
УДК 612
ББК 28.903
Д 41

Руденко К.А.

Аспирант кафедры ботаники факультета естествознания Адыгейского государственного университета, Майкоп, тел. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Нихай М.М.

Зав. пульмонологическим отделением Адыгейской республиканской клинической больницы, Майкоп, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Тугуз А.Р.

Доктор биологических наук, профессор кафедры ботаники факультета естествознания, зав. иммуногенетической лабораторией НИИ комплексных проблем Адыгейского государственного университета, Майкоп, тел. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Анохина Е.Н.

Аспирант кафедры ботаники факультета естествознания Адыгейского государственного университета, Майкоп, тел. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Муженя Д.В.

Аспирант кафедры ботаники факультета естествознания Адыгейского государственного университета, Майкоп, тел. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

G308/308A полиморфизмы гена TNF- α и уровни продукции цитокина в норме и при хронических воспалительных заболеваниях органов дыхания
(Рецензирована)

Аннотация

*Соотношение частот G308/308A полиморфизмов гена TNF- α у жителей Республики Адыгея (РА) (0,844/0,156) сравнимо с европейскими странами: Францией (0,888/0,112) и Испанией (0,869/0,131) по данным ALFRED (The ALlele FREquency Database). Менее распространенная в популяции 308A аллель (0,156) повышена в общей группе больных бронхиальной астмой (0,290). Выявлены противоположные эффекты влияния G/A аллелей, генотипов по 308 позиции промоторной области гена TNF- α в обследованных группах на стимулированную *in vitro* ФГА продукцию TNF- α . У больных с бронхиальной астмой в отличие от доноров G308 аллель и GG (нормальный гомозиготный) генотип повышают, а 308A аллель, GA (гетерозиготный) генотип понижают стимулированную продукцию TNF- α .*

Ключевые слова: *бронхиальная астма, ген TNF- α , G308/308A полиморфизмы, сывороточные концентрации TNF- α , продукция *in vitro* спонтанная и стимулированная ФГА, мононуклеарные клетки периферической крови.*

Rudenko K.A.

Post-graduate student of Botany Department of Natural Science Faculty, Adyghe State University, Maikop, ph. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Nikhay M.M.

Head of Pulmonic Department of the Adyghe Republican Clinical Hospital, Maikop, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Tuguz A.R.

Doctor of Biology, Professor of Botany Department of Natural Science Faculty, Head of Immunogenetic Laboratory of Research Institute of Complex Problems, Adyghe State University, Maikop, ph. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Anokhina E.N.

Post-graduate student of Botany Department of Natural Science Faculty, Adyghe State University, Maikop, ph. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Muzhenya D.V.

Post-graduate student of Botany Department of Natural Science Faculty, Adyghe State University, Maikop, ph. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

The G308/308A polymorphisms in TNF-alpha gene and production levels of cytokine in norm and during the chronic inflammatory diseases of respiratory organs

Abstract

The ratio of frequencies of G308/308A polymorphisms of TNF- α gene at inhabitants of the Adygeya Republic (0,844/0,156) is comparable with the European countries: France (0,888/0,112) and Spain (0,869/0,131) according to ALFRED (The ALlele FREquency Database). The 308A allele, which is less widespread in population (0,156), is increased in the general group of patients having bronchial asthma (0,290). Opposite effects are elicited of influence of G/A alleles, genotypes of 308 position of pro-motor area of TNF- α gene in the surveyed groups on FGA stimulated *in vitro* TNF- α production. Patients with bronchial asthma unlike donors have G308 allele and GG (normal homozygous) genotype which increase stimulated TNF- α production, and those with 308A allele, GA lower (heterozygotic) genotype decrease it.

Keywords: bronchial asthma, TNF- α gene, G308/308A gene polymorphisms, serumal concentrations of TNF- α , *in vitro* spontaneous and FGA stimulated production, mononuclear cells of peripheral blood.

Введение

Фактор некроза опухоли- α (TNF- α) – один из основных провоспалительных цитокинов с широким спектром биологических функций, вовлечен в патогенез системных воспалительных реакций организма, сепсиса, васкулярной деменции, инфекционного эндокардита, ревматоидного артрита, хронических обструктивных заболеваний легких, бронхов, коронарного атеросклероза, ишемической болезни сердца (ИБС) и других заболеваний [1]. В норме сывороточные уровни TNF- α не превышают 30-100 пг/мл, поддерживают иммунологическую реактивность организмов, но на ранних стадиях заболеваний концентрации TNF- α , как правило, значительно возрастают, инициируя патофизиологические процессы [2]. При тяжелом атопическом синдроме, однако, отмечается снижение уровня TNF- α , что является прогностически неблагоприятным фактором [1].

