

ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ TLR2 И TLR4 ПРИ УСПЕШНОМ И ПАТОЛОГИЧЕСКОМ СТАРЕНИИ

Хасанова¹ Е. М.

Греченко¹ В. В.

Громова¹ Т. В.

Сходова² С. А.

Ганковская¹ Л. В.

¹Федеральное Государственное Автономное Образовательное Учреждение
Высшего Образования "Российский Национальный Исследовательский
Медицинский Университет имени Н.И. Пирогова" Министерства
здравоохранения Российской Федерации

²Федеральное Государственное Бюджетное Научное Учреждение «Научно-
исследовательский институт имени И.И. Мечникова»

ALTERATIONS IN EXPRESSION OF TLR2 AND TLR4 DURING SUCCESSFUL AND PATHOLOGICAL AGING

Khasanova^a E. M.

Grechenko^a V. V.

Gromova^a T. V.

Skhodova^b S. A.

Gankovskaya^a L. V.

^a Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «N.I.
Pirogov Russian National Research Medical University» of the Ministry of Health
of the Russian Federation

^b Federal State Budgetary Scientific Institution «I. Mechnikov Research Institute for
Vaccines and Sera»

Резюме

В настоящее время общепризнанной теорией старения является теория воспалительного старения. Ведущая роль в его развитии отводится механизмам врожденного иммунитета. Ключевыми рецепторами врожденного иммунитета являются TLR, распознающие широкий спектр лигандов. Активация TLR приводит к продукции провоспалительных медиаторов и обеспечивает реализацию эффекторных механизмов врожденной иммунной защиты. Закономерности возрастных изменений функционирования системы TLR остаются предметом изучения. **Цель** работы - исследование экспрессии рецепторов TLR2 и TLR4 в клетках периферической крови долгожителей и лиц старческого возраста на уровне генов и поверхностных молекул. **Методы.** В ходе исследования проанализированы уровни экспрессии генов и молекул TLR2 и TLR4 у молодых доноров ($n = 50$), лиц старческого возраста ($n = 50$) и долгожителей ($n = 100$). Анализ экспрессии генов TLR2 и TLR4 проводился методом ПЦР-РВ. Определение поверхностной экспрессии TLR2 и TLR4 на поверхности клеток периферической крови осуществлялось с помощью проточнойцитофлуориметрии. **Результаты.** В настоящем исследовании впервые проведен анализ возрастной динамики экспрессии генов и молекул TLR2 и TLR4. Выявлено, что в группах пациентов старческого возраста и долгожителей экспрессия TLR2 увеличена как на уровне гена, так и на поверхности клеток, по сравнению с молодыми донорами. При этом экспрессия TLR4, напротив, снижалась с возрастом. Исследуемые группы пациентов были разделены в зависимости от фенотипа старения на две подгруппы: успешное и патологическое старение. У лиц старческого возраста наблюдается повышение TLR2 при обоих фенотипах, в то время как TLR4 оказался снижен при патологическом фенотипе старения. В группе долгожителей с патологическим фенотипом старения наблюдается снижение как TLR2, так и TLR4, по сравнению с молодыми лицами. У долгожителей с успешным старением на уровне гена и белка наблюдалось повышение экспрессии TLR2 и сравнимая с группой молодых лиц экспрессия TLR4.

Выводы. Таким образом, у долгожителей и лиц старческого возраста с патологическим фенотипом старения изменения в экспрессии TLR2 имеют разнонаправленный характер. Выявленные изменения в экспрессии TLR2 и TLR4, наблюдающиеся в разных возрастных группах могут рассматриваться как маркеры различных фенотипов старения.

Ключевые слова: Врожденный иммунитет, старение, рецепторы, экспрессия, TLR, долгожители

Abstract.

