

УДК 616-092

## Полиморфный локус T1237C гена Toll-подобного рецептора 9 у больных пневмонией на фоне гриппа A/H1N1

Малярчиков А.В., Шаповалов К.Г., Емельянов А.С., Романюк С.В.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 672090, Чита, ул. Горького, 39а

**Цель исследования.** Определить частоту встречаемости полиморфизма гена TLR9 (T1237C) и установить его вклад в развитие органной недостаточности у больных тяжёлой пневмонией на фоне гриппа A/H1N1.

**Материалы и методы.** Обследованы 100 больных пневмонией. Из них 45 пациентов с тяжёлой пневмонией, 55 – с нетяжёлой пневмонией. Возраст пациентов составил 53 [37; 65] года. Мужчины составляли 48%, а женщины – 52%. Больные тяжёлой пневмонией были поделены на 2 группы: 1 группа – с оценкой по шкале SOFA < 2 баллов, 2 группа – SOFA ≥ 2 баллов. Определение SNP генов осуществлялось методом ПЦР с использованием стандартных наборов НПФ «Литех» (Москва). Амплификацию фрагментов гена TLR3 проводили в термоциклере (модель «Бис»-M111, ООО «Бис-Н», Новосибирск). Анализу подвергалась геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК экспресс-кровь», затем проводилась реакция амплификации. Детекцию продукта амплификации проводили в 3% агарозном геле. Сравнение частот генотипов в группах проводили с помощью критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса на непрерывность с использованием таблицы сопряженности; если ожидаемых явлений в одной из ячеек было меньше 5, применяли точный критерий Фишера. Для оценки ассоциации генотипов с тяжестью заболевания производили расчет отношения шансов (ОШ; Odds Ratio), с 95%-ми доверительными интервалами (ДИ) по генетическим моделям (кодминантной, доминантной, рецессивной, сверхдоминантной).

**Результаты.** Установлено, что носительство аллеля –1237C чаще регистрируется у больных тяжёлой пневмонией. При анализе распределения частот генотипов гена TLR9 (T1237C) выявлена ассоциация с пневмонией, согласно кодминантной (ОШ (95% ДИ) 0,422 (0,219 – 0,815) ( $p = 0,026$ )), доминантной (ОШ (95% ДИ) 0,436 (0,237 – 0,802) ( $p = 0,011$ )) и сверхдоминантной (ОШ (95% ДИ) 0,450 (0,236 – 0,861) ( $p = 0,023$ )) генетическим моделям.

**Заключение.** Полученные данные позволяют рассматривать TLR9 как потенциальную точку фармакологического ингибирования, поскольку через пути TLR, включая TLR9, экспрессируются провоспалительные факторы, выступающие потенциальными «виновниками» так называемого цитокинового шторма и тромботических осложнений, лежащих в основе полиорганной недостаточности при тяжёлой пневмонии.

**Ключевые слова:** TLR9; грипп A/H1N1; пневмония; органная дисфункция.

**Для цитирования:** Малярчиков А.В., Шаповалов К.Г., Емельянов А.С., Романюк С.В. Полиморфный локус T1237C гена Toll-подобного рецептора 9 у больных пневмонией на фоне гриппа A/H1N1. Патогенез. 2023; 21(4): 68–74

**DOI:** 10.25557/2310-0435.2023.04.68-74

**Для корреспонденции:** Малярчиков Андрей Викторович, e-mail: malyarchikov@bk.ru

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовом обеспечении ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила:** 01.11.2023.

## Polymorphic locus T1237C of the Toll-like receptor 9 gene in patients with pneumonia with influenza A/H1N1

Malyarchikov A.V., Shapovalov K.G., Emelyanov A.S., Romanyuk S.V.

Chita State Medical Academy,  
Gorkogo Str. 39a, Chita 672090, Russian Federation

**Aims of the study.** To determine the frequency of occurrence of the TLR9 (T1237C) gene polymorphism and establish its contribution to the development of organ failure in patients with severe pneumonia due to influenza A/H1N1.

**Materials and methods.** 100 patients with pneumonia were examined. Of these, 45 patients with severe pneumonia, 55 with non-severe pneumonia. The age of the patients was 53 [37; 65] year. Men made up 48% and women 52%. Patients with severe pneumonia were divided into 2 groups: group 1 – with a SOFA score <2 points, group 2 – SOFA ≥2 points. Determination of SNP genes was carried out by PCR using standard kits from NPF Litech (Moscow). Amplification of TLR3 gene fragments was carried out in a thermal cyclor (model “Bis”-M111, LLC “Bis-N”, Novosibirsk). Genomic DNA isolated from whole blood leukocytes using the “DNA Express Blood” reagent was analyzed, then an amplification reaction was carried out. Detection of the amplification product was carried out in a 3% agarose gel. Comparison of genotype frequencies in groups was carried out using the  $\chi^2$  test with Yates’ correction for continuity using a contingency table; if the expected events in one of the cells were less than 5, Fisher’s exact test was used. To assess the association of genotypes with disease severity, odds ratios (OR; Odds Ratio) were calculated with 95% confidence intervals (CI) for genetic models (codominant, dominant, recessive, overdominant).

