

ГЕНОМИКА.
ТРАНСКРИПТОМИКА

УДК 575.113:616.5-002.2

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ
TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ
В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

© 2014 г. Г. Ф. Гималова^{1*}, А. С. Карунас^{1,2}, Ю. Ю. Федорова¹, Э. Р. Гуменная³,
С. В. Левашева⁴, З. Р. Хисматуллина⁴, Е. Пранс⁵, S. Kõks⁵, Э. И. Эткина⁴, Э. К. Хуснутдинова^{1,2}

¹Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, 450054

²Башкирский государственный университет, Уфа, 450074

³Республиканский кожно-венерологический диспансер, Уфа, 450027

⁴Башкирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения
Российской Федерации, Уфа, 450000

⁵Тартуский университет, Тарту, 50090, Эстония

Поступила в редакцию 12.09.2013 г.

Принята к печати 17.09.2013 г.

Атопический дерматит — часто встречающееся хроническое воспалительное заболевание кожи, которое развивается под влиянием как факторов окружающей среды, так и генетических факторов риска. Значительную роль играют полиморфные локусы генов образ-распознающих рецепторов (ОРР), которые способны узнавать консервативные стандартные молекулярные структуры (паттерны), специфичные для больших групп патогенов. В данной работе исследованы полиморфные варианты генов ОРР, а именно, Toll-подобных рецепторов (*TLR1*, *TLR2*, *TLR4*, *TLR5*, *TLR6*, *TLR9*, *TLR10*), NOD-подобных рецепторов (*NOD1*, *NOD2*), гена рецептора липополисахаридов *CD14* и генов *C11orf30* и *LRRC32*, локализованных в области 11q13.5, у больных атопическим дерматитом и в контрольной группе индивидов, проживающих в Республике Башкортостан. Показано, что полиморфные варианты генов Toll-подобных рецепторов *TLR1* (*rs5743571* и *rs5743604*), *TLR6* (*rs5743794*) и *TLR10* (*rs11466617*) ассоциированы с развитием этого заболевания. Наши результаты подтверждают значительную роль системы врожденного иммунитета в патогенезе атопического дерматита и полиморфных вариантов генов Toll-подобных рецепторов подсемейства TLR2 в развитии этого заболевания.

Ключевые слова: атопический дерматит, анализ ассоциаций, образ-распознающие рецепторы, Toll-подобные рецепторы, NOD-подобные рецепторы.

ASSOCIATION OF POLYMORPHISMS IN TOLL-LIKE RECEPTOR GENES WITH ATOPIC DERMATITIS IN THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN, by G. F. Gimalova^{1*}, A. S. Karunas^{1,2}, Y. Y. Fedorova¹, E. R. Gumennaya³, S. V. Levashova⁴, Z. R. Khismatullina⁴, E. Prans⁵, S. Kõks⁵, E. I. Etkina⁴, E. K. Khusnutdinova^{1,2} (¹Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Centre, Russian Academy of Sciences, Ufa, 450054 Russia; *e-mail galiyagimalova@gmail.com; ²Bashkir State University, Ufa, 450074 Russia; ³Dermatovenerologic Dispensary of the Republic of Bashkortostan, Ufa, 450027 Russia; ⁴Bashkir State Medical University, Ufa, 450000 Russia; ⁵University of Tartu, Tartu, 50411 Estonia). Atopic dermatitis (AD) is a prevalent chronic inflammatory skin disease developing as a result of the interaction between genetic predisposition and environmental factors. Considerable role in allergic diseases development is played by polymorphisms of genes of pattern-recognition receptors (PRR) which are capable of recognizing conservative standard molecular structures (patterns) unique for large pathogen groups. In this study polymorphic variants of PRR genes — Toll-like receptors (*TLR1*, *TLR2*, *TLR4*, *TLR5*, *TLR6*, *TLR9*, *TLR10*), NOD-like receptors (*NOD1*, *NOD2*), lipopolysaccharide receptor *CD14* gene, and *C11orf30* and *LRRC32* genes, located in

Принятые сокращения: ОРР, PRR (Pattern Recognition Receptor) — паттерн(образ)-распознающий рецептор; FLG — филлагрин; TLR (Toll-like receptor) — Toll-подобный рецептор; NLR (NOD-like receptor) — NOD-подобный рецептор; CLR (C-type lectin receptor) — лектиновые рецепторы C-типа; LRRC32 (Leucine-rich repeat-containing protein 32) — белок 32, содержащий богатые лейцином повторы; C11orf30 (Chromosome 11 open reading frame 30, EMSY) — регулятор транскрипции EMSY; GWAS (Genome-Wide Association Study) — полногеномный анализ ассоциаций; ОНП, SNP (Single Nucleotide Polymorphism) — однонуклеотидные полиморфные варианты; OR (Odds Ratio) — отношение шансов; FDR (False Discovery Rate) — доля ложноположительных результатов.

* Эл. почта: galiyagimalova@gmail.com

11q13.5 region, have been investigated in AD patients and control subjects from the Republic of Bashkortostan. An association of *TLR1* (*rs5743571* and *rs5743604*), *TLR6* (*rs5743794*) and *TLR10* (*rs11466617*) with AD was found. Our results confirm an important role of the innate immune system in the pathogenesis of AD and the significance of polymorphisms within the Toll-like receptor 2 subfamily genes in AD development.

Keywords: atopic dermatitis, association study, pattern-recognition receptors, Toll-like receptors, NOD-like receptors.

DOI: 10.7868/S0026898414020062

Атопический дерматит — хроническое воспалительное заболевание кожи, которое, чаще всего, является первым проявлением аллергии у ребенка, и это заболевание может продолжаться в зрелом возрасте. Почти у половины детей на этом фоне развивается бронхиальная астма или аллергический ринит. В среднем, 15–20% детей и 2–10% взрослых во всем мире страдает этим заболеванием [1], и в последние десятилетия это число возрастает [2].

Развитие атопического дерматита, как и других аллергических заболеваний, определяется сложным сочетанием генетических факторов и неблагоприятных факторов окружающей среды. Молекулярно-генетические исследования атопического дерматита показали, что в этиопатогенезе заболевания участвуют множество функционально взаимосвязанных генов. Среди них гены, вовлеченные в атопический иммунный ответ организма — гены интерлейкинов (*IL4*, *IL10*, *IL13*, *IL18*, *IL25*, *IL33*), тимусного стромального лимфопоэтина (*TSLP*); гены, участвующие в регуляции барьерной функции эпителия (гены филагрина, *FLG*, и ингибитора сериновых протеаз, *SPINK5*); а также в распознавании консервативных структур микроорганизмов (гены образ-распознающих (паттерн-распознающих) рецепторов) и другие [3, 4].

Из экзогенных факторов риска наибольший вклад в развитие атопического дерматита вносят различные аллергены — инфекционные (бактериальные, грибковые, вирусные, паразитарные) и неинфекционные (растительные, бытовые, пищевые, эпидермальные, синтетические), которые играют роль пускового механизма системы врожденного иммунитета [5]. Аллергены содержат специфические липидные и углеводные лиганды, которые активируют различные образ-распознающие рецепторы (Pattern Recognition Receptors — PRR), а именно — Toll-подобные рецепторы (Toll-like, TLR), NOD-подобные рецепторы (NOD-like, NLR), лектиновые рецепторы C-типа (C-type lectin, CLR) и другие, располагающиеся на поверхности различных клеток организма [6]. С помощью этих рецепторов врожденная иммунная система первой “узнает” различные патогены и аллергены окружающей среды и стимулирует адаптивный иммунитет. Активация бактериальными и вирусными

молекулами стимулирует Th1-ответ и тем самым угнетает аллергические реакции. С другой стороны, многие антигены-аллергены, связываясь с образ-распознающими рецепторами, могут индуцировать аллергический ответ Th2-типа [5, 6]. Изменения в структуре образ-распознающих рецепторов могут нарушать их нормальную реактивность и влиять на созревание иммунной системы, что определяет большую восприимчивость больных атопическим дерматитом к микробным инфекциям, а также и степень распространенности аллергических заболеваний.

