

УДК 577.354.3[(611-018.7:612.215.4):616.233-008.811.6]:616.248

DOI: 10.36604/1998-5029-2025-95-8-17

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ ГОРЬКОГО ВКУСА TAS2R В НАЗАЛЬНОМ ЭПИТЕЛИИ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ МЕТОДОМ СЕКВЕНИРОВАНИЯ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

Д.Е.Наумов, Д.А.Гассан, О.О.Котова, Е.Г.Шелудько, Е.Ю.Афанасьева, А.В.Конев, Ю.М.Перельман

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина 22

РЕЗЮМЕ. Введение. Рецепторы горького вкуса (TAS2R) – семейство рецепторов, состоящее из 25 представителей, экспрессированных в различных органах и тканях организма. Несмотря на высокий потенциал агонистов TAS2R как лекарственных препаратов для лечения бронхиальной астмы (БА), работы, характеризующие экспрессию данных рецепторов при БА единичны. **Цель.** Провести сравнительную характеристику полного спектра генов TAS2R, экспрессируемых в назальном эпителии здоровых лиц и больных БА, а также определить TAS2R, ассоциированные с особенностями течения заболевания. **Материалы и методы.** В исследование было включено 23 больных БА (средний возраст $41,4 \pm 3,15$ лет) различной степени тяжести и 8 условно здоровых добровольцев (средний возраст $38,4 \pm 1,67$ лет). Клетки для анализа получали методом браш-биопсии из нижней носовой раковины. Экспрессию мРНК анализировали методом секвенирования нового поколения (NGS) на секвенаторе MGISEQ-200. Показатели вентиляционной функции легких определяли с помощью спирометрии. Контроль БА оценивали с помощью вопросника Asthma Control Test (ACT). **Результаты.** Среди больных БА в 100% образцов определялась экспрессия TAS2R4, TAS2R5 и TAS2R20, другие наиболее часто экспрессируемые гены включали TAS2R38, TAS2R14, TAS2R19 и TAS2R31. В контрольной группе стабильно определялся только TAS2R20, реже, но более чем в половине образцов, были экспрессированы TAS2R4, TAS2R5, TAS2R14, TAS2R10 и TAS2R38. Экспрессия TAS2R9, TAS2R16 и TAS2R43 не была обнаружена ни в одном из образцов больных БА и контрольной группы. TAS2R20 был экспрессирован в 1,6 раз выше у больных БА, по сравнению с контрольной группой (FDR $p = 0,07$), и обратно коррелировал с контролем заболевания ($\rho = -0,74$, FDR $p = 0,001$). Экспрессия генов TAS2R4 и TAS2R5 была обратно взаимосвязана с проходимостью дыхательных путей, особенно с MOC_{50} (FDR $p = 0,04$) и COC_{25-75} (FDR $p = 0,01$). **Заключение.** Рецепторы TAS2R4, TAS2R5 и TAS2R20, отличающиеся наиболее стабильной и высокой экспрессией мРНК в назальном эпителии больных БА, представляют наибольший интерес для дальнейшего изучения. Экспрессия TAS2R20 ассоциирована с БА и возрастает по мере снижения ее контроля, а TAS2R4 и TAS2R5 в большей степени подвержены апрегуляции у лиц с более выраженной бронхиальной обструкцией.

Ключевые слова: рецепторы горького вкуса, TAS2R, бронхиальная астма, экспрессия, бронхиальная обструкция, контроль, назальный эпителий, NGS.

ANALYSIS OF TAS2R BITTER TASTE RECEPTORS EXPRESSION IN THE NASAL EPITHELIUM OF ASTHMA PATIENTS BY NEXT-GENERATION SEQUENCING

D.E.Naumov, D.A.Gassan, O.O.Kotova, E.G.Sheludko, E.Yu.Afanas'eva, A.V.Konev, J.M.Perelman

Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

SUMMARY. Introduction. Bitter taste receptors (TAS2R) are a family of receptors consisting of 25 members ex-

Контактная информация

Денис Евгеньевич Наумов, канд. мед. наук, зав. лабораторией, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: denn1985@bk.ru

Correspondence should be addressed to

Denis E. Naumov, MD, PhD (Med.), Head of Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: denn1985@bk.ru

Для цитирования:

Наумов Д.Е., Гассан Д.А., Котова О.О., Шелудько Е.Г., Афанасьева Е.Ю., Конев А.В., Перельман Ю.М. Анализ экспрессии рецепторов горького вкуса TAS2R в назальном эпителии больных бронхиальной астмой методом секвенирования нового поколения // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2025. Вып.95. С.8–17. DOI: 10.36604/1998-5029-2025-95-8-17

For citation:

Naumov D.E., Gassan D.A., Kotova O.O., Sheludko E.G., Afanas'eva E.Yu., Konev A.V., Perlman J.M. Analysis of TAS2R bitter taste receptors expression in the nasal epithelium of asthma patients by next-generation sequencing. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2025; (95):8–17 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2025-95-8-17

pressed in various organs and tissues of the body. Despite the high potential of TAS2R agonists as therapeutic agents for the treatment of asthma, there are only a few studies describing the expression of these receptors in asthma. **Aim.** To conduct a comparative analysis of the full spectrum of *TAS2R* genes expressed in the nasal epithelium of healthy individuals and patients with asthma, as well as to identify *TAS2R* associated with the disease characteristics. **Materials and methods.** The study included 23 patients with asthma (mean age 41.4 ± 3.15 years), predominantly of moderate severity, and 8 healthy volunteers (mean age 38.4 ± 1.67 years). Cells for analysis were obtained via brush biopsy from the inferior nasal turbinate. mRNA expression was analyzed using next-generation sequencing (NGS) on MGISEQ-200 sequencer. Pulmonary function was assessed using spirometry. Asthma control was evaluated using the Asthma Control Test (ACT) questionnaire. **Results.** Among the patients with asthma, expression of *TAS2R4*, *TAS2R5* and *TAS2R20* was detected in 100% of the samples; other highly expressed genes included *TAS2R38*, *TAS2R14*, *TAS2R19* and *TAS2R31*. In the control group, only *TAS2R20* was consistently detected, while *TAS2R4*, *TAS2R5*, *TAS2R14*, *TAS2R10* and *TAS2R38* were expressed less frequently but at least in half of the samples. Expression of *TAS2R9*, *TAS2R16* and *TAS2R43* was completely absent both in asthma and control samples. *TAS2R20* was expressed 1.6-fold higher in patients with asthma compared to the control group (FDR $p=0.07$), and inversely correlated with disease control ($\rho = -0.74$, FDR $p = 0.001$). Expression of *TAS2R4* and *TAS2R5* was inversely correlated with airway patency, particularly with FEF_{50} (FDR $p = 0.04$) and MEF_{25-75} (FDR $p = 0.01$). **Conclusion.** *TAS2R4*, *TAS2R5*, and *TAS2R20* receptors, which show the most stable and high mRNA expression in the nasal epithelium of patients with asthma, are of the greatest interest for further study. Expression of *TAS2R20* is associated with asthma and increases as the disease control decreases, while *TAS2R4* and *TAS2R5* undergo upregulation in individuals with more pronounced bronchial obstruction.

