

УДК 577.218:575.174.015.3:616.23/.24-002.2-02
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2025-1-77-85>

Ассоциация полиморфизма и уровня экспрессии генов Toll-подобных рецепторов с риском развития и тяжестью течения хронической обструктивной болезни легких

Саламайкина С.А.^{1,2}, Корчагин В.И.¹, Миронов К.О.¹, Карнаушкина М.А.³

¹ Центральный научно-исследовательский институт (НИИ) эпидемиологии
Россия, 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, 3а

² Московский физико-технический институт (МФТИ)
Россия, 141701, г. Долгопрудный, Институтский пер., 9

³ Российский университет дружбы народов (РУДН) им. Патриса Лумумбы
Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

РЕЗЮМЕ

Цель: определение вклада генетических факторов врожденного иммунитета в риск развития и особенности течения хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ).

Материалы и методы. В исследование включены 103 пациента с диагнозом «хроническая обструктивная болезнь легких» и 47 условно здоровых человек без хронической бронхолегочной патологии. Определен уровень экспрессии генов *TLR* и аллели однонуклеотидных полиморфизмов rs5743551 (*TLR1*), rs5743708 (*TLR2*), rs3804100 (*TLR2*), rs3806790 (*TLR4*), rs5743810 (*TLR6*), rs3804880 (*TLR8*) методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Результаты. Выявлена тенденция к увеличению доли гомозигот GG в локусе rs5743810 (*TLR6*) у пациентов с тяжелым течением ХОБЛ и обратная корреляция уровня экспрессии генов *TLR2* и *TLR6* с сатурацией кислорода в крови, выраженностью одышки и тяжестью течения заболевания.

Заключение. Для однонуклеотидных полиморфизмов rs5743551 (*TLR1*), rs5743708 (*TLR2*), rs3804100 (*TLR2*), rs4986790 (*TLR4*), rs5743810 (*TLR6*), rs3764880 (*TLR8*) не обнаружено статистически значимой ассоциации. Наблюдаемые тенденции повышения уровня экспрессии генов *TLR* могут быть связаны с возникающим в процессе течения ХОБЛ ремоделированием легочных тканей и активацией пути иммунного ответа.

Ключевые слова: ХОБЛ, *TLR*, однонуклеотидные полиморфизмы, экспрессия генов

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование выполнялось в рамках темы НИОКР государственного задания «Изучение генетической предрасположенности к мультифакторным заболеваниям» (№ АААА-А21-121011890130-7).

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (протокол № 30 от 17.06.2021).

Для цитирования: Саламайкина С.А., Корчагин В.И., Миронов К.О., Карнаушкина М.А. Ассоциация полиморфизма и уровня экспрессии генов Toll-подобных рецепторов с риском развития и тяжестью течения хронической обструктивной болезни легких. *Бюллетень сибирской медицины*. 2025;24(1):77–85. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2025-1-77-85>.

Association of Toll-like receptor polymorphism and gene expression level with the risk of developing chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and its severity

Salamaikina S.A.^{1,2}, Korchagin V.I.¹, Mironov K.O.¹, Karnaushkina M.A.³

¹ Central Research Institute of Epidemiology of the Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing

3a, Novogireevskaya Str., Moscow, 111123, Russian Federation

² Moscow Institute of Physics and Technology (MIPT)

9, Institutsky Lane, Dolgoprudny, 141701, Russian Federation

³ Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University)

6, Miklukho-Maklaya Str., Moscow, 117198, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. Determine the influence of genetic factors of innate immunity on the risk of development and severity of COPD.

Materials and methods. The study included 103 patients diagnosed with chronic obstructive pulmonary disease and 47 conditionally healthy people without any chronic bronchopulmonary pathologies. The expression level of *TLR* genes and alleles of rs5743551 (*TLR1*), rs5743708 (*TLR2*), rs3804100 (*TLR2*), rs3806790 (*TLR4*), rs5743810 (*TLR6*), rs3804880 (*TLR8*) single nucleotide polymorphisms were analyzed via real-time polymerase chain reaction (PCR).

Results. Several tendencies were observed: an increase in the proportion of GG homozygotes in the rs5743810 (*TLR6*) locus in patients with severe COPD and a negative correlation between *TLR2* and *TLR6* genes expression level and oxygen saturation in blood, dyspnea and COPD severity.

Conclusion. No statistically significant association with rs5743551 (*TLR1*), rs5743708 (*TLR2*), rs3804100 (*TLR2*), rs4986790 (*TLR4*), rs5743810 (*TLR6*), rs3764880 (*TLR8*) single nucleotide polymorphisms was found. The observed tendency of the *TLR* gene expression level increase may be associated with the remodeling of lung tissues and activation of the immune response that occur during COPD.

Keywords: COPD, *TLR*, single nucleotide polymorphisms, gene expression

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was carried out as a part of the Research & Development project of the *Study of Genetic Susceptibility to Multifactorial Diseases* state task (No. AAAA-A21-121011890130-7).

Conformity with the principles of ethics. All patients signed informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee of the Medical Institute of the Peoples' Friendship University of Russia (Protocol No. 30 of 17.06.2021).