**Results.** It has been established that carriage of the –1237C allele is more often recorded in patients with severe pneumonia. When analyzing the frequency distribution of TLR9 gene genotypes (T1237C), an association with pneumonia was revealed, according to codominant (OR (95% CI) 0.422 (0.219 – 0.815) ( $p=0.026$ )), dominant (OR (95% CI) 0.436 (0.237 – 0.802) ( $p=0.011$ )) and overdominant (OR (95% CI) 0.450 (0.236 – 0.861) ( $p=0.023$ )) genetic models.

**Conclusion.** The data obtained allow us to consider TLR9 as a potential point of pharmacological inhibition, since pro-inflammatory factors are expressed through TLR pathways, including TLR9, which are potential “culprits” of the so-called cytokine storm and thrombotic complications underlying multiple organ failure in severe pneumonia.

**Key words:** TLR9; influenza A/H1N1; pneumonia; organ dysfunction.

**For citation:** Malyarchikov A.V., Shapovalov K.G., Emelyanov A.S., Romanyuk S.V. [Polymorphic locus T1237C of the Toll-like receptor 9 gene in patients with pneumonia with influenza A/H1N1]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2023; 21(4): 68–74 (in Russian)

**DOI:** 10.25557/2310-0435.2023.04.68-74

**For correspondence:** Malyarchikov Andrey Viktorovich, e-mail: malyarchikov@bk.ru

**Funding.** The study was carried out with financial support from the Chita State Medical Academy of the Russian Ministry of Health.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Received:** 01.11.2023.

## Введение

На текущий момент достаточно хорошо изучена роль отдельных молекулярно-клеточных механизмов, лежащих в основе генерации ответных реакций на повреждение или инфекцию, являющихся эволюционно древними и играющими роль в работе иммунитета, как врожденного, так и адаптивного [1–3]. Выявлены структуры и установлен их вклад в реализацию иммунных реакций, в частности, идентифицированы так называемые паттерны или, образы патогенности, представляющие собой белковые молекулы, ассоциированные с повреждением (Damage-associated molecular patterns, DAMPs) или инфекцией (Pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) [1, 2]. Одновременно установлены рецепторы, распознающие молекулярные образы – PRRs (Pattern recognition receptors), взаимодействующие с лигандами (DAMPs, PAMPs) и инициирующие сигналинг, направленный на реализацию врожденного и адаптивного иммунного ответа. Репертуар паттерн-распознающих рецепторов многообразен и включает несколько классов: Toll-подобные рецепторы (TLRs), RIG-I-подобные рецепторы (RLR), NOD-подобные рецепторы, лектиновые рецепторы C-типа. Toll-подобные рецепторы (TLR) были идентифицированы первыми и наиболее тщательно изучены [4].

Стимуляция TLR прямо ведет к увеличению продукции интерферонов (IFN)  $\alpha/\beta$  как стромальными, так и гемопоэтическими клетками, что важно для защиты организма от вирусных и некоторых бактериальных инфекций. Более того, было установлено, что TLR, активируя ряд молекул (FADD, каспаза 8, протеинкиназа R (PKR)) или стимулируя экспрессию IFN  $\alpha/\beta$ , могут индуцировать развитие апоптоза – важного механизма, защищающего клетки от патогенных микроорганизмов [4, 5].

Локализация TLR связана с типом распознаваемого им лиганда. Так, TLR4 локализуется на поверхности клеток и распознает структурные бактериальные компоненты, в частности, липополисахарид. Тогда как TLR3 и TLR9, распознающие преимущественно вирус-ассоциированные структуры – нуклеиновые кислоты (ПНК) – находятся в эндосомах, где взаимодействуют с лигандами [4, 5].

TLR9 (Toll-подобный рецептор 9, CD289) – мембранный белок, входящий в группу Toll-подобных ре-

цепторов, обеспечивающих функционирование врожденного иммунитета. TLR9 экспрессирован на клетках иммунной системы, включая дендритные клетки, макрофаги, естественные киллеры и другие антигенпрезентирующие клетки [5]. TLR9 распознаёт CpG-участки на молекуле ДНК, которые встречаются относительно редко (~1%) в ДНК позвоночных по сравнению с бактериальной или вирусной ДНК [5].