Гены образ-распознающих рецепторов экспрессируются, главным образом, в тканях, взаимодействующих с окружающей средой, в частности в коже и слизистой желудочно-кишечного тракта. Например, в кератиноцитах кожи экспрессируются гены *TLR1*, *TLR2*, *TLR3*, *TLR4*, *TLR5* и *TLR9* [7].

Изучение генов образ-распознающих рецепторов у больных аллергическими заболеваниями показало, что в различных популяциях атопический дерматит ассоциирован с полиморфными вариантами генов этих рецепторов, таких, например, как *TLR2* (в Германии [8–10]), *TLR9*, *CD14* и *NOD1* (в Германии и США у американцев европейского происхождения [11–13]). Развитие бронхиальной астмы ассоциировано с однонуклеотидными полиморфными вариантами (ОНП) генов *TLR2* (в Австрии и Германии [14]), *TLR6* и *TLR9* (в Германии и Китае [13, 15–17]), *TLR4* (в Швеции [18]), *TLR10* (в США у американцев европейского и африканского происхождения [19]), *CD14* (во Франции, Индии и США [20–22]), *TLR2* и *CD14* (во Франции [21]), *NOD1* и *NOD2* (в Германии и Нидерландах [23, 24]). Полиморфные варианты генов *CD14* [25], *TLR6* [17] и *NOD1* [26] ассоциированы с развитием аллергического ринита у жителей Китая, Нидерландов и ряда других европейских стран.

Кроме этого, к настоящему времени проведено несколько полногеномных анализов ассоциации атопического дерматита (Genome-Wide Association Study), в которых обнаружили новые гены, участвующие в развитии этого заболевания. При изучении немецкой выборки обнаружили ассоциацию между полиморфным локусом *g.76301316C>T* (*rs7927894*) и дерматитом [27]. Этот локус локализован на 11-й хромосоме в области 11q13.5 между

геном регулятора транскрипции *EMSY C11orf30* и геном *LRR32*, кодирующим белок 32, который содержит, так же как Toll- и NOD-подобные рецепторы, богатые лейцином повторяющиеся последовательности (LRR) [27].

В России генетические исследования атопического дерматита немногочисленны [28–31], а роль генов образ-распознающих рецепторов в его развитии ранее не изучали. В данной работе мы исследовали полиморфные варианты генов образ-распознающих рецепторов (*TLR1*, *TLR2*, *TLR4*, *TLR5*, *TLR6*, *TLR9*, *TLR10*, *CD14*, *NOD1*, *NOD2*), а также генов *C11orf30* и *LRR32*, локализованных в области 11q13.5, у больных атопическим дерматитом и у здоровых индивидов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материал для исследования — образцы ДНК 313 неродственных индивидов, больных атопическим дерматитом, в возрасте от 2 до 49 лет (средний возраст 13.3 года), проживающих в Республике Башкортостан; из них 121 русский, 78 татар и 114 индивидов от смешанных браков русских и татар. Все обследованные — пациенты Республиканского кожно-венерологического диспансера и детского отделения Клиники Башкирского государственного медицинского университета. Диагноз установлен на основании данных клинического, общелабораторного и дополнительных методов исследования в соответствии с критериями программных документов по диагностике, лечению и профилактике заболеваний. Контрольная группа — 257 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу, возрасту (от 5 до 50 лет, средний возраст 21.2 года) и этнической принадлежности с больными и не имеющихотягощенной наследственности по атопическим заболеваниям (93 русских, 75 татар и 89 индивидов от смешанных браков русских и татар). От всех получено информированное согласие на участие в данном исследовании.

Методы исследования. ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови стандартным методом депротеинизации смесью фенола и хлороформа. ОНП подбирали с использованием программы SNPbrowser (“Applied Biosystems”, USA). В генах имеется большое число полиморфных локусов, и исследование всех и каждого из них в гене экономически нецелесообразно. Изучаются ОНП, называемые маркерными, или таговыми (tag SNP), которые могут быть использованы в качестве прокси-маркеров (маркеров-представителей) для рядом расположенных ОНП. Выбор маркерных ОНП основан на величине неравновесия по сцеплению (r^2) между близко расположенными полиморфными локусами. При максимальном r^2 , равном 1, два локуса находятся в полном неравновесии по сцеплению и

могут служить как абсолютные прокси-маркеры. Другими словами, можно генотипировать один ОНП, чтобы узнать генотип другого.

Таким образом, для определения оптимального числа маркерных полиморфных локусов в гене (оптимальное покрытие генов), которое необходимо исследовать, чтобы охватить весь ген, отбирали маркерные ОНП в регионах с высоким неравновесием по сцеплению из 5'-области экзонов, из интронов и из 3'-области каждого гена (табл. 1).

Полиморфные локусы типировали с использованием TaqMan-технологии и системы OpenArray SNP Genotyping System для генотипирования ОНП (“BioTrove”, США). Реакционную смесь (TaqMan® OpenArray® Genotyping MasterMix, “Applied Biosystems”, США) объемом 2.5 мкл и 2.5 мкл раствора ДНК (50 нг/мкл) смешивали в 384-луночном планшете. Смесь переносили на металлические планшеты (слайды) для генотипирования (OpenArray Genotyping Plate), имеющие 3072 сквозные лунки, сгруппированные по 64 лунки в 48 блоков (subarrays). Использовали слайды формата 64, т.е. рассчитанные на исследование 64 полиморфных локусов в 48 образцах ДНК. В каждую лунку одного блока на слайде производителем помещены праймеры и зонды TaqMan для отдельного ОНП. В каждый из 48 блоков слайда мы вносили реакционную смесь, содержащую ДНК одного человека. Реакцию амплификации проводили в соответствии с рекомендациями производителя (95°C — 10 мин, 40 циклов: 92°C — 15 с, 60°C — 1 мин). После ПЦР планшеты “OpenArray” сканировали на приборе OpenArray NT Imager, который измеряет уровень флуоресцентного сигнала от каждой лунки. Для распознавания генотипов образцов ДНК использовали программу OpenArray SNP Genotyping Analysis Software 1.0.3.

Ассоциацию ОНП с болезнью анализировали при помощи пакета программ PLINK 1.07 (<http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink/index.shtml>) [32]. Поправку на множественное тестирование вводили, используя метод оценки доли ложноположительных результатов FDR (False Discovery Rate) [33]. В качестве статистически значимых принимались результаты, если доля FDR составляла менее 0.05.

При попарном сравнении частот аллелей и генотипов в группах больных и контроля использовали критерий $\chi^2(p)$ для таблиц сопряженности 2×2 . Силу ассоциаций оценивали по показателю отношения шансов Odds Ratio (OR) [34].