For citation: Salamaikina S.A., Korchagin V.I., Mironov K.O., Karnaushkina M.A. Association of Toll-like receptor polymorphism and gene expression level with the risk of developing chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and its severity. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2025;24(1):77–85. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2025-1-77-85>.

ВВЕДЕНИЕ

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – гетерогенное заболевание легких, которое характеризуется прогрессирующим ограничением скорости воздушного потока вследствие развития облитерирующего бронхолита, хронического бронхита, эмфиземы и ремоделирования легочной ткани в ответ на действие ингалируемых частиц и газов [1].

Наблюдаемые процессы имеют прогрессирующее течение, связанное с развитием воспаления.

Обострения ХОБЛ приводят к прогрессирующему снижению показателей вентиляционной способности легких, нарастанию дыхательной недостаточности, прогрессированию заболевания и являются одной из самых частых причин обращения пациентов за неотложной медицинской помощью, что сопряжено с существенными экономическими расходами [1].

Несмотря на то что курение является основным фактором риска развития ХОБЛ, не у всех курильщиков развивается клинически значимое поражение легочной ткани, что свидетельствует об участии в формировании ХОБЛ не только поллютантов, но и других факторов, в том числе генетических. Согласно литературным данным, многие реакции клеточного иммунитета, включая цитокиновый ответ, опосредуются Toll-подобными рецепторами (TLRs) [2]. Активация этих рецепторов происходит за счет связывания молекулярных структур патогенов (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) и продуктов повреждения тканей (damage-associated molecular patterns, DAMPs). Уровень активации врожденного иммунитета вследствие хронических воспалительных заболеваний дыхательных путей может быть ассоциирован с полиморфными вариантами генов иммунной системы, в частности – с однонуклеотидными полиморфизмами (ОНП) в генах TLR.

TLR являются медиаторами в механизме воспаления, вызванного курением. Экспрессия гена *TLR2* повышена в клетках моноцитов у курящих [3]. Известно, что повышенный уровень экспрессии *TLR4* и *TLR9* связан с воспалительными процессами в тканях нижних дыхательных путей у пациентов с ХОБЛ [4]. Окислительный стресс и DAMP-индуцированное воспаление, вызванное сигаретным дымом, являются важными механизмами иммунного ответа [5].

Стимулированная органической пылью продукция IL-6 может быть ассоциирована с одним или несколькими синонимичными вариантами ОНП в гене *TLR1* [6]. Для rs1898830 (*TLR2*) и rs11938228 (*TLR2*) показана связь с ускоренным снижением ОФВ-1 и более высоким количеством воспалительных клеток мокроты [7]. В популяционном исследовании сообщалось о связи между полиморфизмами rs4986790 (*TLR4*), rs4986791 (*TLR4*) и rs5743708 (*TLR2*) и развитием ХОБЛ [8]. Обнаружена слабая ассоциация между полиморфизмом rs5743810 (*TLR6*) и риском развития хронических заболеваний нижних дыхательных путей [9]. Чтобы объяснить роль полиморфизмов в генах TLR при ХОБЛ, необходимы дополнительные исследования.

Таким образом, цель настоящего исследования заключалась в определении вклада генетических факторов врожденного иммунитета в риск развития и особенности течения ХОБЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено исследование типа «случай – контроль» с использованием биологического материала, полученного в период с января 2022 по февраль 2024 г. на базе ГБУЗ «ГКБ им. В.В. Виноградова

ДЗМ». Исследование соответствует этическим стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266.

В группу «ХОБЛ» включены пациенты в возрасте от 40 до 70 лет с клинически подтвержденным диагнозом, установленным пульмонологом за 12 мес и более на момент включения в исследование, курящие на момент включения в исследование (индекс курения более 10 пачка/лет), госпитализированные в стационар с обострением ХОБЛ, подписавшие информированное согласие.

В исследование не включались пациенты с ХОБЛ, страдающие тяжелой сопутствующей патологией, онкологическими и психическими заболеваниями, принимающие препараты, имеющие в качестве побочных эффектов поражение легочной ткани, пациенты, которым проводилась вакцинация от пневмококка, а также больные, имеющие другие хронические заболевания бронхолегочной системы, в том числе бронхиальную астму. Критериями исключения являлись выявление у пациента в ходе обследования клинических, лабораторных или инструментальных признаков, свидетельствующих об отсутствии ХОБЛ или позволяющих заподозрить наличие иных причин поражения легочной ткани.

Всем пациентам с ХОБЛ проводилось физикальное обследование, спирометрия с проведением пробы на обратимость бронхообструкции (в соответствии с требованиями ATS) [10]. Оценка тяжести состояния проводилась с использованием индекса BODE (B – body mass index (индекс масс тела), O – obstruction (обструкция), D – dyspnea (одышка), E – exercise tolerance (толерантность к физической нагрузке)) и шкале, предложенной Глобальной инициативой по борьбе с хронической обструктивной болезнью легких (GOLD) [1]. Для исключения другой бронхолегочной патологии и уточнения характера изменений легочной ткани проводилась мультиспиральная компьютерная томография органов грудной клетки (МСКТ ОГК).

В группу контроля включены пациенты со стажем курения не менее 10 пачка/лет с сатурацией $\text{SatO}_2 \geq 95\%$, у которых при проведении спирометрии с бронхолитическим тестом и МСКТ ОГК не было получено данных о заболевании органов дыхания и по результатам трансторакальной эхокардиографии не выявлено дисфункции правого желудочка и повышения среднего давления в легочной артерии.

