

Научная статья

УДК 571.27

doi: 10.24411/2409-4102-2022-10402

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ТОЛЛ-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА 6 ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

Мария Александровна Цуканова¹, Роман Вячеславович Попов²,
Александр Викторович Евдокимов³, Инесса Валерьевна Девальд⁴,
Дарья Сергеевна Сташкевич⁵

^{1,2,3,4,5} Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

⁴ Южно-Уральский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Челябинск, Россия

¹ tsukanova-maria@mail.ru

² popow.roman2000@ya.ru

³ avdax@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7011-368X>

⁴ inessa.devald@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8657-7035>

⁵ stashkevich_dary@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7235-9459>

Аннотация. Ревматоидный артрит (РА) представляет собой хроническое воспалительное заболевание, предрасположенность к которому определяется сложными мультифакторными взаимодействиями генетических факторов и факторов окружающей среды. В настоящее время накапливаются данные о вовлеченности TLRs в иммунопатогенез аутоиммунных патологий, таких как ревматоидный артрит. Полиморфизм генов, кодирующих толл-подобные рецепторы, приводит к нарушениям экспрессии этих рецепторов, снижению функций и сбоям защитных реакций организма. Цель работы: анализ распределения аллельных вариантов и генотипов SNP 745C>T TLR6 у больных ревматоидным артритом русской популяции Челябинской области. Методы исследования: выделение ДНК, аллель-специфическая ПЦР с электрофоретической детекцией результатов. Статистическая обработка проводилась с использованием общепринятых в иммуногенетических исследованиях подходов. В ходе исследования показано, что в группе больных РА повышены частоты аллеля с заменой и его гомозиготного генотипа. Проведенное исследование показывает значимость полиморфизма SNP Pro249Ser в гене TLR6 для возникновения предрасположенности к ревматоидному артриту у русских Челябинской области.

Ключевые слова: толл-подобный рецептор 6, ревматоидный артрит, однонуклеотидные полиморфизмы, ген-кандидат, предрасположенность

Для цитирования: Цуканова М. А., Попов Р. В., Евдокимов А. В., Девальд И. В., Сташкевич Д. С. Генетический полиморфизм толл-подобного рецептора 6 при ревматоидном артрите // Вестник Челябинского государственного университета. Образование и здравоохранение. 2022. № 4 (20). С. 12—16. doi: 10.24411/2409-4102-2022-10402.

Original article

GENETIC POLYMORPHISM OF TOLL-LIKE RECEPTOR 6 IN RHEUMATOID ARTHRITIS

Maria A. Tsukanova¹, Roman V. Popov², Alexander V. Evdokimov³,
Inessa V. Devald⁴, Darya S. Stashkevich⁵

^{1,2,3,4,5} Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

⁴ South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

¹ tsukanova-maria@mail.ru

² popow.roman2000@ya.ru

³ avdax@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7011-368X>

© Цуканова М. А., Попов Р. В., Евдокимов А. В., Девальд И. В., Сташкевич Д. С., 2022

⁴ inessa.devald@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8657-7035>

⁵ stashkevich_dary@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7235-9459>

Abstract. Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic inflammatory disease susceptibility to which is determined by complex multifactorial interactions of genetic and environmental factors. According to scientific data, TLRs are involved in the immunopathogenesis of autoimmune pathologies such as rheumatoid arthritis. Polymorphism of toll-like receptors genes leads to disturbances in the expression of these receptors, a decrease in functions and failures of the body's defense reactions. **Aim:** analysis of the distribution of allelic variants and genotypes of SNP 745C>T TLR6 in patients with rheumatoid arthritis of the Russian population of the Chelyabinsk region. Thus, the study shows the significance of the SNP Pro249Ser polymorphism in the TLR6 gene for the occurrence of predisposition to rheumatoid arthritis in Russians from the Chelyabinsk region. **Research methods:** DNA extraction, allele-specific PCR with electrophoretic detection of results. Statistical processing was carried out using generally accepted approaches in immunogenetic studies. The research shows that in the group of RA patients, the frequencies of the allele with a replacement and its homozygous genotype are increased. The conducted study shows the significance of the SNP Pro249Ser polymorphism in the TLR6 gene for the occurrence of predisposition to rheumatoid arthritis in Russians from the Chelyabinsk region.

Keywords: toll-like receptor 6, rheumatoid arthritis, single nucleotide polymorphisms, candidate gene, predisposition

For citation: Tsukanova MA, Popov RV, Evdokimov AV, Devald IV, Stashkevich DS. Genetic Polymorphism of Toll-Like Receptor 6 in Rheumatoid Arthritis. *Bulletin of Chelyabinsk State University. Education and Healthcare.* 2022;4(20):12-16. (In Russ.). doi: 10.24411/2409-4102-2022-10402.