The generally accepted theory of aging is the theory of inflammaging. The leading role in its development is played by the mechanisms of innate immunity. Key receptors of innate immunity are TLRs. The patterns of age-related changes in the functioning of the TLR system remain the subject of study. **The purpose** of the work is to study the expression of TLR2 and TLR4 receptors in peripheral blood cells of centenarians and elderly people at the level of genes and surface molecules. **Methods.** The study analyzed the expression of genes and molecules TLR2 and TLR4 in young donors (n = 50), elderly people (n = 50) and centenarians (n = 100). Analysis of TLR2 and TLR4 gene expression was carried out using RT-PCR. Determination of surface expression of TLR2 and TLR4 was carried out using flow cytometry. **Results.** This study is the first to analyze the age-related dynamics of expression of genes and molecules TLR2 and TLR4. It was revealed that in groups of elderly patients and long-livers, TLR2 expression is increased both at the gene and on the cell surface, compared to young donors. In contrast, TLR4 expression decreased with age. Studied groups of patients were divided depending on the aging phenotype into two subgroups: successful and pathological aging. In elderly individuals, TLR2 is increased in both phenotypes, while TLR4 is decreased in the pathological aging. In the group of centenarians with a pathological aging, a decrease in both TLR2 and TLR4 is observed, compared with young. In long-livers with successful aging, an increase in TLR2 expression was observed at the gene and protein level and TLR4 expression was comparable to the group of young

individuals. **Conclusions.** Identified changes in the expression of TLR2 and TLR4, observed in different age groups, can be considered as markers of various aging phenotypes.

Keywords: Innate immunity, aging, receptors, expression, TLR, centenarians

Введение.

В настоящее время общепризнанной теорией старения является теория inflammaging - воспалительного старения. Ведущая роль в развитии воспалительного старения отводится механизмам врожденного иммунитета [7]. Ключевыми рецепторами врожденного иммунитета являются Toll-подобные рецепторы, распознающие широкий спектр экзогенных и эндогенных сигналов опасности. Активация TLR приводит к продукции провоспалительных и противовоспалительных медиаторов и обеспечивает реализацию эффекторных механизмов врожденной иммунной защиты [8]. С возрастом наблюдаются изменения в экспрессии Toll-рецепторов, а также в ассоциированных с ними сигнальных путях, следствием чего может быть изменение функции врожденных и адаптивных реакций иммунитета, приводящих к развитию возраст-ассоциированных воспалительных заболеваний и увеличению числа и тяжести инфекционных осложнений в старческом возрасте [9, 11, 12].

Закономерности возрастных изменений функционирования системы TLR остаются предметом изучения. Целью данной работы явилось исследование экспрессии рецепторов TLR2 и TLR4 в клетках периферической крови у долгожителей и лиц старческого возраста при различных фенотипах старения.

Исследование проводилось в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» и было одобрено локальным этическим комитетом при ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (заседание №24 от 20.11.2023). Все пациенты, включенные в исследование давали информированное согласие на участие, а также согласие на обработку персональных данных.

В исследование включались лица следующих возрастных групп:

1) группа долгожителей, $n = 100$, (средний возраст – 94 (90; 97)),

2) группа лиц старческого возраста, $n = 49$,

3) группа молодых доноров, составивших группу сравнения, $n = 50$.

Участники исследования проходили плановое стационарное лечение в ГБУЗ ГВВ № 2 ДЗ и ГБУ Геронтологический центр г. Москвы. У пациентов групп 1 и 2 проводились определение индекса коморбидности Чарльсон, оценка краткой батареи тестов физического функционирования (SPPB) и краткой шкалы оценки психического статуса (MMSE) [4, 6, 10]. На основании выбранных критериев группы 1 и 2 были разделены на 2 подгруппы в зависимости от фенотипа старения – патологическое старение и успешное старение.

1) Критерии включения в подгруппу патологического старения: индекс Чарльсон ≥ 3 , индекс SPPB ≤ 7 баллов, MMSE ≤ 27 ;

2) Критерии включения в подгруппу успешного старения: индекс Чарльсон 1-2, индекс – SPPB > 7 баллов, MMSE > 27 .

Определение экспрессии генов *TLR2* и *TLR4*. Из клеток крови выделяли нуклеиновые кислоты («АмплиПрайм РНКСорб», РФ) и проводили реакцию обратной транскрипции («ОТ-1» СИНТОЛ, РФ) в соответствии с протоколом производителя. Анализ экспрессии генов *TLR2* и *TLR4* проводился методом ПЦР-РВ в присутствии SYBR Green (ДНК Технология, Россия). Праймеры и реактивы для ПЦР реакции были синтезированы фирмой Синтол (Россия). Экспрессию целевых генов нормализовали на ген домашнего хозяйства – β -актин, оценивали по методу $\Delta\Delta C_t$ [2].