В промоторе TLR9 расположены два функциональных полиморфизма (SNP) (TLR9-1486 T/C (rs187084) и TLR9 T1237C (rs5743836), которые экспрессируются с относительно высокой частотой. Например, частота TLR9 (T1237C) и (A2848G) превышала 10% среди европейских, африканских и латиноамериканских этнических групп в США [6].

Показано, что мутация, присутствующая по крайней мере в одном аллеле SNP TLR9, может быть связана с активной ЦМВ-инфекцией у лиц, коинфицированных ВИЧ/ЦМВ [7]. Также полиморфизм TLR9 связывают с предрасположенностью к другим инфекционным заболеваниям [8]. Представляет интерес изучение носительства полиморфизма TLR9 (T1237C) у больных пневмонией при гриппе А/Н1N1 в зависимости от тяжести заболевания.

**Цель исследования.** Определить частоту встречаемости полиморфизма гена TLR9 (T1237C) и установить его вклад в развитие органной недостаточности у больных пневмонией на фоне гриппа А/Н1N1.

## Материалы и методы исследования

Обследовано 100 больных пневмонией, находившихся на стационарном лечении с подтвержденным положительным результатом ПЦР-анализа на грипп А/Н1N1, в период подъема заболеваемости гриппом в 2019 году. В исследуемую группу вошли 45 больных тяжелой пневмонией и 55 больных нетяжелой пневмонией. Контрольная группа была сформирована из 94 здоровых доноров. Исследование проведено с соблюдением принципов Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013 г) и одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (протокол №84 от 1.03.2017).

Медианный возраст пациентов составил 53 [37; 65] года. Критериями исключения являлись: сахарный диабет, индекс массы тела >30 кг/м<sup>2</sup>, гемодинамическая нестабильность, злокачественные новообразования, ВИЧ, гепатит, туберкулез. С целью оценки тяжести пневмоний использовали диагностические шкалы SMART-COP, CURB/CRB-65, а также Федеральные клинические рекомендации МЗ РФ «Внебольничная пневмония у взрослых» (2019 г.) и критерии IDSA/ATS (диагноз «тяжёлая» пневмония может быть выставлен при наличии трех «малых» критериев или одного «большого»). Для оценки органических нарушений у больных тяжелой пневмонией использовались шкала qSOFA и шкала SOFA.

Пациенты с тяжелой пневмонией были поделены на 2 группы, в зависимости от наличия признаков органической дисфункции: 1-я группа – с оценкой по шкале SOFA <2 баллов, 2-я группа – SOFA ≥2 баллов.

Определение SNP генов осуществлялось методом ПЦР с использованием стандартных наборов НПФ «Литех» (Москва). Амплификацию фрагментов гена TLR3 проводили в термоциклере (модель «Бис»-M111, ООО «Бис-Н», Новосибирск). Анализ подвергалась геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК экспресс-кровь», затем проводилась реакция амплификации. Детекцию продукта амплификации проводили в 3% агарозном геле.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета программ Statistica 10 и онлайн-калькуляторов (<https://medstatistic.ru/calculators.html>, SNPStats). Распределение генотипов оценивали на соответствие равновесию Харди-Вайнберга. Сравнение частот генотипов в группах проводили с помощью критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса на непрерывность с использованием таблицы сопряженности; если ожидаемых явлений в одной из ячеек было меньше 5, применяли точный критерий Фишера. Для оцен-

ки ассоциации генотипов с тяжестью заболевания производили расчет отношения шансов (ОШ; Odds Ratio), с 95%-ми доверительными интервалами (ДИ) по генетическим моделям (кодминантной, доминантной, рецессивной, сверхдоминантной).

## Результаты исследования

Проведено исследование встречаемости полиморфизмов гена TLR9 (T1237C) в исследуемых группах. В ходе молекулярно-генетического исследования обнаружены все искомые мутации в гомо- и гетерозиготном состоянии с частотным подчинением эквilibriumу Харди-Вайнберга. Соответствие частот генотипов SNP TLR9 (T1237C) равновесию Харди-Вайнберга представлено в **таблицах 1 и 2**.

Нами не установлены различия в распределении частот генотипов гена TLR9 (T1237C) у больных тяжелой и нетяжелой пневмонией относительно контрольной группы (**табл. 3**). При это, носительство аллеля –1237C чаще зарегистрировано у больных тяжелой пневмонией ( $p = 0,023$ ) (**табл. 3**).

При анализе частоты встречаемости С-аллеля у больных пневмонией на фоне гриппа А/Н1N1 и группы контроля, согласно генетическим моделям, наиболее значимый результат установлен для доминантной модели (ОШ (95% ДИ) 0,436 (0,237 – 0,802) ( $p = 0,011$ )), согласно которой генотип, несущий хотя бы один С-аллель имеет повышенный риск. Также статистически значимый результат получен для сверхдоминантной модели (ОШ (95% ДИ) 0,450 (0,236 – 0,861) ( $p = 0,023$ )), означающий, что присутствие обоих аллелей изменяет риск в сравнении с двумя референтными или двумя вариантными; и для кодминантной модели (ОШ (95% ДИ) 0,422 (0,219 – 0,815) ( $p = 0,026$ )), согласно которой каждый генотип может изменять риск независимо от остальных (**табл. 4**).

Таблица 1.

Соответствие частот генотипов SNP TLR9 T1237C у здоровых лиц ( $n = 94$ ) равновесию Харди-Вайнберга (тест  $\chi^2$ )

Генотип	частота генотипов	HWE	$\chi^2 = 1,21$	$p = 0,09$
T/T	0,744	0,715		
T/C	0,202	0,261		
C/C	0,054	0,024		

Примечание: HWE – Hardy -Weinberg equilibrium.

Таблица 2.

Соответствие частот генотипов SNP TLR9 T1237C у больных пневмонией ( $n = 100$ ) равновесию Харди-Вайнберга (тест  $\chi^2$ )

Генотип	частота генотипов	HWE	$\chi^2 = 0,41$	$p = 0,81$
T/T	0,560	0,548		
T/C	0,360	0,385		
C/C	0,080	0,068		

Примечание: HWE – Hardy -Weinberg equilibrium

При этом, согласно генетическим моделям, у больных тяжёлой пневмонией не установлено ассоциации генотипов гена TLR9 (T1237C) с развитием органной дисфункции (табл. 5).

### Обсуждение

Одним из внутриклеточных паттерн-распознающих рецепторов (PRR) выступает TLR9, лигандом которого являются метилированные CpG-мотивы в молекулах ДНК. TLR9 локализован во внутриклеточных эндосомальных компартментах, где ДНК патогена должна расщепиться до одноцепочечной ДНК перед взаимодействием с TLR9 [9]. Связывание CpG-ДНК с TLR9 инициирует рекрутирование MyD88, что посредством вовлечения адаптерных белков TRAF (TNF receptor-associated factor) и IRAK (interleukin-1 receptor-associated kinase) в сигнальные пути вызывает активацию ядерного фактора-κB (NF-κB) и регуляторного фактора интер-

ферона (IRF), что, в свою очередь, приводит к выработке IFN 1 типа и провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкины 1, 6, 12 (IL-1, IL-6, IL-12), фактор некроза опухоли α (TNF-α) [9, 10]. Первоначальное взаимодействие TLR и других классов PRR с вирусными PAMP, такими как вирусные нуклеиновые кислоты и вирусные белки, запускает активацию отдельных внутриклеточных сигнальных путей, которые необходимы для индукции противовирусных и воспалительных цитокиновых ответов IFN [10].

Индукция этих противовирусных ответов имеет перекрывающиеся регуляторные механизмы и зависит от скоординированной активации латентных цитозольных факторов транскрипции, таких как IRF, главным образом IRF3 и IRF7, и ядерный фактор каппа В (NF-κB). Среди них конститутивно экспрессируются NF-κB и IRF3 [9-11]. Напротив, экспрессия IRF7 изначально слаба, за исключением плазмитоидных дендритных клеток (pDC), но значительно усиливается при стиму-

Таблица 3.

Распределение генотипов полиморфизма гена TLR9 T1237C у здоровых и у больных пневмонией при гриппе A/H1N1

Генотипы, Аллели	Группы			p (по критерию $\chi^2$ )		
	Контроль (n = 94)	Больные нетяжёлой пневмонией (n = 55)	Больные тяжелой пневмонией (n = 45)	$p_1$	$p_2$	$p_3$
T/T	70 (74,5%)	31 (56,4%)	25 (55,6%)	0,054	0,077	0,562
T/C	19 (20,2%)	21 (38,2%)	15 (33,3%)			
C/C	5 (5,3%)	3 (5,4%)	5 (11,1%)			
-1237T	159 (0,846)	83 (0,755)	65 (0,722)	0,074	0,023	0,722
-1237C	29 (0,154)	27 (0,245)	25 (0,278)			

Примечание:  $p_1$  – статистическая значимость различий между группой больных нетяжёлой пневмонией и группой контроля,  $p_2$  – статистическая значимость между группой больных тяжелой пневмонией и группой контроля,  $p_3$  – статистическая значимость между группой больных нетяжёлой и тяжелой пневмонией.

Таблица 4.