Введение

Ревматоидный артрит (РА) представляет собой хроническое воспалительное заболевание, при котором происходит поражение главным образом тканей синовиальной оболочки сустава. Это наиболее распространенное воспалительное заболевание суставов, которое влечет за собой потерю трудоспособности, деформации, изменения качества жизни. Распространенность данного заболевания составляет приблизительно 1 % населения [1]. Факторы, ответственные за индукцию и прогрессирование РА, плохо изучены, но могут включать взаимодействие между врожденным и адаптивным иммунитетом. Имеется предположение, что инициирование и обострение РА связаны с Toll-подобными рецепторами (TLR) [1]. Толл-подобные рецепторы (TLRs) являются семейством мембранных клеточных рецепторов, которые «узнают» молекулы с чужеродной генетической информацией. Они активизируют клеточные механизмы врожденного иммунитета [2].

Полиморфизм генов, кодирующих толл-подобные рецепторы, приводит к нарушениям экспрессии этих рецепторов, снижению функций и сбоям защитных реакций организма. Механизмы влияния полиморфизмов генов TLR на функциональную активность этих рецепторов недостаточно изучены. Однонуклеотидные полиморфизмы могут реализовать влияние на функциональный статус TLR через изменения активности экспрессии TLR, TLR-сигналинга, клеточного транспорта и локализации. Эффекты генетических полиморфизмов преломляются через множество генетиче-

ских, эпигенетических и факторов окружающей среды. Это определяет формирование для разных этнических популяций специфических ассоциаций между полиморфизмами TLR и резистентностью или чувствительностью к определенным заболеваниям. Доказано, что в результате формирования однонуклеотидных замен в генах TLRs происходит нарушение функционирования некоторых ключевых сигнальных путей и повышается риск развития аутоиммунных, онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний [2; 3].

Среди TLRs, исследуемых на наличие ассоциации с ревматоидным артритом, наиболее значимо субсемейство TLR2, включающее TLR 1, 2, 6 и 10. В связи с вышеизложенным данное исследование посвящено анализу ассоциации между SNP в гене TLR6 и предрасположенностью к ревматоидному артриту. Ген TLR6 находится на коротком плече 4 хромосомы [3]. Среди всех однонуклеотидных полиморфизмов этого гена наиболее известна транзигция цитозина на тимин в позиции 745, приводящая к аминокислотной замене пролина на серин в белке (Pro249Ser) TLR6 [4].

Цель работы

Анализ распределения аллельных вариантов и генотипов SNP 745C>T TLR6 у больных ревматоидным артритом русской популяции Челябинской области.

Материалы и методы

Выборка больных РА: общее количество — 83 человека, из них 70 женщин и 13 мужчин.

Группу для сравнения составил 201 человек из числа кадровых доноров стволовой клетки ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», из них: 75 женщин и 126 мужчин. Выделение ДНК из образцов венозной крови обследуемых лиц проводилось колоночным методом с использованием реагентов Protrans. Основным методом исследования для генотипирования полиморфного сайта в гене TLR6 являлась аллель-специфическая полимеразная цепная реакция с реагентами ООО НПФ «Литех». Метод детекции — электрофорез в 3 %-ном агарозном геле с УФ-визуализацией.

Статистическая обработка

В ходе работы установлены частоты аллелей и генотипов TLR6. Сравнение групп больных РА и условно здоровых лиц проводилось с использованием следующих показателей, принятых в иммуногенетических исследованиях: критерий Пирсона (χ^2), χ^2 с поправкой Йетса, а также

с помощью точного метода Фишера. Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга. Во всех случаях различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$, незначимыми при $p > 0,10$, для промежуточных значений p ($0,05 < p \leq 0,10$) обсуждали тенденцию к различиям.

Результаты и их обсуждение

В ходе проведенного исследования получены следующие результаты. Наблюдаемые в исследовании частоты аллелей и генотипов, образованных SNP 745C>T TLR6, в выборках больных РА и условно здоровых лиц соответствуют ожидаемым согласно равновесию Харди-Вайнберга ($p = 0,840$ и $p = 0,214$ соответственно). При сравнении исследуемых групп установлены значимые изменения в частотах встречаемости аллелей и генотипов исследуемого полиморфизма (данные представлены в таблице).

