

УДК [577.21:616.5-002]-053.3/.5

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

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК КЛІНІКО-ІМУНОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У ХВОРИХ НА АЛЕРГІЧНИЙ РИНІТ З МУТАНТНИМИ АЛЕЛЯМИ ТОЛЛ-ПОДІБНОГО РЕЦЕПТОРА 4 (TLR 4 ASP 299 GLY)

Науково-дослідний інститут генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Про проведені обстеження 45 хворих на АР віком від 19 до 65 років ($35,6 \pm 1,57$) (чоловіки склали 51% (23 хворих), а жінки – 49% (22 хворих)). На момент обстеження хворі знаходились в стадії клінічної ремісії та припиняли прийом протиалергічних препаратів за 72 години, хворі не мали важкої супутньої патології. Діагноз алергічний риніт 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 Quality of Life Questionnaire). При дослідженні поліморфізму гену Asp299Gly TLR4 хворих на АР часто-та «дикого типу» генотипу AA становила 92,3%, гетерозиготного генотипу AG – 7,7%, мутантний генотип GG не виявлений. В результаті проведених досліджень виявлено достовірна різниця між частотами генотипів у групах контролю та хворих на АР ($p = 0,03$) та різниця на рівні статистичної тенденції частоти мутантної алелі G в групі хворих на АР (7,7% ($\chi^2 = 3,58$; $p = 0,06$)), у порівнянні з групою контролю. У хворих на АР носіїв мутантних алелей за досліджуваним поліморфізмом виявлено атопічна патологія: супутня БА ($p=0,0003$), супутній АД (0,0031) та БА у поєднанні з АД ($p=0,0005$). Відмінності між групами хворих на АР залежно від генотипів поліморфізму Asp 299 Gly гену TLR4 за імунологічними показниками не були статистично значущими. Проведене дослідження, дає можливість висунути припущення, що функціональний поліморфізм TLR4 порушує регуляцію вродженої імунної відповіді, що є основним чинником дисбалансу T1/T2- хелперів та потенційним чинником ризику розвитку атопічної патології, зокрема АР.

Ключові слова: поліморфізм, Toll-подібні рецептори, алергічний риніт.

Вступ

Алергічні захворювання взагалі та алергічний риніт зокрема становлять все більш важливу проблему медицини. Розповсюдженість в різних країнах світу АР в популяції складає від 5 до 20%. Епідеміологічні дослідження підтверджують двократне і навіть трикратне зростання цієї патології серед дитячого та дорослого населення за останні десятиріччя. Захворюваність в Україні алергічним ринітом в 2007 році у порівнянні з 2006 роком збільшилась на 6,5% і становить 113,0 на 100 тис. дорослого населення (2006 р. – 106,1) [1].

АР розглядають як клінічний маркер респіраторної алергії та передвісник розвитку бронхіальної астми. Враховуючи схожість будови та функціонування слизової оболонки верхніх та нижніх дихальних шляхів, несвоєчасна діагностика та терапія різних форм риніту може привести до формування симптомів БА. Існують дані, що серед 19-38% хворих на алергічний риніт виявлено БА, натомість у 80% хворих на БА спостерігається алергічна риносинусопатія.

АР є класичним прикладом мультифакторної патології, яка реалізується в разі взаємодії багатьох чинників навколошнього середовища та спадкової схильності. В інтерпретації патогенезу АР домінуюче положення займає патологія імунної системи та порушення в функціональному статусі вродженого імунітету. Відомо також, що ефекторною ланкою регуляції механізмів вродженого імунітету є адаптивний імунітет. Дефект вродженого імунної відповіді, а також порушення функціональної єдності вродженого та адаптив-

ного імунітету відіграють важливу роль в розвитку АР. Специфічність системи вродженого імунітету реалізується через родину Toll-подібних рецепторів (TLRs). Важливим структурно-молекулярним елементом системи патерн - розпізнавальних рецепторів (ППР) є Toll-подібний рецептор 4 (TLR4). Він відповідає за формування захисної відповіді під час взаємодії зі специфічними лігандами: ліпополісахаридом (ЛПС) грамнегативних бактерій, екстрактом домашнього пилу, білками вірусів, продуктами дизельних вихлопних газів тощо. Результатом активації TLR4 є ініціація транскрипції генів, які регулюють синтез протизапальних цитокінів [2].