Определение экспрессии *TLR2* и *TLR4* на поверхности клеток периферической крови осуществлялось с помощью проточной цитофлюориметрии по описанной ранее методике [3]. Клетки окрашивались моноклональными антителами (МАТ) против *TLR2* (Alexa Fluor 488, e-Biosciences, США), и *TLR4* (PE, AntibodySystem, Франция), а также МАТ против CD45 (PC5.5, Beckman Coulter, США), и CD14 (APC, Beckman Coulter, США) и оценивались на проточном цитометре (Navios Beckman Coulter, США). Исследуемые популяции клеток гейтировались по показателям светорассеяния, а также маркерам CD45 и CD14. Средняя интенсивность

флюоресценции клеток (MFI) определялась, как отношение средней интенсивности флюоресценции образца к средней интенсивности флюоресценции соответствующего изотипического контроля.

Статистическая обработка данных проведена с использованием программы GraphPad Prism 9.0.0. Данные были проверены на нормальность распределения, определены их дисперсии. Сравнение исследуемых групп проводили с использованием критерия Краскела-Уоллиса и апостериорным критерием Данна.

Результаты

На первом этапе исследования были проанализированы уровни экспрессии генов и молекул TLR2 и TLR4 в клетках периферической крови молодых доноров, лиц старческого возраста и долгожителей (рис. 1).

Рисунок 1. А – Экспрессия гена и белка TLR2, Б - экспрессия гена и белка TLR4 в лейкоцитах пациентов исследуемых групп. Примечания: на рисунках 1, 2, 3 представлены значения поверхностной экспрессии TLR2 и TLR4 в CD45+CD14+ клетках; данные представлены в виде Ме (Q1; Q3); *- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$.

Показатели экспрессии гена *TLR2* увеличивались как в группах старческого возраста, так и долгожителей, по сравнению с группой молодых доноров ($p < 0,01$). На моноцитах периферической крови поверхностная экспрессия молекулы TLR2 также была достоверно повышена ($p < 0,05$) относительно группы сравнения (Рис. 1А). При этом анализ TLR4, напротив, выявил статистически значимое снижение показателей экспрессии гена и молекул ($p < 0,05$) как в группе старческого возраста, так и в группе долгожителей (Рис 1Б).

Дальнейший анализ уровней экспрессии TLR2 и TLR4 в зависимости от фенотипа старения позволил выявить различия между успешным и патологическим типами старения.

На рисунке 2 представлены уровни экспрессии гена и молекулы TLR2 в исследуемых группах в зависимости от фенотипа старения. У долгожителей с успешным фенотипом старения отмечаются наиболее высокие значения экспрессии TLR2 как на уровне гена, так и поверхностной экспрессии на CD14+ моноцитах (рис. 2А). В то время как в группе долгожителей с патологическим старением, напротив, наблюдалось снижение показателей экспрессии TLR2, до значений, сопоставимых с уровнем молодых лиц (рис. 2Б). При этом у пациентов старческого возраста при патологическом фенотипе старения наблюдалось увеличение экспрессии гена и поверхностной экспрессии TLR2 как в сравнении с молодыми донорами, так и в сравнении с аналогичной группой долгожителей (рис. 2Б). Успешный фенотип в старческом возрасте характеризовался более низкими показателями экспрессии TLR2, чем у долгожителей (рис. 2А).

Рисунок 2. А – Экспрессия гена и белка TLR2 при успешном старении, Б - экспрессия гена и белка TLR2 при патологическом старении в лейкоцитах пациентов исследуемых групп. Примечания: данные представлены в виде Ме (Q1; Q3); * - статистически значимые отличия от группы молодых доноров, # - статистически значимые отличия группы долгожителей от лиц старческого возраста. *-p<0,05; **-p<0,01, #-p<0,05.

Рисунок 3. А – Экспрессия гена и белка TLR4 при успешном старении, Б - экспрессия гена и белка TLR4 при патологическом старении в лейкоцитах пациентов исследуемых групп. Примечания: данные представлены в виде Ме (Q1; Q3); *-p<0,05; **-p<0,01.

