

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ЧИТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ**

На правах рукописи

Емельянов

ЕМЕЛЬЯНОВ АРТУР СЕРГОВЕВИЧ

**РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫХ МОЛЕКУЛ
В ПАТОГЕНЕЗЕ РОЖИ**

14.03.03 – патологическая физиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Заслуженный работник высшей школы РФ,

д.м.н., профессор Ю.А. Витковский

ЧИТА-2019

О Г Л А В Л Е Н И Е

Список сокращений.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	14
1.1. Полиморфизм цитокинов при некоторых инфекционных заболеваниях.....	14
1.2. Роль генетического полиморфизма некоторых рецепторов иммунокомпетентных клеток в патогенезе некоторых инфекционных заболеваний.....	24
1.3. Роль генетического полиморфизма тканевого фактора при гемокоагуляционных нарушениях.....	29
1.4. Заключение.....	32
ГЛАВА 2. ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	33
2.1. Характеристика исследуемых групп.....	33
2.2. Лабораторные методы исследований.....	35
2.2.1. Исследование экспрессии тканевого фактора.....	35
2.2.2. Определение генетического полиморфизма.....	36
2.2.3. Определение концентрации цитокинов.....	36
2.3. Методы статистической обработки полученных результатов.....	36
ГЛАВА 3. ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ IL-1 β , TNF α , CD14, TF, TLR4, СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ И СОСТОЯНИЕ ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ РОЖЕЙ.....	38
3.1. Исследование генетического полиморфизма цитокинов при роже.....	38
3.1.1. Полиморфизм гена IL-1 β (T31C), IL-1 β (T511C), IL-1 β (C3953T)....	38
3.1.2. Полиморфизм промотора гена IL-1 β (G1473C) и его влияние на содержание интерлейкина 1 в крови больных рожей.....	44
3.1.3. Полиморфизм промотора гена TNF α (G308A) и его влияние на	

содержание фактора опухолей альфа в крови здоровых лиц и больных рожей.....	49
3.2. Исследование полиморфизма сигнальных молекул CD14 (C159T), TLR4 (Asp299Gly), TLR4 (Thr399Ile) у здоровых лиц и больных рожей...	55
3.3. Исследование тканевого фактора у больных рожей.....	61
3.3.1. Генетический полиморфизм TF (A603G), TF (C1322T), TF (C1812T), TF (G1442C).....	61
3.3.2. Исследование экспрессии тканевого фактора у здоровых лиц и больных рожей.....	62
3.3. Регрессионная многофакторная модель влияния SNP полиморфизмов на экспрессию тканевого фактора и их значение в развитии рожи.....	66
3.4. Модель прогнозирования развития рожи у клинически здоровых лиц на основе анализа полиморфизма генов IL-1 β (T31C), IL-1 β (T511C), IL-1 β (C3953T), IL-1 β (G1473C), TNF α (G308A), CD14 (C159T), TLR4 (Asp299Gly), TLR4 (Thr399Ile), TF (A603G), TF (C1322T), TF (C1812T), TF (G1442C).....	68
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	74
4.1. Генетический полиморфизм сигнальных молекул и их значение в развитии рожи.....	75
4.2. Полиморфизм генов цитокинов и их влияние на развитие рожи.....	77
4.3. Полиморфизм гена TF и экспрессия тканевого фактора при роже.....	82
4.4. Заключение.....	87
ВЫВОДЫ.....	88
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	90
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	91

Список сокращений

ВИЧ	- вирус иммунодефицита человека
ДВС	- диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
мРНК	- матричная РНК
ПОЛ	- перекисное окисление липидов
ПЦР	- полимерзная цепная реакция
ССВР	- синдром системной воспалительной реакции
ХВГС	- хронический вирусный гепатит С
АКТ	- протеинкиназа В альфа
АР-1	- активатор протеин 1
CD	- кластер дифференцировочных антигенов
CI	- доверительный интервал
DAMP	- молекулярные структуры, связанные с повреждением
ERK	- внеклеточная регулируемая киназа
HLA	- антиген лейкоцитов человека
IFN	- интерферон
Ig	- иммуноглобулин
IKK	- киназа ингибитора каппа В
IL	- интерлейкин
IRAK	- киназа, связанная с рецептором интерлейкина-1
IRF	- регуляторный фактор транскрипции интерферона
JNK	- стресс-активируемая протеинкиназа
LPS	- липополисахарид
MAP3K	- MAP киназа киназа киназа
MDR	- многофакторное уменьшение размерности
MEK	- митоген-активированная протеинкиназа киназа
MHC	- главный комплекс гистосовместимости

MyD	- ген первичной реакции миелоидной дифференцировки
NF- κ B	- ядерный фактор каппа-цепи В-лимфоцитов
NK	- натуральные киллеры
NK-клетка	- естественный киллер
OR	- отношение шансов
PAMP	- патоген-ассоциированные молекулярные структуры
PI3K	- фосфоинозитид-3-киназа
RIP	- белок, инактивирующий рибосому, рибосомотоксин
SNP	- полиморфизм единичных нуклеотидов
TANK	- активатор NF κ B, связанный с семейством TRAF
TBK	- TANK-связывающая киназа
TF	- тканевой фактор
Th1	- Т-хелпер 1-го клона
Th2	- Т-хелпер 2-го клона
TIR	- толл-интерлейкин-1 гомологичный домен
TIRAP	- домен рецептора толл-интерлейкина-1, содержащий адаптерный белок
TLR	- toll-подобные рецепторы
TNF	- фактор некроза опухолей
TRAF	- фактор, ассоциированный с рецептором фактора некроза опухолей
TRAM	- адаптерная молекула, содержащая домен TIR 1
TRIF	- TIR-доменсодержащий адаптер-индуцирующий интерферон- β

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Рожа – актуальная проблема медицины [36]. Высокая распространенность рожи в популяции, тенденция к формированию рецидивирующего течения после первичного эпизода заболевания, появление трофических, долго незаживающих язв, развитие гнойно-воспалительных осложнений, слоновости, некрозов, абсцессов и др. способствует последующей частичной или полной утрате трудоспособности [1, 36, 42, 48, 86, 96, 100, 121]. При этом учащается переход острых форм в хроническое течение с частыми рецидивами. Отмечается возросшая доля (до 50-80%) геморрагических форм рожи, в основе которых лежат серьезные нарушения системы гемостаза и расстройства микроциркуляции, что определяет более тяжелое и затяжное течение инфекционного процесса, медленную репарацию ткани в очаге воспаления, частые осложнения [103].

Известно, что наряду со свойствами возбудителя и факторами внешней среды, уникальные свойства генома человека играют немалую роль в развитии инфекционной патологии, что подтверждает мультифакториальность заболеваний [32, 71, 95, 98]. Особенности генотипа индивидуума влияют на восприимчивость и устойчивость к действию инфекционного агента [8, 9, 25, 45, 46].

В настоящее время активно изучается патогенез рожи, в котором ведущими являются гемореологические и иммунологические звенья, определяя характер течения заболевания [96, 218]. Повышенная функциональная активность фагоцитов играет основную роль в развитии тяжелых форм рожи, тогда как снижение функциональной активности

макрофагов, наоборот, приводит к последующим рецидивам заболевания [121].

Реагирование иммунитета при внедрении β -гемолитического стрептококка группы А характеризуется активацией целого каскада цитокинов, важной функцией которых является регуляция взаимодействия иммунокомпетентных клеток и определение направления иммунного ответа [41, 47, 48]. Несмотря на это, реализация воспалительного ответа может значительно различаться по интенсивности и продолжительности у отдельных индивидуумов в зависимости от генетического полиморфизма сигнальных молекул [47].

Согласно последним данным, различия в генах влияют на уровень продукции кодируемых белков, вызывая нарушения контроля защитных реакции организма, изменяя тем самым характер иммунного ответа [49, 109, 118]. Полиморфизм единичных нуклеотидов (SNP) является наиболее частым изменением структуры генов, сведения о которых особенно важны для диагностики болезней на молекулярном уровне [49, 188].

Существенным фактором для определения как предрасположенности, так и резистентности к инфицированию, длительности, тяжести, развитию осложнений заболеваний, в т.ч. и при роже, может являться генетическая информация о цитокинах [30, 41, 47]. В настоящее время описаны аллельные полиморфизмы структурных генов, а также некодируемых участков, в том числе промоторов, мутации которых изменяют экспрессию и количество кодируемого белка [47, 58].

Современные данные доказывают, что нарушение баланса в системе цитокинов – это один из важных механизмов в развитии многих патологических процессов [22, 23, 61, 110, 116, 117, 118, 119, 120].

В настоящее время в научной литературе нет сообщений о роли полиморфизма TLRs в патогенезе рожи. Их изучение в развитии патологического процесса является чрезвычайно важным, поскольку трансмембранные Toll-подобные рецепторы являются ключевыми сенсорами

PAMP инфекционных агентов и DAMP макроорганизма, функционирование которых предопределяет развитие процесса воспаления и иммунного ответа [16, 106].

Несмотря на то, что сегодня активно накапливаются сведения о различных генетических маркерах в качестве предикторов многих заболеваний, информация о них при роже весьма скудная. Исследование молекулярно-генетических механизмов реализации иммунологической защиты, реакций системы гемостаза позволило бы объяснить индивидуальные особенности патогенеза рожи и раскрыть условия тяжелого и рецидивирующего течения заболевания и формирование его осложнений.

Цель исследования

Изучение роли генетического полиморфизма иммунорегуляторных молекул *CD14*, *TLR4*, *IL-1 β* , *TNF α* , *TF* в патогенезе рожи.

Задачи исследования

1. Исследовать частоту встречаемости полиморфных вариантов генов *IL-1 β* (*T31C*), *IL-1 β* (*T-511C*), *IL-1 β* (*C3953T*), *IL-1 β* (*G1473C*), *TNF α* (*G308A*), *CD14* (*C159T*), *TF* (*A603G*), *TF* (*C1322T*), *TF* (*G1442C*), *TF* (*C1812T*), *TLR4* (*Asp299Gly*), *TLR4* (*Thr399Ile*) при первичной и рецидивирующей роже в зависимости от тяжести заболевания среди резидентов Забайкальского края.

2. Оценить влияние полиморфизма генов *IL-1 β* (*G1473C*), *TNF α* (*G308A*) на содержание *IL-1 β* , *TNF α* в сыворотке крови больных рожей.

3. Изучить влияние носительства SNP изучаемых полиморфизмов на экспрессию тканевого фактора моноцитами периферической крови у больных рожей при разных формах заболевания.

4. Оценить прогностическую значимость изучаемых генетических полиморфизмов молекул в развитии рожи.

Методология и методы исследования диссертации

Работа основана на комплексном исследовании 104 пациентов с подтвержденным диагнозом рожи (средний возраст – $47,5 \pm 3,5$ года), разделенных на группы: 1) по кратности течения (а. больные с первичной рожой – 54 человека; б. больные с рецидивирующей формой рожи – 50 человек); 2) По характеру местных проявлений (а. больные с эритематозной формой заболевания – 65 человек; б. больные с эритематозно-буллезной формой – 25 человек; с. больные с буллезно-геморрагической формой – 14 человек). Формирование групп больных осуществляли в соответствии с классификацией В.Л. Черкасова [129].

В работе использовались лабораторные (генетические, иммунологические) и статистические методы исследований.

Объектом для исследования являлись цельная кровь и ее сыворотка/плазма, буккальные соскобы; забор материала осуществлялся однократно в 1-2 сутки госпитализации.

Группу здоровых лиц составили волонтеры, считающие себя здоровыми, не принимающие лекарственные препараты на момент обследования. Все обследованные – представители европеоидной расы, родившиеся и проживающие на территории Забайкальского края.

Научная новизна

Впервые описано первичное звено иммунопатогенеза рожи, включающее SNP генов *IL-1 β* , *TNF α* , *CD14*, *TLR4*, *TF*, экспрессию *IL-1 β* , *TNF α* и тканевого фактора.

Впервые установлено, что наличие минорной аллели *C*, генотипа *C/C* гена *IL-1 β* (*T31C*), мажорной аллели *C*, генотипа *CC* гена *IL-1 β* (*C3953T*), минорной аллели *C*, генотипов *GC* и *CC* промотора гена *IL-1 β* (*G1473C*), мажорной аллели *G*, генотипа *GG* промотора гена *TNF α* (*G308A*), минорной аллели *T*, гомозиготного генотипа *TT* гена *CD14* (*C159T*), мажорной аллели -299*Asp*, генотипа *AspAsp* гена *TLR4* (*Asp299Gly*), мажорной аллели -399*Thr*, генотипа *ThrThr* гена *TLR4* (*Thr399Ile*) ассоциировано с развитием рожи.

Впервые выявлено, что гомозиготный вариант *CC* промотора гена *IL-1 β* (*G1473C*) сопряжен с возникновением рецидивов заболевания.

Впервые обнаружено, что SNP промоторных регионов генов *IL-1 β* (*G1473C*) и *TNF α* (*G308A*) влияет на продукцию молекул одноименных цитокинов при роже.

Впервые доказано, что экспрессия тканевого фактора при роже зависит от концентрации провоспалительных цитокинов *IL-1 β* и *TNF α* , а не от полиморфизма генов, кодирующих TF, что обуславливает вторичный характер гиперкоагуляции. При роже экспрессия тканевого фактора моноцитами периферической крови проявляется в зависимости от формы заболевания: минимальная у больных с эритематозной, максимальная – с буллезно-геморрагической формой.

Теоретическая и практическая значимость

В исследовании представлены новые данные о распространенности полиморфных вариантов *IL-1 β* (*T31C*, *T511C*, *C3953T*, *G1473C*), *TNF α* (*G308A*), *CD14* (*C159T*), *TLR4* (*Asp299Gly*, *Thr399Ile*), *TF* (*A603G*, *C1322T*, *C1812T*, *G1442C*) среди здоровых резидентов Забайкальского края и у больных рожей.

SNP генов *IL-1 β* (*T31C*, *T511C*, *C3953T*, *G1473C*), *TNF α* (*G308A*), *CD14* (*C159T*), *TLR4* (*Asp299Gly*, *Thr399Ile*) ассоциированы с развитием рожи. Полиморфизм промотора гена *IL-1 β* (*G1473C*) сопряжен с возникновением

рецидивов заболевания. Носительство *IL-1 β* (*G1473C*), *TNF α* (*G308A*) оказывает влияние на продукцию соответствующих цитокинов и экспрессию тканевого фактора при роже.

Выявленные сведения о наличии полиморфизмов *IL-1 β* (*T31C*, *T511C*, *C3953T*, *G1473C*), *TNF α* (*G308A*), *CD14* (*C159T*), *TLR4* (*Asp299Gly*, *Thr399Ile*), *TF* (*A603G*, *C1322T*, *C1812T*, *G1442C*) могут быть включены в генетический паспорт индивидуумов и послужить основой для разработки новых подходов прогнозирования развития болезни, оценки риска, профилактики.

Положения, выносимые на защиту

1. Полиморфизм генов *CD14*, *TLR4*, *IL-1 β* , *TNF α* , *TF* предрасполагает к роже. Развитие рожи ассоциировано с аллелью *C*, генотипом *CC* гена *IL-1 β* (*T31C*), аллелью *C*, генотипом *CC* гена *IL-1 β* (*C3953T*), аллелью *C*, генотипами *GC* и *CC* промотора гена *IL-1 β* (*G1473C*), аллелью *G*, генотипом *GG* промотора гена *TNF α* (*G308A*), аллелью *T*, генотипом *T/T* гена *CD14* (*C159T*), аллелью *-299Asp*, генотипом *AspAsp* гена *TLR4* (*Asp299Gly*), аллелью *-399Thr*, генотипом *ThrThr* гена *TLR4* (*Thr399Ile*). Гомозиготный вариант *CC* промотора гена *IL-1 β* (*G1473C*) предрасполагает к возникновению рецидивирующей рожи.

2. Полиморфизм генов *IL-1 β* и *TNF α* влияет на уровень одноименных цитокинов в крови больных рожей. При первичной и рецидивирующей роже у обладателей генотипа *GG* гена *IL-1 β* (*G1473C*) и *GG TNF α* (*G308A*) максимально увеличивается концентрация *IL-1 β* и *TNF α* . Присутствие *C*-аллели SNP гена *G1473C* у больных рожей сопровождается уменьшением продукции *IL-1 β* , а *G*-аллели – уменьшением продукции *TNF α* у больных рожей при гомозиготном носительстве *GG* полиморфизма гена *TNF α* *G308A*.

3. Экспрессия тканевого фактора при роже зависит от концентрации провоспалительных цитокинов *IL-1 β* и *TNF α* , а не от полиморфизма генов, кодирующих *TF*. При роже экспрессия тканевого фактора моноцитами

периферической крови проявляется в зависимости от формы заболевания: минимальная у больных с эритематозной, максимальная – с буллезно-геморрагической.

4. В развитии рожи ведущее значение принадлежит патогенетической оси: «SNP генов *CD14*, *TLR4* – *IL-1 β* , *TNF α* – экспрессия *TF*».

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования по изучению генетического полиморфизма иммунорегуляторных молекул *CD14*, *TLR4*, *IL-1 β* , *TNF α* , *TF*, их влияния на содержание *IL-1 β* , *TNF α* и экспрессию тканевого фактора моноцитами периферической крови при роже внедрены в учебный процесс кафедр инфекционных болезней в соответствующих разделах, нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия», а также в лечебно-диагностическую работу Краевой клинической инфекционной больницы Забайкальского края.

Апробация диссертации

Результаты работы доложены на научно-практической конференции «Избранные вопросы инфекционной патологии Урала и Западной сибиряи» (Екатеринбург, 2017); IX Ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 2017); IV Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания» (Сочи, 2017); IV межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы инфектологии. Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания» (Чита, 2018); X Ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням с международным участием «Инфекционные болезни в современном мире:

эволюция, текущие и будущие угрозы” (Москва, 2018); XIII Международной (XXII Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых (Москва, 2018); Всероссийской научно-практической конференции “Медицинские технологии и оборудование” (Чита, 2018); XXVI Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (Berlin, 2017).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 4 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, в т.ч. 1 статья в журнале, входящем в международную базу цитирования SCOPUS; 4 статьи в журналах, не входящих в перечень журналов, рекомендованных ВАК; 1 патент, 16 тезисов в сборниках краевых, российских, международных научных конференций, съездов и конгрессов.

Структура и объем диссертации

Работа изложена на 115 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, характеристики методов исследования, главы собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 221 источник, из которых 131 отечественный и 90 зарубежных авторов; иллюстрирована 17 таблицами, 12 рисунками.

Г Л А В А 1

РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА МОЛЕКУЛ ИММУННОГО ОТВЕТА В ПАТОГЕНЕЗЕ НЕКОТОРЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Полиморфизм цитокинов при некоторых инфекционных заболеваниях

За последние годы значительно расширились представления о структуре и организации цитокиновой сети, об особенностях функционирования ее регуляторных подсистем в норме и при различных иммунопатологических состояниях [65, 110, 116, 117, 118, 119, 120]. В свете парадигмы медицины XXI века – «4 П» – особое значение приобретает генетический полиморфизм молекул, участвующих в регуляции иммунного ответа и воспаления. Известно, что существует параллелизм между структурой молекул, их функциями и признаком, проявляющимся в виде индивидуального (персонального) характера реагирования иммунного ответа. При этом особенности реакции клеточных и гуморальных механизмов защиты организма определяют предрасположенность к инфекционному агенту, клинический вариант развития патологического процесса, формирование его осложнений и исход.

Важная задача, позволяющая раскрыть патогенетические звенья инициации и течения болезни, выявления на ранних сроках предрасположенности к другим заболеваниям – исследование генов, контролирующей активность цитокинов, а также являющихся медиаторами воспаления [49]. Знание их роли в патогенезе помогает прогнозировать риск

развития патологии и/или тяжесть ее течения, а также способствует индивидуальному подбору терапии для конкретного пациента [102].

В настоящее время внимание исследователей сосредоточено на выявлении генетических предикторов различных заболеваний с целью расширения и уточнения закономерностей патогенеза [99, 102].

Современные успехи молекулярной генетики способствуют изучению генетических маркеров у пациентов с различными заболеваниями в клинической практике в режиме реального времени. Различия в генах, отвечающих за защитные свойства организма, могут предопределять воспалительный ответ, а также специфические иммунологические реакции при внедрении патогенов [99]. В первую очередь это относится к генам регуляторных молекул, отвечающих за начальные этапы развития воспалительной реакции, а именно: распознавание патогена, проведение внутриклеточного активационного сигнала, синтез медиаторов развития воспалительной реакции (главные из которых – цитокины) [92].

В настоящее время накоплены сведения о большом количестве генов, которые оказывают влияние на течение и исход инфекционной патологии [111]. Индивидуальное сочетание полиморфных вариантов генов может определять не только характер воспалительного ответа, но и иммунологических реакций, хотя наличие мутантного гена при этом не является причиной возникновения заболевания [111].

Инфекционные агенты являются индукторами продукции провоспалительных цитокинов. При этом экспрессия молекул иммунного ответа часто зависит от генетической вариабельности кодирующих их агентов [2]. Изменчивость генетического кода определяет чрезвычайно высокую степень полиморфизма кодируемых молекул. При этом в одном гене количество полиморфных участков, располагающихся и в кодирующих экзонах, и в интронах, и в промоторных регуляторных зонах структуры гена, может достигать нескольких десятков [41, 50, 89, 96, 102, 118].

Уже не вызывает сомнения, что именно полиморфизмы генов в виде точечных мутаций (SNP) с заменой одного нуклеотида на другой, многочисленных тандемных повторов частей генов, инсерций, делеций нуклеотидов или небольших фрагментов гена являются фактором, который определяет структуру и последующее функционирование цитокинов в формировании естественной резистентности организма в патогенезе заболеваний [16, 28, 67]. Самую распространенную в популяции аллель принято считать нормальной. Но допускается, что таковой среди аллелей может и не быть [127].

Кроме того, SNP генов цитокинов в некодирующих областях может влиять на продукцию медиаторов вследствие изменения функциональных сайтов, отвечающих за транскрипцию, созревание и транспортировку соответствующих мРНК, а в последующем способствовать формированию механизма, связывающего полиморфные варианты цитокинов с их экспрессией как в норме, так и при патологии.

Изучение влияния SNP генов цитокинов на качество и уровень продукции медиаторов раскрывают механизмы формирования индивидуального функционирования цитокиновой сети [41, 96, 116, 149, 150, 166]. Именно с особенностями полиморфизма генов связывают развитие, характер, а также особенности течения многих патологических состояний [3, 8, 24, 30, 32, 33, 39, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 57, 64, 75, 205].

В последние годы выявлена ассоциация между SNP генов регуляторных молекул, уровнем экспрессии этих генов, продукцией соответствующих белков и предрасположенностью к тем или иным заболеваниям [24, 118]. Полиморфизм генов цитокинов может оказывать влияние как на предрасположенность к болезни, так и на уровень продукции самих цитокинов [16, 47, 48, 49, 87].

В настоящее время особое внимание уделено изучению влияния SNP на экспрессию провоспалительных цитокинов, в частности полиморфизм фактора некроза опухоли (TNF) [99].

Ген TNF α расположен на шестой хромосоме (6p21.3) в локусе, отвечающем за кодирование молекулы главного комплекса гистосовместимости первого (HLA-A, B, C) и второго классов (HLA-DP, DQ, DR). Большая вариабельность локуса обусловлена его расположением в средней части генома, в частности, промоторная зона гена TNF α включает восемь полиморфных участков с SNP: -238G/A, -244G/A, , -308G/A, -376G/A, -575G/A, -857C/T, -863C/A, -1031T/C [110].

TNF синтезируется различными клетками (моноцитами/макрофагами, натуральными киллерами, нейтрофилами, тучными клетками, Т-лимфоцитами), играет ключевую роль в развитии воспалительного ответа, инициируя синтез IL-1, IL-6, активируя макрофаги, пролиферацию Т- и В-лимфоцитов [110]. TNF α изменяет экспрессию многих цитокинов и ростовых факторов, стимулирует иммунную систему во многих ее звеньях, обладает широчайшим спектром биологической активности и множеством других функций. Описано несколько SNP гена TNF α , способствующих количественным изменениям функционирования гена. Известны SNP в промоторных участках -238 (G/A) и -308 (G/A). Наличие полиморфной аллели (-308) увеличивает в 3-5 раз эффективность транскрипции гена и образования TNF α , что может способствовать более выраженному развитию системной воспалительной реакции при определенных условиях [110].

Среди многих точечных замен в промоторных регионах гена TNF α , именно наличие гетерозиготных вариантов -308GA сопровождалось кратным увеличением экспрессии TNF α [30, 161], что в значительной степени повышало восприимчивость к инфекциям.

Независимые друг от друга исследования генетического полиморфизма в положениях -238, -308, -863 подтвердили корреляцию с уровнем транскрипции в промоторных областях гена TNF α , и, следовательно, с уровнем продукции одноименной молекулы. При этом в исследованиях как *in vivo*, так и *in vitro* продемонстрировано, что наличие аллели -308A приводит к изменению способности связывания с факторами транскрипции,

что отражается на транскрипционной активности промоторного участка [166].

Согласно данным литературы, фактор некроза опухоли занимает центральное место в «воспалительном каскаде», играя ключевую роль в развитии и хронизации воспалительного процесса [94]. Так, SNP гена TNF α (G308A) ассоциирован с возникновением хронического отита, при этом выраженность деструктивных изменений в среднем ухе не зависит от частоты встречаемости полиморфных вариантов [7].

Известно, что ключевая роль в формировании синдрома системной воспалительной реакции (ССВР), характерной для тяжелых и генерализованных форм инфекционного процесса, сопровождающихся гиперпродукцией провоспалительных цитокинов, отводится фактору некроза опухолей альфа [66]. Кроме того, TNF α запускает реакции местного воспалительного ответа: стимулирует синтез интерлейкинов 1 и 6, активирует макрофаги, стимулирует пролиферацию Т- и В-лимфоцитов, а также служит хемоаттрактантом для нейтрофильных гранулоцитов [61]. Поэтому TNF α вовлекается в патогенез большинства иммунопатологических и инфекционных заболеваний [110].

Показано, что четырехкратный риск заболевания церебральной формой малярии и семи-, восьмикратный риск развития последующих серьезных нарушений нервной системы сопряжен с полиморфной аллелью -308*A [110].

Полиморфная аллель TNF α (-308)*A является фактором риска развития активного туберкулеза у азиатов [219] и башкир [93]. Correa P. et al. (2005) в своих исследованиях получил противоположные результаты ассоциации низкопродуктивных аллелей TNF α (-238)*A и TNF α (-308)*G с клинически активным туберкулезом [141]. Протективная роль гаплотипа TNF α -238G/-308A в развитии данного заболевания доказана в популяциях Колумбии [141] и Сицилии [169]. Работами Selvaraj P. (2001) показано, что TNF α (-308) и TNF α (-238) оказывают протективное действие на первых этапах заболевания

только в составе гаплотипа с геном HLA В*17, при этом в развитии клинических форм туберкулеза сами по себе не играют никакой роли [216]. Наличие подобного генотипа в стадию иммунного ответа у пациентов сопряжено с ухудшением состояния и возникновением рецидивов [216].

Другими исследованиями установлено, что повышенный риск рака желудка наблюдался у субъектов с инфекцией *Helicobacter pylori* и генотипом AG гена TNF α (G308A) [159].

Д.Р. Mira et al. (1999) в своих работах продемонстрировали, что аллель -308A у пациентов в 3,7 раза увеличивает риск летального исхода от септического шока, в то время как уровень TNF α , циркулирующего в крови, не отличается у пациентов контрольной группы и группы больных с полиморфизмом -308 TNF α [111]. Другими исследователями показано, что наличие мутантной аллели -308G гена TNF α у хирургических больных повышает риск летального исхода при септическом шоке [111].

Для гена IL-1 β известен ряд полиморфных вариантов в промоторных и интронных областях, которые ассоциированы с пониженной или повышенной его продукцией, а также с развитием многих аутоиммунных, онкологических и инфекционных заболеваний, ведущая роль в развитии которых принадлежит цитокинам.

IL-1 – один из наиболее мощных провоспалительных цитокинов, обладающий несколькими биологическими функциями [173]. Провоспалительный цитокин интерлейкин-1 (IL-1), принадлежит к семейству цитокинов, который модулирует клеточную пролиферацию, обладает способностью стимулировать другие цитокины [81], выступать в роли эндогенного пирогена и др. [153]. Семейство IL-1 включает IL-1 α , IL-1 β , и IL-1Ra (рецептор-антагонист). IL-1 β и IL-1 α являются провоспалительными цитокинами, в то время как IL-1Ra работает в качестве противовоспалительного цитокина [81, 130].

