

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



*На правах рукописи*

**ЧУПРОВА ГАЛИНА АЛЕКСАНДРОВНА**

**НЕКОТОРЫЕ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ГРИППА  
А (H3N2)**

3.3.3. Патологическая физиология  
(медицинские науки)

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**  
доктор медицинских наук, доцент  
Емельянова Альвина Николаевна

Чита – 2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ГРИПП: СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ЭТИОЛОГИИ, МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМАХ ПАТОГЕНЕЗА, РОЛИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	13
1.1. Общие вопросы патогенеза гриппа.....	14
1.2. Молекулярные механизмы развития гриппа.....	15
1.3. Характеристика значимых генов цитокинов и их полиморфизм при инфекционных некоторых заболеваниях.....	18
1.4. Полиморфизм генов рецепторов иммунокомпетентных клеток в патогенезе некоторых инфекционных заболеваний.....	26
1.5. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия при некоторых инфекционных заболеваниях.....	32
ГЛАВА 2. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	38
2.1. Характеристика исследуемых групп.....	38
2.1.1. Клиническая характеристика пациентов с гриппом А(Н3N2).....	40
2.2. Лабораторные методы исследований.....	41
2.2.1. Определение концентрации цитокинов.....	41
2.2.2. Определение полиморфизма генов.....	41
2.2.3. Определение показателя лимфоцитарно - тромбоцитарной адгезии.....	42
2.3. Методы статистической обработки полученных результатов	42
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	44
3.1. Исследование генетического полиморфизма цитокинов при гриппе.....	44
3.1.1. Полиморфизм промотора гена <i>IL-2</i> ( <i>T330G</i> ) и его влияние на показатель лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии и содержание интерлейкина 2 в крови пациентов при гриппе А(Н3N2).....	44

3.1.2. Полиморфизм промотора гена <i>IL-4</i> ( <i>C589T</i> ) и его влияние на показатель лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии и содержание интерлейкина 4 в крови пациентов при гриппе А(Н3N2).....	49
3.1.3. Полиморфизм промоторных регионов гена <i>IL-10</i> ( <i>C819T</i> , <i>G1082A</i> ) и их влияние на показатель лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии и содержание интерлейкина 10 в крови пациентов при гриппе А(Н3N2).....	54
3.2. Исследование полиморфизма сигнальных молекул <i>CD14</i> ( <i>C159T</i> ), <i>TLR2</i> ( <i>Arg753Gln</i> ), <i>TLR3</i> ( <i>Phe412Leu</i> ), <i>TLR4</i> ( <i>Asp299Gly</i> ) и <i>TLR4</i> ( <i>Thr399Ile</i> ) у больных гриппом А(Н3N2) и здоровых лиц.....	61
3.3. Модель индивидуального прогнозирования развития гриппа А(Н3N2) у клинически здоровых лиц на основе анализа полиморфизма генов <i>TLR2</i> ( <i>Arg753Gln</i> ), <i>TLR3</i> ( <i>Phe412Leu</i> ), <i>TLR4</i> ( <i>Asp299Gly</i> ), <i>TLR4</i> ( <i>Thr399Ile</i> ).....	66
3.4. Регрессионная многофакторная модель установления патогенетических механизмов развития гриппа А(Н3N2) с учетом полиморфизма генов <i>CD14</i> ( <i>C159T</i> ), <i>TLR2</i> ( <i>Arg753Gln</i> ), <i>TLR3</i> ( <i>Phe412Leu</i> ), <i>TLR4</i> ( <i>Asp299Asp</i> ), <i>TLR4</i> ( <i>Thr399Thr</i> ), <i>IL-2</i> ( <i>T330G</i> ), <i>IL-4</i> ( <i>C589T</i> ), <i>IL-10</i> ( <i>C819T</i> ), <i>IL-10</i> ( <i>G1082A</i> ), содержания ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10 в плазме крови и параметров лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии .....	71
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	73
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	90
ВЫВОДЫ.....	91
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	93
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ....	94
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	95
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	97

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Грипп и другие острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) являются самыми массовыми заболеваниями и занимают одно из ведущих мест в структуре инфекционной патологии [8, 9, 21, 46, 107]. Ежегодно в мире гриппом и ОРВИ болеют до 500 миллионов, в России до 30 миллионов человек (10-20% населения) [9, 68, 107, 148, 234].

Пандемия гриппа 1918-1919 гг., по различным данным, затронула около 500 миллионов человек во всем мире и унесла жизни от 50 до 100 миллионов человек [7, 68, 99]. В межпандемическое время вирус гриппа вызывает до 5 миллионов случаев тяжелых заболеваний у людей и 650 000 смертей [25, 107]. Каждая эпидемия и пандемия гриппа несет за собой огромное число обострений сердечно-сосудистых и легочных заболеваний, часто приводящих к летальному исходу. В период эпидемий и пандемий наиболее тяжело грипп протекает у детей до года и у лиц пожилого возраста, беременных женщин [25].

В последнее время наблюдается одномоментная циркуляция нескольких типов и подтипов вирусов гриппа А(H1N1), А(H3N2) и В, а также их различных антигенных вариантов с неодинаковой ролью в разные эпидемические сезоны. В случае пандемии заболевание вызывается новыми серотипами вируса гриппа, быстро распространяется и характеризуется развитием очень тяжелых форм [47]. В 2009 г. человечество стало свидетелем пандемии, обусловленной вариантом вируса гриппа А/Н1N1pdm09 – тройным реассортантом, сочетающим сегменты рибонуклеиновой кислоты (РНК) от штаммов гриппа человека, свиней и птиц. [34]. Пандемический вирус гриппа часто вызывал быстро прогрессирующую пневмонию и острую дыхательную недостаточность (ОДН). Лица молодого и среднего возраста нуждались в госпитализации в 3,4 раза чаще, чем в предыдущую эпидемию, высокий риск осложнений имели беременные женщины [15, 23, 40, 86, 140].

Инфекция, вызванная вирусом гриппа А(Н3N2), стала на сегодняшний день основной причиной сезонных заболеваний гриппом за последние 50 лет, при этом число госпитализаций от инфекции, вызванной вирусом гриппа А(Н3N2) более чем в два раза превышает таковую при гриппе А(Н1N1) за последние шесть эпидемических сезонов [182].

По мнению ученых, фактором, способствующим более широкому распространению гриппа А (Н3N2), являются его более частые антигенные мутации, по сравнению с гриппом А(Н1N1) [224].

Известно, что свойства возбудителя, факторы внешней среды, а также свойства генома человека играют огромную роль в развитии инфекционной патологии. Особенности генотипа индивидуума оказывают влияние на восприимчивость и устойчивость к действию инфекционного агента [26, 35, 40, 43, 54, 69, 87, 117, 125, 209].

Молекулярно-генетические исследования в этом направлении могут позволить с новых позиций описать патогенез, оценить риск развития заболевания.

В связи с этим изучение особенностей патогенеза гриппа А(Н3N2) и разработка прогностических критериев развития заболевания является актуальной задачей персонализированной медицины.

### **Степень разработанности темы исследования**

С момента своего появления вирусы гриппа А(Н3N2) вызвали значительную совокупную заболеваемость и смертность во всем мире во время сезонных эпидемий гриппа [182]. По-прежнему грипп А(Н3N2) продолжает распространяться, адаптироваться, уклоняться от иммунитета хозяина и вызывать большее количество госпитализаций и смертей, чем вирусы гриппа А(Н1N1) и В [182].

Согласно современным данным, различия в генах влияют на уровень продукции кодируемых белков, вызывая нарушения контроля защитных реакции

организма, изменяя тем самым характер иммунного ответа [251]. Полиморфизм единичных нуклеотидов (SNP) является наиболее частым изменением структуры генов, сведения о которых особенно важны для диагностики болезней на молекулярном уровне [189, 209, 222, 227]. Существенным фактором для определения как предрасположенности, так и резистентности к инфицированию, длительности, тяжести, развитию осложнений заболеваний, в том числе и при гриппе А (H3N2), может являться генетическая информация о цитокинах.

В настоящее время изучены многие звенья патогенеза гриппа, среди них продемонстрирована взаимосвязь между генотипом -1082G/G и развитием ОРДС при гриппе А(H1N1) [208]; доказано, что прогностическими факторами риска развития пневмонии у больных гриппом А/H1N1pdm09 явились полиморфизмы гена *IL-10* 592CC, 819CC, 1082GG, а в прогнозировании тяжелого течения пневмонии при гриппе А/H1N1 имеют значение гаплотипы *TNF* (308GG); *IL 10* (819CC); (1082GG) [84]. Повышение уровня IL-10 в крови связано со среднетяжёлым течением гриппа А/H1N1pdm09, так и с тяжёлым течением заболевания с развитием острого респираторного дистресс-синдрома, но с высоким процентом выживаемости заболевших [211].

Выявлена взаимосвязь между выраженностью и продолжительностью симптомов заболевания при неосложненном и осложненном пневмонией гриппе и концентрацией провоспалительных ( $TNF\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8) и противовоспалительных цитокинов (IL-1, и IL-10), а также показателями интерферонового статуса ( $antiIFN\alpha$ ,  $IFN\alpha$  и  $IFN\gamma$ ) пациента [12]. Выявлено повышение уровня IL-10 в периферической крови у больных как среднетяжелым течением гриппа А(H1N1), так и с тяжелым течением заболевания с развитием острого респираторного дистресс-синдрома [228]. Учёными описано, что повышенный уровень IL-10 в крови пациентов с гриппом А(H1N1) может привести к прогрессированию заболевания [176]. Уровень IL-2 при снижении  $IFN-\gamma$  может указывать на тяжелое течение гриппа А(H1N1) у детей [149].