Функціональний поліморфізм гена TLR4, полягає в заміні аспарагінової кислоти на гліцинову Asp299Gly1187 (rs4986790) [3]. 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. Функціональний поліморфізм TLR4 порушує регуляцію вродженої імунної відповіді, що є основним чинником дисбалансу T1/T2- хелперів. Подібний механізм може відігравати вирішальну роль у формуванні хронічного запального процесу та привертає увагу як потенційний чинник ризику розвитку атопічної патології, зокрема АР.

Патогенетична роль поліморфізму TLR4 та його практичне значення доведено при високому рівні продукції IgE [4], атеросклерозі [5], поліпозному риносинуситі [6], атопічній бронхіальній астмі у дітей [7].

В дослідженнях закордонних вчених відобра-

жені генетичні аспекти розвитку АР [8]. Особлива увага приділяється практичному значенню поліморфізму гену TLR 4. Проте результати досліджень щодо взаємозв'язку поліморфізму Asp299Gly гену TLR 4 і розвитку атопічних захворювань та АР зокрема доволі суперечливі. Для кращого вивчення та розуміння генетичної схильності до виникнення обґрунтованим є вивчення поширеності функціонального поліморфізму гену TLR 4 серед хворих на АР.

Мета дослідження

Вивчення поліморфізму гену TLR 4 Asp299Gly серед хворих на АР, аналіз імунологічних показників та клінічних проявів у хворих з поліморфними варіантами досліджуваних генів.

Проведено обстеження 45 хворих на АР віком від 19 до 65 років ($35,6 \pm 1,57$) (чоловіки склали 51% (23 хворих), а жінки – 49% (22 хворих)). На момент обстеження хворі знаходились в стадії клінічної ремісії та припиняли прийом протиалергічних препаратів за 72 години, хворі не мали важкої супутньої патології.

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 Quality of Life Questionnaire).

Сенсибілізацію до алергенів діагностували на підставі комплексу алергологічних методів обстеження: збір алергологічного анамнезу, позитивних шкірних скарифікаційних тестів на алергени з використанням стандартних наборів (ТОВ «Імунолог», Вінниця, Україна).

Отримання периферичної крові пацієнтів здійснювали шляхом забору крові з кубітальної вени натщесерце в об'ємі 4 мл у вакуумну пробірку з ЕДТА (8,4 мг К3ЕДТА). Виділення геномної ДНК здійснювали методом фенол-хлороформної екстракції. Визначення поліморфізму Asp299Gly гену TLR4 проведено методом полімеразної ланцюгової реакції [9].

За стандартною методикою проведено визначення числа лейкоцитів в крові та підрахунок формених елементів крові в мазках. Фенотип лімфоцитів аналізували у венозній крові, використовуючи моноклональні антитіла до CD4, CD25 (виробництво «Сорбент», Росія) та внутрішньоклітинного білку Foxp3 («Bioscience», США) методом проточної цитофлюориметрії за допомогою проточного цитофлюориметра EPIX LX-MCL (Beckman Coulter, США), використовуючи програму System II TM software.

Рівні загального IgE, інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) та інтерлейкіну-10 (ІЛ-10) визначали за допомогою тест-систем ІФА (ТОВ «Укрмед-Дон», Україна) з використанням імуноферментного аналізатора "Stat - Fax 2100" (США).

Групу контролю становили 95 практично здорових осіб з бази генетичних зразків НДІ Генети-

чних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ «УМСА». Дослідження проводили відповідно наданої письмової згоди на проведення обстеження та заключення комісії з етичних питань та біоетики Української медичної стоматологічної академії.