Key words: asthma, expression, bitter taste receptors, TAS2R, bronchial obstruction, NGS, airway epithelium.

В настоящее время установлено, что рецепторы горького вкуса (taste 2 receptors, TAS2R) не только играют важную роль в распознавании потенциально токсичных веществ, предотвращая отравление при их случайном употреблении внутрь, но и участвуют во множестве других биологических процессов, экспрессируясь в различных органах и тканях организма. У большинства людей можно обнаружить 25 белок-кодирующих генов *TAS2R*: *TAS2R1*, -3, -4, -5, -7, -8, -9, -10, -13, -14, -16, -19, -20, -30, -31, -38, -39, -40, -41, -42, -43, -45, -46, -50 и -60. TAS2R состоят из семи трансмембранных доменов и являются G-белок-связанными рецепторами, сигнальный каскад которых включает диссоциацию субъединиц G-белка, активацию фосфолипазы C $\beta 2$ (PLC $\beta 2$) с расщеплением фосфотидилинозитол-4,5-бифосфата на инозитол-1,4,5-трифосфат (IP3) и диацилглицерол. Образовавшийся IP3 связывается с соответствующими рецепторами (IP3R) на эндоплазматическом ретикулууме, что влечет выход ионов кальция в цитозоль. В эпителии языка дальнейший сигналинг опосредован каналами с транзиторным рецепторным потенциалом TRPM5, а в клетках других типов и локализации может иметь свои особенности [1].

Широкий спектр TAS2R был обнаружен в различных отделах респираторного тракта. Так, в эпителии переднего решетчатого синуса определялась экспрессия всех TAS2R, при этом среди здоровых лиц наиболее высокая экспрессия была найдена для генов *TAS2R31*, -30, -14, -43, -4, -3, -49, -19, -13, -5, а самая низкая – для *TAS2R1*, -7, -8, -9, -16, -39, -40, -41, -42, -60 [2]. В первичных дифференцированных культурах эпителия дыхательных путей картина отличалась: наиболее высокая экспрессия была характерна для *TAS2R1*, в меньшей степени экспрессировались *TAS2R4* и *TAS2R14*, промежуточный уровень занимали *TAS2R9*, -10, -13 и -16, а самая низкая экспрессия отмечалась

для *TAS2R3*, -7 и -8. Авторы также обнаружили экспрессию белка рецепторов *TAS2R4*, -38, -43 и -46 непосредственно на ресничках эпителиальных клеток [3]. В тотальной ткани бронхов наиболее экспрессируемым геном был *TAS2R14*, а среди генов с наиболее низкой экспрессией находились *TAS2R20*, -38, -7, -8 и -9 [4]. В гладкой мускулатуре дыхательных путей были найдены рецепторы (в порядке убывания уровня экспрессии) *TAS2R10*, -14, -31, -5, -4, -19, -3, -20, -45, -50, -30, -9, -13, -42, -46, -1 и -8 [5], а перечень TAS2R на лейкоцитах крови включал *TAS2R4*, -5, -10, -13, -14, -19, -20, -31, -45, -46 и -50 [6].

Функции, реализуемые TAS2R в респираторном тракте, зависят от типа клеток, на которых они экспрессируются. На сегодняшний день известно, что на солитарных хемочувствительных клетках и цилиарном эпителии дыхательных путей TAS2R опосредуют неспецифическую защиту от инфекций, активируя продукцию антимикробных пептидов, оксида азота, а также увеличивая скорость мукоцилиарного клиренса [7]. TAS2R, экспрессированные на гладкомышечных клетках, оказывают релаксирующий и антипролиферативный эффекты, а на лейкоцитах подавляют продукцию воспалительных медиаторов [8].

На фоне относительной немногочисленности работ, рассматривающих экспрессию различных TAS2R в дыхательной системе, исследования, посвященные особенностям экспрессии TAS2R при бронхиальной астме (БА), единичны. Несмотря на широкий выбор агонистов TAS2R, имеющих перспективы применения в качестве бронходилатирующих и противовоспалительных средств для лечения БА [8], фактически, на сегодняшний день доступны результаты лишь одного исследования, показавшего, что экспрессия рецепторов *TAS2R13*, -14 и -19 увеличена в лейкоцитах детей с тяжелой, резистентной к терапии

БА, по сравнению со здоровыми детьми. При этом для экспрессии *TAS2R5* были установлены обратные корреляции с показателями вентиляционной функции легких и прямая взаимосвязь с гиперреактивностью дыхательных путей на метахолин. Несмотря на это, повышенный уровень *TAS2R* у больных, вероятно, имел протективный эффект по отношению к БА, поскольку *in vitro* агонисты *TAS2R* подавляли индуцированную липополисахаридами продукцию широкого спектра цитокинов (интерлейкин (IL)-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, IL-17, интерферон γ , фактор некроза опухоли α , моноцитарный хемотаксический протеин-1, простагландин E2, гранулоцитарный и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующие факторы) [6]. Дополнительно можно обратить внимание на работу Kook J.H. et al., которая посвящена особенностям экспрессии *TAS2R* в назальном эпителии больных аллергическим ринитом – заболеванием, имеющим некоторые общие патогенетические черты с БА и часто ей сопутствующим. Авторы исследовали ограниченный перечень рецепторов (*TAS2R4*, -5, -7, -10, -14, -39 и -43) и установили, что их экспрессию можно обнаружить в эпителиальных клетках как на уровне мРНК, так и на уровне белка. При этом у больных аллергическим ринитом уровень экспрессии всех изученных *TAS2R* был значимо выше по сравнению со здоровыми лицами. Примечательно, что причиной повышенной экспрессии *TAS2R* при аллергическом рините и, вероятно, БА может быть аллергическое воспаление, основными медиаторами которого являются

интерлейкины IL-4, -5 и -13. В эксперименте *in vitro* на дифференцированных культурах эпителиальных клеток данные интерлейкины достоверно увеличивали экспрессию *TAS2R* рецепторов. Как и в работе Otsmark-Pietras C. et al. [6], активация *TAS2R* имела сано-генетический эффект, способствуя констрикции сосудов и увеличению объема носовой полости [9].

