

# Ассоциация полиморфных вариантов генов Toll-подобных рецепторов *TLR1* и *TLR6* с развитием бронхиальной астмы

Г.Ф.Гималова<sup>1</sup>, А.С.Карунас<sup>1,2</sup>, Ю.Ю.Федорова<sup>1</sup>, Ш.З.Загидуллин<sup>3</sup>, Э.И.Эткина<sup>3</sup>, Э.К.Хуснутдинова<sup>1,2</sup>

1 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биохимии и генетики» Уфимского научного центра Российской академии наук: 450054, Республика Башкортостан, Уфа, проспект Октября, 71;

2 – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации: 450076, Республика Башкортостан, Уфа, ул. Заки Валиди, 32;

3 – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации: 450008, Приволжский федеральный округ, Республика Башкортостан, Уфа, ул. Ленина, 3

## Информация об авторах

**Гималова Галия Фуатовна** – к. б. н., научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимии и генетики» Уфимского научного центра Российской академии наук; тел.: (347) 235-60-88; e-mail: galyiyagimalova@gmail.com

**Карунас Александра Станиславовна** – д. б. н., к. м. н., профессор Российской академии образования, заместитель директора по научной работе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимии и генетики» Уфимского научного центра Российской академии наук, профессор кафедры генетики и фундаментальной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации; тел.: (347) 235-60-88; e-mail: carunas@list.ru

**Федорова Юлия Юрьевна** – к. б. н., научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимии и генетики» Уфимского научного центра Российской академии наук; тел.: (347) 235-60-88; e-mail: fedorova-y@yandex.ru

**Загидуллин Шамиль Зарифович** – д. м. н., профессор, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (347) 237-71-14; e-mail: zshamil@inbox.ru

**Эткина Эсфирь Исааковна** – д. м. н., профессор, заведующая кафедрой детских болезней Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (347) 223-11-71; e-mail: pedkaf@rambler.ru

**Хуснутдинова Эльза Камилевна** – д. б. н., профессор, академик Академии наук Республики Башкортостан, член-корреспондент Российской академии образования, временно исполняющая обязанности директора Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимии и генетики» Уфимского научного центра Российской академии наук; заведующая кафедрой генетики и фундаментальной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации; тел.: (347) 235-60-88; e-mail: elzakh@mail.ru

## Резюме

Бронхиальная астма (БА) – распространенное хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, в котором принимают участие многие клетки и клеточные элементы. БА имеет многофакторную природу и развивается при тесном взаимодействии генетической предрасположенности и факторов окружающей среды. В последнее время большой интерес представляют исследования, посвященные участию врожденного иммунитета в развитии аллергических заболеваний. В различных популяциях мира показана ассоциация с развитием БА полиморфных вариантов генов Toll-подобных рецепторов. **Целью** настоящей работы явился анализ ассоциации полиморфных локусов генов *TLR1* и *TLR6* с развитием БА у больных русской этнической принадлежности, проживающих на территории Республики Башкортостан. **Материалы и методы.** Материалом для исследования служили образцы ДНК больных БА неродственных индивидов ( $n = 179$ ) и практически здоровых лиц ( $n = 121$ ) русской этнической принадлежности. ДНК выделена методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфных вариантов осуществлялось методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. **Результаты.** По результатам проведенного анализа выявлена ассоциация полиморфных локусов rs5743571 гена *TLR1* и rs5743794 гена *TLR6* с развитием БА. **Заключение.** Продемонстрирована значительная роль генов *TLR1* и *TLR6* в формировании предрасположенности к БА в русской популяции. Аллель rs5743571\*С и генотип rs5743571\*СС полиморфного локуса гена *TLR1* являются маркерами повышенного риска, а генотип rs5743571\*СТ данного полиморфного варианта – маркером пониженного риска развития БА. Полученные данные будут способствовать лучшему пониманию механизмов защиты от атопической сенсibilизации и последующего развития атопической БА с участием TLR2-гетеродимеров.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, анализ ассоциации, гены Toll-подобных рецепторов.

Для цитирования: Гималова Г.Ф., Карунас А.С., Федорова Ю.Ю., Загидуллин Ш.З., Эткина Э.И., Хуснутдинова Э.К. Ассоциация полиморфных вариантов генов Toll-подобных рецепторов *TLR1* и *TLR6* с развитием бронхиальной астмы. *Пульмонология*. 2017; 27 (5): 607–613. DOI: 10.18093/0869-0189-2017-27-5-607-613

## An association between *TLR1* and *TLR6* gene polymorphism and development of bronchial asthma

Galiya F. Gimalova<sup>1</sup>, Aleksandra S. Karunas<sup>1,2</sup>, Yuliya Yu. Fedorova<sup>1</sup>, Shamil' Z. Zagidullin<sup>3</sup>, Esfir' I. Etkina<sup>3</sup>, El'za K. Khusnutdinova<sup>1,2</sup>

1 – Federal Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Science: pr. Oktyabrya 71, Ufa, 450054, Republic of Bashkortostan, Russia;

2 – Bashkir State University: ul. Z.Validi 32, Ufa, 450076, Republic of Bashkortostan, Russia;