Для мета-анализа результатов по трем выборкам русских, татар и метисов использовали программу WinPepi v.11.32 (<http://www.brixtonhealth.com/pepi4windows.html>) [35]. Для вычисления среднего значения OR и уровня значимости рассматривали модели с фиксированным (метод Манте-

Таблица 1. Исследованные полиморфные варианты

№ rs	Полиморфный вариант	Ген	Хромосомная область
1	2	3	4
<i>rs4661282</i>	<i>g.39885A>G</i>	<i>TLR5</i>	1q41
<i>rs1640840</i>	<i>c.-4-1934T>C</i>	<i>TLR5</i>	1q41
<i>rs851193</i>	<i>c.-4-8474A>G</i>	<i>TLR5</i>	1q41
<i>rs851188</i>	<i>c.-5 + 2963T>C</i>	<i>TLR5</i>	1q41
<i>rs5744113</i>	<i>c.-439 + 1052C>T</i>	<i>TLR5</i>	1q41
<i>rs1640812</i>	<i>g.223323060A>C</i>	<i>TLR5</i>	1q41
<i>rs352162</i>	<i>g.52192969T>C</i>	<i>TLR9</i>	3p21.2
<i>rs5743846</i>	<i>c.2644G>A, p.Ala882Thr</i>	<i>TLR9</i>	3p21.2
<i>rs352139</i>	<i>c.4-44A>G</i>	<i>TLR9</i>	3p21.2
<i>rs187084</i>	<i>c.-1486T>C</i>	<i>TLR9</i>	3p21.2
<i>rs4331786</i>	<i>g.38769408C>T</i>	<i>TLR10</i>	4p14
<i>rs4129009</i>	<i>c.2323A>G, p.Ile775Val</i>	<i>TLR10</i>	4p14
<i>rs11096957</i>	<i>c.721A>C, p.Asn241His</i>	<i>TLR10</i>	4p14
<i>rs11466617</i>	<i>c.-62-3198T>C</i>	<i>TLR10</i>	4p14
<i>rs10004195</i>	<i>c.-245A>T</i>	<i>TLR10</i>	4p14
<i>rs4543123</i>	<i>g.38792524A>G</i>	<i>TLR10</i>	4p14
<i>rs4833095</i>	<i>c.743A>G, p.Asn248Ser</i>	<i>TLR1</i>	4p14
<i>rs5743604</i>	<i>c.-67-766A>G</i>	<i>TLR1</i>	4p14
<i>rs5743571</i>	<i>c.-160 + 438C>T</i>	<i>TLR1</i>	4p14
<i>rs2101521</i>	<i>g.5970913G>A</i>	<i>TLR1</i>	4p14
<i>rs2890664</i>	<i>c.*1726G>T</i>	<i>TLR6</i>	4p14
<i>rs5743813</i>	<i>c.1033C>T, p.His345Tyr</i>	<i>TLR6</i>	4p14
<i>rs5743794</i>	<i>c.-64-1569C>T</i>	<i>TLR6</i>	4p14
<i>rs13150331</i>	<i>g.399A>G</i>	<i>TLR2</i>	4q31.3
<i>rs893629</i>	<i>c.-692A>G</i>	<i>TLR2</i>	4q31.3
<i>rs1816702</i>	<i>c.-17+324T>C</i>	<i>TLR2</i>	4q31.3
<i>rs4696483</i>	<i>c.-16-4789T>C</i>	<i>TLR2</i>	4q31.3
<i>rs11938228</i>	<i>c.-16-2098C>A</i>	<i>TLR2</i>	4q31.3
<i>rs3804100</i>	<i>c.1350T>C, p.Ser450=</i>	<i>TLR2</i>	4q31.3
<i>rs11574651</i>	<i>g.8018C>T</i>	<i>CD14</i>	5q31.3
<i>rs2228049</i>	<i>c.610A>G, p.Asn204Asp</i>	<i>CD14</i>	5q31.3
<i>rs2569190</i>	<i>c.-260T>C</i>	<i>CD14</i>	5q31.3
<i>rs2569191</i>	<i>c.-1247G>A</i>	<i>CD14</i>	5q31.3
<i>rs2907748</i>	<i>c.2622-228G>A</i>	<i>NOD1</i>	7p14.3
<i>rs2907749</i>	<i>c.2453 + 16T>C</i>	<i>NOD1</i>	7p14.3
<i>rs2075820</i>	<i>c.796G>A, p.Glu266Lys</i>	<i>NOD1</i>	7p14.3
<i>rs2075818</i>	<i>c.156C>G, p.Ala52=</i>	<i>NOD1</i>	7p14.3
<i>rs2906773</i>	<i>c.-351-6987G>A</i>	<i>NOD1</i>	7p14.3
<i>rs2736726</i>	<i>c.-1160G>A</i>	<i>NOD1</i>	7p14.3
<i>rs2709797</i>	<i>g.30529028T>C</i>	—	7p14.3
<i>rs2737191</i>	<i>g.1256A>G</i>	<i>TLR4</i>	9q33.1
<i>rs1927911</i>	<i>c.-147-423A>G</i>	<i>TLR4</i>	9q33.1
<i>rs4986790</i>	<i>c.776A>G, p.Asp259Gly</i>	<i>TLR4</i>	9q33.1

Таблица 1. Окончание

№ rs	Полиморфный вариант	Ген	Хромосомная область
1	2	3	4
<i>rs1554973</i>	<i>g.19353T>C</i>	<i>TLR4</i>	9q33.1
<i>rs6592635</i>	<i>g.76148197T>A</i>	<i>C11orf30</i>	11q13.5
<i>rs7949258</i>	<i>c.1108+2784T>G</i>	<i>C11orf30</i>	11q13.5
<i>rs2508760</i>	<i>c.1364-7087C>A</i>	<i>C11orf30</i>	11q13.5
<i>rs2508755</i>	<i>c.2195-1377G>A</i>	<i>C11orf30</i>	11q13.5
<i>rs2508747</i>	<i>g.76271689G>A</i>	<i>C11orf30</i>	11q13.5
<i>rs10899234</i>	<i>g.76288937G>A</i>	—	11q13.5
<i>rs6592656</i>	<i>g.76368054C>G</i>	<i>LRRC32</i>	11q13.5
<i>rs1320644</i>	<i>c.*461C>T</i>	<i>LRRC32</i>	11q13.5
<i>rs3740779</i>	<i>c.585T>C, p.Gly195=</i>	<i>LRRC32</i>	11q13.5
<i>rs6592657</i>	<i>c.-4-817C>T</i>	<i>LRRC32</i>	11q13.5
<i>rs947998</i>	<i>g.76383806G>T</i>	<i>LRRC32</i>	11q13.5
<i>rs5743266</i>	<i>c.-59G>A</i>	<i>NOD2</i>	16q12.1
<i>rs6500328</i>	<i>c.540+2791A>G</i>	<i>NOD2</i>	16q12.1
<i>rs2066842</i>	<i>c.802C>T, p.Pro268Ser</i>	<i>NOD2</i>	16q12.1
<i>rs2066844</i>	<i>c.2104C>T, p.Arg702Trp</i>	<i>NOD2</i>	16q12.1
<i>rs5743291</i>	<i>c.2863G>A, p.Val955Ile</i>	<i>NOD2</i>	16q12.1
<i>rs3135499</i>	<i>c.*397A>C</i>	<i>NOD2</i>	16q12.1
<i>rs751919</i>	<i>c.-494T>G</i>	<i>NOD2</i>	16q12.1

ля—Хензеля) и случайным эффектами (метод Дерсимоньяна—Лэйрда). В моделях с фиксированным эффектом предполагается, что истинный эффект генетического фактора одинаков во всех включенных в мета-анализ исследованиях (выборках различной этнической принадлежности). В моделях случайных эффектов принимают, что в различных выборках могут проявляться разные эффекты генетического фактора, и такие модели применяются при выраженной гетерогенности выборок между собой.

Для оценки статистической гетерогенности различных выборок использовали Q -критерий Кохрена, статистически значимыми считали различия при $p < 0.1$. Уровень гетерогенности определяли при помощи статистического критерия I^2 (доля изменчивости, обусловленная неоднородностью выборок) [36]. При значении I^2 менее 30% гетерогенность оценивали как легкую, при I^2 в пределах 30–50% — как умеренную, а при $I^2 > 50\%$ — как гетерогенную.

