%)	ОШ= 0,467, ДИ=[0,240-0,910] $\chi^2 = 5,17$, $p = 0,023$
СТ+ТТ	188 (66%)	19 (48%)	
Риск по аллелю С ([СС+СТ]<->[ТТ])			
СС+СТ	243 (85%)	35 (87%)	ОШ= 1,210, ДИ=[0,448-3,265] $\chi^2 = 0,14$, $p = 0,706$
ТТ	42 (15%)	5 (13%)	
Разница частот аллелей			
С	340 (60%)	56 (70%)	[С]<->[Т] ОШ= 0,634, ДИ=[0,382-1,051] $\chi^2 = 3,16$, $p = 0,076$
Т	230 (40%)	24 (30%)	[Т]<->[С] ОШ= 1,578, ДИ=[0,951-2,620] $\chi^2 = 3,16$, $p = 0,076$

Примечание: ОШ – отношение шансов, ДИ – 95% доверительный интервал, P – достоверность различий.

В контрольной группе (таблица 2) частота распределения генотипов СС – 34%, СТ – 51% ТТ – 15% достоверно не отличалась ($\chi^2 = 3,540$, $P = 0,170$) от рефрактерной БА (СС – 52%, СТ – 35%, ТТ – 13%). Анализ риска по аллели Т выявил, что частота генотипа СТ+ТТ у больных с рефрактерной БА (49%) достоверно ниже (ОШ= 0,467, ДИ=[0,240-0,910], $\chi^2 = 5,17$, $p = 0,023$) контроля (66%). В свою

очередь, разница частот аллелей для контроля и больных с рефрактерной БА достоверно не отличалась ($p = 0,076$).

С учётом, достоверного уменьшения частоты СТ+ТТ генотипа и превалирования СС у пациентов с рефрактерной БА необходимо сравнить данные распределения с кортикостероид-чувствительной астмой (таблица 3).

Таблица 3. Сравнение частоты распределение генотипов CD14 (C159T) рецептора у больных с кортикостероид-чувствительной и рефрактерной БА

Показатели	Кортикостероид-чувствительная БА, n (%)	Рефрактерная БА, n (%)	ОШ, ДИ, χ^2 , P
Распределение генотипов			
СС	84 (29%)	21 (52%)	$\chi^2 = 9,079$, $P = 0,010$
СТ	155 (53%)	14 (35%)	
ТТ	52 (18%)	5 (13%)	
Риск по аллелю Т ([СС]<->[СТ+ТТ]) Доминантная модель по Т			
СС	84 (29%)	21 (52%)	ОШ= 0,367, ДИ=[0,188-0,718] $\chi^2 = 9,07$, $p = 0,003$
СТ+ТТ	207 (71%)	19 (48%)	
Риск по аллелю С ([СС+СТ]<->[ТТ]) Рецессивная модель по Т			
СС+СТ	239 (82%)	35 (87%)	ОШ= 1,523, ДИ=[0,569-4,074] $\chi^2 = 0,71$, $p = 0,399$
ТТ	52 (18%)	5 (13%)	
Разница частот аллелей			
С	323 (55%)	56 (70%)	[С]<->[Т] ОШ= 0,534, ДИ=[0,322-0,886]

T	259 (45%)	24 (30%)	$\chi^2= 6,04, p= 0,014$ [T]<->[C] ОШ= 1,871, ДИ=[1,129-3,101] $\chi^2= 6,04, p= 0,014$
---	-----------	----------	--

Примечание: ОШ – отношение шансов, ДИ – 95% доверительный интервал, P – достоверность различий.

Частота распределение генотипов СС (29%), СТ (53%) и ТТ (18%) у пациентов с кортикостероид-чувствительным фенотипом (таблица 3) достоверно отличалась ($\chi^2= 9,079, P= 0,010$) от рефрактерной БА (СС (52), СТ (35), ТТ (13%)). Доминантная модель по аллели Т выявила низкую частоту (ОШ= 0,367, p= 0,003) генотипа

СТ+ТТ у пациентов с рефрактерной астмой (48%) в сравнении с кортикостероид-чувствительным фенотипом (71%). Разница частот аллелей С и Т также была достоверной (p= 0,014) между данными группами.

Выявленные отличия могут быть связаны с антиэндотоксиновым иммунитетом (таблица 4).