3 – Bashkir State Medical University: ul. Lenina 3, Ufa, 450000, Republic of Bashkortostan, Russia

#### Author information

**Galiya F. Gimalova**, Candidate of Biology, Researcher, Laboratory of Human Molecular Genetics, Federal Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Science; tel.: (347) 235-60-88; e-mail: galiyagimalova@gmail.com  
**Aleksandra S. Karunas**, Doctor of Biology, Candidate of Medicine, Professor, Deputy Director for Science, Federal Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Science; Department of Genetics and Basic Medicine, Bashkir State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (347) 235-60-88; e-mail: carunas@list.ru  
**Yuliya Yu. Fedorova**, Researcher, Laboratory of Human Molecular Genetics, Federal Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Science; tel.: (347) 235-60-88; e-mail: fedorova-y@yandex.ru  
**Shamil' Z. Zagidullin**, Doctor of Medicine, Professor, Head of Department of Propaedeutics of Internal Diseases, Bashkir State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (347) 237-71-14; e-mail: zshamil@inbox.ru  
**Esfir' I. Etkina**, Doctor of Medicine, Professor, Head of Department of Pediatric Diseases, Bashkir State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (347) 223-11-71; e-mail: pedkaf@rambler.ru  
**El'za K. Khusnutdinova**, Doctor of Biology, Professor, Academician of Academy of Science, Republic of Bashkortostan; Acting Director of Federal Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Science; Head of Department of Genetics and Basic Medicine, Bashkir State Medical University, Healthcare Ministry of Russia tel.: (347) 235-60-88; e-mail: elzakh@mail.ru

#### Abstract

**The aim** of this study was to analyze an association between *TLR1* and *TLR6* gene polymorphism and development of bronchial asthma in Russian patients living at the Republic of Bashkortostan. **Methods.** We investigated DNA samples of unrelated individuals ( $n = 179$ ) and healthy volunteers ( $n = 121$ ) of Russian ethnic group. DNA was extracted by phenol-chlorophorm extraction. Genotyping of polymorphic variant was performed by the real-time polymerase chain reaction. **Results.** An association between rs5743571 polymorphism in the *TLR1* gene and rs5743794 polymorphism in the *TLR6* gene with occurrence of bronchial asthma has been found. **Conclusion.** *TLR1* and *TLR6* genes are important for asthma susceptibility in Russian population. Polymorphism in rs5743571\*C allele and rs5743571\*CC genotype of *TLR1* gene could be used as high-risk markers; rs5743571\*CT genotype of this polymorphic variant could be used as low-risk marker of asthma occurrence. These results can improve our knowledge on defensive mechanisms against atopic sensitization including *TLR2* heterodimers and subsequent development of atopic asthma.

**Key words:** bronchial asthma, association, Toll-like receptors, genes.

For citation: Gimalova G.F., Karunas A.S., Fedorova Yu.Yu., Zagidullin Sh.Z., Etkina E.I., Khusnutdinova E.K. An association between *TLR1* and *TLR6* gene polymorphism and development of bronchial asthma. *Russian Pulmonology*. 2017; 27 (5): 607–613 (in Russian). DOI: 10.18093/0869-0189-2017-27-5-607-613

Бронхиальная астма (БА) представляет собой гетерогенное заболевание, которое, как правило, характеризуется наличием хронического воспаления дыхательных путей. Она определяется по наличию в анамнезе симптомов со стороны органов дыхания, таких как свистящие хрипы, одышка, чувство заложенности в груди и кашель, выраженность которых со временем изменяется, а также вариабельного ограничения скорости воздушного потока на выдохе [1]. БА – хроническое заболевание, распространенное на всех континентах и поражающее в разных странах от 1 до 18 % населения. Частота БА продолжает неуклонно возрастать; заболеваемость БА в России за последние 15–20 лет увеличилась в 2–3 раза; распространенность среди взрослых по данным эпидемиологических исследований составляет 6,9 % [2], а среди детей и подростков – около 10 % [3].

БА – многофакторное заболевание, в основе развития которого лежит сложное взаимодействие различных факторов окружающей среды и наследственной предрасположенности. Генетические механизмы БА активно изучаются коллективами ученых всего мира. По результатам многочисленных ассоциативных исследований показано, что в патогенезе БА принимает участие множество функционально взаимосвязанных генов. Начиная с 2007 г. выполнено > 70 полногеномных анализов ассоциаций (*Genome-wide Association Studies*) БА и разных клинических фенотипов данного заболевания в различных популяциях мира, в результате которых идентифицировано > 550 ассоциированных с БА полиморфных вариантов, в т. ч. локализованных в генах, участвующих в развитии воспалительных реакций (*IL13*, *IL6R*, *DENND1B*, *LRRC32*, *IL2RB*, *IL1RL1*), барьерной функции эпителия (*IL33*,

*IL1RL1*, *C11orf30*, *TSLP*, *CDHR3*), сокращения гладких мышц дыхательных путей (*PDE4D*), апоптоза и дифференцировки клеток (*GSDMB*) и др. (<http://www.ebi.ac.uk/gwas/>).