Для анализа неравновесия по сцеплению и гаплотипического анализа использовали программу Haploview 4.2 [37]. Частоты гаплотипов оценивали при помощи EM-алгоритма, неравновесие по сцеплению (LD) между парами ОНП определяли по коэффициенту D' , предложенному Левонти-

ном, и по коэффициенту корреляции r^2 Пирсона, предусмотренному программным обеспечением Haploview 4.2.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ ассоциации полиморфных локусов с atopическим дерматитом

Мы генотипировали 62 ОНП в генах Toll-подобных рецепторов (*TLR1*, *TLR2*, *TLR4*, *TLR5*, *TLR6*, *TLR9*, *TLR10*), генах NOD-подобных рецепторов (*NOD1*, *NOD2*), гене рецептора липополисахаридов *CD14* и генах, локализованных в области 11q13.5 (*C11orf30* и *LRRC32*), в группах больных дерматитом и здоровых индивидуумов. После получения результатов контролировали качество образцов ДНК и генотипированных маркеров. Распределение частот генотипов всех исследованных полиморфных локусов соответствует равновесию Харди—Вайнберга. Из анализируемой выборки исключены образцы ДНК 56 больных и 13 здоровых индивидов, у которых не удалось генотипировать более 20% маркеров. Из дальнейшего анализа исключены четыре ОНП, по которым не удалось генотипировать более чем 20% индивидов (*rs2890664*, *rs11938228*, *rs5743846*, *rs3740779*), и все ОНП с частотой редкого аллеля (minor allele

Таблица 2. Результаты анализа ассоциации исследованных полиморфных локусов у больных атопическим дерматитом и индивидов контрольной группы русской и татарской этнической принадлежности

Ген	Rs	Аллели	Частота аллеля 1, <i>n</i> (<i>p</i>)		P	FDR	OR (95%CI)
			больные	контроль			
Русские							
TLR1	5743571	C	128 (88.89)	121 (72.89)	0.0004	0.0234	2.98 (1.59–5.54)
		T	16 (11.11)	45 (27.11)	0.0004	0.0234	0.34 (0.18–0.63)
TLR1	5743604	A	116 (82.86)	126 (73.26)	0.0432	0.521	1.76 (1.01–3.07)
		G	24 (17.14)	46 (26.74)	0.0432	0.521	0.57 (0.33–0.99)
TLR6	5743794	C	149 (81.87)	99 (66.89)	0.0017	0.0496	2.23 (1.34–3.72)
		T	33 (18.13)	49 (33.11)	0.0017	0.0496	0.45 (0.27–0.74)
TLR10	11466617	T	129 (89.58)	135 (81.33)	0.0414	0.521	1.97 (1.02–3.83)
		C	15 (10.42)	31 (18.67)	0.0414	0.521	0.51 (0.26–0.98)
Татары							
TLR2	1816702	C	112 (91.8)	115 (83.33)	0.0406	0.849	2.24 (1.02–4.92)
		T	10 (8.2)	23 (16.67)	0.0406	0.849	0.45 (0.2–0.98)
TLR2	4696483	C	110 (91.67)	115 (82.14)	0.0249	0.8487	2.39 (1.1–5.21)
		T	10 (8.33)	25 (17.86)	0.0249	0.8487	0.42 (0.19–0.91)

P – *p*-value, FDR – False Discovery Rate.

frequency, MAF) менее 0.01 (*rs2228049*). После всех этапов контроля качества для анализа ассоциации отобрано 57 ОНП, которые были генотипированы у 257 больных (104 русских, 61 татарина и 92 метисов) и 244 здоровых индивидов контрольной группы (90 русских, 73 татар и 81 метиса).

Результаты анализа ассоциации изученных полиморфных локусов с атопическим дерматитом представлены в табл. 2. Наиболее высокий уровень ассоциации с развитием болезни наблюдается по полиморфному варианту *rs5743571* (с.-160 + + 438C>T), расположенному во втором интроне гена *TLR1*, у русских. Этот ген локализован на хромосоме 4p14 в одном кластере с генами *TLR6* и *TLR10* и экспрессируется повсеместно в гораздо больших количествах, чем гены других TLR [38]. Сравнительный анализ частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфного локуса *rs5743571* показал, что частота аллеля *rs5743571**C у больных статистически значимо выше (88.89%), чем в контроле (72.89%) ($p = 0.0004$, FDR = 0.0234; OR = 2.98 (95%CI 1.59–5.54)). Генотип *rs5743571**C/C встречается также с более высокой частотой: у больных – в 77.78% случаев, у здоровых – в 54.22% ($p = 0.0021$, OR = 2.96 (95%CI 1.46–5.97)). Генотип *rs5743571**C/T чаще выявляется в контроле (37.35%), чем в группе больных (22.22%) ($p = 0.041$, OR = 0.48 (95%CI 0.24–0.98)). Генотип *rs5743571**T/T у больных не обнаружен и встреча-

ется только в контрольной группе – с частотой 8.43% ($p = 0.032$, OR = 0.07 (95%CI 0.004–1.25)).

Статистически значимые различия в распределении частот аллелей между русскими, больными атопическим дерматитом, и соответствующей группой контроля обнаружены также по полиморфному варианту *rs5743794* (с.-64-1569C>T), локализованному в интроне гена *TLR6*. Аллель *rs5743794**C с большей частотой (81.87%) определяется у русских больных (в контроле – 66.89%) ($p = 0.0017$, FDR = 0.0496; OR = 2.23 (95%CI 1.34–3.72)). Генотип *rs5743794**C/C также значительно чаще обнаруживается в группе больных (в 65.93% случаев), чем у здоровых (в 41.89%) ($p = 0.002$, OR = 2.68 (95%CI 1.43–5.06)). Частота генотипа *rs5743794**C/T у больных ниже, чем в контрольной выборке – 31.87 и 50.0% соответственно ($p = 0.0181$, OR = 0.47 (95%CI 0.25–0.88)).

Кроме этого, при сравнении больных и здоровых индивидов контрольной группы русских выявляются несколько полиморфных локусов, по которым наблюдаемые различия не достигают уровня статистической значимости – с учетом поправки на множественность FDR. Так, по полиморфному локусу *rs5743604* (с.-67-766A>G), локализованному в третьем интроне гена *TLR1*, у больных частота аллеля *rs5743604**A выше (82.86%), по сравнению с контролем (73.26%) ($p = 0.0432$, OR = 1.76 (95%CI 1.01–3.07)). По полиморфному локусу *rs11466617* (с.-62-3198T>C) гена *TLR10* у больных аллель

Таблица 3. Результаты анализа гаплотипов полиморфных локусов, локализованных в области 4p14, у больных atopическим дерматитом и в контрольных группах индивидов русской и татарской этнической принадлежности

Гаплотипы*	Русские, <i>p</i>		P	Татары, <i>p</i>		P
	больные	контроль		больные	контроль	
TTATACG	0.783	0.660	0.0159	0.627	0.576	0.4344
CAGCGTA	0.103	0.167	0.0986	0.244	0.255	0.8476
TAGCGTA	0.007	0.053	0.0194	0.012	0.043	0.1717
TAGCGCA	0.049	0.001	0.0043	0.019	0.063	0.1079
TAACACA	0.011	0.021	0.5171	0.011	0.021	0.5757
TAGCGCG	0.019	0.012	0.5993	0.024	0.007	0.2747
TTATATG	0	0.025	0.0602	0	0	
TTATACA	0.012	0.008	0.707	0	0	
TTACGCA	0	0		0.064	0.014	0.0382

* Гаплотипы *rs11466617*–*rs10004195*–*rs4543123*–*rs4833095*–*rs5743604*–*rs5743571*–*rs2101521*. P – *p*-value, *p* – частота гаплотипа.

*rs11466617**T обнаруживается чаще (89.58% случаев), чем в контроле (81.33%), $p = 0.0414$, $OR = 1.97$ (95%CI 1.02–3.83)).

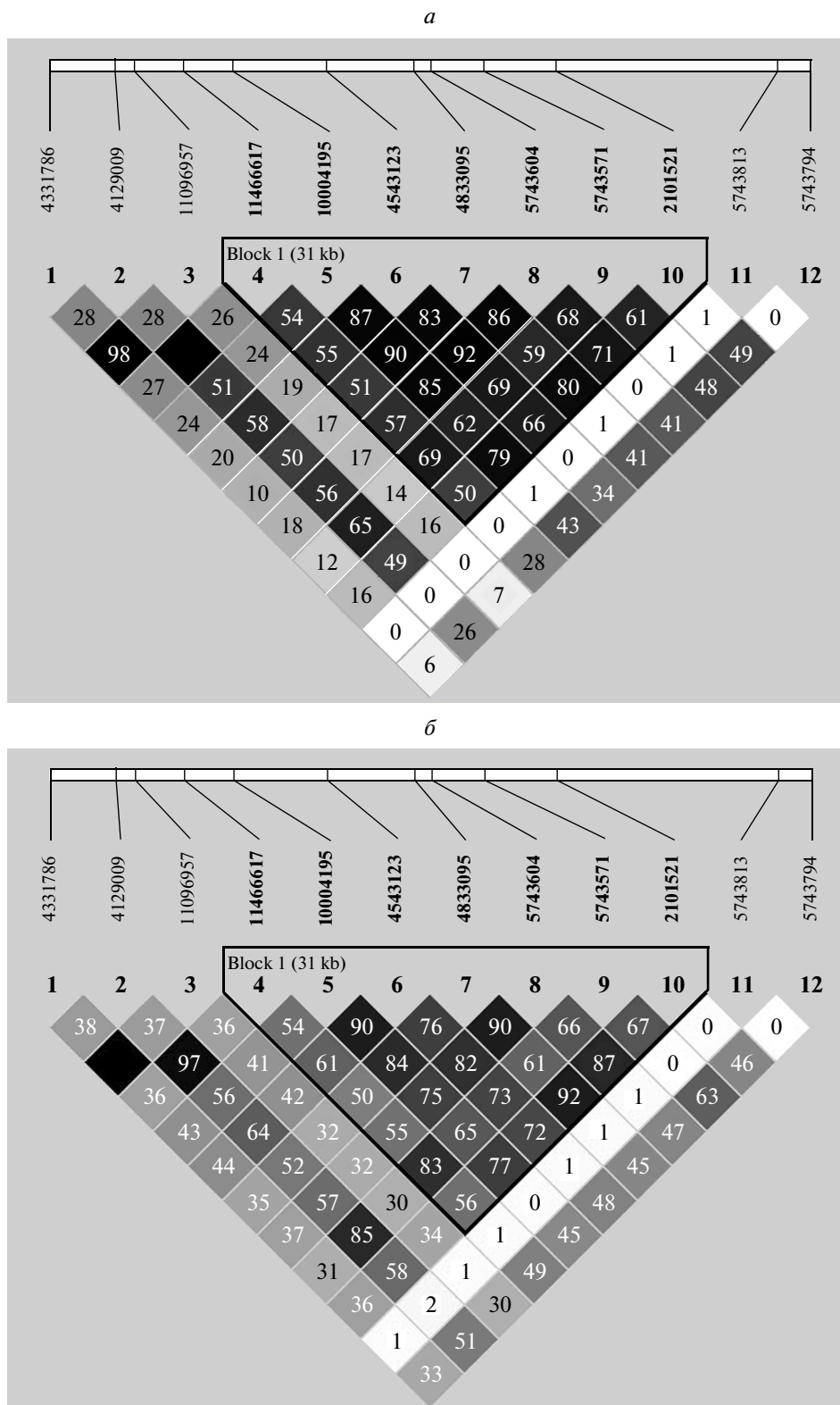
При анализе ассоциации полиморфных локусов у татар выявляются различия между группами больных и здоровых по полиморфным локусам *rs1816702* (с.-17 + 324T>C) и *rs4696483* (с.-16-4789T>C), которые локализованы во втором интроне гена *TLR2*, расположенного в области 4q32. В группе больных аллель *rs1816702**C встречается с частотой 91.8%, тогда как в соответствующей группе контроля частота ниже и составляет 83.33% ($p = 0.0406$, $OR = 2.24$ (95%CI 1.02–4.92)). Частота аллеля C полиморфного варианта *rs4696483* того же гена также выше в группе больных (91.67%), чем в контроле (82.14%) ($p = 0.0249$, $OR = 2.39$ (95%CI 1.1–5.21)). При введении поправки на множественность FDR, различия между группами сравнения татарской этнической принадлежности не достигают уровня статистической значимости.

Учитывая достаточно большое число индивидов смешанной этнической группы в исследуемой выборке из Республики Башкортостан, мы изучили ассоциацию полиморфных локусов с развитием atopического дерматита в этой группе. Каких-либо статистически значимых различий между группами больных и здоровых, с учетом поправки на множественность, не обнаружено. Тем не менее, следует отметить, что по полиморфным локусам *rs5743571* и *rs5743604* гена *TLR1* у больных частота аллелей *rs5743571**C ($p = 0.0498$) и *rs5743604**A ($p = 0.0423$) несколько выше, аналогично тому, что наблюдали при изучении русских больных.

При анализе ассоциации полиморфных локусов генов *TLR4*, *TLR5*, *TLR9*, *NOD1*, *NOD2*, *CD14*, *C11orf30* и *LRRC32* статистически значимых различий в распределении частот аллелей и генотипов этих локусов в выборках больных и здоровых различной этнической принадлежности не обнаружено.

Анализ ассоциации гаплотипов полиморфных локусов, локализованных в области 4p14, с atopическим дерматитом

Далее мы изучали неравновесие по сцеплению полиморфных локусов генов *TLR1*, *TLR6* и *TLR10*, локализованных в одном кластере на 4-ой хромосоме в области 4p14. И у русских, и у татар обнаружен один гапоблок, включающий семь полиморфных локусов (*rs11466617*, *rs10004195*, *rs4543123*, *rs4833095*, *rs5743604*, *rs5743571* и *rs2101521*) (рисунок). При гаплотипическом анализе обнаружены статистически значимые различия между русскими, больными atopическим дерматитом, и соответствующей контрольной группой (табл. 3). Частота наиболее распространенного гаплотипа, TTATACG, значительно выше в группе больных (78.3%), чем в контроле (66.0%, $p = 0.0159$). Кроме того, у больных с более высокой частотой (4.9%), чем в контроле (0.1%), встречается гаплотип TAGCGCA ($p = 0.0043$). Напротив, гаплотип TAGCGTA встречается у больных реже (0.7%), чем в контроле (5.3%) ($p = 0.0194$). У татар также имеются различия между больными и здоровыми по частоте встречаемости гаплотипа TTACGCA (*rs11466617*, *rs10004195*, *rs4543123*, *rs4833095*, *rs5743604*, *rs5743571* и *rs2101521*) ($p = 0.0382$, 6.4 и 1.4% соответственно, табл. 3). У русских этот гаплотип не встречается вообще. Для инди-



Структура неравновесия по сцеплению между полиморфными локусами, локализованными в области 4p14, у русских (*a*) и татар (*б*) (Haploview 4.2). Черными линиями очерчен гаплотипический блок. В ячейках указаны значения коэффициента неравновесия по сцеплению r^2 . Различные оттенки серого цвета отображают силу неравновесия по сцеплению между разными ОНП.