Несмотря на то, что из года в год накапливаются новые сведения о генетических маркерах, играющих роль предикторов развития и тяжелого течения гриппозной инфекции, информация о них при гриппе А(Н3N2) практически отсутствует. Исследование молекулярно-генетических механизмов реализации иммунологической защиты, реакций системы гемостаза позволило бы объяснить индивидуальные особенности патогенеза данного заболевания и обосновать персонифицированный подход к разработке методов профилактики, прогнозирования течения гриппа А(Н3N2).

### **Цель исследования**

Оценить вклад некоторых иммунологических и молекулярно-генетических механизмов в развитии неосложненных форм гриппа А(Н3N2).

### **Задачи исследования**

1. Исследовать частоту встречаемости аллельных вариантов генов *CD14* (*C159T*), *TLR2* (*Arg753Gln*), *TLR3* (*Phe412Leu*), *TLR4* (*Asp299Gly*), *TLR4* (*Thr399Ile*), *IL-2* (*T330G*), *IL-4* (*C589T*), *IL-10* (*C819T*), *IL-10* (*G1082A*) у больных гриппом А(Н3N2).
2. Оценить влияние SNP генов *IL-2* (*T330G*), *IL-4* (*C589T*), *IL-10* (*C819T*), *IL-10* (*G1082A*) на уровень цитокинов в сыворотке крови больных гриппом А(Н3N2).
3. Изучить лимфоцитарно-тромбоцитарную адгезию у больных - носителей различных SNP генов иммунорегуляторных молекул – *IL-2* (*T330G*), *IL-4* (*C589T*), *IL-10* (*C819T*), *IL-10* (*G1082A*) при гриппе А(Н3N2).
4. Оценить прогностическую значимость изучаемых показателей в развитии гриппа А(Н3N2).

### **Методология и методы исследования диссертации**

Данное исследование представляет самостоятельный фрагмент научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (номер государственной регистрации АААА-А17-117030310232-5).

По дизайну исследование одноцентровое, проспективное, рандомизированное, сравнительное, контролируемое в параллельных группах, проведено в соответствии с методологическими принципами целостности, достоверности и объективности. Исследованы 89 пациентов с подтвержденным диагнозом грипп А(Н3N2) (возраст составил 47,0 [31,0; 68,0] лет).

В работе использованы лабораторные, клинические и статистические методы исследования.

Объектом исследования стали цельная кровь и ее сыворотка, назофарингеальные мазки.

Группы здоровых лиц составили люди, считающие себя здоровыми, не принимающие лекарственные препараты на момент забора клинического материала. Все обследованные – лица европеоидной расы, родившиеся и проживающие на территории Забайкальского края.

В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской 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. Дизайн исследования утвержден локальным этическим комитетом при ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (протокол №85 от 24.05.2017 г.).

### **Научная новизна**

Впервые описана ось патогенеза гриппа А(Н3N2) «вирус – паттерн-распознающие рецепторы – макрофаг – лимфоцит – эффекторные молекулы – лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия», включающая *SNP* рецепторов *CD14* (159T), *TLR2* (Arg753Gln), *TLR3* (Phe412Leu), *TLR4* (Asp299Asp), *TLR4* (Thr399Thr), цитокинов *IL-2* (T330G), *IL-4* (C159T), *IL-10* (C819T), *IL-10* (G1082A), содержание кодируемых цитокинов и показатель лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии. Показано, что наибольшую значимость в развитии среднетяжелых форм гриппа



А(Н3N2) имеют генотипы *-412Leu/Leu* гена *TLR3*, *-589T/T* гена *IL-4*, *-330 T/T* гена *IL-2*, уровень ЛТА и концентрация ИЛ-2 в сыворотке крови.

Впервые доказано, что вероятность развития гриппа А(Н3N2) возрастает у носителей аллели *T* и гомозиготного генотипа *T/T* промотора гена *IL-2 (T330G)*, аллели *T* и генотипа *T/T* промотора гена *IL-4 (C589T)*, аллели *T* и генотипа *C/T* промотора гена *IL-10 (C819T)*, аллели *A* и генотипа *G/A* промотора гена *IL-10 (G1082A)*, аллели *T* и генотипов *C/T* и *T/T* гена *CD14 (159T)*, аллели *-753Gln* и генотипа *Arg753Gln* гена *TLR2 (Arg753Gln)*, аллели *-412Leu* и генотипа *Leu412Leu* гена *TLR3 (Leu412Phe)*, аллели *-299Gly* и генотипа *Asp299Gly* гена *TLR4 (Asp299Gly)*, аллели *-399Ile* и генотипа *Thr399Ile* гена *TLR4 (Thr399Ile)*.

Обнаружено, что SNP промоторных регионов генов *IL-2 (T330G)*, *IL-4 (C159T)*, *IL-10 (C819T)*, *IL-10 (G1082A)* влияет на продукцию молекул одноименных цитокинов при гриппе А(Н3N2): вариант *T/T* гена *IL-2 (T330G)* ассоциирован с гиперфункцией лимфоцитов, избыточной продукцией ИЛ-2; вариант *C/C* гена *IL-4 (C589T)* – с абберантной (недостаточной) продукцией *IL-4*; вариант *C/C* гена *IL-10 (C819T)* и *G/G* гена *IL-10 (G1082A)* – с абберантной продукцией ИЛ-10.

Выявлено, что показатели функции лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии при гриппе А(Н3N2) зависят от носительства генотипов промоторных регионов генов *IL-2 (T330G)*, *IL-4 (C159T)*, *IL-10 (C819T)*, *IL-10 (G1082A)*. Наивысшая способность лимфоцитов адгезировать тромбоциты выявляется у носителей генотипа *T/T* гена *IL-2 (T330G)*, генотипа *C/C* гена *IL-4 (C589T)*, генотипа *C/C* гена *IL-10 (C819T)*, генотипа *G/G* гена *IL-10 (G1082A)*.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Описанная патогенетическая ось, включающая сведения о генетическом полиморфизме паттерн-распознающих рецепторов, цитокинов и лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии, позволяет оценить путь от стимуляции патогенами иммунокомпетентных клеток до формирования лимфоцитарно-тромбоцитарных

контактов, включающихся в эфферентное звено защитных реакций при гриппе А(Н3N2).

Полученные данные расширяют известные молекулярно-клеточные механизмы развития защитных реакций при гриппе А(Н3N2) и позволяют установить вероятность развития гриппа А(Н3N2) у носителей SNP генов цитокинов *IL-2 (T330G)*, *IL-4 (C159T)*, *IL-10 (C819T)*, *IL-10 (G1082A)* и паттерн-распознающих рецепторов *CD14 (C159T)*, *TLR2 (Arg753Gln)*, *TLR3 (Phe412Leu)*, *TLR4 (Asp299Asp)*, *TLR4 (Thr399Thr)*.

Разработана модель индивидуального прогнозирования развития гриппа А(Н3N2) у клинически здоровых лиц на основе анализа полиморфизма генов *TLR2 (Arg753Gln)*, *TLR3 (Phe412Leu)*, *TLR4 (Asp299Gly)*, позволяющая определить риск инфицирования при контакте с больным гриппом А(Н3N2) (Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ №2021668224).

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Индивидуальная предрасположенность к инфекции гриппа А(Н3N2) носит мультигенный характер и сопряжена с носительством SNP генов отдельных паттерн-распознающих рецепторов (*CD14*, *TLR2*, *TLR3*, *TLR4*, цитокинов (*IL-2*, *IL-4*, *IL-10*)).

2. Носительство отдельных SNP генов *IL-2 (T330G)*, *IL-4 (C589T)*, *IL-10 (C819T)*, *IL-10 (G1082A)* сказывается на содержании соответствующих цитокинов, обеспечивающих кооперацию клеток в иммунном ответе, а также лимфоцитарно-тромбоцитарную адгезию, отражающую функциональную активность иммунокомпетентных клеток у больных гриппом А(Н3N2).

3. В развитии гриппа А(Н3N2) ведущее значение принадлежит патогенетической оси «вирус – паттерн-распознающие рецепторы – макрофаг – лимфоцит – эффекторные молекулы – лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия», в которой генетические варианты молекул рецепторов *CD14*, *TLR2*, *TLR3*, *TLR4*, цитокинов *IL-2*, *IL-4*, *IL-10* влияют на фенотип иммунного ответа.

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты данного исследования внедрены в научно-исследовательскую деятельность и учебный процесс на кафедре инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, а также в лечебно-диагностическую работу ГУЗ «Краевая клиническая инфекционная больница» г. Читы.

### **Степень достоверности и апробация работы**

Достоверность полученных результатов исследования установлена обработкой современными статистическими методами, большим объемом подбора когорты больных.

Материалы исследования доложены на IV и VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием: Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания (Сочи, 2017, 2019); межрегиональной научно-практической конференции, посвященной 60-летию кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии Читинской государственной медицинской академии: Актуальные проблемы инфектологии, эпидемиологии и ВИЧ-инфекции: современные технологии эпиднадзора, диагностики, лечения и профилактики (Чита, 2017); V Конгрессе Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (Новосибирск, 2018); XVII межрегиональной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Медицина завтрашнего дня» посвященной 65-летию Читинской государственной медицинской академии (Чита, 2018); XVIII межрегиональной научно-практической конференции «Медицина завтрашнего дня» (Чита, 2019); VI и VII Съездах терапевтов Забайкальского края (Чита, 2018, 2019); XII Ежегодном Всероссийском интернет-конгрессе по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 2020); II Ежегодной научной сессии ФГБОУ ВО ЧГМА (Чита, 2023); III научно-

практической конференции с международным участием: «Актуальные проблемы патофизиологии и лабораторной диагностики» ФГБОУ ВО ЧГМА (Чита, 2023).