Оценка экспрессии гена и белка TLR4 не выявила значимых различий в группе успешного фенотипа старения ни между лицами старческого возраста и долгожителями, ни между молодыми донорами (Рис. 1А). При патологическом типе старения экспрессия гена *TLR4* была снижена как у лиц

старческого возраста, так и у долгожителей, в сравнении с молодыми донорами. При этом в в группе долгожителей с патологическим старением этот показатель был в 3 раза ниже, в сравнении с долгожителями с успешным типом ($p<0,01$). При анализе уровней поверхностной экспрессии TLR4 на моноцитах наблюдалась тенденция снижению в группах старческого возраста и долгожителей с обоими фенотипами старения ($p<0,1$).

Обсуждение

Изучение возрастных изменений в системе распознавания врожденного иммунитета представляет собой крайне актуальную задачу, поскольку имеющиеся литературные данные о возрастных изменениях экспрессии TLR на клетках периферической крови крайне ограничены и неоднозначны [5,13].

В настоящем исследовании впервые проведен анализ экспрессии генов и молекул TLR2 и TLR4 у лиц разных возрастных групп с учетом фенотипов старения: патологического и успешного. Данные поверхностной экспрессии были соотнесены с показателями экспрессии генов этих рецепторов, выявленные закономерности подтверждаются и имеют одинаковый характер изменений.

Нами показано, что в группах пациентов старческого возраста и долгожителей экспрессия TLR2 увеличена как на уровне гена, так и на поверхности клеток, по сравнению с молодыми донорами. При этом экспрессия TLR4, напротив, снижалась с возрастом.

Старческий возраст является критическим этапом, формирующим дальнейшее протекание процессов старения и окончательный переход к здоровому или патологическому долголетию, поскольку в этот период наиболее часто происходит проявление возраст-ассоциированных заболеваний. Полученные данные показывают, что при патологическом старении у лиц старческого возраста наблюдается самый высокий уровень экспрессии TLR2 среди обследованных групп, в то время как экспрессия TLR4 снижена. В исследовании на животных получены сходные результаты, экспрессия TLR4 на моноцитах старых мышей снижена по сравнению с

151 молодыми животными, в то время, как экспрессия TLR2 повышена [14].
152 Рецептор TLR2 образует гетеродимеры с TLR1, TLR4, TLR6 и TLR10, что
153 обуславливает широкий спектр связываемых им эндогенных и экзогенных
154 лигандов, концентрация которых возрастает в организме с возрастом. Таким
155 образом, значительное повышение экспрессии TLR2 на системном уровне в
156 старческом возрасте может выступать в качестве неблагоприятного
157 прогностического признака развития патологического фенотипа старения.
158 Успешное старение в этой возрастной группе в меньшей степени
159 сопровождается повышением экспрессии TLR2, а экспрессия TLR4 остается
160 на уровне молодых лиц.

161 У лиц старческого возраста и долгожителей с патологическим
162 фенотипом старения изменения в экспрессии TLR2 имеют разнонаправленный
163 характер. Долгожители представляют особую группу лиц, успешно
164 перешедших 90-летний рубеж, несмотря на наличие ряда сопутствующих
165 патологий. Согласно социо-демографическим данным в категорию
166 долгожителей попадает менее 1% населения России [1]. В группе
167 долгожителей с патологическим фенотипом старения наблюдалось снижение
168 как TLR2, так и TLR4, по сравнению с молодыми лицами, что может
169 свидетельствовать о дефекте системы распознавания врожденного
170 иммунитета. У долгожителей с успешным старением выявлено повышение
171 экспрессии TLR2 и сопоставимая с группой молодых лиц экспрессия TLR4.
172 Это говорит о сохранности, либо повышении функции системы TLR в данной
173 возрастной группе, что может быть значимым маркером успешного
174 долголетия.

175 Таким образом, выявляемые изменения в экспрессии TLR2 и TLR4,
176 наблюдающиеся в разных возрастных группах могут рассматриваться как
177 маркеры различных фенотипов старения.