Таблица 4. Результаты мета-анализа исследованных полиморфных локусов у больных атопическим дерматитом и индивидов контрольной группы русской, татарской и смешанной этнической принадлежности

Ген	№ rs	Аллели	Модель с фиксированным эффектом		Модель со случайным эффектом		Q	I^2 , %
			P	OR	P(R)	OR(R)		
<i>TLR1</i>	5743571	C	2.7×10^{-4}	1.91	0.011	1.88	0.1451	48.7
		T	2.7×10^{-4}	0.52	0.011	0.53	0.1451	48.7
<i>TLR1</i>	5743604	A	0.011	1.50	—	—	0.3696	0
		G	0.011	0.67	—	—	0.3696	0
<i>TLR6</i>	5743794	C	0.001	1.66	—	—	0.3441	6.6
		T	0.001	0.60	—	—	0.3441	6.6
<i>TLR10</i>	11466617	T	0.019	1.55	—	—	0.3811	0
		C	0.019	0.64	—	—	0.3811	0

P — p -value fixed; P(R) — p -value random; Q — критерий гетерогенности Кохрена; I^2 — критерий гетерогенности Хиггинса.

видов-метисов характерны два блока неравновесия по сцеплению между полиморфными локусами, локализованными в области 4p14. В первый входят три ОНП (*rs4331786*, *rs4129009*, *rs11096957*), во второй — шесть (*rs11466617*, *rs10004195*, *rs4543123*, *rs4833095*, *rs5743604*, *rs5743571*). Статистически значимых различий между гаплотипами больных атопическим дерматитом и здоровых индивидов контрольной группы смешанной этнической принадлежности не обнаружено.

Мета-анализ результатов исследования

Мы провели мета-анализ результатов исследования полиморфных локусов генов образ-распознающих рецепторов и генов *C11orf30* и *LRRC32* у русских, татар и метисов. Результаты представлены в табл. 4.

По полиморфному локусу *rs5743571* гена *TLR1* наблюдается умеренный уровень гетерогенности выборок ($p(Q\text{-критерий}) = 0.1451$, $I^2 = 48.7\%$ (95%CI 0.0–85.1%)). Учитывая пограничное значение критерия гетерогенности I^2 по данному локусу, мы рассмотрели модель с фиксированным эффектом (метод Мантеля–Хензеля), а также модель со случайным эффектом (метод Дерсимоняна–Лэйрда). В обоих случаях различия по данному локусу между выборками больных и здоровых оказались статистически значимыми. По методу Мантеля–Хензеля показатель отношения шансов для аллеля *rs5743571*С* (OR_C) составляет 1.91 (95%CI 1.34–2.71), для аллеля *rs5743571*Т* (OR_T) — 0.52 (95%CI 0.37–0.74), $p = 2.7 \times 10^{-4}$, а по методу Дерсимоняна–Лэйрда — $OR_C = 1.88$ (95% CI 1.15–3.06), $OR_T = 0.53$ (95%CI 0.33–0.87), $p = 0.011$.

По полиморфному локусу *rs5743794* гена *TLR6* уровень гетерогенности низок ($p(Q\text{-критерий}) =$

$= 0.3441$; $I^2 = 6.6\%$ (95%CI 0.0–90.3%)), и мета-анализ проводили по методу Мантеля–Хензеля. Различия между выборками больных и здоровых оказались статистически значимыми — $p = 0.001$ ($OR_C = 1.66$ (95%CI 1.22–2.25); $OR_T = 0.60$ (95%CI 0.44–0.82)).

Используя мета-анализ, удалось также обнаружить статистически значимые различия между выборками больных и здоровых по полиморфным локусам *rs5743604* гена *TLR1* и *rs11466617* гена *TLR10*, при том что различия при анализе ассоциации по этим локусам в отдельных выборках не достигают статистической значимости при введении поправки на множественность. Гетерогенности между выборками по обоим локусам не найдено ($I^2 = 0.0\%$ (95%CI 0.0–89.6%)), и мета-анализ проводили по методу Мантеля–Хензеля. По локусу *rs5743604* показатель отношения шансов для аллеля *rs5743604*А* составляет 1.50 (95%CI 1.09–2.06), а для аллеля *rs5743604*G* — 0.67 (CI95% 0.48–0.91), $p = 0.011$. По полиморфному локусу *rs11466617* показатели отношения шансов для различных его аллелей составляют $OR_T = 1.55$ (1.07–2.25), $OR_C = 0.64$ (CI95% 0.44–0.93), $p = 0.019$.

Таким образом, мета-анализ позволяет установить значимость полиморфных вариантов генов Toll-подобных рецепторов *TLR1*, *TLR6* и *TLR10* в развитии атопического дерматита.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследование полиморфных локусов генов образ-распознающих рецепторов (*TLR1*, *TLR2*, *TLR4*, *TLR5*, *TLR6*, *TLR9*, *TLR10*, *CD14*, *NOD1*, *NOD2*) и генов *C11orf30* и *LRRC32*, локализованных в области 11q13.5, показало, что у русских наблюдается

статистически значимая ассоциация ($FDR < 0.05$) atopического дерматита с полиморфными локусами генов *TLR1* (*rs5743571*) и *TLR6* (*rs5743794*). При мета-анализе данных по трем выборкам русских, татар и метисов обнаруживается ассоциация полиморфных локусов генов *TLR1* (*rs5743571*, *rs5743604*) и *TLR6* (*rs5743794*) с развитием этого заболевания.

По данным исследований в Германии установлено, что имеется ассоциация между двумя полиморфными локусами гена *TLR1* (*rs5743595* и *rs4833095*) и развитием аллергической формы бронхиальной астмы [16], но ассоциации ОНП гена *TLR1* с развитием atopического дерматита ранее обнаружено не было. В ряде работ показана ассоциация полиморфных вариантов гена *TLR6* с развитием бронхиальной астмы и аллергического ринита в европейских популяциях и в США [16, 26, 39], однако ассоциация данного гена с развитием atopического дерматита ранее также не выявлялась.

При мета-анализе нами обнаружены значимые различия между больными и здоровыми по полиморфному локусу *rs11466617* гена *TLR10*. Имеются литературные данные об ассоциации этого гена с развитием аллергических заболеваний. Например, полиморфные локусы *rs11466651* (*c.892G>A*, *p.Val284Ile*) и *rs11096956* (*c.1032G>T*, *p.Pro344X*) гена *TLR10* ассоциированы с развитием аллергического ринита и бронхиальной астмы у китайцев и американцев европеоидного происхождения [17, 19]; а полиморфный вариант *rs4129009* (*c.2323T>C*) — с развитием бронхиальной астмы у немцев [16].

Анализ гаплотипов по полиморфным локусам генов *TLR1*, *TLR6* и *TLR10* (*rs11466617*, *rs10004195*, *rs4543123*, *rs4833095*, *rs5743604*, *rs5743571* и *rs2101521*) показал, что у русских с повышенным риском развития atopического дерматита связаны гаплотипы TTATACG и TAGCGCA, а у татар — гаплотип TTACGCA.