### **Публикации**

По материалам диссертационного исследования опубликовано 13 научных работ, из них 3 в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации, 2 статьи в журналах, входящих в международную базу цитирования SCOPUS, зарегистрирована 1 программа для электронных вычислительных машин.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 127 страницах, иллюстрирована 15 таблицами, 10 рисунками, состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием клинического материала и методов исследования, глав собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов, списка литературы, включающего 252 источник, в том числе 115 отечественных и 137 зарубежных.

## Г Л А В А 1

### **ГРИПП: СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ЭТИОЛОГИИ, МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМАХ ПАТОГЕНЕЗА, РОЛИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

Заболеваемость острыми респираторными вирусными инфекциями (ОРВИ) и гриппом ежегодно составляет до 90% в общей сумме инфекционных и паразитарных заболеваний [8, 159]. Каждый взрослый человек 1-2 раза в год болеет гриппом или ОРЗ. Величину ущерба, наносимого гриппом и гриппоподобными инфекциями здоровью населения и экономике любой страны, можно сравнить лишь с сердечно-сосудистыми заболеваниями, злокачественными новообразованиями и травматизмом [66, 119, 173, 245].

Наиболее тяжелой среди них по клиническим проявлениям, частоте осложнений и неблагоприятным исходам болезни является грипп [171, 172, 174, 175, 212, 229, 232].

Грипп встречается повсеместно, он способен к эпидемическому, а порой и к пандемическому распространению [1, 7, 46, 92, 110, 190].

За время изучения возбудителя гриппа было установлено, что только вирус гриппа типа А способен к пандемическому распространению [7, 41, 89, 115].

Вирус гриппа типа В также вызывает эпидемии и циркулирует одновременно с вирусами типа А [158]. Вирус гриппа типа С, как правило, не вызывает эпидемических вспышек среди людей, выявляется гораздо реже и обычно обуславливает легкие формы инфекции, которые приводят к менее значительным последствиям для общественного здравоохранения [190, 210].

Эпидемически значимыми в последние десятилетия являются два подтипа вируса гриппа А – H3N2 и H1N1 и вирус гриппа В [6, 15, 23, 66, 86, 92, 111, 114, 124, 139, 140, 141, 150, 154, 206, 221, 237].

Пандемии гриппа, в отличие от ежегодных эпидемий, характеризуются всеобщим распространением с поражением всех возрастных групп населения земного шара. При этом существенно повышается частота клинически тяжелых форм заболевания и смертность [54, 75, 99, 153, 183].

В связи с этим поиск ранних прогностических критериев течения и исхода гриппа является одной из самых актуальных медицинских и социально-экономических задач.

### **1.1. Общие вопросы патогенеза гриппа**

В патогенезе гриппа выделяют несколько фаз [21, 41, 94]:

1-я фаза – репродукция вируса в клетках мерцательного эпителия верхних дыхательных путей альвеолоцитах, бокаловидных клетках, макрофагах, дендритных клетках, сопровождающаяся выработкой провоспалительных цитокинов, нарушением метаболизма и формированием локальной воспалительной реакции с активацией факторов врожденного иммунитета.

2-я фаза – вирусемия, сопровождающаяся токсическими и токсико-аллергическими реакциями. Вирусы и продукты дегенерации клеток попадают в кровь, оказывают избирательное воздействие на эндотелий прекапилляров и капилляров, рецепторный аппарат мозговых оболочек и сосудистые сплетения головного мозга, а также на вегетативную нервную систему. Циркуляция вируса в крови сопровождается образованием иммунных комплексов, которые потенцируют имеющиеся повреждения. Формируются микроциркуляторные расстройства, приводящие к развитию тканевой гипоксии и гипоксемии, отеку-набуханию головного мозга, острой сердечно-сосудистой недостаточности, отеку легких, острой печеночной недостаточности, менингеальному, энцефалитическому, геморрагическому синдромам и ДВС.

3-я фаза – бактериальные осложнения. В типичных случаях – со стороны дыхательных путей.

4-я фаза – обратное развитие патологического процесса или летальный исход.

Таким образом, поражения, вызываемые вирусом гриппа, достаточно многообразны, выраженность патологического процесса определяется вирулентностью вируса гриппа и состоянием специфического и неспецифического иммунитета. Развитие основных патоморфологических изменений при гриппе в инфицированном организме связано прежде всего с цитопатическим (цитолитическим) действием вируса на эпителий трахеи и бронхов с последующей их дистрофией, некрозом, десквамацией, также вазопатическим действием (полнокровие, стазы, тромбозы, геморрагии), приводящее к нарушению функции мозга, легких, сердца, почек и других органов и иммуносупрессивным действием, что связано с подавлением гуморального иммунитета, фагоцитоза, сопровождающееся бактериальной суперинфекцией (присоединением бактериальной микрофлоры).

## **1.2. Молекулярные механизмы развития гриппа**

Ключевым этапом при инфекциях, вызванных оболочечными вирусами, в том числе и при гриппе, является слияние оболочки вируса с мембраной клетки, что позволяет патогену внедрять свой генетический материал в клетки хозяина и размножаться.

При проникновении вируса гриппа в клетку происходит несколько последовательных стадий. Процессу слияния вируса гриппа способствует гемагглютинин (НА – hemagglutinin), гликопротеин, который содержит три идентичных мономера, состоящие из двух полипептидных цепей (НА1 и НА2) [192].

Первоначально вирус распознает клеточные рецепторы  $\alpha 2, 6$ -SA, которые находятся в эпителии верхних и нижних дыхательных путей [123]. Вирус адсорбируется на мембране клетки в результате взаимодействия гемагглютинина с сиаловой кислотой поверхности клетки [39, 109].

Рецептор-связывающий сайт (РСС) содержится в субъединице НА1 молекулы гемагглютинина, гомотример которой образует пепломер вириона [69]. Нейраминовые кислоты являются наиболее часто встречающимися терминальными остатками кислых полисахаридов в составе ганглиозидов и гликопротеинов на поверхности клеток-мишеней: эпителиальных и бокаловидных клетках слизистой оболочки респираторного тракта, альвеолоцитах, макрофагах и эндотелиоцитах [194]. После формирования множественных контактов РСС-рецептор образуется цитоплазматическая эндосома, включающая вирион. АТФ-зависимый протонный насос клеточной мембраны, оказавшись в составе оболочки эндосомы, закисляет её внутреннюю полость, после чего в оболочке вириона «включается» в ионный канал, образуемый тетрамером М2, и вирион разрушается [56]. Нуклеокапсид высвобождается в цитоплазму через пору слияния, формирующуюся в результате высвобождения пептид-слияния на N-конце НА2. В комплексе с клеточными  $\alpha/\beta$ -кариоферинами нуклеокапсид транспортируется в ядро хозяйской клетки, где полимеразный комплекс (РВ2РВ1РА, РВ2РВ1РА или Р1Р2Р3) осуществляет транскрипцию и репликацию вируса [69]. Нуклеокапсид дочерних вирионов транспортируется из ядра с помощью клеточного белка Crm1, специфически взаимодействующего с вирусным белком NEP (NS2). Почкование дочерних вирионов происходит на апикальной (т.е. обращённой в сторону полости тела) части клеток [69].

Общеизвестно [43, 51, 59, 213, 240], что врожденный иммунитет препятствует проникновению микроорганизма в организм. Эту функцию выполняют лейкоциты, дендритные клетки и макрофаги, располагающиеся на границе тканей и окружающей среды и распознающие микроорганизмы с помощью специфических Toll-рецепторов. Воспаление при этом не является специфичной реакцией на патоген, но зависит от молекулярных структур патогена. При развитии воспалительной реакции, в первую очередь, синтезируются провоспалительные цитокины, инициирующие дифференцировку Т-лимфоцитов и определяющие вариант развития адаптивного иммунитета по



клеточному и/или гуморальному типу, направленные на элиминацию микроорганизма [90, 102, 105].

При проникновении вируса внутрь клетки-хозяина начинается его «улавливание» рецепторами распознавания патогенов (PRR), в первую очередь Toll-подобными рецепторами (TLR) и РНК-чувствительными RIG-I-подобными рецепторы (RLR), такими как индуцируемые ретиноевой кислотой ген I (RIG-I) и белок 5, ассоциированный с дифференцировкой меланомы (MDA-5) [65, 98].

После распознавания соответствующих патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (PAMP) – двухцепочечной РНК для TLR3 и одноцепочечной РНК для TLR 7 и 8. TLR3 экспрессируется как бронхиальными, так и альвеолярными эпителиальными клетками и распознает вирусную двухцепочечную РНК (дцРНК), малые интерферирующие РНК и собственные РНК, полученные из поврежденных клеток, образующихся во время инфекции [2]. Однако его вклад в защите человека от гриппа хозяина не однозначен [142, 161]. TLR7 также играет роль в распознавании вирусов, он экспрессируется в клетках бронхиального эпителия человека [63]. Кроме того, TLR привлекают адаптерные белки, содержащие домен TIR, такие как MyD88 и TRIF, которые инициируют пути передачи сигнала, завершающиеся активацией киназ NF- $\kappa$ B, IRF или MAP для регуляции экспрессии цитокинов, хемокинов и IFN I типа и IL-6 [142, 161, 246].

Вышеперечисленные события приводят к формированию врожденного (неспецифического) противовирусного ответа, что, в то же время, по механизму обратной связи запускает продукцию вирусом ряда белков, подавляющих основные защитные реакции организма [94]. Этот процесс зависит от разных факторов: от количественной или функциональной недостаточности того или иного звена иммунитета, нарушения в распознавании антигена иммунной системой, гиперреактивности или «извращенного» иммунного ответа, в том числе значимую роль играет как генетически детерминированная реализация иммунного ответа, так и характеристики патогена, такие как способность

антигена к специфическому взаимодействию с антителами и клеточными рецепторами, способность антигенов вызывать в организме иммунный ответ [36, 98, 105, 106].