В последнее время большой интерес представляют исследования, посвященные участию в развитии аллергических заболеваний системы врожденного иммунитета. Специфические лиганды аллергенов активируют различные образ-распознающие рецепторы, в т. ч. Toll-подобные (*TLR*) и NOD-подобные (*NLR*) рецепторы, лектиновые рецепторы С-типа (*CLR*) и другие рецепторы, представленные на различных клетках организма [4]. *TLR* представляют собой высококонсервативные трансмембранные белковые комплексы, содержащие лейцин-богатые повторы и домен Toll/*IL-1*-рецепторного гомолога (*TIR*), который активирует молекулы сигналинга, запуская транскрипцию генов воспалительного ответа клетки [5]. *TLR* способны распознавать молекулярные паттерны бактерий, вирусов и грибов. Активация молекулами антигенов стимулирует Th-1-ответ, тем самым угнетая аллергические реакции. С другой стороны, многие антигены-аллергены, связываясь с образ-распознающими рецепторами, могут индуцировать аллергический ответ Th2-типа, приводящий в конечном итоге к хроническому аллергическому воспалению дыхательных путей [6]. Полиморфные варианты генов *TLR* могут изменять их нормальную реактивность и, как следствие, – влиять на формирование иммунной системы, способствуя распространению аллергических заболеваний.

При изучении генов *TLR* у лиц с аллергическими заболеваниями показано, что в различных популяциях БА ассоциирована с полиморфными вариантами

ми генов этих рецепторов: *TLR1* (в Германии [7]); *TLR2* (во Франции [8], Норвегии [9], Китае [10], Пуэрто-Рико [11]); *TLR6* (в Германии [12, 7], Китае [10]); *TLR9* (в США – у американцев европейского происхождения [13] и Тунисе [14]); *TLR10* (в США – у американцев европейского происхождения [15]). Развитие атопического дерматита ассоциировано с полиморфными вариантами генов *TLR2* и *TLR9* в Германии [16, 17]. Полиморфные варианты гена *TLR6* ассоциированы с развитием аллергического ринита у жителей Китая [10], гена *TLR2* – у жителей Южной Кореи [18]. По данным доступной литературы, в России исследование генов *TLR* у больных БА проводилось в Республике Адыгее, где на небольшой выборке показана ассоциация с развитием заболевания полиморфного локуса гена *TLR9* [19].

Ранее изучались 62 полиморфных локуса генов образ-распознающих рецепторов (*TLR* и *NLR*) у больных атопическим дерматитом, проживающих в Республике Башкортостан. В результате обнаружена ассоциация полиморфных вариантов *rs5743571* гена *TLR1* и *rs5743794* гена *TLR6* с развитием этого заболевания у этнических русских [20]. Целью настоящего исследования явился анализ ассоциации полиморфных локусов генов *TLR1* и *TLR6* с развитием БА у больных русской этнической принадлежности, проживающих на территории Республики Башкортостан.

## Материалы и методы

Материалом для исследования послужили образцы ДНК неродственных больных БА индивидов ( $n = 180$ ) русской этнической принадлежности в возрасте от 2 до 63 лет (средний возраст – 19,5 года), проживающих в Республике Башкортостан. Обследованные являлись пациентами детского отделения Клиники Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, пульмонологического и аллергологического отделений Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Республики Башкортостан «Городская клиническая больница № 21 г. Уфы». Диагноз БА устанавливался в соответствии с критериями GINA [1] и отечественными программными документами по диагностике, лечению и профилактике БА. Контрольную группу составили практически здоровые лица ( $n = 120$ ; средний возраст – 21,2 года – от 5 до 50 лет) русской этнической принадлежности, сопоставимых по полу и возрасту с больными БА, без отягощенной наследственности по атопическим заболеваниям. У всех участников старше 15 лет и родителей детей младше 15 лет получено информированное согласие на участие в данном исследовании. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимии и генетики» Уфимского научного центра Российской академии наук.

ДНК выделено из лимфоцитов периферической крови стандартным методом депротенинизации смесью фенола и хлороформа. Полиморфные локусы *rs5743571* и *rs5743794* генотипированы с использованием набора реагентов для амплификации ДНК методом полимеразной цепной реакции с флуоресцентной детекцией (FLASH/RTAS) (ООО «ТестГен», Москва, Россия) на амплификаторе CFX-96 (*Bio-Rad*, США). Реакция амплификации проводилась в соответствии с рекомендациями производителя (95 °C – 10 мин, 40 циклов: 92 °C – 15 с, 60 °C – 1 мин).

Статистическая обработка результатов исследования выполнялась с использованием программного обеспечения *Microsoft Excel*. При попарном сравнении частот аллелей и генотипов в группах больных и контроля применялся критерий  $\chi^2$  ( $p$ ) для таблиц сопряженности  $2 \times 2$ . Сила ассоциаций оценивалась по показателю *odds ratio* – отношения шансов (ОШ) [21].

## Результаты и обсуждение

У больных БА и практически здоровых индивидов русской этнической принадлежности, проживающих в Республике Башкортостан, проведено исследование полиморфных вариантов генов *TLR–TLR1* (*rs5743571*) и (*rs5743794*).

