

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ТОЛЛ-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА 2 У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ РУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ

© 2019 г. Д. С. Сташкевич*, А. Л. Бурмистрова

*E-mail: stashkevich_dary@mail.ru

ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия

Поступила: 26.05.2019. Принята: 28.06.2019

В работе приведены результаты исследования по распределению частот встречаемости аллелей и генотипов однонуклеотидного полиморфизма 2258 G/A (Arg753Gln) TLR2 у больных ревматоидным артритом русской популяции Челябинской области. Генотипирование осуществлено аллель-специфической ПЦР с последующей детекцией результатов в 3% агарозном геле. Показано, что у больных РА повышена частота встречаемости аллеля 2258*А и гетерозиготного генотипа G/A TLR2 и снижена частота гомозиготного генотипа по предковому аллелю. Установленная значимость однонуклеотидного полиморфизма 2258 (Arg753Gln) TLR2 для формирования устойчивости/предрасположенности к РА у русских Челябинской области подтверждается сверхдоминантной и доминантной моделям наследования.

Ключевые слова: TLR2, ревматоидный артрит, модели наследования, генетический полиморфизм

DOI: 10.31857/S102872210007273-5

Адрес: Челябинск, ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет» Сташкевич Дарья Сергеевна.

Тел.: +7 908 069 38 72; E-mail: stashkevich_dary@mail.ru

Авторы:

Сташкевич Д. С., канд. биол. наук, декан биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия;

Бурмистрова А. Л., д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой микробиологии, иммунологии и общей биологии, декан биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

Toll-подобные рецепторы (TLR) играют важную роль в индукции и регуляции врожденной иммунной системы или адаптивных иммунных реакций как в норме, так и при различных патологиях, в том числе при ревматоидном артрите (РА). Вклад Toll-подобных рецепторов в развитие РА подтверждается различными исследованиями, так например показано, что синовиальные фибробласты пациентов с РА конститутивно экспрессируют TLR1–6, и было продемонстрировано, что TLR2, 3, 4 и 7 активируются в синовиальной ткани РА по сравнению с таковой у пациентов с остеоартрозом и здоровых контрольных пациентов [1]. Активация TLR2 в сино-

виальных фибробластах у больных РА приводила к увеличению продукции большого количества провоспалительных цитокинов, усиление синтеза матриксных металлопротеиназ [2]. Поскольку уровень экспрессии и сила связывания с лигандами за счет аминокислотных замен в распознающем домене находятся под влиянием генетического полиморфизма соответствующих генов [3], то его изучение является перспективным для формирования иммуногенетического профиля больных ревматоидным артритом.

Ген TLR2 локализован на 4 хромосоме 4q32. Известно приблизительно 89 SNPs, одним из наиболее изучаемых в виду функциональной значимости, является функциональный вариант TLR2, состоящий из замены G/A в нуклеотиде 2258 (rs5743708, G2258A), в результате чего происходит аминокислотная замена аргинина (Arg) глутамином (Gln) в позиции 753 белка, которая может быть связана с нарушением функции TLR2 и нарушением иммунного ответа [4].

Цель: оценить распределение аллелей и генотипов SNP полиморфизма 2258 G/A (Arg753Gln) TLR2 в группах больных ревматоидным артритом и условно здоровых лиц русской популяции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа относится к ретроспективному типу исследований «случай-контроль». Исследуемые группы – 74 больных РА, 95 практически здоровых лиц русской популяции [5]. В группу контроля входили потенциальные доноры стволовой клетки ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови». Принадлежность к популяционной группе оценивалась согласно рекомендациям Международного Уоркшоп (1980г, Лос-Анджелес, США). Определение SNP в полиморфном сайте 2258 (rs5743708, G2258A) TLR2 проводилось аллель-специфической ПЦР реактивами ООО НПФ «Литех» (г. Москва) с последующей УФ-детекцией результатов в 3% агарозном геле.

Статистическая обработка. В исследовании использовали стандартные для 1 степени свободы критерии: Пирсона (χ^2), χ^2 с поправкой Йетса, точный двусторонний критерий Фишера, OR с расчетом 95% доверительного интервала. Оценка достоверности различий в распределении частот генотипов согласно моделям наследования и соответствие закону Харди-Вайнберга проводились с использованием онлайн приложения SNPStats. Анализ данных проводился согласно 5 моделям наследования: кодоминантная, доминантная, рецессивная, сверхдоминантная и лог-

аддитивная. Для каждой модели наследования также было рассчитано отношение шансов (OR) и доверительные интервалы для него (CI). Выбор модели наследования осуществлялся с помощью информационного критерия Акаике (AIC). Наиболее вероятная модель наследования имеет наименьшее значение AIC [6].