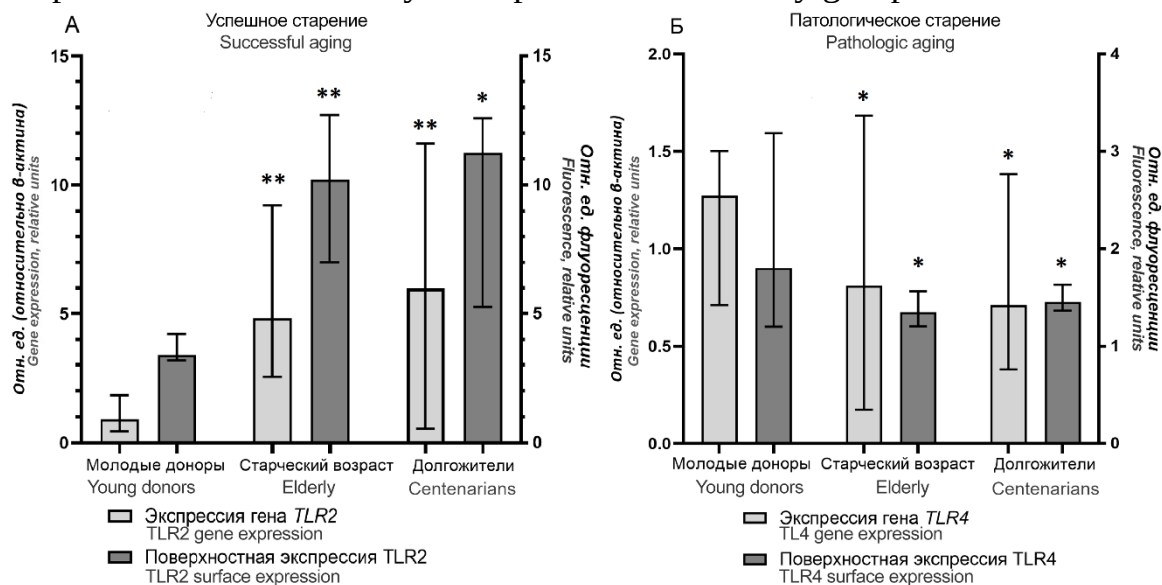
178
179 **Благодарности.**

180 Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского
181 научного фонда № 23-15-00137, <https://rscf.ru/project/23-15-00137/>

РИСУНКИ

Рисунок 1. А – Экспрессия гена и белка TLR2, Б - экспрессия гена и белка TLR4 в лейкоцитах пациентов исследуемых групп.

Figure 1. A - Expression of the gene and protein TLR2, B - expression of the gene and protein TLR4 in leukocytes of patients in the study groups.

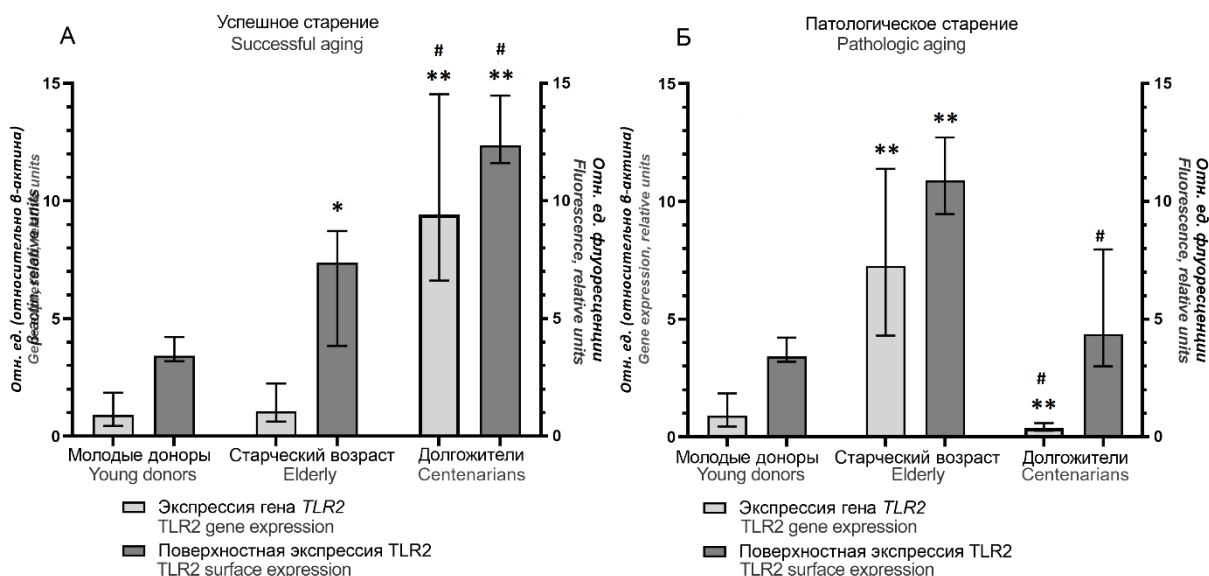


Примечания: на рисунках 1, 2, 3 представлены значения поверхностной экспрессии TLR2 и TLR4 в CD45+CD14+ клетках; данные представлены в виде Me (Q1; Q3); *-p<0,05; **-p<0,01.