Ген *TLR1* локализован на хромосоме 4p14 (в одном кластере с генами *TLR6* и *TLR10*) и кодирует белок длиной 786 аминокислот. Ген *TLR1* экспрессируется повсеместно в больших количествах, чем гены других *TLR* [22]. *TLR1* активируется триацил-липепептидами бактерий и способен образовывать гетеродимеры с *TLR2*-рецептором, что значительно расширяет спектр распознаваемых бактериальных компонентов.

При сравнительном анализе частот аллелей и генотипов полиморфного локуса *rs5743571* (*c.-160+438C>T*) гена *TLR1* выявлено наличие статистически значимых различий между группами больных БА и контроля (см. таблицу). Аллель *rs5743571\*C* у больных встречался с более высокой частотой (86,39 %), чем в контрольной группе (72,08 %) ( $p = 1,4 \times 10^{-5}$ ; ОШ – 2,46; 95%-ный доверительный интервал (ДИ) – 1,63–3,71). Частота генотипа *rs5743571\*CC* у больных составила 76,67 %, в контрольной группе она была значительно ниже – 50,83 % ( $p = 4 \times 10^{-6}$ ; ОШ – 3,18; 95%-ный ДИ – 1,93–5,23). Гетерозиготный генотип *rs5743571\*CT* в группе больных БА определялся с частотой 19,44 %, в контроле его частота была выше и составляла 42,5 % ( $p = 1,5 \times 10^{-5}$ ; ОШ – 0,33; 95%-ный ДИ – 0,19–0,55). Генотип *rs5743571\*TT* встречался редко, с частотой 3,89 % у больных БА и 6,67 % – у лиц контрольной группы ( $p > 0,05$ ).

В рамках исследования также проведен анализ ассоциации локуса *rs5743571* ген *TLR1* с различной степенью тяжести течения заболевания. В результате данного анализа выявлены статистически значимые различия в распределении частот аллелей и генотипов этого локуса между контрольной группой и все-

Таблица

**Распределение частоты аллелей и генотипов полиморфных локусов *rs5743571* гена *TLR1* и *rs5743794* гена *TLR6* у больных бронхиальной астмой и в контрольной группе**

Table

**Frequency distribution of alleles and genotypes of *rs5743571* polymorphism in the *TLR1* gene and *rs5743794* polymorphism in the *TLR6* gene in asthma patients and in controls**

№ rs	<i>rs5743571</i>				<i>rs5743794</i>			
	больные		контроль		больные		контроль	
Генотип, аллель	<i>n</i>	$p_i \pm s_p, \% (95\% \text{-ный ДИ})$	<i>n</i>	$p_i \pm s_p, \% (95\% \text{-ный ДИ})$	<i>n</i>	$p_i \pm s_p, \% (95\% \text{-ный ДИ})$	<i>n</i>	$p_i \pm s_p, \% (95\% \text{-ный ДИ})$
CC	138	76,67 ± 3,15 (69,8–82,64)	61	50,83 ± 4,56 (41,55–60,07)	137	76,54 ± 3,17 (69,64–82,54)	51	50,5 ± 4,97 (40,36–60,6)
	$p = 4 \times 10^{-6}; \text{ОШ} - 3,18$				$p = 8 \times 10^{-6}; \text{ОШ} - 3,2$			
CT	35	19,44 ± 2,95 (13,93–25,99)	51	42,5 ± 4,51 (33,53–51,85)	39	21,79 ± 3,09 (15,98–28,56)	43	42,57 ± 4,92 (32,79–52,81)
	$p = 1,5 \times 10^{-5}; \text{ОШ} - 0,33$				$p = 2 \times 10^{-4}; \text{ОШ} - 0,38$			
TT	7	3,89 ± 1,44 (1,58–7,85)	8	6,67 ± 2,28 (2,92–12,71)	3	1,68 ± 0,96 (0,35–4,82)	7	6,93 ± 2,53 (2,83–13,76)
	$p = 0,02; \text{ОШ} - 0,23$							
N	180		120		179		101	
C	311	86,39 ± 1,81 (82,41–89,76)	173	72,08 ± 2,9 (65,95–77,66)	313	87,43 ± 1,75 (83,54–90,68)	145	71,78 ± 3,17 (65,04–77,87)
	$p = 1,4 \times 10^{-5}; \text{ОШ} - 2,46$				$p = 4 \times 10^{-6}; \text{ОШ} - 2,73$			
T	49	13,61 ± 1,81 (10,24–17,59)	67	27,92 ± 2,9 (22,34–34,05)	45	12,57 ± 1,75 (9,32–16,46)	57	28,22 ± 3,17 (22,13–34,96)
N	360		240		358		202	

Примечание: *n* – численность групп; *N* – объем выборки;  $p_i$  – частота генотипа (аллеля);  $s_p$  – ошибка  $p_i$ ; ДИ – доверительный интервал,  $p$  – величина  $p$ -значения.

