

НЕКОТОРЫЕ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ И ИХ КЛИНИКО- ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ У ДЕТЕЙ

Супрун Е.Н.^{1,2}, Наговицына Е.Б.¹, Кудерова Н.И.¹, Супрун С.В.¹,
Лебедько О.А.¹

¹ Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства, Хабаровский филиал ФГБНУ
«Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Хабаровск, Россия

² ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет», г. Хабаровск, Россия

Резюме. Распространенность бронхиальной астмы демонстрирует неизменный рост во всем мире в течение последних лет. Несмотря на все достижения аллергологии, контроля над заболеванием, даже при исключении всех социальных факторов риска и влияния сопутствующих заболеваний, удается достигнуть только у двух третей больных, в связи с чем возникает необходимость изучения эндогенных факторов, модифицирующих патогенез заболевания. Toll-подобные рецепторы являются основными молекулами распознавания патогенных паттернов в иммунной системе человека, поскольку любая аллергия является ошибкой распознавания, то мутация генов распознающих молекул может иметь непосредственное и разнонаправленное влияние на характер течения воспаления и его клинические проявления при бронхиальной астме. Для выявления этого влияния обследовано 65 пациентов с БА, выявлялись мутации генов Toll-рецепторов: TLR2-Arg753Glu, TLR4-Asp299Gly, TLR4-Ghr399Ile, TLR9-T1237C, TLR9-A2848G, субпопуляции лимфоцитов CD3, CD19, CD4, CD8, CD16, показатели фагоцитоза, уровни IgA, IgM, IgG, IgE и IL-6, IL-7, IL-9, оценка степени тяжести бронхиальной астмы и уровня ее контроля согласно критериям клинических рекомендаций по бронхиальной астме Минздрав РФ 2019 года. Нами показаны характерные клинические проявления исследованных мутаций. Выявлено более легкое течение заболевания, лучший ответ на терапию и более полный контроль над ним при однонуклеотидных заменах в генах Toll-подобных рецепторов 4 и 9 (TLR4-Asp299Gly, TLR4-Ghr399Ile, TLR9-T1237C, TLR9-A2848G) и, напротив, более тяжелое течение и худший ответ на терапию при мутации TLR2 с заменой Arg753Glu. В исследуемых группах определены особенности показателей иммунитета, характерные для генотипов с более легким и контролируемым течением БА: более высокое абсолютное число Т-хелперов при разнонаправленных изменениях числа Т-киллеров, но при таких генотипах неизменно сохраняется более высокое соотношение CD4/CD8. Также для них выявлены более высокие уровни показателей фагоцитоза, в первую очередь характеризующих хемотаксис, и IL-7, IL-9. Исключение составляет мутация TLR9-A2848G, при которой больший контроль заболевания и лучший ответ на терапию сочетаются с отсутствием изменений в изученных лабораторных признаках. При этом выявлена особенность генотипа исследованных пациентов с

Адрес для переписки:

Супрун Евгений Николаевич
Научно-исследовательский институт охраны
материнства и детства
680022, Россия, г. Хабаровск, ул. Воронежская, 49.
Тел.: 8 (914) 772-76-85.
Факс: 8 (4212) 70-05-91.
E-mail: evg-suprun@yandex.ru

Address for correspondence:

Suprun Evgeniy N.
Research Institute of Maternity and Childhood Protection
680022, Russian Federation, Khabarovsk,
Voronezhskaya str., 49.
Phone: 7 (914) 772-76-85.
Fax: 7 (4212) 70-05-91.
E-mail: evg-suprun@yandex.ru

Образец цитирования:

Е.Н. Супрун, Е.Б. Наговицына, Н.И. Кудерова,
С.В. Супрун, О.А. Лебедько «Некоторые ассоциации
полиморфизмов генов Toll-подобных рецепторов
и их клинико-патогенетические проявления при
бронхиальной астме у детей» // Медицинская
иммунология, 2020. Т. 22, № 5. С. 915-924.
doi: 10.15789/1563-0625-SGO-2049
© Супрун Е.Н. и соавт., 2020

For citation:

E.N. Suprun, E.B. Nagovitsyna, N.I. Kuderova, S.V. Suprun,
O.A. Lebed'ko "Some groups of Toll-like receptor gene
polymorphisms and their clinical and pathogenetic
manifestations in children with bronchial asthma", *Medical
Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2020,
Vol. 22, no. 5, pp. 915-924.
doi: 10.15789/1563-0625-SGO-2049
DOI: 10.15789/1563-0625-SGO-2049

БА – сочетание мутаций Toll-подобных рецепторов 4 и 9. Это позволяет предположить наличие генетических паттернов, характеризующих группы пациентов с БА, различные по тяжести течения, ответу на терапию и степени контроля, что дает возможность персонализировать подходы к диагностике, профилактике и терапии заболевания.