Таким образом, в прогнозировании клинического течения гриппа А(Н3N2) не исключается участие генетического фактора, в частности полиморфизма молекул, препятствующих развитию реакций врожденного иммунитета или снижающих их эффективность.

### **1.3. Характеристика значимых генов цитокинов и их полиморфизм при некоторых инфекционных заболеваниях**

Продуктами активированных клеток-эффекторов естественного иммунитета являются цитокины. Цитокины – биологически активные молекулы белковой природы, регулирующие широкий спектр протекающих в организме процессов и вырабатываемые клетками при воспалительных реакциях, развитии и формировании иммунного ответа, дифференциации, пролиферации и апоптозе [122, 160, 189, 201].

По значимости выполняемых биологических функций цитокины можно рассматривать как самостоятельную систему регуляции, которая участвует в поддержании гомеостаза и обеспечивает согласованность действий иммунной, эндокринной и нервной систем в нормальных условиях и в ответ на патологические воздействия [36, 91, 106].

Цитокины, участвующие в формировании воспалительного иммунного ответа, подразделяют на провоспалительные (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-18, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-8 и IL-12), противовоспалительные (IL-4, IL-10, IL-13, IFN- $\alpha$  и TGF- $\beta$ ) и представителей семейства IL-6 [185], функции которых амбивалентны и зависят от фазы иммунного ответа. Цитокины инициируют процессы специфического иммунитета, вовлекая Т- и В- системы иммунитета в распознавание и

уничтожение антигенных структур микроорганизмов [37, 49, 71, 157, 162, 195, 213, 247, 249].

Интерлейкины (IL) – это группа растворимых полипептидных медиаторов, продуцируемых различными клетками иммунной системы в процессе межклеточного взаимодействия и участвующих в регуляции нормальных физиологических процессов и формировании защитных реакций организма, а также определяющих не только местное, системное воспаление, но и патофизиологические эффекты внесистемных реакций. Провоспалительные цитокины отвечают за индукцию лихорадки и процессов катаболизма мышечной ткани, активацию мононуклеарных фагоцитов, стимуляцию синтеза белков острой фазы и обеспечивают воспалительный процесс, приводящий к уничтожению патогена. В ограничении развития воспаления и в поддержании гомеостаза при воспалительной реакции большую роль играют противовоспалительные цитокины. Как правило, они подавляют синтез провоспалительных цитокинов. Дисбаланс между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами имеет ключевое значение в развитии аутоиммунных состояний, хронизации и прогрессировании воспалительных заболеваний [5, 90, 132, 177, 180].

Интерлейкин-4 (IL-4) относится к противовоспалительным цитокинам, участвует в регуляции иммунной системы на разных уровнях [204, 236].

Данный интерлейкин впервые описан в 1982 г. Полом Паулем и Говардом, когда в экспериментальных условиях было обнаружено усиление пролиферации активированных В-клеток под влиянием культуральной среды от Т-клеточной линии EL-4. Новый фактор был расценен как комитоген В-клеток, т.е. цитокин, продуцируемый Т-лимфоцитами и способный в супернатанте стимулированных митогеном лаконоса EL-4 клеток поддерживать рост В-лимфоцитов после воздействия иммуноглобулина, заставляя их вступать в S-фазу [146, 244]. Нуклеотидная последовательность для человеческого IL-4 была выявлена спустя четыре года после его открытия и оказалась сходной с белком мыши – фактором

роста В-клеток мышей – BCGF-I (B-cell growth factor), который представлял собой мономер, состоящий из 129 аминокислот [10]. Далее было установлено наличие плеiotропного эффекта этого ростового фактора. Оказалось, что он может усиливать пролиферацию различных субпопуляций Т-клеток, а также воздействовать на моноциты, базофилы, эозинофилы, дендритные клетки, фибробласты и другие клетки, вовлекая их в различные процессы межклеточного взаимодействия, поэтому BCGF-I был переименован в «интерлейкин-4» (IL-4) [170, 248].

Ген *IL-4*, расположенный на длинном плече хромосомы 5 (5q31), имеет длину 0,9 т.п.н. и содержит 4 экзона [132].

Исследования, проведенные за последние несколько десятилетий, значительно расширили понимание его клеточных источников и функций.

Помимо Т-клеток, IL-4 продуцируется лимфоцитами и миелоидными клетками, такими как базофилы и тучные клетки [163].

IL-4 стимулирует пролиферацию активированных Т- и В-клеток, регулирует дифференцировку В-клеток, способствует активации Т-хелперов 2-го типа (Th2) и ингибирует дифференцировку Т-хелперных клеток 1-го типа (Th1) [204, 236]. Помимо лимфоидных клеток, IL-4 способен модулировать дифференцировку, пролиферацию и апоптоз других популяций гемопоэтических, а также негематопоэтических клеток [250].

Авторы в своих исследованиях указывают на значимое повышение уровня IL-4 в сыворотке и плазме периферической крови у пациентов с рецидивирующими и хроническими бронхолегочными заболеваниями [56]. В то же время отмечено нарастание уровня IL-4 на фоне резкого снижения уровней провоспалительных цитокинов.

В одном из исследований выявлено, что IL-4 может ингибировать как первичный, так и вторичный противовирусный иммунный ответ при гриппе А(H1N1) [180].

Генотип *IL-4 rs6534349G/G* связан с повышенными шансами инфицирования *Mycoplasma pneumoniae* у детей с бронхиальной астмой [133].

Одно из исследований показало, что полиморфизмы *IL-4* могут играть важную роль в предрасположенности к воспалительным заболеваниям кишечника, так гаплотип *IL-4 -1098/-590 T/C* может предрасполагать людей к воспалительным заболеваниям кишечника, тогда как гаплотипы *IL-4-1098/-590 T/T* и *G/C* обладают защитным эффектом [178].

Учеными описано, что полиморфизм *rs2070874 IL-4* может быть связан с тяжестью течения заболеваний, вызванных респираторными вирусами [233].

Peng Y et. Al (2021) в своей работе продемонстрировали, что *IL-4* снижает восприимчивость к инфицированию *Streptococcus pneumoniae* в периоде реконвалесценции у больных гриппом [181].

Интерлейкин-10 (*IL-10*) относится к одним из важнейших противовоспалительных цитокинов. Как и все другие цитокины, *IL-10*, являясь фактором межклеточных взаимодействий, даже в минимальных (пикограммовых) концентрациях способствует эффективной регуляции клеточного гомеостаза посредством активации/торможения эффекторных клеточных функций [177, 186, 227].

*IL-10* синтезируется активированными *CD4+* (клонами *Th0*, *Th1*, *Th2*) и *CD8+* Т-лимфоцитами, активированными В-лимфоцитами и клетками В-клеточных лимфом, тучными клетками и активированными LPS моноцитами/макрофагами [44].

Основной функцией *IL-10* является изменение иммунного ответа с *Th1* на *Th2* [4, 90, 101].

*IL-10* – мощный противовоспалительный фактор, ингибирующий избыточный синтез провоспалительных цитокинов, таких как *IL-1 $\beta$* , *IL-6*, *IL-8*, *IL-12*, *TNF- $\alpha$* , *IFN- $\gamma$* , *IFN- $\alpha$* , и энзимов-медиаторов воспаления активированными макрофагами и *Th1*-лимфоцитами и одновременно активирующий *Th2*-

лимфоциты, которые активно продуцируют противовоспалительный ИЛ-4 и, тем самым, усиливают гуморальный ответ.

Таким образом, ИЛ-10 «защищает» организм от избыточного воздействия мощных факторов воспаления, приводящих к повреждению тканей [33].

Полиморфизм гена в позиции *-1082G/A (rs1800896)* играет важную роль при инфекционных заболеваниях, так как, считается, что он влияет на продукцию самого цитокина *in vitro*, причем его влияние не зависит от полиморфизмов в других позициях этого же гена.

Полиморфизм гена *IL-10 (rs1800896)* играет важную роль при хроническом вирусном гепатите С. В частности, *G/G* генотип связан с предрасположенностью к данному заболеванию [5].

Согласно данным литературы, *A/A* генотип полиморфизма *IL-10 -1082G/A (rs1800896)* связан со значительно меньшим риском инфицирования вирусом гепатита В в китайской популяции. Однако, предполагается, что полиморфизмы гена ИЛ-10 повышают риск развития гепатоцеллюлярной карциномы среди корейской, тайваньской и китайской популяций [117].

Также известно, что отмечено повышение концентрации ИЛ-10 в первые дни заболевания при тяжелом и нетяжелом течении гриппозной пневмонии, но в группе больных с менее тяжелым течением заболевания она была в 1,4 раза выше по сравнению с тяжелыми пациентами. В динамике через неделю наблюдалось снижение содержания данного цитокина, причем более выраженное при нетяжелых пневмониях [47].

В одном из проведенных ранее исследований продемонстрирована взаимосвязь между генотипом *-1082G/G* и развитием ОРДС при гриппе А(Н1N1) [208].

При изучении *IL-10 (G1082A)* показано, что *G*-аллель значительно доминирует у пациентов с гриппозной пневмонией (84,5%), преимущественно в виде гомозиготного носительства, в то время как гетерозиготы *G/A* встречались в 3,2 раза чаще среди здоровых лиц [85].

В работе авторов Е.Н. Романовой и А.В. Говорина (2015) доказано, что прогностическими факторами риска развития пневмонии у больных гриппом А/Н1N1 явились полиморфизмы гена *IL-10* 592CC, 819CC, 1082GG. В прогнозировании тяжелого течения пневмонии при гриппе А/Н1N1 имеют значение гаплотипы *TNF* (308GG); *IL 10* (819CC); (1082GG) [84].

Проведенные к настоящему времени исследования роли IL-10 у больных острыми респираторными вирусными инфекциями (ОРВИ) достаточно фрагментарны и нередко противоречат друг другу.