Генетические модели ассоциации генотипов гена TLR9 T1237C с риском развития пневмонии при гриппе A/H1N1

Генотип	Больные пневмонией (n = 100)	Контроль (n = 94)	ОШ (95% ДИ)	p
Кодоминантная				
T/T	56 (56%)	70 (74,5%)	1,00	0,026
T/C	36 (36%)	19 (20,2%)	0,422 (0,219 – 0,815)	
C/C	8 (8%)	5 (5,3%)		
Доминантная				
T/T	56 (56%)	70 (74,5%)	1,00	0,011
T/C – C/C	44 (44%)	24 (25,5%)	0,436 (0,237 – 0,802)	
Рецессивная				
T/T – T/C	92 (92%)	89 (94,7%)	1,00	0,647
C/C	8 (8%)	5 (5,3%)	0,646 (0,204 – 2,050)	
Сверхдоминантная				
T/T – C/C	64 (64%)	75 (79,8%)	1,00	0,023
T/C	36 (36%)	19 (20,2%)	0,450 (0,236 – 0,861)	

ляции вирусами или другими стимулами, такими как IFN 1-го типа [10, 11].

В покоящихся клетках NF- $\kappa$ B секвестрируется в цитоплазме членом семейства ингибирующих белков I $\kappa$ B (IkappaB kinase, IKK). Под воздействием различных стимулов, таких как вирусы, TNF $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , активируется классический киназный комплекс I $\kappa$ B (IkappaB kinase, IKK), состоящий из IKK $\alpha$ , IKK $\beta$  и IKK $\gamma$  (также известный как NEMO), который, в свою очередь, фосфорилирует I $\kappa$ B, что приводит к полиубиквитинированию I $\kappa$ B и протеасомной деградации. В результате NF- $\kappa$ B высвобождается и мигрирует в ядро, посредством чего он связывается и активирует промоторы генов-мишеней, такие как промоторы IFN- $\beta$  и многочисленных цитокинов [10, 11]. Хотя NF- $\kappa$ B способствует индукции IFN, его основная роль заключается в индукции провоспалительных цитокинов. Однако вирусная активация IRF требует специфического фосфорилирования в их C-концевых частях с помощью IKK-родственных киназ, TBK1 (TANK-binding kinase 1) или IKK $\epsilon$  (I $\kappa$ B kinase  $\epsilon$ ), в комплексе, содержащем IKK $\gamma$  и TANK [10-12]. Это приводит к гомодимеризации или гетеродимеризации IRF3 и/или IRF7 и последующей ядерной транслокацией для связывания с промоторами IFN типа I и типа III. Промоторы IFN- $\beta$  и IFN- $\lambda$ 1 преимущественно активируются IRF3, тогда как транскрипция IFN- $\alpha$  и IFN- $\lambda$ 2/3 в большей степени зависит от IRF7. В совокупности факторы транскрипции IRF и NF- $\kappa$ B являются основными регуляторами экспрессии противовирусных и воспалительных генов [10, 11].

В промоторной области гена TLR9 расположены два функциональных SNP TLR9-1486 T/C (rs187084) и TLR9 T1237C (rs5743836) [13]. Данные литературы, свидетель-

ствующие о связи полиморфизма TLR9 (T1237C) с различной патологией разнообразны. Так, показано, что TLR9 (T1237C) был тесно связан с астмой среди американцев европейского происхождения [6], но плохо коррелировал с астмой среди японцев. Несмотря на связь с астмой, экспрессия пяти SNP TLR9, включая TLR9 (T1237C), не коррелировала с клинической атопией [6]. Показана связь полиморфизма TLR9 (T1237C) с заболеваниями бронхолегочной системы [1], с повышенным риском развития малярии [13], с висцеральным лейшманиозом [14]. Продемонстрирована связь полиморфизмов TLR9 с иммуноопосредованными заболеваниями и с более высокой частотой инфекций, приобретенных в отделениях интенсивной терапии [15], при этом, полиморфизм TLR9 (T1237C) является фактором риска развития тяжёлого сепсиса у пациентов отделений интенсивной терапии педиатрического профиля [16].

В ходе молекулярно-генетического исследования нами выявлено, что носительство аллеля -1237C гена TLR9 (T1237C) чаще зарегистрировано у больных тяжёлой пневмонией. Выявлена ассоциация полиморфизма гена TLR9 (T1237C) с пневмонией на фоне гриппа A/H1N1 согласно кодоминантной, доминантной и сверхдоминантной генетическим моделям. Безусловно, характер иммунного ответа у больных вирусной пневмонией не ограничен лишь вовлечением TLR9. Вероятно, что участвующие в инициации иммунного ответа у больных пневмонией при гриппе A/H1N1 паттерн-распознающие рецепторы (PRRs) и, в частности, Toll-рецепторы не только реализуют сигналинг посредством взаимодействия с PAMP и DAMP, но и вовлекаются в регулирование функции многих эффекторных клеток [17, 18]. Так, показано, что CpG-стимул усиливает экспрессию

Таблица 5.

