

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ РЕЦЕПТОРОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА У ВЗРОСЛЫХ ПАЦИЕНТОВ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Л.Ю. Барычева, Л.В. Шушанова, Е.С. Кузьмина, Ю.Н. Медведенко

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

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

GENETIC POLYMORPHISMS OF INNATE IMMUNITY IN ADULT PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA

L. Yu. Barycheva, L. V. Shushanova A. V., E. S. Kuzmina, Ju. N. Medvedenko

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

Бронхиальная астма (БА) – типичное мультифакторное заболевание, которое развивается при сложном взаимодействии множества генов, факторов внешней среды (триггеров) и ген-средовых взаимодействий [1]. Перспективными для изучения при БА являются рецепторы врожденного иммунитета (TLRs), контролирующие иммунное распознавание, иммунную регуляцию, синтез медиаторов воспаления, и, как следствие, процессы гиперреактивности бронхиального дерева и ремоделирования дыхательных путей [1, 2]. Известно, что стимуляция TLRs инициирует секрецию не только провоспалительных цитокинов, но и медиаторов аллергии, к которым относят тимусный стромальный лимфопоэтин (tymic stromal lymphopoietin – TSLP), а также интерлейкины (IL25, IL33), усиливающие Th2-опосредованный ответ [1, 2, 3]. Ранее было показано, что TLRs влияют на поляризацию и развитие Т-лимфоцитов, участвуя в индукции и хронизации астмы и атопии [3].

Цель исследования. Определить клинико-патогенетическое значение полиморфных маркеров рецепторов врожденного иммунитета TLR6 в развитии аллергического и неаллергического фенотипов бронхиальной астмы.

Материал и методы. Представленные в настоящей работе данные, получены при проспективном обследовании и диспансерном наблюдении 100 больных русской национальности Ставропольского края с бронхиальной астмой, находившихся на амбулаторном лечении в ГБУЗ СК «Городская поликлиника №1» г. Ставрополя за период 2016-2017 гг. Аллергическая астма диагностирована у 65 больных, неаллергическая – у 35. Клинико-инструментальные и лабораторные методы исследования включали сбор аллергоанамнеза, клинический осмотр пациентов, оценку тяжести течения БА, исследование функции внешнего дыхания с при-

менением компьютерной спирометрии, пикфлоуметрии (ОФВ1, ПСВ, суточный разброс ПСВ), Rh-графию легких и придаточных пазух носа. При аллергологическом обследовании осуществляли постановку кожных проб с использованием 3-5% водных экстрактов аллергенов (Ставропольский НИИ вакцин и сывороток), определение общего и специфических IgE в сыворотке крови методом твердофазного хемилюминесцентного анализа на автоматическом анализаторе «SIEMENS IMMULITE 2000 XPi» (Siemens Healthcare Diagnostics Inc, США) с помощью наборов реагентов Total IgE (Siemens, США) и панелей аллергенов: пыльцевых, бытовых, эпителиальных и плесневых аллергенов (Siemens Healthcare Diagnostics Inc, США).

Включенные в исследование больные находились в возрасте от 20 до 75 лет, с медианой в группе аллергической БА – 34 [23,5; 45] года, в группе неаллергической БА – 61 [47; 66] год. В контрольную группу вошли 50 практически здоровых людей русской национальности Южного региона России в возрасте от 18 до 60 лет с медианой 36 [24; 43,5] лет.

Типирование SNPs TLR6 осуществляли методом ПДРФ (полиморфизма длин рестриционных 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».

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.

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 оценивали с помощью критерия с помощью критерия χ^2 с поправкой Йетса. Степень риска развития событий оценивали по величине отношения шансов (OR) с расчетом доверительного интервала CI.

Результаты и обсуждение. При изучении генного полиморфизма *TLR6 C745T (Ser249Pro)* у пациентов с бронхиальной астмой чаще, чем у здоровых респондентов выявлялся распространенный аллель *745C* (46% и 30%, $p < 0,05$), реже – мутантный *745T* (54% и 70%, $p < 0,05$). Относительный риск развития заболевания у резидентов доминирующего аллеля составил 1,99 (95% CI: 1,19-3,31).

При анализе генотипов отмечалось достоверное уменьшение по сравнению со здоровыми индивидуумами гомозиготного генотипа по минорному аллелю *T745T* (27% и 52%, $p < 0,05$) с уменьшением вероятности развития БА у его обладателей в кодоминантной модели (OR=0,34; 95% CI: 0,17-0,69).

Низкий риск развития БА у гомозигот по редкому аллелю *T745T* подтвержден в рецессивной модели (OR=0,34, CI: 0,17-0,69), $p < 0,001$.

При анализе клинических фенотипов БА ассоциация полиморфных маркеров гена *TLR6* установлена лишь для пациентов с аллергической астмой.

У больных с аллергической БА чаще, чем у пациентов с неаллергической БА (56,2% и 28,6%, $p < 0,001$) и у здоровых резидентов (56,2% и 30%, $p < 0,001$) определялось носительство доминирующего в популяции аллеля *745C*, реже минорного – *745T*. Вероятность развития аллергической БА у обладателей мажорного аллеля возрастала практически в 3 раза, относительный риск развития заболевания составил 2,99 (95% CI: 1,77-5,18).

Следует отметить, что у пациентов с аллергической БА достоверно чаще, чем у пациентов с неаллергической БА (26,1% и 5,7%, $p < 0,05$) определялся гомозиготный генотип по распространенному в популяции аллелю *C745C*. При неаллергической БА, напротив, преобладающим был гомозиготный вариант по редкому аллелю *T745T* (51,4% и 15,4, $p < 0,001$).

У обладателей гетерозиготного генотипа *C745T* отмечено увеличение риска развития аллергической БА (OR=2,50; 95% CI: 1,17-5,35), у носителей гомозиготного генотипа *T745T* – уменьшение вероятности верификации аллергической БА, OR=0,16 (95% CI: 0,07-0,40).

Наличие редкого аллеля *745T* снижало риск развития аллергической БА для гомозигот *T745T*, что подтверждалось в рецессивной модели, OR=0,17 (95% CI: 0,07-0,40). Полученные в работе результаты согла-

суются с данными зарубежных исследователей о том, что полиморфные маркеры *TLR6* существенно связаны с фенотипами астмы [4, 5].

Известно, что ген *TLR6* локализован на хромосоме 4 (4p13), кодирует рецептор из 796 аминокислот, образующий гетеродимер с TLR2 и способствующий активации фактора транскрипции (NF- κ B) через адаптерные белки MyD88 и TRAF6 после взаимодействия с PAMP грамположительных бактерий и грибов [6]. В результате синтезируются провоспалительные интерлейкины Th1–профиля (IL1, IL2, IL6, TNF α). При миссенс мутации гена *TLR6* (5743810) *C745T* происходит замена серина на пролин (Ser \rightarrow Pro) в позиции 249 аминокислотной последовательности рецептора, что изменяет сигнальную активность NF- κ B в ответ на стимуляцию липопептидом [7]. Отдельные клинические исследования показали, что нуклеотидные полиморфизмы *TLR6* играют определенную роль в защите от астмы [8]. Кроме того, было установлено, что лимфоидные клетки у носителей защитного варианта *TLR6* демонстрируют повышенную экспрессию цитокинов Th1 и снижение Th2-ассоциированной продукции IL4 после специфической стимуляции. Ранее было установлено, что SNP *TL6 -249 Ser/Pro* (rs5743810) потенцирует высвобождение IF γ .

Нами выявлена ассоциация показателей общего IgE с генотипом *TLR6 C745T*. Наиболее высокие уровни log IgE определялись у гетерозигот *C745T* – 2,49 [2,29; 2,87]. Взаимосвязи с другими полиморфными маркерами не установлено. В исследованиях последних лет подтверждена связь генных полиморфизмов *TLR6 C745T* с атопией. При этом вероятность реализации аллергической БА у обладателей аллеля *745T* зависела от уровня взаимодействия с эндотоксином в детстве [9]. Увеличение общего IgE у гетерозигот, во многом можно объяснить преобладанием генотипа *C745T* среди пациентов с аллергической астмой (58,5%), что было продемонстрировано в настоящем исследовании.

Заключение. Можно предполагать, что носительство полиморфного маркера *TLR6 745C* является генетическим фактором риска развития бронхиальной астмы, тогда как наличие гомозиготного генотипа по минорному аллелю *T745T* уменьшает риск развития БА и обладает протективными свойствами.

Ассоциация полиморфных маркеров гена *TLR6* подтверждена только для аллергической бронхиальной астмы. Установлено увеличение риска развития аллергической БА у респондентов распространенного аллеля *TLR6 745C* и гетерозиготного генотипа *C745T*, уменьшение – у носителей редкого аллеля *745T* и гомозиготного по редкому аллелю генотипа *T745T*. Выявлена ассоциация показателей общего IgE с генотипом *TLR6 C745T*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Alexis N. E. Biomarker sampling of the airways in asthma. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2014;20(1):46-52. <https://doi:10.1097/MCP.000000000000010>
2. Maisonneuve C., Bertholet S., Philpott D. J., De Gregorio E. Unleashing the potential of NOD- and Toll-like agonists as vaccine adjuvants. *Proc. Sci.* 2014;111(34):12294-12299. <https://doi:10.1073/pnas.1400478111>
3. Sathish V., Thompson M. A., Sinha S., Sieck G. C. Prakash Y. S., Pabelick C. M. Inflammation, caveolae and CD38-mediated calcium regulation in human airway smooth muscle // *Biochim. Biophys Acta.* 2014;1843(2): 346-351. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2013.11.011>
4. Koponen P., Vuononvirta J., Nuolivirta K., Helminen M., He Q., Korppi M. The association of genetic variants in toll-like receptor 2 subfamily with allergy and asthma after hospitalization for bronchiolitis in infancy. *Pediatric Infect. Dis. J.* 2014;33:463–466 <https://doi:10.1097/INF.0000000000000253>.
5. Kormann M. S, Depner M., Hartl D., Klopp N., Illig T., Adamski J. Vogelberg C., Weiland S. K., von Mutius E., Kabesch M. Toll-like receptor heterodimer variants protect from childhood asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008;122:86–92. <https://doi:10.1016/j.jaci.2008.04.039>
6. Tabas, I., Glass C. K. Anti-inflammatory therapy in chronic disease: challenges and opportunities. *Science* (80). 2013; 339:166-172. <https://doi:10.1126/science.1230720>
7. Lau M.Y., Dharmage S.C., Burgess J.A., Win A.K., Lowe A.J., Lodge C., Perret J., Hui J., Thomas P.S., Morrison S., Giles G.G., Hopper J., Abramson M.J., Walters E.H., Matheson M.C.. The interaction between farming/rural environment and TLR2, TLR4, TLR6 and CD14 genetic polymorphisms in relation to early- and late-onset asthma. *Scientific Reports* Published. *Scientific Reports.* 2017; 7: 1-9. <https://doi:10.1038/srep43681>.
8. Bortolatto J., Borducchi E., Rodriguez D., Keller A.C., Faquim-Mauro E., Bortoluci K.R., Mucida D., Gomes E., Christ A., Schnyder-Candrian S., Schnyder B., Ryffel B., Russo M.. Toll-like receptor 4 agonists adsorbed to aluminium hydroxide adjuvant attenuate ovalbumin-specific allergic airway disease: role of MyD88 adaptor molecule and interleukin-12/interferon-gamma axis. *Clin Exp Allergy.* 2008; 38: 1668–1679. <https://doi:10.1111/j.1365-2222.2008.03036.x>. Epub 2008 Jun 25.
9. Texereau J., Chiche J.D., Taylor W., Choukroun G., Comba B., Mira J.P. The Importance of Toll-Like Receptor 2 Polymorphisms in Severe Infections. *Clinical Infectious Diseases.* 2005; 41: 408–415.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЧАСТОТА ПОБОЧНЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ ПОДКОЖНОЙ И СУБЛИНГВАЛЬНОЙ АЛЛЕРГЕНСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУНОТЕРАПИИ.

А.Е.Баскакова, Н.В.Баскакова

Городской пульмонологический центр областного государственного бюджетного учреждения здравоохранения Костромского округа №1 г. Кострома

Адрес для корреспонденции:
156005 г. Кострома ул. Ивана Сусанина д. 54/17 кв.1
E-mail: baskakova-43@mail.ru

THE COMPARISON OF FREQUENCY SIDE EFFECTS REACTIONS AT SUBLINGUAL AND SUBCUTANEOUS ALLERGEN-SPECIFIC IMMUNOTHERAPY.

A.E.Baskakova, N.V.Baskakova

Kostroma Pulmonary centre regional state budgetary hospital Kostroma district №1.

Ключевые слова: подкожная аллергенспецифическая иммунотерапия (ПКИТ), сублингвальная аллергенспецифическая иммунотерапия (СЛИТ), частота побочных реакций, аллергия к клещу домашней пыли, аллергия к пыльцевым аллергенам.

Цель. Оценить частоту побочных реакций при ПКИТ и СЛИТ.

Материалы и методы. Проведена оценка частоты побочных реакций при ПКИТ 584 пациентов (из них: 252 человека с бронхиальной астмой, 206 с поллинозами, 126 с круглогодичным аллергическим ринитом), при СЛИТ у 102 пациентов (из них: 51 человек с бронхиальной астмой, 46 с поллинозами и 5 с круглогодичным аллергическим ринитом).