Однако во многих исследованиях указывается на важную роль IL-10 в патогенезе ОРВИ в качестве ингибитора гиперактивации иммунокомпетентных клеток, часто приводящей к повышенной выработке провоспалительных цитокинов [134].

Повышенный уровень IL-10 был обнаружен в носоглоточной слизи детей раннего возраста с тяжёлым, но благоприятным течением респираторно-синцитиальной вирусной инфекции (РС-инфекции) [211].

В работах Волощук Л.В. и соавторов (2013) показано, что грипп, осложненный пневмонией, в острый период заболевания сопровождается высокой концентрацией TNF $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-10 с резким падением IFN $\gamma$  в сыворотке крови. При этом, в исследованиях, проводимых ими, выявлена корреляционная связь между выраженностью и продолжительностью симптомов при неосложненном и осложненном пневмонией гриппе и концентрацией провоспалительных (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8) и противовоспалительных цитокинов (IL-1ra, и IL-10), а также показателями интерферонового статуса (antiIFN $\alpha$ , IFN $\alpha$  и IFN $\gamma$ ) пациента [12].

В работе Емельяновой А.Н. (2015) доказано, что при гриппе А(Н1N1) (2009) у носителей генотипа T/T полиморфизма гена *IL-10* (C819T), определяется максимальная, а у носителей генотипа C/C – минимальная концентрация *IL-10* [29].

Vermejo-Martin J.F. et al. (2009) выявлено повышение уровня IL-10 в периферической крови у больных как среднетяжелым течением гриппа А(Н1N1), так и с тяжелым течением заболевания с развитием острого респираторного дистресс-синдрома [228]. У той же группы больных со среднетяжелым течением гриппа А(Н1N1) не было отмечено статистически достоверных различий уровня IL-4 в периферической крови с контролем, однако было выявлено повышение его концентрации у больных тяжелой формой заболевания с развитием острого респираторного дистресс-синдрома, в 85% случаев закончившегося благоприятно [228].

Рядом ученых описано, что повышенный уровень сывороточного IL-10 у пациентов с гриппом А(Н1N1) может привести к прогрессированию заболевания [176].

Провоспалительные цитокины участвуют в ранней фазе инфекционного процесса, от реализации которой зависит установление межклеточных взаимодействий. Чрезмерная продукция провоспалительных цитокинов при гриппе приводит к развитию «цитокинового шторма», по причине которого происходит повреждение тканей и их некроз.

Интерлейкин-2 (IL-2) является одним из основных провоспалительных цитокинов. Первоначально идентифицирован в 1976 году как фактор роста Т-лимфоцитов. С тех пор стал важным медиатором иммунной функции, благодаря своему влиянию на рост, развитие и активность Т- и В-лимфоцитов, естественных клеток-киллеров и лимфокин-активированных киллерных клеток [187, 199]. Антигенная активация Т-лимфоцитов ведет к экспрессии рецепторов IL-2 его к продукции и, IL-2 необходим для активации других клеток и дальнейшего иммунного ответа. IL-2 стимулирует синтез и выработку других цитокинов (гамма ИФН, ФНО-бета), активирует CD8+ лимфоциты, стимулирует пролиферацию НК-клеток и их трансформацию в ЛАК-клетки, стимулирует пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов в плазматические клетки, а также является макрофагаактивирующим фактором, восстанавливая способность



макрофагов представлять антиген, увеличивает продукцию метаболитов кислородного взрыва, усиливает цитотоксичность.

На сегодняшний день IL-2 составляют одну из наиболее широко изученных рецепторных систем цитокинов. С момента открытия IL-2, было изучено колоссальное количество информации о механизмах, которые регулируют как его экспрессию, так и экспрессию его рецептора на клеточной поверхности, его механизмах передачи сигналов и широком диапазоне биологических свойств [129, 144, 152, 167, 205, 219]. В недавних исследованиях были выяснены механизмы, с помощью которых IL-2 регулирует дифференцировку и функцию CD4<sup>+</sup>T-клеток [222].

Исследование полиморфизма генов для понимания предрасположенности к инфекционным заболеваниям и их тяжелому течению имеет фундаментальное значение для клинической практики и глобальных эпидемических процессов [159]. Опосредованный интерлейкином-2 иммунный ответ имеет решающее значение для защиты хозяина от множества инфекционных патогенов.

IL-2 играет важную роль в реализации механизмов противовирусного иммунного ответа – он участвует в иммунном ответе против внутриклеточно локализованных вирусов [31, 108, 219].

Так, рядом авторов показано, что генотипы T/G и G/G промоторного региона -330 гена IL-2 связаны с риском гепатоцеллюлярной карциномы при хроническом вирусном гепатите В [130, 147].

Недостаточная продукция интерлейкина-2 и снижение его содержания способствует дефициту T-лимфоцитов [29, 34] и развитию хронического вирусного гепатита С [78].

Кроме того, учеными доказано, что снижение уровня IL-2 увеличивает риск развития кожных язв, вызванных *Leishmania braziliensis* и *Leishmania tropica* [168].

Китайскими учеными изучено, что полиморфизм rs1800896 в гене IL-10 и rs2104286 в гене IL-2 может быть связан с заболеваемостью Эпштейна-Барр

вирусной инфекцией у детей, а генотип *A/A* и аллель *A* интерлейкина 10 может быть факторами риска неблагоприятного исхода данного заболевания [215].

В одной из опубликованных ранее работ установлено, что при гриппе *A(H1N1)*, 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* [28, 72], что указывает на то, что именно генотип *T/T* ассоциирован с риском развития данного типа гриппа.

Зарубежными учеными выявлено, что повышение уровня *IL-2* при снижении *IFN-γ* может указывать на тяжелое течение гриппа *A(H1N1)* в детской популяции [149].

В связи с этим становится важным не только изучение механизмов развития иммунных нарушений при инфекционной патологии, но поиск генетических полиморфизмов молекул, определяющих характер иммунологического реагирования, что позволит углубить представления о патогенезе и разработать новые эффективные методы прогнозирования и течения инфекционного процесса.

#### **1.4. Полиморфизм генов рецепторов иммунокомпетентных клеток в патогенезе некоторых инфекционных заболеваний**

Врожденная иммунная система обнаруживает вирусные инфекции посредством распознавания патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (PAMP) [197].

Вирус гриппа распознается врожденной иммунной системой членами по крайней мере трех различных классов PRR: Toll-подобными рецепторами, RIG-I-подобными (RLR) и Nod-подобными (NLR) рецепторами [48, 203].

Инфекционные заболевания является одним из основных факторов, оказывающих влияние на изменение экспрессии TLRs. При этом уровень экспрессии TLRs прямо коррелирует с тяжестью процесса, что в ряде случаев позволяет рассматривать данные рецепторы как ранние маркеры инфекции. Toll-

подобные рецепторы представляют огромный интерес среди рецепторов врожденного иммунитета [199]. TLRs – это консервативные трансмембранные белковые структуры, состоящие из цитоплазматического и мембранного участков [91, 106].

История изучения Toll-подобных рецепторов началась в 1991 году, когда был открыт рецептор к провоспалительному цитокину интерлейкину-1 (IL-1R), и выяснилось, что он обладает доменом, схожим с доменом уже известного на тот момент белка с названием – Toll, из-за чего получил название Toll-II-1-Receptor domain (TIR), характерный для всего семейства TLR [32]. А сам Toll своим именем обязан немецкому ученому, нобелевскому лауреату Кристиане Нюсляйн-Фольхард. Данные рецепторы впервые были описаны у дрозофил, где они, с одной стороны, отвечали за эмбриональное развитие, а с другой – обеспечивали антигрибковый иммунитет [230].

На сегодняшний день имеются данные, что у человека выявлено 10 TLRs (TLR 1-10). TLR способны распознавать и связывать гликолипиды, липопептиды, липопротеины, пептидогликаны и ряд других структур на поверхности бактерий, вирусов или грибов, а также вирусную ДНК. Связывание TLR с лигандами служит сигналом для изменений в транскрипции генов, инициирующих процесс активации фагоцитирующих клеток [60]. Этот процесс связан с высвобождением и транслокацией в ядро транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B (nuclearfactor $\kappa$ B). Освобожденный NF- $\kappa$ B транспортируется в ядро клетки и активирует там гены, индуцирующие синтез цитокинов и других белков. Основной функцией TLR является быстрое распознавание чужеродных агентов (бактерий, вирусов, грибов, некоторых простейших), сигнализация об их проникновении в организм, что, таким образом, обеспечивает связь между врожденным и адаптивным иммунитетом [100, 193].

Известно, что вирусные агенты приводят к экспрессии Toll-подобных рецепторов (TLR) с последующей выработкой определенного цитокинового профиля и активацией цитотоксических Т-лимфоцитов [79, 184, 251]. TLR

встроены во внешнюю мембрану дендритных клеток макрофагов, которые самостоятельно связывают продукты патогенов либо действуют вместе с другими рецепторами, обеспечивая только проведение сигналов о патогенах в клетку [78]. TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 и TLR10 представлены на клеточной мембране и способны распознавать в основном бактериальные компоненты. TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9 специфичны к нуклеиновым кислотам бактериального и вирусного происхождения [169, 188, 191, 218, 235]. TLR3 распознает двухцепочечную РНК, TLR7 и TLR8 активируются одноцепочечными РНК, TLR7 и TLR8 участвуют в распознавании мотивов, обогащенных гуанином и урацилом [80]. Взаимодействие TLR7 с одноцепочечной РНК вируса гриппа или ВИЧ приводит к усилению синтеза интерферона (ИФН) и провоспалительных цитокинов. TLR9 взаимодействует с метилированными повторами CpG ДНК вирусов и бактерий [62].

