

- munity: potential role for progression of atherosclerotic lesions. *Circulation*. 2003; 107(4):604-611.
5. Mili F., Flanders W.D., Boring J.R., et al. The associations of race, cigarette smoking, and smoking cessation to measures of the immune system in middle-aged men. *Clin Immunol Immunopathol*. 1991; 59:187-200.
 6. Stampfli MR, Anderson GP. How cigarette smoke skews immune responses to promote infection, lung disease and cancer. *Nat Rev Immunol*. 2009; 9:377-384.
 7. Oloris S.C.S., Frazer-Abel A.A., Jubala C.M., et al. Nicotine-mediated signals modulate cell death and survival of T lymphocytes. *Toxicol Appl Pharm*. 2010; 242(3): 299-309. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.10.020>

ПОЛИМОРФНЫЕ МАРКЕРЫ ГЕНА TLR2 ПРИ СКРЫТОМ СИФИЛИСЕ И СЕРОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Л. Ю. Барычева, М. М. Минасян, И. А. Охонько

ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Ставрополь, Россия

Адрес для коррес
355017, Ставрополь, ул. Мира, д. 310),
E-mail: stgmu.ru

POLYMORPHIC GENE TLR2 MARKERS IN LATENT SYPHILIS AND SERORESISTANCE

L. Yu. Barycheva, M. M. Minasyan, I. A. Ohon'ko

FGBO VO «Stavropol state medical university» Health Ministry of Russian Federation, Stavropol, Russia (355017, Stavropol, Mira street, 310)

Важным направлением современной медицины является поиск информативных биомаркеров персистирующих инфекций, которые могут использоваться для оценки потенциального риска развития заболевания и реализации его клинических фенотипов [1, 2]. Исследования последних лет показали, что полиморфизмы генов рецепторов врожденного иммунитета (TLR) ассоциированы с развитием грамположительных инфекций, туберкулеза [3], инфекционного эндокардита [5], сепсиса [4]. Установлено, что ключевое значение среди полиморфизмов, влияющих на функции TLR имеют однонуклеотидные мутации (SNP) в областях, ответственных за внешний (LRR) и внутренний (TIR) домены рецепторов, трансформация структуры и функции которых обуславливает дефекты проведения сигнала внутрь клетки [1, 2]. Известно, что нарушение экспрессии и функции TLR проявляется в снижении продукции цитокинов, определяющих интенсивность реакций врожденного и адаптивного иммунитета и способствует развитию персистирующей инфекции [1, 2].

Цель исследования. Изучение генного полиморфизма рецептора врожденного иммунитета – TLR2 Arg753Gln (rs5743708) у пациентов с серорезистентным, ранним и поздним скрытым сифилисом.

Материал и методы. Иммуногенетические исследования выполнены у 100 человек с сифилитической

инфекцией, находившихся под наблюдением в Краевом клиническом кожно-венерологическом диспансере. В группу I вошли 35 пациентов с ранним скрытым сифилисом, в группу II – 24 пациента с поздним скрытым сифилисом, в группу III – 41 пациент с серорезистентным сифилисом. Контрольную группу составили 50 здоровых жителей русской популяции Южного региона России, сопоставимых по возрасту и полу.

Типирование SNPs TLR2 TLR6 осуществляли методом ПДРФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) с выполнением амплификации интересующего участка и последующей обработкой эндонуклеазой рестрикции. В работе использовали диагностические наборы для выявления полиморфизмов в геноме человека методом полимеразной цепной реакции «SNP-экспресс» ООО НПФ «Литех», г. Москва. Амплификацию проводили с помощью многоканального амплификатора «Терцик» (ООО «ДНК-Технология», Россия). Разделение продуктов амплификации выполняли в 3% агарозном геле методом горизонтального электрофореза с использованием комплекта оборудования «BioRad Laboratories», США.

Иммунофенотипирование лимфоцитов осуществляли методом проточной цитометрии с использованием одно- и двухпараметрических реагентов линии IQTest: CD19-PC5, HLA-DR-PC5, CD3-FITC/CD4-PE,

CD8-PC5, CD3-FITC/CD (16+56)-PE, CD45-ECD фирмы Beckman Coulter, США на лазерном проточном цитометре Cytomicx FC 500 фирмы Beckman Coulter, США. Общее количество лейкоцитов, относительное и абсолютное содержание субпопуляций лимфоцитов определяли с использованием одноплатформенной технологии с помощью гетерогенного гейтирования по панлейкоцитарному маркеру CD45⁺ и показателям светорассеяния с применением калибровочных частиц Flow-Count Fluorospheres фирмы Beckman Coulter, США.

Для статистического анализа данных использовали пакет программ «Attestat 10.5.1.», «Калькулятор для расчета статистики» (<http://www.gen-expert.ru>). Достоверность различий в частотах аллельных вариантов и генотипов оценивалась с помощью критерия χ^2 Пирсона. Степень риска развития событий оценивали по величине отношения шансов (OR) с расчетом доверительного интервала CI.

Результаты и обсуждение. При оценке распределения аллелей полиморфизма 753 Arg/Gln (rs5743708) отмечено преимущественное нахождение дикого аллеля Arg/ в гомозиготном состоянии, как у пациентов с сифилисом (71%), так и у здоровых доноров (96%). При этом установлено существенное увеличение частоты встречаемости редкого аллеля Gln/753 у пациентов с сифилисом 78/200 (0,39) (OR=20,7, CI:6,33-67,6).

Следует отметить, что гомозиготное состояние минорного аллеля Gln/753 в группе больных сифилисом встречалось в 10 раз чаще, чем у здоровых доноров (0,21 и 0,02, $p < 0,01$).

При расчете показателей отношения шансов наблюдалось существенное увеличение риска развития сифилиса у носителей гомозиготного Gln/Gln (OR=13,0, CI:1,70-90,0) и гетерозиготного Arg/Gln (OR=4,26, CI:0,52-35,1) генотипов.

При анализе отдельных клинических форм установлено достоверное уменьшение частоты мажорного аллеля (Arg/753) и увеличение распространенности мутантного аллеля (Gln/753), как при серорезистентном, так и при скрытых формах сифилиса. Риск развития заболевания у резидентов Gln/753 при раннем скрытом сифилисе составил 8,1 (CI: 2,23-29,4), при позднем скрытом – 7,46 (CI: 1,92-23,0), при серорезистентном – увеличивался в десятки раз – 65,8 (CI: 19,1-227,1)

У больных всех групп выявлено уменьшение частоты встречаемости гомозиготного генотипа по доминантному аллелю (Arg/Arg). При этом только в группе с серорезистентным сифилисом определялось достоверное увеличение распространенности гомозиготного варианта генотипа по редкому аллелю (Gln/Gln).

Относительный риск развития заболевания у резидентов гомозиготного генотипа полиморфизма

TLR2 –753 Arg/Arg (rs5743708) был крайне низким. У носителей гетерозиготного генотипа Arg/Gln при раннем скрытом сифилисе составил 2,97 (CI: 0,26-34,1), при позднем скрытом – 2,13 (95% CI: 0,13-35,6), при серорезистентном – 6,81 (95% CI: 0,76-60,8). Наиболее высокой оказалась вероятность развития сифилитического процесса у гомозигот по мутантному аллелю Gln/Gln. При раннем скрытом сифилисе показатель отношения шансов равнялся 10,2 (95% CI: 1,16-88,5), при позднем скрытом – OR=9,8 (95% CI: 1,03-93,2), при серорезистентном – OR=17,9 (95% CI: 1,21-146,3).

Учитывая значительную роль рецепторов врожденного иммунитета TLR2 в индукции иммунного ответа, в работе проведено сопоставление показателей иммунофенотипирования Т-лимфоцитов, Т-хелперов, Т-цитотоксических лимфоцитов и натуральных киллеров у пациентов с сифилисом в зависимости от вариантов генотипов TLR2 (*Arg753Gln*). Не выявлено достоверных отличий содержания общих Т-лимфоцитов и Т-цитотоксических лимфоцитов у пациентов с различными генотипами *TLR2 –753 Arg/Gln (rs5743708)* в отличие от здоровых доноров. Установлено снижение абсолютных показателей Т-хелперов – 0,80 (0,67-0,92), $p < 0,05$ и NK-клеток – 0,21 (0,17-0,25), $p < 0,05$ у пациентов с сифилисом, имеющих гомозиготный генотип *TLR2 –753 Gln/Gln (rs5743708)* по сравнению со здоровыми респондентами.

Известно, что TLR2 распознает большое число микробных паттернов, в том числе пептидогликаны, липотейхоевые кислоты, липопотеины, липопептиды, гликоинозитол-фосфолипиды, гликолипиды, атипичные липополисахариды, фенолрастворимый модулин. Замена дикого аллеля *G (rs5743708)* на мутантный *A* приводит к нарушениям при гетеродимеризации с TLR6 с последующим уменьшением активности внутриклеточных сигнальных путей [6]. Минорный аллель *A* ассоциирован со снижением активации ядерного фактора NF- κ B и уменьшением числа иммунокомпетентных клеток и повышенной чувствительностью к бактериальным патогенам [6]. В случае SNP 753 *Gln/Gln* дефицит продукции IL-12 и IL-2 может способствовать снижению дифференцировки и уменьшению количества Th1 и NK-клеток [7, 8]. Полученные нами результаты согласуются с литературными данными о том, что нарушение функции TLR2 наблюдается преимущественно у обладателей гомозиготного варианта полиморфизма *TLR2 A2258A* [7, 9].

Заключение. Таким образом, можно предполагать, что носительство минорного аллеля Gln/753, а также гетерозиготного (Arg/Gln) и гомозиготного (Gln/Gln) по редкому аллелю генотипов обладают предиктивными свойствами в отношении развития сифилитической инфекции. Наиболее высокая степень ассоциации

генотипов 753 Arg/Gln и 753 Gln/Gln определяется с развитием серорезистентного сифилиса. Низкие показатели содержания Т-хелперов и натуральных киллеров у больных скрытым сифилисом и пациентов с серорезистентностью ассоциированы с генотипами *TLR2-753 Gln/Gln*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Correlates of tuberculosis risk: predictive biomarkers for progression to active tuberculosis / Petruccioli E [et al] // *European Respiratory Journal*. – 2016. – Vol.48. – P. 1751-1763.
2. Medvedev A.E. Toll-Like Receptor Polymorphisms, Inflammatory and Infectious Diseases, Allergies, and Cancer // *A.E. Medvedev* // *J. Interferon Cytokine Res.* – 2013. – Vol.33. – №9. – P. 467–484.
3. Role of Toll-Like Receptors in Tuberculosis Infection / O.O. Biyikli [et al] // *Jundishapur J. Microbiol.* – 2016. – Vol. 9. – №10: e20224. Published: Oct. 2016. ULR: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5136443/>
4. The presence of functionally relevant toll-like receptor polymorphisms does not significantly correlate with development or outcome of sepsis / P. Ahmad-Nejad [et al] // *Genet. Test Mol. Biomarkers.* – 2011. – Vol.15. – P. 645–651.
5. Toll-like receptor 2 R753Q polymorphisms are associated with an increased risk of infective endocarditis / J. Bustamante [et al] // *Rev. Esp. Cardiol.* – 2011. – Vol. 64. – №11. – P.1056-1059.
6. Misch, E. A. Toll-like receptor polymorphisms and susceptibility to human disease / E. A. Misch, T. R. Hawn // *Clinical Science.* – 2008. – Vol. 114. – P. 347-360.
7. Zhang, C. Y. Clinical analysis of serofast patients among syphilitic patients / C. Y. Zhang // *Lab. Med. Clin.* – 2013. – Vol. 10, № 7. – P. 887-88
8. Christodoulides A. Spirochetal Lipoproteins and Immune Evasion / A. Christodoulides, A. Boyadjian, T. Kelesidis // *Front. Immunol.* – 2017. – Vol. 8. – Art. № 364. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00364
9. Different patterns of Toll-like receptor 2 polymorphisms in populations of various ethnic and geographic origins / M. Ioana, B. Ferwerda, Plantinga T. S. [et al.] // *Infect. Immun.* – 2012. – Vol. 80, № 5. – P. 1917-1922.

КЛИНИЧЕСКИЕ ФЕНОТИПЫ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ВЗРОСЛЫХ ПАЦИЕНТОВ СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ

Барычева Л.Ю., Шушанова Л.В., Минасян М.М., Л.В. Душина

ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Ставрополь, Россия (355017, Ставрополь, ул. Мира, д. 310)

E-mail: stgmu.ru

CLINICAL PHENOTYPES OF BRONCHIAL ASTHMA IN ADULT PATIENTS IN THE STAVROPOL REGION

Shushanova L.V., Barycheva L. Yu., M. M. Minasyan, L. V. Dushina

FGBO VO «Stavropol state medical university» Health Ministry of Russian Federation, Stavropol, Russia

Адрес для корреспонденции:
355017, Stavropol, Mira street, 310

E-mail: stgmu.ru

Бронхиальная астма (БА) – одно из наиболее распространенных бронхолегочных заболеваний, существенно снижающих качество жизни пациентов и представляющих серьезную социально-экономическую проблему [1, 2, 3]. По современным представлениям БА является гетерогенным заболеванием с большим количеством клинико-патогенетических вариантов, которое развивается при сложном взаимодействии множества генов, факторов внешней среды (триггеров) и ген-средовых

взаимодействий [4]. Клиническая целесообразность выделения фенотипов БА обусловлена широким спектром этиологических факторов заболевания и факторов риска, различным течением патологического процесса и темпами его прогрессирования, подходами к лечению и ответом на терапию и, в конечном итоге различным прогнозом [4, 5].

Цель исследования. Изучить клинические и лабораторные особенности аллергического и неаллергического