Во всех случаях различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$, незначимыми при $p > 0,10$; для промежуточных значений p ($0,05 > p > 0,10$) обсуждали тенденцию к различиям.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Наблюдаемые в исследовании частоты аллелей и генотипов в выборках больных НЯК и условно-здоровых лиц соответствуют ожидаемым согласно закону Харди-Вайнберга.

Особенностью группы больных было накопление носительства аллеля с заменой 2258*A TLR2 за счет повышения частоты его гетерозиготного генотипа (данные представлены в **Таблице 1**).

Как видно из данных **Таблицы 1**, в группе больных РА чаще встречаются носители редкого аллеля 2258*A TLR2, что повышает вероятность возникновения ревматоидного артрита почти в 4 раза. Носительство гетерозиготного генотипа G/A может рассматриваться как фактор риска, а гомозиготного (G/G) – как протектор. В про-

Таблица 1. Частоты встречаемости аллелей и генотипов G2258A TLR2 в выборках больных ревматоидным артритом и практически здоровых лиц

G2258A	Больные РА n=74,%	Контроль N=95,%	χ^2 , p	OR, 95% ДИ
A	12,8	3,7	8,57; p=0,004	3,85 1,57÷9,43
G	87,2	96,3		
AA	1,3	1,1	p=1,0	-
GA	22,9	5,3	10,0; p=0,002	5,37 1,87÷15,36
GG	75,7	93,7	9,64; p=0,002	0,21 0,079÷0,56

Таблица 2. Ассоциация полиморфизма G2258A TLR2 с предрасположенностью к ревматоидному артриту

Модель наследования	Распределение генотипов согласно моделям наследования	Уровень значимости	Критерий Акаике (AIC)
Доминантная	G/G G/A-A/A	$p < < 0,01$	224,4
Рецессивная	A/A G/G-A/A	$p = 0,86$	235,6
Кодоминантная	G/G G/A A/A	$p = 0,0026$	225,8
Сверхдоминантная	G/A G/G-A/A	$p < < 0,01$	223,9

должение анализа вклада данного генетического полиморфизма был проведен анализ моделей наследования, позволяющий судить о типе действия исследуемых генотипов на формирование предрасположенности к ревматоидному артриту, данные представлены в **Таблице 2**.

Таким образом, наиболее вероятны две модели, объясняющие ассоциацию генетического полиморфизма 2258 (Arg753Gln) TLR2 с предрасположенностью к ревматоидному артриту: доминантная и сверхдоминантная. Выбор предпочтительной модели наследования осуществляется с помощью критерия Акаике, согласно которому предпочтительной оказалась сверхдоминантная модель. Однако в этой модели не проявляется эффект действия гомозиготного генотипа по предковому аллелю (2258 G/G). Поэтому мы предполагаем, что фенотипический эффект проявления работы гомозиготного генотипа 2258G/G описывает доминантная, а гетерозиготного генотипа 2258G/A – сверхдоминантная модель.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время накоплено много данных подтверждающих роль Толл-подобных рецепторов, в том числе TLR2, в иммунопатогенезе ревматоидного артрита. Однако результаты исследований, посвященных вкладу генетического полиморфизма TLR2 в восприимчивость к ревматоидному артриту, противоречивы. В одних работах не установлено ассоциации TLR2 и других TLRs с ревматоидным артритом [7], а в других – выявлен вклад SNPs не только в предрасположенность, но и тяжесть течения ревматоидного артрита [8]. Вероятно, это может быть связано с наличием этнических особенностей в распределении частот встречаемости полиморфного варианта 2258*А TLR2, так например, аллель с заменой 2258*А TLR2 встречается с частотой в 9–10% в европейских популяциях, не обнаруживается у индийской популяции, ряда монголоидных популяций [1, 7, 8]. Поэтому необходимо учитывать этническое происхождение больных.

Кроме того, в формирование предрасположенности к мультифакторным заболеваниям, в том числе к РА, вносят вклад различные межгенные взаимодействия, приводящие к формированию генных сетей.

Полученные в нашем исследовании данные по ассоциации SNP 2258 (Arg753Gln) TLR2 с ревматоидным артритом связаны с повыше-

нием частоты носительства аллеля с заменой и его гетерозиготного генотипа у больных РА, приводящих, согласно литературным данным, к нарушению иммунного ответа.