Для генетических исследований цельную кровь отбирали в вакутейнеры с K₃EDTA в качестве антикоагулянта. Деперсонализированный биологический материал хранили не более 4 ч перед выделением смеси нуклеиновых кислот. В исследовании использовали реагенты и наборы, изготовленные в Центральном научно-исследовательском институте эпидемиологии («АмплиСенс», Москва, Россия). Определение аллелей ОНП и уровня экспрессии генов *TLR* проводили методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Определение аллелей полиморфизмов rs5743551 (*TLR1*), rs5743708 (*TLR2*), rs3804100 (*TLR2*), rs4986790 (*TLR4*), rs5743810 (*TLR6*), rs3764880 (*TLR8*) выполнено согласно методике, опубликованной ранее [11].

Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием набора реагентов «РЕВЕРТА-Л». Для расчета уровня экспрессии целевых генов (*TLR1*, *TLR2*, *TLR4*, *TLR6*, *TLR8*) применялся метод нормализации относительно стабильно экспрессирующихся генов (генов домашнего хозяйства) – *HPRT1*, *SDHA*, *GAPDH* и *TBP*. Индекс для нормализации формировали с применением алгоритма Best Keeper [12], отбирая гены с наименьшим разбросом значений порогового цикла (Ct). Разработка и оптимизация методики определения уровня экспрессии опубликована нами ранее [13].

Статистический анализ проводился с использованием среды R (версия 4.4.0), включая стандартные функции анализа таблиц сопряжения: χ^2 -тест Пирсона и точный тест Фишера. Анализ ассоциации и оценка отношения шансов (ОШ) выполнены с использованием пакетов SNPAssoc [14] и epitools [15]. Для коррекции множественных сравнений использовался метод Холма – Бонферрони. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные приведены в виде медианы и интерквартильного размаха $Me (Q_1; Q_3)$. Все графические результаты получены с помощью пакетов ggplot2 [16] и ggstatsplot [17].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Группа «ХОБЛ» ($n = 103$) включала пациентов с подтвержденным пульмонологом диагнозом. В группе наблюдалось неравномерное распределение исследуемых лиц по полу (80 мужчин и 23 женщины), средний возраст обследуемых – $67,5 \pm 11,6$ года, средний показатель стажа курения – 71 (43; 88) пачка/день. В контрольной группе условно здоровых курящих людей ($n = 47$) средний возраст составил $61,6 \pm 9,4$ года, а средний показатель стажа курения – 65 (32; 79) пачка/день. При сравнении клинико-демографических характеристик выявлено, что группы значимо отличаются по возрасту ($p = 0,0025$).

Клинико-демографические характеристики исследуемых выборок представлены в табл. 1.

Таблица 1

Характеристика исследуемых групп, Me ($Q_1; Q_3$)		
Параметр	ХОБЛ, $n = 103$	Контроль, $n = 47$
Пол, n (%)		
мужской, 117 (72,2%)	80 (77,7%)	36 (76,6%)
женский, 45 (27,8%)	23 (22,3%)	11 (23,4%)
Возраст, годы	69 (60,5; 74)	61 (54; 68)
Одышка, баллы по mMRC	3 (2–3)	–
Индекс курения, пачка/лет	71 (43; 88)	65 (32; 79)
ОФВ1, % от должного (после пробы с бронхолитиком)	47 (45; 59)	92 (86; 98)
ФЖЕЛ, % от должного (после пробы с бронхолитиком)	73 (68; 82)	88 (81; 97)
ОФВ1/ФЖЕЛ (после пробы с бронхолитиком)	0,52 (0,41; 0,64)	0,83 (0,76; 0,91)
Сатурация	93 (90; 95)	97 (95; 98)
Тяжесть обструкции по шкале GOLD	3 (2–3)	0
Тяжесть по шкале BODE	2 (1–3)	1 (0; 1)

Примечание. ОФВ1 – объем форсированного выдоха за 1-ю секунду; ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких.

Проведен анализ ассоциации полиморфных локусов rs5743551 (*TLR1*), rs3804100 (*TLR2*), rs4986790 (*TLR4*), rs5743810 (*TLR6*) и rs3764880 (*TLR8*) с риском развития и тяжестью течения ХОБЛ. Исследуемые группы не различались по частоте аллелей изученных ОНП (табл. 2). Исключение составил локус rs5743708 (*TLR2*), для которого частота редкого аллеля А в группе «ХОБЛ» значимо ниже (0,5%), чем в контрольной группе (9%). Таким образом, редкий аллель может быть ассоциирован с протективным эффектом – риск ХОБЛ у его носителей ниже, чем у носителей аллеля дикого типа (ОШ = 0,05; 95%-й доверительный интервал (ДИ) 0,01–0,43, $p = 0,0005$).