Целью настоящей работы было дать сравнительную характеристику полного спектра генов *TAS2R*, экспрессируемых в назальном эпителии здоровых лиц и больных БА, а также определить *TAS2R*, ассоциированные с особенностями течения заболевания.

Материалы и методы исследования

Исследования проводили в соответствии с принципами Хельсинкской декларации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» с поправками 2013 г. Все лица подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с протоколом, одобренным локальным комитетом по биомедицинской этике ДНЦ ФПД.

В исследование было включено 23 больных БА различной степени тяжести (основная группа) и 8 условно здоровых добровольцев, не имевших нарушений функции внешнего дыхания (контрольная группа). Обследуемые группы не различались по возрасту, полу, индексу массы тела, частоте курения и наличию аллергического ринита (табл. 1).

Таблица 1

Клинико-функциональная характеристика исследуемых групп

Показатель	Основная группа	Контрольная группа	Значимость (p)
Возраст, лет	41,4 $\pm$ 3,15	38,4 $\pm$ 1,67	0,58
Пол мужской, n (%)	9 (37,1)	1 (12,5)	0,17
Курящие лица, n (%)	10 (43,5)	1 (12,5)	0,11
Индекс курения, пачка-лет	0,0 (0,0-15,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,20
Аллергический ринит, n (%)	7 (30,4)	1 (12,5)	0,32
Индекс массы тела, кг/м ²	25,9 (21,6-30,8)	23,6 (21,0-26,4)	0,25
ЖЕЛ, % должн.	101,0 (91,0-114,0)	104,9 (93,0-116,0)	0,63
ФЖЕЛ, % должн.	105,0 (94,0-114,0)	102,1 (91,5-115,5)	0,99
ОФВ ₁ , % должн.	99,0 (81,0-101,0)	109,5 (96,0-117,0)	0,03
ОФВ ₁ /ФЖЕЛ, %	75,0 (69,1-81,0)	88,8 (85,2-99,4)	0,003
ПОС, % должн.	88,0 (73,0-101,0)	119,5 (103,0-128,0)	0,004
МОС ₂₅ , % должн.	77,0 (65,0-94,0)	127,5 (109,4-138,0)	<0,001
МОС ₅₀ , % должн.	68,0 (48,0-75,0)	111,5 (103,2-132,5)	<0,001
МОС ₇₅ , % должн.	57,0 (51,0-85,0)	105,0 (77,5-113,5)	0,004
СОС ₂₅₋₇₅ , % должн.	66,0 (45,0-79,0)	114,5 (94,6-125,0)	<0,001

С целью определения контроля БА использовали вопросник Asthma Control Test (ACT), при этом большая часть пациентов (59%) имела неконтролируемое течение заболевания.

Показатели функции внешнего дыхания (жизненную емкость легких (ЖЕЛ), форсированную ЖЕЛ (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за 1 сек. (ОФВ₁), соотношение ОФВ₁/ФЖЕЛ, пиковую объемную скорость (ПОС), максимальную объемную скорость на уровне 25% ФЖЕЛ (МОС₂₅), 50% ФЖЕЛ (МОС₅₀), 75% ФЖЕЛ (МОС₇₅), среднюю объемную скорость (СОС₂₅₋₇₅)) измеряли методом спирометрии форсированного выдоха на аппарате Easy on-PC (nddMedizintechnik AG, Швейцария).

Клетки назального эпителия получали с помощью браш-биопсии из нижней носовой раковины, после чего немедленно помещали в RTL Lysis Buffer (Guangzhou Magen Biotechnology Co., Ltd., КНР) и замораживали при -80°C. Общую РНК выделяли коммерческими наборами HiPure Total RNA Kit (Guangzhou Magen Biotechnology Co., Ltd., КНР) согласно протоколу производителя. Концентрацию РНК определяли на флуориметре Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific, США), качество РНК оценивали с помощью микроципового электрофореза на системе MCE-202 MultiNA (Shimadzu, Япония). Селекцию мРНК проводили наборами VANTS mRNA Capture Beads (Nanjing Vazyme Biotech Co., Ltd., КНР), для подготовки библиотек использовали наборы MGIEasy RNA Library Prep Set (MGI Tech, КНР). Секвенирование выполняли на полногеномном секвенаторе MGISEQ-200 (MGI Tech, КНР) в режиме SE50. Анализ качества полученных прочтений проводили в программном обеспечении FastQC v0.12.1. Всего было проанализировано 1002,6 млн прочтений со средним качеством Q30 – 83,1%. Картирование прочтений на референсный транскриптом T2T-CHM13v2.0 и подсчет числа транскриптов выполняли с помощью программного обеспечения Salmon v1.10.1 [10]. Последующую обработку данных проводили в среде R (R Foundation for Statistical Computing, Австрия) с использованием пакетов: tximport v1.28.0 – для сортировки импортируемых транскриптов по генам, DESeq2 v1.40.2 – для анализа дифференциальной экспрессии генов. Дифференциально экспрессированными считали гены, уровень значимости различий для которых после коррекции на множественные сравнения (FDR) составлял <0,1. Нормализованные с помощью DESeq2 значения экспрессии генов *TAS2R* были извлечены из общей совокупности транскриптомных данных для дальнейшего анализа.