Молекулы интерлейкина-1 подразделяется на 2 фракции – IL-1 α и IL-1 β , которые имеют гомологию в аминокислотной последовательности в

26%, но кодируются разными генами [114, 115]. В настоящее время открыт третий белок со сходной структурой, который обладает способностью связываться с рецепторами IL-1 без проявления биологической активности – «рецепторный антагонист IL-1», который блокирует биологическую активность IL-1 и конкурирует с ним за один и тот же рецептор [114, 115].

Клетками-мишенями для IL-1 являются макрофаги, Т- и В-лимфоциты, нейтрофилы, фибробласты, эндотелиальные клетки, остеокласты, гепатоциты, базофилы и другие клетки [114, 115].

Плейотропный тип биологического действия IL-1 проявляется уже на молекулярном внутриклеточном уровне [114, 115]. При этом продукция IL-1 значительно повышается в очаге, начиная с ранних стадий воспалительного процесса. Все известные биологические эффекты IL-1 проявляются путем его связывания с мембранными специфическими рецепторами на различных типах клеток-мишеней. IL-1 регулирует все стороны иммунного ответа и воспалительной реакции. Кроме того, дисбаланс является одним из пусковых механизмов патологических процессов в продукции белков семейства интерлейкин-1 (IL-1 β , IL-1RA, IL-1RI), влияя на характер протекания воспалительных заболеваний [59].

Известно, что IL-1 β оказывает значительное влияние на иммунорегуляторные процессы: инициирует продукцию IL-2 и экспрессию его рецептора, усиливает связывание НК с опухолевыми клетками, способствует активации продукции антител, усиливает рост и дифференцировку В-клеток, пролиферацию CD4⁺ клеток, действует на мононуклеарные фагоциты и клетки васкулярного эндотелия, стимулируя дальнейшую продукцию ими IL-1, вызывая синтез других цитокинов: IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-10 и IL-12.

Так установлено, что наличие аллели С гена IL-1 β (Т31С) ассоциировано с повышенным риском развития хронического воспалительного процесса в среднем ухе [7]. У гомо- или гетерозиготных носителей по аллели С в локусе 3953 гена IL-1 β (С3953Т) синтезируется в 2-3

раза большее количество этого цитокина, по сравнению с гомозиготными обладателями по аллельному варианту T в позиции 31 гена IL-1 β (T31C), что может способствовать дисрегуляции воспалительного ответа с соответствующей клинической картиной [27, 89].

Другими исследователями установлена положительная ассоциация генотипа A2A2 полиморфизма +3953A1/A2 гена IL-1 β с туберкулезом легких. При этом генотип A1A1 полиморфизма +3953A1/A2 гена IL-1 β оказывал протективное влияние [136].

Кондратьевой Е.И и соавт. (2014) выявлена ассоциация SNP генов иммунорегуляторных цитокинов с предрасположенностью к инфицированию основными видами возбудителей инфекционного процесса при хроническом пиелонефрите, ассоциированном с *E.coli*. Они установили, что носители генотипа A2A2 полиморфизма IL-1RN*VNTR имеют повышенный риск колонизации *E.coli* при хроническом пиелонефрите [68].

Promthet S. et al. (2018) в своих исследованиях показали, что повторное инфицирование *Opisthorchis viverrini*, а также генетический полиморфизм IL-1 β и TNF- α повышают риск развития внутripеченочной холангиокарциномы [184].

Wu S. et al. (2018) установили, что полиморфизм гена IL-1 β связан с развитием латентной туберкулезной инфекции, тогда как варианты IL-6 и TNF α увеличивают риск развития туберкулеза легких [158].

Исследование полиморфизма генов TNF α (rs1799964, rs1800629, rs1799724, rs1800630 и rs361525), IL-1 β (rs16944, rs114364 и rs114364), IL-1 α (rs1800587), IFN- γ (rs2430561) и IL-10 (rs1800896 и rs1800871) среди лиц колумбийской популяции с токсоплазмозом глаза показало высокую связь IL-10, IFN- γ и IL-1 β с развитием данного инфекционного процесса [157].

Функционирование цитокиновой сети является результатом комплексного влияния всех полиморфизмов молекул, принимающих участие в иммунном ответе. Ярким примером индивидуального реагирования защиты

организма являются сведения о роли полиморфизма генов, кодирующих иммунокомпетентные белки, при гриппе А (H1N1).

Установлено, что при гриппе А (H1N1) (2009), у пациентов с генотипом G/G полиморфизма промотора гена IL-2 (T330G) в крови выявляется минимальное содержание IL-2, а его максимальное – у больных с генотипом T/T [39, 41, 49]. При этом у носителей генотипа T/T полиморфизма гена IL-10 (C819T), определяется максимальная, а у носителей генотипа C/C – минимальная концентрация IL-10 [39, 49].

У больных с циррозом в исходе хронического вирусного гепатита С чаще обнаруживался генотип T/T полиморфизма гена IL-2 (T330G) по сравнению с группой пациентов с ХВГС с I-III стадиями фибротических изменений и у здоровых лиц. Установлено, что при ХВГС преобладают гомозиготные варианты A/A IL-10 (G1082A) и C/C гена IL-10 (C819T). Доказано, что среди лиц с ХВГС при переходе процесса в цирроз встречаемость аллели С полиморфизма гена IL-10 (C819T) снижается, а аллели Т – повышается. Частота аллели А SNP гена IL-10 (G1082A) при ХВГС увеличивается по сравнению со здоровыми. Напротив, частота аллели G у больных ХВГС в 2,5 раза, а при циррозе печени – в 1,3 раза ниже контрольных значений [49].

При этом данные мета-анализа подтверждают, что в китайской популяции со значительно меньшим риском инфицирования вирусом гепатита В связан генотип AA полиморфизма IL10-1082 GA (rs1800896), но в то же время риск развития гепатоцеллюлярной карциномы среди корейской, тайваньской и китайской популяций повышают полиморфизмы гена IL-10 [133].

Связь хронического вирусного гепатита С с гомозиготным вариантом G/G локуса -1082 обнаружена среди больных в иранской популяции, тогда как среди лиц контрольной группы чаще определялся генотип G/A [164].

Установлено, что в подавляющем числе случаев развития фиброза печени регистрируется генотип C/C полиморфизма C3872T гена CRP. В

терминальной стадии развития фиброза обнаруживается только носительство генотипа С/С. Выявлено, что у больных с ХВГС концентрация IL-2 зависит как от активности патологического процесса, так и от носительства полиморфизмов промотора гена IL-2 (Т330G) [49].

В проводимых на базе ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» работах ранее установлена ассоциация полиморфных вариантов генов IL-2 и IL-10 с предрасположенностью к роже. Так выявлено, что при первичной роже чаще регистрировалась аллель Т гена IL-10 (С819Т) – в 10 раз, а при рецидивирующей – в 20 раз по сравнению со здоровыми лицами. При этом встречаемость аллели А гена IL-10 (G1082A) в 5 раз выше, чем у здоровых лиц. Распределение генотипов характеризуется увеличением доли вариантов Т/Г и G/G гена IL-2 (Т330G), С/Т и Т/Т гена IL-10 (С819Т), G/A и А/А IL-10 (G1082A) среди больных рожей. Эти тенденции наблюдаются во всех случаях, независимо от клинического течения болезни [43, 47, 49].

В литературе встречаются и противоречивые сведения в отношении предрасположенности к роже среди представителей других популяций. Так в ходе исследований не выявлено статистически значимой связи полиморфизма гена IL-10 -1082 GA (rs1800896) с заболеванием рожей у лиц казахской национальности, независимо от течения заболевания [10]. Также установлена гиперпродукция IL-17 у больных рожей с AG генотипом полиморфизма IL-17A rs2275913 по сравнению с таковым у здоровых лиц [91].

Таким образом, в прогнозировании клинического течения рожи не исключается участие генетического фактора, в частности, полиморфизма генов некоторых цитокинов.

1.2. Роль генетического полиморфизма некоторых рецепторов иммунокомпетентных клеток в патогенезе некоторых инфекционных заболеваний

В настоящее время считают, что регулирование иммунных клеток, выживание и пролиферация в очаге воспаления, продукция основных цитокинов зависит от сигнальных молекул, в частности Toll-подобных рецепторов (TLR) [63].

Toll-подобные рецепторы (TLRs) – наиболее изученная подгруппа PRR, представляющих семейство трансмембранных гликопротеинов I типа. Эти рецепторы состоят из внеклеточного лейцин-содержащего домена LRR (Leucine-Rich Repeat domain), контактирующего с лигандом коротким трансмембранным участком и внутриклеточного компонента TIR – (Toll interleukin-1 receptor) – гомологичный внутриклеточному домену интерлейкина-1, ответственного за передачу сигнала цитоплазматическим адаптерным молекулам MyD88, с участием киназ, с последующей активацией факторов транскрипции (NF- κ B, AP-1) [63].

Внеклеточный домен содержит варьирующее число повторяющихся мотивов, богатых лейцином, обеспечивающих прямое взаимодействие рецептора с лигандами микроорганизмов или их продуктов. Специфичность связывания TLR с определенными с PAMPs (Pathogen-associated molecular patterns) определяется третичной структурой этого домена

Внутриклеточный домен TLR подобен цитоплазматическому домену рецептора IL-1. Этот домен участвует в трансдукции сигнала от активированного TLR внутрь клетки [82, 105].

Рецепторы данного семейства представлены на различных типах клеток – дендритных клетках, лейкоцитах, моноцитах и др. [82, 105]. Известно, что TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 и TLR10 представлены на клеточной мембране и распознают в основном бактериальные компоненты. Рецепторы другой подгруппы семейства TLRs (TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9)

обладают специфичностью к нуклеиновым кислотам вирусного и бактериального происхождения [54, 82,105].

Общим свойством всех TLR является проведение активационного сигнала, указывающего на присутствие патогенна, ведущего к активации защитных реакций, и взаимодействие с PAMPs (Pathogen-associated molecular patterns). Показано также, что некоторые TLR могут распознавать появляющиеся в результате развития воспаления и повреждения тканей эндогенные лиганды, [54, 147].

В качестве лигандов выступают консервативные структуры многих патогенов, липотейхоевые и маннуроновые кислоты, липополисахарид (LPS), липопроотеиды, пептидогликаны, флагеллин и др. [174].

Под действием эндогенных лигандов наблюдается гиперактивация TLRs, что может приводить к развитию чрезмерного воспалительного ответа, сопровождающегося повреждением тканей, что может рассматриваться как один из основных механизмов иммунопатогенеза различных заболеваний [54].

Снижение способности к распознаванию соответствующих лигандов, либо к проведению внутриклеточных сигналов является общей чертой функционального полиморфизма генов TLR [110, 181].

В последние годы опубликовано все больше сведений о роли дисфункции TLR при соматических и инфекционных заболеваниях. Полиморфизм генов TLR связан с аллергическими, аутоиммунными и рядом инфекционных заболеваний [73].

Установлено, что к изменению восприимчивости к различным инфекционным агентам могут приводить SNPs в гене TLR2 [105].

Доказано, что полиморфизм Asp299Gly гена TLR4 тесно связан с развитием гематогенного остеомиелита и системного кандидоза, бактериальных инфекций, передающихся половым путем, респираторно-синцитиальной инфекции у детей младшего возраста и новорожденных,

сепсиса, вызванного грамотрицательными бактериями, атопической патологии [90, 107, 209].

Клинические и экспериментальные исследования подтверждают ведущую роль TLRs в развитии тяжелых инфекционных заболеваний. При этом как потенциально перспективную мишень с точки зрения терапии тяжелого сепсиса и септического шока рассматривают TLR4 [220].

Установлено, что генетические изменения в иммунной системе, связанные SNP Toll-подобных рецепторов и CD14, повышают восприимчивость к тяжелой инвазивной инфекции *Chlamydia pneumoniae* и *Neisseria meningitidis* [213].

Полиморфизм Arg753Gln гена TLR2 ассоциируется с повышенной восприимчивостью к туберкулезу, стафилококковым инфекциям [163]. Вариант полиморфизма Leu412Phe гена TLR3 связывают с развитием подострого склерозирующего панэнцефалита при кори, миокардита и дилатационной кардиомиопатии при энтеровирусной инфекции [135, 139].

Известно, что TLR4 связывает бактериальный ЛПС, а его генетический полиморфизм TLR4 обуславливает предрасположенность к заболеваниям, вызванным *Streptococcus* [105].

Однако другие полиморфизмы гена *TLR4* могут оказывать протективное действие к проявлению заболевания. Результаты исследования полиморфизма *TLR4-D299G* при тонзиллите показали, что наличие мутации снижает чувствительность к бета-гемолитическому стрептококку группы А, и тем самым, оказывает протективное влияние [215].

Vidyant S. et al. (2018) показали, что SNP гена TLR4 (Asp299Gly) является фактором риска восприимчивости к ВИЧ-1, тогда как между полиморфизмом Thr399Ile и ВИЧ-инфекцией не обнаружено никакой связи [217].

Arya RP et al. (2018) в своих исследованиях, проводимых среди индийских пациентов, инфицированных вирусом гепатита Е, выявили, что аллель *TLR4-399C* достоверно коррелирует с прогрессированием

заболевания. При этом другой однонуклеотидный полиморфизм (SNP) при TLR4-299 (A>G) не показал никакой разницы [140].

Yurko K. et al. (2018) установили, что у пациентов с коинфекцией ВИЧ/НСV полиморфизм Asp299Gly гена TLR4, играющий значительную роль в развитии метаболических нарушений, выявляется значительно чаще по сравнению со здоровыми донорами [207].

Известно, что молекулы FCGR2A и CD14 являются облигатными участниками воспалительного процесса.

CD14 – мембранный белок, экспрессированный на поверхности клеток миелонового ряда, в большей степени на макрофагах, компонент рецепторного комплекса CD14/TLR4/MD2, распознающего ЛПС.

CD14 является маркером зрелых моноцитов и макрофагов [182]. По химической структуре рецептор CD14 – гликопротеин, состоящий из 356 аминокислот [153]. С-терминальный конец этого белка связан с GPI, при помощи которого CD14 связывается с клеточной мембраной [197].

Выделяют две формы этого белка. Растворимая форма (sCD14) этого рецептора, находясь в плазме, обеспечивает взаимодействие эндотоксина с эпителиальными и эндотелиальными клетками, а также вызывает увеличение продукции цитокинов дендритными клетками [177]. Мембраносвязанная форма (mCD14) функционирует как рецептор эндотоксина на миелоидных клетках (моноцитах и макрофагах). Его экспрессия на моноцитах в 10 раз больше, чем на нейтрофилах. Главным рецептором активации моноцитов комплексом, состоящим из эндотоксина и липополисахаридсвязывающего белка, является CD14 [13, 126].

Кроме того, имеются сведения о неравнозначности биологических эффектов sCD14 и mCD14 [146]. Хотя обе эти молекулы способны инициировать ответ на ЛПС, однако только mCD14 способен запускать синтез провоспалительных цитокинов в ответ на экзоэнзим S бактерии *Pseudomonas aeruginosa* [146].

Функцией CD14 является только связывание эндотоксина и формирование высокоаффинного рецепторного комплекса вместе с TLR4, поскольку в структуре CD14 рецептора нет внутриклеточной части, отвечающей за проведения сигнала активации. При этом установлено, что CD14 связывает компоненты клеточной стенки грамположительных бактерий (пептидогликаны и липотейхоевую кислоту), что способствует их распознаванию TLR2 [126, 180].

Ген рецептора липополисахарида CD14 расположен в длинном плече 5-й хромосомы (5q31.3) и составляет около 2000 нуклеотидов [174, 180, 221]. В настоящее время описаны полиморфные варианты этого гена, расположенные в основном в 5-промоторном регионе [74].

Изучается связь вариантов генетического полиморфизма CD14 рецептора моноцитов в локусах C(-159)T и C(-260)T с различными заболеваниями [12]. Результатом чего явилось выявление ассоциации SNP C(-159)T в гене CD14 рецептора с развитием ИБС [177]. Также у больных с инфарктом миокарда обнаружена высокая частота аллели T(-159) в промоторе гена CD14 рецептора моноцитов [162]. Кроме того, SNP C(-159)T гена CD14 рецептора и Asp299Gly гена TLR4 рецептора моноцитов и макрофагов отнесены к дополнительным факторам развития атеросклероза [194]. Показано, что полиморфизм промотора липополисахаридного рецептора CD14 C260T является фактором риска развития болезни Крона [62].

В ходе исследований выявлено, что количество растворимого CD14 взаимосвязано с одним из таких вариантов полиморфизма C(-159)T или C(-260)T [5-6].

У больных пандемическим гриппом А (H1N1) в Забайкальском крае обнаружено, что носительство аллели С гена CD14 (C159T) сочеталось с тяжелым и осложненным течением инфекции. Более того, гаплотип [CD14 (159C/C); FCGR2A (166Arg/Arg)] привел к молниеносному развитию заболевания и смерти пациентов [30]

В работах Е.А. Байгозиной (2015) при изучении нозокомиальной пневмонии выявлено, что в группе пациентов с тяжелым течением заболевания наличие аллели Т гена CD14 (С159Т) ассоциировалось с риском инфицирования грамотрицательной микрофлорой. Однако в других исследованиях показано, что указанный функциональный полиморфизм не влияет на развитие сепсиса и смертность больных [5, 6, 109].

Исследования М. Heesen с соавт. (2002) и J.A. Hubacek (2000) не выявили различий между аллелью Т гена CD14 и тяжестью инфекций [5, 6, 167, 203].

В работах Woo J. и соавт. (2003) [202], Koppelman G. и соавт. (2001) [137] показано, что генотип СС связан с низкой экспрессией CD14, аллергическим ринитом, клиническими проявлениями бронхиальной астмы, положительными кожными пробами и сывороточным уровнем IgE [5, 6, 110]. При этом полиморфизм промоторного региона гена CD14 (С159Т) не ассоциируется ревматоидным артритом [145] и псориазом [193], что подтверждает описанную выше связь с бактериальными инфекциями или аллергическим типом воспаления. Очевиден факт участия CD14 в регуляции аллергических реакций в отличие от TLR4 [110].

Вышеприведенные примеры отражают роль отдельных полиморфизмов генов иммунорегуляторных молекул и их сочетаний в развитии иммунологической защиты при острых и хронических вирусных инфекциях. Клинические проявления бактериальных интервенций в организме человека также зависят от комплексного влияния транслируемых молекул, зависящих в свою очередь от отдельных полиморфизмов генов.

1.3. Роль генетического полиморфизма тканевого фактора при гемокоагуляционных нарушениях

Для любого воспалительного процесса характерно микротромбообразование, которое часто носит распространенный характер и

завершается массивным тромбозом с развитием полиорганной недостаточности (ДВС-синдром) [25, 26, 185]. Развитие рожы также сопровождается ранними гемокоагуляционными нарушениями, определяющими клиническое течение и тяжесть заболевания [48].

Ранее А.Н. Емельяновой показано, что провоспалительные цитокины у пациентов при рожы стимулируют экспрессию тканевого фактора моноцитами периферической крови [48, 49]. Однако до сих пор генетический полиморфизм тканевого фактора и молекул, принимающих участие в его сигнальном пути, не изучался. Хотя при других заболеваниях, полиморфные варианты молекул ТФ вовлекаются в патогенез нарушений гемостаза.

Так установлено, что генетические особенности влияют на уровень тканевого фактора в плазме крови [113, 138].

Aras O. et al. (2004) показали, что причиной гиперкоагуляции при сепсисе является увеличение экспрессии ТФ, вызванное стимуляцией бактериальными эндотоксинами *in vivo* [171].

Ott I. et al. (2004) установили, что с развитием инфаркта миокарда у больных ИБС ассоциирован полиморфизм гена тканевого фактора в положении А603G, причём носительство G аллели повышает содержание тканевого фактора в плазме крови [212]. У больных артериальной гипертензией гомозиготный вариант GG ассоциирован с повышением уровня провоспалительных цитокинов (IL-8, ИФ-гамма, TNF α) в плазме крови, а также с более ранним дебютом ИБС [113, 138].

Eroğlu A. et al. (2016) в проводимых исследованиях не обнаружили значимой ассоциации полиморфизмов гена ТФ 603A/G и 5466A>G с венозной тромбоземболией при злокачественной опухоли [204].

Arnaud E. et al. (2000) в исследовании среди пациентов с инфарктом миокарда и венозной тромбоземболией доказали, что гаплотип 1208 D связан с пониженным уровнем ТФ в плазме и более низким риском венозного тромбоза [190].

Mälarstig A. et al. (2005) обнаружили, что гаплотип CG SNP TF-1812 C>T и 5466 A>G был связан с 3-кратным повышенным риском смерти при остром коронарном синдроме [160].

Undas A. et al. (2008) определили, что образование тромбина после повреждения сосудов и снижение уровня тромбина статинами у пациентов с ИБС зависят от полиморфизма TF + 5466A> G [210].

Ionova Z. et al. (2014) продемонстрировали связь генотипов L162V гена PPAR- α и G603G гена TF с повышенным уровнем маркеров эндотелиальной дисфункции у пациентов с ишемической болезнью сердца в российской популяции [186].

Петров А.А. и соавт. (2012) установили, что снижение уровня макрофагальной и моноцитарной экспрессии TF наблюдалось у больных гриппом А (H1N1), несущих гетерозиготный генотип полиморфизма D-1208I [26]. При этом развитие ТЭЛА у данных пациентов ассоциируется с носительством T-аллели MTHFR C-677T, а мутации FII G-20210A, TF G-1442C и FV G-1691A не связаны с летальным исходом [25].

Дальнейшее изучение физиологической и патофизиологической роли тканевого фактора позволит расширить имеющиеся представления о патогенезе не только сердечно-сосудистых, но и многих других заболеваний, в том числе рожи.

1.4. Заключение

Таким образом, общая концепция роли генетических факторов в этиопатогенезе рожи обоснована, но остается много неясных вопросов относительно вклада конкретных генов. Нет однозначных ответов, позволяющих высказать суждение о патогенетических механизмах и сделать выводы о причинно-следственной связи в проблеме рецидивирования рожи. В настоящее время найдены ответы лишь на некоторые вопросы, которые также ещё нуждаются в углублении и расширении полученных данных. В связи с чем представляется актуальным комплексное изучение иммуногенетических закономерностей течения заболевания, а также поиск иммунологических и генетических маркеров, определяющих тяжесть течения процесса, что позволит выявлять индивидуальную предрасположенность здоровых индивидов к развитию рожи, оценивать риск развития тяжелых форм, а также выявлять предикторы рецидивирования заболевания.

В связи с этим, теоретический и практический интерес представляет поиск генетических маркеров иммунорегуляторных молекул, влияющих на восприимчивость и особенности течения патологического процесса. Это позволит разработать более эффективные методы прогнозирования развития заболевания и значительно расширит представление о патогенезе рожи.

Г Л А В А 2

ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Характеристика исследуемых групп

В настоящей работе приведены результаты комплексного обследования 104 пациентов (средний возраст – $47,5 \pm 3,5$ года): 49 мужчин и 55 женщин с рожей.

Все больные, кроме тщательного физикального обследования, проходили обследование в клинико-диагностической лаборатории. Комплекс лабораторных тестов включал гематологические, биохимические, молекулярно-генетические и иммунологические показатели.

Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых. В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, 2013 – поправки) и Правилами клинической практики в Российской Федерации, утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Все испытуемые подписывали формы добровольного информированного согласия.

Лабораторные исследования выполнены на базе НИИ «Молекулярной медицины» ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (ректор – Заслуженный врач РФ, д.м.н., профессор А.В. Говорин). Набор клинического материала осуществлялся на базе ГУЗ «Краевая клиническая инфекционная больница» (главный врач – к.м.н. С.В. Юрчук).

Критериями исключения служили: повторная форма рожи, обострение хронических воспалительных процессов, пневмония, инфекционные заболевания другой этиологии, сахарный диабет 1 и 2 типов, наследственные и психические болезни, острые сердечно-сосудистые заболевания, осложненное течение рожи, эндокринные заболевания, алиментарно-конституциональное ожирение, у женщин – беременность и ранний послеродовый период.

Контрольную группу составили 94 практически здоровых донора с аналогичными характеристиками по полу и возрасту, не имеющих острых вирусных и бактериальных, хронических инфекционных заболеваний, аллергических и аутоиммунных заболеваний.

Все обследованные – представители европеоидной расы, родившиеся и проживающие на территории Забайкальского края.

2.1.1. Клиническая характеристика пациентов с рожей

В исследование включены пациенты с рожей (по МКБ – 10 рубрики, А-46), первичного и рецидивирующего течения, эритематозной, эритематозно-буллезной, буллезной, буллезно-геморрагической, эритематозно-геморрагической, геморрагической форм, средней степени тяжести.

Верификацию диагноза проводили на основании клинико-anamnestических данных согласно классификации В.Л. Черкасова [129].

Больные госпитализированы в течение 1-3-х суток с начала клинических проявлений болезни. Все пациенты получали традиционную базисную терапию с учетом клинической формы, кратности заболевания, тяжести течения, включавшую бензилпенициллин (в суточной дозе 6 млн. ЕД, внутримышечно) или цефалоспорины 1-го или 2-го поколения. В качестве патогенетической терапии применялись противовоспалительные, десенсибилизирующие, дезинтоксикационные средства. Местно –

ультрафиолетовое облучение, при наличии обширных эрозий пораженного участка применяли повязки с фурациллином.

В соответствии с целью исследования с учетом кратности течения и локального статуса все больные были распределены на группы:

1. По кратности течения:
 - а. больные с первичной рожей – 54 человека;
 - б. больные с рецидивирующей формой рожи – 50 человек;
2. По характеру местных проявлений:
 - а. больные с эритематозной формой заболевания – 65 человек;
 - б. больные с эритематозно-буллезной формой – 25 человек;
 - в. больные с буллезно-геморрагической формой – 14 человек;

2.2. Лабораторные методы исследований

Объектом для исследования являлась цельная кровь и ее сыворотка/плазма, буккальные соскобы; забор материала осуществлялся однократно в 1-2 сутки госпитализации.

2.2.1. Исследование экспрессии тканевого фактора

Исследование экспрессии тканевого фактора моноцитами осуществляли по методу, предложенному R.A. Santucci et al. (2000) [179] в собственной модификации [43, 44]. Для оценки экспрессии тканевого фактора моноцитами сравнивали время свертывания образцов крови с добавлением бактериального ЛПС и без него.

Об экспрессии тканевого фактора судили по степени сокращения времени коагуляции, выражаемой в процентах по формуле:

$$\frac{(T_1 - T_2) \times 100\%}{T_1}, \quad \text{где:}$$

T_1 - время свертывания нестимулированной крови;

T_2 - время свертывания стимулированной крови.

2.2.2. Определение полиморфизма генов

Определение полиморфизма генов (*IL-1 β* , *CD14*, *TF*, *TNF α* , *TLR4*) осуществлялось методом полимеразной цепной реакции с использованием праймеров ООО «Литех» (г. Москва). Анализу подвергалась геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов цельной крови или буккального эпителия с помощью реагента «ДНК-экспресс», затем проводилась реакция амплификации с двумя парами аллель-специфичных праймеров.