ВЫВОДЫ

1. Показано, что у больных РА повышена частота встречаемости аллеля 2258*А и гетерозиготного генотипа G/A TLR2.
2. Установлена значимость однонуклеотидного полиморфизма 2258 (Arg753Gln) TLR2 для формирования устойчивости/предрасположенности к РА у русских Челябинской области согласно сверхдоминантной и доминантной моделям наследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Coenen M. J., Enevold C., Barrera P. et al. Genetic variants in toll-like receptors are not associated with rheumatoid arthritis susceptibility or anti-tumour necrosis factor treatment outcome. PLoS One 2010, 5(12), doi: 10.1371/journal.pone.0014326
2. Волков М. Ю. Роль Toll-подобных рецепторов и их эндогенных лигандов в патогенезе ревматоидного артрита (обзор литературы). Научно-практическая ревматология 2016, 54(1), 78–85. <https://doi.org/10.14412/1995-4484-2016-78-85>. [Volkov M. Yu. The role of Toll-like receptors and their endogenous ligands in the pathogenesis of rheumatoid arthritis (literature review). Scientific and practical rheumatology 2016, 54 (1), 78–85. <https://doi.org/10.14412/1995-4484-2016-78-85>]
3. Беляева С. В. Гены иммунного ответа и их комбинации в качестве предиктивных маркеров потенциального риска развития активного туберкулеза легких и его клинических фенотипов у представителей русской популяции Челябинской области: автореф дис. ... канд. биол. наук: 14.03.09, Челябинск, 2014, 23 с. [Belyaeva S. V. Immune response genes and their combinations as predictive markers of the potential risk of developing active pulmonary tuberculosis and its clinical phenotypes in representatives of the Russian population of the Chelyabinsk region. Extended abstract of Candidate's thesis: 14.03.09, Chelyabinsk, 2014, 23 p.]
4. Ogus A. C., Yoldas B., Ozdemir T. et al. The Arg753Gln polymorphism of the human toll-like receptor 2 gene in tuberculosis disease. The journal of rheumatology 2010, 37(5), 905–910. doi: 10.3899/jrheum.090775
5. Сташкевич Д. С. Аллели и генотипы генов основных цитокинов и их межгенные и внутригенные связи в ассоциации с ревматоидным артритом у русской и башкирской популяций.: автореф дис. ... канд. биол. наук: 14.00.36 Челябинск., 2009. 23 с. [Stashkevich D. S. Alleles and genotypes of genes of the main cytokines and their intergenic and intragenic relationships in association with rheumatoid arthritis in

- Russian and Bashkir populations. Extended abstract of Candidate's thesis: 14.00.36 Chelyabinsk., 2009. 23 p.]
6. SNPStats: Your web tool for SNP analysis [Electronic resource] / Institut Català d'Oncologia, 2016. (URL: <https://www.snpstats.net/start.htm?>).
 7. Enevold C., Radstake T. R., Coenen M. J. et al. Multi-plex screening of 22 single-nucleotide polymorphisms in 7 Toll-like receptors: an association study in rheumatoid arthritis. *Genetics and molecular research* 2013, 12(1), 328–334. doi: 10.4238/2013.
 8. Lee Y. H., Bae S. C., Kim J. H., Song G. G. Toll-like receptor polymorphisms and rheumatoid arthritis: a systematic review. *Rheumatology International* 2014, 34(1), 111–116. doi: 10.1007/s00296–013–2666–7

GENETIC POLYMORPHISM OF TLR2 IN RHEUMATOID ARTHRITIS PATIENTS RUSSIAN POPULATION OF CHELYABINSK REGION

© 2019 D.S. Stashkevich*, A. L. Burmistrova

*E-mail: stashkevich_dary@mail.ru

Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

Received: 26.05.2019. **Accepted:** 28.06.2019

The paper presents the results of a study on the frequency distribution of the occurrence of alleles of single nucleotide polymorphism 2258 G A (Arg753Gln) TLR2 in patients with rheumatoid arthritis of the Russian population of the Chelyabinsk region. Genotyping was performed by allele-specific PCR, followed by detection of the results in a 3% agarose gel. It was shown that in patients with RA, the frequency of occurrence of the allele 2258 * A and the heterozygous genotype G/A TLR2 was increased and the frequency of the homozygous genotype on the ancestral allele was reduced. The established significance of single nucleotide polymorphism of 2258 (Arg753Gln) TLR2 for the formation of resistance/susceptibility to RA in the Russians of the Chelyabinsk region is confirmed by the overdominant and dominant inheritance models

Key words: TLR2, rheumatoid arthritis, inheritance patterns, genetic polymorphism

Authors:

Stashkevich D.S., ☒ candidate of biological sciences, dean of biological faculty of Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia.

Chelyabinsk Chelyabinsk State University. Phone: +79080693872, **E-mail:** stashkevich_dary@mail.ru;

Burmistrova A.L., doctor of medical sciences, professor, Head of microbiology, immunology and general biology department of biological faculty of Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia.