

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *TLR2* Arg753Gln С УРОВНЕМ ЕГО ЭКСПРЕССИИ У ДОЛГОЖИТЕЛЕЙ С СИНДРОМОМ СТАРЧЕСКОЙ АСТЕНИИ

Лукьянова С.О., Артемьева О.В., Насаева Е.Д., Ганковская Л.В.

ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Среди паттернраспознающих рецепторов *TLR2* является исключительным из-за возможности гетеродимеризации с различными типами *TLR*, что позволяет ему распознавать широкий спектр молекулярных структур на поверхности патогенов. Полиморфизмы в генах, участвующих в сигнальном каскаде *TLRs*, могут быть фактором восприимчивости хозяина к развитию воспаления, влиять на исход ряда инфекционных заболеваний и иммунных повреждений. Вариант Arg753Gln (rs5743708) в гене *TLR2* — это наиболее охарактеризованная миссенс-мутация кодирующей области в домене TIR, которая включает замену аргинина на глутамин в позиции 753 аминокислотной последовательности белка. Эта функционально значимая замена ведет к измененной передаче сигналов и взаимосвязана с воспалительными реакциями. В работе проведено исследование ассоциации полиморфизма Arg753Gln (rs5743708) гена *TLR2* с уровнем его экспрессии у долгожителей. В исследование включено 82 долгожителя, среди которых синдром старческой астении выявлен у 41 обследуемого на основании краткой батареи тестов физического функционирования, при регистрации ≤ 7 баллов. Было показано, что носительство аллеля Gln статистически значимо ассоциировано с повышенным риском развития синдрома старческой астении, у пациентов с генотипом Arg/Gln в 12,8 раза выше шанс развития этого гериатрического синдрома. Установлено, что аллель Arg и генотип Arg/Arg являются протективными факторами развития синдрома старческой астении у долгожителей. При проведении анализа экспрессии гена *TLR2* у долгожителей было выявлено повышение его экспрессии в 2,79 раза относительно доноров. Оценка уровня экспрессии гена *TLR2* в группах долгожителей с наличием и отсутствием синдрома старческой астении показала повышение экспрессии гена *TLR2* в 1,4 раза у долгожителей с этим гериатрическим синдромом. У пациентов с генотипом Arg/Gln экспрессия гена *TLR2* была в 1,3 раза выше, чем в группе с генотипом Arg/Arg и в 1,6 раза выше, чем в группе с генотипом Gln/Gln. Повышение частоты встречаемости генотипа Arg/Gln полиморфизма Arg753Gln гена *TLR2* у долгожителей с синдромом старческой астении может быть обусловлено повышением

Адрес для переписки:

Лукьянова Светлана Олеговна
ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский
медицинский университет имени Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения РФ
117513, Россия, Москва, ул. Островитянова, 1.
Тел.: 8 (915) 182-37-62.
E-mail: lukyanovasv@mail.ru

Address for correspondence:

Svetlana O. Lukyanova
N. Pirogov Russian National Research Medical University
1 Ostrovityanov St
Moscow
117513 Russian Federation
Phone: +7 (915) 182-37-62.
E-mail: lukyanovasv@mail.ru

Образец цитирования:

С.О. Лукьянова, О.В. Артемьева, Е.Д. Насаева,
Л.В. Ганковская «Ассоциация полиморфизма гена *TLR2*
Arg753Gln с уровнем его экспрессии у долгожителей
с синдромом старческой астении» // Медицинская
иммунология, 2024. Т. 26, № 4. С. 711-716.
doi: 10.15789/1563-0625-AOT-16697

© Лукьянова С.О. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

S.O. Lukyanova, O.V. Artemieva, E.D. Nasaeva,
L.V. Gankovskaya "Association of *TLR2* Arg753Gln gene
polymorphism with its expression level in nonagenarians
with frailty", *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya*, 2024, Vol. 26, no. 4, pp. 711-716.
doi: 10.15789/1563-0625-AOT-16697

© Lukyanova S.O. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-AOT-16697

экспрессии гена этого рецептора. Необходимы дальнейшие функциональные и молекулярно-генетические исследования, которые дополнят наше понимание механизмов регуляции и активации *TLR2* и его роли в развитии синдрома старческой астении.

Ключевые слова: воспалительное старение, долголетие, экспрессия генов, *TLR2*, полиморфизм, синдром старческой астении

ASSOCIATION OF *TLR2* Arg753Gln GENE POLYMORPHISM WITH ITS EXPRESSION LEVEL IN NONAGENARIANS WITH FRAILITY

Lukyanova S.O., Artemieva O.V., Nasaeva E.D., Gankovskaya L.V.

N. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Abstract. *TLR2* is an exceptional pattern-recognizing receptor because of its ability to heterodimerise with different types of TLRs, which allows it to recognize a wide range of molecular structures on the surface of pathogens. Polymorphisms in genes involved in the TLRs signaling cascade may be a factor in host susceptibility to the development of inflammation, affecting the outcome of a number of infectious diseases and immune diseases. The variant Arg753Gln (rs5743708) in the *TLR2* gene is the most characterized missense mutation of the coding region in the TIR domain, which involves the substitution of arginine for glutamine at position 753 of the protein sequence. This functionally significant substitution leads to altered signaling and is associated with inflammatory responses. In this study, we investigated the association of the Arg753Gln (rs5743708) polymorphism of the *TLR2* gene with the level of its expression in nonagenarians. The study included 82 nonagenarians. Frailty was detected in 41 subjects using a short physical performance battery, with registration in the test ≤ 7 points. It was shown that carriage of the Gln allele is statistically significantly associated with an increased risk of developing frailty; patients with the Arg/Gln genotype have a 12.8-fold higher chance of developing this geriatric syndrome. The Arg allele and the Arg/Arg genotype were found to be protective factors in the development of frailty in nonagenarians. Analysis of *TLR2* gene expression in nonagenarians revealed a 2.79-fold increase in *TLR2* expression relative to donors. Evaluation of *TLR2* gene expression level in groups of nonagenarians with the presence and absence of frailty showed a 1.4-fold increase in *TLR2* gene expression in nonagenarians with this geriatric syndrome. In patients with the Arg/Gln genotype, *TLR2* gene expression was 1.3 times higher than in the group with the Arg/Arg genotype and 1.6 times higher than in the group with the Gln/Gln genotype. The increased frequency of occurrence of the Arg/Gln genotype of the Arg753Gln polymorphism of the *TLR2* gene in nonagenarians with frailty may be due to increased gene expression of this receptor. It is necessary to conduct further functional and molecular genetic studies.

Keywords: *inflammaging, longevity, gene expression, TLR2, polymorphism, frailty*

Введение

Известно, что дисрегуляция системы врожденного иммунитета при старении приводит к активации воспалительного ответа и развитию воспалительного старения (*inflammaging*) [5].

Toll-подобные рецепторы (TLR) являются одними из наиболее изученных рецепторов распознавания образов (PRR) врожденного иммунитета. *TLR2* образует гетеродимеры с *TLR1*, *TLR4*, *TLR6* и *TLR10*, что позволяет ему распознавать

широкий спектр патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (PAMP) и эндогенных молекулярных паттернов, связанных с повреждением (DAMP) [4].

В гене *TLR2* идентифицировано 16 полиморфизмов. Вариант Arg753Gln (rs5743708) в гене *TLR2* — это наиболее охарактеризованная миссенс-мутация кодирующей области в домене TIR, которая включает замену аргинина на глутамин в позиции 753 аминокислотной последовательности белка. В ряде работ было показано, что

полиморфизм Arg753Gln функционально значим и связан с измененной передачей сигналов, ухудшением активации NF-κB [8, 9, 11]. Для однонуклеотидного полиморфизма (SNP) Arg753Gln в гене *TLR2* человека были показаны ассоциации с повышенным риском развития туберкулеза, септического шока в ходе грамположительной бактериальной инфекции, возрастной макулярной дистрофии, тяжелого течения COVID-19 с развитием пневмонии [3, 6, 7, 9, 10].

Воспалительное старение ассоциировано с развитием возраст-ассоциированных заболеваний и гериатрических синдромов. Ключевым гериатрическим синдромом с высоким риском развития неблагоприятных исходов для здоровья является синдром старческой астении (ССА) [1]. Ранее нами было показано, что повышение экспрессии гена *TLR2* ассоциировано с развитием ССА у долгожителей и может являться одним из факторов патологического старения [2].

Целью настоящего исследования явилась оценка ассоциации полиморфизма Arg753Gln (rs5743708) гена *TLR2* с уровнем его экспрессии у долгожителей с ССА.

Материалы и методы

В исследование было включено 82 долгожителя (22 мужчин, 60 женщин, средний возраст $91,4 \pm 2,18$), находившихся на обследовании в Российском геронтологическом научно-клиническом центре РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (директор — член-корреспондент РАН, д.м.н. Ткачева О.Н.). Оценка ССА была проведена на основании краткой батареи тестов физического функционирования (Short Physical Performance Battery, SPPB), критерием наличия ССА являлась регистрация ≤ 7 баллов. ССА был выявлен у 41 исследуемого долгожителя. Группу сравнения для оценки экспрессии гена *TLR2* составили здоровые доноры ($n = 24$; средний возраст $22,5$; 16 женщин; 8 мужчин).

Биологическим материалом для исследования служила периферическая кровь (ПК). В ходе работы определяли уровень экспрессии гена *TLR2* в лейкоцитах ПК методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) согласно отработанному нами ранее протоколу [2], анализ однонуклеотидного полиморфизма гена *TLR2* Arg753Gln методом ПЦР проводился стандартным набором SNP-экспресс (НПФ «Литех», Россия).

Статистическая обработка результатов выполнялась с использованием программного обеспечения Microsoft Excel 2016, GraphPad Prism 8 и IBM SPSS Statistics 26. Для оценки различий

между исследуемыми группами использовался критерий Манна—Уитни, различия считались статистически достоверными при $p < 0,05$. При сравнении частот аллелей и генотипов по качественному бинарному признаку пользовались критерием χ^2 . Степень риска развития событий оценивали по величине отношения шансов (odds ratio (OR)) с расчетом для него 95% доверительного интервала (CI).

Работа была одобрена локальным этическим комитетом РНИМУ им. Н.И. Пирогова (протокол заседания № 213 от 13.12.2021) и проводилась в соответствии с правилами надлежащей клинической практики. Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 23-15-00137, <http://rscf.ru/project/23-15-00137/>.

Результаты и обсуждение

Среди всех известных паттернраспознающих рецепторов TLR2 является исключительным из-за возможности гетеродимеризации с различными типами TLR, что расширяет спектр лигандов, а также возможности для про- и противовоспалительного действия [4]. В исследовании на трансфектных 293Т-клетках было показано, что полиморфизм Arg753Gln снижает способность TLR2 реагировать на бактериальные пептиды *in vitro* [8].

В настоящем исследовании впервые был проведен анализ распределения аллелей и генотипов полиморфного маркера гена *TLR2* Arg753Gln у долгожителей. Было показано, что среди 82 долгожителей генотип Arg/Gln имеют 52,44% ($n = 43$), Arg/Arg 39,02% ($n = 32$), Gln/Gln 8,54% ($n = 7$) ($\chi^2 = 2,0021$, $p = 0,1571$). Наблюдаемое распределение частот аллелей и генотипов гена *TLR2* среди обследованных соответствовало ожидаемому распределению Харди—Вайнберга ($\chi^2 = 2,00$, $p = 0,157$).

Затем была проведена оценка распределения аллелей и генотипов полиморфного маркера гена *TLR2* Arg753Gln у долгожителей в зависимости от наличия ССА. У долгожителей с наличием ССА частота встречаемости аллеля Gln составила 42,68%, в группе с отсутствием этого гериатрического синдрома — 26,83%. Частота генотипа Arg/Gln в группе с ССА составила 80,49%, в группе долгожителей с отсутствием ССА — 24,39% (табл. 1).

Носительство аллеля Gln статистически значимо ассоциировано с повышенным риском развития ССА (OR = 2,031, 95% CI 1,054–3,913, $\chi^2 = 4,544$, $p = 0,033$). Показано, что у пациентов с генотипом Arg/Gln в 12,8 раза выше шанс развития ССА (OR = 12,78, 95% CI 4,470–36,580,

ТАБЛИЦА 1. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ ПОЛИМОРФНОГО МАРКЕРА Arg753Gln В ГЕНЕ *TLR2* В ИССЛЕДУЕМЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ГРУППАХ

TABLE 1. FREQUENCY OF ALLELES AND GENOTYPES OF POLYMORPHIC MARKER Arg753Gln IN *TLR2* GENE IN THE STUDIED CLINICAL GROUPS

	Отсутствие ССА No frailty (n = 41)		Наличие ССА With frailty (n = 41)		OR	95% CI	χ^2	p
	n	%	n	%				
Аллель Arg Allele Arg	60	73,17	47	57,32	0,49	0,256-0,949	4,544	0,033
Аллель Gln Allele Gln	22	26,83	35	42,68	2,031	1,054-3,913	4,544	0,033
Arg/Arg	25	60,98	7	17,07	0,132	0,047-0,368	16,605	< 0,001
Arg/Gln	10	24,39	33	80,49	12,788	4,470-36,580	25,866	< 0,001
Gln/Gln	6	14,63	1	2,44	0,1446	0,017-1,271	3,905	0,048

$\chi^2 = 25,866$, $p = 0,000$). Аллель Arg и генотип Arg/Arg являются протективными факторами развития ССА (табл. 1).

При проведении анализа экспрессии гена *TLR2* у долгожителей было выявлено повышение его экспрессии в 2,79 раза относительно доноров ($p < 0,0001$) (рис. 1А). Оценка уровня экспрессии гена *TLR2* в группах долгожителей с наличием и отсутствием ССА показала повышение экспрессии гена *TLR2* в 1,4 раза у долгожителей с этим гериатрическим синдромом ($p < 0,005$) (рис. 1Б).

На рисунке 1В представлен уровень экспрессии гена *TLR2* в зависимости от генотипа полиморфного маркера гена *TLR2* Arg753Gln. У пациентов с генотипом Arg/Gln экспрессия гена *TLR2* в 1,3 раза выше чем в группе с генотипом Arg/Arg ($p < 0,005$) и в 1,6 раза выше чем в группе с генотипом Gln/Gln ($p < 0,005$) (рис. 1В).

Полиморфизмы в генах, участвующих в сигнальном каскаде TLRs, могут быть фактором восприимчивости хозяина к развитию воспаления, влиять на исход ряда инфекционных заболеваний и иммунных повреждений. Эта регуляция может

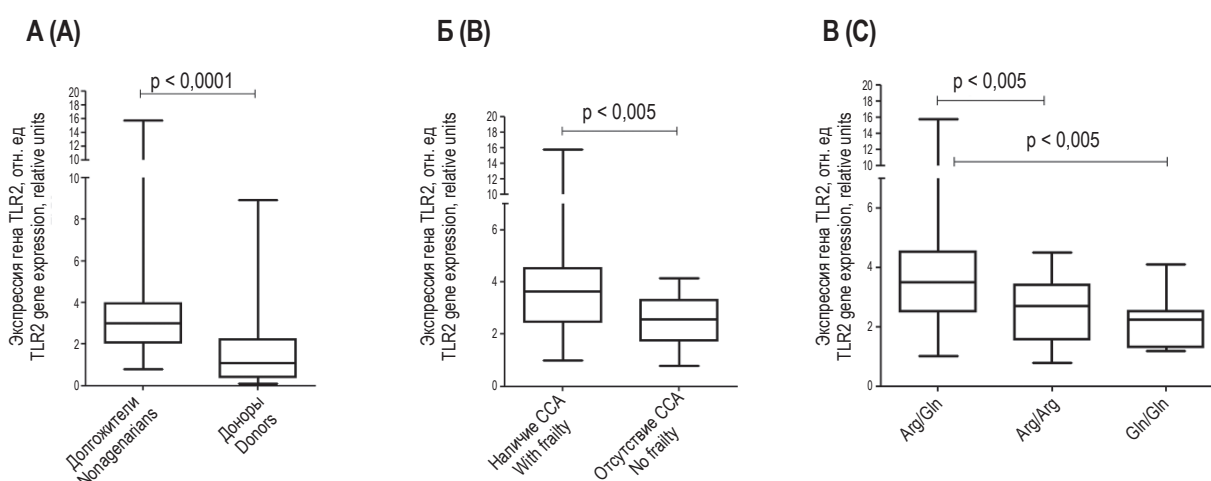


Рисунок 1. Экспрессия гена *TLR2* в лейкоцитах периферической крови долгожителей и здоровых доноров (А), долгожителей с наличием и отсутствием ССА (Б), долгожителей с различными генотипами полиморфного маркера гена *TLR2* Arg753Gln (В)

Figure 1. *TLR2* gene expression in peripheral blood leukocytes of nonagenarians and healthy donors (A), nonagenarians with frailty and absence of frailty (B), nonagenarians with different genotypes of polymorphic marker of *TLR2* gene Arg753Gln (C)

включать клеточные сигнальные события, ответственные за выработку цитокинов и хемокинов и их взаимодействие с адаптивным иммунным ответом, обеспечивая тесную связь между иммуно-старением и воспалением, продолжительностью жизни и успешностью старения.

Заключение

Исследования по молекулярному моделированию показали, что наличие замены в полиморфизме Arg753Gln приводит к изменениям во внутриклеточном домене TIR. Это нарушает гетеродимеризацию с TLR6, рекрутирование адаптерных белков Mal и MyD88, фосфорилирование p38, активацию NF-κB, что коррелирует со снижением воспалительной реакции [11]. Вероятно, этот механизм косвенно может быть связан с из-

менением экспрессии гена TLR2. У долгожителей с генотипом Arg/Arg, который по результатам нашего исследования является протективным в отношении риска развития ССА, был выявлен средний уровень экспрессии TLR2, который, вероятно, является наиболее благоприятным.

В группе долгожителей была выявлена ассоциация гетерозиготного генотипа Arg/Gln полиморфного варианта Arg753Gln гена TLR2 с развитием ССА. Носительство данного генотипа увеличивает шанс развития ССА в 12,8 раза (табл. 1), что позволяет рассматривать его в качестве неблагоприятного маркера данного гериатрического синдрома. Повышение частоты встречаемости генотипа Arg/Gln полиморфизма Arg753Gln гена TLR2 у долгожителей с ССА может быть обусловлено повышением экспрессии гена этого рецептора.

Список литературы / References

1. Артемьева О.В., Греченко В.В., Громова Т.В., Ганковская Л.В. Синдром старческой астении: неоднозначная роль воспалительного старения // Иммунология. 2022. Т. 43, № 6. С. 746-756. [Artemyeva O.V., Grechenko V.V., Gromova T.V., Gankovskaya L.V. Frailty: a controversial role of inflammaging. *Immunologiya = Immunology*, 2022, Vol. 43, no. 6, pp. 746-756. (In Russ.)]
2. Лукьянова С.О., Артемьева О.В., Стражеско И.Д., Ганковская Л.В. Экспрессия генов TLR2, IL-1β, IL-10 как возможный фактор успешного или патологического старения у долгожителей // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2023. Т. 176, № 10. С. 510-513. [Lukyanova S.O., Artemyeva O.V., Strazhesko I.D., Nasaeva E.D., Grechenko V.V., Gankovskaya L.V. Expression of TLR2, IL-1β, IL-10 genes as a possible factor of successful or pathological aging in nonagenarians. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2023, Vol. 176, no. 10, pp. 510-513. (In Russ.)]
3. Bakaros E., Voulgaridi I., Paliatsa V., Gatselis N., Germanidis G., Asvestopoulou E., Alexiou S., Botsfari E., Lygoura V., Tsachouridou O., Mimitsoudis I., Tseroni M., Sarrou S., Mouchtouri V.A., Dadouli K., Kalala F., Metallidis S., Dalekos G., Hadjichristodoulou C., Speletas M. Innate immune gene polymorphisms and COVID-19 prognosis. *Viruses*, 2023, Vol. 15, no. 9, 1784. doi: 10.3390/v15091784.
4. Colleselli K., Stierschneider A., Wiesner C. An update on Toll-like receptor 2, its function and dimerization in pro- and anti-inflammatory processes. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, Vol. 24, no. 15, 12464. doi: 10.3390/ijms241512464.
5. Franceschi C., Bonafè M., Valensin S., Olivieri F., de Luca M., Ottaviani E., de Benedictis G. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2000, Vol. 908, pp. 244-254.
6. Gao J.W., Zhang A.Q., Wang X., Li Z.Y., Yang J.H., Zeng L., Gu W., Jiang J.X. Association between the TLR2 Arg753Gln polymorphism and the risk of sepsis: a meta-analysis. *Crit. Care*, 2015, Vol. 19, 416. doi: 10.1186/s13054-015-1130-3.
7. Güven M., Batar B., Mutlu T., Bostancı M., Mete M., Aras C., Ünal M. Toll-like receptors 2 and 4 polymorphisms in age-related macular degeneration. *Curr. Eye Res.*, 2016, Vol. 41, no. 6, pp. 856-861.
8. Lorenz E., Mira J.P., Cornish K.L., Arbour N.C., Schwartz D.A. A novel polymorphism in the toll-like receptor 2 gene and its potential association with staphylococcal infection. *Infect. Immun.*, 2000, Vol. 68, no. 11, 6398-6401.
9. Merx S., Neumaier M., Wagner H., Kirschning C.J., Ahmad-Nejad P. Characterization and investigation of single nucleotide polymorphisms and a novel TLR2 mutation in the human TLR2 gene. *Hum. Mol. Genet.*, 2007, Vol. 16, no. 10, pp. 1225-1232.

10. Ogus A.C., Yoldas B., Ozdemir T., Uguz A., Olcen S., Keser I., Coskun M., Cilli A., Yegin O. The Arg753Gln polymorphism of the human toll-like receptor 2 gene in tuberculosis disease. *Eur. Respir. J.*, 2004, Vol. 23, no. 2, pp. 219-223.
11. Xiong Y., Song C., Snyder G.A., Sundberg E.J., Medvedev A.E. R753Q polymorphism inhibits Toll-like receptor (TLR) 2 tyrosine phosphorylation, dimerization with TLR6, and recruitment of myeloid differentiation primary response protein 88. *J. Biol. Chem.*, 2012, Vol. 287, no. 45, pp. 38327-38337.

Авторы:

Лукьянова С.О. — ассистент кафедры иммунологии ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Артемяева О.В. — к.м.н., доцент кафедры иммунологии ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Насаева Е.Д. — к.м.н., доцент кафедры иммунологии ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Ганковская Л.В. — д.м.н., профессор кафедры иммунологии ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Lukyanova S.O., Assistant Professor, Department of Immunology, N. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Artemieva O.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Immunology, N. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Nasaeva E.D., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Immunology, N. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Gankovskaya L.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Immunology, N. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Поступила 28.03.2024
Отправлена на доработку 30.03.2024
Принята к печати 02.04.2024

Received 28.03.2024
Revision received 30.03.2024
Accepted 02.04.2024