Группу «ХОБЛ» стратифицировали на четыре подгруппы по тяжести заболевания согласно спирометрической классификации тяжести бронхиальной обструкции и рекомендациям [1]. Проведен анализ распределения частот аллелей в исследуемых подгруппах. Статистически значимых отличий между группами по частоте аллелей для исследуемых полиморфных локусов не обнаружено. Для полиморфизма rs5743810 (*TLR6*) наблюдается тенденция к увеличению доли гомозигот GG от группы с умеренной тяжестью заболевания к группе с тяжелым течением ХОБЛ, параллельно со снижением доли редких гомозигот AA при сохранении частоты гетерозигот. В табл. 3 приведены распределение генотипов в локусе rs5743810 (*TLR6*) и статистическая значимость различий между группами 1 и 3.

Таблица 2

Частоты аллелей полиморфных локусов TLR, ассоциированные с риском развития и тяжестью течения ХОБЛ

Локус	Аллель	Группа		Точный тест Фишера, p ($p_{\text{Бонферрони}}$)
		ХОБЛ, $n = 103$	Контроль, $n = 47$	
rs5743551 (TLR1)	A	167 (81%)	73 (78%)	0,5346 (1)
	G	39 (19%)	21 (22%)	
rs5743708 (TLR2)	A	1 (0,5%)	8 (9%)	0,0005 (0,003)
	G	205 (99,5%)	86 (91%)	
rs3804100 (TLR2)	C	9 (4%)	7 (7%)	0,2781 (1)
	T	197 (96%)	87 (93%)	
rs4986790 (TLR4)	A	187 (91%)	88 (94%)	0,5033 (1)
	G	19 (9%)	6 (6%)	
rs5743810 (TLR6)	A	77 (37%)	35 (37%)	1 (1)
	G	129 (63%)	59 (63%)	
rs3764880 (TLR8)	A	160 (78%)	73 (78%)	1 (1)
	G	46 (22%)	21 (22%)	

Таблица 3

Распределение частот генотипов в группе «ХОБЛ» по тяжести течения (по ОФВ1)

Локус	Генотип	Тяжесть течения по ОФВ1				Точный тест Фишера, p ($p_{\text{Холма-Бонферрони}}$)
		1	2	3	4	
rs5743810 (TLR6)	A/A	0 (0%)	7 (20%)	6 (15%)	1 (8%)	0,034 (0,20*)
	A/G	12 (75%)	16 (46%)	15 (39%)	6 (46%)	
	G/G	4 (25%)	12 (34%)	18 (46%)	6 (46%)	

* с поправкой на множественные сравнения (Холма – Бонферрони)

На следующем этапе исследования проанализированы уровни экспрессии генов *TLR* в контрольной группе ($n = 47$) и группе «ХОБЛ» ($n = 33$). На основании анализа стабильности генов домашнего хозяйства в анализируемой выборке сформирован комплексный индекс Best Keeper, основанный на среднем геометрическом значении *St* двух наиболее стабильных генов – *HPRT1* и *SDHA*. Использование нормализации позволяет в определенной степени исключить влияние различий в качестве и количестве исходного материала на получаемые значения. Для определения различий в уровне экспрессии между пациентами с разной тяжестью течения они поделены на подгруппы по каждому анализируемому показателю. В группе пациентов с уровнем сатурации (SatO_2) ниже нормы ($<95\%$) выявлена повышенная экспрессия генов *TLR2* и *TLR6*. Результаты представлены на рис. 1. Похожая тенденция наблюдается и для остальных генов *TLR*, однако результаты сравнения не достигают статистической значимости ($p > 0,05$).

Анализ уровня экспрессии генов *TLR* между подгруппами пациентов по модифицированному опроснику Британского медицинского исследовательско-

го совета для оценки тяжести одышки (mMRC (The Modified Medical Research Council Dyspnea Scale) [18]) показал рост экспрессии генов *TLR2* и *TLR6* при повышении тяжести одышки. Результаты анализа представлены на рис. 2.

В связи с тем, что исследуемые показатели входят в состав оценки тяжести течения заболевания по шкале тяжести (GOLD) [1], мы разделили группу «ХОБЛ» на подгруппы по тяжести течения, объединив подгруппы 1 и 2, принимая эти показатели за легкое и (или) умеренное течение, и подгруппы 3 и 4, предполагая, что эти пациенты с более тяжелой формой заболевания. Результаты проведенного анализа представлены на рис. 3. В исследуемых подгруппах наблюдается тенденция к усилению экспрессии генов *TLR2* и *TLR6* у пациентов с тяжелым течением заболевания и в контрольной группе.

При делении пациентов по степени тяжести ХОБЛ с использованием шкалы А, В, Е (оценка уровня ОФВ1, mMRC и частоты обострений) значимо различались по уровню экспрессии генов *TLR2* и *TLR6* только подгруппы с легким и тяжелым течением.

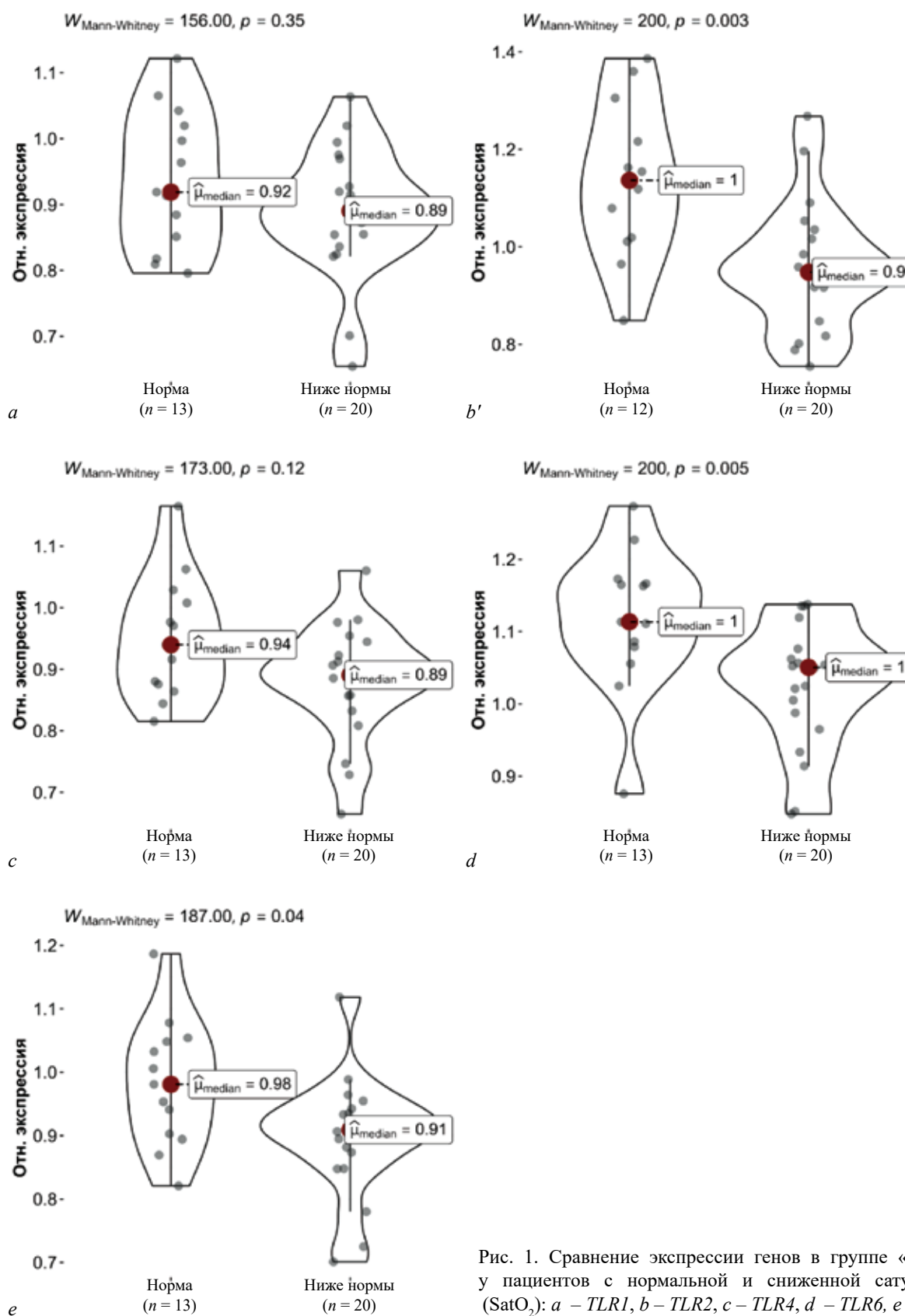
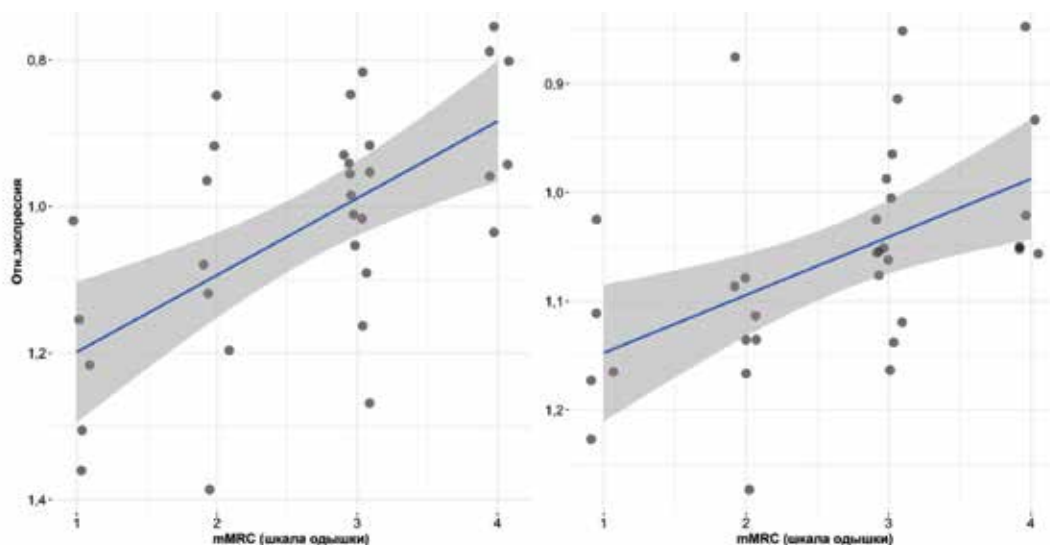