Математичну обробку отриманих даних здійснювали з використанням програми «STATISTICA 6.0» (StatSoft Inc). 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 дослідження та їх обговорення

При вивченні сімейного алергологічного анамнезу у хворих на АР виявлені різноманітні прояви алергії в сім'ї у 76%. 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. Не виявлено даних про обтяжений алергологічний анамнез у 24% хворих на АР. Отримані результати узгоджуються з даними, що свідчать про переважний зв'язок з атопічними захворюваннями з боку матері.

Як вище зазначалося, у результаті спостереження за перебіgom захворювання в динаміці у хворих на АР було встановлено ступені тяжкості АР: легкий перебіг – у 11 (25%), середньо-важкий – у 32 (71%), важкий – у 2 (4%). Також виявлена наявність спадкової алергічної схильності у родичів I-II ступеня спорідненості з боку матері виявлена в 35%, з боку батька – у 30%, з боку обох батьків – у 11% усіх обстежених хворих на АР. У 44% перебіг АР був пов'язаний з різними нозологічними формами алергічної патології. У 20% обстежених хворих на АР був установлений супутній діагноз БА, у 15% присутня симптоматика АД, повна тріада атопії виявлена у 11% обстежених нами хворих на АР. 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. У 11% хворих шкірні проби були негативними до всіх використаних алергенів.

Серед груп контролю та обстежених хворих на АР було проведено аналіз розподілу генотипів генів TLR4, що наведено в таблиці 1.

Як видно з таблиці 1, при дослідженні поліморфізму гену Asp299Gly TLR4 в групі контролю частота «дикого типу» генотипу AA становила 95,6%, гетерозиготного генотипу AG – 4,5%, му-

тантний генотип GG не виявлений. У хворих на АР відповідно: AA – 92,3%, AG – 7,7% та GG – не виявлені. Достовірно значно вищою виявилася різниця між частотами генотипів у групах контролю та хворих на АР ($p = 0,03$). Частота

мутантної алелі G в групі хворих на АР склала 7,7% ($\chi^2 = 3,58$; $p = 0,06$), у порівнянні з групою контролю, виявлена різниця на рівні статистичної тенденції (табл. 1).

Таблиця 1

Розподіл частот генотипів поліморфізму гену TLR4 серед груп контролю і хворих на АР% (n)

Ген, поліморфізм	Частота генотипу	Група контролю (n=95)	Хворі (n=45)	p^*	Частота алелі	Група контролю (n=95)	Хворі на АР, (n=45)	χ^2 Пірсона, df=1	ВШ* (95% ДІ)	p^{**}
TLR4 896A/G	AA	95,6 (92)	86,6 (39)		A	98,4 (187)	92,3 (84)		3,52 (1,06-11,66)	
	AG	4,5 (3)	13,33 (6)	0,03	G	1,6 (3)	7,7 (6)	3,58		0,06
	GG	-	-							

 p^* - рівень значимості, отриманий точним тестом Фішера. p^{**} - рівень значимості, отриманий тестом χ^2 – для груп контролю та хворих на АР

Аналіз клінічного перебігу захворювання у даних хворих показав наявність супутньої патології: часті ГРВІ – у 83%, що відзначались три-валим перебігом та ускладненнями з боку бронхово-легеневої системи (бронхіти, пневмонії) – у 50%; поліпозитний риносинусит – 67%; гастродуоденіти – 50%, дискінезія жовочно-вивідних шляхів – у 33%.

Результати щодо асоціації поліпозитного риносинуситу з АР з експресією рецепторів TLR 4 підтверджуються даними інших досліджень [6]. Так за сучасними уявленнями ПРС та АР розглядають як хронічне продуктивне Th-2 залежне

еозинофільне запалення, розиток якого пов’язаний з порушенням функціональних та патогенетичних взаємозв’язків між показниками вродженого та адаптивного імунітету.

Слід зазначити наявність супутньої алергічної патології у хворих на АР носіїв мутантних алелей за досліджуваним поліморфізмом: TLR 4 Asp 299 Gly .