Notes: Figures 1, 2, 3 show the surface expression values of TLR2 and TLR4 in CD45+CD14+ cells; data are presented as Me (Q1; Q3); *-p<0.05; **-p<0.01.

Рисунок 2. А – Экспрессия гена и белка TLR2 при успешном старении, Б - экспрессия гена и белка TLR2 при патологическом старении в лейкоцитах пациентов исследуемых групп.

Figure 2. A - Expression of the gene and protein TLR2 during successful aging, B - expression of the gene and protein TLR2 during pathological aging in leukocytes of patients in the study groups.



Примечания: данные представлены в виде Me (Q1; Q3);

* - статистически значимые отличия от группы молодых доноров,

- статистически значимые отличия группы долгожителей от лиц старческого возраста.

*-p<0,05; **-p<0,01, #-p<0,05.

Notes: Data are presented as Me (Q1; Q3);

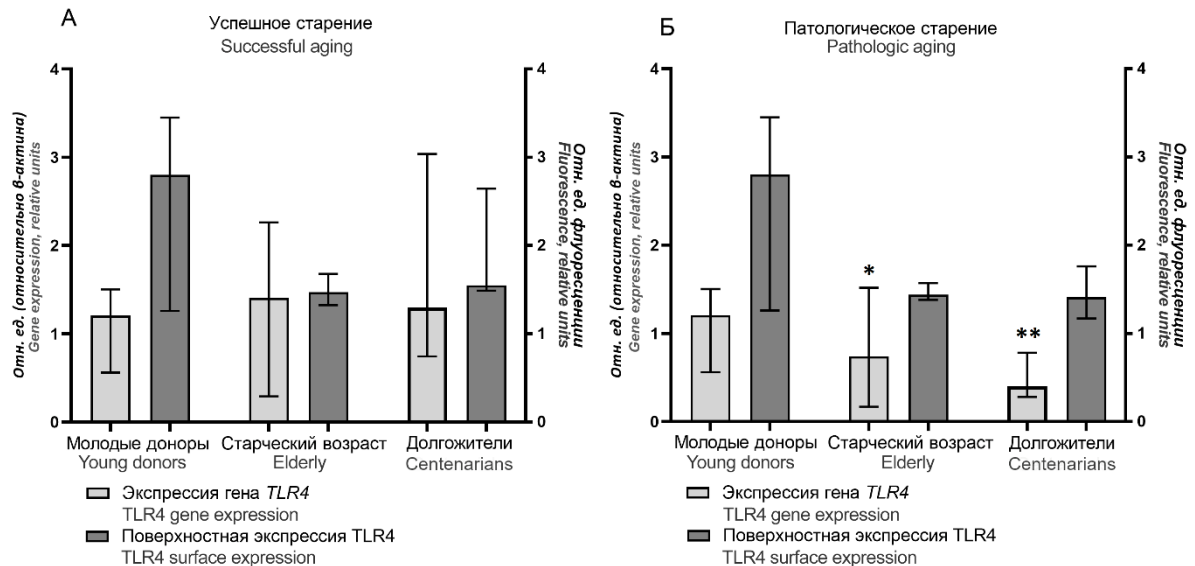
* - statistically significant differences from the group of young donors,

- statistically significant differences between the group of centenarians and the elderly.

*-p<0.05; **-p<0.01, #-p<0.05.

Рисунок 3. А – Экспрессия гена и белка TLR4 при успешном старении, Б - экспрессия гена и белка TLR4 при патологическом старении в лейкоцитах пациентов исследуемых групп.

Figure 3. A - Expression of the TLR4 gene and protein during successful aging, B - expression of the TLR4 gene and protein during pathological aging in leukocytes of patients in the study groups.