При изучении группы татар мы обнаружили тенденцию к ассоциации ОНП *rs1816702* и *rs4696483* гена *TLR2* с atopическим дерматитом. Аналогичные данные получены в других исследованиях. Так, показано, что полиморфные варианты *rs5743708* (*p.Arg753Gln*) и *rs4696480* (*c.-16934A>T*) данного гена ассоциированы с тяжелым течением atopического дерматита у пациентов в Германии [8, 10]. Результаты других работ свидетельствуют о роли различных полиморфных вариантов гена *TLR2* в развитии бронхиальной астмы в разных популяциях [14, 17, 21, 40].

При анализе полиморфных вариантов генов Toll-подобных рецепторов *TLR4*, *TLR5* и *TLR9* статистически значимых различий в распределении частот аллелей и генотипов между исследованными выборками больных и здоровых не обнаружено. В некоторых популяциях выявлена ас-

социация ОНП генов *TLR4* и *TLR9* с развитием аллергических заболеваний. Так, в Швеции и Египте выявлена взаимосвязь между ОНП гена *TLR4* и развитием бронхиальной астмы [18, 41]; у немцев ОНП *rs187084* гена *TLR9* ассоциирован с развитием астмы [16], а *rs5743836* данного гена — с развитием atopического дерматита [13].

В нашей работе исследовано также, имеется ли ассоциация между atopическим дерматитом и полиморфными вариантами генов NOD-подобных рецепторов (*NOD1* и *NOD2*) и гена рецептора липополисахаридов *CD14*. Статистически значимых различий между больными и здоровыми, которые указывали бы на такую взаимосвязь, не обнаружено. Ранее показано, что полиморфные варианты гена *NOD1* (7p15-p14) ассоциированы с atopическим дерматитом, бронхиальной астмой и повышенным уровнем общего IgE [11, 24, 42], а ОНП гена *NOD2* (16q12) — с развитием бронхиальной астмы у жителей Германии и Нидерландов [23, 24]. Ассоциация полиморфных вариантов гена *CD14* с повышенным уровнем IgE, atopическим дерматитом, бронхиальной астмой и аллергическим ринитом обнаружена в Нидерландах, Франции, США и Индии [12, 20–22, 25].

В нашей работе при анализе распределения частот аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов регулятора транскрипции EMSY (*C11orf30*) и белка 32, который содержит лейцин-богатые повторы (*LRRC32*), также не обнаружилось статистически значимых различий между группами больных и здоровых индивидов различной этнической принадлежности. Ранее, при полногеномных и репликативных исследованиях немцев, ирландцев и японцев [27, 43, 44], показано, что проявляется ассоциация ОНП данной области с развитием atopического дерматита.

Таким образом, наши результаты свидетельствуют об очевидном вкладе полиморфных вариантов генов Toll-подобных рецепторов *TLR1*, *TLR2*, *TLR6* и *TLR10*, относящихся к одному подсемейству TLR2, в развитие atopического дерматита. Toll-подобные рецепторы данного подсемейства имеют структурное сходство, функционально взаимосвязаны друг с другом и распознают достаточно широкий спектр патоген-ассоциированных молекулярных паттернов — липопептиды, липопротеиды, гликолипиды, липополисахариды, пептидогликаны и липотейхоевые кислоты бактерий, зимозан грибов и другие. Взаимодействие лигандов с рецепторами TLR2 может стимулировать развитие иммунного ответа по Th2-типу и, как следствие, приводить к аллергическому воспалению. Например, широко распространенный аллерген клеща домашней пыли Der p 2 вызывает развитие Th2-ответа путем активации TLR2 и передачи сигналов через адаптерный белок MyD88. Он может также прямо взаимодействовать с

TLR4, благодаря его структурному сходству с липид-связывающим адапторным белком MD-2, который является липополисахарид-связывающим компонентом сигнального комплекса TLR4 [45].

Toll-подобные рецепторы данного подсемейства имеют также важное значение для иммунного ответа на целый ряд микроорганизмов, в том числе на *Staphylococcus aureus*, который наиболее часто колонизирует и/или инфицирует кожу больных atopическим дерматитом, провоцируя и осложняя течение заболевания. Полагают, что дефект TLR2-пути может приводить к предрасположенности таких больных к заражению золотистым стафилококком [46]. Различные молекулярные структуры этой бактерии (пептидогликан, липопротеины, диацилированные липопептиды и др.) являются лигандами Toll-подобных рецепторов подсемейства TLR2 и индуцируют экспрессию в кератиноцитах тимусного стромального лимфопоэтина (TSLP) — ключевого инструктирующего цитокина, который инициирует Th2-ответ. Уровень экспрессии TSLP зависит от уровня экспрессии TLR2 и TLR6, гетеродимер которых взаимодействует с диацилированными липопептидами и компонентами клеточной стенки этого стафилококка [47].

Полученные нами результаты частично согласуются с литературными данными. Ранее обнаружена ассоциация полиморфных вариантов гена *TLR2* с atopическим дерматитом [10, 27] и бронхиальной астмой [14, 17, 21, 27, 40, 43, 44]. Установлена взаимосвязь между полиморфными локусами генов *TLR1*, *TLR6* и *TLR10* и развитием бронхиальной астмы и аллергического ринита [16, 17, 19, 26, 39], однако ассоциации этих генов с развитием atopического дерматита ранее выявлено не было.

В целом, результаты данной работы подтверждают важную роль системы врожденного иммунитета в патогенезе atopического дерматита и значимость изменений в нуклеотидных последовательностях генов Toll-подобных рецепторов подсемейства *TLR2* в развитии этого заболевания.

Работа получила финансовую поддержку Российского Фонда Фундаментальных исследований (3-04-01397 и 1-04-97063-р_поволжье).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pawankar R., Canonica G.W., Holgate S.T., Lockey R.F., Eds. 2011. WAO White Book on Allergy (World Allergy Organization), 238 p.
2. Odhiambo J.A., Williams H.C., Clayton T.O., et al. 2009. Global variations in prevalence of eczema symptoms in children from ISAAC Phase Three. *J. Allergy Clin. Immunol.* **124**, 1251–1258.
3. Barnes K.C. 2010. An update on the genetics of atopical dermatitis: scratching the surface in 2009. *J. Allergy Clin. Immunol.* **125**, 16–29.
4. Bussmann C., Weidinger S., Novak N. 2011. Genetics of atopical dermatitis. *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* **9**, 670–676.
5. Титова Н.Д. 2009. Значение врожденной системы иммунитета в возникновении аллергических заболеваний. *Иммунология, аллергология, инфектология.* **3**, 32–39.
6. Wills-Karp M., Nathan A., Page K., Karp C.L. 2010. New insights into innate immune mechanisms underlying allergenicity. *Mucosal. Immunol.* **3**, 104–110.
7. Lebre M.C., van der Aar A.M., van Baarsen L., et al. 2007. Human keratinocytes express functional Toll-like receptor 3, 4, 5, and 9. *J. Invest. Dermatol.* **127**, 331–341.
8. Ahmad-Nejad P., Mrabet-Dahbi S., Breuer K., et al. 2004. The toll-like receptor 2 R753Q polymorphism defines a subgroup of patients with atopical dermatitis having severe phenotype. *J. Allergy Clin. Immunol.* **113**, 565–567.
9. Niebuhr M., Langnickel J., Draing C., et al. 2008. Dysregulation of toll-like receptor-2 (TLR-2)-induced effects in monocytes from patients with atopical dermatitis: impact of the TLR-2 R753Q polymorphism. *Allergy.* **63**, 728–734.
10. Oh D.Y., Schumann R.R., Hamann L., et al. 2009. Association of the toll-like receptor 2 A-16934T promoter polymorphism with severe atopical dermatitis. *Allergy.* **64**, 1608–1615.
11. Weidinger S., Klopp N., Rummeler L., et al. 2005. Association of NOD1 polymorphisms with atopical eczema and related phenotypes. *J. Allergy Clin. Immunol.* **116**, 177–184.
12. Litonjua A.A., Belanger K., Celedon J.C., et al. 2005. Polymorphisms in the 50 region of the CD14 gene are associated with eczema in young children. *J. Allergy Clin. Immunol.* **115**, 1056–1062.
13. Novak N., Yu C.F., Bussmann C., et al. 2007. Putative association of a TLR9 promoter polymorphism with atopical eczema. *Allergy.* **62**, 766–772.
14. Eder W., Klimecki W., Yu L., et al. 2004. Toll-like receptor 2 as a major gene for asthma in children of European farmers. *J. Allergy Clin. Immunol.* **113**, 482–488.
15. Hoffjan S., Stemmler S., Parwez Q., et al. 2005. Evaluation of the Toll-like receptor 6 Ser249Pro polymorphism in patients with asthma, atopical dermatitis and chronic obstructive pulmonary disease. *BMC Med Genet.* **6**, 34.
16. Kormann M.S., Depner M., Hartl D., et al. 2008. Toll-like receptor heterodimer variants protect from childhood asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **122**, 86–92.
17. Qian F.-H., Zhang Q., Zhou L.-F., et al. 2010. Polymorphisms in the Toll-like receptor 2 subfamily and risk of asthma: a case-control analysis in a Chinese population. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* **20**, 340–346.
18. Fageras Bottcher M., Hmani-Aifa M., Lindstrom A., et al. 2004. A TLR4 polymorphism is associated with asthma and reduced lipopolysaccharide-induced interleukin-12(p70) responses in Swedish children. *J. Allergy Clin. Immunol.* **114**, 561–567.
19. Lazarus R., Raby B.A., Lange C., et al. 2004. TOLL-like receptor 10 genetic variation is associated with