Статистические расчеты выполняли в программном пакете Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., США). Количественные данные представлены в формате $M \pm m$ – арифметическое среднее и стандартная ошибка среднего или Me (Q₁-Q₃) – медиана и межквартильный интервал. Оценку значимости межгрупповых различий

для количественных переменных выполняли с помощью критерия t Стьюдента (для нормально распределенных переменных) либо критерия U Манна-Уитни (для переменных, распределение которых отличалось от нормального). Оценку ассоциаций качественных переменных проводили с использованием критерия χ^2 Пирсона или критерия Фишера. Корреляционный анализ проводили с помощью теста ранговой корреляции r Спирмена. В качестве критического уровня значимости (p) принимали значение 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Сравнивая процент образцов, в которых была найдена экспрессия различных изоформ *TAS2R*, мы установили, что у больных БА наиболее часто обнаруживались (в порядке убывания) *TAS2R4/TAS2R5/TAS2R20 > TAS2R38 > TAS2R14 > TAS2R19 > TAS2R31* – данные гены были экспрессированы, по крайней мере, в половине образцов. Среди лиц контрольной группы данный перечень *TAS2R* был представлен в следующем порядке: *TAS2R20 > TAS2R4 > TAS2R5/TAS2R14 > TAS2R10 > TAS2R38*. Можно отметить, что единственным геном, экспрессированным во всех образцах, как в основной, так и в контрольной группах, был *TAS2R20*. В то же время среди больных БА во всех образцах также были найдены транскрипты *TAS2R4* и *TAS2R5*. Прочие гены экспрессировались менее чем в половине образцов, а экспрессия *TAS2R9*, *TAS2R16* и *TAS2R43* не была найдена ни в одном из них, вне зависимости от наличия заболевания (рис. 1).

Отмечалась взаимосвязь между частотой экспрессии *TAS2R* в образцах и ее уровнем (рис. 2). Так, среди больных БА нормализованный уровень генов с ненулевой медианной экспрессией составлял: *TAS2R20* – 14,1 (8,3-18,3), *TAS2R4* – 9,5 (6,8-12,5), *TAS2R5* – 4,9 (3,3-6,1), *TAS2R14* – 2,0 (0,0-6,6), *TAS2R38* – 0,9 (0,0-2,2), *TAS2R31* – 0,7 (0,0-1,7), *TAS2R19* – 0,4 (0,0-1,4). Среди лиц контрольной группы соответствующий перечень был представлен генами: *TAS2R20* – 7,8 (7,0-9,1), *TAS2R4* – 6,5 (3,8-7,9), *TAS2R5* – 3,5 (0,6-6,1), *TAS2R14* – 3,4 (1,3-5,1), *TAS2R10* – 0,6 (0,0-0,9), *TAS2R38* – 0,5 (0,0-1,3). В целом, *TAS2R* отличались низким уровнем экспрессии во всех образцах. Например, при сравнении с экспрессией гена β_2 -адренорецепторов (*ADRB2*) уровень транскрипции *TAS2R20* был ниже в 16,5 (9,7-22,5) раз, *TAS2R4* – в 20,3 (11,9-30,7) раз, а *TAS2R5* – в 37,3 (22,0-52,4) раз.

Дифференциальный анализ экспрессии *TAS2R* между больными БА и лицами контрольной группы выявил значимые различия для гена *TAS2R20*, экспрессия которого была в 1,6 раза выше у больных БА (p = 0,009, FDR p = 0,07). В то же время, *TAS2R4*, экспрессия которого в основной группе была увеличена в 1,7 раза, также демонстрировал значимые различия до коррекции (p = 0,03), однако после коррекции на множественные сравнения результат становился незначим (FDR p = 0,13).

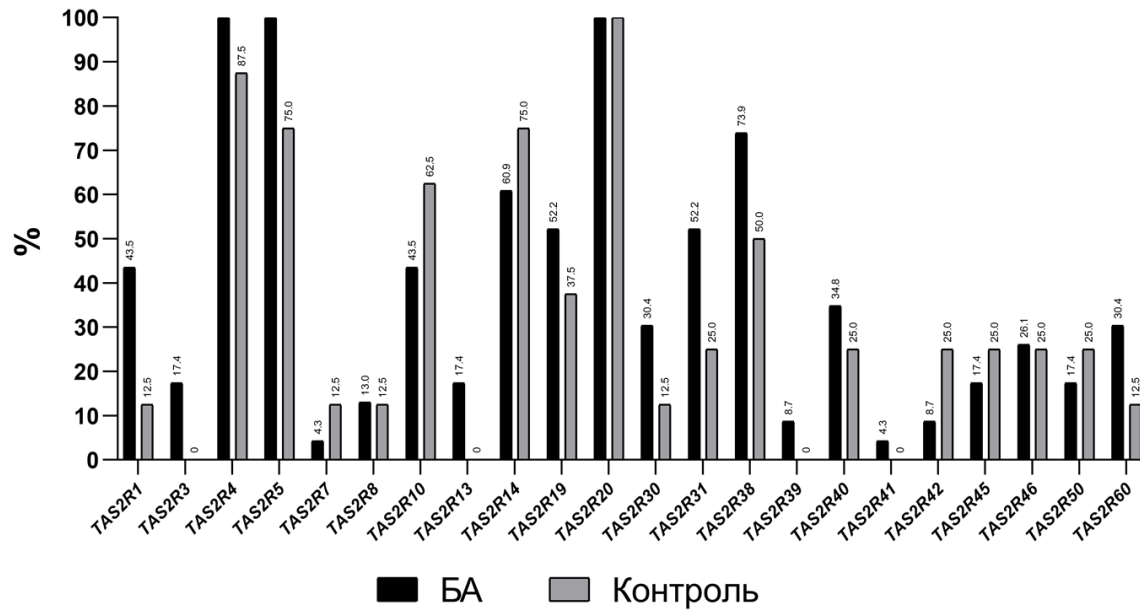


Рис. 1. Число образцов (в % от общего количества) больных БА и лиц контрольной группы, в которых была успешно определена экспрессия различных генов *TAS2R*.

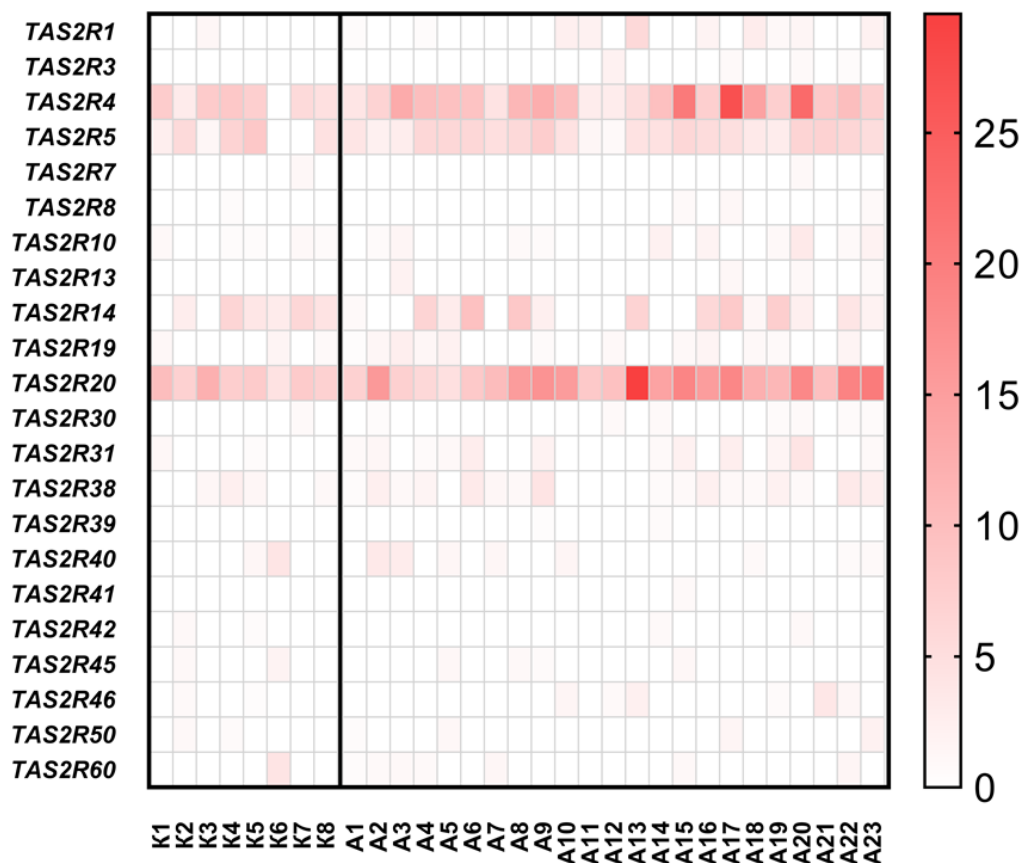


Рис. 2. Тепловая карта, демонстрирующая индивидуальные нормализованные значения экспрессии каждого *TAS2R* в образцах лиц контрольной группы (К) и больных бронхиальной астмой (А).

Экспрессия некоторых генов оказалась обратно взаимосвязана с контролем БА (*TAS2R20* ($\rho = -0,74$, $p < 0,001$), *TAS2R31* ($\rho = -0,51$, $p = 0,01$), *TAS2R38* ($\rho = -0,45$, $p = 0,03$), *TAS2R8* ($\rho = -0,45$, $p = 0,03$) и *TAS2R4* ($\rho = -0,44$, $p = 0,03$)), однако после коррекции на множественные сравнения, значимость корреляции оставалась только для *TAS2R20* (FDR $p = 0,001$) (рис. 3). С целью учета возможного эффекта конфаундеров на

экспрессии некоторых генов оказалась обратно взаимосвязана с контролем БА (*TAS2R20* ($\rho = -0,74$, $p < 0,001$), *TAS2R31* ($\rho = -0,51$, $p = 0,01$), *TAS2R38* ($\rho = -0,45$, $p = 0,03$), *TAS2R8* ($\rho = -0,45$, $p = 0,03$) и *TAS2R4* ($\rho = -0,44$, $p = 0,03$)), однако после коррекции на множественные сравнения, значимость корреляции оставалась только для *TAS2R20* (FDR $p = 0,001$) (рис. 3). С целью учета возможного эффекта конфаундеров на

взаимосвязь экспрессии *TAS2R20* с контролем БА был выполнен множественный регрессионный анализ. Несмотря на незначимость модели в целом ($F(6,16) = 2,51$, $R^2 = 0,48$, $p = 0,06$), уровень экспрессии *TAS2R20* оста-

вался наиболее сильным предиктором контроля БА ($\beta = -0,54$, $p = 0,01$) с учетом коррекции на пол, возраст, индекс массы тела, наличие аллергического ринита и статус курения.

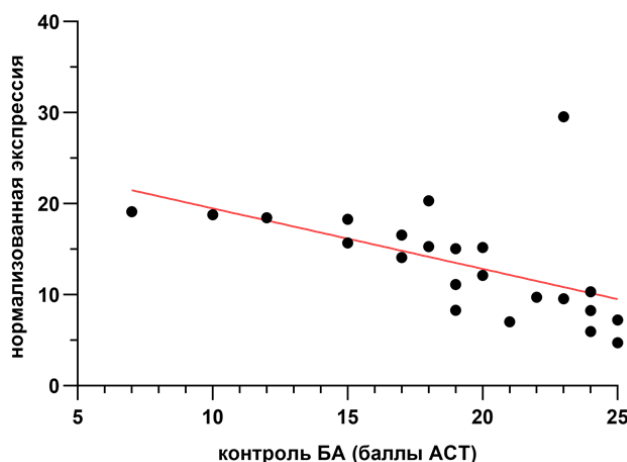


Рис. 3. Обратная корреляция экспрессии *TAS2R20* и уровня контроля бронхиальной астмы по вопросу АСТ.

Корреляционный анализ нормализованных уровней экспрессии *TAS2R* с показателями вентиляционной функции легких выявил обратные взаимосвязи для генов *TAS2R4* и *TAS2R5*, в особенности, с MOC_{50} и COC_{25-75} , отражающими проходимость на уровне сред-

них и мелких бронхов (табл. 2). После коррекции на множественные сравнения корреляции экспрессии обоих рецепторов с MOC_{50} и COC_{25-75} оставались значимы ($FDR\ p = 0,04$ и $FDR\ p = 0,01$, соответственно).