Учитывая важнейшую роль TLRs в реализации врожденного иммунного ответа, можно предположить, что дефекты на уровне рецепторов, а также факторов, регулирующих их функцию, могут приводить к развитию инфекционных и воспалительных заболеваний. Причинами нарушений функции TLRs могут быть мутации в генах TLRs, полиморфизм генов, кодирующих TLRs, мутации факторов системы передачи сигнала с TLRs.

Каждый из компонентов системы TLR может быть изучен на различных уровнях: структура гена, экспрессия мРНК, синтез полноценной белковой молекулы, функции [3].

В последние годы появились данные, свидетельствующие о том, что полиморфизм генов TLR связан с множеством инфекционных заболеваний [27, 70, 131, 142, 158, 209, 242].

В настоящее время различают два основных пути активации TLR: MyD88-зависимый путь и MyD88-независимый путь [80]. После распознавания PAMPs, TLRs активируют каскад реакций передачи сигнала в ядро клетки: при связывании с лигандом рецептор подвергается димеризации, сопровождающейся

изменением конформации TIR-домена, который связывается с адапторной молекулой MyD88 (myeloid differentiation protein 88) (при MyD88-зависимом пути активации), необходимой для привлечения киназ семейства IRAK (IL-1 receptor associated kinase). В данном процессе участвуют TLR-2, TLR-4, TLR-5, TLR-7, TLR-9 и внутриклеточные молекулы MyD88, IRAK, TRAF, NF-κB [81]. Распознавание бактериальных и небактериальных лигандов PAMPs специфическими TLRs приводит к активации факторов транскрипции, таких как нуклеарный фактор κB (NF-κB), и членов семейства IRF. Эта система, как правило, активирует ранний провоспалительный ответ [38].

При MyD88-независимом пути активации происходит взаимодействие TIR домена с адапторной молекулой TRIF (TIR domain containing adaptor inducing IFNβ) с последующей активацией внутриклеточного фактора IRF3 (interferon regulatory factor 3), индуцирующего экспрессию генов IFNαи IFNβ, являющихся основными медиаторами дифференцировки T-лимфоцитов [32]. При данном пути активации запускается, как правило, противовирусный иммунный ответ. TLR3 является ключевым элементом данного сигнального пути, поскольку взаимодействует с вирусной двуспиральной РНК. TLR-4 одинаково эффективно участвует в активации обеих внутриклеточных сигнальных систем [238].

Первоначальной мишенью вируса гриппа, равно как и других респираторных вирусов, является эпителий респираторного тракта. Вирус гриппа посредством HA связывается с остатками сиаловой кислоты на поверхности эпителиальной клетки, запуская при этом процесс эндоцитоза. Показано, что в первичном распознавании поверхностных гликопротеинов вируса гриппа принимают участие Толл-подобные рецепторы 2 и 4 (TLR2, TLR4) [126].

TLR4 является рецептором, SNP которого также связаны с риском развития воспалительных процессов. Показано, что SNP *Asp299Gly*, локализованный в третьем экзоне гена TLR4, связан с SNP *Thr399Ile*. Оба описанных SNPs ассоциированы с восприимчивостью к некоторым инфекционным болезням: сепсис, малярия [125].

Авторами показано, что минорный генотип *TLR4 rs4986790* был связан со значительно повышенным риском хронизации вирусных гепатитов В и С [239].

*TLR4* также участвует во врожденном иммунном ответе на респираторно-синцитиальную инфекцию (RSV). В одном из исследований показано, что *TLR4* участвует в распознавании паттернов гликопротеина F РС-инфекции, что экспрессия *TLR4* активируется при бронхолите, вызванном данным вирусом и что генетическая изменчивость *TLR4* представляет собой фактор риска РС-инфекции [126].

Карпова Н.И. (2011) установила, что в Забайкальской популяции одним из патогенетических механизмов нарушений в системе иммунитета, гемостаза и адгезивных свойств форменных элементов крови у детей, часто болеющих ОРВИ, являются генетические дефекты в *TLR4 (Asp299Gly)* и *TLR6 (Ser249Pro)* рецепторах. Среди таких детей 55,6% являются носителями мутации в *TLR4* рецепторах и 75,0% в генах *TLR6* рецепторов. Маркерами высокой восприимчивости детей к респираторно-вирусным инфекциям являются аллель *G* гена *TLR4 (Asp299Gly)* рецептора и аллель *P* гена *TLR6 (Ser249Pro)* рецептора. При ОРВИ в первые дни заболевания увеличена концентрация провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , ФНО $\alpha$ , хемокина IL-8 и противовоспалительных цитокинов IL10 и IL-1RA. При аномалии в рецепторах *TLR4* и *TLR6* синтез этих цитокинов уменьшается у носителей гетерозиготных вариантов *Asp/Gly* в гене *TLR4* рецептора, а при мутациях в гене *TLR6* снижается у гетерозигот *Ser/Pro* и гомозигот *Pro/Pro* [43].

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 грамм-отрицательными бактериями, атопической патологии [53].

Полиморфизм *TLR2 Arg753Gln* ассоциируется с рецидивирующими инфекциями респираторного тракта, с развитием стафилококкового сепсиса [125],

полиморфизм *TLR9 T1237C* ассоциирован с повышенным риском развития бронхолегочного аспергиллеза, полиморфизм *TLR1 rs5743551* связывают с нарастанием случаев малярии в азиатской популяции [116].

*TLR2* также ассоциируется с повышенной восприимчивостью к стафилококковым инфекциям [118].

В исследовании Mauad T. et al. (2010) выявлено, что экспрессия *TLR3*, вероятно, способствовала развитию «цитокинового каскада», что обусловило тяжелое течение гриппа с летальным исходом [194]. Вариант полиморфизма *Leu412Phe* гена *TLR3* связывают с развитием подострого склерозирующего панэнцефалита при кори, миокардита и дилатационной кардиомиопатии при энтеровирусной инфекции [120].

Таким образом, полиморфизм генов Toll-подобных рецепторов влияет на реализацию иммунного ответа, однако в доступной литературе отсутствует информация о его значении в патогенезе гриппа А(Н3N2).

*CD14* – генетический полиморфизм цитокинов имеет огромную роль в реализации иммунного ответа при большом количестве инфекционных заболеваний. Полиморфизм рецептора *CD14C159T* впервые описан Baldini M. et al. в 1999 году.

*CD14* был впервые идентифицирован как маркер моноцитов, сигнализирующий о внутриклеточных ответах при контакте с бактериями. Позднее было подтверждено, что *CD14* является корецептором *TLR* для выявления молекулярных паттернов, связанных с патогенами [138].

*CD14* является рецептором комплекса липополисахарид (*LPS*) – *LPS*-связывающий белок, экспрессируется на поверхности моноцитов, макрофагов и нейтрофилов и существует в 2 формах: мембраносвязанного типа (*mCD14*) и растворимого типа (*sCD14*). *sCD14* существует в плазме и происходит из секретируемого *mCD14*. *CD14* опосредует клеточный ответ на ЛПС и активирует провоспалительный сигнальный каскад, специфичный для Toll-подобного рецептора 4. *CD14* также участвует в распознавании широкого спектра других

бактериальных продуктов. Белки CD14 участвуют в регуляции воспаления, выполняя роль паттерн-рецепторов. Повышение концентрации sCD14 показано при многих заболеваниях инфекционного, так и аутоиммунного характера [138].

Так учеными выявлено, что разные уровни sCD14-ST на ранней стадии септического шока позволяют предположить, что sCD14-ST является важным предиктором тяжести заболевания и прогноза пациентов с при данной патологии [220].

На сегодняшний день несколько исследований доказали, что полиморфизм rs2569190 в гене CD14 связан с предрасположенностью к различным заболеваниям, включая неалкогольную жировую болезнь печени, астму, туберкулез, хронический гепатит В, сепсис, воспалительные заболевания кишечника и рак желудка [127, 128, 156].

В работе Петрова А.А. и соавторов (2011) показано, что С-аллель полиморфизма *CD14 C159T* ассоциирована с тяжелым и осложненным течением гриппа А(Н1N1) pdm09. Гаплотип [*CD14 (159CC)*; *FCGR2A (166Arg/Arg)*] ассоциировался с молниеносным течением заболевания и смертью пациентов [18].

По данным литературы, носительство генотипа *C/C* гена *CD14 (C159T)* у больных гриппом А(Н1N1) pdm09 ассоциировано с высоким риском развития пневмонии при среднетяжелом течении заболевания, способствует повышению риска тяжелого течения гриппа с высокой вероятностью летального исхода [14].

Таким образом, полиморфизм генов сигнальных молекул определяет как чувствительность к вирусу, так и эффекторные функции иммунокомпетентных клеток в процессе реализации иммунного ответа и воспалительного процесса при гриппе [18, 19, 25, 26, 51, 63, 120, 125, 131, 161, 193, 200].

### **1.5. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия при некоторых инфекционных заболеваниях**

Тромбоциты играют важную роль в поддержании целостности сосудов после травмы. Кроме того, тромбоциты способствуют иммунному ответу на



патогены. Например, они экспрессируют рецепторы, которые опосредуют связывание вирусов, и Toll-подобные рецепторы, которые активируют клетку в ответ на молекулярные паттерны, ассоциированные с патогенами [24, 198]. Тромбоциты могут иметь как положительное, так и отрицательное влияние во время вирусных инфекций [43, 58, 82]. Они уменьшают переносимые кровью вирусы, поглощая свободный вирус и представляя вирус нейтрофилам. Однако тромбоциты также могут усиливать воспаление и повреждение тканей при вирусных инфекциях [83].

Список известных продуктов, секретируемых тромбоцитами, обширен. К ним относят кислые гидролазы, ряд белков, липидов и многие другие. В связи с этим тромбоциты выполняют множество функций, которые регулируют гомотипную и гетеротипическую межклеточную агрегацию, хемотаксис, ангиогенез, деградацию матрикса и сигнальные события в клетках-мишенях [214, 217].