Распределение частот аллелей и генотипов SNP 745C>T TLR6 у больных РА и контрольной группы

SNP 745C>T TLR6	Больные РА N = 83 (%)	Контроль N = 201 (%)	Достоверность χ^2 , p	OR, [95 % CI]
745C	34	49	9,89 p = 0,002	1,82 [1,25—2,65]
745T	66	51		
745CC	13	27	6,17 p = 0,014	0,42 [0,21—0,84]
745CT	42	44	0,06 p = 0,803	0,93 [0,56—1,57]
745TT	45	29	6,09 p = 0,014	1,94 [1,14—3,28]

Как видно из полученных результатов, в группе больных ревматоидным артритом повышена частота встречаемости мутантного аллеля 745T TLR6 по сравнению с контрольной группой. Мутантный аллель может выступать фактором риска развития ревматоидного артрита у русских Челябинской области (OR = 1,82; 95 % CI 1,25—2,65). На втором этапе был проведен анализ распределения генотипов, образованных аллельными вариантами SNP 745C>T TLR6. Показано, что больные ревматоидным артритом характеризовались повышением частоты гомозиготного генотипа 745TT (45 % vs 29 %; $\chi^2 = 6,09$, $p = 0,014$). Согласно критерию отношения шансов, носительство этого генотипа 745TT TLR6 повышает вероятность формирования предрасположенно-

сти к ревматоидному артриту (OR = 1,94; 95 % ДИ 1,14—3,28).

Одновременно было установлено накопление гомозиготного по предковой форме аллеля генотипа 745CC в группе сравнения, что позволяет сделать предположение о его протективной роли при формировании восприимчивости к ревматоидному артриту у русских (OR = 1,94; 95 % ДИ 1,14—3,28). Частоты гетерозиготных генотипов не отличались между исследуемыми выборками (42 % vs 44 %; $\chi^2 = 0,06$, $p = 0,803$).

Полученные в нашей работе результаты согласуются с исследованиями О. Jaen и др. [5], М. Sales и др. [6], Y. Peng и др. [7] и показывают, что TLRs играют потенциальную роль в стимулировании воспаления и деструктивного процесса при РА.

Таким образом, проведенное исследование показывает значимость полиморфизма SNP Pro249Ser в гене TLR6 для возникновения предрасположенности к ревматоидному артриту у русских Челябинской области. Изучение полиморфизмов генов TLR определяет развитие представлений о молекулярно-клеточных механизмах патогенеза аутоиммунных заболеваний, что в свою очередь способствует разработке специфических систем превентивной диагностики в различных этнических популяциях и новых терапевтических стратегий, в которых терапевтической мишенью являются TLR.

Прозрачность исследования

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях

Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за статью.

Список источников

1. Petrackova A., Horak P., Radvansky M., Fillerova R. [et al]. Revealed heterogeneity in rheumatoid arthritis based on multivariate innate signature analysis // *Clin. Exp. Rheumatol.* 2020. Vol. 38. No. 2. P. 289—298. doi: 10.55563/clinexprheumatol/qb2ha3.
2. Дворникова К. А., Быстрова Е. Ю., Платонова О. Н., Ноздрачев А. Д. Полиморфизм генов Toll-подобных рецепторов и ассоциированные с ним заболевания // *Молекулярная медицина.* 2019. Т. 17, № 6. С. 5—12.
3. Tapping R. I., Omueti K. O., Johnson C. M. Genetic polymorphisms within the human Toll-like receptor 2 subfamily // *Biochem. Soc. Trans.* 2007. № 35 (6). P. 1445—1448. doi: 10.1042/BST0351445.
4. Сташкевич Д. С., Беляева С. В., Евдокимов А. В. Сравнительная оценка генетического полиморфизма Toll-подобных рецепторов 2 и 6 в ассоциации с предрасположенностью к неспецифическому язвенному колиту и синдрому раздраженного кишечника у русских Челябинской области // *Российский иммунологический журнал.* 2022. Т. 25, № 3, С. 327—332.
5. Jaen O., Petit-Teixeira E., Kirsten H., Ahnert P., Semerano L. [et al.] European Consortium on Rheumatoid Arthritis Families. No evidence of major effects in several Toll-like receptor gene polymorphisms in rheumatoid arthritis // *Arthritis Res. Ther.* 2009. Vol. 11, № 1. R5. doi: 10.1186/ar2589.
6. Sales M. L., Schreiber R., Ferreira-Sae M.C.S., Fernandes M. N. [et al]. Toll-like receptor 6 Ser249Pro polymorphism is associated with lower left ventricular wall thickness and inflammatory response in hypertensive women // *Am. J. Hypertens.* 2010. No. 23 (6). P. 649—54. doi: 10.1038/ajh.2010.24.
7. Peng Y., Chen B., Sheng X., Qian Y. The Genetic Association Between TLR-1, -2, -4, and -6 Gene Polymorphisms and Rheumatoid Arthritis Susceptibility in a Chinese Han Population // *Genet. Test. Mol. Biomarkers.* 2022. 26 (3). P. 140—145. doi: 10.1089/gtmb.2021.0207.