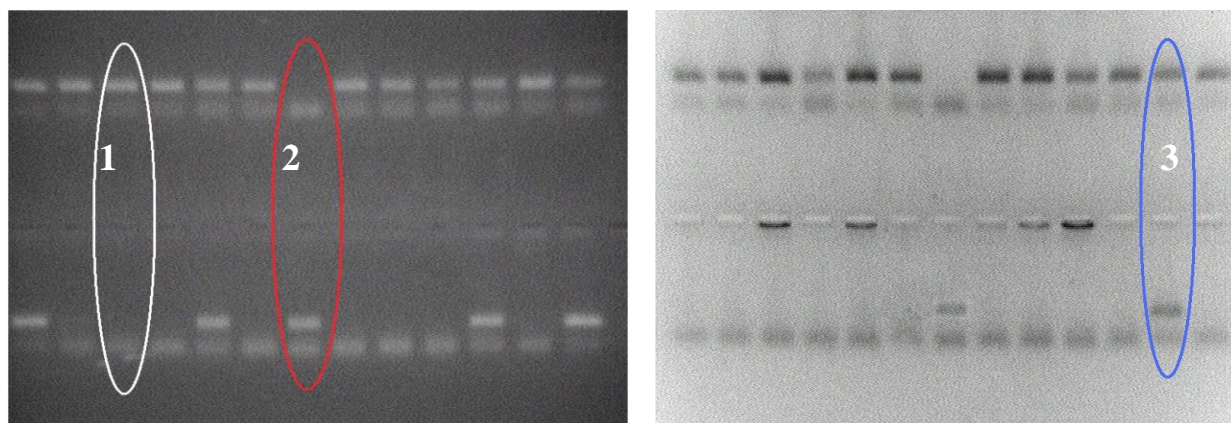


Рисунок 1. Электрофореграммы продуктов амплификации (позитив и негатив);

Примечание: 1 – нормальная гомозигота, 2 – гетерозигота, 3 – мутантная гомозигота

2.2.3. Определение концентрации цитокинов

Для определения концентрации цитокинов (*IL-1 β* , *TNF α*) использовали наборы реагентов ООО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Измерение уровня цитокинов проводили методом твердофазного ИФА с помощью двойных антител и применением пероксидазы хрена (КФ 1.11.1.7).

2.3. Методы статистической обработки полученных результатов

Статистическая обработка осуществлялась при помощи электронных программ Microsoft Excel 2007, STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., США), MDR

3.0 (Multifactor Dimensionality Reduction (MDR или Многофакторное уменьшение размерности)) с определением статистической значимости различий при $p < 0,05$.

При нормальном распределении признака использовали параметрические методы статистики. Результаты представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение ($M \pm SD$), либо медиана (Me) с интерквартильным интервалом (25 и 75 перцентили).

Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с помощью критерия χ^2 [20].

Для сравнения групп по качественному бинарному признаку применялся критерий χ^2 (Пирсона).

Взаимосвязь между количественными признаками выявлялась с помощью коэффициента корреляции Спирмена, значимым признавался результат $r_s > 0,3$ при $p < 0,05$.

Предсказания значений ряда зависимых переменных по известным значениям других переменных осуществлялось с помощью множественного регрессионного анализа.

Для оценки ассоциаций полиморфных вариантов генов с патологическим фенотипом рассчитывали показатель отношения шансов (OR) с расчетом для него 95% доверительного интервала (CI). Величина $OR = 1$ – указывала на отсутствие ассоциации, $OR > 1$ – наблюдается при положительной ассоциации «фактора риска» и $OR < 1$ – отрицательная ассоциация аллели с заболеванием.

Г Л А В А 3

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ *IL-1 β* , *TNF α* , *CD14*, *TF*, *TLR4*, СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ И СОСТОЯНИЕ ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ РОЖЕЙ

3.1. Исследование генетического полиморфизма цитокинов при роже

3.1.1. Полиморфизм гена *IL-1 β* (*T31C*), *IL-1 β* (*T511C*), *IL-1 β* (*C3953T*)

Принимая во внимание роль цитокинов в различных физиологических и патологических процессах организма, нами изучено распределение частот аллелей и генотипов полиморфных ДНК-локусов гена *IL-1 β* – *T31C*, *T511C*, *C3953T*.

В ходе молекулярно-генетического исследования обнаружены все искомые мутации с частотным подчинением эквilibриуму Харди-Вайнберга ($p > 0,05$).

Общее распределение частоты аллелей и генотипов исследуемых ДНК-локусов отражено в таблице 1.

Выявлено, что в группе больных рожей встречаемость полиморфных вариантов *IL-1 β* (*T31C*) существенно отличались от контрольной группы. У них в 1,4 раза реже выявлялась мажорная аллель *T* с частотой 0,55, тогда как среди здоровых она составила 0,79 ($\chi^2=24,31$; $p < 0,001$). У пациентов значительно превалировала минорная аллель *C* с частотой 0,45, тогда как в группе здоровых ее встречаемость оказалась 0,21 ($\chi^2=24,31$; $p < 0,001$). При этом среди больных рожей значительно чаще (в 4,3 раза) регистрировался гомозиготный генотип *CC* (27,8%) по сравнению с группой контроля (табл. 1).

Распределение мутации полиморфного локуса *T511C* соответствовало равновесию Харди-Вайнберга, однако при сравнении групп достоверно значимых различий не обнаружено ($p > 0,05$) (табл. 1).

Носительство SNP *IL-1 β* (*C3953T*) у пациентов с рожей и здоровых лиц также оказалось различным. Среди больных превалировала мажорная аллель *C* с частотой 0,76, а минорная аллель *T* – с частотой 0,24, что в 2 раза реже, чем в контрольной группе ($\chi^2=21,58$; $p < 0,001$). Соответственно этому распределение генотипов у больных рожей также значительно отличалось от здоровых лиц. Установлено, что у пациентов гомозиготы *CC* встречались в 56,7%, гетерозиготы *CT* обнаружены в 38,5% случаев, в остальных – гомозиготные варианты *TT* ($\chi^2=22,67$; $p < 0,001$). В контрольной группе выявлялись все возможные генотипы со значительным преобладанием гетерозиготного генотипа *CT* – 56,4% (табл. 1).

Таблица 1.

Встречаемость SNP *IL-1 β* (T31C), *IL-1 β* (T511C), *IL-1 β* (C3953T) у здоровых лиц и больных рожей

Группа	Аллель	Частота аллели, P	χ^2 ; p	Генотип	Частота генотипа, %	χ^2 ; p
<i>IL-1β</i> (T31C)						
Больные рожей (n=104)	<i>T</i>	0,55	24,31 p<0,001	<i>TT</i>	38,5	21,93 p<0,001
	<i>C</i>	0,45		<i>TC</i>	33,7	
Контрольная группа (n=94)	<i>T</i>	0,79		<i>CC</i>	27,8	
	<i>C</i>	0,21		<i>TT</i>	47,9	
			<i>TC</i>	45,7		
			<i>CC</i>	6,4		
<i>IL-1β</i> (T511C)						
Больные рожей (n=104)	<i>T</i>	0,35	0,96 p=0,33	<i>TT</i>	11,5	3,10 p=0,21
	<i>C</i>	0,65		<i>TC</i>	46,2	
Контрольная группа (n=94)	<i>T</i>	0,39		<i>CC</i>	42,3	
	<i>C</i>	0,61		<i>TT</i>	20,2	
			<i>TC</i>	38,3		
			<i>CC</i>	41,5		

Продолжение таблицы 1.

<i>IL-1β (C3953T)</i>						
Больные рожей (n=104)	<i>C</i>	0,76	21,58 p<0,001	<i>CC</i>	56,7	22,67 p<0,001
	<i>T</i>	0,24		<i>CT</i>	38,5	
				<i>TT</i>	4,8	
Контрольная группа (n=94)	<i>C</i>	0,54	p<0,001	<i>CC</i>	25,5	p<0,001
	<i>T</i>	0,46		<i>CT</i>	56,4	
				<i>TT</i>	18,1	

Нами изучены частоты встречаемости аллелей и генотипов у больных рожей в зависимости от кратности процесса (первичная и рецидивирующая формы), а также от характера местных проявлений (эритематозная, эритематозно-буллезная, буллезно-геморрагическая формы). Распределение полиморфных вариантов соответствовало эквilibриуму Харди-Вайнберга среди тестируемых групп ($p > 0,05$), однако ни по мультипликативной, ни по общей моделям полученные результаты статистически не значимы (χ^2 , $p > 0,05$).

Таким образом, исходя из полученных данных о распределении частот, шанс развития рожи повышается у носителей минорной аллели *C* (OR=2,99 [1,92-4,66]), генотипа *CC* (OR=8,70 [2,93-25,86]) гена *IL-1 β* (*T31C*). Носительство мажорной аллели *T* (OR=0,33 [0,21-0,52]) и гомозиготного генотипа *TT* (OR=0,39 [0,22-0,69]) гена *IL-1 β* (*T31C*) снижают вероятность развития заболевания (рис. 2).

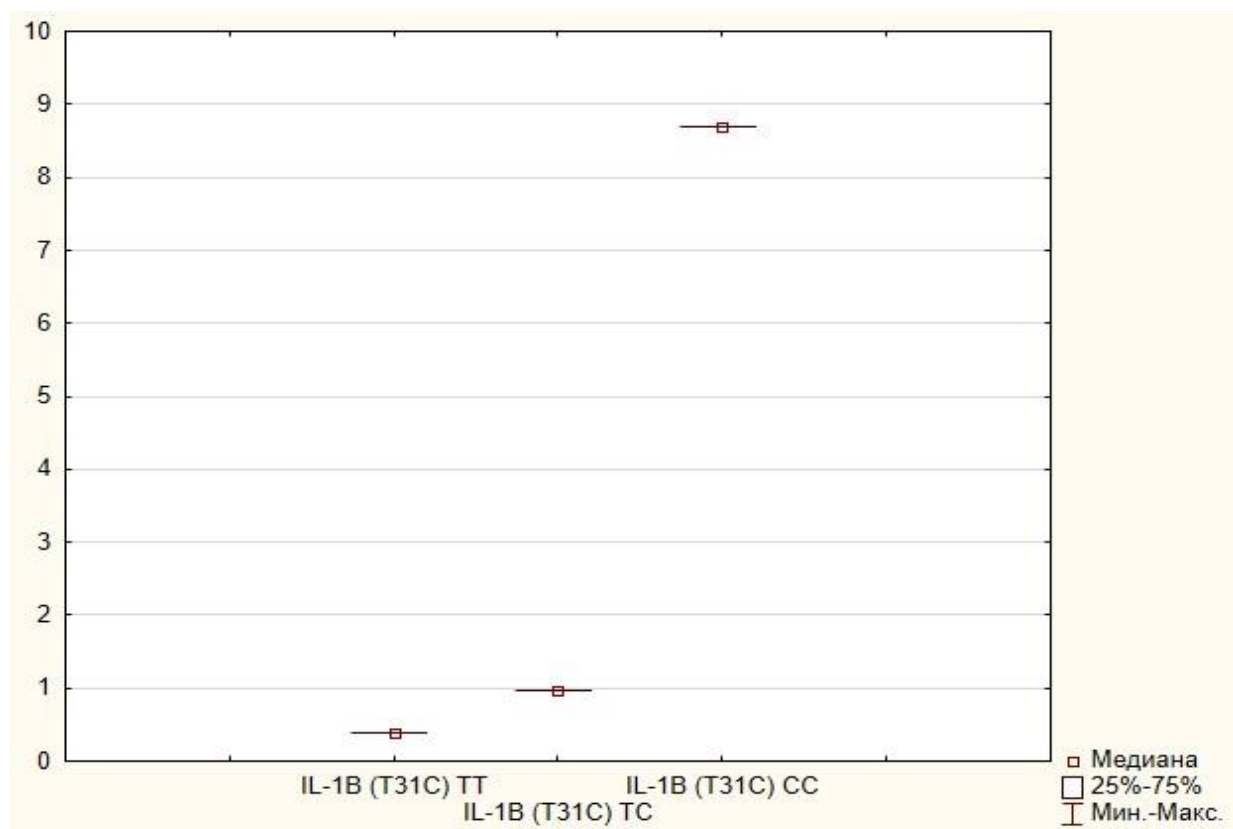


Рисунок 2. Вероятность развития рожи в зависимости от полиморфных вариантов гена *IL-1 β* (*T31C*).

В точке SNP *IL-1 β* (C3953T) шанс возникновения рожи у носителей мажорной аллели *C* равен 2,72 [CI95%: 1,77-4,18], для носителей генотипа *CC* – 3,82 [CI95%: 2,09-7,00]. Возможность развития заболевания снижена у обладателей минорной аллели *T* (OR=0,37 [0,24-0,56]), гетерозиготного *CT* (OR=0,48 [0,27-0,85]) и гомозиготного варианта *TT* (OR=0,23 [0,08-0,65]) гена *IL-1 β* (C3953T) (рис. 3).

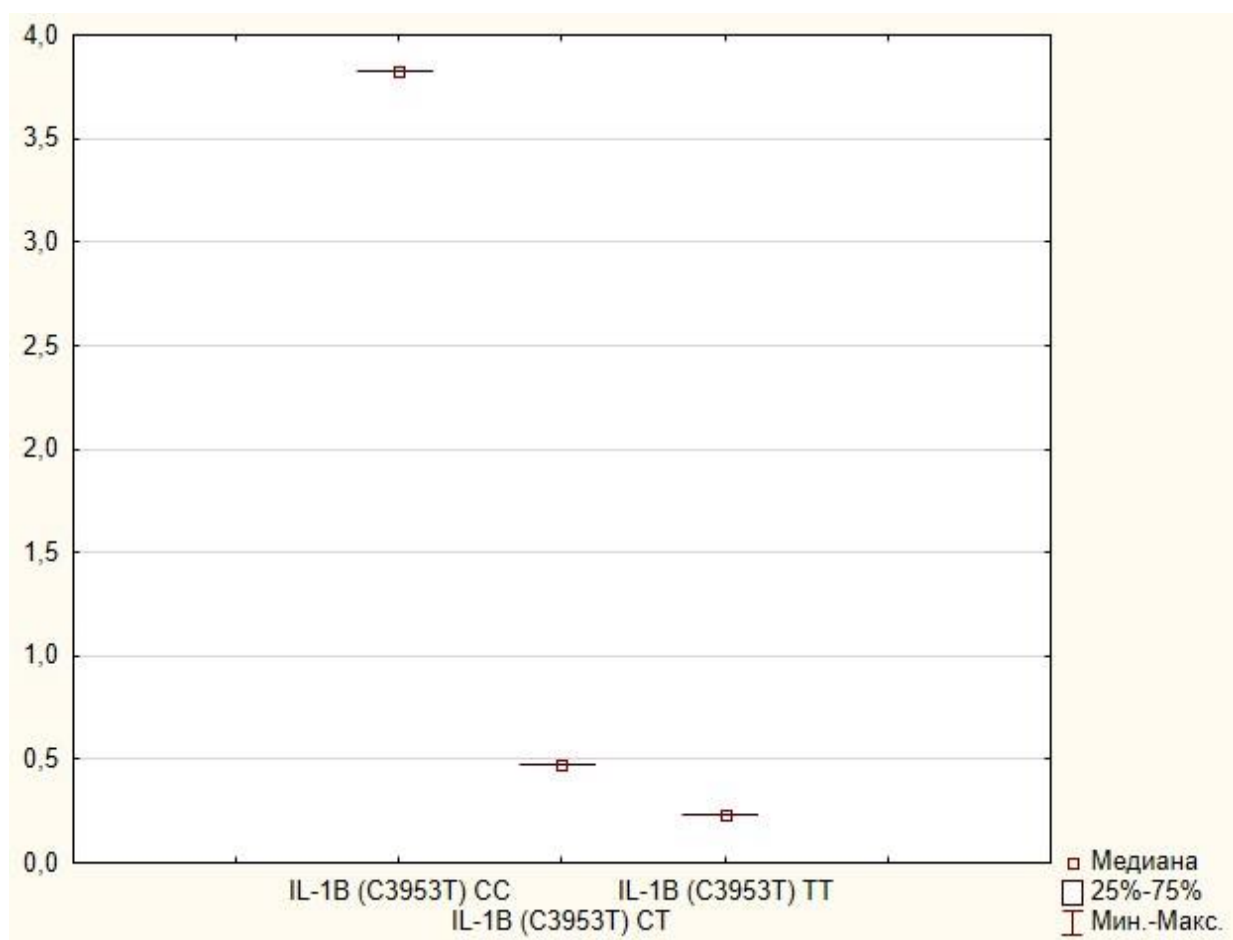


Рисунок 3. Вероятность развития рожи в зависимости от полиморфных вариантов гена *IL-1 β* (C3953T).

Таким образом, минорная аллель *C*, генотип *C/C* гена *IL-1 β* (T31C), мажорная аллель *C*, генотип *C/C* гена *IL-1 β* (C3953T) повышают вероятность развития рожи.

3.1.2. Полиморфизм промотора гена *IL-1 β* (*G1473*) и его влияние на содержание интерлейкина 1 в крови больных рожей

Мутации некодируемых участков, таких как интронов, промоторов, влияют на экспрессию и количество кодируемого белка [41, 47, 58].

Изменение нуклеотидной последовательности в промоторном участке гена *IL-1 β* может сказаться на скорости транскрипции и трансляции кодируемого белка IL-1 β . В связи с этим важно проследить уровень цитокина в зависимости от полиморфных вариантов его гена при роже.

Мы изучили взаимосвязь полиморфизма промоторного участка гена *IL-1 β* (*G1473C*) *rs1143623* с влиянием на содержание интерлейкина 1 в крови больных рожей при первичном и рецидивирующем течении.

Выявлено, что в группе больных рожей встречаемость полиморфных вариантов *IL-1 β* (*G1473C*) существенно отличались от контрольной группы. У пациентов с рецидивирующим течением рожи в 1,5 раза чаще выявлялась минорная аллель *C* с частотой 0,660 по сравнению с больными первичной рожей – 0,444 ($\chi^2=9,74$; $p=0,002$), и в 2,8 раз больше, чем в группе здоровых лиц – 0,239 ($\chi^2=48,76$; $p=0,0001$). Обнаружено, что мажорная аллель *G* значительно превалировала среди здоровых индивидуумов с частотой 0,761, что в 1,3 раза чаще, чем в группе пациентов с первичным заболеванием – 0,556 ($\chi^2=13,39$; $p=0,0003$). Среди больных рецидивирующей рожей частота мажорной аллели составила – 0,340, что в 2,2 раза реже по сравнению с контрольной группой ($\chi^2=48,76$; $p=0,0001$) (табл. 2).

Установлено, что в группах пациентов с первичной и рецидивирующей рожей гетерозиготы *GC* *IL-1 β* (*G1473C*) встречались в 44,4% и 48,0% случаев соответственно. При этом среди больных с рецидивирующим течением в 1,9 раза чаще выявлялись гомозиготы *CC*, и в 3,3 раза реже регистрировались гомозиготы *GG* гена *IL-1 β* (*G1473C*), чем в группе больных первичной рожей ($\chi^2=9,66$; $p=0,008$). Распределение генотипов среди здоровых резидентов оказалось следующим: *GG* – 59,6%, *GC* – 33,0%, *CC* – 7,4% (табл. 2).

Таблица 2.

Встречаемость SNP *IL-1 β* (*G1473C*) у здоровых лиц и больных рожей

Генотипы (%) Аллели (P)	Группы			χ^2 (p)
	Контроль ная группа (n=94)	Больные первичной рожей ₁ (n=54)	Больные рецидивирующей рожей ₂ (n=50)	
<i>GG</i>	59,6%	33,3%	10,0%	11,77 p ₁ =0,003
<i>GC</i>	33,0%	44,4%	48,0%	40,90 p ₂ =0,0009
<i>CC</i>	7,4%	22,3%	42,0%	9,66 p ₃ =0,008
<i>G</i>	0,761	0,556	0,340	13,39 p ₁ =0,0003
<i>C</i>	0,239	0,444	0,660	48,76 p ₂ =0,0001
				9,74 p ₃ =0,002

Примечание: p₁, p₂ – значимость различий по сравнению со здоровыми; p₃ – значимость различий распределения частот генотипов и аллелей групп больных первичной и рецидивирующей рожей.

Исходя из полученных данных о распределении частот, шанс развития рожи возрастает у лиц, несущих минорную аллель *C* (OR=3,93 [CI95%: 2,55-6,06]) ($\chi^2=40,31$; p=0,0002), носителей гетерозигот *GC* (OR=1,81 [CI95%:

1,02-3,22]) и гомозиготного генотипа *CC* (OR=5,78 [CI95%: 2,41-13,84]) промотора гена *IL-1 β* (*G1473C*) ($\chi^2=35,36$; $p=0,0002$). При этом вероятность развития рецидивирующей формы заболевания выше у резидентов, имеющих гомозиготный вариант *CC* (OR=2,53 [CI95%: 1,08-5,95]) ($\chi^2=9,66$; $p=0,008$) (рис. 4).

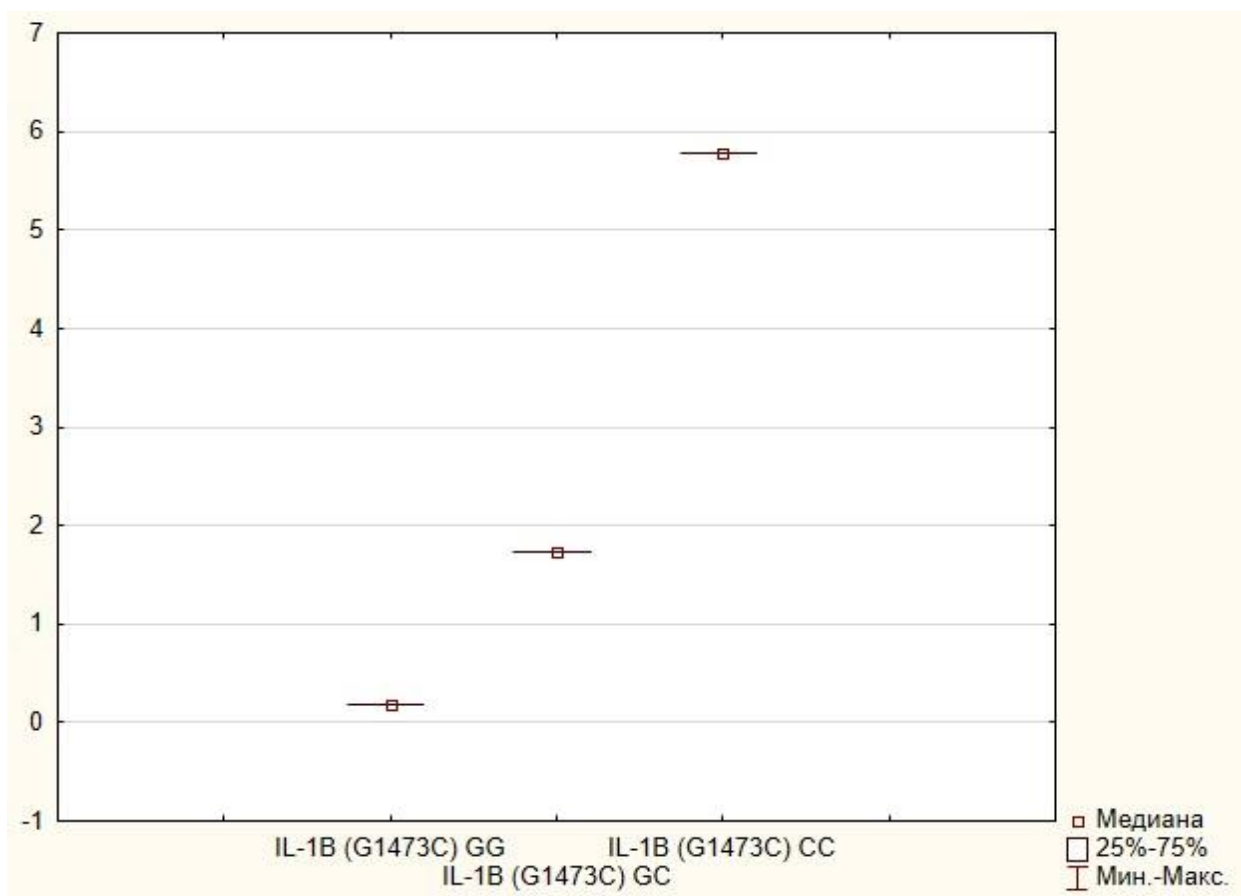


Рисунок 4. Вероятность развития рожи в зависимости от полиморфных вариантов промотора гена *IL-1 β* (*G1473C*).

Исходя из того, что исследуемый SNP *G1473C* гена *IL-1 β* расположен в промоторном регионе, мы выяснили влияние полиморфных вариантов на уровень продукции одноименного цитокина (табл. 4).

Выявлено, что у больных первичной и рецидивирующей розеей вне зависимости от генотипа повышается концентрация провоспалительного *IL-1 β* по сравнению с группой контроля ($p<0,05$). При этом уровень цитокина у носителей разных генотипов различается между собой.

При первичной роже у носителей генотипа *GG* повышается концентрация IL-1 β до 19,05 (17,7-19,4) пкг/мл, что значительно выше, чем в группе здоровых лиц ($p_1=0,006$). У лиц, несущих гетерозиготный вариант *GC*, содержание IL-1 β в крови достигало уровня 18,08 (16,7-19,1) пкг/мл ($p_1=0,003$, $p_2=0,008$) (табл. 4).

Таблица 4.

Содержание IL-1 β в крови больных рожей в зависимости от генотипа полиморфизма гена *IL-1 β (G1473C)*, пкг/мл (Me, Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели	Контрольная группа n=94		Первичная рожа n=54		Рецидивирующая рожа n=50	
	1		2		3	
	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}
<i>GG</i>	0,89	0,49-1,26	19,05	17,7-19,4	19,47	18,9-19,8
			$p_1=0,006$		$p_1=0,004$	
<i>GC</i>	1,10	0,68-1,47	18,08	16,7-19,1	18,41	17,6-19,2
			$p_1=0,003$ $p_2=0,008$		$p_1=0,007$ $p_2=0,009$	
<i>CC</i>	1,30	1,17-1,49	16,23	15,4-17,6	17,61	16,6-18,7
			$p_1=0,003$ $p_2=0,006$ $p^3=0,002$		$p_1=0,004$ $p_2=0,003$ $p_3=0,008$	

Примечание: критерий Краскела-Уоллиса; p_1 – статистическая значимость различий с контрольной группой; p_2 – статистическая значимость различий по сравнению с гомозиготами *GG*; p_3 – статистическая значимость различий по сравнению с гетерозиготами *GC*.

Среди больных рожей – обладателей гомозиготного варианта *CC* полиморфизма *IL-1 β (G1473C)* выявлялась минимальная концентрация IL-1 β . При первичной роже она составляла 16,23 (15,4-17,6) пкг/мл ($p_1=0,003$,

$p_2=0,006$, $p_3=0,002$), а рецидивирующем течении заболевания – 17,61 (16,6-18,7) пкг/мл ($p_1=0,004$, $p_2=0,003$, $p_3=0,008$) (табл. 4, рис. 5).

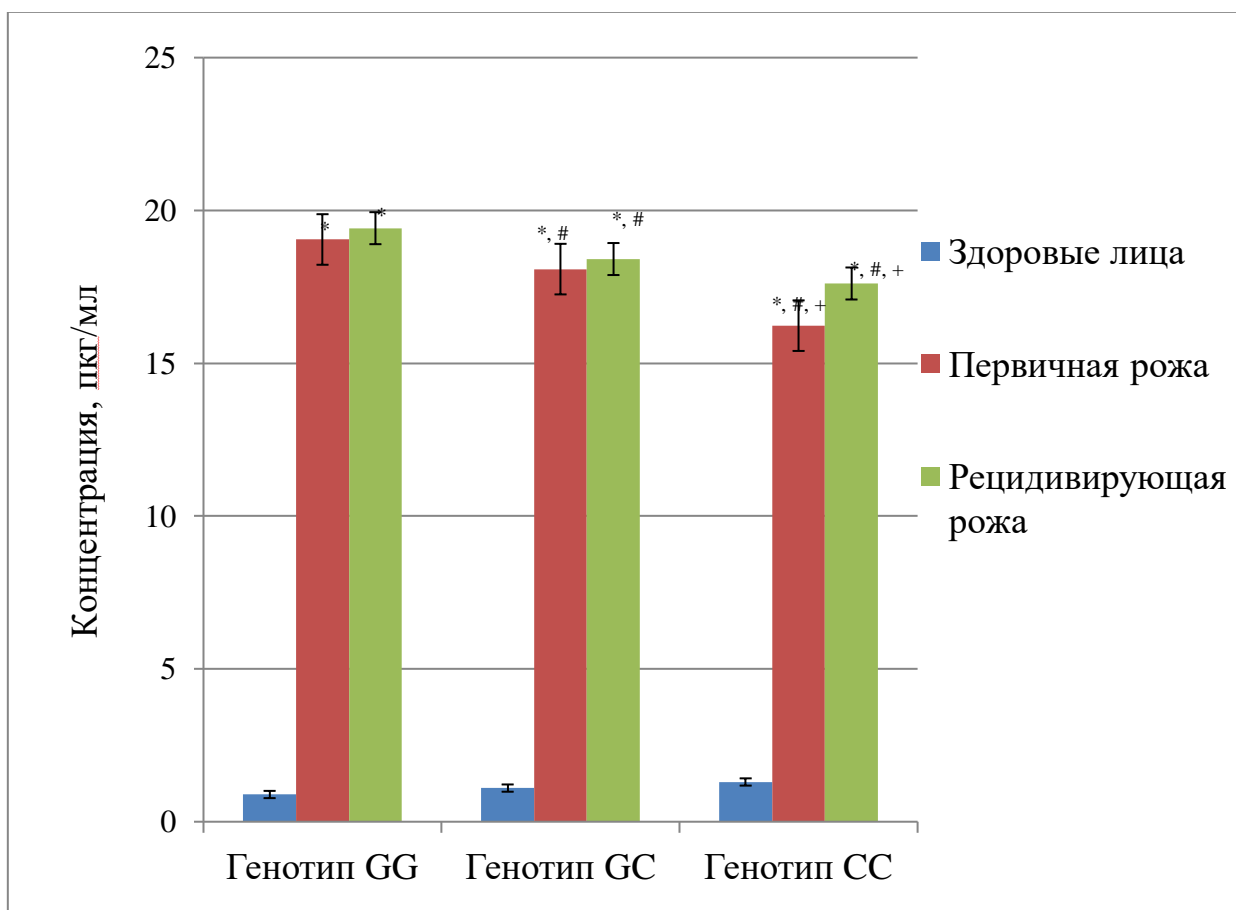


Рисунок 5. Содержание IL-1 β в крови больных рожей в зависимости от полиморфных вариантов гена *IL-1 β* (*G1473C*), пкг/мл (Me, 25-75%).