Экспрессия и продукция TNF- α , как и многих цитокинов, регулируется мутациями и полиморфизмами (SNP single nucleotide polymorphism) их генов в зависимости от локализации в промоторной или структурной его части. Для гена TNF- α , картированного на коротком плече 6 хромосомы (6p) известно 43 (34 SNP, 9 инсерций – делеций) полиморфизма, 9 из которых ассоциированы с различными по этиологии, течению и прогнозу злокачественными новообразованиями, заболеваниями сердечно-сосудистой системы, органов дыхания [3-14].

С бронхиальной астмой (БА), по данным HuGEN, ассоциированы C1031T, G308A, C863A, G238A, C857A, A1078G полиморфизмы гена TNF- α , однако в ряде работ, проведенных для географически удаленных регионов, исследована ассоциированность преимущественно G308A полиморфизмов гена TNF- α [4, 5]. У жителей Великобритании, США, Мексики, Кореи, Японии, России при БА чаще выявляется 308A аллель, для египтян характерна БА, ассоциированная с G308 аллелью, а в Китае, по данным 4-х исследований, при БА выявляется G и A аллели TNF- α . Вместе с тем есть сведения об отсутствии ассоциации G308/308A аллелей гена TNF- α с БА. Так, у больных с БА, проживающих в Белоруссии, частотные распределения G308/308A аллелей гена TNF- α достоверно не отличались от таковых для здоровых жителей (0,853/0,147) [4-14].

Исследования по влиянию генотипов и G308/308A полиморфизмов гена TNF- α на продукцию TNF- α у больных с БА немногочисленны и противоречивы, ориентированы на анализ малоинформативных сывороточных концентраций, без учета спонтанной и стимулированной *in vitro* продукции TNF- α мононуклеарными клетками крови (МНК).

Цель работы: исследование частотного распределения G308/308A полиморфизмов гена цитокина TNF- α у жителей Республики Адыгея и их влияние на спонтанную и стимулированную *in vitro* продукцию МНК доноров и больных с БА.

Контингент обследованных лиц

В пилотное исследование включено 47 жителей РА: 16 доноров – высококвалифицированных спортсменов игровых видов спорта (футболисты и баскетболисты) в возрасте 20-29 лет, 31 больной (23-60 лет) пульмонологического отделения Адыгейской республиканской клинической больницы с наследственными и спорадическими формами бронхиальной астмы, диагностированными в соответствии с критериями GINA (2006).

Материалы и методы

Образцы крови для ПЦР отобраны в пробирки с ЭДТА «VACCUETTE» (Австрия). Геномная ДНК выделена из периферической крови доноров и больных «ДНК-экспресс кровь» НПФ «Литех» (Москва). G308/308A аллели TNF- α исследованы SNP-методом на тест-системах НПФ «Литех» (Москва) с электрофоретической детекцией результатов [15]. Качество образцов ДНК проверено на спектрофотометре NanoDrop 2000c «Thermo Scientific» (USA).

Образцы сыворотки, полученные из крови, инкубированной в пробирках с Serum Clot Activator «VACCUETTE» (Австрия) после центрифугирования в режиме 3000 об./мин (15 мин), собраны в пластиковые пробирки и заморожены при -30°C .

Мононуклеарные клетки выделены из стабилизированной гепарином (25 ед./мл) периферической крови на одноступенчатом градиенте фикола («Histopaque», плотность 1,077, «Sigma», USA), центрифугированием при 4°C и 400 г в течение 30 минут. Лимфоидные клетки, образовавшие интерфазное кольцо, собраны пипеткой и трехкратно отмыты средой 199 («ПанЭко», Москва). После каждой отмывки в 10-кратном объеме среды клетки осаждены центрифугированием при 1000 об./мин и 4°C .