References

1. Petrackova A, Horak P, Radvansky M, Fillerova R, Smotkova Kraiczova V, Kudelka M, Mrazek F et al. Revealed heterogeneity in rheumatoid arthritis based on multivariate innate signature analysis. *Clin. Exp Rheumatol.* 2020;38(2):289-298. doi: 10.55563/clinexprheumatol/qb2ha3 (In Engl.).
2. Dvornikova KA, Bystrova EYu, Platonova ON, Nozdrachev AD. Toll-like receptor gene polymorphism and associated diseases. *Molekuljarnaja medicina* [Molecular medicine]. 2019;17(6):5-12 (In Russ.).
3. Tapping RI, Omueti KO, Johnson CM. Genetic polymorphisms within the human Toll-like receptor 2 subfamily. *Biochem. Soc. Trans.* 2007;35(6):1445-1448. doi: 10.1042/BST0351445 (In Engl.).
4. Stashkevich DS, Belyaeva SV, Evdokimov AV. Comparative assessment of genetic polymorphism of Toll-like receptors 2 and 6 in association with predisposition to ulcerative colitis and irritable bowel syndrome in Russians from the Chelyabinsk region. *Russian Journal of Immunology.* 2022;25(3):327-332 (In Russ.).
5. Jaen O, Petit-Teixeira E, Kirsten H, Ahnert P, Semerano L, Pierlot C et al. European Consortium on Rheumatoid Arthritis Families. No evidence of major effects in several Toll-like receptor gene polymorphisms in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 2009;11(1):R5. doi: 10.1186/ar2589 (In Engl.).

6. Sales ML, Schreiber R, Ferreira-Sae MCS, Fernandes MN, Piveta CSC, Cipolli JAA et al. Toll-like receptor 6 Ser249Pro polymorphism is associated with lower left ventricular wall thickness and inflammatory response in hypertensive women. *Am. J. Hypertens.* 2010;23(6):649-54. doi: 10.1038/ajh.2010.24 (In Engl.).

7. Peng Y, Chen B, Sheng X, Qian Y. The Genetic Association Between *TLR*-1, -2, -4, and -6 Gene Polymorphisms and Rheumatoid Arthritis Susceptibility in a Chinese Han Population. *Genet. Test. Mol. Biomarkers.* 2022;26(3):140-145. doi: 10.1089/gtmb.2021.0207 (In Engl.).

Информация об авторах

М. А. Цуканова — магистрант кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета.

Р. В. Попов — магистрант кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета.

А. В. Евдокимов — кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета.

И. В. Девальд — кандидат медицинских наук, доцент кафедры терапии института дополнительного профессионального образования (Южно-Уральский государственный медицинский университет); доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета (Челябинский государственный университет).

Д. С. Сташкевич — кандидат биологических наук, декан биологического факультета.

Information about the authors

Maria A. Tsukanova — undergraduate of the Department of Microbiology, Immunology and General Biology of the Faculty of Biology.

Roman V. Popov — undergraduate of the Department of Microbiology, Immunology and General Biology of the Faculty of Biology.

Alexander V. Evdokimov — Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Microbiology, Immunology and General Biology of the Faculty of Biology.

Inessa V. Devald — Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department for Therapy of the Institute of Additional Professional Education (South Ural State Medical University); Associate Professor of the Department of Microbiology, Immunology and General Biology of the Faculty of Biology (Chelyabinsk State University).

Darya S. Stashkevich — Candidate of Biological Sciences, Dean of the Faculty of Biology.

Вклад авторов:

Цуканова М. А., Попов Р. В. — концепция и дизайн исследования;

Цуканова М. А., Попов Р. В., Евдокимов А. В., Девальд И. В., Сташкевич Д. С. — провели лабораторные исследования;

Цуканова М. А., Попов Р. В., Евдокимов А. В. — анализ и интерпретация; Цуканова М. А., Попов Р. В., Евдокимов А. В. — сбор данных и написание рукописи.

Authors' contribution:

Tsukanova M. A., Popov R. V. — concept and design of the study.

Tsukanova M. A., Popov R. V., Evdokimov A. V., Dewald I. V., Stashkevich D. S. — laboratory studies; Tsukanova M. A., Popov R. V., Evdokimov A. B. — analysis and interpretation;

Tsukanova M.A., Popov R.V., Evdokimov A. V. — data collection and manuscript writing.

Статья поступила в редакцию 26.12.2022; принята к публикации 28.12.2022.

The article was submitted 26.12.2022; accepted for publication 28.12.2022.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.