Рис. 1. Сравнение экспрессии генов в группе «ХОБЛ» у пациентов с нормальной и сниженной сатурацией (SatO_2): *a* – *TLR1*, *b* – *TLR2*, *c* – *TLR4*, *d* – *TLR6*, *e* – *TLR8*

$$S = 8640,71, p = 4,53e-04, \hat{\rho}_{\text{Spearman}} = -0,58, CI_{95\%} [-0,78, -0,29], n_{\text{pairs}} = 32$$

$$S = 9392,60, p = 5,40e-04, \hat{\rho}_{\text{Spearman}} = -0,57, CI_{95\%} [-0,77, -0,27], n_{\text{pairs}} = 33$$



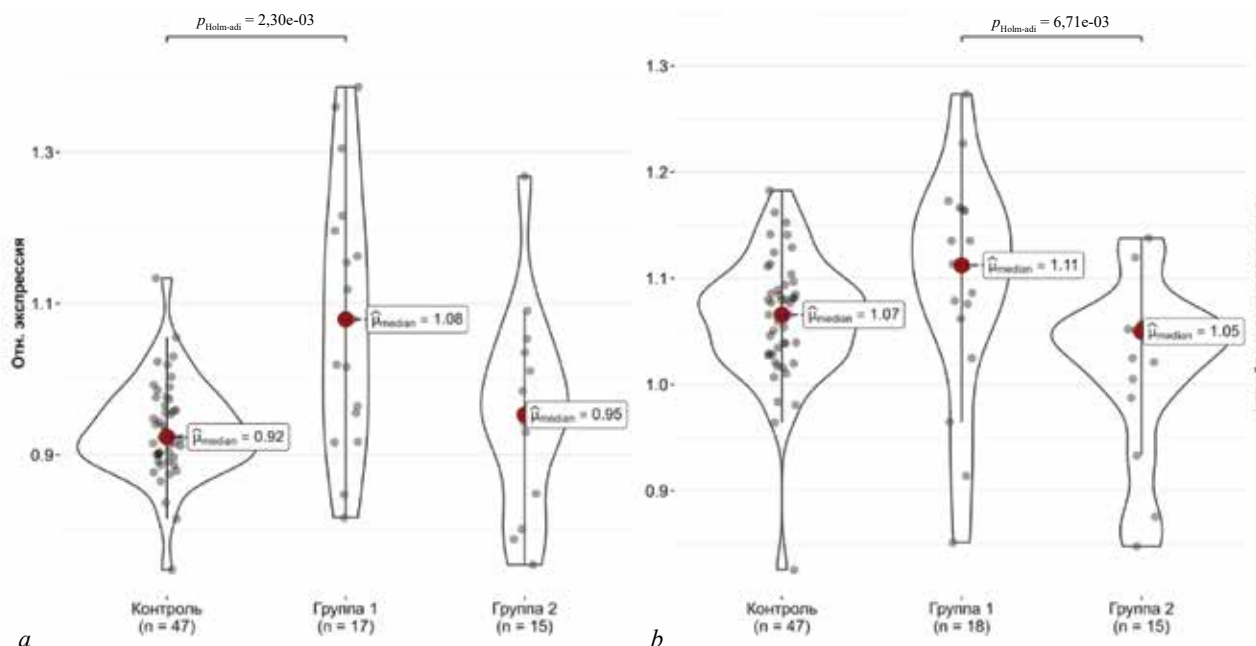
a

b

Рис. 2. Корреляция экспрессии генов со шкалой одышки mMRC: a – TLR2 и b – TLR6

$$\chi^2_{\text{Kruskal-Wallis}}(2) = 11,33, p = 3,46e-03, \hat{\epsilon}^2_{\text{ordinal}} = 0,15, CI_{95\%} [0,05, 1,00], n_{\text{obs}} = 79$$

$$\chi^2_{\text{Kruskal-Wallis}}(2) = 9,36, p = 9,28e-03, \hat{\epsilon}^2_{\text{ordinal}} = 0,12, CI_{95\%} [0,04, 1,00], n_{\text{obs}} = 80$$



a

b

Рис. 3. Экспрессия генов в контрольной группе и подгруппах с легким и тяжелым течением заболевания по шкале тяжести (GOLD) [1]: a – TLR2 и b – TLR6

ОБСУЖДЕНИЕ

Отсутствие статистически значимых связей аллелей и генотипов исследованных полиморфизмов не согласуется с полученными ранее данными об ассоциациях изученных аллелей с другими патологиями нижних дыхательных путей. Ранее нами выявлены ассоциации аллелей rs5743551-G

(TLR1) и rs4986790-G (TLR4) с риском возникновения нетоза [19], являющегося маркером степени воспалительного процесса, а также ассоциации аллеля rs4986790-G (TLR4) с риском развития туберкулеза [20]. Несмотря на то, что обострения ХОБЛ могут быть связаны с развитием бактериального воспаления в легких, ранее полученные нами данные об ассоциации аллеля rs5743551-G (TLR1)

с развитием острой бактериальной инфекции у пациентов с пневмонией [11] не подтвердились в настоящем исследовании, что, вероятно, обусловлено преобладанием в исследуемой группе небактериальных причин обострений. Это, по-видимому, связано с особенностями изучаемого заболевания: основным патогенетическим механизмом развития ХОБЛ является сочетание неблагоприятных сочетаний модифицируемых средовыми факторами (курение, экологическая обстановка), вклад которых несоизмеримо выше, по сравнению с генетическими. Также фактором обострений часто являются вирусные заболевания, иммунологические механизмы защиты от которых отличаются от бактериальной инфекции.