Таблица 4. Показатели антиэндотоксинового иммунитета в зависимости от генотипов CD14 (C159T) рецептора у пациентов с кортикостероид-чувствительной БА

Показатели	Контроль (n=92)	СС (n=84)	СТ (n=155)	ТТ (n=52)	P, Т. К-У
Анти-ЭТ-IgA (ед.опт.пл.)	0,266 (0,184-0,354)	0,252 (0,186-0,337)	0,262 (0,197-0,313)	0,244 (0,205-0,314)	0,912
Анти-ЭТ-IgM (ед.опт.пл.)	0,322 (0,203-0,400)	0,386 ^{a, c} (0,314- 0,467)	0,412 ^a (0,326-0,479)	0,439 ^{a, c} (0,370-0,524)	<0,001
Анти-ЭТ-IgG (ед.опт.пл.)	0,357 (0,261-0,442)	1,034 ^a (0,726-1,304)	0,971 ^a (0,751-1,237)	1,137 ^a (0,800- 1,421)	<0,001
Анти-ЭТ-sIgA (ед.опт.пл.)	0,178 (0,119-0,217)	0,164 (0,125- 0,197)	0,146 (0,114-0,192)	0,165 (0,115-0,214)	0,057
sCD14, сыворотка (мкг/мл)	4,99 (3,53-6,90)	5,25 ^c (3,96- 6,98)	4,88 ^d (3,66-6,28)	11,24 ^{a, c, d} (6,55-13,03)	<0,001
sCD14, индуцированная мокрота (нг/мл)	6,7 (4,3-9,3)	8,6 ^{a, c} (5,5-10,6)	7,5 ^d (5,0-10,3)	16,5 ^{a, c, d} (10,7-21,0)	<0,001

Примечание: a – достоверность отличий контроля и групп СС, СТ, ТТ, p<0,05; b – достоверность отличий групп СС и СТ, p<0,05; c – достоверность отличий групп СС и ТТ, p<0,05; d – достоверность отличий групп СТ и ТТ, p<0,05; Т. К-У – тест Краскела-Уоллиса.

Содержание антиэндотоксиновых антител класса А (таблица 4) у пациентов с кортикостероид-чувствительной БА в сыворотке и индуцированной мокроте достоверно не отличалось (p>0,05) от контроля. Уровень анти-ЭТ-IgM был достоверно выше (<0,001) контрольной группы для всех генотипов, а для генотипа ТТ содержание этого иммуноглобулина было достоверно выше (p<0,05) СС генотипа. Концентрация Анти-ЭТ-IgG для

изучаемых генотипов была достоверно выше (p<0,05) значений контрольной группы. Для ТТ генотипа было зафиксировано самое высокое содержание sCD14 в сыворотке и индуцированной мокроте, которое достоверно отличалось (p<0,05) от контроля и значений СС и СТ генотипа.

Показатели антиэндотоксинового иммунитета для пациентов с рефрактерной астмой представлены в таблице 5.

Таблица 5. Показатели антиэндотоксинового иммунитета в зависимости от генотипов CD14 (C159T) рецептора у пациентов с рефрактерной БА

Показатели	Контроль (n=92)	СС (n=21)	СТ (n=14)	ТТ (n=5)	P, Т. К-У
Анти-ЭТ-IgA (ед.опт.пл.)	0,266 (0,184-0,354)	0,244 (0,188-0,351)	0,268 (0,229-0,337)	0,299 (0,142-0,326)	0,963
Анти-ЭТ-IgM (ед.опт.пл.)	0,322 (0,203-0,400)	0,368 ^a (0,278-0,561)	0,418 ^a (0,259-0,448)	0,348 (0,326-0,427)	0,101
Анти-ЭТ-IgG (ед.опт.пл.)	0,357 (0,261-0,442)	0,972 ^a (0,705-1,359)	0,730 ^a (0,535-1,167)	1,343 ^a (0,634-1,789)	<0,001
Анти-ЭТ-sIgA (ед.опт.пл.)	0,178 (0,119-0,217)	0,135 (0,091-0,179)	0,156 (0,122-0,206)	0,110 (0,094-0,213)	0,096
sCD14, сыворотка (мкг/мл)	4,99 (3,53-6,90)	7,03 ^a (4,62-9,30)	7,12 ^a (5,82- 8,44)	6,36 (4,80-12,57)	0,015

sCD14, индуцированная мокрота (нг/мл)	6,7 (4,3-9,3)	18,2 ^a (13,0-22,1)	14,46 ^a (9,9- 24,9)	23,1 ^a (19,9-28,8)	<0,001
---	------------------	----------------------------------	-----------------------------------	----------------------------------	--------

Примечание: a – достоверность отличий контроля и групп СС, СТ, ТТ, $p < 0,05$; b – достоверность отличий групп СС и СТ, $p < 0,05$; c – достоверность отличий групп СС и ТТ, $p < 0,05$; d – достоверность отличий групп СТ и ТТ, $p < 0,05$; T. K-Y – тест Краскела-Уоллиса.

Уровни Анти-ЭТ-IgA и Анти-ЭТ-sIgA у пациентов с рефрактерной астмой (таблица 5) достоверно не отличались ($p > 0,05$) от контрольной группы. Содержание Анти-ЭТ-IgM и sCD14 в сыворотке было достоверно выше ($p < 0,05$) контроля для СС и СТ генотипа, а для ТТ достоверно не отличалось ($p > 0,05$). Концентрация Анти-ЭТ-IgG и sCD14 в индуцированной мокроте была достоверно выше ($p < 0,05$) контроля, хотя не отличалась между генотипами.

Таким образом, в популяции АР Крым риск развития рефрактерной астмы значительно снижен (ОШ= 0,467, ДИ=[0,240-0,910], $p = 0,023$) при наличии генотипов СТ или ТТ полиморфного участка (C159T) гена CD14 рецептора. В свою очередь риск развития кортикостероид-чувствительной БА не зависит от исследуемого полиморфизма, однако у пациентов с ТТ генотипом наблюдается повышенная активация иммунного ответа на эндотоксин, которая реализуется гиперпродукцией антиэндотоксиновых антител класса М и sCD14.

Наблюдаемое в нашем исследовании резкое увеличение уровней сывороточного sCD14 у больных с кортикостероид-чувствительной БА и ТТ генотипом согласуется с данными китайских учёных [9]. В этом исследовании было установлено, что у детей с астмой и ТТ (C159T) генотипом наблюдается возрастание сывороточного уровня sCD14, при этом отсутствует корреляция данного показателя с уровнем общего IgE и ОФВ₁. В популяции Польши [10] и Германии [11] также была обнаружена связь астмы с ТТ генотипом и увеличением концентрации сывороточного sCD14.

Общая результаты данного исследования, можно прийти к заключению, что степень хронического воспаления реализуемого эндотоксином грамотрицательных бактерий зависит как от генотипа CD14 рецептора, так и от рефрактерности или чувствительности к кортикостероидам, и очевидно от других фенотипов БА, что требует дальнейшего изучения данной проблемы.

Выводы

1. В популяции АР Крым риск развития рефрактерной астмы значительно снижен (ОШ= 0,467, ДИ=[0,240-0,910], $p = 0,023$) при наличии генотипов СТ или ТТ полиморфного участка (C159T) гена CD14 рецептора.
2. Риск развития кортикостероид-чувствительной БА не зависит от C159T полиморфизма гена CD14 рецептора. Для пациентов с ТТ генотипом наблюдается повышенная активация иммунного ответа на эндотоксин, которая реализуется гиперпродукцией антиэндотоксиновых антител класса М и sCD14.

References

1. Green B. J. Potentially pathogenic airway bacteria and neutrophilic inflammation in treatment resistant severe asthma / B. J. Green, S. Wiriyachaiyorn, C. Grainge[et al.] // PloS one. – 2014. – Vol. 9, No. 6. – P. e100645.
2. Simpson A. The role of lipopolysaccharide in the development of atopy in humans / A. Simpson, F. D. Martinez // Clinical & Experimental Allergy. – 2010. – Vol. 40, No. 2. – P. 209–223.
3. Douwes J. Does environmental endotoxin exposure prevent asthma? / J. Douwes, N. Pearce, D. Heederik // Thorax. – 2002. – Vol. 57, No. 1. – P. 86–90.
4. Brass D. M. CD14 is an essential mediator of LPS-induced airway disease / D. M. Brass, J. W. Hollingsworth, E. McElvania-Tekippe [et al.] // American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology. – 2007. – Vol. 293, No. 1. – P. L77–L83.
5. Han D. Association of the CD14 gene polymorphism C-159T with allergic rhinitis / D. Han, W. She, L. Zhang // American journal of rhinology & allergy. – 2010. – Vol. 24, No. 1. – P. e1–e3.
6. Wenzel S. E. (writing committee). Proceedings of the ATS workshop on refractory asthma / S. E. Wenzel, J. Fahy, C. Irvin[et al.] // Am J Respir Crit Care Med. – 2000. – Vol. 162. – P. 2341–2351.
7. Gordienko, A.I. Ispolzovanie tverdofaznogo immunofermentnogo analiza dlya opredeleniya obshego i antiendotoksinovogo sekretornogo IgA cheloveka [The use of ELISA for the determination of total and anti-endotoxin human secretory IgA]. / A.I. Gordienko // Tavricheskiy mediko-biologicheskiy vestnik. – 2009. – Vol.12, N.3. – P. 82-89. [in Ukraine].
8. Gordienko, A. I., Biloglazov, V. O. Patent 70193 A Ukrayina MKI 7 A61K31/01 Sposib viznachennya antitil do lipolisaharidiv gram negativnih bakteriy; Zavl. 29.12.2003; Opubl. 15.09.2004, Byul. # 9 [in Ukraine].
9. Leung T. F. The C- 159T polymorphism in the CD14 promoter is associated with serum total IgE concentration in atopic Chinese children / T. F. Leung, N. L. Tang, Y. M. Sung[et al.] // Pediatric allergy and immunology. – 2003. – Vol. 14, No. 4. – P. 255–260.
10. Kowal K. Analysis of -675 4 g/5 g serpine1 and C-159T CD14 polymorphisms in house dust mite-allergic asthma patients / K. Kowal, A. Bodzenta-Lukaszyk, A. Pampuch[et al.] // Journal of

investigational allergology & clinical immunology. – 2008. – Vol. 18, No. 4. – P. 284–292.

11. Kabesch M. A promoter polymorphism in the CD14 gene is associated with elevated levels of soluble CD14 but not with IgE or atopic diseases / M. Kabesch, K. Hasemann, V. Schickinger [et al.] // Allergy. – 2004. – Vol. 59, No. 5. – P. 520–525.

UDC 616.248-07-478.75+575.22
ASSOCIATION OF POLYMORPHISM OF C159T GENE OF RECEPTOR CD14 AND ANTIENDOTOXIN IMMUNITY IN PATIENTS WITH REFRACTORY / CORTICOSTEROIDS-SENSITIVE ASTHMA

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

Introduction. The refractory asthma refers to the phenotype, which is characterized by severe persistent course with frequent exacerbations and resistance to corticosteroid therapy. This phenotype of asthma can be related to C159T polymorphism of CD14 receptor gene
Material and methods. There were studied the C159T polymorphism of CD14 gene in 331 patients with bronchial asthma. The control group consisted of 285 healthy individuals of Crimea. The C159T gene polymorphism of CD14 was detected by allele-specific polymerase chain reaction with electrophoretic detection. The distribution of genotypes was checked according to the law of the Hardy-Weinberg equilibrium by using Fisher's exact test and χ^2 . There was used logistic regression to determine the difference in the frequency of genotypes and alleles.

Results and discussion. In our study have been identified 291 patients with corticosteroid-sensitive and 40 with refractory asthma. The genotype distribution of control (CC – 34%, CT – 51%, TT – 15%) and patients with corticosteroid-sensitive asthma (CC – 29%, CT – 53%, TT – 18%) were in accordance with the law of Hardy-Weinberg equilibrium and did not significantly differ ($\chi^2 = 2.204$, $P = 0.332$). There were no significant differences when comparing the allele and genotype frequencies by using risk allele T and C model. In the control group the frequency distribution of genotypes CC – 34%, CT –

51%, TT – 15% did not differ significantly ($\chi^2 = 3.540$, $P = 0.170$) from refractory asthma (CC – 52%, CT – 35%, TT – 13%). The risk analysis for the T allele showed that the frequency of CT+TT genotype in patients with refractory asthma (49%) was significantly lower (OR = 0.467, CI = [0.240-0.910], $\chi^2 = 5.17$, $p = 0.023$) compare to control (66 %). In turn, the difference of allelic frequencies for the control and patients with persistent asthma did not differ significantly ($p = 0.076$). The content of anti-endotoxin antibody of class A in patients with corticosteroid-sensitive asthma in serum and induced sputum did not differ significantly ($p > 0.05$) from control. The anti-ET-IgM was significantly higher (<0.001) in the control group for all genotypes, while genotype TT contents of this immunoglobulin was significantly higher ($p < 0.05$) compare to CC genotype. The concentration of anti-ET-IgG for the studied genotypes was significantly higher ($p < 0.05$) compare to the control group. Patients with TT genotype had the highest content of sCD14 in serum and induced sputum, which was significantly different ($p < 0.05$) compare to control values and CC+CT genotypes. Levels of Anti-ET-IgA and anti-ET-sIgA in patients with refractory asthma did not differ significantly ($p > 0.05$) from control group. The content of anti-ET-IgM and serum sCD14 in patients with CC and CT genotypes were significantly higher ($p < 0.05$) compare to control and did not differ significantly ($p > 0.05$) for TT genotype ones. The concentration of anti-ET-IgG and sCD14 in induced sputum was significantly higher ($p < 0.05$) compare to control, but did not differ between genotypes.

Conclusion. In a population of Crimea the risk of refractory asthma significantly reduced (OR = 0.467, CI = [0.240-0.910], $p = 0.023$) in the presence of CT or TT genotype of C159T polymorphism of CD14 receptor gene. The corticosteroid-sensitive asthma patients with TT genotype of CD14 receptor had high concentration of anti-endotoxin IgM and sCD14.

Key words: bronchial asthma, endotoxin, C159T polymorphism of CD14.