Ключевые слова: Toll-подобные рецепторы, бронхиальная астма, дети, сигнальные молекулы, иммунный статус

SOME GROUPS OF TOLL-LIKE RECEPTOR GENE POLYMORPHISMS AND THEIR CLINICAL AND PATHOGENETIC MANIFESTATIONS IN CHILDREN WITH BRONCHIAL ASTHMA

Suprun E.N.^{a, b}, Nagovitsyna E.B.^a, Kuderova N.I.^a, Suprun S.V.^a,
Lebed'ko O.A.^a

^a Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch, Far Eastern Scientific Center for Physiology and Respiratory Pathology, Khabarovsk, Russian Federation

^b Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russian Federation

Abstract. The prevalence of bronchial asthma has shown its steady increase in the world in recent years. Despite all the achievements of Allergology, control of the disease can be achieved only in two-thirds of patients even if all social risk factors and the influence of concomitant diseases are excluded. Thus, it is necessary to study endogenous factors that modify the pathogenesis of the disease. Toll-like receptors are the main molecules for recognizing pathogenic patterns in the human immune system. Since any Allergy is a recognition error, mutation of the genes of the recognizing molecules can have a direct and multidirectional effect on the nature of the inflammation and its clinical manifestations in bronchial asthma (BA). To detect this effect, 65 patients with BA were examined, and mutations of Toll-like receptor genes were detected: TLR2-Arg753Glu, TLR4-Asp299Gly, TLR4-Ghr399Ile, TLR9-T1237C, TLR9-A2848G, lymphocyte subpopulations CD3, CD19, CD4, CD8, CD16, phagocytosis indicators, levels of IgA, IgM, IgG, IgE and IL-6, IL-7, IL-9. The assessment of the severity of asthma and its level of control were conducted according to clinical recommendations of the Ministry of health of the Russian Federation in 2019 criteria. We have shown characteristic clinical manifestations of the studied mutations. A lighter course of the disease, more complete control over it and a better response to therapy were found in single-nucleotide substitutions in the Toll-like receptor 4 and 9 (TLR4-Asp299Gly, TLR4-Ghr399Ile, TLR9-T1237C, TLR9-A2848G). On the contrary, a heavier course and a worse response to therapy were detected in the TLR2 mutation with Arg753Glu replacement. In the studied groups, the features of immunity indicators characteristic of genotypes with a lighter and more controlled course of BA were determined: a higher absolute number of T-helpers, with multidirectional changes in the number of T-killers, but with invariably preserved higher ratio of CD4/CD8 in such genotypes. Higher levels of phagocytosis indicators (primarily characterizing chemotaxis) and IL-7, IL-9 were also detected. The exception is the TLR9-A2848G mutation, in which greater disease control and better response to therapy are combined with no changes in the studied laboratory characteristics. At the same time, a specific feature of the genotype of the studied patients with BA was revealed – a combination of Toll-like receptors 4 and 9 mutations. This suggests the presence of genetic patterns that characterize groups of patients with BA that differ in severity, response to therapy, and degree of control, which makes it possible to personalize approaches to diagnosis, prevention, and therapy of the disease.

Keywords: Toll-like receptors, asthma, children, signaling molecules, immune status

Введение

В последние десятилетия отмечается рост распространенности бронхиальной астмы (БА), и к настоящему времени ее регистрация достигла 15% среди детской популяции населения Земли [15]. Россия в целом [9] и Хабаровский край в частности не составляют исключения из этой

тенденции, отмечен двукратный рост распространенности бронхиальной астмы среди детей Хабаровского края в период с 2005 по 2015 год (среди подростков с 12 до 24%, среди детей до 14 лет – с 11 до 18%) [6], при этом относительно более низкие официальные показатели распространенности заболевания в России (около 2% в России и 7-15% в индустриально развитых

странах) обусловлены методом учета по обращаемости, при исследованиях методом сплошного опроса (ISAAC) в различных регионах нашей страны астмоподобные симптомы выявляются у 4–15% детей, что соответствует показателям других индустриально развитых стран [3, 7]. Такое распространение бронхиальной астмы обусловлено, в первую очередь, изменением совокупного генотипа населения этих стран, вызванным кардинальной сменой образа жизни в последнем столетии, которое приводит к все более широкому распространению атопии вообще, и бронхиальной астмы в частности, в связи с чем оно практически не поддается коррекции. Исходя из этого, усилия медицинского сообщества направлены на повышение эффективности терапии бронхиальной астмы, а не на ее первичную профилактику. Тем не менее доля больных, у которых достигнут контроль бронхиальной астмы, не превышает 30%, полный контроль достигается лишь у 5% [15]. В России имеют место сходные соотношения [2]. Большую роль в неконтролируемом течении бронхиальной астмы играют приверженность пациентов базисной терапии, социальные факторы, в частности доступность лекарственных средств, образовательный уровень больных или их родителей, квалификации и доступность медицинского персонала, осуществляющего диспансерное наблюдение и контролирующего терапию, наличие и степень выраженности сопутствующих заболеваний. Однако даже при исключении этих факторов, когда базисная терапия осуществляется под непосредственным наблюдением специалиста согласно принятым схемам терапии, с бесплатным предоставлением препаратов и в группе больных бронхиальной астмой без значимой сопутствующей патологии полного контроля удается добиться лишь у 34% пациентов, хорошего — у 38 и 28% больных остается с неконтролируемым течением патологического процесса [19]. Можно предположить, что это обусловлено в том числе некоторыми эндогенными факторами, поиск которых становится особенно актуален.