Полученные нами данные согласуются с ранее опубликованными, однако большинство исследований сосредоточено на изучении генов *TLR2* и *TLR4*. В работе S.E. Budulac и соавт. обнаружена ассоциация ОФВ1 с несколькими ОНП в гене *TLR2*, в то же время результаты для локусов rs5743708 и rs3804100 не достигли статистической значимости [7]. В другом исследовании проанализирован вклад аллеля rs5743836 (*TLR9*) в развитие дисфункции альвеолярных макрофагов и прогрессирование ХОБЛ [21].

Изучение связи полиморфных вариантов генов с уровнем экспрессии помогает установить не только роль генетических факторов в возникновении и развитии мультифакторных заболеваний, но и то, как полиморфный вариант влияет на функционирование гена. В нашем исследовании не обнаружено ассоциации ОНП в генах TLR с изменением уровня экспрессии, однако наблюдаемые тенденции к увеличению уровня экспрессии могут быть обусловлены иными факторами. Молекулярные паттерны TLR могут активироваться не только в ответ на патогены, но и в ответ на повреждение легочной ткани [22]. Поскольку развитие ХОБЛ, как правило, связано с длительным воздействием сигаретного дыма, то у них присутствует неинфекционное повреждение легочной ткани.

По данным литературы, при воздействии сигаретного дыма могут активироваться сигнальные каскады системы DAMPs и оксидативного стресса [23]. Оксидативный стресс, как и активация TLR, тесно связан с выработкой интерлейкинов [24, 25]. Увеличение уровня экспрессии *TLR2* и *TLR6* при низком уровне сатурации кислорода в крови и повышении стадии одышки могут быть связаны с активацией оксидативного стресса и выработкой интерлейкинов в ответ на повреждение ткани легких, формирующееся в процессе курения. Повышение уровня интерлейкинов также может способствовать снижению уровня экспрессии генов *TLR2* и *TLR6* при ХОБЛ, что требует дальнейшего изучения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе исследовалась связь полиморфных вариантов генов TLR с вероятностью возникновения и особенностями течения ХОБЛ. Для однонуклеотидных полиморфизмов rs5743551 (*TLR1*), rs5743708 (*TLR2*), rs3804100 (*TLR2*), rs4986790 (*TLR4*), rs5743810 (*TLR6*), rs3764880 (*TLR8*) не обнаружено статистически значимой ассоциации. Наблюдаемые тенденции повышения уровня экспрессии генов TLR могут быть связаны с возникающим в процессе течения ХОБЛ ремоделированием легочных тканей и активацией пути иммунного ответа молекулярными паттернами DAMPs.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease – GOLD 2024. URL: <https://goldcopd.org/> (accessed June 19, 2024).
2. De Nardo D. Toll-like receptors: Activation, signalling and transcriptional modulation. *Cytokine*. 2015;74(2):18118–18119. DOI: 10.1016/j.cyt.2015.02.025.
3. Pons J., Saulea J., Regueiro V., Santos C., López M., Ferrer J. et al. Expression of Toll-like receptor 2 is up-regulated in monocytes from patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir. Res.* 2006;7(1):64. DOI: 10.1186/1465-9921-7-64.
4. Nadigel J., Préfontaine D., Baglole C.J., Maltais F., Bourbeau J., Eidelman D.H. et al. Cigarette smoke increases TLR4 and TLR9 expression and induces cytokine production from CD8+T cells in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir. Res.* 2011;12(1):149. DOI: 10.1186/1465-9921-12-149.
5. Cha S.-R., Jang J., Park S.-M., Ryu S.-M., Cho S.-J., Yang S.-R. Cigarette Smoke-Induced Respiratory Response: Insights into Cellular Processes and Biomarkers. *Antioxidants*. 2023;12(6):1210. DOI: 10.3390/antiox12061210.
6. Smith L.M., Weissenburger-Moser L.A., Heires A.J., Bailey K.L., Romberger D.J., LeVan T.D. Epistatic effect of TLR-1, -6 and -10 polymorphisms on organic dust-mediated cytokine response. *Genes Immun.* 2017;18(2):67–74. DOI: 10.1038/gene.2016.51.
7. Budulac S.E., Boezen H.M., Hiemstra P.S., Lapperre T.S., Vonk J.M., Timens W. et al. Toll-like receptor (TLR2 and TLR4) polymorphisms and chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One*. 2012;7(8):e43124. DOI: 10.1371/journal.pone.0043124.
8. Speletas M., Merentiti V., Kostikas K., Liadaki K., Minas M., Gourgoulanis K. et al. Association of TLR4-T399I polymorphism with chronic obstructive pulmonary disease in smokers. *Clinical and Developmental Immunology*. 2009;2009:1–6. DOI: 10.1155/2009/260286.
9. Hoffjan S., Stemmler S., Parwez Q., Petrasch-Parwez E., Arinir U., Rohde G. 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.
10. Miller M.R. Standardisation of spirometry. *Eur. Respir. J.* 2005;26(2):319–338. DOI: 10.1183/09031936.05.00034805.

11. Salamaikina S., Karnaushkina M., Korchagin V., Litvinova M., Mironov K., Akimkin V. TLRs gene polymorphisms associated with pneumonia before and during COVID-19 pandemic. *Diagnostics*. 2022;13(1):121. DOI: 10.3390/diagnostics13010121.
12. Pfaffl M.W., Tichopad A., Prgomet C., Neuvians T.P. Determination of stable housekeeping genes, differentially regulated target genes and sample integrity: BestKeeper – Excel-based tool using pair-wise correlations. *Biotechnology Letters*. 2004;26(6):509–515. DOI: 10.1023/B:BILE.0000019559.84305.47.
13. Саламайкина С.А., Корчагин В.И., Миронов К.О. Разработка мультиплексной ОТ-ПЦР в режиме реального времени для определения уровня экспрессии генов Толл-подобных рецепторов. *Молекулярная биология* (принята в печать). 2025;59(1):150–160.
14. González J.R., Armengol L., Solé X., Guinó E., Mercader J.M., Estivill X. et al. SNPAssoc: an R package to perform whole genome association studies. *Bioinformatics*. 2007;23(5):654–655. DOI: 10.1093/bioinformatics/btm025.
15. Aragon T.J., Fay M.P., Wollschlaeger D., Omidpanah A. Epi-tools: epidemiology tools. R package version 0.5-10.1. 2020.
16. Wickham H. Ggplot2: elegant graphics for data analysis. New York: Springer, 2009.
17. Patil I. Visualizations with statistical details: The “ggstatsplot” approach. *JOSS*. 2021;6:3167. DOI: 10.21105/joss.03167.
18. Milačić N., Milačić B., Dunjić O., Milojković M. Validity of CAT and MMRC – dyspnea score in evaluation of COPD severity. *AMM*. 2015;54(1):66–70. DOI: 10.5633/amm.2015.0111.
19. Karnaushkina M.A., Guryev A.S., Mironov K.O., Dunaeva E.A., Korchagin V.I., Bobkova O.Yu. et al. Associations of Toll-like receptor gene polymorphisms with NETosis activity as prognostic criteria for the severity of pneumonia. *Sovrem Tekhnologii Med*. 2021;13(3):47–53. DOI: 10.17691/stm2021.13.3.06.
20. Кулабухова Е.И., Миронов К.О., Дунаева Е.А., Киреев Д.Е., Наркевич А.Н., Зиминова В.Н. и др. Ассоциация полиморфизмов в генах Толл-подобных рецепторов и маннозо-связывающего лектина с риском развития туберкулеза у пациентов с ВИЧ-инфекцией. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2019;11(4):61–69. DOI: 10.22328/2077-9828-2019-11-4-61-69.
21. Berenson C.S., Kruzel R.L., Wrona C.T., Mammen M.J., Sethi S. Impaired Innate COPD alveolar macrophage responses and Toll-like receptor-9 polymorphisms. *PLoS One*. 2015;10(9):e0134209. DOI: 10.1371/journal.pone.0134209.
22. Chaudhuri N., Dower S.K., Whyte M.K.B., Sabroe I. Toll-like receptors and chronic lung disease. *Clinical Science*. 2005;109(2):125–133. DOI: 10.1042/CS20050044.
23. Кубышева Н.И., Соодаева С.К., Постникова Л.Б., Кузьмина Е.И., Контрощикова К.Н., Климанов И.А. Исследование показателей оксидативного стресса у больных с обострением хронической обструктивной болезни легких. *Пульмонология*. 2020;29(6):708–715. DOI: 10.18093/0869-0189-2019-29-6-708-715.
24. Амирова Т.О. Генетические механизмы эссенциальной эмфиземы легких. *Пульмонология*. 2022;32(4):608–615. DOI: 10.18093/0869-0189-2022-32-4-608-615.
25. Sidletskaya K., Vitkina T., Denisenko Y. The role of Toll-like receptors 2 and 4 in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis*. 2020;15:1481–1493. DOI: 10.2147/COPD.S249131.

Информация об авторах

Саламайкина Светлана Андреевна – науч. сотрудник, лаборатория молекулярных методов изучения генетических полиморфизмов, Центральный НИИ эпидемиологии; аспирант, кафедра молекулярной и клеточной биологии, МФТИ, г. Долгопрудный, salamaykina@cmd.su, <https://orcid.org/0000-0002-2517-5048>

Корчагин Виталий Иванович – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория молекулярных методов изучения генетических полиморфизмов, Центральный НИИ эпидемиологии, г. Москва, Korchagin@cmd.su, <https://orcid.org/0000-0003-2264-6294>

Миронов Константин Олегович – д-р мед. наук, зав. лабораторией молекулярных методов изучения генетических полиморфизмов, Центральный НИИ эпидемиологии, г. Москва, mironov@cmd.su, <https://orcid.org/0000-0001-8207-9215>

Карнаушкина Мария Александровна – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева, РУДН им. Патриса Лумумбы, г. Москва, kar3745@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8791-2920>

(✉) Саламайкина Светлана Андреевна, salamaykina@cmd.su

Поступила в редакцию 24.06.2024;
одобрена после рецензирования 29.07.2024;
принята к публикации 12.09.2024