Для исследования спонтанной и стимулированной фитогемагглютинином (ФГА, «ПанЭко», 5 мкг/мл) продукции TNF- α , МНК культивированы при 37°C и 5% CO_2 в течение 18 часов в среде RPMI-1640 («ПанЭко», Москва) с добавлением 10% фетальной сыворотки, 80 мкг/мл гентамицина в 96-луночных плоскодонных планшетах в концентрации $2 \cdot 10^6$ мкл/мл.

Уровни TNF- α в сыворотках, супернатантах МНК доноров и больных определены иммуноферментным анализом (ELISA) с помощью коммерческих тест-систем «Вектор БЕСТ» (Новосибирск).

Статистически значимые различия ($p < 0,05$) частот G308/308A аллелей гена TNF- α вычислены с использованием непараметрического метода Фишера, χ^2 (кси-квадрата), OR (odds-ratation – отношения шансов), 95% доверительного интервала (95% CI), концентрации цитокина – параметрического коэффициента Стьюдента (t).

Результаты исследования

1. Распределение генотипов и G308/308A аллелей гена TNF- α у доноров и обследованных больных с бронхиальной астмой

Данные по частотам аллелей и генотипов в 308 позиции промоторной области гена основного провоспалительного цитокина TNF- α в обследованных группах доноров и больных БА представлены в таблице 1.

Таблица 1

Распределение генотипов и G308/308A аллелей гена TNF- α в общих выборках доноров и больных БА в РА

Группы	Генотипы (%)			Аллели		χ^2	p
	G308G	G308A	A308A	G308	308A		
Доноры ($n=16$)	75,00	18,75	6,25	0,844	0,156	2,23	0,07
Больные БА ($n=31$)	45,20	51,60	3,20	0,709	0,290		

Примечание: p – уровень значимости различий по точному критерию Фишера.

В соотношении GG, GA и AA генотипов у больных с БА по сравнению с донорами нами не выявлены статистически значимые различия, однако отмечена тенденция суммарного увеличения доли гомозигот (GG, AA) по 308 позиции гена TNF- α у доноров (табл. 1), а у больных – доли гетерозигот (GA).

Частоты гомозиготных G308G, A308A и гетерозиготных G308A генотипов гена TNF- α у обследованных доноров Республики Адыгея (табл. 1) и здоровых жителей Белоруссии незначительно различаются и составляют, соответственно, 75% : 6,25% : 18,75% и 73,3% : 2,7% : 24% [16].

Распределение G308/308 аллелей гена TNF- α в общей группе доноров РА (табл. 1) сопоставимы с таковыми для европейских популяций французов (0,888 : 0,112), испанцев (0,869 : 0,131) [17].

Различия в частотах G308/308A аллелей гена TNF- α (табл. 1), выявленные для больных бронхиальной астмой (0,709/0,290) и доноров (0,844/0,156) на небольших выборках обследованных групп при уровне значимости $p=0,07$, соответствуют мировым данным. Таким образом, в Республике Адыгея с БА ассоциирована 308A аллель гена TNF- α как и в Великобритании, США, Мексике, Корее, Японии, России [4-9].

2. Влияние G308/308A полиморфизмов гена на спонтанную и стимулированную *in vitro* ФГА продукцию TNF- α МНК доноров и больных БА

Для оценки влияния полиморфизмов гена на продукцию TNF- α , проанализированы сывороточные концентрации, уровни спонтанной и стимулированной *in vitro* ФГА продукции этого медиатора МНК доноров и больных. Данные представлены в таблице 2.

Таблица 2

Сывороточные концентрации, уровни спонтанной и стимулированной *in vitro* ФГА продукции TNF- α мононуклеарными клетками крови больных и доноров

Концентрация TNF- α , пг/мл		Доноры ($n=11$)	Больные БА ($n=17$)	t	p
в сыворотке		14,3	13,39	0,313	$p^*>0,05$
в супернатантах	МНК спонт.	12,9	41,75	1,302	$p^{**}>0,05$
	МНК+ФГА	28,4	126,28	2,492*	$p^{***}<0,05$

Примечание: t – критерий Стьюдента;

p – (*) уровень значимости различий сывороточных концентраций со спонтанной и (**) стимулированной ФГА (***) *in vitro* продукцией TNF- α МНК больных и доноров.