- asthma in two independent samples. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **170**, 594–600.
20. Woo J.G., Assa'ad A., Heizer A.B., et al. 2003. 159 C→T polymorphism of CD14 is associated with nonatopic asthma and food allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* **112**, 438–444.
 21. Smit L.A., Siroux V., Bouzigon E., et al. 2009. CD14 and toll-like receptor gene polymorphisms, country living, and asthma in adults. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **179**, 363–368.
 22. Sharma M., Batra J., Mabalirajan U., et al. 2004. Suggestive evidence of association of C-159T functional polymorphism of the CD14 gene with atopic asthma in northern and northwestern Indian populations. *Immunogenetics*. **56**, 544–547.
 23. Kabesch M., Peters W., Carr D., et al. 2003. Association between polymorphisms in caspase recruitment domain containing protein 15 and allergy in two German populations. *J. Allergy Clin. Immunol.* **111**, 813–817.
 24. Reijmerink N.E., Bottema R.W., Kerkhof M., et al. 2010. TLR-related pathway analysis: novel gene-gene interactions in the development of asthma and atopy. *Allergy*. **65**, 199–207.
 25. Koppelman G.H., Reijmerink N.E., Colin Stine O., et al. 2001. Association of a promoter polymorphism of the CD14 gene and atopy. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **163**, 965–969.
 26. Ramasamy A., Curjuric I., Coin L.J., et al. 2011. A genome-wide meta-analysis of genetic variants associated with allergic rhinitis and grass sensitization and their interaction with birth order. *J. Allergy Clin. Immunol.* **128**, 996–1005.
 27. Esparza-Gordillo J., Weidinger S., Fölster-Holst R., et al. 2009. A common variant on chromosome 11q13 is associated with atopic dermatitis. *Nat. Genetics*. **41**, 596–601.
 28. Фрейдин М.Б., Брагина Е.Ю., Федорова О.С., и др. 2011. Полногеномный анализ ассоциаций аллергических заболеваний с молекулярными маркерами у русских жителей Западной Сибири. *Молекуляр. биология*. **45**(3), 464–472.
 29. Саликова Т.И., Максимов В.Н., Максимова Ю.В. 2010. Мутации в гене филагрина как предрасполагающий фактор развития атопического дерматита. *Клиническая дерматология и венерология: Научно-практический журнал*. **3**, 4–7.
 30. Тюменцева Е.С., Балаболкин И.И., Пинелис В.Г., Петрова Н.В., Глотов О.С., Глотов А.С., Полушкина Л.Б. 2011. Исследование ассоциаций генов предрасположенности к развитию атопических болезней у детей. *Медицинская генетика*. **10**, 33–42.
 31. Карунас А.С., Гималова Г.Ф., Федорова Ю.Ю., и др. 2012. Анализ ассоциации мутаций в гене FLG с развитием аллергических заболеваний. *Медицинская генетика*. **1**, 40–46.
 32. Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., et al. 2007. PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *Am. J. Hum. Genet.* **81**, 559–575.
 33. Benjamini Y., Hochberg Y. 1995. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J. R. Stat. Soc. Ser.* **57**, 289–300.
 34. Schlesselman J. 1982. Case-control studies. Design, conduct, analysis. *Oxford University Press*. 58–96.
 35. Abramson J.H. 2011. WINPEPI updated: computer programs for epidemiologists, and their teaching potential. *Epidemiol. Perspectives Innovations*. **8**, 1–9.
 36. Higgins J.P., Thompson S.G. 2002. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Stat. Med.* **21**, 1539–1558.
 37. Barrett J.C., Fry B., Maller J., Daly M.J. 2005. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*. **21**, 263–265.
 38. Rock, F.L., Hardiman G., Timans J.C., et al. 1998. A family of human receptors structurally related to *Drosophila* Toll. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. **95**, 588–593.
 39. Tantisira K., Klimecki W.T., Lazarus R., et al. 2004. Toll-like receptor 6 gene (TLR6): single-nucleotide polymorphism frequencies and preliminary association with the diagnosis of asthma. *Genes Immun.* **5**, 343–346.
 40. Kang I., Oh Y.K., Lee S.H., et al. 2010. Identification of polymorphisms in the Toll-like receptor gene and the association with allergic rhinitis. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* **267**, 385–389.
 41. Hussein Y.M., Awad H.A., Shalaby S.M., et al. 2012. Toll-like receptor 2 and Toll-like receptor 4 polymorphisms and susceptibility to asthma and allergic rhinitis: a case-control analysis. *Cell Immunol.* **274**, 34–38.
 42. Eder W., Klimecki W., Yu L., et al. 2006. Association between exposure to farming, allergies and genetic variation in CARD4/NOD1. *Allergy*. **61**, 1117–1124.
 43. O'Regan G.M., Campbell L.E., Cordell H.J., et al. 2010. Chromosome 11q13.5 variant associated with childhood eczema: an effect supplementary to filaggrin mutations. *J. Allergy Clin. Immunol.* **125**, 170–174.
 44. Hirota T., Takahashi A., Kubo M., et al. 2012. Genome-wide association study identifies eight new susceptibility loci for atopic dermatitis in the Japanese population. *Nat. Genet.* **44**, 1222–1226.
 45. Jacquet A. 2011. The role of innate immunity activation in house dust mite allergy. *Trends Mol. Med.* **17**, 604–611.
 46. De Benedetto A., Agnihothri R., McGirt L.Y., et al. 2009. Atopic dermatitis: a disease caused by innate immune defects? *J. Invest. Dermatol.* **129**, 14–30.
 47. Vu A.T., Baba T., Chen X., et al. 2010. *Staphylococcus aureus* membrane and diacylated lipopeptide induce thymic stromal lymphopoietin in keratinocytes through the Toll-like receptor 2-Toll-like receptor 6 pathway. *J. Allergy Clin. Immunol.* **126**, 985–993.