Взаимодействия между тромбоцитами и лейкоцитами являются важными звеньями механизмов, обеспечивающих миграцию лейкоцитов в зону повреждения и развития там иммунных и репаративных процессов [13, 30, 43, 55]. В настоящее время установлено, что тромбоциты могут адгезировать к нейтрофилам, эозинофилам, моноцитам и лимфоцитам [57, 58, 70, 96]. Особый интерес вызывает тот факт, что лимфоциты способны образовывать агрегаты с тромбоцитами (лимфоцитарно-тромбоцитарные агрегаты, или ЛТА). Активируясь, лимфоциты усиленно адгезируют тромбоциты и, благодаря ретракции последних, продвигаются далее через поврежденную стенку сосудов вглубь травмированного участка [97]. При этом кровяные пластинки влияют на трофику и репарацию тканей, секретируя в окружающую среду ростковые факторы [57, 58, 96, 137].

Особенную роль играет адгезия тромбоцитов к лимфоцитам в очаге воспаления. Адгезированные к травмированной сосудистой стенке активированные тромбоциты образуют связующий мост с лейкоцитами и, таким

образом, привлекают их в зону повреждения, где они выполняют свои функции [13, 30, 70].

Тромбоциты являются одними из первых клеток, которые накапливаются в месте повреждения, и локальное высвобождение их секрета инициирует воспалительный каскад, привлекающий лейкоциты, активирует клетки-мишени и стимулирует рост и восстановление сосудов [96].

Хемокины, в том числе RANTES (регулируется активацией экспрессируемых секретируемых нормальными Т-клетками; CCL5), ENA-78 (эпителиальный нейтрофил-активирующий белок-78; CXCL5), MIP-1 $\alpha$  (макрофагальный воспалительный белок-1 $\alpha$ ; CCL3) и PF4 (тромбоцитарный фактор 4; CXCL4) являются одними из наиболее мощных воспалительных сигнальных молекул, секретируемых тромбоцитами [136]. RANTES, высвобождающийся из тромбоцитов, может связывать воспаленный эндотелий, образуя мостик между мононуклеарными клетками и сосудистой стенкой [143]. RANTES также индуцирует быстрые внутриклеточные сигнальные реакции в лейкоцитах и в моноцитах, непосредственно передает сигналы путям экспрессии генов, которые контролируют воспаление [121]. ENA-78 индуцирует внутреннюю передачу сигналов интегринов  $\beta_2$ , которые увеличивают адгезию нейтрофилов к эндотелиальным поверхностям [160]. MIP-1 $\alpha$  является мощным медиатором вирус-индуцированного воспаления *in vivo*, а PF-4 способствует дифференцировке макрофагов во время воспалительного процесса [136]. При некоторых условиях, высвобождаемые хемокины, связываются с плазматической мембраной тромбоцитов, обеспечивая механизм дифференцированной активации лейкоцитов.

Тромбоциты непосредственно регулируют адгезию лейкоцитов во время воспаления. Тромбоциты первоначально плотно прикрепляются к внеклеточному матриксу с помощью членов семейства  $\beta$ -integrin и GPIb [145, 231]. Прилипание к клеточной мембране мобилизует белок  $\alpha$ -гранул, P-селектин. Поверхностная плотность тромбоцитов, экспрессирующих P-селектин, чрезвычайно высока,

вызывая процесс, который индуцирует связывание и скручивание лейкоцитов посредством Р-селектина гликопротеина-1 (PSGL-1), конститутивно экспрессируемого на поверхности лейкоцитов [196, 225]. Эффективные взаимодействия между Р-селектином и PSGL-1 в сочетании с другими тромбоцитарными медиаторами активируют лейкоциты [97]. Затем лейкоциты используют  $\beta_2$ -интегрины, Mac-1 и, в меньшей степени, LFA-1, для плотного прилипания к тромбоцитам [196].

Таким образом, образующиеся лимфоцитарно-тромбоцитарные агрегаты принимают непосредственное участие в протекании местных иммунологических, гемостатических, репаративных реакциях, направленных на восстановление повреждённых тканей [13].

Необходимо отметить, что феномен взаимосвязи лимфоцитов и тромбоцитов открыт и детально исследован профессором Витковским Ю.А. и его сотрудниками на кафедре нормальной физиологии Читинской государственной медицинской академии.

Так в одной из работ установлено снижение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии у больных ХВГС в 73,8% случаев, что свидетельствует о дисфункции Т-лимфоцитов, проявляющейся в уменьшении их способности к адгезии тромбоцитов [87].

При исследовании феномена лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии у больных пневмонией на фоне на фоне гриппа А(Н1N1)/09 установлено, что на 1-2 сутки с момента госпитализации количество лимфоцитарно-тромбоцитарных коагратов в крови пациентов с нетяжелой пневмонией значительно увеличивается по сравнению с группой здоровых. У больных тяжелой пневмонией на фоне гриппа А(Н1N1)/09 ЛТА не изменялась по сравнению с группой контроля, но показатель был ниже относительно больных с нетяжелой пневмонией. Максимальное повышение ЛТА у больных с тяжелой и нетяжелой пневмонией приходилось на 4 сутки с момента госпитализации, что вероятно всего связано с максимальным уровнем вирусемии в этот период заболевания,

прогрессированием синдрома системной воспалительной реакции и выраженным повреждением эндотелия сосудов [47].

Сведения о различных типах лейкоцитов, лимфоцитов, адгезивных молекулах, принимающих участие в образовании лейкоцитарно-тромбоцитарных агрегатов, открывают перед учеными новые возможности для изучения механизмов миграции клеток, развития иммунных реакций, воспаления и тромбоза. Изучение специфики и механизмов лимфоцитарно-тромбоцитарных взаимодействий при разных заболеваниях позволяет использовать показатели ЛТА для прогнозирования исхода патологического процесса и оценки эффективности проводимой терапии [82].

Основываясь на данных анализа генетических полиморфизмов, можно говорить о том, что в терапии гриппа, особенно в условиях массовой заболеваемости, характерной для пандемий, необходимо учитывать возможный характер осложненного течения заболевания, связанного с дефектом того или иного звена иммунитета и противовирусной защиты. Изучение генетических основ патологии инфекционных заболеваний, включая грипп, может существенно изменить как практику вакцинации, так и основы терапии [13, 55].

Понимание сущности инфекционного процесса достаточно сложная задача, так как это многоступенчатый многоклеточный процесс, который постоянно расширяется, уточняется, а некоторые механизмы подвергаются сомнению. На сегодняшний день в многочисленных работах доказано, что тромбоциты являются клетками, функциональные роли которых не ограничиваются остановкой кровопотери и восстановлением сосудистых повреждений [13, 24, 30, 58, 82, 96, 217]. Эволюция этой концепции связана с прогрессивным признанием того, что тромбоциты регулируют различные воспалительные реакции и являются ключевыми эффекторами при инфекционных заболеваниях.

## Заключение

Таким образом, повсеместная распространенность, высокий уровень заболеваемости (в период сезонного подъема до 20-50% населения), а также частота летальных исходов при гриппе указывает на необходимость поиска генетических предикторов риска развития гриппа. В настоящее время общая концепция роли генетических факторов в этиопатогенезе гриппа обоснована, однако при гриппе А(Н3N2) данные о таких исследованиях представлены единично.

В связи с чем, представляется актуальным комплексное изучение полиморфизма генов *CD14 (C159T)*, *TLR2 (Arg753Gln)*, *TLR3 (Phe412Leu)*, *TLR4 (Asp299Gly)*, *TLR4 (Thr399Ile)*, *IL-2 (T330G)*, *IL-4 (C589T)*, *IL-10 (C819T)*, *IL-10 (G1082A)*, их влияния на уровень цитокинов в сыворотке крови и показатель лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии среди больных гриппом А(Н3N2), что позволит прогнозировать индивидуальную предрасположенность здоровых индивидов к развитию гриппа А(Н3N2).

## Г Л А В А 2

### КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 2.1. Характеристика исследуемых групп

В работе приведены результаты комплексного обследования 89 пациентов с гриппом А(Н3N2) эпидемических сезонов 2016-2017 гг. и 2017-2018 гг.

Все исследования выполнены с информированного согласия пациентов, включенных в исследование. В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, 2013 ред.) и Правилами клинической практики в Российской Федерации, утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266, дизайн исследования утвержден локальным этическим комитетом при ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (протокол №85 от 24.05.2017 г.).

Комплекс лабораторных тестов включал гематологические, биохимические, молекулярно-генетические и иммунологические показатели.

Лабораторные исследования были выполнены на базе НИИ «Молекулярной медицины» ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (и.о. ректора – д.м.н., профессор Н.В. Ларёва). Набор клинического материала осуществлялся на базе ГУЗ «Краевая клиническая инфекционная больница» (и.о. главного врача – к.м.н. С.А. Лукьянов).

Критерии включения: давность заболевания не более 6 суток, наличие симптомов интоксикации, одного или нескольких симптомов катарального

воспаления дыхательных путей (умеренный кашель, насморк), повышение  $t^{\circ}$  тела  $\leq 38,5^{\circ}\text{C}$ , лабораторное подтверждение диагноза.

Критериями исключения служили: отсутствие признаков гриппоподобного заболевания, детский возраст, отсутствие лабораторного подтверждения гриппа, иные любые инфекционные заболевания, обострение хронических воспалительных процессов, аутоиммунная патология, наличие тяжелой сопутствующей патологии, сахарный диабет и другие эндокринные заболевания, наследственные и психические болезни, у женщин – беременность и ранний послеродовой период, переезд пациентов из другого региона, факт вакцинации от гриппа в данном эпидемическом сезоне, отказ пациента от дальнейшего участия в исследовании.