Примечания: данные представлены в виде Me (Q1; Q3); *-p<0,05; **-p<0,01.
Notes: Data are presented as Me (Q1; Q3); *-p<0.05; **-p<0.01

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДАННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Хасанова Елена Минсалимовна - ассистент кафедры иммунологии медико-биологического факультета Федерального Государственного Автономного Образовательного Учреждения Высшего Образования "Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация

Почтовый адрес для переписки г. Москва 117513, ул. Островитянова д. 1

E-mail: joimolino@gmail.com , телефон +79163019357

Khasanova Elena Minsalimovna - Assistant of the Department of Immunology of Medico-Biological Faculty Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «N.I. Pirogov Russian National Research Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation

Mailing address for correspondence: Moscow 117513, Ostrovityanova str., 1

E-mail: joimolino@gmail.com , +79163019357

Блок 2. Информация об авторах

Греченко Вячеслав Владимирович. - канд. мед. наук, доцент кафедры иммунологии медико-биологического факультета ФГАОУ ВО «РНИМУ имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

E-mail: grechenko_v@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0003-2582-3372>

Grechenko Vyacheslav V. – PhD, associate professor of Department of Immunology of Medico-Biological Faculty Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «N.I. Pirogov Russian National Research Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation

Громова Татьяна Вячеславовна - канд. мед. наук, доцент кафедры иммунологии медико-биологического факультета ФГАОУ ВО «РНИМУ имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
E-mail: tvlevashova@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-4839-5860>

Gromova Tatiana V. – PhD, associate professor of Department of Immunology of Medico-Biological Faculty Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «N.I. Pirogov Russian National Research Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation

Сходова Светлана Анатольевна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов регуляции иммунитета ФГБУ «НИИВС им. И.И. Мечникова», Москва, Российская Федерация

E-mail: skhodova2009@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0002-2342-9307>

Skhodova Svetlana A. – PhD, Leading Researcher of Laboratory of Regulation Mechanisms of Immunity of Federal State Budgetary Scientific Institution “I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera”

Ганковская Людмила Викторовна - доктор. мед. наук, профессор кафедры иммунологии медико-биологического факультета ФГАОУ ВО «РНИМУ имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

E-mail: lvgan@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0003-1271-3078>

Gankovskaya Lyudmila V. – MD, PhD, Professor of Department of Immunology of Medico-Biological Faculty Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «N.I. Pirogov Russian National Research Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation

Блок 3. Метаданные статьи

ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ TLR2 И TLR4 ПРИ УСПЕШНОМ И ПАТОЛОГИЧЕСКОМ СТАРЕНИИ ALTERATIONS IN EXPRESSION OF TLR2 AND TLR4 DURING SUCCESSFUL AND PATHOLOGICAL AGING

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ЭКСПРЕССИЯ TLR ПРИ СТАРЕНИИ
TLR EXPRESSION DURING AGING

Ключевые слова: Врожденный иммунитет, старение, рецепторы, экспрессия, TLR, долгожители

Keywords: Innate immunity, aging, receptors, expression, TLR, centenarians

Раздел Объединенный иммунологический форум 2024

Количество страниц текста – 7

Количество таблиц – 0

Количество рисунков – 3

Дата поступления: 29.03.2023

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Андреев Е.М., Вологирова Л.А., Воробьева О.Д., Денисенко М.Б., Иванова А.Е., Ионцев В.А., Моруга А.С., Харькова Т.Л., Чудиновских О.С., Чумарина В.Ж. Демографический ежегодник России. 2023. - М.: Росстат, 2023, 256 с.	Andreev E.M., Vologirova L.A., Vorobieva O.D., Denisenko M.B., Ivanova A.E., Iontcev V.A., Moruga A.S., Kharkova T.L., Chudinovskikh O.S., O.S. Chumarina O.S. The Demographic Yearbook of Russia. 2023: Statistical Handbook/ D 31 Rosstat. - М., 2023 – 256 p.	https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Demogr_ejegod_2023.pdf

2	Бурмакина В.В., Ганковская Л.В., Насаева Е.Д., Хасанова Е.М., Греченко В.В., Стражеско И.Д., Городищенская С.В. Связь инфламмасомного комплекса и цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-10 с патологическим фенотипом старения у долгожителей // Иммунология. -2023. - Т. 44, №. 6. - С. 754-763.	Burmakina V.V., Gankovskaya L.V., Nasaeva E.D., Khasanova E.M., Grechenko V.V., Strazhesko I.D., Gorodishchenskaya S.V. Link between the inflammasome complex and cytokines IL-1 β and IL-10 and pathological phenotype of aging in centenarians. Immunologiya, 2023, Vol. 44, no 6, pp. 754–63.	doi:10.33029/1816-2134
3	Хорева М.В., Смирнова А.Д., Латышева Т.В., Захаров М.В. Анализ экспрессии TLR2 и TLR4 на клетках периферической крови больных бронхиальной астмой // Российский иммунологический журнал. - 2016. -Т.10, № 3(19). - С. 358-360		https://www.elibrary.ru/download/elibrary_32775000_36719796.pdf