Проведено аналіз можливих асоціативних зв’язків поліморфізму TLR4 Asp 299 Gly з перебігом та розвитком у хворих іншої атопічної патології, результати якого наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Порівняння групи обстежених хворих на АР (n=6) залежно від генотипів за поліморфізмом TLR4 Asp 299 Gly

Клінічні особливості АР		Хворі на АР з мутантною алеллю TLR4 Asp 299 Gly, (n=6)	Хворі на АР гомозиготні носії «дикої» алелі, (n=39)	p^*
Перебіг АР середньої тяжкості	так ні	5 1	29 10	0,5409
Легкий перебіг АР	так ні	1 5	10 29	0,5409
Супутня БА	так ні	5 1	3 36	0,0003
Супутній АД	так ні	4 2	3 36	0,0031
Супутні БА+АД	так ні	4 2	1 38	0,0005

 p^* - рівень значимості, отриманий точним тестом Фішера (двосторонній критерій)

Як видно з таблиці 2, вірогідні відмінності між групами залежно від генотипів поліморфізму гену TLR4 Asp 299 Gly були виявлені за наявністю супутніх алергічних захворювань. Достовірно частіше у цих хворих на АР виявляли супутні БА ($p=0,0003$), супутній АД (0,0031) та БА у поєднанні з АД ($p=0,0005$). Відмінності за частотою перебігу середньої тяжкості та легкого перебігу ($p=0,5409$) між групами хворих на АР залежно від генотипів поліморфізму TLR4 Asp 299 Gly не мали статистичної значущості. Отримані дані узгоджуються з результатами проведених досліджень вітчизняних та зарубіжних вчених [2].

Як зазначалося раніше, порушення рівноваги Т1\T2-хелперів з переважанням Т-2 імунної відповіді відіграє провідну роль в розвитку АР. У відповідь на вплив алергенів у хворих на АР відбувається вивільнення Т2-цитокінів та індукується активація еозинофілів, опасистих клітин та підвищений синтез Ig E. Існують відомості, за-

значенні реакції відбуваються опосередковано через TLR4. Були оцінені показники імунограм хворих на АР з мутантною алеллю TLR4 Asp 299 Gly (табл.3) в порівнянні з показниками обстежених хворих на АР гомозиготних носіїв «дикої» алелі та вивчено ймовірний вплив поліморфізму на їх продукцію.

При дослідженні показників периферичної крові хворих на АР з мутантною алеллю Asp 299 Gly TLR4 виявлено, що рівень лейкоцитів в середньому $4,83 \pm 1,11$ склав $5,53 \pm 0,69 \cdot 10^9/\text{л}$, тобто не виходив за межі показників практично здорових осіб ($4,0 - 8,8 \cdot 10^9/\text{л}$). Відносна кількість лімфоцитів у середньому склала $28,69 \pm 1,21\%$, що також не виходить за межі показників практично здорових осіб (18 – 40%); відносна кількість еозинофілів в середньому склала $2,75 \pm 1,18\%$, що в межах показників практично здорових осіб (0 - 5%). За результатами обсте-

ження хворих на АР з мутантною алеллю Asp 299 Gly гену TLR4 в імунологічних показниках показник рівню експресії молекул CD4⁺ у хворих на АР мав тенденцію до збільшення та в середньому склав $41,85 \pm 2,04\%$ при показниках практично здорових людей $39 \pm 5\%$; рівень експресії CD4⁺/CD25⁺ становив $14,51 \pm 3,44\%$, що перевищує показники здорових людей ($9,4 \pm 2,05\%$). В значеннях інших імунологічних показників не спостерігалось суттєвих змін середніх значень порівняно з показниками практично здорових осіб. Так, показники рівнів експресії молекул

CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ в середньому склали $5,26 \pm 0,72\%$. При визначенні рівня загального IgE в середньому концентрація у групі хворих на АР з мутантною алеллю Asp 299 Gly гену TLR4 становила $197,27 \pm 20,29$ МО/мл при показниках у практично здорових осіб 0 – 130 МО/мл.

Уміст у сироватці ІЛ-10 у хворих на АР у середньому склав $0,339 \pm 0,029$ пг/мл, що не перевищує показники практично здорових людей 0 – 50 пг/мл; відзначається збільшення вмісту ІЛ-4 у сироватці та становив $53,63 \pm 9,42$ пг/мл при показниках у практично здорових осіб 0 – 20 пг/мл.

Таблиця 3. Імунологічні показники у хворих на АР залежно від генотипів за поліморфізмом Asp 299 Gly TLR4

Показник	Показники практично здорових осіб []	Хворі на АР з мутантною алеллю TLR4 Asp 299 Gly, (n=6)	Хворі на АР гомозиготні носії «дикої» алелі, (n=39)
Лейкоцити, $10^9/\text{л}$	4,0 – 8,8	$5,53 \pm 0,69$	$5,62 \pm 0,34$
Лімфоцити, %	18 – 40	$28,69 \pm 1,21$	$28,33 \pm 3,43$
Еозинофili, %	0 – 5	$4,83 \pm 1,11$	$4,2 \pm 0,47$
Загальний IgE, МОд/мл	0 – 130	$197,27 \pm 20,29$	$198,39 \pm 12,88$
CD4 ⁺ , %	39 ± 5	$41,85 \pm 2,04$	$40,34 \pm 1,36$
CD4 ⁺ /CD25 ⁺ %	$9,4 \pm 2,05$ {Козлоав, Ярилин, 08}	$14,51 \pm 3,44$	$17,27 \pm 2,17$
CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺ % (тис/мкл)	5-10% від CD4 ⁺	$5,26 \pm 0,72$	$4,6 \pm 0,42$
ІЛ-10, пг/мл	0- 50 пг/мл	$0,339 \pm 0,029$	$0,358 \pm 0,018$
ІЛ-4, пг/мл	0-20 пг/мл	$53,63 \pm 9,42$	$49,84 \pm 3,9$

З метою виявлення відмінностей між хворими на АР залежно від генотипів поліморфізму Asp 299 Gly гену TLR4 за імунологічними показниками було проведено порівняння відповідних груп з використанням критерію Манна-Уїтні. Відмінності між групами хворих на АР не були статистично значущими.

Висновки

- Функціональний поліморфізм TLR4 порушує регуляцію вродженої імунної відповіді, що є основним чинником дисбалансу Т1/Т2-хелперів та потенційним чинником ризику розвитку атопічної патології, зокрема АР.
- При дослідженні поліморфізму гену Asp299Gly TLR4 хворих на АР частота «дикого типу» генотипу AA становила 92,3%, гетерозиготного генотипу AG – 7,7%, мутантний генотип GG не виявлений.
- Виявлена достовірна різниця між частотами генотипів у групах контролю та хворих на АР ($p = 0,03$).
- Виявлена різниця на рівні статистичної тенденції частоти мутантної алелі G в групі хворих на АР ($7,7\% (X^2 = 3,58; p = 0,06)$), у порівнянні з групою контролю.
- У хворих на АР носіїв мутантних алелей за дослідженням поліморфізмом виявлена атопічна патологія: супутня БА ($p=0,0003$), супутній АД ($0,0031$) та БА у поєднанні з АД ($p=0,0005$).
- Відмінності між групами хворих на АР залежно від генотипів поліморфізму Asp 299 Gly

гену TLR4 за імунологічними показниками не були статистично значущими.