Бронхиальная астма у детей — мультифакториальное заболевание, поэтому причины неконтролируемого течения весьма разнообразны, однако в ее основе всегда лежит атопическое воспаление. В свою очередь атопия является нарушением с полигенным наследованием, поэтому полиморфизмы системы генов, обуславливающих ее реализацию, представляют особый интерес, как базис различной реакции на провоцирующие и терапевтические воздействия в разных группах пациентов, страдающих БА [1, 4, 11]. Фенотипические проявления атопии зависят не от одной конкретной мутации, а от комплекса полимор-

физмов генов-предикторов. Поскольку в основе атопии вообще и БА в частности лежит нарушение распознавания типа антигена, то большой интерес для исследования представляют полиморфизмы генов, кодирующих белки распознавания (Toll-подобные рецепторы) [5, 22, 23, 24], еще более важно выделение конкретных генов предикторов, полиморфизм которых достоверно различается у пациентов с бронхиальной астмой разной степени тяжести и в группах контролируемого и неконтролируемого течения заболевания, а также их ассоциаций. Их обнаружение позволяет персонифицировать подход к первичной и вторичной профилактике бронхиальной астмы.

Целью работы является оценка полиморфизмов генов Toll-подобных рецепторов иммунной системы у детей с бронхиальной астмой и выявление их взаимосвязей с течением заболевания.

Материалы и методы

Обследовано 65 пациентов, проживающих в Приамурье, страдающих БА различной степени тяжести. Выявлялись следующие мутации с заменой нуклеотидов, кодирующих распознающие молекулы иммунной системы (Toll-подобные рецепторы): TLR2-Arg753Glu, TLR4-Asp299Gly, TLR4-Ghr399Ile, TLR9-T1237C, TLR9-A2848G. Определение полиморфизмов проводилось методом ПЦР с использованием для выделения ДНК и амплификации наборов НПФ Литех (Москва), учет продуктов амплификации проводился методом электрофореза в агарозном геле. Исследования лимфоидных популяций осуществляли на цитометре «FACSCalibur» Becton Dickinson. Панель моноклональных антител (BD) состояла из 7 параметров: CD3⁺/CD45⁺ (зрелые Т-лимфоциты), CD19⁺/CD45⁺ (зрелые В-лимфоциты), CD3⁺/CD4⁺/CD45⁺ (Т-хелперы/ индукторы), CD3⁺/CD8⁺/CD45⁺ (Т-киллеры/цитотоксические), CD3⁺/CD25⁺ (маркер лимфоцитарной активации), CD(16⁺56)/CD45⁺ (натуральные киллеры), CD3⁺/HLA-DR⁺ (активированные Т- и В-лимфоциты). Показатели активности нейтрофилов изучали в спонтанном и стимулированном тестах фагоцитарной активности с частицами латекса и в тестах восстановления НСТ в формазан («ФАН-тест», «НСТ-тест», «Реакомплекс», г. Чита). Для определения уровней IgA, IgM, IgG, IgE и IL-6, IL-7 и IL-9 в сыворотке крови применяли иммуноферментный метод с использованием тест-систем «Вектор-Бест» для IgA, IgM, IgG, IL-6, IL-7, IL-9 и «Хема-Медика» для IgE, определение проводилось посредством автоматического спектрофотометра Lazurite «Вектор-Бест». Оценка степени тяжести бронхиальной астмы и уровня ее контроля проводилась согласно критериям клинических рекомендаций Минздрава РФ

от 2019 года [8], в целях дальнейшей статистической обработки степень тяжести оценивалась в баллах: легкая интерметирующая астма – 1 балл, легкая персистирующая – 2 балла, персистирующая средней тяжести – 3 балла, персистирующая тяжелая астма – 4 балла. Оценка требуемой для обеспечения контроля дозы топического глюкокортикостероида проводилась по флутиказону с пересчетом иных препаратов по уровню биоэквивалентности. При статистическом анализе результатов исследования использовались стандартные методы вариантной статистики с применением пакета статистических программ: STATISTICA для Windows (версия 10.0).

Результаты

В ходе проведенных исследований нами выявлен ряд значимых клинико-патогенетических проявления мутаций паттерн-распознающих рецепторов.

Так, при сравнении пациентов, несущих мутацию TLR2-Arg753Glu и не имеющих оной, обнаружены следующие особенности (табл. 1).

Обладатели мутантного генотипа имеют более тяжелое течение бронхиальной астмы, требуют больших доз топических глюкокортикостероидов для поддержания контроля над заболеванием, для них характерно более высокое относительное содержание Т-киллеров и, соответственно, более низкое относительное содержание Т-хелперов, что подтверждается достоверной разницей в соотношении CD4/CD8, однако абсолютные показатели этих клеток не демонстрируют значимой разницы с группой нормального генотипа. В фагоцитарном звене иммунитета отмечается значимое снижение спонтанной фагоцитарной активности нейтрофилов в группе с мутантным генотипом, при отсутствии различий стимулированной фагоцитарной активности. Фагоцитарное число как спонтанное, так и стимулированное достоверно снижается на фоне данной мутации.

Наиболее значимыми из изученных в отношении течения бронхиальной астмы оказались мутации гена рецептора TLR4 (табл. 2). В первую очередь однонуклеотидная замена Asp299Gly, носители которой, страдающие бронхиальной астмой, демонстрируют целый ряд особенностей,

ТАБЛИЦА 1. КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ОДНОНУКЛЕОТИДНОЙ ЗАМЕНЫ TLR2-Arg753Glu