4	Arevalo-Rodriguez I., Smailagic N., Roqué-Figuls M., Ciapponi A., Sanchez-Perez E., Giannakou A., Pedraza O.L., Bonfill Cosp X., Cullum S. Mini-Mental State Examination (MMSE) for the early detection of dementia in people with mild cognitive impairment (MCI). Cochrane Database Syst Rev., 2021, Vol. 7, no 7, pp. 1-68		doi: 10.1002/14651858.CD010783.pub3
5	Ashida K., Miyazaki K., Takayama E., Tsujimoto H., Ayaori M., Yakushiji T., Iwamoto N., Yonemura A., Isoda K., Mochizuki H., Hiraide H., Kusuhara M., Ohsuzu F. Characterization of the expression of TLR2 (toll-like receptor 2) and TLR4 on circulating monocytes in coronary artery disease. J		doi: 10.5551/jat.12.53.

	Atheroscler Thromb., 2005, Vol. 12, no 1, pp. 53-60.		
6	Charlson M., Carrozzino D., Guidi J., Chiara Patierno C. Charlson Comorbidity Index: A Critical Review of Clinimetric Properties. Psychother Psychosom, 2022. Vol. 81, pp. 8-35.		doi: 10.1159/000521288
7	Fulop T., Larbi A., Pawelec G., Khalil A., Cohen A.A., Hirokawa K., Witkowski J.M., Franceschi C. Immunology of Aging: the Birth of Inflammaging. Clin Rev Allergy Immunol., 2023. Vol. 64, no 2, pp. 109-122.		doi:10.1007/s12016-021-08899-6
8	Lannoy V., Côté-Biron A., Asselin C., Rivard N. TIRAP, TRAM, and Toll-Like Receptors: The Untold Story. Mediators Inflamm., 2023. Vol. 7, pp. 1-13.		doi: 10.1155/2023/2899271

9	Oh S.J., Lee J.K., Shin O.S. Aging and the Immune System: the Impact of Immunosenescence on Viral Infection, Immunity and Vaccine Immunogenicity. Immune Netw., 2019, Vol. 19, no 6, pp. 1-18.		doi: 10.4110/in.2019.19.e37
10	Ramírez-Vélez R., López Sáez de Asteasu M., Morley J., Cano- Gutierrez C., Izquierdo M. Performance of the Short Physical Performance Battery in Identifying the Frailty Phenotype and Predicting Geriatric Syndromes in Community- Dwelling Elderly. The journal of nutrition, health & aging, 2020. Vol. 25, pp. 209-217.		doi: 10.1007/s12603-020-1484-3
11	Renshaw M., Rockwell J., Engleman C., Gewirtz A., Katz J., Sambhara S. Cutting edge:		doi: 10.4049/jimmunol.169.9.4697

	impaired Toll-like receptor expression and function in aging. J Immunol., 2002, Vol. 169, no 9, pp. 4697-701.		
12	Shaw A.C. Effects of Aging on Human Toll-Like Receptor Function. Springer, Handbook of Immunosenescence, 2018, pp. 1-12.		https://doi.org/10.1007/978-3-319-64597-1_98-1
13	Stewart L.K., Flynn M.G., Campbell W.W., Craig B.A., Robinson J.P., McFarlin B.K., Timmerman K.L., Coen P.M., Felker J., Talbert E. Influence of exercise training and age on CD14+ cell-surface expression of toll-like receptor 2 and 4. Brain Behav Immun., 2005 Vol. 19, no 5, pp. 389-97.		doi: 10.1016/j.bbi.2005.04.003

14	Strohacker K., Breslin W.L., Carpenter K.C., McFarlin B.K. Aged mice have increased inflammatory monocyte concentration and altered expression of cell-surface functional receptors. J Biosci., 2012, Vol. 37, no 1, pp. 55-62.		doi: 10.1007/s12038-011-9169-z