Література

- Академія Медичних Наук України Центр медичної статистики МОЗ України Державна установа «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології» ім. Ф.Г.Яновського АМН України» Порівняльні дані про розповсюдженість хвороб органів дихання і медичну допомогу хворим на хвороби пульмонологічного та алергологічного профілю в Україні за 2006-2007 рр. Табличні дані у форматі MS EXCEL дивіться за посиланням:<http://www.ifp.kiev.ua/doc/staff/pulmukr2007.xls> – К., 2008.
- Титова Н.Д. Значение врожденной системы иммунитета в возникновении аллергических заболеваний / Н.Д. Титова // Иммунол., аллергол., инфектол. – 2009. – № 3. – С. 32-39.
- Montes A.H. Toll-like receptor 4 (Asp299Gly) polymorphism is a risk factor for gram-negative and haemogenous osteomyelitis / A.H. Montes, V. Asensi [et al.] // J.Clin. Exp. Immunol. – 2006. – V. 143. – P. 404-413.
- Куценко Н.Л. Асоціація поліморфізма Toll-подібного рецептора 4 Asp299Gly з повищеним рівнем продукції алерген-специфіческих імуноглобулінів Е у пацієнтів з алергіческими захворюваннями / Н.Л Куценко, О.В Измайлова, Л.Э. Веснина [та ін.] // Іммунологія. – 2011. – №6. – С.310-313.
- Скочко О.В. Количественный анализ некоторых групп микроорганизмов, выделенных из атеросклеротически измененных коронарных артерий больных, в зависимости от ASP299GLY полиморфизма гена TLR4 / О.В. Скочко // Лікарська справа. – 2012. – №3/4. – С.82-86.
- Сайдов М.З. Оценка корреляционных взаимосвязей между CD-позитивными клетками и экспрессией TLR-рецепторов при полипозном риносинусите / М.З. Сайдов, Б.Х. Давудова [и др.] // Іммунологія. – 2010. – №1. – С.28-34.
- Крючко Т.О. Генетичний поліморфізм Toll-подібного рецептора 4 у дітей з атопічною бронхіальною астмою / Т.О. Крючко, І.П. Кайдашев, Ю.О. Вовк [и др.] // Клін. імунол. Алергол. Інфектол. – 2011. – № 5. – С. 52-54.
- Davila I. Genetic Aspects of Allergic Rhinitis / I. Davila, Mullol [et all] // J.Investig Allergol Clin Immunol. – 2009. – V.19, №1. – P. 25-31.
- Ізмайлова О.В. Зв'язок поліморфізмів генів TLR2 та TLR4 зі склоністю до окремих урогенітальних інфекцій / О.В. Ізмайлова, О.А. Шпікова, Н.О. Боброва [та ін.] // Цитологія і генетика. – 2011. – № 4. – P. 29-35.
- Ferwende. Functional Consequences of Toll-like Receptor 4 Polymorphisms Ferwende [et al.] // Mol Med. – 2008. – V.14. – P. 346-352.

Реферат

ВЗАЙМОСВЯЗЬ КЛІНІКО - ІММУНОЛОГІЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНИХ АЛЛЕРГІЧЕСКИМ РІНІТОМ С МУТАНТНЫМИ АПЛЕЛЯМИ ТОЛЛ - ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА 4 (TLR 4 ASP 299 GLY)

Сакевич В.Д., Шлыкова О.А., Кайдашев И.П.

Ключевые слова : полиморфизм, Toll - подобные рецепторы, аллергический ринит

Проведено обследование 45 больных АР в возрасте от 19 до 65 лет ($35,6 \pm 1,57$) (мужчины составили 51% (23 больных), а женщины - 49% (22 больных)). На момент обследования больные находились в стадии клинической ремиссии и прекращали прием противоаллергических препаратов за 72 часа, больные не имели тяжелой сопутствующей патологии. Диагноз аллергический ринит устанавливали на основе критерии диагностики ARIA (2008) по алгоритму диагностики, принятых в Украине и утвержденных МЗ Украины. Качество жизни больных определяли с помощью общепризнанных опросников (Adult Rhinoconjunctivitis Quality of Life Questionnaire). При исследовании полиморфизма гена Asp299Gly TLR4 больных АР частота « дикого типа » генотипа AA составила 92,3%, гетерозиготного генотипа AG - 7,7%, мутантный генотип GG не выявлено. В результате проведенных исследований выявлена достоверная разница между частотами генотипов в группах контроля и больных АР ($p = 0,03$) и разница на уровне статистической тенденции частоты мутантной аллели G в группе больных АР ($7,7\% (\chi^2 = 3,58, p = 0,06)$), по сравнению с группой контроля. У больных АР носителей мутантных аллелей по исследуемым полиморфизмом обнаружена атопическая патология: сопутствующая БА ($p = 0,0003$), сопутствующий АД ($0,0031$) и БА в сочетании с АД ($p = 0,0005$). Различия между группами больных АР в зависимости от генотипов полиморфизма Asp 299 Gly гена TLR4 по иммунологическим показателям не были статистически значимыми. Проведенное исследование дает возможность выдвигнуть предположение, что функциональный полиморфизм TLR4 нарушает регуляцию врожденного иммунного ответа, что является основным фактором дисбаланса T1/T2- хелперов и потенциальным фактором риска развития атопической патологии, в частности АР .