TABLE 1. CLINICAL AND PATHOGENETIC MANIFESTATIONS OF SINGLE-NUCLEOTIDE SUBSTITUTION TLR2-Arg753Glu

	Нормальный генотип Normal genotype	Мутантный генотип Mutant genotype	Достоверность (p) Accuracy (p)
Степень тяжести (в баллах) Severity (in points)	2,8	3,1	0,06
Доза ТГКС, требуемая для контроля заболевания, мкг TGC dose required for disease control, mcg	244,7	364,1	0,08
CD8, %	24,5	27,7	0,05
CD8, абсолютное число CD8, absolute number	647,7	728,3	0,3
CD4, %	36,8	33,08	0,09
CD4, абсолютное число CD4, absolute number	1057,2	835,5	0,3
CD4/CD8	1,6	1,25	0,05
ФАН спонтанный, % Spontaneous neutrophil phagocytic rate, %	89,4	83,6	0,05
ФАН стимулированный, % Triggered neutrophil phagocytic rate, %	92,2	93,0	0,7
ФЧ спонтанное, шт. Spontaneous phagocyte, number	6,7	4,5	0,008
ФЧ стимулированное, шт. Triggered phagocyte, number	7,8	6,0	0,04
IL-7, пг/мл IL-7, pg/ml	19,1	8,3	0,4
IL-9, пг/мл IL-9, pg/ml	3,0	1,2	0,3

ТАБЛИЦА 2. КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ЗАМЕН В ГЕНЕ TLR4-Asp299Gly И Ghr399Ile

TABLE 2. CLINICAL AND PATHOGENETIC MANIFESTATIONS OF SINGLE-NUCLEOTIDE SUBSTITUTION IN TLR4-Asp299Gly AND Ghr399Ile GENES

	Нормальный генотип Normal genotype	Мутантный генотип Mutant genotype	Достоверность (p) Accuracy (p)
Asp299Gly			
Степень тяжести (в баллах) Severity (in points)	3,0	2,6	0,02
Доза ТГКС, требуемая для контроля заболевания TGC dose required for disease control	311,8	176,1	0,02
Контролируемая БА, % Controlled BA, %	7,8	44	0,0007
CD8, %	24,4	27,1	0,07
CD8, абсолютное число CD8, absolute number	614,4	794,8	0,02
CD4, %	36,6	34,8	0,3
CD4, абсолютное число CD4, absolute number	911,1	1296,0	0,04
НСТ спонтанный, % Spontaneous NBT, %	17,2	29,6	0,09
НСТ стимулированный, % Triggered NBT, %	64,1	80,8	0,02
ФАН спонтанный, % Spontaneous neutrophil phagocytic rate, %	87,2	91,3	0,15
ФАН стимулированный, % Triggered neutrophil phagocytic rate, %	91,3	95,9	0,05
ФЧ спонтанное, шт. Spontaneous phagocyte, number	5,8	7,6	0,01
ФЧ стимулированное, шт. Triggered phagocyte, number	7,0	8,6	0,04
IL-7, пг/мл IL-7, pg/ml	15,1	22,0	0,6
IL-9, пг/мл IL-9, pg/ml	1,6	5,3	0,02
Ghr399Ile			
Контролируемая БА, % Controlled BA, %	22,2	37,5	0,3
IL-7, пг/мл IL-7, pg/ml	13,1	52,3	0,04
IL-9, пг/мл IL-9, pg/ml	2,2	6,3	0,08

в большей степени благоприятных. Так, у этой группы пациентов астма течет достоверно легче, требуется меньшая доза ТГКС для контроля над заболеванием, и главное, носители этой му-

тации по результатам наших исследований чаще достигают полного контроля над бронхиальной астмой. Для них характерен более высокий уровень Т-киллеров, как относительный, так и аб-

ТАБЛИЦА 3. КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ЗАМЕН В ГЕНЕ TLR9-T1237C И A2848G

TABLE 3. CLINICAL AND PATHOGENETIC MANIFESTATIONS OF SINGLE-NUCLEOTIDE SUBSTITUTION IN TLR9-T1237C AND A2848G GENES

	Нормальный генотип Normal genotype	Мутантный генотип Mutant genotype	Достоверность (p) Accuracy (p)
T1237C			
Степень тяжести (в баллах) Severity (in points)	2,9	2,6	0,05
Контролируемая БА, % Controlled BA, %	23,9	42,1	0,07
CD8, %	26,0	23,1	0,04
CD8, абсолютное число CD8, absolute number	684,5	613,6	0,4
CD4, %	35,3	38,0	0,1
CD4, абсолютное число CD4, absolute number	996,3	1031,2	0,8
CD4/CD8	1,4	1,8	0,03
Иммуноглобулин А, г/л Immunoglobulin A, g/l	1,4	1,8	0,04
IL-6, пг/мл IL-6, pg/ml	0,03	0,6	0,04
IL-7, пг/мл IL-7, pg/ml	12,3	29,1	0,2
IL-9, пг/мл IL-9, pg/ml	2,4	3,5	0,4
A2848G			
Контролируемая БА, % Controlled BA, %	20,0	42,5	0,04

солютный и повышение абсолютного количества Т-хелперов, более высокие показатели фагоцитоза по всем критериям, как количественным, так и функциональным. Кроме того, в этой группе имеет место достоверное повышение уровня IL-9.

Что же касается носителей однонуклеотидной замены в гене TLR4 – Ghr399Ile, то они демонстрируют меньше значимых отличий, но при этом у них также отмечается тенденция к большей доли контролируемого течения заболевания. Однако отличий в тяжести течения БА и в дозе ТККС, необходимой для контроля над патологией, не выявлено, не обнаружено и различий в показателях иммунограммы, но у них имеет место более высокое содержание IL-7 и IL-9.