Таблица 2
Корреляционные взаимосвязи экспрессии *TAS2R4* и *TAS2R5* с параметрами вентиляционной функции легких

Показатель	<i>TAS2R4</i>		<i>TAS2R5</i>	
	Коэффициент корреляции (ρ)	Значимость (p)	Коэффициент корреляции (ρ)	Значимость (p)
ЖЕЛ	-0,16	0,46	-0,20	0,36
ФЖЕЛ	-0,11	0,60	-0,11	0,62
ОФВ ₁	-0,34	0,11	-0,35	0,10
ОФВ ₁ /ФЖЕЛ	-0,43	0,04	-0,42	0,04
ПОС	-0,42	0,04	-0,27	0,22
MOC_{25}	-0,47	0,02	-0,32	0,14
MOC_{50}	-0,60	0,002	-0,58	0,004
MOC_{75}	-0,44	0,04	-0,56	0,005
COC_{25-75}	-0,66	0,001	-0,63	0,001

Таким образом, нами впервые была проведена комплексная оценка экспрессии генов *TAS2R* в назальном эпителии больных БА и здоровых лиц, которая позволила установить преобладающий уровень транскриптов *TAS2R20*, *TAS2R4* и *TAS2R5* по сравнению с другими генами данного семейства. Экспрессия большинства *TAS2R* чаще обнаруживалась при БА, а уровень *TAS2R20* был значимо увеличен в основной

группе по сравнению с контролем. Выявленный нами паттерн экспрессии *TAS2R*, как у больных БА, так и среди здоровых лиц, заметно отличался от данных других авторов [2–6]. В то время как относительно высокий уровень транскрипции *TAS2R4* и *TAS2R5* ранее обнаруживался в назальном эпителии, преобладание *TAS2R20* было найдено впервые. Такое несоответствие может быть обусловлено особенностями экспрессии

TAS2R в различных отделах полости носа и околоносовых синусах. Повышенная экспрессия *TAS2R*, по-видимому, в целом характерна для аллергического воспаления и БА, что подтверждается данными [6] и [9], однако достоверная апрегуляция *TAS2R20* при данном заболевании ранее не обнаруживалась. Кроме этого, экспрессия данного гена возрастала при снижении контроля БА. В то же время, экспрессия генов *TAS2R4* и *TAS2R5* хотя и не была связана с наличием заболевания или его контролем, демонстрировала корреляции с показателями вентиляционной функции легких, увеличиваясь по мере снижения бронхиальной проходимости.

Потенциальная важность рецепторов *TAS2R4*, *TAS2R5* и *TAS2R20* в этиопатогенезе БА также подтверждается ранее полученными нами результатами. В частности, мы обнаружили ассоциацию полиморфизмов генов *TAS2R4* и *TAS2R5*, находящихся в полном неравновесии по сцеплению, с предрасположенностью к БА [11], а также установили эффект полиморфизма *TAS2R20* на контроль БА, степень бронхиальной обструкции и уровень общего иммуноглобулина Е в сыворотке крови [12]. При этом, предположительно, генотип *TAS2R4*, ассоциированный с БА, был связан с повышенной экспрессией гена, а связанный с ним патогенный вариант *TAS2R5* – с пониженной. Генотип ТТ полиморфизма *TAS2R20* rs61912291, оказывающий неблагоприятный эффект на течение БА, также, вероятно, опосредовал свое влияние через снижение экспрессии соответствующего гена. Таким образом, хотя взаимосвязь перечисленных генетических вариантов с уровнем экспрессии требует дополнительной проверки, на текущий момент ситуация представляется парадоксальной: в то время как с развитием и более тяжелым течением заболевания в основном связаны генотипы, ассоциированные со сниженной экспрессией *TAS2R*, непосредственно сам уровень экспрессии у больных БА оказывается увеличен или возрастает при утрате контроля и снижении показателей функции легких. Основываясь на доступной информации [9], можно предполагать вторичную природу и компенсаторный характер наблюдаемой апрегуляции *TAS2R* при БА. Однако, по-видимому, простого увеличения экспрессии оказывается недостаточно для эффективного сдерживания патологического процесса, что может быть обусловлено дополнительным нарушением каких-либо звеньев сигнального каскада *TAS2R*, либо недостатком их эндогенных лигандов. Кроме того, по-прежнему остается неизученным такой важный аспект, как влияние ингаляционных глюкокортикоидов и бронхолитиков, применяемых для терапии БА, на экспрессию и активность *TAS2R*.

В свою очередь, генетически обусловленное снижение экспрессии может играть более существенную роль на ранних, доклинических этапах заболевания, когда отсутствует достаточный эффект эндогенных факторов, способных вызвать апрегуляцию *TAS2R*.

Также возможно, что вторичной апрегуляции *TAS2R* подвержены не все типы клеток, и, таким образом, влияние наследственно обусловленных особенностей экспрессии все же может иметь место даже на фоне активно протекающего заболевания.

Данные о функциональной роли рецепторов *TAS2R20* и *TAS2R5*, демонстрирующих наиболее высокую экспрессию в назальном эпителии, также указывают на их возможную вовлеченность в патогенез БА. Так, известно, что агонистом *TAS2R20* является кромоглициевая кислота и ее производные [13], ранее активно применяемые для лечения БА. Несмотря на то, что *TAS2R20* не является основным рецептором, опосредующим действие данной группы препаратов, он может вносить дополнительный, до настоящего времени неизученный вклад в их терапевтический эффект. *TAS2R5* обладает выраженным миорелаксирующим действием на гладкую мускулатуру бронхов, а его агонист – 1,10-фенантролин-5,6-дион – является эффективным бронхолитиком [14]. Кроме того, как упоминалось ранее, для экспрессии *TAS2R5* на лейкоцитах крови были найдены отрицательные взаимосвязи с бронхиальной проходимостью и гиперреактивностью дыхательных путей [6], что согласуется с полученными результатами.