ми группами больных БА различной степени тяжести течения. У больных БА легкой формы аллель *rs5743571\*С* и генотип *rs5743571\*СС*, как и общей группе больных, встречались чаще, чем в контроле – 85,7 % ( $p = 0,0123$ ; ОШ – 2,32; 95%-ный ДИ – 1,19–4,55) и 80,95 % ( $p = 0,0006$ ; ОШ – 4,11; 95%-ный ДИ – 1,76–9,6) соответственно. Частота аллеля *rs5743571\*С* и генотипа *rs5743571\*СС* у больных со среднетяжелой БА составила 84,7 % ( $p = 0,0015$ ; ОШ – 2,14; 95%-ный ДИ – 1,33–3,44) и 72,3 % ( $p = 0,0002$ ; ОШ – 2,94; 95%-ный ДИ – 1,65–5,23) соответственно, что также выше, чем в группе контроля. В группе больных тяжелой БА аллель *rs5743571\*С* и генотип *rs5743571\*СС* выявлены у 82,1 % ( $p = 0,0474$ ; ОШ – 1,77; 95%-ный ДИ – 1,0–3,14) и 69,8 % ( $p = 0,0202$ ; ОШ – 2,24; 95%-ный ДИ – 1,13–4,45) соответственно.

Ген *TLR6* локализован на хромосоме 4p13, представлен одним экзоном и кодирует белок из 796 аминокислот, на 69 % гомологичный *TLR1*. Взаимодействие *TLR6* с лигандом (диациллипептиды микоплазмы) приводит к активации факторов транскрипции NF- $\kappa$ B и JNK, играющих ключевую роль в регуляции иммунных реакций организма. Экспрессия *TLR6* показана в тучных клетках, которые играют важную роль в развитии аллергического воспаления. Активация тучных клеток посредством *TLR4* или гетеродимера *TLR2/TLR6* оказывает дополнительный эффект на продукцию цитокинов [5].

Выполнен анализ полиморфного локуса *rs5743794* (с.-64-1569C>T) гена *TLR6* у больных БА этнических русских и в контрольной группе (см. таблицу). В результате проведенной работы выявлено, что у больных аллель *rs5743794\*С* встречался с частотой 87,43 %, тогда как в контроле частота его была ниже – 71,78 % ( $p = 4 \times 10^{-6}$ , ОШ – 2,73; 95%-ный ДИ – 1,77–4,24). Генотип *rs5743794\*СС* также чаще определялся в груп-

пе больных БА (76,54 %) по сравнению с контролем (50,5 %) ( $p = 8 \times 10^{-6}$ ; ОШ – 3,2; 95%-ный ДИ – 1,9–5,4). Генотип *rs5743794\*ТТ*, напротив, у больных БА определялся реже – с частотой 1,68 %, чем в контроле, где частота его составила 6,93 % ( $p = 0,02$ ; ОШ – 0,23; 95%-ный ДИ – 0,6–0,9). Кроме того, статистически значимые различия между группами больных БА и контроля обнаружены и по гетерозиготному генотипу *rs5743794\*СТ*: у больных он выявлен с частотой 21,8 %, а в контрольной группе – 42,6 % ( $p = 0,0002$ ; ОШ – 0,38; 95%-ный ДИ – 0,22–0,64).

При анализе исследованного локуса *rs5743794* с учетом тяжести течения заболевания показана его ассоциация с развитием среднетяжелой формы БА. Аллель *rs5743794\*С* выявлен у 88,4 % больных и 71,8 % лиц группы контроля ( $p = 4,1 \times 10^{-5}$ ; ОШ – 3; 95%-ный ДИ – 1,75–5,15). Частота генотипа *rs5743794\*СС* в этой группе больных была выше, чем в контроле, составив 77,9 % ( $p = 0,00007$ ; ОШ – 3,45; 95%-ный ДИ – 1,85–6,44).

Таким образом, в результате проведенного исследования установлена ассоциация полиморфных вариантов *rs5743571* (с.-160+438C>T) гена *TLR1* и *rs5743794* (с.-64-1569C>T) ген *TLR6* с развитием БА у этнических русских.

Полученные данные согласуются с результатами исследования, проведенного в Германии, в котором установлена ассоциация 2 локусов гена *TLR1* (*rs5743595* и *rs4833095*) с развитием аллергической формы БА [7]. Кроме того, ранее была обнаружена ассоциация полиморфного локуса *rs5743571* гена *TLR1* с развитием атопического дерматита у жителей Республики Башкортостан [20].

