


doi 10.18699/vjgb-25-15

Особенности полиморфизма генов толл-лайк рецепторов (*TLR-2*, *TLR-3*, *TLR-4* и *TLR-6*) при открытоугольной глаукоме

А.В. Шевченко ¹ , В.Ф. Прокофьев ¹, В.И. Коненков ¹, В.В. Черных ², А.Н. Трунов ²

¹ Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального исследовательского центра Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Новосибирский филиал Национального медицинского исследовательского центра «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Новосибирск, Россия

 shalla64@mail.ru

Аннотация. Современные исследования показывают, что в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ) важную роль играет врожденный иммунитет. Выявлено повышение содержания толл-лайк рецепторов (TLR) в глаукоматозной сетчатке глаза человека. TLR могут модулировать иммунный ответ при глаукоме, обеспечивают раннее распознавание повреждающих агентов, активацию сигнальных путей и эффекторных механизмов системы неспецифической иммунной защиты, направленных на восстановление гомеостаза. Полиморфизм кодирующих *TLR* генов влияет на аминокислотную структуру рецепторов, приводя к изменению лигандсвязывающей и корцепторной функции, транспортировку и передачу сигналов. Целью работы был анализ ассоциированности полиморфизма генов *TLR2* (rs5743708), *TLR3* (rs3775291), *TLR4* (rs4986790, rs4986791), *TLR6* (rs5743810) с первичной открытоугольной глаукомой у пациентов Западной Сибири. Обследовано 99 пациентов (52 мужчины и 47 женщин) с диагнозом первичной открытоугольной глаукомы. Группу сравнения составили 100 человек (81 женщина и 19 мужчин). Полиморфизм генов *TLR2* (rs5743708), *TLR3* (rs3775291), *TLR4* (rs4986790, rs4986791), *TLR6* (rs5743810) анализировали методом РТ-ПЦР с использованием коммерческих тест-систем с интеркалирующим красителем Syber Green (Lytech, Россия). Статистический анализ проводился с использованием программного пакета SPSS 23.0 и Arlequin 3.5.2.2. Показано, что распределение полиморфных маркеров в группе пациентов и в контрольной группе соответствовало равновесию Харди-Вайнберга. Их частоты между двумя анализируемыми группами достоверно не различались. Частота *TLR2-753 ArgArg:TLR6-249 ProPro* была повышена в группе пациентов с ПОУГ. Выявлено неравновесное сцепление между двумя полиморфными позициям гена *TLR4*. Кроме того, выявлено нарушение равновесия между парами генов *TLR2-TLR6* для группы с глаукомой и контрольной группы. Повышение определенных генотипов в группе пациентов относительно контрольной группы может косвенно свидетельствовать об участии инфекционных факторов в инициации ПОУГ. Однако связь полиморфизма *TLR* генов, несмотря на доказанную значимость участия их белковых продуктов в патогенезе глаукомы, требует дополнительных исследований с учетом этнических особенностей пациентов и межгенных взаимодействий для лучшего понимания сложных механизмов развития заболевания. Это поможет проводить раннюю диагностику и разрабатывать необходимую терапевтическую стратегию.

Ключевые слова: первичная открытоугольная глаукома; ПОУГ; полиморфизм генов толл-лайк рецепторов; TLR; неравновесное сцепление.

Для цитирования: Шевченко А.В., Прокофьев В.Ф., Коненков В.И., Черных В.В., Трунов А.Н. Особенности полиморфизма генов толл-лайк рецепторов (*TLR-2*, *TLR-3*, *TLR-4* и *TLR-6*) при открытоугольной глаукоме. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2025;29(1):128-134. doi 10.18699/vjgb-25-15

Features of toll-like receptor genes (*TLR-2*, *TLR-3*, *TLR-4* and *TLR-6*) polymorphism in open-angle glaucoma patients

A.V. Shevchenko ¹ , V.F. Prokofiev ¹, V.I. Konenkov ¹, V.V. Chernykh ², A.N. Trunov ²

¹ Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk Branch of the S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Novosibirsk, Russia

 shalla64@mail.ru

Abstract. Modern research shows that innate immunity plays an important role in the pathogenesis of primary open-angle glaucoma (POAG). An increase in the content of toll-like receptors (TLR) in the glaucomatous retina of the human eye was revealed. TLRs can modulate the immune response in glaucoma; provide early recognition of damaging agents, activation of signaling pathways and effector mechanisms of the nonspecific immune defense system aimed at restoring homeostasis. The *TLR*-encoding genes' polymorphism alters the amino acid structure of the recep-

tors, which leads to changes in their immune functions: expression level, ligand-binding and coreceptor functions, transport and signal transmission. The aim was to analyze the association of the *TLR2* (rs5743708), *TLR3* (rs3775291), *TLR4* (rs4986790, rs4986791) and *TLR6* (rs5743810) polymorphisms with primary open-angle glaucoma in patients of Western Siberia. Methods: 99 patients (52 men and 47 women) with a diagnosis of primary open-angle glaucoma were examined. The comparison group consisted of 100 people (81 women and 19 men). *TLR2* (rs5743708), *TLR3* (rs3775291), *TLR4* (rs4986790, rs4986791) and *TLR6* (rs5743810) polymorphisms were analyzed by RT-PCR using test systems with Syber Green (Lytx, Russia). Statistical analysis was performed using the software package SPSS 23.0 and Arlequin 3.5.2.2. Results: the distribution of genotypes in the patient group and in the control group corresponded to the Hardy–Weinberg equilibrium. The genotype frequencies did not significantly differ between the two analyzed groups. The frequency of *TLR2-753* ArgArg/*TLR6-249* ProPro was increased in the group of patients with POAG. The linkage disequilibrium between two polymorphic positions of the *TLR4* gene was revealed. In addition, the linkage disequilibrium between *TLR2-TLR6* gene for the glaucoma group and the control group was revealed. Conclusion: an increase in certain genotypes in the patient group relative to the control group may indirectly indicate the involvement of infectious factors in the initiation of POAG. However, despite the proven importance of the participation of their protein products in the pathogenesis of glaucoma, the relationship of *TLR* polymorphism requires additional research taking into account the ethnic characteristics of patients and intergenic interactions for a better understanding of the complex mechanisms of disease development. This will help carry out early diagnosis and develop the necessary therapeutic strategy.

Key words: primary open-angle glaucoma; POAG; polymorphism of toll-like receptor genes; TLR; linkage disequilibrium.

For citation: Shevchenko A.V., Prokofiev V.F., Konenkov V.I., Chernykh V.V., Trunov A.N. Features of toll-like receptor genes (*TLR-2*, *TLR-3*, *TLR-4* and *TLR-6*) polymorphism in open-angle glaucoma patients. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov J Genet Breed.* 2025;29(1):128-134. doi 10.18699/vjgb-25-15

Ведение

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) – многофакторное заболевание, приводящее к прогрессирующей и необратимой потере зрения, – на сегодняшний день является серьезной медицинской проблемой, в том числе из-за недостаточно изученных механизмов повреждения зрительного нерва и гибели ганглиозных клеток сетчатки (Baudouin et al., 2021; Tezel, 2022). Современные исследования показывают, что в патогенезе ПОУГ важную роль играет врожденный иммунитет. Установлено, что индукторами воспаления на клеточном уровне при глаукоме являются молекулярные структуры DAMP (damage associated molecular patterns), высвобождающиеся из тканевых оболочек глаза при их повреждении, в том числе образующиеся в результате повышения уровня внутриглазного давления (Tezel, 2022). Избыточное накопление DAMP идентифицируется клеточными паттерн-распознающими рецепторами (PRR), которые расположены на эндосомальных мембранах и в цитоплазме. Было показано, что при развитии ПОУГ PRR обеспечивают раннее распознавание повреждающих агентов, активацию сигнальных путей и эффекторных механизмов системы неспецифической иммунной защиты, направленных на восстановление гомеостаза (Luo et al., 2010).

Наиболее хорошо изученным семейством PRR являются Toll-подобные рецепторы (TLR), экспрессия которых была выявлена во всех мембранах человеческого глаза (Stewart et al., 2015). Протеомные и иммуногистохимические исследования показали увеличение уровня экспрессии TLR в глаукоматозной сетчатке глаза человека, что указывает на то, что TLR могут модулировать иммунный ответ при глаукоме (Luo et al., 2010; Titi-Lartey et al., 2022). На сегодняшний день у человека идентифицировано две группы функционально различающихся TLR: трансмембранные, к которым относятся TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 и TLR11, и внутриклеточные – TLR3,

TLR7, TLR8, TLR9. Показано, что полиморфизм кодирующих TLR генов влияет на аминокислотную структуру рецепторов, лиганд-связывающую и корецепторную функции, транспортировку и передачу сигналов. Кроме того, особенности функций связаны с местоположением полиморфного сайта *TLR*. Полиморфизм локусов, кодирующих внеклеточный домен рецептора, может дополнительно внести к изменению аффинности связывания и последующему иммунному ответу, тогда как мутации в цитоплазматическом домене TLR могут привести к изменению нижестоящей передачи сигналов, несмотря на нормальное связывание (Törmänen et al., 2017; Macedo et al., 2019; Zhang et al., 2021). Цель нашего исследования – анализ ассоциированности полиморфных маркеров *TLR2* (rs5743708), *TLR3* (rs3775291), *TLR4* (rs4986790, rs4986791), *TLR6* (rs5743810) с первичной открытоугольной глаукомой у пациентов Западной Сибири.

Материалы и методы

Пациенты. Обследовано 99 пациентов с диагнозом II стадии первичной открытоугольной глаукомы – 52 (52.53 %) мужчины и 47 (47.47 %) женщины. Средний возраст пациентов составил 62.8 ± 4.3 года. Диагноз был установлен на основании офтальмологического обследования (определение остроты зрения, бинокулярная офтальмоскопия, сферопериметрия, эхофтальмография, оптическая когерентная томография, измерение внутриглазного давления). Критериями постановки диагноза служили выраженное изменение поля зрения в парацентральной области; сужение поля зрения со стороны носа в верхнем или нижнем носовом сегменте более чем на 10° относительно нормальных значений, но не менее 15° от точки фиксации; краевой характер углубления зрительного нерва. Пациенты основной группы имели компенсированное (<22 мм рт. ст. на фоне медикаментозной терапии) или умеренно повышенное (<33 мм рт. ст.) внутриглазное давление. В группу

сравнения вошли 100 человек – 81 женщина и 19 мужчин. Средний возраст составил 63.5 ± 0.4 года. Критерием включения в группу сравнения было отсутствие диагноза глаукомы у испытуемых.

Обе группы пациентов достоверно не различались по возрастным характеристикам. Пациентами обеих групп были представители фенотипически европеоидного населения России, родившиеся на этой территории, идентифицирующие себя и своих предков как «русских». Критериями исключения для обеих групп были: острые или обострения хронических воспалительных заболеваний органа зрения, наличие диабетической ретинопатии, неоваскулярной глаукомы, увеитов различной этиологии и локализации, гемофтальма, аутоиммунных и опухолевых процессов любой локализации, сахарного диабета без офтальмологических проявлений. Исследование было одобрено комитетами по биомедицинской этике НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН (протокол № 177 от 02.02.2003) и Новосибирского филиала Национального медицинского исследовательского центра МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова Министерства здравоохранения РФ (протокол № 2 от 02.09.2018). От всех пациентов было получено информированное согласие на забор крови и на использование данных исследования в научных целях.

Выделение ДНК и генотипирование. Цельную кровь пациентов забирали утром натощак в вакутейнер с ЭДТА. Геномную ДНК выделяли с использованием фенолхлороформного метода. Однонуклеотидный полиморфизм (single nucleotide polymorphism, SNP) генов *TLR2* (rs5743708), *TLR3* (rs3775291), *TLR4* (rs4986790, rs4986791), *TLR6* (rs5743810) выявляли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (РТ-ПЦР) с

использованием коммерческих тест-систем с интеркалирующим красителем Syber Green (Lytech, Россия) в соответствии с инструкциями фирмы-производителя.

Статистический анализ. В исследовании использована схема «случай-контроль». Распределение полиморфных маркеров в группе пациентов и контрольной группе было проверено на соответствие равновесию Харди–Вайнберга с использованием критерия хи-квадрат. Различия в частотах определены с помощью двустороннего точного критерия Фишера. Значение $p < 0.05$ считалось статистически значимым. Если нулевые гипотезы не подтверждались при заданном уровне значимости $\alpha = 0.05$, то в случаях множественных сравнений проводилось определение скорректированного значения $p_{\text{сог}}$ с использованием поправки Бонферрони, рассчитанной одношаговым методом (Наркевич и др., 2020). Отношения шансов (OR) рассчитывали с 95 % доверительным интервалом. Анализ неравновесного сцепления проведен методом анализа максимального правдоподобия. Для статистики использовали программный пакет SPSS 23.0 и Arlequin 3.5.2.2.

Результаты

Нами проведен анализ полиморфных вариантов кодирующих регионов генов *TLR2* (rs5743708), *TLR3* (rs3775291), *TLR4* (rs4986790, rs4986791), *TLR6* (rs5743810) в группе пациентов с первичной открытоугольной глаукомой II (развитой) стадии относительно контрольной группы. Распределение полиморфных маркеров в группе пациентов и в контрольной группе соответствовало равновесию Харди–Вайнберга (табл. 1).

Распределение частот генотипов в анализируемых нами позициях между двумя группами достоверно не различалось (табл. 2). Предполагая, что наличие особенностей сложных сетевых взаимодействий белковых про-

Таблица 1. Соответствие частот полиморфных маркеров равновесию Харди–Вайнберга у больных глаукомой и в контрольной группе

Полиморфная позиция	Аминокислота (генотип)	Пациенты с глаукомой				Контрольная группа			
		Частоты		χ^2	p	Частоты		χ^2	p
		наблюдаемые	ожидаемые			наблюдаемые	ожидаемые		
<i>TLR2-753</i> (rs5743708)	ArgArg (GG)	91.92	90.20	3.39	0.18	86.0	86.49	0.57	0.75
	ArgGln (GA)	7.07	8.59			14.0	13.02		
	GlnGln (AA)	1.01	0.20			0.0	0.49		
<i>TLR3-412</i> (rs3775291)	LeuLeu (AA)	52.53	48.79	2.38	0.31	49.0	46.24	1.61	0.45
	LeuPhe (AG)	35.35	41.42			38.0	43.52		
	PhePhe (GG)	12.12	8.79			13.0	10.24		
<i>TLR4-299</i> (rs4986790)	AspAsp (AA)	80.81	80.01	0.00	1.00	82.0	81.00	1.25	0.54
	AspGly (AG)	18.18	17.98			16.0	18.00		
	GlyGly (GG)	1.01	1.01			2.0	1.00		
<i>TLR4-399</i> (rs4986791)	ThrThr (CC)	82.83	81.82	0.05	0.98	88.0	88.36	0.41	0.82
	ThrIle (CT)	16.16	16.36			12.0	11.28		
	IleIle (CC)	1.01	0.82			0.0	0.36		
<i>TLR6-249</i> (rs5743810)	ProPro (CC)	47.47	42.68	3.71	0.16	36.0	36.60	0.06	0.97
	ProSer (CT)	36.36	44.65			49.0	47.80		
	SerSer (TT)	16.17	11.68			15.0	15.60		

Таблица 2. Анализ полиморфных маркеров у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой и в контрольной группе

Полиморфная позиция	Аминокислота (генотип)	Пациенты с ПОУГ N (%)	Контрольная группа N (%)	OR	OR_CI95	p*
<i>TLR2-753</i> (rs5743708)	ArgArg (GG)	91 (91.9)	86 (86.0)	1.85	0.74–4.63	0.258
	ArgGln (GA)	7 (7.1)	14 (14.0)	0.47	0.18–1.21	0.165
	GlnGln (AA)	1 (1.0)	0 (0.0)	2.04	0.18–22.86	0.497
<i>TLR3-412</i> (rs3775291)	LeuLeu (AA)	52 (52.5)	48 (48.5)	1.18	0.67–2.05	0.670
	LeuPhe (AG)	35 (35.3)	38 (38.4)	0.88	0.49–1.56	0.768
	PhePhe (GG)	12 (12.1)	13 (13.1)	0.91	0.39–2.11	1.000
<i>TLR4-299</i> (rs4986790)	AspAsp (AA)	80 (80.8)	82 (82.0)	0.92	0.45–1.89	0.857
	AspGly (AG)	18 (18.2)	16 (16.0)	1.17	0.56–2.44	0.710
	GlyGly (GG)	1 (1.0)	2 (2.0)	0.50	0.04–5.60	1.000
<i>TLR4-399</i> (rs4986791)	ThrThr (CC)	82 (82.8)	88 (88.0)	0.66	0.30–1.46	0.322
	ThrIle (CT)	16 (16.2)	12 (12.0)	1.41	0.63–3.17	0.422
	IleIle (CC)	1 (1.0)	0 (0.0)	2.04	0.18–22.86	0.497
<i>TLR6-249</i> (rs5743810)	ProPro (CC)	47 (47.5)	36 (36.0)	1.61	0.91–2.83	0.115
	ProSer (CT)	36 (36.4)	49 (49.0)	0.59	0.34–1.05	0.086
	SerSer (TT)	16 (16.2)	15 (15.0)	1.09	0.51–2.35	0.847
<i>TLR2-753:TLR6-249</i>	ArgArg:ProPro (GG:CC)	46 (46.5)	32 (32.0)	1.84	1.04–3.28	0.042

Примечание. OR_CI95 – 95 % доверительный интервал для OR, p* – уровень статистической значимости различий по точному методу Фишера (двусторонний).

Таблица 3. Характеристика однонуклеотидных замен в анализируемых позициях

SNP	Аллели анализируемого гена (основной/минорный)	Позиция на хромосоме, п. о.	Частота минорного аллеля		p
			Пациенты с глаукомой	Контрольная группа	
rs5743708	<i>TLR2</i> (G/A)	Chr4:153705165	0.045	0.071	0.39
rs3775291	<i>TLR3</i> (A/G)	Chr4:186082920	0.298	0.323	0.66
rs4986790	<i>TLR4</i> (A/G)	Chr9:117713024	0.101	0.100	1.00
rs4986791	<i>TLR4</i> (C/T)	Chr9:117713324	0.091	0.060	0.26
rs5743810	<i>TLR6</i> (C/T)	Chr4:38828729	0.343	0.395	0.30

Примечание. Позиция – расстояние от теломеры короткого плеча хромосомы, п. о. – пары оснований.

дуктов исследуемых нами генов является отражением их генетической структуры, мы проанализировали различия комплексов генотипов в двух группах. Нами выявлен единственный комплекс *TLR2-753* ArgArg:*TLR6-249* ProPro, частота которого повышена в группе пациентов с ПОУГ (OR = 1.84, p = 0.042, p_{cor} = 0.297).

Поскольку анализируемые нами полиморфные позиции *TLR4* расположены в одном экзоне гена, а полиморфные локусы генов *TLR2*, *TLR3*, *TLR6* – на одной хромосоме, мы провели анализ неравновесного сцепления (LD) указанных позиций. Характеристика анализируемых однонуклеотидных замен генов *TLR* дана в табл. 3. Частота минорного аллеля в большинстве анализируемых нами локусов составляла более 5 %, за исключением rs5743708 гена *TLR2*.

Нами выявлено неравновесие по сцеплению между двумя полиморфными позициям гена *TLR4* (табл. 4). Анализ множественных SNP показал, что для обеих групп наиболее распространенным гаплотипом для SNP rs4986790 и

rs4986791 *TLR4* является A/C; гаплотип A/T полностью отсутствует в группе сравнения. Значения D' (коэффициент Левонтина) между SNP rs4986790 и rs4986791 составляют 0.8146 в группе пациентов и 1.0000 в группе сравнения. Кроме того, наблюдается нарушение равновесия между парами генов *TLR2-TLR6* (D' = 0.6615 и 0.5277 для группы с глаукомой и контрольной группы соответственно) и слабое неравновесие для пары *TLR3-TLR6* (D' = 0.1997 и 0.2008 в группе с глаукомой и в контрольной группе соответственно). При этом анализ частот гаплотипов между группами не выявил значимых различий.

Обсуждение

Открытоугольная глаукома считается многофакторным заболеванием с убедительными доказательствами участия в ее развитии генетической компоненты. Исследования генетических ассоциаций на сегодняшний день выявили множество локусов, которые способствуют генетическому риску развития ПОУГ. TLR являются важными фактора-

Таблица 4. Частоты гаплотипов и параметры неравновесного сцепления между анализируемыми полиморфными локусами

Полиморфная позиция	Гаплотип	Пациенты с глаукомой, N = 99		Контрольная группа, N = 100		p
		Частота	Параметры сцепления	Частота	Параметры сцепления	
TLR4 (rs4986790), TLR4 (rs4986791)	A/C	0.884	$\chi^2 = 116.94$	0.900	$\chi^2 = 114.89$	1.00
	A/T	0.015	$p = 0.000$	0.000	$p = 0.000$	0.12
	G/C	0.025	$df = 1$	0.040	$r^2 = 0.574$	0.57
	G/T	0.076	$r^2 = 0.591$	0.060		0.56
TLR2 (rs5743708)/ TLR3 (rs3775291)	G/A	0.677	$\chi^2 = 0.97$	0.641	$\chi^2 = 2.15$	0.46
	G/G	0.278	$p = 0.325$	0.288	$p = 0.142$	0.82
	A/A	0.025	$df = 1$	0.035	$r^2 = 0.011$	0.58
	A/G	0.020	$r^2 = 0.005$	0.035		0.38
TLR2 (rs5743708)/ TLR6 (rs5743810)	A/C	0.646	$\chi^2 = 7.89$	0.585	$\chi^2 = 6.42$	0.22
	A/T	0.308	$p = 0.005$	0.345	$p = 0.011$	0.46
	G/C	0.010	$df = 1$	0.020	$r^2 = 0.032$	0.69
	G/T	0.035	$r^2 = 0.040$	0.050		0.62
TLR3 (rs3775291)/ TLR6 (rs5743810)	A/C	0.500	$\chi^2 = 6.41$	0.449	$\chi^2 = 5.87$	0.32
	A/T	0.202	$p = 0.011$	0.227	$p = 0.015$	0.54
	G/C	0.157	$df = 1$	0.157	$r^2 = 0.030$	1.00
	G/T	0.141	$r^2 = 0.032$	0.167		0.49

Примечание. df – степень свободы, r^2 – коэффициент корреляции Пирсона.

ми врожденной иммунной системы, однако результаты исследования, касающиеся связи *TLR* полиморфизма с заболеванием, достаточно противоречивы.

Известно, что *TLR2* является медиатором дегенерации сетчатки в ответ на окислительный стресс, функционирует как «мост» между окислительным повреждением и комплемент-опосредованной патологией сетчатки и связан с развитием ряда офтальмопатологий (Mulfaul et al., 2020; Titi-Lartey et al., 2022). Показано, что миссенс-мутация p.Arg753Gln приводит к дефициту передачи сигналов *TLR2* за счет нарушения гетеродимеризации *TLR2-TLR6*, фосфорилирования тирозина и дальнейшего каскада, не влияя при этом на экспрессию *TLR2* (Xiong et al., 2012). Мы, однако, не выявили ассоциированности полиморфизма *TLR2* и *TLR6* в анализируемых нами позициях с развитием ПОУГ. Аналогичные результаты показаны японскими исследователями для *TLR2* (Nakamura et al., 2009). Данные о полиморфизме гена *TLR6* при глаукоме в литературе нами не обнаружены. При этом при построении трехмерной модели для *TLR6* выявлены конформационные изменения в структуре белка при наличии Pro249Ser, предположительно влияющие на связывание лигандов и рецепторов. У дикого типа карманы связывания вблизи пролина (Pro) – большого объема, тогда как у мутантного типа стенки карманов расположены близко друг к другу. Это существенно влияет на способность мутантного белка вступать в значимые взаимодействия, поскольку большинство областей связывания и активных сайтов расположены в наибольшей полости карманов. Кроме того, белок дикого типа, будучи более гибким, имеет больше возможностей для движений, индуцированных лигандом, в то время как в мутантном движении, индуцированном лигандом, ограничено только перегруппиров-

ками боковой цепи. К тому же мутантный белок менее стабилен. Все это подтверждает, что полиморфизм *TLR6* влияет на структуру и функциональность белка (Hamann et al., 2013; Semlali et al., 2018). Учитывая, что *TLR2* и *TLR6* функционируют при образовании гетеродимера, мы провели анализ их комплексного полиморфизма при развитии ПОУГ и выявили, что у носителей гомозиготного генотипа дикого типа *TLR2-753 ArgArg:TLR6-249 ProPro* отношения шансов развития заболевания выше, что может объясняться именно особенностями совместного функционирования при распознавании лигандов и стимулировании дальнейшего иммунного каскада. Поскольку гены *TLR2* и *TLR6* расположены в одной хромосоме, мы провели анализ неравновесного сцепления и показали нарушение LD анализируемых позиций генов *TLR2-TLR6*. Это означает, что определенные аллели двух генов могут появляться в едином гаплотипе чаще, чем можно ожидать при случайном сочетании. При этом мы не выявили различий в частотах гаплотипов. Нарушение по сцеплению для данных полиморфных позиций было показано и в другом исследовании (Сташкевич и др., 2022).

Связь полиморфизма гена *TLR3* в анализируемой нами позиции наблюдается при ряде офтальмопатологий (Titi-Lartey et al., 2022). Стратификационный анализ по этнической принадлежности указывает на связь rs3775291 со всеми формами макулярной дегенерации только у европеоидов, но не у выходцев из Восточной Азии (Ma et al., 2016). Полиморфизм Leu412Phe влияет на нормальную димеризацию *TLR3*, что приводит к изменению активности белка, необходимой для правильной передачи сигналов (Ranjith-Kumar et al., 2007). Показано, что при глаукоме *TLR3* и *TLR4* инициируют некроптоз-регулируемую провоспалительную литическую форму некротической

гибели клеток, характеризующуюся набуханием клеток с последующим разрывом плазматической мембраны и высвобождением клеточного содержимого (Basavarajappa et al., 2023). Активность *TLR3*, участвующего в распознавании нуклеиновых кислот, высвобождаемых из поврежденных клеток, связывают в основном с ранней стадией глаукомы (Soto, Howell, 2014). Однако ассоциация полиморфизма этого гена с глаукомой вызывает дискуссию в литературе. Несколько исследований локуса *WDR36* гена *TLR3*, содержащего SNP rs3775291, продемонстрировали его роль в качестве гена-модификатора при ПОУГ за связь с клинической тяжестью протекания процесса (Hauser et al., 2006; Meer et al., 2021). Однако проведенный мета-анализ 122 публикаций не подтвердил значительную роль данной полиморфной позиции в генетической предрасположенности к ПОУГ или ее подтипам (Liu et al., 2017). Авторы склоняются к необходимости дальнейших исследований в конкретных популяциях.

Полиморфизмы rs4986790 и rs4986791 в третьем экзоне гена *TLR4* являются одними из наиболее известных и часто изучаемых SNP. Полиморфизм в данных позициях приводит к изменению полипептидных цепей экстрацеллюлярного домена рецептора и влияет на связывание с корецептором, что приводит к гипореактивности рецептора. Это может вызывать дисфункцию молекулы *TLR4* и нарушать работу иммунной системы (Arbour et al., 2000; Jahantigh et al., 2013; Lin et al., 2019). В настоящее время результаты проведенных метаанализов ассоциированности этих SNP с ПОУГ свидетельствуют о том, что данные в разных этнических группах различаются и необходимы дальнейшие исследования (Chaiwiang, Poyomtip, 2019; Lin et al., 2019). При этом практически во всех работах показано неравновесное сцепление полиморфных локусов *TLR4* (rs4986790) и *TLR4* (rs4986791) (Guimarães et al., 2018; Kania et al., 2022), что подтверждается и в нашем исследовании. Это свидетельствует о том, что рекомбинации участков хромосомы, на которой расположены данные полиморфные маркеры, наследуются единым блоком. Существует мнение, что при наличии высокой степени мультилокусного LD именно анализ гаплотипов может существенно увеличить статистическую значимость исследования (Jiang et al., 2014). Однако нами не выявлено достоверных различий анализируемых частот гаплотипов гена *TLR4*.

Поскольку рецепторы *TLR1*, 2, 4, 5, 6 и 10 относятся к поверхностным мембранным рецепторам, распознающим в основном липидные компоненты бактериальных структур, а *TLR3*, 7, 8 и 9 экспрессируются на мембранах внутриклеточных органелл, лигандами для которых являются компоненты нуклеиновых кислот вирусов (Akira et al., 2001; Sameer, Nissar, 2021), повышение частоты ряда генотипов генов *TLR* в группе пациентов может косвенно свидетельствовать об участии инфекционных факторов в инициации ПОУГ.

Заключение

Таким образом, связь полиморфизма *TLR* генов с ПОУГ, несмотря на доказанную значимость участия их белковых продуктов в патогенезе, требует дополнительных исследований с учетом этнических особенностей пациентов. Кро-

ме того, необходимо учитывать взаимодействия ген-ген для лучшего понимания сложных механизмов развития заболевания, что будет способствовать ранней диагностике ПОУГ и разработке необходимой терапевтической стратегии.

Список литературы / References

- Наркевич А.Н., Виноградов К.А., Гржибовский А.М. Множественные сравнения в биомедицинских исследованиях: проблема и способы решения. *Экология человека*. 2020;27(10):55-64. doi 10.33396/1728-0869-2020-10-55-64
- [Narkevich A.N., Vinogradov K.A., Grjibovski A.M. Multiple comparisons in biomedical research: the problem and its solutions. *Ekologiya Cheloveka = Human Ecology*. 2020;27(10):55-64. doi 10.33396/1728-0869-2020-10-55-64 (in Russian)]
- 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;25(3):327-332. doi 10.46235/1028-7221-1139-CAO [Stashkevich D.S., Belyaeva S.V., Evdokimov A.V. Comparative assessment of genetic polymorphism of Toll-like 2 and 6 receptors predisposing for non-specific ulcerative colitis and irritable bowel syndrome in Russians from Chelyabinsk Region. *Rossiiskii Immunologicheskii Zhurnal = Russ J Immunol*. 2022;25(3):327-332. doi 10.46235/1028-7221-1139-CAO (in Russian)]
- Akira S., Takeda K., Kaisho T. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat Immunol*. 2001;2:675-680. doi 10.1038/90609
- Arbour N.C., Lorenz E., Schutte B.C., Zabner J., Kline J.N., Jones M., Frees K., Watt J.L., Schwartz D.A. *TLR4* mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat Genet*. 2000; 25(2):187-191. doi 10.1038/76048
- Basavarajappa D., Galindo-Romero C., Gupta V., Agudo-Barriuso M., Gupta V.B., Graham S.L., Chitranshi N. Signalling pathways and cell death mechanisms in glaucoma: insights into the molecular pathophysiology. *Mol Aspects Med*. 2023;94:101216. doi 10.1016/j.mam.2023.101216
- Baudouin C., Kolko M., Melik-Parsadaniantz S., Messmer E.M. Inflammation in glaucoma: from the back to the front of the eye, and beyond. *Prog Retin Eye Res*. 2021;83:100916. doi 10.1016/j.preteyeres.2020.100916
- Chaiwiang N., Poyomtip T. The association of toll-like receptor 4 gene polymorphisms with primary open angle glaucoma susceptibility: a meta-analysis. *Biosci Rep*. 2019;39(4):BSR20190029. doi 10.1042/BSR20190029
- Guimarães L.O., Bajayb M.M., Monteiro E.F., Wunderliche G., Santosd S.E., Kirchgatter K. Genetic ancestry effects on the distribution of toll-like receptors (TLRs) gene polymorphisms in a population of the Atlantic Forest, São Paulo, Brazil. *Hum Immunol*. 2018; 79(2):101-108. doi 10.1016/j.humimm.2017.11.007
- Hamann L., Koch A., Sur S., Hoefler N., Glaeser C., Schulz S., Gross M., Franke A., Nöthlings U., Zacharowski K., Schumann R.R. Association of a common *TLR-6* polymorphism with coronary artery disease – implications for healthy ageing? *Immun Ageing*. 2013;10(1):43. doi 10.1186/1742-4933-10-43
- Hauser M.A., Allingham R.R., Linkroum K., Wang J., LaRocque-Abramson K., Figueiredo D., Santiago-Turla C., del Bono E.A., Haines J.L., Pericak-Vance M.A., Wiggs J.L. Distribution of *WDR36* DNA sequence variants in patients with primary open-angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(6):2542-2546. doi 10.1167/iovs.05-1476
- Jahantigh D., Salimi S., Alavi-Naini R., Emamdadi A., Osqee H.O., Mashhadi F.F. Association between *TLR4* and *TLR9* gene polymorphisms with development of pulmonary tuberculosis in Zahedan, Southeastern Iran. *Sci World J*. 2013;2013:534053. doi 10.1155/2013/534053

- Jiang D., Ma G., Yang R., Li K., Fang M. Bayesian model selection for multiple QTLs mapping combining linkage disequilibrium and linkage. *Genet Res.* 2014;96:e10. doi 10.1017/S0016672314000135
- Kania K.D., Hareža D., Wilczyński J.R., Wilczyński M., Jarych D., Malinowski A., Paradowska E. The Toll-like receptor 4 polymorphism Asp299Gly is associated with an increased risk of ovarian cancer. *Cells.* 2022;11(19):3137. doi 10.3390/cells11193137
- Lin Z., Huang S., Sun J., Xie B., Zhong Y. Associations between TLR4 polymorphisms and open angle glaucoma: a meta-analysis. *Biomed Res Int.* 2019;2019:6707650. doi 10.1155/2019/6707650
- Liu K., Wenling H., Jun Z., Yingxia Z., Hongbo C. Association of WDR36 polymorphisms with primary open angle glaucoma. A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2017;96:e7291. doi 10.1097/MD.00000000000007291
- Luo C., Yang X., Kain A.D., Powell D.W., Kuehn M.H., Tezel G. Glaucomatous tissue stress and the regulation of immune response through glial Toll-like receptor signaling. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010;51(11):5697-5707. doi 10.1167/iovs.10-5407
- Ma L., Tang F., Chu W., Young A., Brelen M., Pang C., Chen L. Association of toll-like receptor 3 polymorphism rs3775291 with age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2016;6:19718. doi 10.1038/srep19718
- Macedo A.B., Novis C.L., Bosque A. Targeting cellular and tissue HIV reservoirs with Toll-like receptor agonists. *Front Immunol.* 2019;10:2450. doi 10.3389/fimmu.2019.02450
- Meer E., Aleman T.S., Ross A.G. WDR36-associated neurodegeneration: a case report highlights possible mechanisms of normal tension glaucoma. *Genes.* 2021;12:1624. doi 10.3390/genes12101624
- Mulfaul K., Ozaki E., Fernando N., Brennan K., Chirco K., Connolly E., Greene C., Maminishkis A., Salomon R., Linetsky M., Natoli R., Mullins R., Campbell M., Doyle S. Toll-like receptor 2 facilitates oxidative damage-induced retinal degeneration. *Cell Rep.* 2020;30(7):2209-2224.e5. doi 10.1016/j.celrep.2020.01.064
- Nakamura J., Meguro A., Ota M., Nomura E., Nishide T., Kashiwagi K., Mabuchi F., Iijima H., Kawase K., Yamamoto T., Nakamura M., Negi A., Sagara T., Nishida T., Inatani M., Tanihara H., Aihara M., Araie M., Fukuchi T., Abe H., Higashide T., Sugiyama K., Kanamoto T., Kiuchi Y., Iwase A., Ohno S., Inoko H., Mizuki N. Association of toll-like receptor 2 gene polymorphisms with normal tension glaucoma. *Mol Vis.* 2009;15:2905-2910
- Ranjith-Kumar C.T., Miller W., Sun J., Xiong J., Santos J., Yarbrough I., Lamb R.J., Mills J., Duffy K., Hoose S., Cunningham M., Holzenburg A., Mbow M., Sarisky R., Kao C. Effects of single nucleotide polymorphisms on Toll-like receptor 3 activity and expression in cultured cells. *J Biol Chem.* 2007;282(24):17696-17705. doi 10.1074/jbc.M700209200
- Sameer A.S., Nissar S. Toll-like receptors (TLRs): structure, functions, signaling, and role of their polymorphisms in colorectal cancer susceptibility. *Biomed Res Int.* 2021;2021:1157023. doi 10.1155/2021/1157023
- Semlali A., Almutairi M., Rouabhia M., Reddy Parine N., Al Amri A., Al-Numair N.S., Hawsawi Y.M., Saud Alanazi M. Novel sequence variants in the *TLR6* gene associated with advanced breast cancer risk in the Saudi Arabian population. *PLoS One.* 2018;13(11):e0203376. doi 10.1371/journal.pone.0203376
- Soto I., Howell G.R. The complex role of neuroinflammation in glaucoma. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2014;4(8):a017269. doi 10.1101/cshperspect.a017269
- Stewart E.A., Wei R., Branch M.J., Sidney L.E., Amoaku W.M. Expression of Toll-like receptors in human retinal and choroidal vascular endothelial cells. *Exp Eye Res.* 2015;138:114-123. doi 10.1016/j.exer.2015.06.012
- Tezel G. Molecular regulation of neuroinflammation in glaucoma: current knowledge and the ongoing search for new treatment targets. *Prog Retin Eye Res.* 2022;87:100998. doi 10.1016/j.preteyeres.2021.100998
- Titi-Lartey O., Mohammed I., Amoaku W.M. Toll-like receptor signaling pathways and the pathogenesis of retinal diseases. *Front Ophthalmol.* 2022;2:850394. doi 10.3389/fopht.2022.850394
- Törmänen S., Korppi M., Teräsjarvi J., Vononvirta J., Koponen P., Helminen M., He Q., Nuolivirta K. Polymorphism in the gene encoding toll-like receptor 10 may be associated with asthma after bronchiolitis. *Sci Rep.* 2017;7:2956. doi 10.1038/s41598-017-03429-x
- 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;287(45):38327-38337. doi 10.1074/jbc.M112.375493
- Zhang Y., Liu J., Wang C., Liu J., Lu W. Toll-Like receptors gene polymorphisms in autoimmune disease. *Front Immunol.* 2021;12:672346. doi 10.3389/fimmu.2021.672346

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 05.04.2024. После доработки 12.08.2024. Принята к публикации 24.10.2024.