Основное ограничение настоящего исследования – смешанный клеточный состав браш-биоптатов. Поскольку предварительная сепарация эпителиальных клеток не проводилась, вероятно, что мРНК для анализа экспрессии генов *TAS2R* отчасти была получена также из лейкоцитов различных типов. Гетерогенность клеточного состава образцов и его индивидуальная вариабельность могли внести искажение в выявленные закономерности. Ввиду небольшого размера выборки, полученные результаты носят предварительный характер и нуждаются в верификации методом количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией, а также с помощью проточной цитометрии или вестерн-блоттинга для определения экспрессии *TAS2R* на уровне белка.

Выводы

Полученные данные позволили выделить наиболее экспрессируемые рецепторы в эпителии полости носа больных БА и здоровых лиц, а также определить *TAS2R4*, *TAS2R5* и *TAS2R20* как наиболее перспективные для дальнейшего изучения. Мы обнаружили апрегуляцию гена *TAS2R20* среди больных БА и установили ассоциацию его уровня с контролем заболевания. Экспрессия *TAS2R4* и *TAS2R5* не демонстрировала особенностей при БА, но была связана с показателями вентиляционной функции легких, увеличиваясь по мере нарастания бронхиальной обструкции.

Дальнейшие исследования должны быть направлены на уточнение экспрессии и функциональной роли *TAS2R* в различных отделах респираторного тракта, поиск их эндогенных лигандов, выявление молекуляр-

ных механизмов, способных изменять экспрессию и активность данных рецепторов у больных БА.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект №23-15-00372)

Funding Sources

This study was supported by Russian Science Foundation (project №23-15-00372)

ЛИТЕРАТУРА

1. Talmon M., Pollastro F., Fresu L.G. The complex journey of the calcium regulation downstream of TAS2R activation // *Cells*. 2022. Vol.11, Iss.22. Article number:3638. <https://doi.org/10.3390/cells11223638>
2. Chen J., Larson E.D., Anderson C.B., Agarwal P., Frank D.N., Kinnamon S.C., Ramakrishnan V.R. Expression of bitter taste receptors and solitary chemosensory cell markers in the human sinonasal cavity // *Chem. Senses*. 2019. Vol.44, Iss.7. P.483–495. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjz042>
3. Shah A.S., Ben-Shahar Y., Moninger T.O., Kline J.N., Welsh M.J. Motile cilia of human airway epithelia are chemosensory // *Science*. 2009. Vol.325, Iss.5944. P.1131–1134. <https://doi.org/10.1126/science.1173869>
4. Grassin-Delyle S., Abrial C., Fayad-Kobeissi S., Brollo M., Faisy C., Alvarez J.C., Naline E., Devillier P. The expression and relaxant effect of bitter taste receptors in human bronchi // *Respir. Res*. 2013. Vol.14, Iss.1. Article number:134. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-14-134>
5. Deshpande D.A., Wang W.C., McIlmoyle E.L., Robinett K.S., Schillinger R.M., An S.S., Sham J.S., Liggett S.B. Bitter taste receptors on airway smooth muscle bronchodilate by localized calcium signaling and reverse obstruction // *Nat. Med*. 2010. Vol.16, Iss.11. P.1299–1304. <https://doi.org/10.1038/nm.2237>
6. Orsmark-Pietras C., James A., Konradsen J.R., Nordlund B., Söderhäll C., Pulkkinen V., Pedroletti C., Daham K., Kupczyk M., Dahlén B., Kere J., Dahlén S.E., Hedlin G., Melén E. Transcriptome analysis reveals upregulation of bitter taste receptors in severe asthmatics // *Eur. Respir. J*. 2013. Vol.42, Iss.1. P.65–78. <https://doi.org/10.1183/09031936.00077712>
7. Lee R.J., Cohen N.A. Bitter and sweet taste receptors in the respiratory epithelium in health and disease // *J. Mol. Med. (Berl)*. 2014. Vol.92, Iss.12. P.1235–1244. <https://doi.org/10.1007/s00109-014-1222-6>
8. Nayak A.P., Shah S.D., Michael J.V., Deshpande D.A. Bitter taste receptors for asthma therapeutics // *Front. Physiol*. 2019. Vol.10. Article number:884. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00884>
9. Kook J.H., Kim H.K., Kim H.J., Kim K.W., Kim T.H., Kang K.R., Oh D.J., Lee S.H. Increased expression of bitter taste receptors in human allergic nasal mucosa and their contribution to the shrinkage of human nasal mucosa // *Clin. Exp. Allergy*. 2016. Vol.46, Iss.4. P.584–601. <https://doi.org/10.1111/cea.12727>
10. Patro R., Duggal G., Love M.I., Irizarry R.A., Kingsford C. Salmon provides fast and bias-aware quantification of transcript expression // *Nat. Methods*. 2017. Vol.14, Iss.4. P.417–419. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4197>
11. Наумов Д.Е., Гассан Д.А., Котова О.О., Шелудько Е.Г., Афанасьева Е.Ю., Сугайло И.Ю., Горчакова Я.Г. Взаимосвязь полиморфизмов генов *TAS2R3*, *TAS2R4* и *TAS2R5* с предрасположенностью к бронхиальной астме // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2024. Вып.92. С.8–17. <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2024-92-8-17>
12. Наумов Д.Е., Гассан Д.А., Котова О.О., Шелудько Е.Г., Афанасьева Е.Ю., Конев А.В., Перельман Ю.М. Эффект полиморфизмов гена *TAS2R20* на формирование бронхиальной астмы и течение заболевания // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2024. Вып.94. С.40–50. <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2024-94-40-50>
13. Meyerhof W., Batram C., Kuhn C., Brockhoff A., Chudoba E., Bufer B., Appendino G., Behrens M. The molecular receptive ranges of human TAS2R bitter taste receptors // *Chem. Senses*. 2010. Vol.35, Iss.2. P.157–170. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjp092>
14. Kim D., An S.S., Lam H., Leahy J.W., Liggett S.B. Identification and characterization of novel bronchodilator agonists acting at human airway smooth muscle cell TAS2R5 // *ACS Pharmacol. Transl. Sci*. 2020. Vol.3, Iss.6. P.1069–1075. <https://doi.org/10.1021/acspsci.0c00127>