При исследований носителей некоторых мутаций в гене TLR9 (табл. 3) также отмечены их разнообразные клинико-патогенетические проявления, и одна из них, мононуклеотидная замена T1237C, оказалась более значима. Для ее носителей характерно более легкое течение

бронхиальной астмы, и они практически в два раза чаще полностью контролируют заболевание. В этой группе отмечается некоторое снижение доли Т-киллеров при отсутствии разницы в их абсолютном количестве, имеет место тенденция к росту доли Т-хелперов значимость которой подтверждают достоверные различия соотношения CD4/CD8. Пациенты, несущие эту мутацию, имеют достоверно более высокий уровень иммуноглобулина класса А и IL-6.

Особый интерес представляют обнаруженные нами клинические проявления мононуклеотидной замены в гене TLR9 – A2848G, носители этой мутации в два раза чаще имеют контролируемое течение бронхиальной астмы, при этом значимых различий ни по одному из других изучаемых признаков не выявлено.

При оценки взаимоотношения генов Toll-подобных рецепторов между собой, исследуемыми лабораторными показателями и клиническими проявлениями у детей с бронхиальной астмой обнаружена плотная сеть корреляций, в

частности сильная прямая, достоверная зависимость ($r = 0,79$) мутаций генов белка рецептора Toll 4 (TLR4-Asp299Gly) и (TLR4-Ghr399Ile), кроме того выявлена достоверная корреляционная связь средней силы ($r = 0,46$) мутаций гена белка рецептора Toll 4 (TLR4-Asp299Gly) и Toll 9 (TLR9-A2848G). Отмечаются достоверные обратная корреляционные связи однонуклеотидной замены TLR2-Arg753Glu и показателей фагоцитоза: ФАН спонтанный ($r = -0,27$), ФЧ спонтанное ($r = -0,35$), ФЧ стимулированное ($r = -0,28$) и достоверная прямая с дозой топического глюкокортикостероида, требуемого для достижения контроля ($r = 0,37$), достоверные прямые связи мутации TLR4 – Asp299Gly и абсолютного числа натуральных киллеров ($r = 0,29$), уровня НСТ стимулированного ($r = 0,32$), TLR9 A2848G с ОФВ₁ спонтанным ($r = 0,31$) и стимулированным бронхолитиком ($r = 0,37$).

Обсуждение

Toll-рецепторы являются основными молекулами распознавания патогенных паттернов в иммунной системе человека, активации каждого из них соответствует уникальный цитокиновый профиль, который и определяет направление борьбы иммунной системы с патогеном, несущим тот или иной паттерн. Поскольку любая аллергия, и атопия в частности, в своей основе является ошибкой распознавания, когда иммунная система воспринимает в качестве патогенного паттерна случайную белковую последовательность экзогенного или эндогенного происхождения, то мутация генов распознающих молекул может иметь непосредственное и разнонаправленное влияние на характер течения воспаления и его клинические проявления при бронхиальной астме. При этом следует отметить, что мутации могут приводить как к снижению специфичности и чувствительности рецепторов, так и к их повышению при чем в различных сочетаниях этих параметров. Полученные нами данные подтверждают наличие такого влияния для изучаемых мутаций Toll-подобных рецепторов [5, 22, 24].

Так, цитокиновый профиль активации TLR2 в целом соответствует Th1-типу реагирования [13, 16, 20] и мы видим смещение равновесия в сторону CD8⁺ клеток, что подтверждается как ростом их относительного числа, так и изменением соотношения CD4/CD8. Это позволяет предположить большую активность мутантного варианта рецептора, что может быть связано как с повышением его чувствительности, так и со снижением специфичности. При этом снижение показателей фагоцитоза, характеризующих активность хемотаксиса, и обратные корреляции с ними в

этой группе делают более вероятным предположение о снижении специфичности рецептора. На этом фоне мы видим более тяжелое течение бронхиальной астмы и более высокую потребность в топических глюкокортикостероидах у пациентов, носителей этой однонуклеотидной замены, однако значимого влияния на степень контроля при заболевании эта мутация не оказывает.

TLR4 считается IL-10 ассоциированным рецептором, его активация стимулирует Th2-тип иммунной реакции и, соответственно, должна усиливать атопическое воспаление [24]. Наиболее известная мутация в этом гене – мононуклеотидная замена Asp299Gly, для которой показана четкая зависимость с более высокой вероятностью поражения малярией [18], отсюда следует, что данная замена снижает активность рецептора, это позволяет предположить меньшую интенсивность атопического воспаления на фоне снижения стимуляции Th2-тип иммунной реакции. Действительно, в нашем исследовании, применительно к пациентам, страдающим бронхиальной астмой, обнаружены следующие проявления этой мутации, у больных этой группы выше абсолютное количество как Т-киллеров, так и Т-хелперов, но повышение Т-хелперов выражено сильнее, имеется положительная корреляционная связь с уровнем натуральных киллеров. Такие больные демонстрирует более высокий уровень всех показателей фагоцитоза и прямую достоверную корреляцию с ними, кроме того, у них отмечается более высокий уровень IL-9, влияние которого на бронхиальную обструкцию было ранее продемонстрировано на модели с мышами. И главное, именно пациенты, являющиеся носителями этой мутации, имеют наиболее легкое течение бронхиальной астмы, требует наименьшей дозы топических глюкокортикостероидов и чаще всего из всех исследованных контролируют течение своего заболевания.

Другая исследованная нами мутация в гене TLR4, однонуклеотидная замена Ghr399Ile приводит в исследуемой группе к схожим, но намного менее выраженным тенденциям в контроле заболевания и уровне IL-9, дополнительно у детей-носителей этой замены обнаруживается достоверно более высокий уровень IL-7, который в несколько большей степени стимулирует Th1-тип реагирования.

TLR9 реагирует на метилированные молекулы ДНК, то есть его возбуждают преимущественно паттерны внутриклеточных патогенов и активируемый им цитокиновый профиль соответствует Th1-типу реагирования [21, 22, 24]. В некоторых работах показана большая вероятность возникновения аутоиммунного процесса на фоне данной замены [17], что позволяет предпо-

ложить большую активность мутантного рецептора. Но в нашем исследовании у пациентов с однонуклеотидной заменой TLR9 – T1237C отмечалось снижение доли Т-киллеров и увеличение соотношения CD4/CD8 в популяциях лимфоцитов при более высоком уровне ИЛ-6. Также отмечается повышение уровня иммуноглобулина класса А, обеспечивающего локальную защиту от инфекции, в том числе в дыхательных путях, что может служить дополнительным, опосредованным фактором снижения тяжести бронхолегочной патологии. Клинические проявления БА в группе пациентов с этой заменой более легкие, и они чаще достигают контроля над заболеванием.

Отсутствие разницы в группах мутантного и нормального генотипа по исследуемым лабораторным показателям при мутации TLR9 A2848G в сочетании с достоверно более частым контролем над бронхиальной астмой в группе носителей этой замены и достоверными прямыми корреляционными связями мутации с уровнем ОФВ₁ и реакцией на бронхолитик ставит перед нами вопрос о механизмах ее воздействия на контролируемость бронхиальной астмы, исследованием которого мы планируем заниматься в дальнейшем.

Как отмечалось выше, большой интерес представляют не только отдельные мутации генов распознающих молекул, но и их сочетания, согласно результатам нашей работы на примере обследования детей Приамурья с БА, наиболее характерны сочетанные мутации генов TLR4, от результативной работы которого прямо зависит соотношение Th1 и Th2 типов иммунного ответа. Эти поражения часто сопровождаются мутацией Toll19, его активация усиливает вероятность отве-

та по Th1, и реципрокно угнетает Th2 и влияет на течение атопического воспаления при БА у детей.

Заключение

Таким образом, нами показано наличие характерных клинических проявлений исследованных мутаций паттерн-распознающих рецепторов. Выявлено более легкое течение заболевания, лучший ответ на терапию и более полный контроль над ним при однонуклеотидных заменах в генах Toll-рецепторов 4 и 9 (TLR4-Asp299Gly, TLR4-Ghr399Ile, TLR9-T1237C, TLR9-A2848G) и, напротив, более тяжелое течение и худший ответ на терапию при мутации TLR2 с заменой Arg753Glu. Кроме того, в исследуемых группах нами выявлены особенности показателей иммунитета, характерные для генотипов с более легким и контролируемым течением БА (за исключением мутации TLR9-A2848G): более высокое абсолютное число Т-хелперов, при разнонаправленных изменениях числа Т-киллеров, но при таких генотипах неизменно сохраняется более высокое соотношение CD4/CD8. Также для них выявлены более высокие уровни показателей фагоцитоза, в первую очередь характеризующих хемотаксис, и ИЛ-7, ИЛ-9. Для пациентов с бронхиальной астмой характерны сочетанные мутации Toll-подобных рецепторов 4 и 9.

Полученные нами данные позволяют предположить наличие генетических паттернов, характеризующих группы пациентов с БА различные по тяжести течения, ответу на терапию и степени контроля, что дает возможность персонализировать подходы к диагностике, профилактике и терапии заболевания.

Список литературы / References

1. Антонюк М.В., Гвозденко Т.А., Новгородцева Т.П., Виткина Т.И., Гельцер Б.И., Юренко А.В., Минева Е.Е., Кнышова В.В. Особенности цитокинового профиля у больных бронхиальной астмой в сочетании с ожирением // Медицинская иммунология, 2018. Т. 20, № 6. С. 913-920. [Antonyuk M.V., Gvozdenko T.A., Novgorodtseva T.P., Vitkina T.I., Geltser B.I., Yurenko A.V., Mineeva E.E., Knyshova V.V. Features of cytokine profile in patients with bronchial asthma combined with obesity. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2018, Vol. 20, no. 6, pp. 913-920. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2018-6-913-920.
2. Архипов В.В., Григорьева Е.В., Гавришина Е.В. Контроль над бронхиальной астмой в России: результаты многоцентрового наблюдательного исследования НИКА // Пульмонология, 2011. № 6. С. 87-93. [Arkhipov V.V., Grigoryeva E.V., Gavrishina E.V. Control of bronchial asthma in Russia: results of NIKA multicenter observational study. *Pulmonologiya = Pulmonology*, 2011, no. 6, pp. 87-93. (In Russ.)]
3. Батожаргалова Б.Ц., Мизерницкий Ю.Л., Подольная М.А. Метаанализ распространенности астмоподобных симптомов и бронхиальной астмы в России (по результатам программы ISAAC) // Российский вестник перинатологии и педиатрии, 2016. № 4. С. 59-69. [Batozhargalova B.T., Mizernitsky Yu.L., Podolnaya M.A. Meta-analysis of the prevalence of asthma-like symptoms and asthma in Russia (according to the results of ISAAC). *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*, 2016, Vol. 61, no. 4, pp. 59-69. (In Russ.)]
4. Виткина Т.И., Новгородцева Т.П., Калинина Е.П., Лобанова Е.Г., Антонюк М.В. Иммунные механизмы формирования бронхиальной астмы контролируемого и частично контролируемого течения // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 3. С. 495-502. [Vitkina T.I., Novgorodtseva T.P., Kalinina E.P., Lobanova E.G., Antonyuk M.V. Immune mechanisms for development of controlled and partially controlled asthma. *Meditsinskaya*

immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2019, Vol. 21, no. 3, pp. 495-502. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2019-3-495-502.