Сывороточные уровни TNF- α (табл. 2) у доноров и больных БА не превышают физиологических значений (0-100 пг/мл), достоверно не различаются ($p>0,05$) и согласуются с результатами российских и зарубежных исследователей [16]. Аналогичные данные получены для польских спортсменов той же квалификации и специализации [18].

Спонтанная продукция TNF- α МНК контрольной группы и больных БА составляет соответственно 12,9 пг/мл и 41,75 пг/мл (табл. 2). Полученные нами данные по спонтанной продукции TNF- α МНК доноров отличаются от результатов других исследований, варьирующих в широком диапазоне значений от $23,8\pm 3,2$ пг/мл до 265 ± 161 пг/мл, но соответствуют выявляемым на тест-системах «Вектор БЕСТ» концентрациям (1–42 пг/мл) [19, 20-24].

Активация *in vitro* ФГА повысила продукцию TNF- α МНК доноров и больных БА соответственно до 28,4 пг/мл и 126,28 пг/мл (табл. 2), что существенно отличается от уровней стимулированной продукции МНК доноров, полученных в других исследованиях ($40,1\pm 3,5$ до $2692,8\pm 996,1$), и может быть обусловлено влиянием интенсивных тренировочных нагрузок, подавляющих способность МНК продуцировать провоспалительные цитокины. Снижение продукции TNF- α при синдроме перетренированности у спортсменов с интенсивными тренировочными нагрузками отмечено в работах Афанасьевой И.А [21-26].

В общей группе больных БА не выявлено статистически значимых отличий по сывороточным уровням, спонтанной и стимулированной ФГА *in vitro* продукции TNF- α МНК в зависимости от GG, GA генотипов по 308 локусу гена TNF- α .

При сравнительном анализе способности МНК доноров и больных с разными формами БА (наследственными и спорадическими) продуцировать TNF- α *in vitro* в зависимости от генотипов нами отмечено достоверное ($p<0,05$) повышение стимулированной ФГА продукции TNF- α МНК больных с гомозиготным G308G генотипом (табл. 3).

Таблица 3

Сывороточные концентрации, уровни спонтанной и стимулированной *in vitro* ФГА продукции TNF- α мононуклеарными клетками крови больных и доноров в зависимости от G308G и G308A генотипов

Концентрация TNF- α , пг/мл	Доно-ры	Больные БА	<i>t</i>	<i>p</i>	Доно-ры	Больные БА	<i>t</i>	<i>p</i>
	G308G				G308A			
в сыворотке	14,6	14,2	0,099	$p^*>0,05$	13,2	12,4	0,932	$p^{***}>0,05$
в супернатантах	МНК спонт	13,7	51,9		1,088	11,1	31,6	
	МНК+ФГА	23,6	136,9	2,261*	$p^{**}<0,05$	41,2	115,5	

Примечание: *t* – критерий Стьюдента;

p – (*) уровень значимости различий сывороточных концентраций со спонтанной и стимулированной ФГА (**) *in vitro* продукцией TNF- α МНК гомозиготных (***) и гетерозиготных больных и доноров.

У гомозиготных (GG) больных с наследственной БА уровни стимулированной ФГА продукции TNF- α превышали аналогичные показатели для больных с гетерозиготным (GA) генотипом и достоверно отличались от (GG) доноров (табл. 4).

Таблица 4

Сывороточные концентрации, уровни спонтанной и стимулированной *in vitro* ФГА продукции TNF- α МНК больных с наследственной БА и доноров в зависимости от G308G и G308A генотипов

Концентрация TNF- α , пг/мл		До- норы	Боль- ные БА	<i>t</i>	<i>p</i>	До- норы	Боль- ные БА	<i>t</i>	<i>p</i>
		G308G				G308A			
в сыворотке		14,6	9,9	1,585	$p^{*}>0,05$	13,2	12,8	0,087	$p^{***}>0,05$
в су- перна- тантах	МНК спонт	13,7	35,9	1,585		11,1	22,4	1,968	
	МНК+ ФГА	23,6	189,7	4,3*		$p^{**}<0,01$	41,2	97,2	

Примечание: *t* – критерий Стьюдента;

p – (*) уровень значимости различий сывороточных концентраций со спонтанной и (**) стимулированной ФГА *in vitro* продукцией TNF- α МНК гомозиготных (***) и гетерозиготных больных и доноров.