Примечание: критерий Краскела-Уоллиса; * – статистическая значимость различий с контрольной группой; *, # – статистическая значимость различий по сравнению с гомозиготами *GG*; *, #, + – статистическая значимость различий по сравнению с гетерозиготами *GC*.

Однако при парном сравнении уровня IL-1 β у больных первичной и рецидивирующей рожей в зависимости от генотипа нами не обнаружено статистически значимых различий (критерий Манна-Уитни, $p>0,05$). Полученные данные указывают, что полиморфизм *G1473C* гена *IL-1 β* влияет

на уровень $IL-1\beta$ в крови больных рожей. При этом развитие рецидива заболевания не связано с концентрацией этого цитокина.

Таким образом, аллель *C*, генотипы *GC* и *CC* промотора гена *IL-1\beta* (*G1473C*) предрасполагают к развитию рожи. Гомозиготный вариант *CC* промотора гена *IL-1\beta* (*G1473C*) увеличивает риск развития рецидивирующего течения заболевания. Присутствие *C*-аллели сопровождается уменьшением продукции $IL-1\beta$ у больных рожей при гетерозиготном *GC* и гомозиготном *CC* вариантах носительства полиморфизма гена *IL-1\beta* (*G1473C*).

3.1.3. Полиморфизм промотора гена *TNF\alpha* (*G308A*) и его влияние на содержание фактора некроза опухолей альфа в крови здоровых лиц и больных рожей

Фактор некроза опухоли (ФНО, фактор некроза опухоли-альфа, англ. tumor necrosis factor, $TNF\alpha$) – это провоспалительный цитокин, образующийся моноцитами и макрофагами в ответ на повреждение ткани. Вызывает некроз, апоптоз и пролиферацию клеток [183]. Основной функцией является регуляция деятельности иммунокомпетентных клеток в процессе воспаления.

Исходя из вышесказанного, мы изучили частоты полиморфных аллелей и генотипов промотора гена *TNF\alpha* (*G308A*), а также их влияние на содержание кодируемого цитокина в крови больных рожей при первичном и рецидивирующем течении и здоровых лиц.

В результате проведенного генетического анализа среди больных рожей и здоровых резидентов обнаружено, что распределение частот аллелей и генотипов исследуемого полиморфизма *TNF\alpha* (*G308A*) соответствует эквилибриуму Харди-Вайнберга ($p > 0,05$).

Выявлено, что среди больных рожей встречаемость полиморфных вариантов исследуемого гена существенно отличалась от группы контроля.

Таблица 5.

Встречаемость SNP *TNF α* (*G308A*) у здоровых лиц и больных рожей

Генотипы (%) Аллели (P)	Контрольная группа n=94	Больные рожей n=104	χ^2 (p)
<i>GG</i>	67,0%	88,7%	13,03 p=0,001
<i>GA</i>	33,0%	11,3%	
<i>AA</i>	0%	0%	
<i>G</i>	0,835	0,943	11,42 p=0,0007
<i>A</i>	0,165	0,057	

В группе пациентов в 1,1 раза чаще встречалась мажорная аллель *G* с частотой 0,943, и в 2,9 раза реже минорная аллель *A* – с частотой 0,057, чем в группе здоровых лиц ($\chi^2=11,42$; $p=0,0007$). У пациентов с рожей гомозиготный генотип *GG* встречался в 88,7%, гетерозиготные варианты *GA* – в 11,3% ($\chi^2=13,03$; $p=0,001$). Распределение генотипов среди здоровых резидентов оказалось следующим: *GG* – 67,0%, *GA* – 33,0% ($\chi^2=13,03$; $p=0,001$). При этом в исследуемых группах не выявлено случаев носительства генотипов *AA* гена *TNF α* (табл. 5).

Исходя из полученных данных о распределении частот, шанс развития рожи у носителей генотипа *GG* гена *TNF α* (*G308A*) равен 3,85 [CI95%: 1,80-8,23], у обладателей генотипа *GA* гена *TNF α* – 0,26 [CI95%: 0,12-0,56] ($p=0,001$). Вероятность развития заболевания для лиц, имеющих мажорную аллель *G*, составляет 3,28 [CI95%: 1,60-6,75], для резидентов, несущих минорную аллель *A* – 0,30 [CI95%: 0,15-0,63] ($p=0,0007$) (рис. 6).

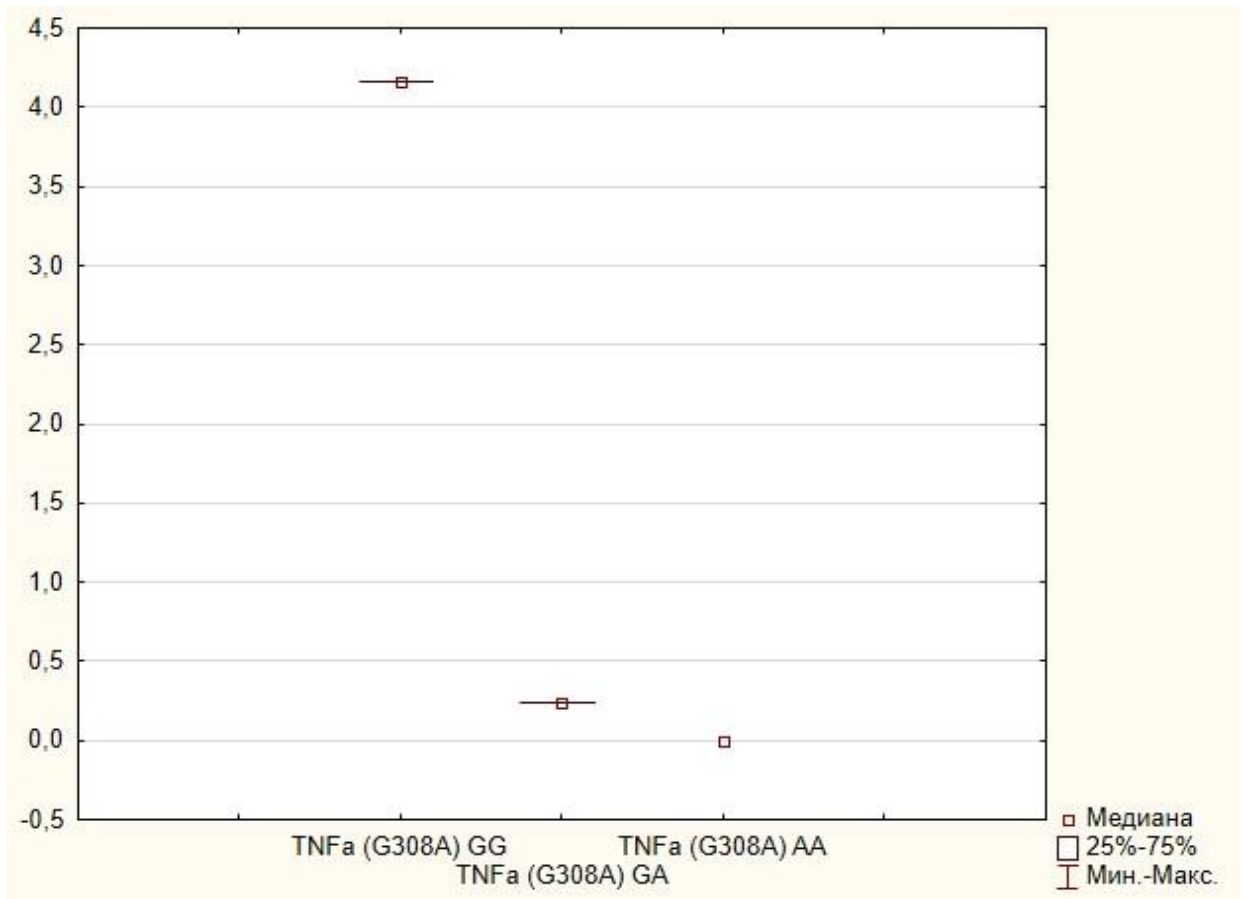


Рисунок 6. Вероятность развития рожи в зависимости от полиморфных вариантов промотора гена *TNFα* (G308A).

Анализируя распределение аллелей и генотипов в группах пациентов с различной кратностью течения рожи, было установлено, что полученные результаты в группе с рецидивирующим процессом достоверно не отличаются от группы с первичной формой ($p > 0,05$) (табл. 6).

Таким образом, полиморфизм промоторного региона *G308A* гена *TNFα* влияет на возникновение рожи, но не является прогностически значимым фактором развития рецидивов заболевания.

Исходя из того, что исследуемый локус *G308A* гена *TNFα* локализован в промоторном участке, мы выяснили влияние данного полиморфизма на уровень продукции одноименного цитокина (табл. 7).

Таблица 6.

**Встречаемость SNP *TNF α* (G308A) у здоровых лиц и больных с
первичной и рецидивирующей формами рожи**

Генотипы (%)	Контроль ная группа n=94	Первичная рожа ¹ n=54	Рецидиви рующая рожа ² n=50	χ^2 (p) ₁	χ^2 (p) ₂	χ^2 (p) ₃
Аллели (P)						
<i>GG</i>	67,0%	87,0%	78,0%	<i>6,14</i> <i>p=0,01</i>	1,90 p=0,39	1,48 p=0,48
<i>GA</i>	33,0%	13,0%	22,0%			
<i>AA</i>	0%	0%	0%			
<i>G</i>	0,835	0,935	0,890	<i>7,20</i> <i>p=0,03</i>	1,58 p=0,21	1,34 p=0,25
<i>A</i>	0,165	0,065	0,110			

Примечание: p₁, p₂ – значимость различий по сравнению с контрольной группой; p₃ – значимость различий распределения частот генотипов и аллелей групп больных первичной и рецидивирующей рожей. Курсивом отмечены достоверные различия.

Обнаружено, что у пациентов с различной кратностью процесса вне зависимости от генотипа увеличивается концентрация цитокина *TNF α* по сравнению со здоровыми донорами (p<0,05). Одновременно с этим его уровень у больных-носителей разных генотипов различается между собой.

При первичной и рецидивирующей роже у обладателей генотипа *GG* повышается концентрация *TNF α* до 23,4 (21,3–25,5) пкг/мл (p₁=0,002) и 27,2 (24,9–29,0) пкг/мл (p₁=0,004) соответственно, что значительно выше по сравнению с группой контроля при отсутствии антигенного воздействия. Содержание *TNF α* у резидентов-носителей гетерозигот *GA* при первичной роже достигало уровня 26,7 (24,2–27,6) пкг/мл (p₁=0,005, p₂=0,008), при рецидивирующей форме – 28,4 (25,5–31,4) пкг/мл (p₁=0,003, p₂=0,006) (табл. 7, рис. 7).

Таблица 7.

Содержание TNF α в крови больных рожей в зависимости полиморфных вариантов гена TNF α (G308A), пкг/мл (Me, Q_{0,25}-Q_{0,75})

Генотипы	Контрольная группа n=94		Первичная рожа n=54		Рецидивирующая рожа n=50	
	1		2		3	
	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}
GG	0,64	0,48-0,94	23,4	21,3-25,5	27,2	24,9-29,9
			p ₁ =0,002		p ₁ =0,004	
GA	0,52	0,34-0,82	26,7	24,2-27,6	28,4	25,5-31,4
			p ₁ =0,005 p ₂ =0,008		p ₁ =0,003 p ₂ =0,006	
AA	0	0	0	0	0	0

Примечание: критерий Краскела-Уоллиса; p₁ – статистическая значимость различий с контрольной группой; p₂ – статистическая значимость различий по сравнению с гомозиготами GG.

При парном сравнении уровня TNF α у больных первичной и рецидивирующей рожей в зависимости от полиморфных вариантов статистически значимых различий обнаружено не было (критерий Манна-Уитни, p>0,05).

Таким образом, полученные данные указывают, что полиморфизм G308A гена TNF α влияет на уровень TNF α в крови больных рожей. Однако изменение концентрации исследуемого цитокина не является прогностическим фактором развития рецидива заболевания, равно как и полиморфизм гена TNF α в регионе G308A.

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что уровень TNF α при наличии аллели G полиморфизма G308A гена TNF α

заметно уменьшается независимо от кратности возникновения патологического процесса.

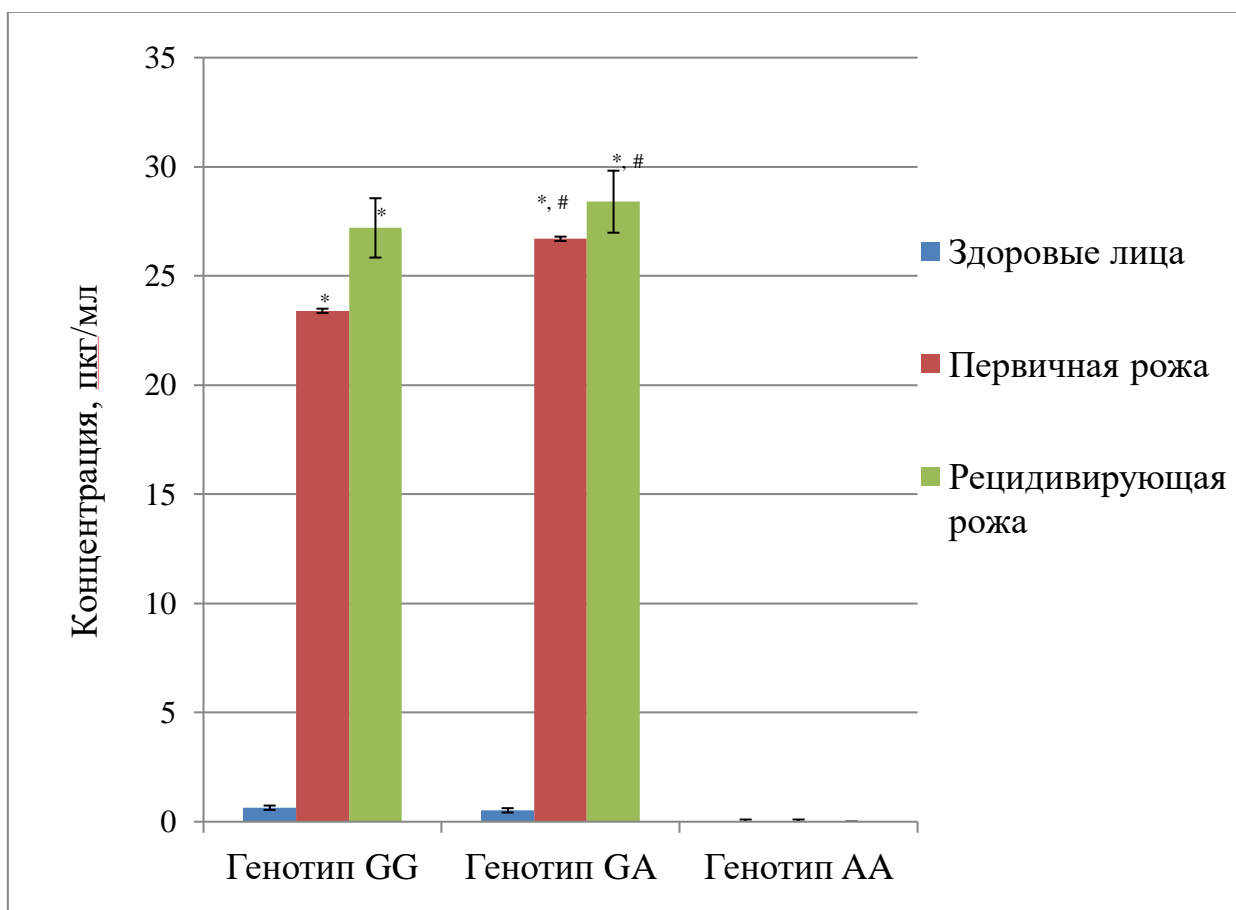


Рисунок 7. Содержание TNFα в крови больных розеями в зависимости от полиморфных вариантов промотора гена *TNFα* (*G308A*), пкг/мл (Me, 25-75%).

Примечание: критерий Краскела-Уоллиса; * – статистическая значимость различий с контрольной группой; *, # – статистическая значимость различий по сравнению с гомозиготами *GG*;

При этом отсутствие точечной замены в участке *G308A* гена *TNFα* оказывает влияние на концентрацию одноименного цитокина, вызывая у носителей немутантного варианта *GG* снижение его концентрации, что в свою очередь может не обеспечивать достаточную реализацию саногенных механизмов защиты.

Таким образом, полученные результаты позволяют заключить, что аллель *G* и генотип *GG* промотора гена *TNF α G308A* предрасполагают к развитию рожи. Носительство аллели *A* и генотип *GA* промотора гена фактора некроза опухолей α *G308A* снижают вероятность развития рожи. Присутствие *G*-аллели сопровождается уменьшением продукции *TNF α* у больных рожей при гомозиготном *GG* варианте носительства полиморфизма гена *TNF α G308A*.

3.2. Исследование полиморфизма сигнальных молекул *CD14* (*C159T*), *TLR4* (*Asp299Gly*) и *TLR4* (*Thr399Ile*) у здоровых лиц и больных рожей

Известно, что молекула *CD14* является одним из ключевых рецепторов, распознающих бактериальный ЛПС [30]. В связи с этим вполне вероятно то, что изменение промоторной активности *CD14*, вызванное мутацией *C159T*, может приводить к тем или иным иммунологическим нарушениям и оказывать значительное влияние на патогенез воспалительного ответа.

Исследование носительства полиморфного маркера *CD14 C159T* проведено у 104 пациентов и 94 резидентов контрольной группы. Распределение частот аллелей и генотипов тестируемых групп значительно отличалось (табл. 8).

В группе пациентов в 1,3 раза реже встречалась аллель *C* с частотой 0,787, и в 1,8 раза чаще аллель *T* – с частотой 0,213, чем в группе здоровых лиц ($\chi^2=12,42$; $p=0,0004$).

Распределение генотипов среди здоровых резидентов оказалось следующим: *CC* – 62,8%, *CT* – 31,9%, *TT* – 5,3% ($\chi^2=11,92$; $p=0,003$). Среди пациентов с рожей превалировал гетерозиготный генотип *C/T* (46,2%), и реже всего регистрировался генотип *TT* – 14,4% ($\chi^2=11,92$; $p=0,003$) (табл. 8).

Таблица 8.

Встречаемость SNP *CD14* (*C159T*) у здоровых лиц и больных рожей

Генотипы (%) Аллели (P)	Больные рожей n=104	Контрольная группа n=94	χ^2 (p)
<i>CC</i>	39,4%	62,8%	11,92 p=0,003
<i>CT</i>	46,2%	31,9%	
<i>TT</i>	14,4%	5,3%	
<i>C</i>	0,625	0,787	12,42 p=0,0004
<i>T</i>	0,375	0,213	

При изучении влияния полиморфизма гена *CD14* (*C159T*) на кратность возникновения и тяжесть течения процесса выявлены отличия в распределении частот аллелей и генотипов по сравнению с группой контроля. Однако достоверных отличий между группами пациентов не отмечено ($p > 0,05$).

Полученные данные показывают, что шанс развития рожи у носителей мажорной аллели *C* равен 0,45 [CI95%: 0,29-0,71], тогда как у пациентов, несущих минорную аллель *T* – 2,22 [CI95%: 1,42-3,48] (рис. 8).

Вероятность развития заболевания у лиц-носителей гомозигот *CC* составляет 0,39 [CI95%: 0,22-0,69], для обладателей гетерозиготного варианта *CT* она равна 1,83 [CI95%: 1,02-3,27]. Максимально подвержены развитию данной патологии резиденты с выявленным гомозиготным генотипом *TT* [OR=3,33; CI95%: 1,05-8,61] (рис. 8).

Мы сосредоточили свое внимание на полиморфизме молекул начального звена иммунного ответа – рецепторах макрофагов, распознающих бактериальные антигены.

Считается, что *CD14* взаимодействует с *TLR4* в сигнализации LPS [30, 31], а MD-2 ассоциируется с внеклеточным доменом *TLR4* и усиливает вызванную LPS клеточную активацию [106].

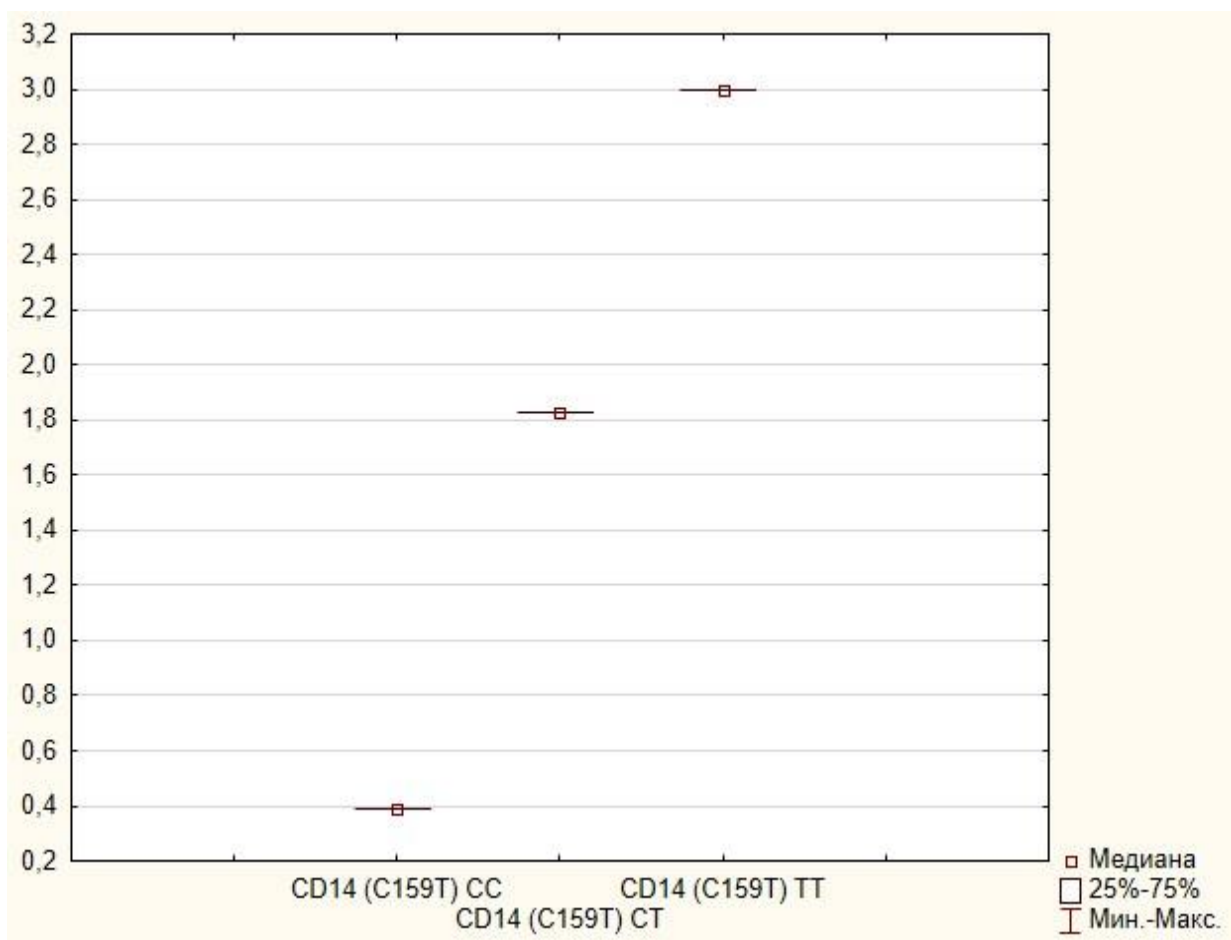


Рисунок 8. Вероятность развития рожи в зависимости от генотипов промотора гена *CD14 (C159T)*.

Исходя из этого, мы изучили распределение полиморфных вариантов гена *TLR4* в участках *Asp299Gly* и *Thr399Ile* среди здоровых лиц и больных рожей.

Выявлено, что в группе больных рожей встречаемость полиморфных вариантов *TLR4 (Asp299Gly)* существенно отличались от контрольной группы. У них в 5,5 раза реже выявлялась минорная аллель *-299Gly* с частотой 0,053, тогда как среди здоровых она составила 0,293 ($\chi^2=40,84$; $p<0,001$). У пациентов значительно превалировала мажорная аллель *-299Asp* с частотой 0,947, тогда как в группе здоровых ее встречаемость оказалась 0,707 ($\chi^2=40,84$; $p<0,001$). При этом среди группы больных рожей преобладал гомозиготный генотип *TLR4 (299Asp/Asp)* (89,4%) и не обнаруживались носители гомозиготного варианта *TLR4 (299Gly/Gly)* (табл. 9).

Таблица 9.

Встречаемость SNP *TLR4* (*Asp299Gly*) и *TLR4* (*Thr399Ile*) у здоровых лиц и больных рожей

SNP	Группа	Аллель	Частота аллеля, P	χ^2 ; p	Генотип	Частота генотипа, %	χ^2 ; p
<i>TLR4</i> (<i>Asp299Gly</i>)	Больные рожей (n=104)	-299 <i>Asp</i>	0,947	40,84 p<0,001	<i>Asp299Asp</i>	89,4	41,26 p<0,001
		-299 <i>Gly</i>	0,053		<i>Asp299Gly</i>	10,6	
	Контрольная группа (n=94)	-299 <i>Asp</i>	0,707		<i>Gly299Gly</i>	0	
		-299 <i>Gly</i>	0,293		<i>Asp299Asp</i>	47,9	
					<i>Asp299Gly</i>	45,7	
					<i>Gly299Gly</i>	6,4	
<i>TLR4</i> (<i>Thr399Ile</i>)	Больные рожей (n=104)	-399 <i>Thr</i>	0,957	39,93 p<0,001	<i>Thr399Thr</i>	91,3	42,06 p<0,001
		-399 <i>Ile</i>	0,043		<i>Thr399Ile</i>	8,7	
	Контрольная группа (n=94)	-399 <i>Thr</i>	0,729		<i>Ile399Ile</i>	0	
		-399 <i>Ile</i>	0,271		<i>Thr399Thr</i>	50	
					<i>Thr399Ile</i>	45,7	
					<i>Ile399Ile</i>	4,3	

Носительство SNP *TLR4* (*Thr399Ile*) у пациентов рожей и здоровых лиц оказалось различным. В группе больных превалировала мажорная аллель - *399Thr* с частотой 0,957, а минорная аллель - *399Ile* – с частотой 0,043, что в 6,3 раза реже, чем в контрольной группе ($\chi^2=39,93$; $p<0,001$). Соответственно этому распределение генотипов у больных рожей также значительно отличалось от здоровых лиц. Установлено, что у пациентов гомозиготы *TLR4* (*Thr399Thr*) встречались в 91,3% случаев, в остальных – гетерозиготы *TLR4* (*Thr399Ile*) ($\chi^2=42,06$; $p<0,001$). В контрольной группе выявлялись все возможные генотипы, подчиняемые закону Харди-Вайнберга (табл. 9).

Исходя из полученных данных о распределении частот, шанс развития рожи у носителей генотипа *TLR4* (*Asp299Asp*) равен 9,21 [CI95%: 4,37-19,38], у обладателей генотипа *TLR4* (*Asp299Gly*) – 0,14 [CI95%: 0,07-0,30] (рис. 9).

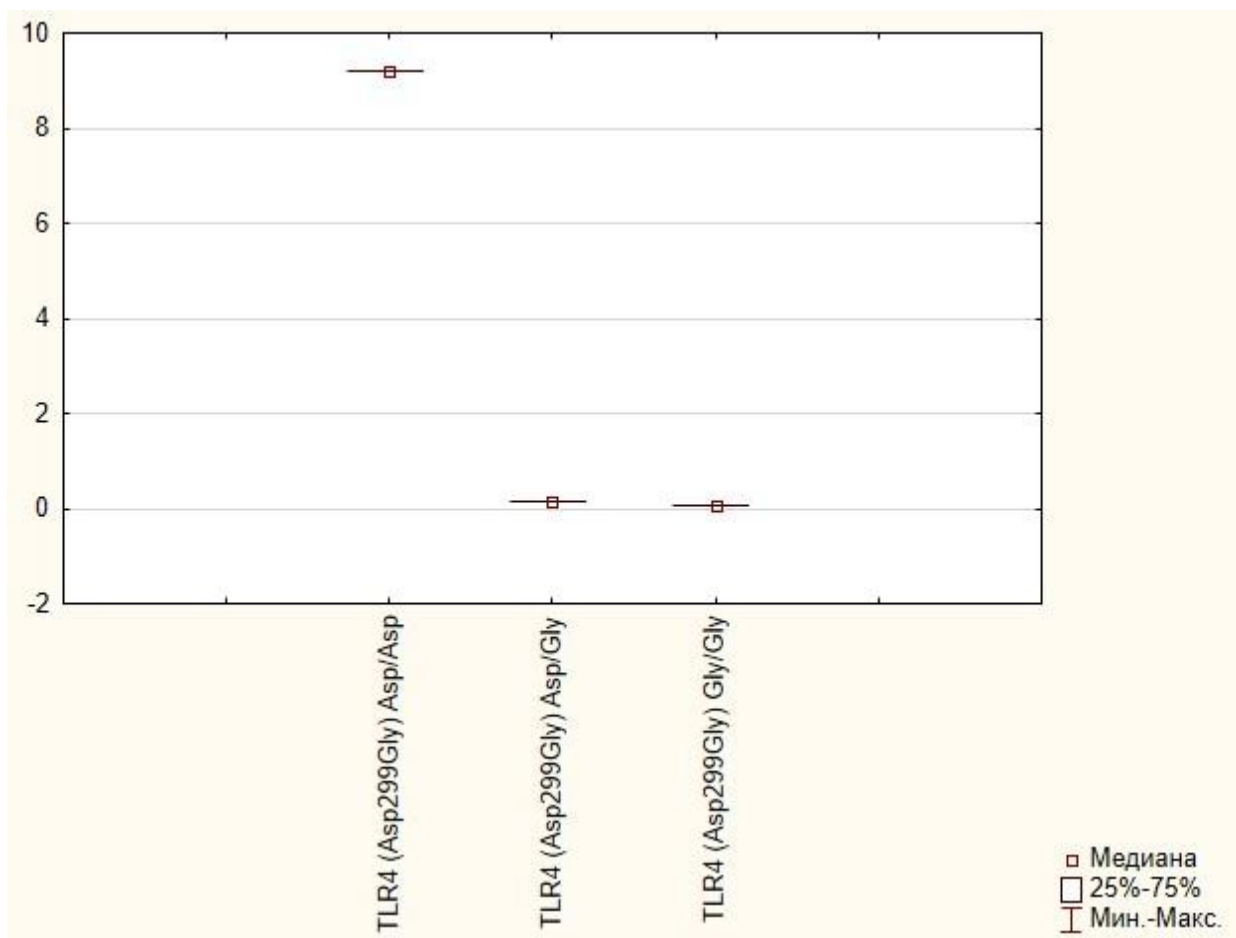


Рисунок 9. Вероятность развития рожи в зависимости от полиморфных вариантов гена *TLR4* (*Asp299Gly*).

Вероятность развития заболевания для лиц, имеющих мажорную аллель, составляет 7,41 [CI95%: 3,74-14,67], для резидентов, несущих мутантную аллель – 0,14 [CI95%: 0,07-0,27].

В точке SNP *TLR4* (*Thr399Ile*) шанс развития заболевания у носителей генотипа *Thr399Thr* равен 10,56 [CI95%: 4,77-23,36], для носителей генотипа *Thr399Ile* – 0,11 [CI95%: 0,05-0,25]; для резидентов, несущих мажорную аллель *-399Thr* – 8,23 [CI95%: 3,92-17,27], с мутантной аллелью *-399Ile* – 0,12 [CI95%: 0,06-0,25] (рис. 10).

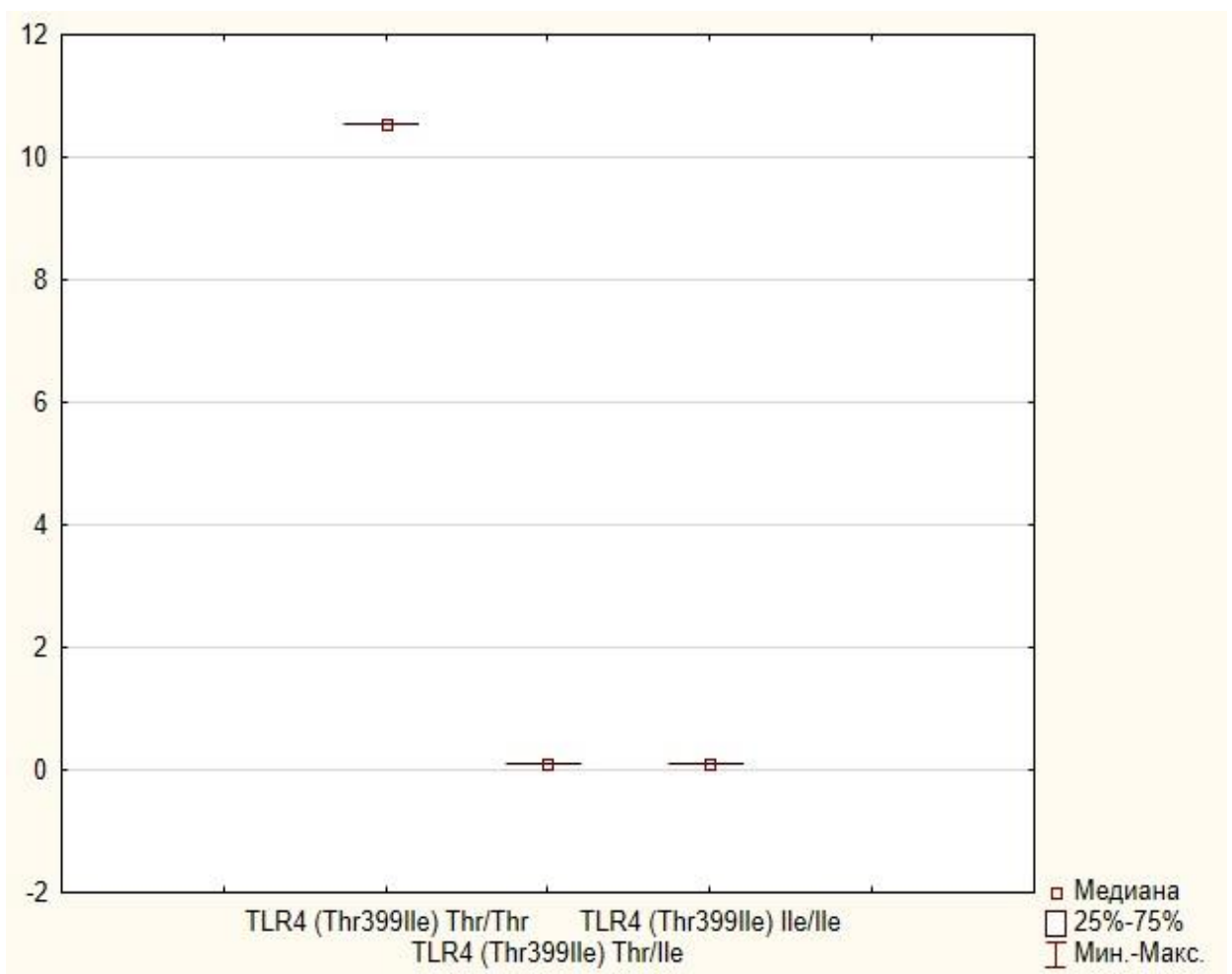


Рисунок 10. Вероятность развития рожи в зависимости от полиморфных вариантов гена *TLR4* (*Thr399Ile*).

Таким образом, аллель *T*, генотипы *C/T* и *T/T* гена *CD14* (*C159T*), аллель *-299Asp*, генотип *AspAsp* гена *TLR4* (*Asp299Gly*), аллель *-399Thr*,

генотип *ThrThr* гена *TLR4* (*Thr399Ile*) увеличивают шанс возникновения рожи.

3.3. Исследование тканевого фактора у больных рожей

3.3.1. Полиморфизм гена *TF* (*A603G*, *C1322T*, *C1812T*, *G1442C*)

Мы изучили полиморфизм *TF* (*A603G*, *C1322T*, *C1812T*, *G1442C*) и его влияние на экспрессию тканевого фактора моноцитами периферической крови больных рожей и здоровых лиц (табл. 11).

Таблица 10.

Встречаемость SNP *TF* (*A603G*, *C1322T*, *C1812T*, *G1442C*) у больных рожей и здоровых лиц

Генотипы (%) Аллели (P)	Больные рожей n=104	Контрольная группа n=94	χ^2 (p)
<i>TF A603G</i>			
<i>A</i>	0,553	0,574	0,19 p>0,05
<i>G</i>	0,447	0,426	
<i>AA</i>	30,8%	31,9%	0,33 p>0,05
<i>AG</i>	49,0%	51,1%	
<i>GG</i>	20,2%	17,0%	
<i>TF C1322T</i>			
<i>C</i>	0,553	0,574	0,19 p>0,05
<i>T</i>	0,447	0,426	
<i>CC</i>	30,8%	31,9%	0,33 p>0,05
<i>CT</i>	49,0%	51,1%	
<i>TT</i>	20,2%	17,0%	
<i>TF C1812T</i>			
<i>C</i>	0,553	0,574	0,19 p>0,05
<i>T</i>	0,447	0,426	
<i>CC</i>	30,8%	31,9%	0,33 p>0,05
<i>CT</i>	49,0%	51,1%	
<i>TT</i>	20,2%	17,0%	

Продолжение таблицы 10.

<i>TF G1442C</i>			
<i>G</i>	0,986	0,995	0,82 p>0,05
<i>C</i>	0,014	0,005	
<i>GG</i>	97,1%	98,9%	0,83 p>0,05
<i>GC</i>	2,9%	1,1%	
<i>CC</i>	0	0	

Выявлено, что распространенность полиморфных вариантов *TF* (*A603G*, *C1322T*, *C1812T*, *G1442C*) у пациентов с рожей достоверно не отличалась от таковой среди обследованных лиц группы контроля ($p>0,05$) (табл. 10). Стоит отметить, что из них три однонуклеотидных мутации *A603G*, *C1322T*, *C1812T* оказались полностью конкордантны. Распределение генотипов соответствовало соотношению Харди-Вайнберга ($p>0,05$).

Таким образом, полиморфизм гена *TF* не ассоциирован с развитием рожи.

3.3.2. Исследование экспрессии тканевого фактора у здоровых лиц и больных рожей

Нами проводилось исследование экспрессии тканевого фактора моноцитами периферической крови.

Оценивалось время коагуляции рекальцифицированной цельной крови после 4-х часовой инкубации в присутствии бактериального липополисахарида. Контролем служила нестимулированная культура крови. По разности времени коагуляции стимулированной и нестимулированной крови судили о степени экспрессии тканевого фактора.

Установлено, что в группе контроля наблюдается выраженная разница между стимулированными бактериальным ЛПС и нестимулированными образцами крови (табл. 11).

Таблица 11.

Время коагуляции активированной бактериальным ЛПС и неактивированной крови больных рожей и здоровых лиц (M±SD)

Наблюдаемые группы	Время коагуляции крови		Сокращение времени коагуляции, %
	реактивированной, с	активированной ЛПС, с	
Контрольная группа (n=94)	169,5±10,1	94,8±1,2	44,1±2,6
Больные рожей (n=104)	102,6±9,9 p<0,001	92,6±1,4 p>0,05	10,4±1,8 p<0,001

Примечание: p – достоверность различий времени коагуляции по сравнению со здоровыми.

У пациентов с рожей эта разница значительно уменьшилась до 10,4±1,8% (p<0,001), что указывает на высокую экспрессию тканевого фактора (табл. 11).

Нами предпринята попытка оценить экспрессию тканевого фактора у больных в зависимости от характера местных проявлений и степени тяжести.

Установлено, что у пациентов с эритематозной формой рожи эта разница сократилась до 17,9±2,3%, с эритематозно-буллезной – до 9,4±1,8% (p<0,001), с буллезно-геморрагической – 5,8±1,6%, что также свидетельствует о высокой экспрессии тканевого фактора с ее усилением при более тяжелых формах (табл. 12).

Таблица 12.

**Время коагуляции активированной и неактивированной
бактериальным ЛПС крови здоровых лиц и больных различными
формами рожи (M±SD)**

Группы	Время коагуляции крови		Сокращение времени коагуляции, %
	реактивированной, с	активированной ЛПС, с	
Контрольная группа (n=94)	169,5±10,1	94,8±1,2	44,1±2,6
Эритематозная форма (n=65)	115,3±7,6 p<0,001	94,5±4,1 p>0,05	17,9±2,3 p<0,001
Эритематозно- буллезная форма (n=25)	102,9±13,1 p<0,001	92,8±3,8 p>0,05	9,4±1,8 p<0,001
Буллезно- геморрагическая форма (n=14)	98,8±9,7 p<0,001	91,9±3,9 p>0,05	5,8±1,6 p<0,001

Мы изучили взаимосвязь между временем коагуляции и содержанием IL-1 β и TNF α , поскольку основными индукторами экспрессии тканевого фактора являются провоспалительные цитокины (табл. 13, 14).

Таблица 13.

Взаимосвязь сокращения времени коагуляции и концентрации IL-1 β

Ранговая корреляция Спирмена (R)	
Переменные	Концентрация IL-1 β
Сокращение времени коагуляции, %	$r = -0,73$ $p < 0,05$

Примечание: связь слабая от 0 до 0,3; средняя – 0,3-0,7; сильная – 0,7-1; р – уровень значимости; «-» – наличие обратной связи, «+» – наличие прямой связи между переменными.

Таблица 14.

Взаимосвязь сокращения времени коагуляции и концентрации TNF α

Ранговая корреляция Спирмена (R)	
Переменные	Концентрация TNF α
Сокращение времени коагуляции, %	$r = -0,79$ $p < 0,05$

Примечание: связь слабая от 0 до 0,3; средняя – 0,3-0,7; сильная – 0,7-1; р – уровень значимости; «-» – наличие обратной связи, «+» – наличие прямой связи между переменными.

Выявлено, что при повышении содержания IL-1 β и TNF α происходит сокращение времени коагуляции крови больных рожей (о чем

свидетельствует сильная отрицательная корреляционная связь) (табл. 13, 14). Поскольку сокращение времени коагуляции крови указывает на высокую экспрессию тканевого фактора, индуцированную увеличением содержания изучаемых провоспалительных цитокинов, не ассоциированную с генетическим полиморфизмом одноименной молекулы, то справедливо сделать следующий вывод.

Экспрессия тканевого фактора при роже зависит не от полиморфизма генов, кодирующих его, а от концентрации провоспалительных цитокинов $IL-1\beta$ и $TNF\alpha$. Это обуславливает вторичный характер гиперкоагуляции при роже.

3.3. Регрессионная многофакторная модель влияния SNP полиморфизмов на экспрессию тканевого фактора и их значение в развитии рожи

Характерным признаком современного течения рожи является медленная репарация тканей в очаге воспаления, увеличение количества тяжелых форм болезни, осложненное течение с ярко выраженным интоксикационным синдромом, развитие рецидивов [40, 41, 48, 96, 129, 151]. Значительные успехи достигнуты в изучении отдельных патогенетических механизмов развития рожи: показателей рН кожи, перекисного окисления липидов и состояния антиоксидантной системы [4]. Была сделана попытка прогнозирования рецидивов заболевания по показателям ПОЛ [4, 18, 19]. На сегодняшний день четко обозначены показания медикаментозного и немедикаментозного лечения рожи [4].

Поэтому особый интерес представляет поиск персонифицированных критериев выявления значимых факторов развития рожи, а также ее осложнений.

Регрессионная модель включала данные о распределении генотипов полиморфных маркеров генов $TNF\alpha$ (*G308A*), $IL-1\beta$ (*T31C*), $IL-1\beta$ (*T511C*), $IL-$

1β (C3953T), IL-1β (G1473C), CD14 (C159T), TF (A603G), TF (C1322T), TF (C1812T), TF (G1442C), TLR4 (Asp299Gly), TLR4 (Thr399Ile).

Иммунологический и коагулогический компоненты в регрессионной модели представлены такими параметрами иммунной системы, как содержание TNFα, IL-1β в плазме крови, а также данные об экспрессии тканевого фактора моноцитами периферической крови.

Результаты многофакторной регрессии показали, что определение гомозиготной мутации *-1473C/C* гена *IL-1β (G1473C)* демонстрирует высокую связь с развитием рожи (шаг 1). Точность предсказания повышалась при добавлении генотипа *-3953C/C* гена *IL-1β* (шаг 2), генотипа *-299Asp/Asp* гена *TLR4* (шаг 3), содержания TNFα (шаг 4), экспрессии тканевого фактора (шаг 5). При добавлении других дополнительных показателей нарастания значимой прогностической мощности не отмечалось (табл. 15).

Значение множественного коэффициента корреляции – 0,839, что отражает значительную линейную зависимость между факторами влияния и откликом; коэффициент детерминации (R-квадрат) – 0,704, что демонстрирует высокую степень соответствия регрессионной модели эмпирическим данным; уровень значимости регрессионной модели – меньше 0,000001, что подтверждает ее высокую достоверность и чувствительность [83].

Таким образом, высокую прогностическую ценность имеет выявление генотипов *-1473C/C* гена *IL-1β*, *-3953C/C* гена *IL-1β*, *-299Asp/Asp* гена *TLR4*, содержания TNFα и экспрессии тканевого фактора у больных рожей. Эти сведения могут способствовать раннему выявлению рожи, а также прогнозированию осложнений этого патологического процесса.

Таблица 15.

**Прогностическое значение показателей в многофакторной модели
развития рожи**

N=198	β	Std. Err. of β	B	Std. Err. B	p
Св. член			2,303245	0,166970	0,000000
-1473C/C гена <i>IL-1β</i>	0,414892	0,041675	0,269652	0,027755	0,0001
-3953C/C гена <i>IL-1β</i>	-0,292665	0,041219	-0,176079	0,031194	0,0003
-299Asp/Asp гена <i>TLR4</i>	-0,467545	0,043634	-0,439013	0,040971	0,0005
Концентрация TNF α	0,318041	0,044888	-0,300683	0,045286	0,007
Экспрессия тканевого фактора	0,394324	0,044319	0,205359	0,030922	0,004

Примечание: n – количество наблюдений; β – регрессионный коэффициент; Std. Err. of β – стандартная ошибка β ; B – свободный член; Std. Err. B – стандартная ошибка B; p – уровень статистической значимости.

**3.4. Модель индивидуального прогнозирования развития рожи у
клинически здоровых лиц на основе анализа полиморфизма генов *TNF α*
(*G308A*), *IL-1 β* (*T31C*), *IL-1 β* (*T511C*), *IL-1 β* (*C3953T*), *IL-1 β* (*G1473C*), *CD14*
(*C159T*), *TF* (*A603G*), *TF* (*C1322T*), *TF* (*C1812T*), *TF* (*G1442C*), *TLR4*
(*Asp299Gly*), *TLR4* (*Thr399Ile*)**

Выявление ассоциации сочетания генетических вариантов, связанных с развитием рожи, проводят методом MDR (Multifactor Dimensionality Reduction или многофакторное уменьшение размерности). Метод MDR

рассматривается как непараметрическая альтернатива традиционным статистическим методам, таким как логистическая регрессия, и применяется для выявления взаимодействий между дискретными переменными, влияющих на двоичный результат [84, 132]. Моделирование генетических взаимодействий высокого порядка позволяет оценить вклад каждого из исследуемых генотипов, учитывая как усиливающие, так и снижающие влияния отдельных факторов на предрасположенность/устойчивость к возникновению того или иного события [84, 132]. Величина энтропии H (величина информации, снятой неопределенности в терминах теории информации), выражается в %, где 100% – генотип однозначно определяет, к какому классу (больных или здоровых) относится индивид, соответственно 0% – генотип не играет никакой роли в предрасположенности к заболеванию, оценивает вклад каждого гена и/или их взаимодействия. Путем многократного перекрестного пересчета вводимых первичных данных в MDR выбирают оптимальную модель ген-генного взаимодействия, позволяющую с высокой точностью предсказать человеку наличие или отсутствие предрасположенности к определенному заболеванию. Для каждой из этих моделей определяют сбалансированную точность (Balanced Accuracy, Bal. Acc.), исходя из специфичности (Specificity, Sp) и чувствительности (Sensitivity, Se), отражающую не только возможность предсказания того или иного события (в частности, наличия или отсутствия заболевания), но и вероятность (точность) развития данного события [172]. Для оценки вероятности развития события рассчитывают показатель отношения шансов (odds ratio – OR) с расчетом для него 95% доверительного интервала (CI). Статистически значимыми считают различия при $p < 0,05$.

В анализе ассоциаций выявлены лучшие модели комбинаций генотипов для изучаемых SNP со значимыми показателями отношения шансов по критерию χ^2 при тестировании ($p < 0,05$). Модель с максимальной сбалансированной точностью (Bal. Acc.=89%), чувствительностью (Se=84%), специфичностью (Sp=93%), воспроизводимостью результата 10/10 –

комбинация полиморфных вариантов генов *IL-1 β* (*G1473C*), *CD14* (*C159T*), *TLR4* (*Asp299Gly*) ($\chi^2=12,11$, $p=0,0005$, $OR=38,7$), увеличивающая риск развития рожи, в среднем, в 38,7 раза (табл. 16).

Таблица 16.

Лучшие модели Multifactor Dimensionality Reduction для прогнозирования рожи

Модель	Баланс точности кросс-валидации подготовки	Баланс точности кросс-валидации тестирования	Взаимосогласованность кросс-валидации
<i>IL-1β</i> (<i>G1473C</i>), <i>CD14</i> (<i>C159T</i>), <i>TLR4</i> (<i>Asp299Gly</i>)	0,9082	0,8912	10/10
<i>IL-1β</i> (<i>T31C</i>), <i>IL-1β</i> (<i>T511C</i>), <i>IL-1β</i> (<i>C3953T</i>), <i>IL-1β</i> (<i>G1473C</i>), <i>CD14</i> (<i>C159T</i>), <i>TF</i> (<i>A603G</i>), <i>TF</i> (<i>C1322T</i>), <i>TF</i> (<i>C1812T</i>), <i>TF</i> (<i>G1442C</i>), <i>TNFα</i> (<i>G308A</i>), <i>TLR4</i> (<i>Asp299Gly</i>), <i>TLR4</i> (<i>Thr399Ile</i>)	0,9957	0,8729	10/10

Результат моделирования взаимодействий исследуемых генов представлен в таблице 17. Выявленные комбинации генотипов отражают степень риска развития заболевания.

С риском развития рожи ассоциированы следующие сочетания полиморфных вариантов:

- 1473GC *IL-1 β* / -159TT *CD14* / -299AspAsp *TLR4*;
- 1473GC *IL-1 β* / -159CC *CD14* / -299AspAsp *TLR4*;
- 1473GC *IL-1 β* / -159CC *CD14* / -299AspGly *TLR4*;
- 1473CC *IL-1 β* / -159TT *CD14* / -299AspAsp *TLR4*;
- 1473CC *IL-1 β* / -159CT *CD14* / -299AspAsp *TLR4*;

- 1473GG IL-1 β / -159TT CD14 / -299AspAsp TLR4;
- 1473GG IL-1 β / -159CT CD14 / -299AspAsp TLR4;
- 1473GG IL-1 β / -159CT CD14 / -299AspGly TLR4;

Исходя из полученных данных о том, что у носителей генотипа C/C гена *IL-1 β* (*G1473C*) возрастает шанс развития рецидивирующего течения рожи (OR=2,53 [CI95%: 1,08-5,95]) ($\chi^2=9,66$; p=0,008), наиболее рисковыми комбинациями генотипов для таких резидентов являются (табл. 17):

- 1) -1473CC IL-1 β / -159TT CD14 / -299AspAsp TLR4;
- 2) -1473CC IL-1 β / -159CT CD14 / -299AspAsp TLR4;

Однако обнаружено, что имеются и протективные комбинации генов, максимально снижающие риск возникновения рожи (табл. 17):

- 1) -1473GC IL-1 β / -159TT CD14 / -299AspGly TLR4;
- 2) -1473GC IL-1 β / -159CT CD14 / -299GlyGly TLR4;
- 3) -1473CC IL-1 β / -159TT CD14 / -299GlyGly TLR4;
- 4) -1473GG IL-1 β / -159CC CD14 / -299GlyGly TLR4;

Способ прогнозирования развития рожи иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1.

Донор К., русский, 52 года.

Для проведения анализа у относительно здорового донора была взята венозная кровь, выполнено генотипирование ДНК-маркеров по полиморфным локусам *-1473GC* гена IL-1 β , *-159CT* гена CD14, *-299AspGly* гена TLR4. В результате выявлено следующее сочетание исследуемых полиморфизмов генов: *-1473GC* IL-1 β / *-159TT* CD14 / *-299AspAsp* TLR4. Наличие этой комбинации генотипов позволяет прогнозировать высокий риск развития рожи.

Данный мужчина включен в группу риска развития рожи, и ему назначен комплекс профилактических мероприятий (иммунокорректирующая терапия, сезонная антибиотикофилактика). Катамнез прослежен в течение 3 лет, в период которого зарегистрирован случай рожи (первичная рожа

левого колена и бедра, эритематозной формы, средней степени тяжести) в результате не соблюдения профилактических рекомендаций.

Пример 2.

Донор В., русская, 50 лет.

Для проведения анализа у донора был взят буккальный соскоб, выполнено генотипирование ДНК-маркеров по полиморфным локусам *-1473GC* гена *IL-1 β* , *-159CT* гена *CD14*, *-299AspGly* гена *TLR4*. В результате выявлено сочетание исследуемых полиморфизмов генов: *-1473GC IL-1 β / -159TT CD14 / -299AspGly TLR4*. Наличие этой комбинации генотипов позволяет предполагать низкий риск развития рожи. Катамнез прослежен в течение 3 лет – эпизодов рожи не отмечалось.

Пример 3.

Пациентка Н., русская, 48 лет.

Для проведения анализа у пациентки была взята венозная кровь, выполнено генотипирование ДНК-маркеров по полиморфным локусам *-1473G/C* гена *IL-1 β* , *-159C/T* гена *CD14*, *-299Asp/Gly* гена *TLR4*. В результате выявлено следующее сочетание исследуемых полиморфизмов генов: *-1473GC IL-1 β / -159CC CD14 / -299AspAsp TLR4*. Наличие этой комбинации генотипов позволяет прогнозировать высокий риск развития рожи. В дальнейшем на основании клинико-анамнестических данных согласно верификации В.Л. Черкасова установлен клинический диагноз: первичная рожа правой голени, эритематозно-буллезная форма, средней степени тяжести.

Таким образом, определение генов *IL-1 β (G1473C)*, *CD14 (C159T)*, *TLR4 (Asp299Gly)* может использоваться в диагностическом процессе на доклинической стадии заболевания для повышения достоверности прогнозирования развития рожи, что положительно скажется на лечебно-профилактических и диагностических мероприятиях данного инфекционного процесса.

Таблица 17.

Отношение шансов (OR) генетической предрасположенности к роже для модели *IL-1 β* (G1473C), *CD14* (C159T), *TLR4* (Asp299Gly)

Комбинация генотипов SNP <i>IL-1β</i> (G1473C), <i>CD14</i> (C159T), <i>TLR4</i> (Asp299Gly)	OR	Предрасположенность к роже (0-нет; 1-есть)
<i>G/C, T/T, Asp/Asp</i>	∞	1
<i>G/C, T/T, Asp/Gly</i>	0,0	0
<i>G/C, C/T, Asp/Asp</i>	18,0	1
<i>G/C, C/T, Asp/Gly</i>	0,1111	0
<i>G/C, C/T, Gly/Gly</i>	0,0	0
<i>G/C, C/C, Asp/Asp</i>	∞	1
<i>G/C, C/C, Asp/Gly</i>	∞	1
<u>C/C, T/T, Asp/Asp</u>	∞	1
<i>C/C, T/T, Gly/Gly</i>	0,0	0
<u>C/C, C/T, Asp/Asp</u>	∞	1
<i>C/C, C/T, Asp/Gly</i>	1,0	0
<i>C/C, C/C, Asp/Asp</i>	11,0	1
<i>C/C, C/C, Asp/Gly</i>	1,0	0
<i>G/G, T/T, Asp/Asp</i>	∞	1
<i>G/G, C/T, Asp/Asp</i>	∞	1
<i>G/G, C/T, Asp/Gly</i>	∞	1
<i>G/G, C/C, Asp/Asp</i>	0,2558	0
<i>G/G, C/C, Asp/Gly</i>	0,0833	0
<i>G/G, C/C, Gly/Gly</i>	0,0	0

Примечание: курсивом с подчеркиванием обозначены рисковые комбинации генотипов, связанные с развитием рожи; **выделенным курсивом с подчеркиванием** обозначены рисковые комбинации генотипов, связанные с риском развития рецидивирующего течения рожи;

Г Л А В А 4

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В нашем исследовании мы сосредоточили свое внимание на первичном звене иммунопатогенеза рожи, а именно оценили ось “бактерия – макрофаг – лимфоцит – эффекторные молекулы”.

Известно, что в структуре первичных форм стрептококкозов рожа занимает одно из доминирующих положений [101]. Эта нозология характеризуется стабильно высокой заболеваемостью, выраженной склонностью к рецидивированию, развитием гнойно-воспалительных осложнений, частым нарушением лимфообращения, увеличением доли тяжелых геморрагических форм с замедленной репарацией в очаге воспаления и др. [172, 195, 198].

При внедрении β -гемолитического стрептококка группы А наблюдается иммунологическое реагирование, сопровождающееся продукцией целого каскада цитокинов, регулирующих взаимодействие иммунокомпетентных клеток, что определяет направление иммунного ответа [39, 47, 48].

Несмотря на это, реализация воспалительного ответа может значительно различаться по интенсивности и продолжительности у отдельных индивидуумов в зависимости от генетического полиморфизма сигнальных молекул [48]. Их более глубокое изучение может пролить свет на механизмы развития рожи.

4.1. Генетический полиморфизм сигнальных молекул и их значение в развитии рожи

Мы показали, что рецепция бактериального липополисахарида связана с генетическим полиморфизмом молекул CD14. При изучении влияния полиморфизма гена *CD14* (*C159T*) на кратность возникновения и тяжесть течения процесса выявлены отличия в распределении частот аллелей и генотипов по сравнению с группой контроля. Шанс развития рожи повышается у носителей мажорной аллели *C* гена *CD14* (*C159T*).

Мы выявили, что аллели -299Gly и -399Ile и гетерозиготные варианты Asp299Gly и Thr399Ile снижают риск развития рожи, и тем самым, имеют протективное влияние.

Как могут объяснить сведения о полиморфизме CD14 и Toll-подобных рецепторов индивидуальную иммунологическую реактивность при роже?

CD14 – мембранный белок, экспрессированный на поверхности клеток миелоидного ряда, в большей степени на макрофагах, компонент рецепторного комплекса CD14/TLR4/MD2, распознающего ЛПС [182] (рис. 11).

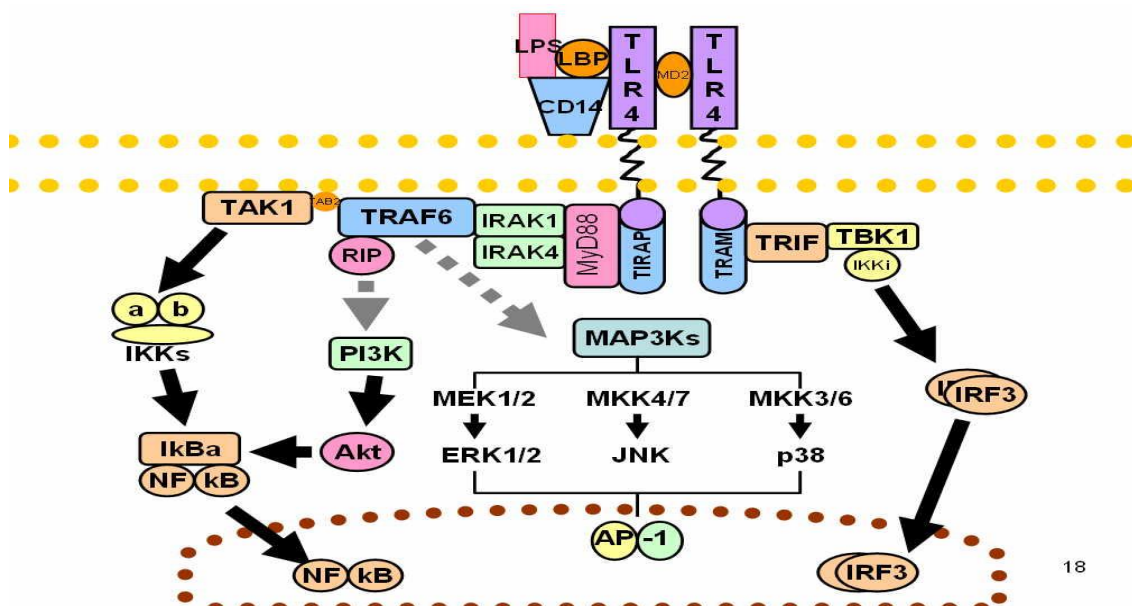


Рисунок 11. Схема распознавания ЛПС при помощи рецептора CD14 [Kitchens R.L., 2000].

CD14 действует как ко-рецептор для детекции бактериального липополисахарида [165]. Функция CD14 неразрывно связана с комплексом TLR4/MD2. Связывание ЛПС с CD14 приводит к конформационным изменениям молекулы TLR4 [144, 221] (рис. 11).

TLR4 (толл-подобный рецептор 4, CD284) – мембранный белок относящийся к группе толл-подобных рецепторов, принимающих участие во врождённом иммунитете.

Известно, что трансмембранные Toll-подобные рецепторы являются ключевыми сенсорами патогенассоциированных молекулярных паттернов (pathogen-associated molecular patterns) инфекционных агентов и молекулярных фрагментов макроорганизма, ассоциированных с повреждениями (danger-associated molecular patterns), функционирование которых предопределяет развитие процесса воспаления и иммунного ответа. В TLR-ассоциированной передаче сигнала принимают участие адаптерные молекулы MyD88, TIRAP, TRIF, TRIP, которые обуславливают дифференцированную активацию внутриклеточных сигнальных каскадов [40, 106]. Они, в свою очередь, определяют реализацию эффекторных функций иммунокомпетентных клеток. Дендритные клетки, несущие Toll-подобные рецепторы, играют центральную роль в пуске реакции врожденного и адаптивного иммунитета в ответ на внедрение стрептококковой инфекции в кожу. Бактериальный липополисахарид, реагируя с CD14 и TLR4, индуцирует сигнальный путь активации, связанный с появлением фактора NF-κB и митоген-активируемой протеинкиназы. Дендритные клетки продуцируют провоспалительные цитокины, в том числе IL-12, IL-6 и TNFα, а также экспрессируют поверхностные маркеры CD80/86, CD40 и молекулы MHC II [40, 152, 176]. Полиморфные варианты молекул TLR4 и связанные с ним молекулы CD14 определяют разное сродство с антигеном ЛПС, что сказывается на результатах активации клеток [30, 40].

Точечный полиморфизм Toll-подобного рецептора-4 также связан с восприимчивостью к инфекционному агенту и риском развития

воспалительных процессов [40, 143]. Мы обнаружили, что, что мажорные аллели -299Asp и -399Thr TLR4 и генотипы Asp299Asp и Thr399Thr являются предрасполагающими факторами к развитию рожи.

Однако другие полиморфизмы гена TLR4 могут оказывать протективное действие к проявлению заболевания. Результаты, подобные нашим, получены при исследовании генетического полиморфизма среди пациентов с тонзиллитом, когда наличие полиморфизма TLR4-D299G снижало чувствительность к β -гемолитическому стрептококку группы А [40, 215].

Исходя из вышеизложенного, генетический полиморфизм CD14 и TLR4 определяет не только чувствительность к стрептококку, но также эффекторные функции иммунокомпетентных клеток в процессе реализации иммунного ответа и воспалительного процесса при роже [30, 40, 44, 47, 48, 105, 106, 143, 152, 176, 177, 213, 215]

4.2. Полиморфизм генов цитокинов и их влияние на развитие рожи

В исследовании SNP генов *IL-1 β* и *TNF α* при роже показано их влияние на предрасположенность к развитию заболевания.

Мы изучили распределение частот аллелей и генотипов полиморфных ДНК-локусов гена *IL-1 β* – *T31C*, *T511C*, *C3953T*, *G1473C*. Высокой вероятности развития рожи подвержены носители минорной аллели *C*, генотипа *C/C* гена *IL-1 β* (*T31C*), мажорной аллели *C*, генотипа *C/C* гена *IL-1 β* (*C3953T*), минорной аллели *C*, генотипов *G/C* и *C/C* промотора гена *IL-1 β* (*G1473C*). При этом вероятность развития рецидивирующей формы заболевания выше у резидентов, имеющих гомозиготный вариант *C/C* гена *IL-1 β* (*G1473C*). Распределение мутации полиморфного локуса *T511C* соответствовало равновесию Харди-Вайнберга, однако при сравнении групп достоверно значимых различий не обнаружено.

Известно, что для рожи характерен высокий уровень провоспалительных цитокинов, в т.ч. IL-1 β и TNF α , что, по-видимому, носит благоприятный характер, поскольку способствует развитию адаптивного клеточно-опосредованного иммунного ответа, в котором клеткам Лангерганса принадлежит ведущее значение [39, 41, 47, 48, 104]. Интерлейкин 1 продуцируется макрофагами в ответ на стимуляцию антигенами β -гемолитического стрептококка группы А. Он усиливает миграцию нейтрофилов в очаг воспаления, отвечающих за реализацию местной защитной реакции силами факторов врожденного иммунитета – фагоцитоза, высвобождения дефензинов и др. В ответ на стимуляцию интерлейкина 1 макрофаги выделяют гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, который амплифицирует нейтрофильный ответ. Продукция IL-1 β вызывает усиление синтеза IL-6, индуцирующего матурацию В-клеток, продукцию острофазовых белков (С-реактивный белок, сывороточный амилоид А, фибриноген), выработку лейкоцитами и эндотелиоцитами молекул адгезии, хемокинов и других провоспалительных цитокинов, экспрессию тканевого фактора, являющегося триггером гиперкоагуляции. Молекулярный эффект клеток на действие IL-1 β обуславливает разнообразие патогенетических механизмов, направленных на ограничение патологического очага и санацию [41, 142, 155].

Основными функциями цитокинов являются следующие: регуляция иммунного ответа, гемопоэза, репаративных процессов, а также, участие в ангиогенезе, апоптозе и хемотаксисе [79, 108, 124]. Им отводят главенствующую роль на всех этапах в реализации иммунного ответа и развитии адекватной воспалительной реакции [53, 78, 114, 115]. Бесспорен и тот факт, что цитокиновая система, обладая широким спектром биологических эффектов, относится к центральным регуляторам гомеостаза [16, 17, 35, 60, 61, 110, 116, 117, 118, 119, 120, 175].

Цитокины, являясь белково-пептидными информационными молекулами, могут вырабатываться многими типами клеток, но

преимущественно лимфоцитами и макрофагами. При этом ряд из них обладает способностью инициировать и стимулировать воспалительные реакции (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-16, IL-18, TNF- α , IFN- α , IFN- γ), другие же – подавляют их (IL-4, IL-10, IL-13) [22, 23, 134, 187]. Кроме того, считают, что цитокины определяют выживаемость клеток, стимуляцию или ингибирование роста, дифференцировку, функциональную активацию и апоптоз, так как осуществляют межсистемные взаимодействия и короткодистантную регуляцию межклеточных взаимодействий всех звеньев иммунной системы [61, 120].

Цитокины, представленные интерферонами (цитокины с противовирусной активностью), колониестимулирующими факторами, хемокинами (хемотаксические цитокины), трансформирующими ростовыми факторами, фактором некроза опухолей, интерлейкинами (факторы взаимодействия между лейкоцитами) [116, 117, 118, 119, 120], могут существовать как в форме циркулирующих молекул, так и в связанной форме (IL-1 α , TNF- α).

Основными клетками-продуцентами цитокинов являются Т-хелперы и макрофаги, выполняющие главные функции в поддержке приобретенного и врожденного иммунитета. Т-хелперы 1 типа (Тх1) продуцируют IL-2 и INF- γ , Т-хелперы 2 типа (Тх2) – IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 и IL-13. Тх1 осуществляет хелперную функцию в формировании клеточного иммунитета, а Тх2 – гуморального [112].

В норме незначительная продукция цитокинов направлена на поддержание взаимодействия между клетками, выделяющими другие медиаторы воспаления и клетками, продуцирующими интерлейкины [116, 117, 118, 119, 120].

Однако цитокины, отвечающие за регуляцию системных воспалительных реакций организма, могут быть вовлечены в патофизиологические процессы [116, 117, 118, 119, 120].

Значительную роль в развитии аутоиммунных состояний, прогрессировании и хронизации патологических процессов играет нарушение баланса цитокин-продуцирующей активности Th1 и Th2 типа [79].

При этом снижение уровня ряда цитокинов, либо усиление продукции определённых цитокинов воспаления или факторов, стимулирующих рост лимфоцитов, могут спровоцировать развитие заболевания [56].

Вовлеченными в патофизиологические процессы, регулируя системные воспалительные реакции организма, могут быть гены и провоспалительных, и противовоспалительных цитокинов [114, 115]. В частности доказано, что определенная роль в развитии респираторных заболеваний играют цитокины, обладающие как про-, так и противовоспалительной активностью, и баланс этих факторов влияет на процесс протекания заболевания [94].

Сведения о результатах исследования цитокинов при стрептококковых инфекциях немногочисленны и основаны на небольшом числе пациентов. Установлено, что с тяжестью течения заболевания коррелирует продукция цитокинов, происходящая под влиянием стрептококкового токсина [30]. Предполагается, что высокие показатели IL-1 и TNF α в реконвалесцентный период рожки могут свидетельствовать о возможности рецидивирования болезни [30]. При этом практически отсутствует информация об изучении генетического полиморфизма гена *IL-1 β* при роже, в том числе промоторного региона *G1473C*.

Результаты настоящего исследования отражают тот факт, что концентрация IL-1 β при наличии аллели *C* полиморфизма *G1473C* гена *IL-1 β* значительно уменьшается независимо от клинического течения заболевания. Особенно это наблюдается у обладателей гомозиготного варианта *C/C*.

Можно предположить, что качественное изменение структуры молекулы IL-1 β приводит к снижению концентрации, что в свою очередь приводит к ослаблению местных клеточных и гуморальных механизмов защиты [41].

Наши предположения согласуются с мнением А.С. Симбирцева и соавт. [118], когда наблюдается генетически обусловленный перевес в сторону выработки IL-1R α в системе IL-1/IL-1R α , тогда воспалительный ответ становится более продолжительным, а процесс – хроническим [41].

Мы изучили частоты полиморфных аллелей и генотипов промотора гена *TNF α* (*G308A*), а также их влияние на содержание фактора некроза опухолей в крови здоровых лиц и больных рожей при первичном и рецидивирующем течении. Нами получены результаты, что аллель *G* и генотип *G/G* промотора гена *TNF α* *G308A* увеличивают вероятность развития рожи, при этом присутствие *G*-аллели сопровождается уменьшением продукции TNF α у больных рожей при гетерозиготном *G/G* варианте носительства полиморфизма гена *TNF α* *G308A*.

Как же объяснить полученные результаты? IL-1 и бактериальный ЛПС стимулируют выработку TNF α . Ген TNF α локализован на коротком плече 6 хромосомы [168]. Полиморфизм промотора *TNF α* *G308A* описан A.G. Wilson et al. в 1992 году [30, 200]. Доказано, что носительство А-аллели усиливает генную экспрессию и секрецию TNF α [30, 151, 196, 200, 214].

В физиологических условиях TNF α вырабатывается в организме в крайне малом количестве, локально проявляя свои эффекты. При патологических процессах активируется его продукция, и, попадая в кровь, фактор некроза опухолей оказывает стимулирующее действие на нейтрофилы и эндотелиальные клетки. Это, в свою очередь, влияет на миграцию лейкоцитов и пролиферацию фибробластов и эндотелия при заживлении раны.

Целый ряд полиморфных вариантов в промоторных и интронных областях гена TNF и его рецептора, обуславливая пониженную или повышенную продукцию цитокина, ассоциируются с развитием многих инфекционных, онкологических и аутоиммунных заболеваний.

Биологические эффекты TNF α зависят от его концентрации. Данный цитокин может выступать в роли медиатора защитной реакции в ответ на

различные инфекционные агенты, а также в качестве белка, обладающего пагубным влиянием на организм [96, 115, 116].

Уровень продукции $TNF\alpha$ значительно возрастает при поступлении бактериальных эндотоксинов в организм человека. Ряд авторов в своих исследованиях с использованием нейтрализующих действие фактора некроза антителами, подтвердили центральную роль цитокина в возникновении токсического шока и сепсиса [52, 96].

По мнению ряда авторов, с тяжестью течения заболевания коррелирует продукция цитокинов, изменяющаяся под влиянием стрептококкового токсина [30, 96, 118].

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что уровень $TNF\alpha$ заметно уменьшается при наличии аллели G гена $TNF\alpha$ *G308A* независимо от кратности возникновения патологического процесса. При этом отсутствие точечной замены в участке rs1800629 гена $TNF\alpha$ оказывает влияние на концентрацию одноименного цитокина, вызывая у носителей немутантного варианта G/G снижение концентрации молекулы.

Таким образом, полиморфизм генов цитокинов *IL-1 β* и *TNF α* и низкие значения концентрации одноименных молекул могут не обеспечивать достаточную реализацию саногенных механизмов защиты, что повышает вероятность развития рожи.

4.3. Полиморфизм гена *TF* и экспрессия тканевого фактора при роже

Нами установлено, что при роже экспрессируется тканевой фактор. Мы выявили, что распространенность полиморфных вариантов *TF* (*A603G*, *C1322T*, *C1812T*, *G1442C*) у пациентов с рожей не отличается от распространенности среди обследованных лиц контрольной группы, а значит – полиморфизм гена *TF* не ассоциирован с развитием рожи. При этом у больных наблюдается высокая экспрессия тканевого фактора с ее усилением при более тяжелых формах.

Известно, что ТФ является главным триггером гиперкоагуляции. Это и объясняет то, что одним из ведущих патогенетических звеньев заболевания является гиперкоагуляция, часто завершающаяся формированием внутрисосудистых тромбов [25, 208].

Считается, что тканевой фактор экспрессируется эндотелиальными клетками, моноцитами и макрофагами, клетками плаценты, микроглией [9, 179, 199]. При роже экспрессия тканевого фактора может быть локальной, поскольку макрофагальная система кожи – клетки Лангерганса – осуществляют первичный контакт с β -гемолитическим стрептококком. Но его продукция может принимать системный характер, если сами микроорганизмы или бактериальный ЛПС непосредственно раздражают эндотелиальные клетки. Общим связующим звеном между локальной и общей экспрессией тканевого фактора являются провоспалительные цитокины, в первую очередь – IL-1 и TNF [96].

Тканевой фактор представляет собой трансмембранный гликопротеин, который одновременно является поверхностным клеточным рецептором и кофактором плазменного фактора свертывания VII, а также является главным физиологическим инициатором гемокоагуляции. Активация проферментно-ферментного каскада свертывания крови с участием тканевого фактора приводит к активации тромбоцитов, образованию тромбина, отложению фибрина [43, 44]. Чрезмерная экспрессия тканевого фактора в циркулирующей крови связана с большим риском тромбообразования при различных заболеваниях, в том числе и роже [43, 44]. Этому могут способствовать микровезикулы тромбоцитарного, гранулоцитарного, эндотелиального происхождения, несущие тканевой фактор [9, 199]. К различным осложнениям у пациентов с рожей может predispose выраженная активация системы гемостаза и иммунных реакций.

Стимуляторами экспрессии тканевого фактора являются такие цитокины, как IL-1 β , TNF α , фрагмент комплемента C5a и др. [212]. Повышение экспрессии ТФ на моноцитах обнаружено при воспалении,

сепсисе, опухолях, при сердечно-сосудистой патологии, особенно у больных, перенесших инфаркт миокарда, после экстравазкулярной циркуляции крови [199]. Имеются отдельные сообщения, что стероидные контрацептивы, принимаемые внутрь, курение вызывают повышение ТФ в системе циркуляции, что увеличивает риск тромбоза.

Атеросклеротические бляшки, в которые мигрировали различные линии лейкоцитов, в т.ч. и моноциты, а также сформированные в них лейкоцитарно-тромбоцитарные кластеры, после стимуляции липополисахаридами (например, клеточной мембраной бактерий) или IL-1 могут генерировать ТФ [76, 77]. После повреждения или после стимуляции клеток ТФ может экспонироваться или вновь синтезироваться.

Ряд авторов в своих исследованиях показали весомый вклад ТФ в усиление гемокоагуляции при сепсисе [171]. N.T. Funderburg et al. (2010) [170] выявили, что многие воспалительные медиаторы, в том числе ЛПС, активируют моноцитарную экспрессию тканевого фактора.

Взаимосвязь тканевого фактора с функцией CD14 вызывает большой интерес в связи с тем, что этот рецептор играет ключевую роль в распознавании моноцитами и макрофагами липополисахарида, являющегося одним из самых мощных индукторов экспрессии тканевого фактора [179].

Известно, что механизмы иммунного воспаления сосудистой стенки тесно взаимосвязана с активностью тканевого фактора, при этом он является начальным звеном, запускающим каскад коагуляционных событий в сосудистой стенке при её повреждении. Кроме того, установлено, что у больных ишемической болезнью сердца, особенно в плане развития острого коронарного синдрома, прогностическое значение имеет концентрация тканевого фактора в плазме крови и в сосудистой стенке [113, 138, 211]. У больных острым инфарктом миокарда независимым фактором риска кардиоваскулярной смерти является базальная активность тканевого фактора плазмы крови [191, 211]. Тканевый фактор может присоединяться к

клеточным рецепторам, что способствует продукции и выделению медиаторов воспаления.

Чем объясняется высокая экспрессия тканевого фактора при роже?

Бактериальный липополисахарид, реагируя с CD14 и TLR4, индуцирует двойной сигнальный путь активации. Первый из них завершается продукцией провоспалительных цитокинов, в первую очередь, IL-1 и TNF. Второй – сопровождается активацией рецепторов семейства интерлейкина IL-1 (IL-1R), через который системой вторичных мессенджеров и синтезом ядерного фактора-кВ (nuclear factor (NF-кВ) инициируется транскрипция и последующая трансляция белка провоспалительных цитокинов, а также прямой и цитокин-опосредованный путь экспрессии тканевого фактора самими макрофагами и эндотелиальными клетками [30, 61, 120].

Основными индукторами экспрессии тканевого фактора являются провоспалительные цитокины [22, 23, 199, 218]. Мы установили, что полиморфизм промоторных регионов одноименных генов (*IL-1 β G1473C* и *TNF α G308A*) оказывает влияние на концентрацию IL-1 β и TNF α , при повышении которой происходит сокращение времени коагуляции крови больных рожей. Исходя из того, что сокращение времени коагуляции крови указывает на высокую экспрессию тканевого фактора [179], то правомерно сделать следующий вывод.

Экспрессия тканевого фактора зависит от концентрации провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF α , а не от полиморфизма генов, кодирующих TF, что может обуславливать вторичный характер гиперкоагуляции при роже.

На рисунке 12 представлена концептуальная схема участия единичных полиморфизмов и их влияние на экспрессию TF в иммунопатогенезе рожи.

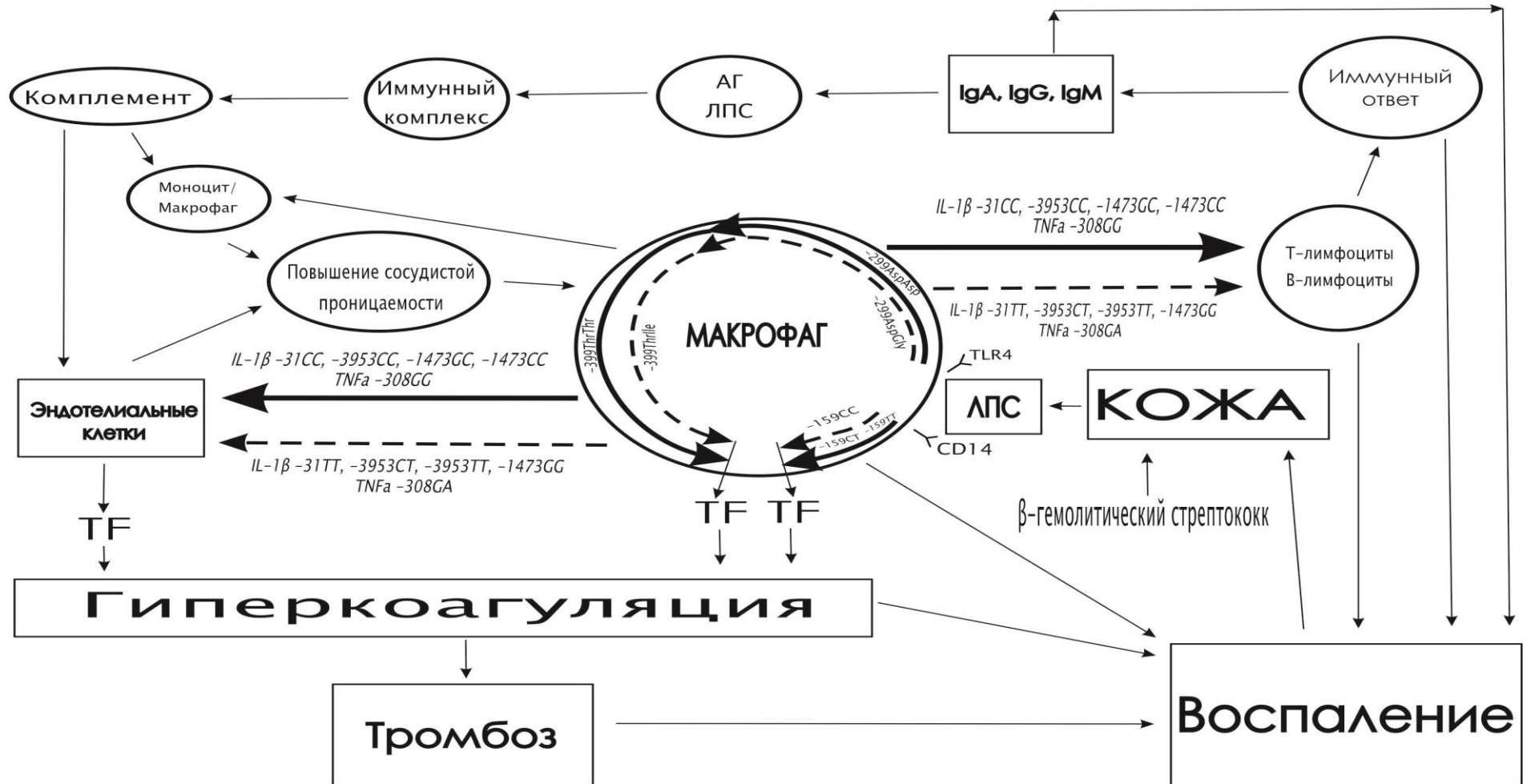


Рисунок 12. Точки влияния SNP генов *IL-1β*, *TNFα*, *CD14*, *TLR4*, *TF*, соответствующих цитокинов и экспрессия тканевого фактора. На схеме цельные линии (—) – стимуляция, пунктирная (- - - - -) – торможение, а толщина линий с указанием генотипов условно пропорциональна концентрации цитокинов, кодируемых SNP.

4.4. Заключение

Наши исследования показали, что полиморфизмы генов провоспалительных цитокинов *IL-1 β* и *TNF α* , рецепторов *CD14* и *TLR4*, трансмембранного белка *TF* вовлекаются в патогенез рожи. Отдельные SNP усиливают вероятность развития воспалительного заболевания, его рецидивирования, тяжести течения. Другие точечные замены нуклеотидов в генах *IL-1 β* , *TNF α* , *CD14*, *TLR4*, *TF* препятствуют агрессивному воздействию β -гемолитического стрептококка. Полученные результаты объясняют клеточные механизмы и молекулярное развитие событий в процессе реализации защитных реакций, включающих иммунитет, гемостаз, циркуляцию крови, репаративные процессы и др.

ВЫВОДЫ

1. У больных рожей минорная аллель *C* и гомозиготный генотип *CC* гена *IL-1β* (*T31C*), мажорная аллель *C* и гомозиготный генотип *CC* полиморфизма *IL-1β* (*C3953T*) обнаруживаются чаще по сравнению с контрольной группой. Минорная аллель *C*, генотип *CC* гена *IL-1β* (*T31C*), мажорная аллель *C*, генотип *CC* гена *IL-1β* (*C3953T*) повышают вероятность развития рожи.

2. При первичной и рецидивирующей роже превалирует минорная аллель *C* промотора гена *IL-1β* (*G1473C*) по сравнению с группой здоровых лиц. Среди больных рожей преобладают гетерозиготные варианты *GC*. В группе с рецидивирующим течением гомозиготы *CC* обнаруживаются чаще, чем в группах больных первичной рожей и контрольной группой. Аллель *C*, генотипы *GC* и *CC* промотора гена *IL-1β* (*G1473C*) увеличивают шанс развития рожи. Гомозиготный вариант *CC* промотора гена *IL-1β* (*G1473C*) усиливает вероятность возникновения рецидивов заболевания.

3. В группе пациентов мажорная аллель *G* и гомозиготный вариант *GG* промотора гена *TNFα* (*G308A*) встречаются чаще по сравнению с группой контроля. Аллель *G* и генотип *GG* промотора гена *TNFα* *G308A* предрасполагают к развитию рожи.

4. При роже минорная аллель *T* гена *CD14* (*C159T*) обнаруживается чаще по сравнению с контрольной группой. Среди больных рожей превалирует гетерозиготный *CT*, а у здоровых лиц – гомозиготный генотип *CC* полиморфизма *CD14* (*C159T*). Минорная аллель *T* и гомозиготный генотип *TT* повышают шанс возникновения рожи.

5. Среди больных рожей преобладают мажорные аллели *-299Asp* и *-399Thr* гена *TLR4*. В группе пациентов чаще регистрируются гомозиготные генотипы *299AspAsp* и *399ThrThr*, и отсутствуют их гомозиготные варианты *299GlyGly* и *399 IleIle* гена *TLR4*. Аллель *-299Asp*, генотип *AspAsp* гена *TLR4*

(*Asp299Gly*), аллель *-399Thr*, генотип *ThrThr* гена *TLR4 (Thr399Ile)* увеличивают возможность развития рожи.

6. У пациентов с первичной и рецидивирующей рожей повышение концентрации цитокинов IL-1 β и TNF α зависит от генотипов полиморфизмов промоторов одноименных генов. При первичной и рецидивирующей рожке у обладателей генотипа *GG* гена *IL-1 β (G1473C)* и *GG TNF α (G308A)* максимально увеличивается концентрация IL-1 β и TNF α . Присутствие *C*-аллели SNP гена *G1473C* у больных рожей сопровождается уменьшением продукции IL-1 β , а *G*-аллели – уменьшением продукции TNF α у пациентов при гомозиготном носительстве *GG* полиморфизма гена *TNF α G308A*.

7. При рожке экспрессия тканевого фактора моноцитами периферической крови проявляется в зависимости от формы заболевания: минимальная у больных с эритематозной, максимальная – с буллезно-геморрагической. Экспрессия тканевого фактора при рожке зависит от концентрации провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF α , а не от полиморфизма генов, кодирующих TF, что обуславливает вторичный характер гиперкоагуляции.

8. Комбинация полиморфных вариантов генов *IL-1 β (G1473C)*, *CD14 (C159T)*, *TLR4 (Asp299Gly)* увеличивает риск развития рожи.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

С целью прогнозирования риска развития рожи рекомендовано определять полиморфизм генов IL-1 β (G1473C), CD14 (C159T), TLR4 (Asp299Gly). Наличие одной из комбинаций генотипов: -1473GC IL-1 β / -159TT CD14 / -299AspAsp TLR4; -1473GC IL-1 β / -159CC CD14 / -299AspAsp TLR4; -1473GC IL-1 β / -159CC CD14 / -299AspGly TLR4; -1473CC IL-1 β / -159TT CD14 / -299AspAsp TLR4; -1473CC IL-1 β / -159CT CD14 / -299AspAsp TLR4; -1473GG IL-1 β / -159TT CD14 / -299AspAsp TLR4; -1473GG IL-1 β / -159CT CD14 / -299AspAsp TLR4; -1473GG IL-1 β / -159CT CD14 / -299AspGly TLR4 – свидетельствует о предрасположенности к этому заболеванию.

Внедрение предложенного метода в медицинскую практику повысит достоверность предсказания риска развития рожи, что положительно скажется на лечебно-профилактических и диагностических мероприятиях этого инфекционного заболевания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Амбалов, Ю.М. Эпидемиологический анализ заболеваемости рожей в г. Ростове-на-Дону / Ю.М. Амбалов, Н.Ю. Пшеничная, М.В. Ахмидинова // Успехи современного естествознания. – 2004. – №8. – С. 62.
2. Ассоциация полиморфизма генов TNF и TGFB1 с предрасположенностью к развитию вагинитов женщин репродуктивного возраста / О.В. Бурменская [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2015. – №2. – С. 52-59.
3. Ассоциация полиморфных вариантов генов цитокинов (TNF и IL8) с развитием хронической обструктивной болезни легких / Г.Н. Сеитова [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2010. – № 3. – С. 91-98.
4. Аширова, А.Б. Нарушения микробиоценозов основных биотопов организма у пациентов с рожей, прогнозирование рецидивирующего ее течения : дис. ... канд. мед. наук : 14.01.09 / Альбина Бариевна Аширова. – М., 2012. – 185 с.
5. Байгозина, Е.А. Полиморфизм генов семейства интерлейкина-1 как фактор патогенеза нозокомиальной пневмонии / Е.А. Байгозина, Т.В., Долгих, В.И. Совалкин // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2015. – №4. – С. 66-72.
6. Байгозина, Е.А. Влияние полиморфизма гена CD14 на течение и исход нозокомиальной пневмонии / Е.А. Байгозина, В.И. Совалкин // Медицинская иммунология. – 2010. – Т.12, №1-2. – С. 95-102.
7. Байке, Е.В. Частота полиморфизма генов IL-1b, IL-6, IL-10 и TNF-α у больных хроническим гнойным средним отитом [Электронный ресурс] / Е.В. Байке, Ю.А. Витковский // Забайкальский медицинский вестник. – 2015. – №1. – С. 94-98. – Режим доступа: <http://zabmedvestnik.ru/journal/2015/1/15.pdf> (дата обращения: 18.05.2019).

8. Батаева, Е.П. Влияние полиморфизмов генов IL-4 (С589Т) и TNF α (G308A) на содержание цитокинов у детей при пиелонефритах / Е.П. Батаева // Дальневосточный медицинский журнал. – 2014. – №1. – С. 74-78.
9. Башилов, Н.И. Роль микровезикул в транспорте факторов свертывания крови / Н.И. Башилов, Н.Н. Цыбиков // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2018. – Т.104, №2. – С. 129-137.
10. Бекенова, Н.Б. Полиморфизм гена ИЛ-10 в положении -1082G/A у больных рожей / Н.Б. Бекенова // Наука и Здравоохранение. – 2016. – №3. – С. 34-45.
11. Белова, О.В. Роль цитокинов в иммунологической функции кожи / О.В. Белова, В.Я. Арион, В.И. Сергиенко // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2008. – № 1. – С. 41-55.
12. Белоглазов, В.А. Липополисахарид-связывающий потенциал моноцитов и гранулоцитов у больных диффузным токсическим зобом во взаимосвязи с С(-159)Т полиморфизмом CD14 рецепторов моноцитов / В.А. Белоглазов, Ю.Ю. Кулагина, А.И. Гордиенко // Кубанский научный медицинский вестник. – 2014. – №4. – С. 21-24.
13. Белоглазов, В.А. С(-159)Т полиморфизм гена CD14 рецепторов моноцитов у больных ДТЗ с различной степенью гуморального ответа на эндотоксин / В.А. Белоглазов // Медицинский вестник Юга России. – 2015. – №4. – С. 21-25.
14. Бережная, Н.М. Цитокиновая регуляция при патологии: стремительное развитие и неизбежные вопросы / Н.М. Бережная // Цитокины и воспаление. – 2007. – №2. – С. 26-34.
15. Бисюк, Ю.А. Влияние полиморфизма С159Т гена рецептора CD14 на антиэндотоксиновый иммунитет у взрослых больных бронхиальной астмой / Ю.А. Бисюк // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т.16, №4. – С 29-33.

16. Бодиенкова, Г.М. Роль полиморфизма и экспрессии отдельных генов цитокинов в формировании патологии (обзор) / Г.М. Бодиенкова, Ж.В. Титова // Успехи современного естествознания. – 2015. – №1-4. – С. 616-620.
17. Будчанов, Ю.И. Генетика бронхиальной астмы / Ю.И. Будчанов // Практическая медицина. – 2010. – Т.6, №45. – С. 19-21.
18. Бурданова, Т.М. Эпидемиологические и клиникопатогенетические аспекты рецидивирующей рожи : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.30, 14.00.10 / Татьяна Михайловна Бурданова. – Иркутск, 2007. – 21 с.
19. Бурданова, Т.М. Клинико-патогенетические аспекты рожистого воспаления. Эффективность применения циклоферона : пособие для врачей / Т.М. Бурданова, М.В. Чеснокова, К.А. Аитов. – Иркутск, 2008. – 48 с.
20. Бурданова, Т.М. Оптимизация профилактики рецидивов первичной рожи с применением циклоферона / Т.М. Бурданова, К.А. Аитов // Клиническая медицина. – 2010. – Т.88, №6. – С. 55-58.
21. Вейер, Б. Анализ генетических данных / Б. Вейер. – М. : Мир, 1995. – 400 с.
22. Витковский, Ю.А. Роль цитокинов в регуляции системы гемостаза : автореф. дис. ... д-ра мед наук : 14.0017, 14.00.16 / Юрий Антонович Витковский. – Чита, 1997. – 40 с.
23. Витковский, Ю.А. Влияние интерлейкинов 4 и 10 на систему гемостаза *in vitro* / Ю.А. Витковский [и др.] // Иммунология. – 2001. – №1. – С. 43-46.
24. Витковский, Ю.А. Генетический полиморфизм IL-10 и CRP при циррозе печени вирусной этиологии / Ю.А. Витковский, А.Н. Емельянова // Материалы I съезда терапевтов Забайкальского края (Чита, 14-15 мая 2013 г.). – Чита: РИЦ ЧГМА, 2013. – С. 119.
25. Влияние генетического полиморфизма D-1208I на функциональную активность тканевого фактора / А.А. Петров [и др.] // Молекулярная медицина. – 2012. – №4. – С. 61-64.

26. Влияние генетического полиморфизма D-1208I на экспрессию тканевого фактора / А.А. Петров [и др.] // Забайкальский медицинский вестник (ЭНИ). – 2012. – №2. – С. 33-36.
27. Влияние полиморфизма генов интерлейкинов и фактора некроза опухолей на уровень цитокинов в сыворотке крови у больных хроническим гнойным средним отитом / Е.В. Байке [и др.] // Вестник оториноларингологии. – 2017. – №3. – С. 14-18.
28. Влияние полиморфизмов IL-10 G1082A, IL-17A G197A И TLR4 A896G на риск развития колоректального рака / А.Г. Кутихин [и др.] // Медицинский альманах. – 2012. – № 3(22). – С. 166-169.
29. Выработка интерферона γ и интерлейкина 4 тимоцитами человека *in vitro* / Н.И. Шарова [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т.1, №4. – С. 12-16.
30. Генетический полиморфизм CD14, TNF α и FCGR2A у больных гриппом А(Н1N1) в Забайкальском крае / А.А. Петров [и др.] // Медицинская иммунология. – 2011. – Т.13, №1. – С. 83-86.
31. Генетический полиморфизм и частота развития осложнений при пневмонии различного генеза / Т.В. Смелая [и др.] // Общая реаниматология. – 2011. – Т.7, №2. – С. 10-16.
32. Геномные основы подверженности к инфекционным заболеваниям / И.А. Гончарова [и др.] // Вестник ВОГиС. – 2006. – Т.10, №3. – С. 540-552.
33. Глазников, Л.А. Роль генетических мутаций у больных с приобретенными формами сенсоневральной тугоухости / Л.А. Глазников, С.Н. Пониделко, М.И. Говорун // Вестник оториноларингологии – 2012. – №4. – С. 37-39.
34. Глухов, А.А. Современный подход к комплексному лечению рожистого воспаления / А.А. Глухов, Е.А. Бражник // Фундаментальные исследования. – 2014. – №10-2. – С. 411-415.
35. Гуломов, З.С. Роль цитокинов при лечении острых и хронических заболеваний верхних дыхательных путей (обзор литературы) / З.С. Гуломов,

А.С. Симбирцев, Ю.К. Янов // Российская оториноларингология. – 2008. – №6. – С. 200-205.

36. Диагностическое и прогностическое значение ключевых провоспалительных адипокинов у больных рожей нижних конечностей [Электронный ресурс] / Н.Ю. Пшеничная [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №3. – С.31. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=17424> (дата обращения: 18.05.2019).

37. Дунда, Н.И. Иммунологическое прогнозирование рецидивирующего течения рожи / Н.И. Дунда, И.П. Балмасова, П.Г. Филиппов // Аллергология и иммунология. – 2007. – Т.8, №3. – С. 254.

38. Дунда, Н.И. Значение иммунологических критериев в прогнозировании рецидивов и гнойных осложнений при первичной роже / Н.И. Дунда, И.П. Балмасова, П.Г. Филиппов // Инфекционные болезни. – 2008. – Т.6, №2. – С. 46-49.

39. Емельянов А.С. Частота аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов IL-2 и IL-10 у больных гриппом А/Н1N1(2009) [Электронный ресурс] / А.С. Емельянов, А.Н. Емельянова, Ю.А. Витковский // Забайкальский медицинский вестник. – 2015. – №1. – С. 79-82. – Режим доступа: <http://zabmedvestnik.ru/journal/2015/1/12.pdf> (дата обращения: 18 мая 2019).

40. Емельянов, А.С. Генетический полиморфизм Toll-подобного рецептора-4 у больных рожей / А.С. Емельянов, А.Н. Емельянова, Ю.А. Витковский // Молекулярная медицина. 2017. – Т.15, №5. – С. 54-57.

41. Емельянов, А.С. Полиморфизм промотора гена IL1B (G1473C) и его влияние на содержание интерлейкина 1 в крови больных рожей / А.С. Емельянов [и др.] // Медицинская генетика. – 2017. – Т.16, №8. – С. 32-35.

42. Емельянов, А.С. Современные аспекты прогнозирования рожи / А.С. Емельянов, А.Н. Емельянова, Ю.А. Витковский // Забайкальский медицинский вестник. – 2018. – №4. – С.9-13. – Режим доступа: <http://zabmedvestnik.ru/journal/2018/4/2.pdf> (18 мая 2019)

43. Емельянова, А.Н. Содержание провоспалительных цитокинов, экспрессия тканевого фактора лейкоцитами и гемостаз у больных рожистым воспалением / А.Н. Емельянова, В.С. Едемская, Ю.А. Витковский // Дальневосточный медицинский журнал. – 2008. – № 3. – С. 28-30.
44. Емельянова, А.Н. Противовоспалительные цитокины, лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия и экспрессия тканевого фактора у больных рожистым воспалением / А.Н. Емельянова, Ю.А. Витковский // Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2009. – Т.29, №5. – С. 117-121.
45. Емельянова, А.Н. Генетический полиморфизм интерлейкина – 10 и CRP у больных с циррозом печени вирусной этиологии / А.Н. Емельянова, Ю.А. Витковский // Сибирский медицинский журнал. – 2013. – № 4. – С.39-41.
46. Емельянова, А.Н. Полиморфизм генов цитокинов IL-2 (Т330G), IL-10 (С819Т), IL-10 (G1082A) при хроническом вирусном гепатите С / А.Н. Емельянова, Ю.А. Витковский // Молекулярная медицина. – 2013. – №3. – С. 41-44.
47. Емельянова, А.Н. Генетический полиморфизм промотора гена IL-2 (Т330G) и его влияние на содержание интерлейкина 2 в крови больных рожей [Электронный ресурс] /А.Н. Емельянова, А.С. Емельянов, Ю.А. Витковский // Забайкальский медицинский вестник. – 2014. – №2. – С. 98-103. – Режим доступа: <http://zabmedvestnik.ru/journal/2014/2/1.pdf> (дата обращения: 18 мая 2019).
48. Емельянова, А.Н. Рожа (патогенез, особенности течения) / А.Н. Емельянова, Ю.А. Витковский – Томск; Чита : Иван Федоров, 2014. – 132 с.
49. Емельянова, А.Н. Иммуногенетические механизмы патогенеза некоторых инфекционных заболеваний : дис. ... докт. мед. наук : 14.03.03 / Альвина Николаевна Емельянова. – Чита, 2015. – 30 с.
50. Епифанцева, Н.В. Взаимосвязь лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии с цитокинами у детей при коклюшной инфекции [Электронный ресурс] / Н.В.

Епифанцева, Ю.А. Витковский // Забайкальский медицинский вестник. – 2011. – №2. – С. 98-103. – Режим доступа: <http://zabmedvestnik.ru/journal/2011-2/17.pdf> (дата обращения: 18 мая 2019).

51. Еровиченков, А.А. Рожа – междисциплинарная проблема здравоохранения / А.А. Еровиченков, Н.Ю. Пшеничная, В.Ф. Павелкина // Материалы IX Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 27-29 марта 2017 г.). – М.: НИЦ «Открытое знание», 2017. – С. 96.

52. Ешану, В.С. Цитокины и их биологические эффекты при болезнях печени / В. С. Ешану // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2004. – №5. – С. 11-16.

53. Железникова, Г.Ф. Цитокины как предикторы течения и исхода инфекций / Г.Ф. Железникова // Цитокины и воспаление. – 2009. – №1. – С. 10-17.

54. Заморина, С.А. Роль Toll-подобных рецепторов в реализации эффектов хорионического гонадотропина человека на функциональную активность моноцитов / С.А. Заморина, С.В. Ширшев // Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии. – 2013. – Т.30, №5-6. – С. 372-379.

55. Заморина, С.А. Toll-подобные рецепторы – подъем по тревоге / С.А. Заморина, М.Б. Раев // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (ЭНИ). – 2016. – №2. – С. 1-16.

56. Зорин, И.В. Роль цитокинов и факторов роста в формировании и прогрессировании рефлюкс-нефропатии у детей / И.В. Зорин, А.А. Вялкова // Лечащий врач. – 2015. – №9. – С. 11-14.

57. Изучение роли полиморфизма генов цитокинов в патогенезе хронической крапивницы / Н.И. Баранова [и др.] // Медицинская иммунология. – 2015. – №2. – С. 167-172.

58. Иммунопатогенез бактериальных и вирусных инфекций: роль полиморфизма генов цитокинов / И.О. Наследникова [и др.] // Аллергология и иммунология. – 2008. – Т.9, №3. – С. 294.
59. Интерлейкин-1, интерлейкин-10 в регуляции воспалительного процесса / С.Н. Серебренникова [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – №8. – С. 5-7.
60. Калинина, Н.М. Роль цитокинов слезной жидкости в развитии синдрома «сухого глаза» / Н.М. Калинина, В.Ю. Попов, В.В. Бржетский // Цитокины и воспаление. – 2015. – Т.14, № 1. – С. 5-10.
61. Кетлинский, С.А. Цитокины / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев. – СПб.: Фолиант, 2008. – 552 с.
62. Клинико-генетические аспекты воспалительных заболеваний кишечника / Е.Ю. Валуйских [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2008. – Т.18, №6. – С. 68-74.
63. Клиническая значимость экспрессии Toll2, Toll4, CD14, HLA-DR на моноцитах у пациентов с сепсисом / В.А. Лазанович [и др.] // Медицинская иммунология. – 2015. – №3. – С. 221-228.
64. Князева, А.С. Частота полиморфизма генов провоспалительных цитокинов у больных хронической ишемией головного мозга в Забайкальском крае / А.С. Князева, Н.Н. Страмбовская // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2014. – Т.95, №1. – С. 30-34.
65. Козлов, В.А. Некоторые аспекты проблемы цитокинов / В.А. Козлов // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т.1, №1. – С. 5-8.
66. Козлов, В.К. Сепсис, тяжелый сепсис, септический шок: патогенетическое обоснование диагноза, клиническая интерпретация, принципы и методология диагностики / В.К. Козлов // Клинико-лабораторный консилиум. – 2014. – № 2. – С. 20-40.

67. Кологривова, И.В. Молекулярные аспекты функционирования Т-хелперов 17-го типа / И.В. Кологривова, Е.Н. Кологривова, Т.Е. Суслова // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – № 4. – С. 93-99.
68. Кондратьева, Е.И. Исследование ассоциации полиморфных маркеров генов семейства IL1 (IL1B и ILRA) с клиническими вариантами пиелонефрита / Е.И. Кондратьева, А.А. Терентьева, Н.В. Тарасенко // Вопросы современной педиатрии. – 2014. – №1. – С. 60-64.
69. Коненков, В.И. Структурные основы и функциональная значимость аллельного полиморфизма генов цитокинов человека и их рецепторов / В.И. Коненков, М.В. Смольникова // Медицинская иммунология. – 2003. – Т.5, №.1-2. – С. 11-28.
70. Коненков, В.И. Связь аллельных вариантов промоторных участков генов IL-2 (Т-330G), IL-4 (С-509Т) и IL-10 (С-592А) с уровнем спонтанной продукции цитокинов *in vitro* мононуклеарными клетками периферической крови здоровых жителей Сибири европеоидного происхождения / В.И. Коненков, И.А. Ракова, В.В. Авдшина // Медицинская генетика. – 2006. – Т.5, №3. – С.46-50.
71. Коненков, В.И. Цитокиновые полигенные комплексы – маркеры индивидуальной настройки состояния цитокиновой сети здорового человека и пациентов с заболеваниями различной природы / В.И. Коненков // Аллергология и иммунология. – 2011. – № 2. – С. 191-194.
72. Коррекция состояния иммунитета и гемостаза при рожистом воспалении / А.Н. Емельянова [и др.] // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2008. – №1. – С. 93-95.
73. Кузьминова, Е.П. Полиморфизм генов TLR2 и TLR4 у ожоговых больных с сепсисом / Е.П. Кузьминова // Вестник Челябинского государственного университета. – 2013. – №7(298). – С. 21-23.
74. Кулагина, Ю.Ю. Клеточные и антительные эндотоксинсвязывающие системы, генетический полиморфизм С(-159)Т гена CD14 рецептора

моноцитов у больных с гипертиреозом : дис. ... канд. мед. наук : 14.03.09 / Юлия Юльевна Кулагина. – Симферополь, 2015. – 125 с.

75. Кулаков, А.А. Генетические факторы в развитии заболеваний пародонта / А.А. Кулаков, О.А. Зорина, О.А. Борискина // Российский стоматологический журнал. – 2011. – №1. – С. 48-52.

76. Лимфоцитарная агрегация и лимфоцитарно-тромбоцитарное кластерообразование / А.В. Солпов [и др.] // Материалы XXIII съезда Физиологического общества им.И.П. Павлова (Воронеж, 18-22 сент. 2017 г.). – Воронеж, 2017. – С. 2181-2183.

77. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия и лимфоцитарно-тромбоцитарное кластерообразование у пациентов, инфицированных вирусом гриппа H3N2 / А.С. Емельянов [и др.] // Материалы XXIII съезда Физиологического общества им.И.П. Павлова (Воронеж, 18-22 сент. 2017 г.). – Воронеж, 2017. – С. 2180-2181.

78. Литовская, А.В. Информативность иммунных показателей при оценке действия вредных веществ / А.В. Литовская // Медицина труда и промышленная экология. – 2005. – №9. – С. 30-33.

79. Лысенко, О.В. Использование цитокинов в клинической практике / О.В. Лысенко // Охрана материнства и детства. – 2008. – №1. – С. 54-65.

80. Лысенко, О.В. Оценка уровня секреции цитокинов и sfas-лиганда при гиперпластических процессах и полипах эндометрия в репродуктивном возрасте и новый подход к противорецидивной терапии / О.В. Лысенко // Охрана материнства и детства. – 2014. – №1. – С. 10-16.

81. Мартынова, Г.П. Эпидемиология фебрильных приступов в детской популяции города Красноярска / Г.П. Мартынова, Н.А. Шнайдер, М.А. Строганова // Эпилепсия и пароксизмальные состояния. – 2014. – Т.6, №2. – С. 6-11.

82. Механизмы противoinфекционной функции врожденного иммунитета при трансплантации: роль Toll-подобных рецепторов / С.И. Сусков [и др.] //

Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – Т.14, №2. – С. 116-123.

83. Михалевич И.М. Дискриминантный анализ в медико-биологических исследованиях (с применением пакета прикладных программ STATISTICA 6.1) : учебное пособие / И.М. Михалевич, Т.Н. Юрьева // Иркутск : РИО ГБОУ ДПО ИГМАПО, 2015. – 44 с.

84. Модель прогнозирования артериальной гипертензии у клинически здоровых лиц на основе анализа генетического полиморфизма кальциевых каналов / Б.С. Пушкарёв [и др.] // Врач-аспирант. – 2017. – №3.1. – С. 165-170.

85. Молекулярные аспекты функционирования Т-хелперов 17-го типа / И.В. Кологривова [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – № 4. – С. 93-99.

86. Московская, Т.В. Протеолитические системы при роже: концепция нарушений и оптимизация терапии / Т.В. Московская, Н.Ю. Пшеничная, Н.М. Добаева // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 4-1. – С. 122-128.

87. Особенности полиморфизма генов цитокинов ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-17 А и ФНО-α у больных с различными клинико-патогенетическими вариантами инфекционно-зависимой бронхиальной астмы / Е.М Костина // Аллергология и иммунология. – 2013. – Т.14, №1. – С. 5-9.

88. Особенности цитокинового статуса при различных клинических вариантах гломерулонефрита / Л.М. Карзакова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – №6. – С. 33-36.

89. Пальцев, М.А. Введение в молекулярную диагностику / М.А. Пальцев // М: Медицина, 2011. – 503 с.

90. Полиморфизм Asp299Gly гена TLR4 и тяжелое течение atopической бронхиальной астмы у детей / Ю.А. Вовк [и др.] // Клиническая иммунология, аллергология, инфектология. – 2013. – №2. – С. 98-99.

91. Полиморфизм rs8193036 гена ИЛ-17А в казахской популяции и его связь с продукцией ИЛ-17А у больных рожей / Н.Б. Бекенова [и др.] // Экология человека. – 2016. – №4. – С.50-55.
92. Полиморфизм гена ИЛ-4 (С 589Т) у больных с нарушением консолидации переломов в Забайкальском крае / К.А. Гусев [и др.] // Забайкальский медицинский вестник. – 2014. – №1. – С. 64-68.
93. Полиморфизм гена фактора некроза опухолей альфа у больных инфильтративным туберкулезом легких в Башкирии / А.Р. Бикмаева [и др.] // Молекулярная биология. – 2002. – Т.36, №5. – С. 784-787.
94. Полиморфизм генов про- и противовоспалительных цитокинов и острый бронхит у детей / О.И. Пикуза [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2017. – Т.62, №5. – С. 136-138.
95. Полиморфизм генов-модификаторов иммунного ответа при заболеваниях печени различной этиологии / И.А. Гончарова и [и др.] // Медицинская генетика. – 2010. – №12. – С. 47-49.
96. Полиморфизм промоторного региона rs1800629 гена TNF α и его влияние на содержание фактора некроза опухолей альфа в крови здоровых лиц и больных рожей / А.С. Емельянов [и др.] // Медицинская иммунология. – 2018. – Т.20, №3. – С. 411-416.
97. Прогностическое значение генетического полиморфизма молекул ИЛ-2 (Т330G), ИЛ-10 (С819Т), ИЛ-10 (G1082A) у больных рожей в Забайкальском крае / А.Н. Емельянова [и др.] // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2012. – №21. – С. 159-163.
98. Пузырев, В.П. Генетическое разнообразие народонаселения и болезни человека / В.П. Пузырев, М.Б. Фрейдин, А.Н. Кучер. – Томск : Печатная мануфактура, 2007. – 320 с.
99. Пузырева, Л.В. Генетический полиморфизм цитокинов: прошлое и будущее / Л.В. Пузырева, А.Д. Сафонов // Инфекция и иммунитет. – 2016. – Т.6, №2. – С. 103-108

100. Пшеничная, Н.Ю. Применение препаратов системной энзимотерапии в комплексной терапии рожи: оценка с позиции фармакоэкономики / Н.Ю. Пшеничная, Т.В. Московская, А.В. Чистяков // Журнал инфектологии. – 2014. – №3. – С. 79-83.
101. Ратникова, Л.И. Клинико-патогенетическое обоснование применения меглюмина натрия сукцината в лечении больных рожей / Л.И. Ратникова, С.А. Шип // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2018. – №3. – С. 133-138.
102. Ризванова, Ф.Ф. Полиморфизм генов и внебольничная пневмония у детей / Ф.Ф. Ризванова, О.И. Пикуза, Е.В. Генералова // Практическая медицина. – 2018. – №8. – С. 70-73.
103. Рожа: комплексный подход к лечению / А.И. Зигидуллина [и др.] // Медицинская сестра. – 2006. – №5. – С. 19-20.
104. Рожистое воспаление: современный взгляд на проблему и принципы лечения / Н.А. Бубнова [и др.] // Вестник лимфологии. – 2010. – №4. С. 4-13.
105. Роль Toll-подобных рецепторов в патогенезе инфекционных заболеваний человека / Л.В. Ковальчук [и др.] // Человек и его здоровье. – 2012. – №2. – С. 147-153.
106. Роль Toll-подобных рецепторов в рекогниции патогенассоциированных молекулярных структур инфекционных агентов и развития воспаления. Часть 4. Внутриклеточные сигнальные пути TLR / А.Е. Абатуров [и др.] // Журнал «Здоровье ребенка». – 2012. – №8(43). – С. 34-39.
107. Роль полиморфизма генов Toll-подобных рецепторов в развитии осложнений атеросклероза / О.Л. Барбаш [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2015. – №12. – С. 72-79.
108. Роль цитокинов в редокс-зависимой регуляции апоптоза / О.Е. Чечина [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2009. – № 2. – С. 67-72.
109. Романова, Е.Н. Генетические особенности у больных гриппом А/Н1N1/09, осложненным пневмонией / Е.Н. Романова, А.В. Говорин // Пульмонология. – 2015. – Т.25, №4. – С. 425-432.

110. Рыдловская, А.В. Функциональный полиморфизм гена TNFA и патология / А.В. Рыдловская, А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т.4, №3. – С. 1-10.
111. Сабитова О.Н. Полиморфизм генов и продукция основных иммунорегуляторных цитокинов при внебольничной пневмонии / О.Н. Сабитова, В.И. Совапкин // Омский научный вестник. – 2009. – №1(84). – С. 42-45.
112. Сапронов, Г.В. Возможности коррекции интерферон-индуцированной лейкопении у больных хроническим гепатитом С / Г.В. Сапронов, Н.М. Беляева // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2012. – №4. – С. 1-5.
113. Саха, Д. A603G полиморфизм гена тканевого фактора и медиаторы иммунного повреждения сосудистой стенки у больных ишемической болезнью сердца : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.05 / Дебдас Саха. – Санкт-Петербург, 2013. – 18 с.
114. Семинский И.Ж. Роль цитокинов в патогенезе заболеваний (сообщение 2) / И.Ж. Семинский, С.Н. Серебренникова, Е.В. Гузовская // Сибирский медицинский журнал. – 2015. – №1. – С. 14-17.
115. Серебренникова, С.Н. Патофизиология воспалительного процесса : учебное пособие / С.Н. Серебренникова, И.Ж. Семинский // Иркутск : ИГМУ, 2014. – 82 с.
116. Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2002. – №1. – С. 9-17.
117. Симбирцев, А.С. Цитокины: классификация и биологические функции / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т.3, №2. – С. 16-21.
118. Симбирцев, А.С. Функциональный полиморфизм генов регуляторных молекул воспаления / А.С. Симбирцев, А.Ю. Громова // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т.4, №1. – С. 3-10.

119. Симбирцев, А.С. Роль полиморфизма генов цитокинов в регуляции воспаления и иммунитета / А.С. Симбирцев, А.Ю. Громова, А.В. Рыдловская / Медицинский журнал. – 2006. – Т.6, №1. С. 144-149.
120. Симбирцев, А.С. Функциональный полиморфизм генов регуляторных молекул воспаления / А.С. Симбирцев, А.Ю. Громова // Цитокины и воспаление. – 2010. – №1. – С. 1-10.
121. Современные взгляды на патогенетическую терапию рожи / Л.А. Ермакова [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. – 2018. – №6. – С. 69-72.
122. Современные представления о патогенезе инфекционных заболеваний / Е.В. Пименов [и др.] // Вестник РАМН. – 2003. – №6. – С. 3-8.
123. Степаненко, С.Ф. Снижение риска инфекционно-воспалительных заболеваний в системе «мать – новорожденный» / С.Ф. Степаненко // Сибирский медицинский журнал. – 2007. – Т.22, №3. – С. 102-115.
124. Телетаева, Г.М. Цитокины и противоопухолевый иммунитет / Г.М. Телетаева // Практическая онкология. – 2007. – Т.8. – С. 211-218.
125. Унгурияну, Т.Н. Сравнение трех и более независимых групп с использованием непараметрического критерия Краскела–Уоллиса в программе STATA / Т.Н. Унгурияну, А.М. Гржибовский // Экология человека. – 2014. – №6. – С. 55-58.
126. Хаитов, Р.М. Иммунология: учебное пособие (3-е изд., перераб. и доп.) / Р.М. Хаитов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 496 с.
127. Хаитов, Р.М. Геномика и протеомика генов иммунного ответа / Р.М. Хаитов, Л.П. Алексеев // Физиология и патология иммунной системы. – 2018. – № 8. – С. 3-25.
128. Харьковская, О.А. Сравнение двух несвязанных выборок с использованием пакета программ STATA: непараметрические критерии / О.А. Харьковская, А.М. Гржибовский // Экология человека. – 2014. – №4. – С. 60-64.
129. Черкасов, В.Л. Рожа / В.Л. Черкасов. – Л. : Медицина, 1986. – 198 с.

130. Эпидемиология детской эпилепсии / Н.А. Шнайдер [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2012. – Т.2, №74. – С. 44-50.
131. Эпидемиология фебрильных приступов (обзор) / М.А. Строганова [и др.] // В мире научных открытий. – 2014. – Т.8, №56. – С. 216-231.
132. A flexible computational framework for detecting, characterizing, and interpreting statistical patterns of epistasis in genetic studies of human disease susceptibility / J.H. Moore [et al.] // Journal of Theoretical Biology. – 2006. – Vol.241, №2. – P.252-261.
133. A meta-analysis of the relation of polymorphism at sites -1082 and -592 of the IL-10 gene promoter with susceptibility and clearance to persistent hepatitis B virus infection in the Chinese population / T.C. Zhang [et al.] // Infection. – 2011. – Vol.39, №1. – P. 21-27.
134. A murine IL-4 Receptor antagonist that inhibits IL-4 and IL-13-Induced Responses prevents antigeninduced airway eosinophilia and airway hyperresponsiveness / Tomkinson A. [et al.] // The Journal of immunology. – 2001. – Vol.166. – P. 5792-5800.
135. A role for Toll-like receptor 3 variants in host susceptibility to enteroviral myocarditis and dilated cardiomyopathy / C. Gorbea [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 2010. – Vol.285. – P. 23208-23223.
136. Allelic polymorphism of cytokine genes during pulmonary tuberculosis / I.O. Naslednikova [et al.] // Bull. Exp. Biol. Med. – 2009. – №2 – P. 175-180.
137. Association of a promoter polymorphism of the CD14 gene and atopy / G. Koppelman [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care. Med. – 2001. – Vol.163. – P. 965-969.
138. Association of single nucleotide polymorphisms of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor with venous thromboembolism in patients with lung cancer / X.L. Zhang [et al.] // Zhonghua Yi Xue Za Zhi. – 2018. – №12. – P. 901-906.

139. Association of toll-like receptor 3 gene polymorphism with subacute sclerosing panencephalitis / Y. Ishizaki [et al.] // *Journal of NeuroVirology*. – 2008. – Vol.14. – P. 486-491.
140. Association of Toll-like receptor 4 polymorphism with hepatitis E virus-infected Indian patients / R.P. Arya [et al.] // *J. Viral. Hepat.* – 2018. – №12. – P. 1617-1623.
141. Autoimmunity and tuberculosis. Opposite association with TNF polymorphism / P. Correa [et al.] // *The Journal of Rheumatology*. – 2005. – Vol.32. – P. 219-224.
142. Bardoel, B.W. The balancing act of neutrophils / B.W. Bardoel, E.F. Kenny, G. Sollberger // *Cell host and microbe*. – 2014. – Vol.15. – Access mode: <http://www.biomedsearch.com/nih/Balancing-Act-Neutrophils/24832448.html> (date of the application 18.05.2019).
143. Buddelmeijer, N. The molecular mechanism of bacterial lipoprotein modification — how, when and why? / N. Buddelmeijer // *FEMS Microbiol. Rev.* – 2015. – Vol.39, №2. – P. 246–261.
144. Beutler, B. Innate immune sensing and its roots: the story of endotoxin / B. Beutler, E.T. Rietschel // *Nat. Rev. Immunol.* – 2003. – №3. – P. 169-176.
145. CD14 and TNFa promoter polymorphisms in patients with acute arthritis. Special reference to development of chronic spondy loarthropathy / H. Repo [et al.] // *Scand. J. Rheumatol.* – 2002. – Vol.31. – P. 355-361.
146. CD14 C-159T and early infection with *Pseudomonas aeruginosa* in children with cystic fibrosis / A.C. Martin [et al.] // *Respir Res.* – 2005. – №1. – P. 63.
147. Chen, C. Role of extracellular RNA and TLR3-Trif signaling in myocardial ischemia-reperfusion injury, / C. Chen, Y. Feng, L. Zou // *Journal of the American Heart Association*. – 2014. – Vol.3, №1. – Access mode: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/JAHA.113.000683> (date of the application 18.05.2019).
148. Consensus proposals for classification of the family Hepeviridae / D.B. Smith [et al.] // *Journal of General Virology*. – 2015. – Vol.96. – P. 1191-1192.

149. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, supplement 1 / J. Bidwell [et al.] // *Genes and Immunity*. – 2001. – №2. – P. 61-70.
150. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, supplement 2 / N. Haukim [et al.] // *Genes Immun.* – 2002. – № 3. – P. 313-330.
151. D'Alfonso, S. A polymorphism variation in a putative regulation box of the TNFA promoter region / S. D'Alfonso, P.M. Richiardi // *Immunogenetics*. – 1994. – №39. – P. 150.
152. Effects of the cell wall of *Streptococcus mutans* on the expression of TLR4, IL-6 and IL-8 by EAhy926 cells / Q. Li [et al.] // *Wei Sheng Wu Xue Bao*. – 2010. – Vol.50, №2. – P. 204-210.
153. Epidemiology and characteristics of febrile seizures in children / C. Kaputu Kalala Malu [et al.] // *Revue Medicale de Liege*. – 2013. – Vol.68, №4. – P. 180-185.
154. Extracellular RNAs-TLR3 signaling contributes to cognitive decline in a mouse model of postoperative cognitive dysfunction / C. Chen [et al.] // *Brain, Behavior, and Immunity*. – 2019. – Access mode: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889159119300583?via%3Dihub> (date of the application 18.05.2019).
155. Ferrero, E. Nucleotide sequence of the gene encoding the monocyte differentiation antigen, CD14 / E. Ferrero, S.M. Goyert // *Nucleic Acids Res.* – 1988. – Vol.16, №9. – P. 4173.
156. Ferrero-Miliani, L. Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation / L. Ferrero-Miliani [et al.] // *Clin. Exp. Immunol.* – 2007. – №2. – P. 227-235.
157. Genetic Polymorphisms in Cytokine Genes in Colombian Patients with Ocular Toxoplasmosis. C.A. Naranjo-Galvis [et al.] // *Infect Immun.* – 2018. – Vol.86, №4. – Access mode: <https://iai.asm.org/content/86/4/e00597-17> (date of the application 18.05.2019).
158. Genetic Polymorphisms of IL1B, IL6, and TNF α in a Chinese Han Population with Pulmonary Tuberculosis / S. Wu [et al.] // *Biomed Res Int.* – 2018.

– Access mode: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2018/3010898> (date of the application 18.05.2019).

159. Genetic polymorphisms of interleukin IL-1B, IL-1RN, IL-8, IL-10 and tumor necrosis factor {alpha} and risk of gastric cancer in a Chinese population / W. Lu [et al.] // *Carcinogenesis*. – 2005 – Vol.26, №3. – P. 631-636.

160. Genetic variations in the tissue factor gene are associated with clinical outcome in acute coronary syndrome and expression levels in human monocytes / A. Mälarstig [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2005. – №12. – P. 2667-2672.

161. Genomic analysis of Th1-Th2 cytokine genes in an AIDS cohort: identification of IL4 and IL10 haplotypes associated with the disease progression / A. Vasilescu [et al.] // *Genes and Immunity*. – 2003. – №4. – P. 441-449.

162. Haberbosch W. CD14 promoter polymorphism (C(-159)T) is not associated with myocardial infarction or coronary artery disease in patients with assumed high genetic risk / W. Haberbosch, K. Unkelbach, D. Schuster // *Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2009. – Vol.57. – P. 386-390.

163. Hangyu, Wu. Arg753Gln polymorphisms in Toll-like receptor 2 gene are associated with tuberculosis risk: a meta-analysis / W. Hangyu, L. Yang // *Med. Sci. Monit.* – 2015. – Vol.21. P. 2196-2202.

164. Haplotype Analysis of Interleukin-10 Gene Promoter Polymorphisms in Chronic Hepatitis C Infection: A Case Control Study / S. Sepahi [et al.] // *Viral immunology*. – 2014. – Vol.27, №8. – P. 398-403.

165. Helicobacter pylori lipopolysaccharide can activate 70Z/3 cells via CD 14 / T.S. Kirkland [et al.] // *Infect. Immun.* – 1997. – Vol.65. – P. 604-608.

166. Hollegaard, M.V. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, Supplement 3 / M.V. Hollegaard, J.L. Bidwell // *Genes Immun.* – 2006. – Vol.7, №4. – P. 269-276.

167. Hubacek, J.A. The common functional C(-159)→T polymorphism within the promoter region of the lipopolysaccharide receptor CD14 is not associated with

- sepsis development or mortality / J.A. Hubacek, F. Stuber, D. Frohlich // *Genes. Immun.* – 2000. – Vol.1. – P. 405-407.
168. Human lymphotoxin and tumor necrosis factor genes: structure, homology and chromosomal localization / G.E. Nedwin [et al.] // *Nucleic Acids Res.* – 1985. – №13 – P. 6361-6372.
169. IL-10 and TNF-alpha polymorphisms in a sample of Sicilian patients affected by tuberculosis: implication for ageing and life span expectancy / L. Scola [et al.] // *Mechanisms of Ageing and Development.* – 2003. – Vol.124, Is.4. – P. 569-572.
170. Increased tissue factor expression on circulating monocytes in chronic HIV infection: relationship to in vivo coagulation and immune activation / N.T. Funderburg [et al.] // *Blood.* – 2010. – Vol.115, №2. – P. 161-167.
171. Induction of microparticle- and cell-associated intravascular, tissue factor in human endotoxemia / O. Aras [et al.] // *Blood.* – 2004. – Vol.103. – P. 4545-4553.
172. Inghammar, M. Recurrent erysipelas – risk factors and clinical presentation / M. Inghammar, A. Rasmussen, A. Linder // *BMC Infectious Diseases.* – 2014. – №1. – P. 1-6.
173. Interleukin-1 Gene Cluster Polymorphisms and Their Association with Coronary Artery Disease: Separate Evidences from the Largest Case-Control Study amongst North Indians and an Updated Meta-Analysis / R. Himanshu [et al.] // *PLOS ONE.* – 2016. – №4. – P. e0153480.
174. Kawasaki, T. Toll-Like Receptor Signaling Pathways / T. Kawasaki, T. Kawai // *Frontiers in Immunology.* – 2014. – №5. – P. 461.
175. Kurschus, F.C. Of men and mice: Analysing the action of an established drug using tumour necrosis factor- α -deficient mice in the imiquimod psoriasis model / F.C. Kurschus // *British Journal of Dermatology.* – 2016. – Vol.174, №5. – P. 955-956.
176. Li, H. Streptococcus mutans wall-associated protein A promotes TLR4-induced dendritic cell maturation / H. Li, D. Wang // *Scandinavian Journal Of Immunology.* – 2014. – Vol.80, №2. – P. 121-126.

177. Liu, X.Q. The association between C(-159)T polymorphism in promoter region of CD 14 polymorphism and coronary heart disease / X.Q. Liu, J.Y. Yang // *Yi Xue Xin Zhi Za Zhi.* – 2010. – Vol.20. – P.427-429.
178. Liu, Y. TLR4 activation by lipopolysaccharide and *Streptococcus mutans* induces differential regulation of proliferation and migration in human dental pulp stem cells / Y. Liu, Y. Gao, X. Zhan // *Journal of Endodontics.* – 2014. – Vol.40, №9. – P. 1375-1381.
179. Measurement of tissue factor activity in whole blood / R. Santucci [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2000. – Vol.83, №3. – P. 445–454.
180. Medhat, E. Serum soluble CD14 in Egyptian patients with chronic hepatitis C: its relationship to disease progression and response to treatment / E. Medhat, H. Salama, H. Fouad // *J Interferon Cytokine Res.* – 2015. – №7. – P. 563–568.
181. Molteni, M. The role of toll-like receptor 4 in infectious and noninfectious inflammation / M. Molteni, S. Gemma, C. Rossetti // *Mediators of Inflammation.* – 2016. – P. 6978936
182. Monocyte antigen CD14 is a phospholipid anchored membrane protein / D.L. Simmons [et al.] // *Blood.* – 1989. – №73. – P. 284
183. NF- κ B signaling in inflammation / T. Liu [et al.] // *Signal Transduction and Targeted Therapy.* – 2017. – №2. – P. e17023.
184. Opisthorchiasis with proinflammatory cytokines (IL-1 β and TNF- α) polymorphisms influence risk of intrahepatic cholangiocarcinoma in Thailand: a nested case-control study / S. Promthet [et al.] // *BMC Cancer.* – 2018. – Vol.18, №1. – P. 846.
185. Osterud, B. The tissue factor pathway in disseminated intravascular coagulation / B. Osterud, E. Bjorklid // *Semin Thromb Hemost.* – 2001. – Vol.27, №6. – P. 605-617.
186. P332 L162V PPARALFA gene polymorphism, A603G tissue factor gene polymorphism and markers of endothelial dysfunction in coronary heart disease patients in Russian population / Z. Ionova [et al.] // *Abstract book for: Frontiers in Cardiovascular Biology.* – 2014. – Suppl.1. – S.60.

187. Pantsulaia, I. Circulatory cytokines profiles in an apparently healthy population / I. Pantsulaia, E. Kobylansky // *Allergology and Immunology*. – 2004. – T.5, №3. – P. 472-474.
188. Peddireddy, V. Mycobacterial dormancy systems and host responses in tuberculosis/ V. Peddireddy, S. Narayana Doddam, N. Ahmed // *Front. Immunol.* – 2017. – Vol.8 – P. 1-19.
189. Pereira, V. A. IL10A genotypic association with decreased IL-10 circulating levels in malaria infected individuals from endemic area of the Brazilian Amazon / V. A. Pereira, J. C. Sánchez-Arcila, A. Têva // *Malaria Journal*. – 2015. – Vol.14. – P. 30.
190. Polymorphisms in the 5' regulatory region of the tissue factor gene and the risk of myocardial infarction and venous thromboembolism: the ECTIM and PATHROS studies. Etude Cas-Témoins de l'Infarctus du Myocarde. Paris Thrombosis case-control Study. *Arterioscler* / E. Arnaud [et al.] // *Thromb. Vasc. Biol.* – 2000. – №3. – P. 892-898.
191. Pro-coagulant activity during exercise testing in patients with coronary artery disease / J. Cwikiel [et al.] // *Thrombosis Journal*. – 2017. – Vol.15, №3. – Access mode: <https://doi.org/10.1186/s12959-016-0127-8> (date of the application: 18.05.2019).
192. Proliferation, differentiation, and cytokine secretion of human umbilical cord blood-derived mononuclear cells in vitro / S. Neuhoff [et al.] // *Exp. Hematol.* – 2007. – Vol.35, №7 – P. 1119-1131.
193. Promoter region poly morphism of the CD14 gene (C159T) is not associated with psoriasis vulgaris / J. Karhukorpi [et al.] // *Eur. J. Immunol.* – 2002. – Vol.29. – P. 57-60.
194. Rajasuriar, R. The CD14 C-260T single nucleotide polymorphism (SNP) modulates monocyte/macrophage activation in treated HIV-infected individuals / R. Rajasuriar, Y. Y. Kong, R. Nadarajah // *Journal of Translational Medicine*. – 2015. – Vol.13, №30. – Access mode: <https://doi.org/10.1186/s12967-015-0391-6> (date of the application: 18.05.2019).

195. Recurrent Cellulitis: Risk Factors, Etiology, Pathogenesis and Treatment / M. P. Chlebicki [et al.] // *Current Infectious Disease Reports*. – 2014. – Vol.16. – P. 422.
196. Relevance of the tumor necrosis factor alpha promoter polymorphism in TNF alpha gene regulation / B.M.N. Brinkman [et al.] // *Journal of Inflammation*. – 1996. – №46. – P. 32.
197. Resistance to endotoxin shock and reduced dissemination of gram-negative bacteria in CD14-deficient mice / A. Haziot [et al.] // *Immunity*. – 1996. – №4. – P. 407.
198. Risk factors associated with local complications of erysipelas: A retrospective study of 152 cases / T. Hicham [et al.] // *Pan African Medical Journal*. – 2017. – DOI: 10.11604/pamj.2017.26.66.11096
199. Seghatchian, M.J. Hypercoagulability, inflammatory cytokines, disseminated intravascular coagulation and hyperfibrinolysis / M.J. Seghatchian, M.M. Samama // In: *Hypercoagulable states. Fundamental aspects, acquired disorders and congenital thrombophilia*. Hecker S.P. (eds). – New York, London, Tokyo: CRS Press. Inc., Boca Raton, 1996. – P. 311-325.
200. Single base change in the human tumor necrosis factor alpha (TNF- α) gene detectable by NcoI restriction of a PCR product / A.G. Wilson [et al.] // *Human Mol. Genet*. – 1992. – №1. – P. 353.
201. Strambovskaya, N.N. Analysis of complex genetic polymorphisms carriers associated with ischemic stroke / N.N. Strambovskaya // *Medicine: Selected Papers of the International Scientific School “Paradigma” (Varna, Bulgaria summer-2015)*. – 2015. – P. 96-106.
202. The -159 C \rightarrow T polymorphism of CD14 is associated with nonatopic asthma and food allergy / J. Woo [et al.] // *Allergy Clin. Immunol*. – 2003. – Vol.112. – P. 438-444.
203. The -260 C \rightarrow T promoter polymorphism of the lipopolysaccharide receptor CD14 and severe sepsis in trauma patients / M. Heesen [et al.] // *Intensive Care Med*. – 2002. – Vol.28. – P. 1161-1163.

204. The efficacy of tissue factor –603A/G and +5466A>G polymorphisms at the development of venous thromboembolism in cancer patients / A. Eroğlu [et al.] // *Exp. Oncol.* – 2016. – Vol.38, №3. – P. 1.
205. The influence of mutation in the SLC26A4 gene on the temporal bone in a population with enlarged vestibular aqueduct / C. Madden [et al.] // *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* – 2007. – Vol.133, №2. – P. 162-168.
206. The influence of interleukin 17A and IL17F polymorphisms on chronic periodontitis disease in Brazilian patients / J. M. V. Zacarias [et al.] // *Mediators of Inflammation.* – 2015. – Access mode: <https://www.hindawi.com/journals/mi/2015/147056/> (date of the application: 18.05.2019).
207. The role of polymorphism Asp299Gly of the gene TLR 4 in patients co-infected with HIV/HCV / K. Yurko [et al.] // *Georgian Med News.* – 2018. Vol.280-281. – P. 138-141.
208. The Role of Tissue Factor in Atherothrombosis and Coronary Artery Disease: Insights into Platelet Tissue Factor / M. Camera [et al.] // *Seminars in Thrombosis and Hemostasis.* – 2015. – Vol.41, №7. – P. 737-746.
209. Thomas, E. Common human Toll-like receptor 4 polymorphisms: role in susceptibility to respiratory syncytial virus infection and functional immunological relevance / E. Thomas, S.E. Turvey // *Clin. Immunol.* – 2007. – Vol.123. – P. 252-257.
210. Tissue factor +5466A>G polymorphism determines thrombin formation following vascular injury and thrombin-lowering effects of simvastatin in patients with ischemic heart disease / A. Undas [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2009. – №2. – P. 567-572.
211. Tissue factor pathway inhibitor system and long-term prognosis after acute myocardial infarction / V. Roldán [et al.] // *Int. J. Cardiol.* – 2001. – Vol.78, №2. – P. 115-119.

212. Tissue factor promotor polymorphism –603 A/G is associated with myocardial infarction / I. Ott [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2004. – Vol. 177, №1. – P. 189-191.
213. TLR2-TLR4/CD14 polymorphisms and predisposition to severe invasive infections by *Neisseria meningitidis* and *Streptococcus pneumonia* / JJ. Tellería-Orriols [et al.] // *Medicina Intensiva*. – 2014. – Vol.38, №6. – P. 356-362.
214. TNF- α -308G/A polymorphism and susceptibility to tuberculosis in Azeri population of Iran / S. Ghorghanlu [et al.] // *Genetika*. – 2016. – №3. – P. 819-826.
215. Toll-like receptor 4 gene polymorphisms and susceptibility to colorectal cancer: a meta-analysis and review / W. Y. Sheng [et al.] // *Arch Med Sci*. – 2015. – Vol.11, №4. – P. 699-707.
216. Tumour necrosis factor alpha (-238 and -308) and Beta gene polymorphisms in pulmonary tuberculosis: haplotype analysis with HLA-A,B and DRB1 genes / P. Selvaraj [et al.] // *Tuberculosis (Edinb)*. – 2001. – Vol.81, Is.5-6. – P. 335-341.
217. Vidyant, S. A single-nucleotide polymorphism in TLR4 is linked with the risk of HIV-1 infection / S. Vidyant, A. Chatterjee, T.N. Dhole // *Br. J. Biomed. Sci*. – 2018. – Dec.20. – P. 1-5.
218. Vitkovsky, Yu. Interleukins modulate fibrinolytic properties of lymphocytes / Yu. Vitkovsky // *Fibrinolysis and Proteolysis*. – 2000. – Vol.14, Suppl.1. – P. 68.
219. Wang, Q. TNF-308 gene polymorphism and tuberculosis susceptibility: a meta-analysis involving 18 studies/ Q. Wang, P. Zhan, LX. Qiu // *Molecular Biology Reports*. – 2012. – Vol.39, Is.4. – P. 3393-3400.
220. Wittebole, X. Toll-like receptor 4 modulation as a strategy to treat sepsis / X. Wittebole, D. Castanares-Zapatero, P.F. Laterre // *Mediators Inflamm*. – 2010. – Vol.2010. – P. 5683-5696.
221. Zanoni, I. By Capturing Inflammatory Lipids Released from Dying Cells, the Receptor CD14 Induces Inflammasome-Dependent Phagocyte Hyperactivation. / I. Zanoni., Y. Tan, M. Di Gioia // *Immunity*. – 2017. – Vol.47, №4. – P. 697-709.