Генетические модели ассоциации генотипов гена TLR9 T1237C с риском развития органной дисфункции больных тяжелой пневмонией при гриппе A/H1N1

Генотип	1 группа SOFA<2 (n = 24)	2 группа SOFA $\geq$ 2 (n = 21)	ОШ (95% ДИ)	p
<b>Кодоминантная</b>				
T/T	12 (50%)	13 (61,9%)	1,00	0,683
T/C	9 (37,5%)	6 (28,6%)	0,615 (0,168 – 2,252)	
C/C	3 (12,5%)	2 (9,5%)		
<b>Доминантная</b>				
T/T	12(50%)	13 (61,9%)	1,00	0,617
T/C – C/C	12 (50%)	8 (38,1%)	0,615 (0,187 – 20,023)	
<b>Рецессивная</b>				
T/T – T/C	21 (87,5%)	18 (85,7%)	1,00	0,460
C/C	3 (12,5%)	6 (14,3%)	2,333 (0,509 – 10,692)	
<b>Сверхдоминантная</b>				
T/T – C/C	15 (62,5%)	15 (71,4%)	1,00	0,752
T/C	9 (37,5%)	6 (28,6%)	0,667 (0,190 – 2,343)	

и передачу сигналов TLR9 за счет петли положительной обратной связи через IL-6 у носителей TLR9 (T1237C) (rs5743836) [19]. Это позволяет высказать предположение о значимой роли TLR9 в генезе системного воспаления у больных пневмонией при гриппе A/H1N1, а носители TLR9 (T1237C) могут быть подвержены более тяжёлому течению заболевания, что является перспективным направлением для дальнейшего изучения и, в настоящее время, уже проанализировано на модели пациентов с тяжёлым течением COVID-19 [15].

### Заключение

Каскад реакций врожденного и адаптивного иммунитета у больных пневмонией при гриппе A/H1N1 реализуется посредством вовлечения многочисленных паттерн-распознающих рецепторов (PRRs). Через пути TLR, включая TLR9/MyD88 экспрессируются провоспалительные факторы, выступающие потенциальными «виновниками» так называемого цитокинового шторма и тромботических осложнений, лежащих в основе полиорганной недостаточности, что позволяет рассматривать TLR9 как потенциальную точку фармакологического ингибирования.

### Список литературы

1. Коровкина Е.С., Кажарова С.В. Роль Toll-подобных рецепторов в патогенезе воспалительных заболеваний бронхолегочной системы. *Инфекция и иммунитет*. 2016; 6(2): 109–116. DOI: 10.15789/2220-7619-2016-2-109-116
2. Гусев Е.Ю., Зотова Н.В., Лазарева М.А. Цитокиновый ответ и другие отличительные особенности критических фаз системного воспаления при сепсисе. *Медицинская иммунология*. 2014; 16(2):173–182. DOI: 10.15789/1563-0625-2014-2-173-182
3. Романова Е.Н., Серебрякова О.М., Говорин А.В., Филев А.П. Полиорганная дисфункция у больных гриппом H1N1/09, осложненным пневмонией. *Забайкальский медицинский вестник*. 2017; 1: 107–116.
4. Deretic V. Autophagy as an innate immunity paradigm: expanding the scope and repertoire of pattern recognition receptors. *Curr. Opin. Immunol.* 2012; 24(1): 21–31. DOI: 10.1016/j.coi.2011.10.006
5. Shcheblyakov D.V., Logunov D.Y., Tukhvatulin A.I., Shmarov M.M., Naroditsky B.S., Gintsburg A.L. Toll-Like Receptors (TLRs): The Role in Tumor Progression. *Acta Naturae*. 2010; 2(3): 21–29. DOI: 10.32607/20758251-2010-2-3-21-29
6. Berenson C.S., Kruzel R.L., Wrona C.T., Mammen M.J., Sethi S. Impaired Innate COPD Alveolar Macrophage Responses and Toll-Like Receptor-9 Polymorphisms. *PLoS One*. 2015; 10(9): e0134209. DOI: 10.1371/journal.pone.0134209
7. Jabłońska A., Jabłonowska E., Studzińska M., Kamerys J., Paradowska E. The TLR9 2848C/T Polymorphism Is Associated with the CMV DNAemia among HIV/CMV Co-Infected Patients. *Cells*. 2021; 10(9): 2360. DOI: 10.3390/cells10092360
8. Криволуцкая Т.А., Емельянова А.Н., Емельянов А.С., Витковский Ю.А. Генетический полиморфизм Toll-подобных рецепторов у больных ветряной оспой: наблюдательное когортное исследование. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2022; 29(5): 14–28. DOI: 10.25207/1608-6228-2022-29-5-14-28
9. Khanmohammadi S., Rezaei N. Role of Toll-like receptors in the pathogenesis of COVID-19. *J. Med. Virol.* 2021; 93(5): 2735–2739. DOI: 10.1002/jmv.26826
10. Lester S.N., Li K. Toll-like receptors in antiviral innate immunity. *J. Mol. Biol.* 2014; 426(6): 1246–1264. DOI: 10.1016/j.jmb.2013.11.024
11. Kawai T., Akira S. Signaling to NF-kappaB by Toll-like receptors. *Trends Mol. Med.* 2007; 13(11): 460–469. DOI: 10.1016/j.molmed.2007.09.002

12. Guo B., Cheng G. Modulation of the interferon antiviral response by the TBK1/IKKi adaptor protein TANK. *J. Biol. Chem.* 2007; 282(16): 11817–11826. DOI: 10.1074/jbc.M700017200
13. Esposito S., Molteni C.G., Zampiero A., Baggi E., Lavizzari A., Semino M., Daleno C., Groppo M., Scala A., Terranova L., Miozzo M., Pelucchi C., Principi N. Role of polymorphisms of toll-like receptor (TLR) 4, TLR9, toll-interleukin 1 receptor domain containing adaptor protein (TIRAP) and FCGR2A genes in malaria susceptibility and severity in Burundian children. *Malar J.* 2012; 11: 196. DOI: 10.1186/1475-2875-11-196
14. Mandal A., Kumar M., Kumar A., Sen A., Das P., Das S. TLR4 and TLR9 polymorphism: Probable role in susceptibility among the population of Bihar for Indian visceral leishmaniasis. *Innate Immun.* 2021; 27(6): 493–500. DOI: 10.1177/1753425920965658
15. Bezemer G.F.G., Garssen J. TLR9 and COVID-19: A Multidisciplinary Theory of a Multifaceted Therapeutic Target. *Front. Pharmacol.* 2021; 11: 601685. DOI: 10.3389/fphar.2020.601685
16. Elsherif R.H., Algebaly H.A.F., Ismail D.K., Meligy B., Aziz M.M., Ghaith D.M., Salah E. Toll-like receptors 2 and 9 gene polymorphisms in severe sepsis and septic shock: a single center study in the pediatric intensive care unit. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2019; 12(4): 4381–4386.
17. Reynolds J.M., Dong C. Toll-like receptor regulation of effector T lymphocyte function. *Trends Immunol.* 2013; 34(10): 511–519. DOI: 10.1016/j.it.2013.06.003
18. Carvalho A., Osório N.S., Saraiva M., Cunha C., Almeida A.J., Teixeira-Coelho M., Ludovico P., Pedrosa J., Pitzurra L., Aversa F., Romani L., Castro A.G., Rodrigues F. The C allele of rs5743836 polymorphism in the human TLR9 promoter links IL-6 and TLR9 up-regulation and confers increased B-cell proliferation. *PLoS One*. 2011; 6(11): e28256. DOI: 10.1371/journal.pone.0028256
19. Gu Y., Han X. Toll-Like Receptor Signaling and Immune Regulatory Lymphocytes in Periodontal Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(9): 3329. DOI: 10.3390/ijms21093329

### References

1. Kоровкина Е.С., Кажарова С.В. [The toll-like receptors role in inflammatory diseases of the bronchopulmonary system pathogenesis]. *Infektsiya i immunitet [Russian Journal of Infection and Immunity]*. 2016; 6(2): 109–116. DOI: 10.15789/2220-7619-2016-2-109-116 (in Russian)
2. Gusev E.Yu., Zotova N.V., Lazareva M.A. [Cytokine response and other differences between critical phases of sepsis-associated systemic inflammation]. *Meditsinskaya immunologiya [Medical Immunology]*. 2014; 16(2):173–182. DOI: 10.15789/1563-0625-2014-2-173-182 (in Russian)
3. Romanova E.N., Serebryakova O.M., Govorin A.V., Filev A.P. [Multiple organ dysfunction in patients with influenza h1n1/09 complicated by pneumonia]. *Zabaykalskii meditsinskii vestnik [Transbaikalian Medical Bulletin]*. 2017; 1: 107–116. (in Russian)
4. Deretic V. Autophagy as an innate immunity paradigm: expanding the scope and repertoire of pattern recognition receptors. *Curr. Opin. Immunol.* 2012; 24(1): 21–31. DOI: 10.1016/j.coi.2011.10.006
5. Shcheblyakov D.V., Logunov D.Y., Tukhvatulin A.I., Shmarov M.M., Naroditsky B.S., Gintsburg A.L. Toll-Like Receptors (TLRs): The Role in Tumor Progression. *Acta Naturae*. 2010; 2(3): 21–29. DOI: 10.32607/20758251-2010-2-3-21-29
6. Berenson C.S., Kruzel R.L., Wrona C.T., Mammen M.J., Sethi S. Impaired Innate COPD Alveolar Macrophage Responses and Toll-Like Receptor-9 Polymorphisms. *PLoS One*. 2015; 10(9): e0134209. DOI: 10.1371/journal.pone.0134209
7. Jabłońska A., Jabłonowska E., Studzińska M., Kamerys J., Paradowska E. The TLR9 2848C/T Polymorphism Is Associated with the CMV DNAemia among HIV/CMV Co-Infected Patients. *Cells*. 2021; 10(9): 2360. DOI: 10.3390/cells10092360
8. Криволуцкая Т.А., Емельянова А.Н., Емельянов А.С., Витковский Ю.А. [Gene Polymorphism of Toll-Like Receptors in Chickenpox Patients: Observational Cohort Study]. *Kubanskiy nauchnyy meditsinskii vestnik [Kuban Scientific Medical Bulletin]*. 2022; 29(5): 14–28. DOI: 10.25207/1608-6228-2022-29-5-14-28 (in Russian)
9. Khanmohammadi S., Rezaei N. Role of Toll-like receptors in the pathogenesis of COVID-19. *J. Med. Virol.* 2021; 93(5): 2735–2739. DOI: 10.1002/jmv.26826

10. Lester S.N., Li K. Toll-like receptors in antiviral innate immunity. *J. Mol. Biol.* 2014; 426(6): 1246–1264. DOI: 10.1016/j.jmb.2013.11.024
11. Kawai T., Akira S. Signaling to NF-kappaB by Toll-like receptors. *Trends Mol. Med.* 2007; 13(11): 460–469. DOI: 10.1016/j.molmed.2007.09.002
12. Guo B., Cheng G. Modulation of the interferon antiviral response by the TBK1/IKK $\alpha$  adaptor protein TANK. *J. Biol. Chem.* 2007; 282(16): 11817–11826. DOI: 10.1074/jbc.M700017200
13. Esposito S., Molteni C.G., Zampiero A., Baggi E., Lavizzari A., Semino M., Daleno C., Groppo M., Scala A., Terranova L., Miozzo M., Pelucchi C., Principi N. Role of polymorphisms of toll-like receptor (TLR) 4, TLR9, toll-interleukin 1 receptor domain containing adaptor protein (TIRAP) and FCGR2A genes in malaria susceptibility and severity in Burundian children. *Malar J.* 2012; 11: 196. DOI: 10.1186/1475-2875-11-196
14. Mandal A., Kumar M., Kumar A., Sen A., Das P., Das S. TLR4 and TLR9 polymorphism: Probable role in susceptibility among the population of Bihar for Indian visceral leishmaniasis. *Innate Immun.* 2021; 27(6): 493–500. DOI: 10.1177/1753425920965658
15. Bezemer G.F.G., Garssen J. TLR9 and COVID-19: A Multidisciplinary Theory of a Multifaceted Therapeutic Target. *Front. Pharmacol.* 2021; 11: 601685. DOI: 10.3389/fphar.2020.601685
16. Elsheif R.H., Algebaly H.A.F., Ismail D.K., Meligy B., Aziz M.M., Ghaith D.M., Salah E. Toll-like receptors 2 and 9 gene polymorphisms in severe sepsis and septic shock: a single center study in the pediatric intensive care unit. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2019; 12(4): 4381–4386.
17. Reynolds J.M., Dong C. Toll-like receptor regulation of effector T lymphocyte function. *Trends Immunol.* 2013; 34(10): 511–519. DOI: 10.1016/j.it.2013.06.003
18. Carvalho A., Osório N.S., Saraiva M., Cunha C., Almeida A.J., Teixeira-Coelho M., Ludovico P., Pedrosa J., Pitzurra L., Aversa F., Romani L., Castro A.G., Rodrigues F. The C allele of rs5743836 polymorphism in the human TLR9 promoter links IL-6 and TLR9 up-regulation and confers increased B-cell proliferation. *PLoS One.* 2011; 6(11): e28256. DOI: 10.1371/journal.pone.0028256
19. Gu Y., Han X. Toll-Like Receptor Signaling and Immune Regulatory Lymphocytes in Periodontal Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(9): 3329. DOI: 10.3390/ijms21093329

### Сведения об авторах:

**Малярчиков Андрей Викторович** — кандидат медицинских наук, заведующий кафедрой симуляционно-тренингового обучения Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0003-0559-797X>

**Шаповалов Константин Геннадьевич** — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0002-3485-5176>

**Емельянов Артур Сергеевич** — кандидат медицинских наук, доцент кафедры нормальной физиологии имени профессора Б.И. Кузника Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0001-6846-1565>

**Романюк Светлана Владимировна** — кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией молекулярной генетики Научно-исследовательского института молекулярной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0002-1348-5495>