REFERENCES

1. Talmon M., Pollastro F., Fresu L.G. The complex journey of the calcium regulation downstream of TAS2R activation. *Cells* 2022; 11(22):3638. <https://doi.org/10.3390/cells11223638>
2. Chen J., Larson E.D., Anderson C.B., Agarwal P., Frank D.N., Kinnamon S.C., Ramakrishnan V.R. Expression of bitter taste receptors and solitary chemosensory cell markers in the human sinonasal cavity. *Chem. Senses* 2019; 44(7):483–495. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjz042>
3. Shah A.S., Ben-Shahar Y., Moninger T.O., Kline J.N., Welsh M.J. Motile cilia of human airway epithelia are che-

mosensory. *Science* 2009; 325(5944):1131–1134. <https://doi.org/10.1126/science.1173869>

4. Grassin-Delyle S., Abrial C., Fayad-Kobeissi S., Brollo M., Faisy C., Alvarez J.C., Naline E., Devillier P. The expression and relaxant effect of bitter taste receptors in human bronchi. *Respir. Res.* 2013; 14(1):134. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-14-134>

5. Deshpande D.A., Wang W.C., McIlmoyle E.L., Robinett K.S., Schillinger R.M., An S.S., Sham J.S., Liggett S.B. Bitter taste receptors on airway smooth muscle bronchodilate by localized calcium signaling and reverse obstruction. *Nat. Med.* 2010; 16(11):1299–1304. <https://doi.org/10.1038/nm.2237>

6. Orsmark-Pietras C., James A., Konradsen J.R., Nordlund B., Söderhäll C., Pulkkinen V., Pedroletti C., Daham K., Kupczyk M., Dahlén B., Kere J., Dahlén S.E., Hedlin G., Melén E. Transcriptome analysis reveals upregulation of bitter taste receptors in severe asthmatics. *Eur. Respir. J.* 2013; 42(1):65–78. <https://doi.org/10.1183/09031936.00077712>

7. Lee R.J., Cohen N.A. Bitter and sweet taste receptors in the respiratory epithelium in health and disease. *J. Mol. Med. (Berl)*. 2014; 92(12):1235–1244. <https://doi.org/10.1007/s00109-014-1222-6>

8. Nayak A.P., Shah S.D., Michael J.V., Deshpande D.A. Bitter taste receptors for asthma therapeutics. *Front. Physiol.* 2019; 10:884. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00884>

9. Kook J.H., Kim H.K., Kim H.J., Kim K.W., Kim T.H., Kang K.R., Oh D.J., Lee S.H. Increased expression of bitter taste receptors in human allergic nasal mucosa and their contribution to the shrinkage of human nasal mucosa. *Clin. Exp. Allergy* 2016; 46(4):584–601. <https://doi.org/10.1111/cea.12727>

10. Patro R., Duggal G., Love M.I., Irizarry R.A., Kingsford C. Salmon provides fast and bias-aware quantification of transcript expression. *Nat. Methods* 2017; 14(4):417–419. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4197>

11. Naumov D.E., Gassan D.A., Kotova O.O., Sheludko E.G., Afanas'eva E.Yu., Sugaylo I.Yu., Gorchakova Y.G. [Association of *TAS2R3*, *TAS2R4* and *TAS2R5* gene polymorphism with predisposition to asthma]. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания* = *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration*. 2024; (92):8–17 (in Russian). <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2024-92-8-17>

12. Naumov D.E., Gassan D.A., Kotova O.O., Sheludko E.G., Afanas'eva E.Yu., Konev A.V., Perelman J.M. [Effect of *TAS2R20* gene polymorphisms on the development of asthma and the course of the disease]. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания* = *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2024; (94):40–50 (in Russian). <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2024-94-40-50>

13. Meyerhof W., Batram C., Kuhn C., Brockhoff A., Chudoba E., Bufe B., Appendino G., Behrens M. The molecular receptive ranges of human TAS2R bitter taste receptors. *Chem. Senses* 2010; 35(2):157–170. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjp092>

14. Kim D., An S.S., Lam H., Leahy J.W., Liggett S.B. Identification and characterization of novel bronchodilator agonists acting at human airway smooth muscle cell TAS2R5. *ACS Pharmacol. Transl. Sci.* 2020; 3(6):1069–1075. <https://doi.org/10.1021/acspstsci.0c00127>

Информация об авторах:

Денис Евгеньевич Наумов, канд. мед. наук, зав. лабораторией, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: denn1985@bk.ru

Дина Анатольевна Гассан, канд. мед. наук, зав. лабораторией, лаборатория вирус-ассоциированных патологий развития, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dani-shi@mail.ru

Олеся Олеговна Котова, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, лаборатория вирус-ассоциированных патологий развития, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: foxy_voxy_on@mail.ru

Елизавета Григорьевна Шелудько, канд. мед. наук, научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: liza.sheludko@mail.ru

Author information:

Denis E. Naumov, MD, PhD (Med.), Head of Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: denn1985@bk.ru

Dina A. Gassan, MD, PhD (Med.), Head of Laboratory of Virus-Associated Developmental Pathology, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dani-shi@mail.ru

Olesya O. Kotova, MD, PhD (Med.), Senior Staff Scientist, Laboratory of Virus-Associated Developmental Pathology, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: foxy_voxy_on@mail.ru

Elizaveta G. Sheludko, MD, PhD (Med.), Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: liza.sheludko@mail.ru

Евгения Юрьевна Афанасьева, канд. мед. наук, научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: evgeniyananev@yandex.ru

Evgeniya Yu. Afanas'eva, MD, PhD (Med.), Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: evgeniyananev@yandex.ru

Андрей Викторович Конев, младший научный сотрудник, лаборатория вирус-ассоциированных патологии развития, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: andrkonev@vk.com

Andrey V. Konev, Junior Staff Scientist, Laboratory of Virus-Associated Developmental Pathology, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: andrkonev@vk.com

Юлий Михайлович Перельман, д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН, зам. директора по научной работе, зав. лабораторией, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: jperelman@mail.ru

Juliy M. Perelman, MD, PhD (Med.), DSc (Med.), Corresponding Member of RAS, Deputy Director on Scientific Work, Head of Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: jperelman@mail.ru

*Поступила 12.11.2024
Принята к печати 29.11.2024*

*Received November 12, 2024
Accepted November 29, 2024*