5. Ганковская Л.В., Намазова-Баранова Л.С., Порядин Г.В., Греченко В.В., Ганковский В.А., Алексеева А.А., Салмаси Ж.М., Казимирский А.Н., Брагвадзе Б.Г., Свитич О.А. Изменение показателей врожденного иммунитета при тяжелой бронхиальной астме у детей // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 1. С. 99-106. [Gankovskaya L.V., Namazova-Baranova L.S., Poriadin G.V., Grechenko V.V., Gankovsky V.A., Alekseeva A.A., Salmashi Z.M., Kazimirsky A.N., Bragvadze B.G., Svitich O.A. Changes of innate immunity indexes in severe asthma in children. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2019, Vol. 21, no. 1, pp. 99-106. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2019-1-99-106.

6. Евсева Г.П., Холодок Г.Н., Морозова Н.В., Супрун Е.Н., Козлов В.А., Лазарь К.Г. Эпидемиология бронхолегочных заболеваний детей и подростков Хабаровского края // Бюллетень физиологии и патологии дыхания, 2016. Вып. 61. С. 31-35. [Evseeva G.P., Kholodok G.N., Morozova N.V., Suprun E.N., Kozlov V.K., Lazar K.G. Epidemiology of bronchopulmonary diseases in children and teenagers of Khabarovsk kray. *Byulleten fiziologii i patologii dykhaniya = Bulletin of Respiratory Physiology and Pathology*, 2016, Vol. 61, pp. 31-35. (In Russ.)]

7. Камалтынова Е.М., Деев И.А., Белоногова Е.Г. Сравнительная эпидемиологическая характеристика бронхиальной астмы по данным программы «Международное исследование астмы и аллергии у детей» (International Study of Asthma and Allergy in Childhood) // Бюллетень сибирской медицины, 2009. № 4. С. 92-97. [Kamaltynova E.M., Deyev I.A., Belonogova E.G. Comparative epidemiological characteristics of bronchial asthma according to data of International Study of Asthma and Allergy in Childhood (ISAAC). *Byulleten sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*, 2009, no. 4, pp. 92-97. (In Russ.)]

8. Клинические рекомендации «Бронхиальная астма» [Электронный ресурс]. Министерство здравоохранения РФ, 2019. Режим доступа: http://spulmo.ru/upload/kr_bronhastma_2019.pdf. [Clinical recommendations "Bronchial asthma" [Electronic resource]. Ministry of Health of the Russian Federation, 2019. Access mode: http://spulmo.ru/upload/kr_bronhastma_2019.pdf].

9. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». 5-е изд., перераб. и доп. М.: Оригинал-макет, 2017. 160 с. [National program "Bronchial asthma in children. Treatment strategy and prevention". 5th ed., reprint and add.]. Moscow: Original-maket, 2017. 160 p.

10. Смольникова М.В., Фрейдin М.Б., Смирнова С.В. Гены цитокинов как генетические маркеры атопической бронхиальной астмы с контролируемым и неконтролируемым течением // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19, № 5. С. 605-614. [Smolnikova M.V., Freidin M.B., Smirnova S.V. Cytokine genes as genetic markers of controlled and uncontrolled atopic bronchial asthma. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2017, Vol. 19, no. 5, pp. 605-614. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-605-614.

11. Смольникова М.В., Смирнова С.В., Ильенкова Н.А., Коноплева О.С. Иммунологические маркеры неконтролируемого течения атопической бронхиальной астмы у детей // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19, № 4. С. 453-460. [Smolnikova M.V., Smirnova S.V., Ilyenkova N.A., Konopleva O.S. Immunological markers of uncontrolled atopic bronchial asthma in children. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2017, Vol. 19, no. 4, pp. 453-460. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2017-4-453-460.

12. Смольникова М.В., Смирнова С.В., Коноплева О.С. Цитокины и полиморфизм промоторных регионов генов (C-590T IL4 and C-597C IL10) как маркеры неконтролируемого течения атопической бронхиальной астмы у детей // Сибирский научный медицинский журнал, 2015. Т. 35, № 3. С. 4-9. [Smolnikova M.V., Smirnova S.V., Konopleva O.S. Cytokines and genes polymorphism in the promoter regions (C-590T IL4 and C-597C IL10) as markers of uncontrolled atopic bronchial asthma in children. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*, 2015, Vol. 35, no. 3, pp. 4-9. (In Russ.)]

13. Berdeli A., Celik H.A., Özyürek R., Dogrusoz B., Aydin H.H. TLR-2 gene Arg753Gln polymorphism is strongly associated with acute rheumatic fever in children. *J. Mol. Med.*, 2005, Vol. 83, pp. 535-541.

14. Chung K.F., Bel E.H., Wenzel S.E. AIRE-asthma insights and realities in Europe. *European Respiratory Society Monograph*, 2011, Vol. 51, 310 p.

15. Global initiative for Asthma. Global strategy for Asthma Management and Prevention 2020. Available at: https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2020/04/GINA-2020-full-report_-final_-wms.pdf.