В других исследованиях также показана ассоциация полиморфных локусов гена *TLR6* с развитием аллергических заболеваний в разных популяциях

мира. Так, *M.S.Kormann et al.* обнаружено, что функционально значимые варианты *TLR6* обладают протективным эффектом при развитии аллергической формы БА у больных немецкого происхождения [7]. Исследовано также значение полиморфных вариантов генов *TLR1* и *TLR6* в изменении уровня их экспрессии, а также продукции цитокинов, которая стимулируется взаимодействием данных рецепторов со своими лигандами. В результате обнаружено, что у лиц с протективными полиморфными локусами по данным генам наблюдается усиленный воспалительный ответ, повышен уровень экспрессии Th1-цитокинов и снижена Th2-ассоциированная продукция IL-4 в ответ на специфическую стимуляцию [7]. В работе [23] показана ассоциация с развитием БА полиморфного варианта *rs5743810* (*p.Ser249Pro*) гена *TLR6* у больных из США. Этот же полиморфный локус ассоциирован с развитием детской БА у больных из Германии [12]. В исследовании, проведенном в Австралии, также обнаружено, что полиморфные варианты *rs5743810* и *rs1039559* гена *TLR6* являются маркерами пониженного риска развития БА у детей, проживающих в сельской местности [24]. Полиморфный вариант *rs2381289* гена *TLR6* ассоциирован с развитием БА и аллергического ринита у этнических китайцев [10]. Ранее выявлена ассоциация полиморфного локуса *rs5743794* данного гена с развитием атопического дерматита у больных БА из Республики Башкортостан [20].

## Заключение

По результатам проведенного исследования генов *TLR* продемонстрирована значительная роль генов *TLR1* и *TLR6* в формировании предрасположенности к БА у этнических русских, проживающих в Республике Башкортостан. Аллель *rs5743571\*С* и генотип *rs5743571\*СС* полиморфного локуса гена *TLR1* являются маркерами повышенного риска, а генотип *rs5743571\*СТ* данного полиморфного варианта — маркером пониженного риска развития БА. Кроме того, маркерами повышенного риска развития и среднетяжелого течения БА являются аллель *rs5743794\*С* и генотип *rs5743794\*СС* полиморфного варианта гена *TLR6*.

Интересно, что *TLR1* и *TLR6* имеют структурное сходство и относятся к одному семейству рецепторов, формируя рецепторные комплексы (гетеродимеры) с *TLR2*. Взаимодействие лигандов с рецепторами *TLR2* может стимулировать развитие иммунного ответа по Th2-типу и, как следствие, приводить к аллергическому воспалению. В связи с этим можно предположить, что изменения нуклеотидной последовательности данных генов могут влиять на нормальное функционирование рецепторов и быть причиной развития аллергической реакции в ответ на воздействия тех или иных антигенов. Полученные данные могут способствовать лучшему пониманию механизмов защиты от атопической сенсибилизации и последующего развития атопической БА с участием *TLR2*-гетеродимеров.

## Благодарности

Работа выполнена на оборудовании Центра коллективного пользования «Биомика» (Отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии Регионального аналитического Центра коллективного пользования «Агидель») и уникальной научной установке «КОДИНК» при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 16-34-00706 и № 17-04-02195А). Материал для исследования взят из Коллекции биологических материалов человека Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимии и генетики» Уфимского научного центра Российской академии наук, поддержанной программой биоресурсных коллекций Федерального агентства научных организаций России.

## Acknowledges

An equipment of “Biomika” Share Center (Department of Biochemical Investigational Methods and Nanobiothechnologies, Agidel' Regional Analytical Share Center) and KODINK unique research equipment were used in this study. The study was partly supported by the Russian Foundation for Basic Research (grants No.16-34-00706 and No.17-04-02195A). Samples for the investigation were obtained from the Collection of Human Biological Materials, Federal Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Research Center, Russian Academy of Science.

## Конфликт интересов

Конфликт интересов отсутствует.

## Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

## Литература

1. Global Initiative for Asthma. 2017 GINA Reports, Global strategy for asthma management and prevention. Vancouver, USA; 2017. Available at: <http://ginasthma.org/2017-gina-report-global-strategy-for-asthma-management-and-prevention/>
2. Chuchalin A.G., Khaltaev N., Antonov N.S. et al. Chronic respiratory diseases and risk factors in 12 regions of the Russian Federation. *Int. J. COPD*. 2014; 9 (1): 963–974. DOI: 10.2147/COPD.S67283.
3. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». М.; 2012.
4. Титова Н.Д. Значение врожденной системы иммунитета в возникновении аллергических заболеваний. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2009; 3: 32–39.
5. Duez C., Gosset P., Tonnel A.B. Dendritic cells and toll-like receptors in allergy and asthma. *Eur. J. Dermatol*. 2006; 16 (1): 12–16.
6. Cook D.N., Pisetsky D.S., Schwartz D.A. Toll-like receptors in the pathogenesis of human disease. *Nat. Immunol*. 2004; 5: 975–979. DOI: 10.1038/ni1116.
7. Kormann M.S.D., Depner M., Hartl D. et al. Toll-like receptor heterodimer variants protect from childhood asthma. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2008; 122 (1): 86–92.e8. DOI: 10.1016/j.jaci.2008.04.039.
8. Smit L.A., Siroux V., Bouzigon E. et al. CD14 and toll-like receptor gene polymorphisms, country living, and asthma in adults. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2009; 179 (5): 363–368. DOI: 10.1164/rccm.200810-1533OC.
9. Bjørnvold M., Munthe-Kaas M.C., Egeland T. et al. A TLR2 polymorphism is associated with type 1 diabetes and allergic asthma. *Genes Immun*. 2009; 10: 181–187. DOI: 10.1038/gene.2008.100.
10. Qian F.H., Zhang Q., Zhou L.F. et al. Polymorphisms in the Toll-like receptor 2 subfamily and risk of asthma: a case-control analysis in a Chinese population. *J. Invest. Allergol. Clin. Immunol*. 2010; 20: 340–346.
11. Ortiz-Martínez M.G., Frías-Belén O., Nazario-Jiménez S. et al. A case-control study of innate immunity pathway gene polymorphisms in Puerto Ricans reveals association of toll-