Таким образом, гомозиготность по 308 локусу гена TNF- α связана с повышенной активацией МНК больных и соответственно с более высокой стимулированной продукцией одного из основных провоспалительных медиаторов иммунной системы как TNF- α .

У больных с 308А аллелью снижена продукция TNF- α , это является прогностически неблагоприятным фактором, т.к. связано с повышением уровня IgE, что характерно для атопических состояний [27].

Резюме

Исследовано распределение и ассоциация полиморфизмов G308/308А гена TNF- α у больных бронхиальной астмой, проанализировано влияние G308 и 308А аллелей на содержание TNF- α в образцах сывороток, *in vitro* в культурах МНК при спонтанной и стимулированной ФГА продукции.

В распределении G308/308А аллелей гена TNF- α (0,844/0,156) у жителей РА и по данным ALFRED среди населения таких европейских государств, как Франция (0,888/0,112) и Испания (0,869/0,131), прослеживается большее сходство, чем с азиатскими регионами (0,087/0,913) [16]. С бронхиальной астмой в Республике Адыгея ассоциирована преимущественно минорная 308А аллель гена TNF- α .

Корреляция экспрессии TNF- α с G308/308А полиморфизмами его гена прослеживается при стимулированной продукции. В общей группе больных с G308 аллелью и GG генотипом статистически значимо ($p<0,05$) повышена стимулированная продукция TNF- α . При наследственных формах БА выявленная закономерность подтверждается с более высокой степенью достоверности ($p<0,01$). Сывороточные концентрации TNF- α у доноров и больных БА не превышают физиологических значений, малоинформативны и не имеют диагностической значимости.

Выводы

1. Распределение G308/308А аллелей гена TNF- α в группах доноров и больных с наследственными и спорадическими формами бронхиальной астмы для жителей Республики Адыгея соответствуют мировым данным для европейских популяций.

2. Установлено разнонаправленное влияние G308/308A полиморфизмов гена TNF- α на уровни стимулированной *in vitro* ФГА продукции TNF- α МНК обследованных групп. У больных с бронхиальной астмой в отличие от доноров G308 аллель и GG генотип повышают, а 308A аллель, GA генотип понижают стимулированную продукцию TNF- α .

Примечания:

1. Славянская Т.А. Особенности активности цитокинов у больных хроническим бронхитом (ХБ) // Int. J. on Immunorehabilitation. 1999. № 12. С. 144.
2. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы / под ред. А.Г. Чучалина. М.: Атмосфера, 2007. 104 с.
3. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.hugenavigator.net/HuGENavigator>
4. An association between asthma and TNF-308G/A polymorphism: meta-analysis / T. Aoki [et al.] // J. Hum. Genet. 2006. No. 51. P. 677-685.
5. Tumor necrosis factor-alpha is a common genetic risk factor for asthma, juvenile rheumatoid arthritis, and systemic lupus erythematosus in a Mexican pediatric population / S. Jimnez-Morales [et al.] // Hum. Immunol. 2009. No. 70. P. 251-256.
6. TNF-alpha (-308G/A) and CD14 (-159T/C) polymorphisms in the bronchial responsiveness of Korean children with asthma / S.J. Hong [et al.] // J. Allergy Clin Immunol. 2007. No. 119. P. 398-404.
7. Associations of tumor necrosis factor G-308A with childhood asthma and wheezing / Y.F. Li [et al.] // Am J. Respir. Crit. Care Med. 2006. No. 173. P. 970-976.
8. Association of the TNF-alpha-308 (G->A) polymorphism with self-reported history of childhood asthma / E.C. Winchester [et al.] // Hum. Genet. 2000. No. 107. P. 591-596.
9. The specific features of TNF-alpha gene polymorphism in asthmatic patients and their relatives / I.I. Cherkashina [et al.] // Bolezn Legk. 2009. No. 8. P. 51-56.
10. Gene polymorphisms of tumor necrosis factor alpha-308 and interleukin-10-1082 among asthmatic Egyptian children / M. Zedan [et al.] // Allergy Asthma Proc. 2008. No. 29. P. 268-273.
11. Tumour necrosis factor G-308A polymorphism modifies the effect of home dampness on childhood asthma / C.H. Tsai [et al.] // Occup. Environ Med. 2011. No. 68. P. 771-776.
12. The -308G/A polymorphism in TNF- α gene

References:

1. Slavyanskaya T.A. The features of activity of cytokines of patients with the chronic bronchitis (ChB) // Int. J. on Immunorehabilitation. 1999. No. 12. P. 144.
2. Global strategy of treatment and prevention of bronchial asthma / ed. by A.G. Chuchalin. M.: Atmosphere, 2007. 104 pp.
3. [Electronic resource]. URL: <http://www.hugenavigator.net/HuGENavigator>
4. An association between asthma and TNF-308G/A polymorphism: meta-analysis / T. Aoki [et al.] // J. Hum. Genet. 2006. No. 51. P. 677-685.
5. Tumor necrosis factor-alpha is a common genetic risk factor for asthma, juvenile rheumatoid arthritis, and systemic lupus erythematosus in a Mexican pediatric population / S. Jimnez-Morales [et al.] // Hum. Immunol. 2009. No. 70. P. 251-256.
6. TNF-alpha (-308G/A) and CD14 (-159T/C) polymorphisms in the bronchial responsiveness of Korean children with asthma / S.J. Hong [et al.] // J. Allergy Clin Immunol. 2007. No. 119. P. 398-404.
7. Associations of tumor necrosis factor G-308A with childhood asthma and wheezing / Y.F. Li [et al.] // Am J. Respir. Crit. Care Med. 2006. No. 173. P. 970-976.
8. Association of the TNF-alpha-308 (G->A) polymorphism with self-reported history of childhood asthma / E.C. Winchester [et al.] // Hum. Genet. 2000. No. 107. P. 591-596.
9. The specific features of TNF-alpha gene polymorphism in asthmatic patients and their relatives / I.I. Cherkashina [et al.] // Bolezn Legk. 2009. No. 8. P. 51-56.
10. Gene polymorphisms of tumor necrosis factor alpha-308 and interleukin-10-1082 among asthmatic Egyptian children / M. Zedan [et al.] // Allergy Asthma Proc. 2008. No. 29. P. 268-273.
11. Tumour necrosis factor G-308A polymorphism modifies the effect of home dampness on childhood asthma / C.H. Tsai [et al.] // Occup. Environ Med. 2011. No. 68. P. 771-776.
12. The -308G/A polymorphism in TNF- α gene