16. Hu L., Tao H., Tao X., Tang X., Xu C. TLR2 Arg753Gln gene polymorphism associated with tuberculosis susceptibility: an updated meta-analysis. *BioMed Res. Int.*, 2019, Vol. 2019, 2628101. doi: 10.1155/2019/2628101.

17. Lu K.C., Yang H.Y., Lin Y.F., Kao S.Y., Lai C.H., Chu C.M., Wu C.C., Sune S.L. The T-1237C polymorphism of the Toll-like receptor-9 gene is associated with chronic kidney disease in a han chinese population. *Tohoku J. Exp. Med.*, 2011, Vol. 225, no. 2, pp. 109-116.

18. Mockenhaupt F.P., Cramer J.P., Hamann L., Stegemann M.S., Eckert J., Oh N.R., Otchwemah R.N., Dietz E., Ehrhardt S., Schröder N.W.J., Bienzle U., an Schumann R.R. Toll-like receptor (TLR) polymorphisms in African children: Common TLR-4 variants predispose to severe malaria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006, Vol. 103, no. 1, pp. 177-182.

19. NHWS-National Health and Wellness Survey. Available at: <https://www.kantarhealth.com/docs/datasheets/kh-national-health-and-wellness-survey.pdf>.

20. Pabst S., Yenice V., Lennarz M., Tuleta I., Nickenig G., Gillissen A., Grohé C. Toll-like receptor 2 gene polymorphisms Arg677Trp and Arg753Gln in chronic obstructive pulmonary disease. *Lung*, 2009, Vol. 187, no. 3, pp. 173-178.

21. Panda A.K., Pattanaik S.S., Tripathy R., Das B.K. TLR-9 promoter polymorphisms (T-1237C and T-1486C) are not associated with systemic lupus erythematosus: a case control study and meta-analysis. *Hum Immunol.*, 2013, Vol. 74, no. 12, pp. 1672-1678.
22. Prescott S.L. Allergy takes its toll: the role of Toll-like receptors in allergy pathogenesis. *World Allergy Organ J.*, 2008, Vol. 1, no. 1, pp. 4-8.
23. Steiner M., Hawranek T., Schneider M., Ferreira F., Horejs-Hoeck J., Harrer A., Himly M. Elevated Toll-like receptor-induced CXCL8 secretion in human blood basophils from allergic donors is independent of Toll-Like receptor expression levels. *PLoS ONE*, 2016, Vol. 11, no. 2, e0149275. doi: 10.1371/journal.pone.0149275.
24. Zakeri A., Russo M. Dual role of Toll-like receptors in human and experimental asthma models. *Front Immunol.*, 2018, Vol. 9, 1027. doi: 10.3389/fimmu.2018.01027.

Авторы:

Супрун Е.Н. — к.м.н., старший научный сотрудник группы медико-экологических проблем здоровья матери и ребенка лаборатории комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии, Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства, Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; врач аллерголог-иммунолог; доцент кафедры госпитальной и факультетской педиатрии с курсом пропедевтики детских болезней, ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет», г. Хабаровск, Россия

Наговицына Е.Б. — к.м.н., старший научный сотрудник группы молекулярно-генетической диагностики лаборатории комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии, Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства, Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Хабаровск, Россия

Кудерова Н.И. — научный сотрудник группы клинической иммунологии и эндокринологии лаборатории комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии, Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства, Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Хабаровск, Россия

Супрун С.В. — д.м.н., главный научный сотрудник группы медико-экологических проблем здоровья матери и ребенка лаборатории комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии, Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства, Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Хабаровск, Россия

Лебедько О.А. — д.м.н., заведующая лабораторией комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии, директор, Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства, Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Хабаровск, Россия

Authors:

Suprun E.N., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Group of Health and Environmental Problems of Mother and Child Health, Laboratory of Integral Methods of Bronchopulmonary and Perinatal Pathology Research, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch, Far Eastern Scientific Center for Physiology and Respiratory Pathology; Allergist-Immunologist; Associate Professor, Department of Hospital and Faculty Pediatrics with a Course of Propaedeutics of Children's Diseases, Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russian Federation

Nagovitsyna E.B., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Molecular Genetic Diagnosis Group, Laboratory of Integral Methods of Bronchopulmonary and Perinatal Pathology Research, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch, Far Eastern Scientific Center for Physiology and Respiratory Pathology, Khabarovsk, Russian Federation

Kuderova N.I., Research Associate, Group of Clinical Immunology and Endocrinology, Laboratory of Integral Methods of Bronchopulmonary and Perinatal Pathology Research, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch, Far Eastern Scientific Center for Physiology and Respiratory Pathology, Khabarovsk, Russian Federation

Suprun S.V., PhD, MD (Medicine), Main Research Associate, Group of Health and Environmental Problems of Mother and Child Health, Laboratory of Integral Methods of Bronchopulmonary and Perinatal Pathology Research, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch, Far Eastern Scientific Center for Physiology and Respiratory Pathology, Khabarovsk, Russian Federation

Lebed'ko O.A., PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Integral Methods of Bronchopulmonary and Perinatal Pathology Research, Director, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch, Far Eastern Scientific Center for Physiology and Respiratory Pathology, Khabarovsk, Russian Federation

Поступила 05.05.2020
Отправлена на доработку 06.05.2020
Принята к печати 08.05.2020

Received 05.05.2020
Revision received 06.05.2020
Accepted 08.05.2020