- like receptor 2 +596 variant with asthma. *BMC Pulm. Med.* 2016; 16 (1): 112. DOI: 10.1186/s12890-016-0272-7.
12. Hoffjan S., Stemmler S., Parwez Q. et al. Evaluation of the Toll-like receptor 6 Ser249Pro polymorphism in patients with asthma, atopic dermatitis and chronic obstructive pulmonary disease. *BMC Med. Genet.* 2005; 6: 34. DOI: 10.1186/1471-2350-6-34.
  13. Lazarus R., Klimecki W.T., Raby B.A. et al. Single-nucleotide polymorphisms in the Toll-like receptor 9 gene (TLR9): frequencies, pairwise linkage disequilibrium, and haplotypes in three U.S. ethnic groups and exploratory case-control disease association studies. *Genomics.* 2003; 81 (1): 85–91. DOI: 10.1016/S0888-7543(02)00022-8.
  14. Lachheb J., Dhifallah I.B., Chelbi H. et al. Toll-like receptors and CD14 genes polymorphisms and susceptibility to asthma in Tunisian children. *Tissue Antigens.* 2008; 71 (5): 417–425. DOI: 10.1111/j.1399-0039.2008.01011.x.
  15. Lazarus R., Raby B.A., Lange C. et al. Toll-like receptor 10 genetic variation is associated with asthma in two independent samples. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2004; 170 (6): 594–600. DOI: 10.1164/rccm.200404-491OC.
  16. Oh D.Y., Schumann R.R., Hamann L. et al. Association of the toll-like receptor 2 A16934T promoter polymorphism with severe atopic dermatitis. *Allergy.* 2009; 64 (11): 1608–1615. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2009.02066.x.
  17. Novak N., Yu C.F., Bussmann C. et al. Putative association of a TLR9 promoter polymorphism with atopic eczema. *Allergy.* 2007; 62 (7): 766–772. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2007.01358.x.
  18. Kang I., Oh Y.K., Lee S.H. et al. Identification of polymorphisms in the Toll-like receptor gene and the association with allergic rhinitis. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* 2010; 267 (3): 385–389. DOI: 10.1007/s00405-009-1100-y.
  19. Руденко К.А., Тугуз А.Р., Анохина Е.Н., Муженя Д.В. Полиморфизмы генов Toll-подобных рецепторов, ассоциированные с наследственной отягощенностью и возрастом манифестации бронхиальной астмы. *Иммунология.* 2014; (3): 160–163.
  20. Гималова Г.Ф., Карунас А.С., Федорова Ю.Ю. и др. Ассоциация полиморфных вариантов генов Toll-подобных рецепторов с atopическим дерматитом в Республике Башкортостан. *Молекулярная биология.* 2014; 48 (2): 265–276. DOI: 10.7868/S0026898414020062.
  21. Schlesselman J. Case Control Studies: Design, Conduct, Analysis. New York: Oxford University Press; 1982.
  22. Rock F.L., Hardiman G., Timans J.C. et al. A family of human receptors structurally related to Drosophila Toll. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1998; 95 (2): 588–593.
  23. Tantisira K., Klimecki W.T., Lazarus R. et al. Toll like receptor 6 gene (TLR6): single-nucleotide polymorphism frequencies and preliminary association with the diagnosis of asthma. *Genes Immun.* 2004; 5: 343–346. DOI: 10.1038/sj.gene.6364096.
  24. Lau M.Y.Z., Dharmage S.C., Burgess J.A. et al. The interaction between farming/rural environment and TLR2, TLR4, TLR6 and CD14 genetic polymorphisms in relation to early- and late-onset asthma. *Sci. Rep.* 2017; 7: 43681. DOI: 10.1038/srep43681.
  25. Chuchalin A.G., Khaltaev N., Antonov N.S. et al. Chronic respiratory diseases and risk factors in 12 regions of the Russian Federation. *Int. J. COPD.* 2014; 9 (1): 963–974. DOI: 10.2147/COPD.S67283.
  26. Bronchial Asthma in Children. Strategy and Prevention. The National Program. Moscow; 2012 (in Russian).
  27. Titova N.D. A role of the innate immunity for occurrence of allergic diseases. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya.* 2009; 3: 32–39 (in Russian).
  28. Duez C., Gosset P., Tonnel A.B. Dendritic cells and toll-like receptors in allergy and asthma. *Eur. J. Dermatol.* 2006; 16 (1): 12–16.
  29. Cook D.N., Pisetsky D.S., Schwartz D.A. Toll-like receptors in the pathogenesis of human disease. *Nat. Immunol.* 2004; 5: 975–979. DOI: 10.1038/ni1116.
  30. Kormann M.S.D., Depner M., Hartl D. et al. Toll-like receptor heterodimer variants protect from childhood asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008; 122 (1): 86–92.e8. DOI: 10.1016/j.jaci.2008.04.039.
  31. Smit L.A., Siroux V., Bouzigon E. et al. CD14 and toll-like receptor gene polymorphisms, country living, and asthma in adults. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2009; 179 (5): 363–368. DOI: 10.1164/rccm.200810-1533OC.
  32. Bjørnvold M., Munthe-Kaas M.C., Egeland T. et al. A TLR2 polymorphism is associated with type 1 diabetes and allergic asthma. *Genes Immun.* 2009; 10: 181–187. DOI: 10.1038/gene.2008.100.
  33. Qian F.H., Zhang Q., Zhou L.F. et al. Polymorphisms in the Toll-like receptor 2 subfamily and risk of asthma: a case-control analysis in a Chinese population. *J. Invest. Allergol. Clin. Immunol.* 2010; 20: 340–346.
  34. Ortiz-Martínez M.G., Frías-Belén O., Nazario-Jiménez S. et al. A case-control study of innate immunity pathway gene polymorphisms in Puerto Ricans reveals association of toll-like receptor 2 +596 variant with asthma. *BMC Pulm. Med.* 2016; 16 (1): 112. DOI: 10.1186/s12890-016-0272-7.
  35. Hoffjan S., Stemmler S., Parwez Q. et al. Evaluation of the Toll-like receptor 6 Ser249Pro polymorphism in patients with asthma, atopic dermatitis and chronic obstructive pulmonary disease. *BMC Med. Genet.* 2005; 6: 34. DOI: 10.1186/1471-2350-6-34.
  36. Lazarus R., Klimecki W.T., Raby B.A. et al. Single-nucleotide polymorphisms in the Toll-like receptor 9 gene (TLR9): frequencies, pairwise linkage disequilibrium, and haplotypes in three U.S. ethnic groups and exploratory case-control disease association studies. *Genomics.* 2003; 81 (1): 85–91. DOI: 10.1016/S0888-7543(02)00022-8.
  37. Lachheb J., Dhifallah I.B., Chelbi H. et al. Toll-like receptors and CD14 genes polymorphisms and susceptibility to asthma in Tunisian children. *Tissue Antigens.* 2008; 71 (5): 417–425. DOI: 10.1111/j.1399-0039.2008.01011.x.
  38. Lazarus R., Raby B.A., Lange C. et al. Toll-like receptor 10 genetic variation is associated with asthma in two independent samples. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2004; 170 (6): 594–600. DOI: 10.1164/rccm.200404-491OC.
  39. Oh D.Y., Schumann R.R., Hamann L. et al. Association of the toll-like receptor 2 A16934T promoter polymorphism with severe atopic dermatitis. *Allergy.* 2009; 64 (11): 1608–1615. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2009.02066.x.
  40. Novak N., Yu C.F., Bussmann C. et al. Putative association of a TLR9 promoter polymorphism with atopic eczema. *Allergy.* 2007; 62 (7): 766–772. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2007.01358.x.
  41. Kang I., Oh Y.K., Lee S.H. et al. Identification of polymorphisms in the Toll-like receptor gene and the association