Summary

CORRELATION BETWEEN CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH ALLERGIC RHINITIS WHO CARRY MUTANT ALLELES OF TOLL - LIKE RECEPTOR 4 (TLR 4 Asp 299 Gly)

Sakevych V., Shlykova O., Kaidashev I.

Key words: polymorphism, Toll-like receptors, allergic rhinitis.

Allergic rhinitis (AR) is considered as a clinical marker of respiratory allergy and a precursor of the development of bronchial asthma (BA). The similarity in the structure and functioning of the mucous membranes of the upper and lower respiratory tract, delayed diagnosis and treatment of various forms of rhinitis can lead to the formation of symptoms of asthma. 19 – 38 % of patients with asthma were detected to have AR, while in 80 % of patients with allergic asthma rhinosinusopaties were diagnosed. AR is a classic example of multifactorial disease, which occurs due to the interaction of many environmental factors and genetic predisposition. In the interpretation of AR pathogenesis the abnormality of the immune system and disturbances in the functional status of innate immunity rank the leading positions. It is also known that the effector link in the regulation of innate immunity mechanisms is the adaptive immunity. Defect in innate immune response as well as the impairment of the functional integrity of innate and adaptive immunity plays an important role in the development of allergic rhinitis. Specificity of the innate immune system is realized through family Toll-like receptors (TLRs). An important structural element of the molecular pattern - distinctive receptor (PPR) is a Toll-like receptor 4 (TLR4). He is responsible for the formation of a protective response by the interaction with specific ligands: lipopolysaccharide (LPS) of Gram-negative bacteria, house dust extracts, proteins of viruses produce diesel exhaust and more. The result is activation of TLR4 initiation of transcription of genes that regulate the synthesis of inflammatory cytokines. The aim of our research was to study the TLR 4 gene polymorphisms Asp299Gly among patients with allergic rhinitis , analysis of immunological parameters and clinical manifestations in patients with polymorphic variants of genes investigated to clarify the mechanisms of pathogenesis and understanding of genetic predisposition to the emergence of this disease. A survey of 45 patients with AR aged 19 to 65 years ($35,6 \pm 1,57$) (men accounted for 51 % (23 patients) , and women - 49% (22 patients)). At the time of examination of patients were in clinical remission stage and stopped taking allergy medications 72 hours , the patients had severe comorbidity. The diagnosis of allergic rhinitis is established on the basis of diagnostic criteria ARIA (2008) for the diagnostic algorithm adopted in Ukraine and approved by the Ministry of Health of Ukraine . Quality of life of patients was determined using generally accepted questionnaires (Adult Rhinoconjunctivitis Quality of Life Questionnaire). In the studied polymorphisms Asp299Gly TLR4 gene of patients with AR frequency of "wild -type" genotype AA was 92.3 %, heterozygous genotype AG - 7,7%, mutant GG genotype was not found . As a result of the studies found significant differences between the frequencies of genotypes in the control group and patients with AR ($p = 0,03$) and the difference in the level of statistical trends in the frequency of mutant allele G in patients with AR ($7,7\% (\chi^2 = 3,58 p = 0,06)$) compared with the control group . In patients with AR carriers of mutant alleles at the investigated polymorphisms detected atopic lesions concomitant asthma ($p = 0,0003$), concomitant AD ($0,0031$) and asthma in combination with AD ($p = 0,0005$). Differences between the groups of patients with AR depending on genotype polymorphism Asp 299 Gly TLR4 gene by immunological parameters were not statistically significant. This study makes it possible to speculate that functional TLR4 polymorphism violates the regulation of the innate immune response, which is the main factor imbalance T1/T2- helpers and potential risk factor for atopic diseases, including AR.