-
- is associated with asthma risk: an update by meta-analysis / Y. Zhang [et al.] // *J. Clin. Immunol.* 2011. No. 31. P. 2174-2185.
13. Ambient ozone modifies the effect of tumor necrosis factor G-308A on bronchitic symptoms among children with asthma / Y.L. Lee [et al.] // *Allergy.* 2009. No. 64. P. 1342-1348.
14. Polymorphisms in the IL-4, IL-4 receptor alpha chain, TNF-alpha, and lymphotoxin-alpha genes and risk of asthma in Hong Kong Chinese adults / J.C. Mak [et al.] // *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2007. No. 2. P. 114-122.
15. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.Lytech.ru/>
16. Дударева Н.И. Содержание альфа-фактора некроза опухоли в сыворотки крови у пациентов с неконтролируемой бронхиальной астмой // *Клиническая медицина.* 2012. № 7. С. 1-6.
17. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.ALFRED/>
18. Integration of the Thiol Redox Status with Cytokine Response to Physical Training in Professional Basketball Players / A. Zembron-Lacny [et al.] // *Physiological research.* 2010. No. 59. P. 239-245.
19. Тугуз А.Р. Динамика содержания TNF- α , IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8 в раннем послеоперационном периоде у больных раком желудка // *Иммунология.* 2002. № 1. С. 59-61.
20. Иммунный статус и функциональное состояние лимфоцитов при различных клинических вариантах задержки физического развития детей и подростков как результат иммуоэндокринной взаимосвязи / Т.В. Саприна [и др.] // *Бюллетень сибирской медицины.* 2004. № 2. С. 13-21.
21. Изучение влияния препаратов класса эрбисол на продукцию цитокинов мононуклеарами периферической крови здоровых доноров и онкологических больных / Г.Н. Дранник [и др.] // *Вісник фармакології та фармації.* 2006. № 7. С. 1-10.
22. Эффективность иммуномодулятора «ДЕРИНАТ» для профилактики и лечения сепсиса у тяжелобольных / Н.М. Калинина [и др.] // *Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях.* 2008. № 3. С. 28-33.
23. Соотношение некоторых провоспалительных и противовоспалительных цитокинов при аутоиммунных заболеваниях / Л.Н. Бубнова [и др.] // *Медицинская иммунология.* 2001. Т. 3. С. 177.
- is associated with asthma risk: an update by meta-analysis / Y. Zhang [et al.] // *J. Clin. Immunol.* 2011. No. 31. P. 2174-2185.
13. Ambient ozone modifies the effect of tumor necrosis factor G-308A on bronchitic symptoms among children with asthma / Y.L. Lee [et al.] // *Allergy.* 2009. No. 64. P. 1342-1348.
14. Polymorphisms in the IL-4, IL-4 receptor alpha chain, TNF-alpha, and lymphotoxin-alpha genes and risk of asthma in Hong Kong Chinese adults / J.C. Mak [et al.] // *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2007. No. 2. P. 114-122.
15. [Electronic resource]. URL: <http://www.Lytech.ru/>
16. Dudareva N.I. The content of alpha-factor of tumor necrosis in blood serum of patients with uncontrollable bronchial asthma // *Clinical medicine.* 2012. No. 7. P. 1-6.
17. [Electronic resource]. URL: <http://www.ALFRED/>
18. Integration of the Thiol Redox Status with Cytokine Response to Physical Training in Professional Basketball Players / A. Zembron-Lacny [et al.] // *Physiological research.* 2010. No. 59. P. 239-245.
19. Tuguz A.R. Dynamics of the content of TNF- α , IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8 in the early postoperative period of patients with stomach cancer // *Immunology.* 2002. No. 1. P. 59-61.
20. The immune status and functional condition of lymphocytes at various clinical variants of physical retardation development of children and teenagers as a result of immunoendocrine interrelation / T.V. Saprina [et al.] // *The Bulletin of the Siberian medicine.* 2004. No. 2. P. 13-21.
21. The study of influence of medicines of Erbisol class on the production of cytokines by mononuclears of the peripheral blood of healthy donors and oncological patients / G. N. Drannik [et al.] // *The Bulletin of Pharmacology and pharmacy.* 2006. No. 7. P. 1-10.
22. Efficiency of a «DERINAT» immunomodulator for sepsis prevention and treatment of seriously ill patients / N.M. Kalinina [et al.] // *Medicobiological, social and psychological problems of safety in emergency situations.* 2008. No. 3. P. 28-33.
23. Ratio of some pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines at autoimmune diseases / L.N. Bubnova [et al.] // *Medical immunology.* 2001. Vol. 3. P. 177.

-
24. Effects of estradiol and progesterone on the proinflammatory cytokine production by mononuclear cells from patients with chronic hepatitis C / Ying Yuan [et al.] // *World J. Gastroenterol.* 2008. No. 14. P. 2200-2207.
25. Маркелова Т.И. Особенности цитокинового профиля, фармакотерапии и показателей качества жизни у детей дошкольного возраста с бронхиальной астмой: автореф. ... дис. канд. мед. наук. Самара, 2011. 25 с.
26. Афанасьева И.А. Сдвиги в популяционном составе и функциональной активности лимфоцитов, продукции цитокинов и иммуноглобулинов у спортсменов при синдроме перетренированности // *Вестник спортивной науки.* 2011. № 3. С. 18-24.
27. Уровень сывороточного фактора некроза опухоли α при различных дерматозах / А.А. Кубанова [и др.] // *Иммунология.* 1998. № 2. С. 47-49.
24. Effects of estradiol and progesterone on the proinflammatory cytokine production by mononuclear cells from patients with chronic hepatitis C / Ying Yuan [et al.] // *World J. Gastroenterol.* 2008. No. 14. P. 2200-2207.
25. Markelova T.I. Features of cytokine profile, pharmacotherapy and indicators of life quality of children of preschool age with bronchial asthma: Diss. Abstract for the Cand. of Medicine degree. Samara, 2011. 25 pp.
26. Afanasyeva I.A. Changes in population structure and functional activity of lymphocytes, the production of cytokines and immunoglobulins by athletes having a syndrome of overtraining // *Bulletin of sports science.* 2011. No. 3. P.18-24.
27. The level of a serum factor of necrosis of an α tumor at various dermatoses / A.A. Kubanova [etc.] // *Immunology.* 1998 . No. 2. P. 47-49.