Поступила 26.04.17

## References

1. Global Initiative for Asthma. 2017 GINA Reports, Global strategy for asthma management and prevention. Vancouver, USA; 2017. Available at: <http://ginasthma.org/2017-gina-report-global-strategy-for-asthma-management-and-prevention/>

- with allergic rhinitis. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* 2010; 267 (3): 385–389. DOI: 10.1007/s00405-009-1100-y.
19. Rudenko K.A., Tuguz A.R., Anokhina E.N., Muzhenya D.V. Toll-like receptor gene polymorphism associated with family history and the age of bronchial asthma onset. *Immunologiya.* 2014; (3): 160–163 (in Russian).
20. Gimalova G.F., Karunas A.S., Fedorova Yu.Yu. et al. An association between Toll-like receptor gene polymorphism and atopic dermatitis in patients at the Republic of Bashkortostan. *Molekulyarnaya biologiya.* 2014; 48 (2): 265–276. DOI: 10.7868/S0026898414020062 (in Russian).
21. Schlesselman J. Case Control Studies: Design, Conduct, Analysis. New York: Oxford University Press; 1982.
22. Rock F.L., Hardiman G., Timans J.C. et al. A family of human receptors structurally related to Drosophila Toll. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1998; 95 (2): 588–593.
23. Tantisira K., Klimecki W.T., Lazarus R. et al. Toll like receptor 6 gene (TLR6): single-nucleotide polymorphism frequencies and preliminary association with the diagnosis of asthma. *Genes Immun.* 2004; 5: 343–346. DOI: 10.1038/sj.gene.6364096.
24. Lau M.Y.Z., Dharmage S.C., Burgess J.A. et al. The interaction between farming/rural environment and TLR2, TLR4, TLR6 and CD14 genetic polymorphisms in relation to early- and late-onset asthma. *Sci. Rep.* 2017; 7: 43681. DOI: 10.1038/srep43681.

Received April 24, 2017