Контрольная группа сформирована за 1 год до предполагаемого эпидемического сезона и включала 96 практически здоровых доноров крови с аналогичными исследуемой группе характеристиками по полу и возрасту, не имеющих хронических инфекционных заболеваний, аллергических и аутоиммунных реакций, острых вирусных и бактериальных инфекций. Соотношение мужчин и женщин в группе пациентов составило 42:54 (1:1,3). Возраст в контрольной группе составил 52,5 [36,5; 71,0] лет. Когорты мужчин и женщин сопоставимы по возрасту (56,0 [33,5; 74,8] и 53,0 [39,3; 70,8] лет соответственно,  $p > 0,05$ ). Помимо перечисленных критериев невключения в исследование добровольцы контрольной группы не должны были иметь клинических проявлений гриппа или ОРВИ, либо в анамнезе отрицать признаки перенесенного гриппа или ОРВИ в данном эпидемическом сезоне, а также вакцинацию от гриппа в данном эпидемическом сезоне.

Для переноса данных с исследуемой выборочной совокупности на генеральную, которой являются представители европеоидной расы, родившиеся и проживающие на территории Забайкальского края (930017 человек по данным Федеральной службы государственной статистики), при уровне надежности 80%

и доверительной погрешности 5% минимальный размер необходимой выборки составляет 164 человека (в исследование включено 185 человек).

### **2.1.1. Клиническая характеристика пациентов с гриппом А(Н3N2)**

В исследование включены пациенты с гриппом А(Н3N2) средней степени тяжести (по МКБ – 10 рубрики, J10).

Возраст пациентов составлял 47,0 [31,0;68,0] лет. Когорты мужчин и женщин сопоставимы по возрасту (45,0 [29,0;64,0] и 48,0 [34,0;58,7] лет соответственно,  $p > 0,05$ ). Гендерное соотношение в исследуемой группе составило 36 мужчин на 53 женщины (1:1,5).

Диагноз гриппа А(Н3N2) выставлен на основании эпидемиологических данных, острого начала типичного синдрома интоксикации и катарально-респираторного синдрома, верифицирован путем обнаружения РНК вируса в назофарингеальных мазках (мазок из носо- и ротоглотки методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)).

Для формирования основной группы мы использовали определение подтвержденного случая гриппа (подтвержденным считается случай гриппа после лабораторного подтверждения в соответствии с СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных заболеваний», раздел XXXIV. Профилактика гриппа и других острых респираторных вирусных инфекций (постановление главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 №2), а также критерии, определяющие среднетяжелое течение гриппа в соответствии с клиническими рекомендациями «Грипп у взрослых», утвержденными в 2022 году Национальной ассоциацией специалистов по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского (НАСИБ), Российским научным медицинским обществом терапевтов (РНМОТ): умеренно выраженная лихорадка,  $t^{\circ}$  тела  $\leq 38,5^{\circ}\text{C}$ , интоксикация (умеренная головная боль), ЧДД не более 23 в минуту, отсутствие осложнений.



Всем пациентам проводилось стандартное обследование, которое включало в себя сбор анамнеза заболевания, объективный осмотр пациента, анализ клинической картины в сопоставлении с данными лабораторно-инструментальных методов исследования (общие анализы крови и мочи, по клиническим показаниям - рентгенологическое исследование органов грудной клетки).

## 2.2. Лабораторные методы исследований

Объектом для исследования являлась цельная кровь и ее сыворотка/плазма; забор материала осуществлялся в острый период на 1-2 сутки госпитализации и на 5-6 сутки после окончания противовирусного и симптоматического лечения.

### 2.2.1. Определение концентрации цитокинов

Для определения концентрации цитокинов (IL-2, IL-4, IL-10) 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). Показатели выражали в пкг/мл.

### 2.2.2. Определение полиморфизма генов

Определение полиморфизма генов (*IL-2*, *IL-4*, *IL-10*, *CD14*, *TLR2*, *TLR3*, *TLR4*) осуществлялось методом ПЦР с использованием праймеров ООО «Литех» (г. Москва). Анализу подвергалась геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс», затем проводилась реакция амплификации с двумя парами аллель-специфичных праймеров.

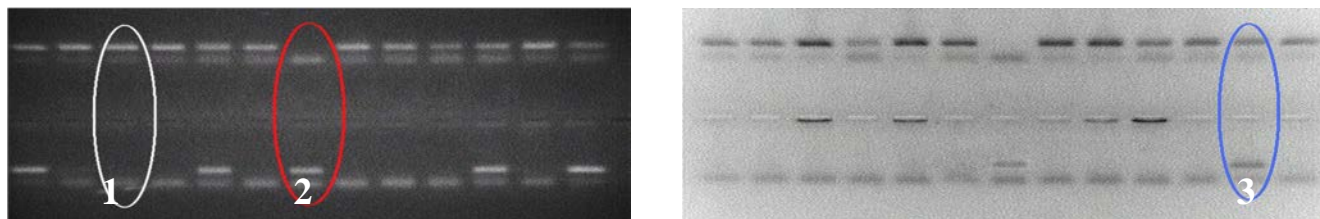


Рисунок 1 – Электрофореграммы продуктов амплификации (позитив и негатив);

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

### **2.2.3. Определение показателя лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии**

Подсчет общего числа лейкоцитов с дифференцированием различных форм лейкоцитов проводили стандартным методом в камере Горяева. Мазки крови фиксировали метанолом в течение 10 мин и окрашивали по Романовскому-Гимзе. Подсчет клеток крови осуществляли под иммерсионным объективом  $\times 90$ , окуляр  $\times 15$ .

Определение показателя лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии, относящегося к функциональным тестам оценки иммунокомпетентных клеток, проводили по методу Ю.А. Витковского и соавт. (1999). Свежую гепаринизированную кровь обследуемых больных, предварительно смешанную с цитратом натрия, наслаивали на градиент урографин-фикол (плотность 1,077) в соотношении 3:1 и центрифугировали при 1000 об/мин в течение 30 мин. Собирали интерфазное кольцо, содержащие клетки и кровяные пластинки, однократно промывали фосфатно-солевым буфером (рН 7,4) и повторно центрифугировали при 1000 об/мин в течение 3-4 мин. Надосадочную жидкость сливали, осадок микроскопировали в камере Горяева. Подсчитывали число лимфоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов на 100 клеток.

### **2.3. Методы статистической обработки полученных результатов**

Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью пакета программ «IBM SPSS Statistics Version 25.0» (International Business Machines Corporation, США). Построение графиков и диаграмм выполнено с помощью пакета Microsoft Office Excel 2013.

При нормальном распределении количественного признака, данные представлены в виде среднего значения и его стандартного отклонения:  $M (SD)$ . При отличии от нормального распределения количественного признака данные представлены в виде медианы значения и его интерквартильного размаха:  $Me (25-75 \text{ перцентили})$ .

Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с помощью критерия  $\chi^2$  [Вейер Б.,1995].

Для оценки ассоциаций полиморфных вариантов генов с патологическим фенотипом рассчитывали показатель отношения шансов (OR) с расчетом для него 95% доверительного интервала (CI).

Сравнение номинальных данных исследования проводилось при помощи критерия критерий  $\chi^2$  (Пирсона) с поправкой Йейтса, позволяющего оценить значимость между фактическим количеством исходов или качественных характеристик выборки, попадающих в каждую категорию, и теоретическим количеством, которое можно ожидать в изучаемых группах при справедливой нулевой гипотезе [20, 50, 52, 61, 103].

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

Для оценки вероятности развития события использовали метод бинарной логистической регрессии. Диагностическую ценность разработанной модели определяли путем построения ROC-кривой с последующим расчетом площади под ней.

Значения уровня  $p < 0,05$  рассматривались как статистически значимые.

## ГЛАВА 3

### РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1. Исследование генетического полиморфизма цитокинов при гриппе

##### 3.1.1. Полиморфизм промотора гена *IL-2* (*T330G*) и его влияние на показатель лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии и содержание интерлейкина 2 в крови пациентов при гриппе А(Н3N2)

Учитывая, что цитокины являются медиаторами воспалительного процесса, нами изучено распределение частот аллелей и генотипов промоторного участка *T330G* гена *IL-2*.

В ходе исследования среди больных гриппом и практически здоровых резидентов обнаружены все искомые мутации *IL-2* (*T330G*) в гомо- и гетерозиготном состоянии в соответствии с законом Харди-Вайнберга ( $p > 0,05$ ).

Выявлено, что в группе больных гриппом встречаемость полиморфных вариантов *IL-2* (*T330G*) существенно отличалась от контрольной группы. У пациентов значительно превалировала мажорная аллель *T* с частотой 0,618 по сравнению с группой здоровых лиц – 0,453 ( $\chi^2=10,08$ ;  $p=0,002$ ). При этом в группе больных значительно чаще регистрировался гомозиготный генотип *T/T* (43,8%) промотора гена *IL-2* (*T330G*) (в 2,2 раза) по сравнению с контрольной группой. Распределение генотипов среди здоровых резидентов оказалось следующим: *T/T* – 19,8%, *T/G* – 51,0%, *G/G* – 29,2% ( $\chi^2=12,39$ ;  $p=0,002$ ) (Таблица 1).

Исходя из полученных данных о распределении частот, шанс развития гриппа А(Н3N2) возрастает у лиц-носителей мажорной аллели *T* (OR=1,95 [CI95%: 1,29-2,96]) ( $p=0,002$ ) и гомозиготного генотипа *T/T* (OR=3,16 [CI95%: 1,64-6,08]) промотора гена *IL-2* (*T330G*) ( $p=0,002$ ) (Таблица 1). Вероятность

развития заболевания снижена у обладателей минорной аллели *G* (OR=0,51 [0,34-0,78]) и гетерозиготного варианта *T/G* (OR=0,54 [0,30-0,91]) (Таблица 1).

Таблица 1 – Встречаемость SNP *IL-2* (*T330G*) у здоровых лиц и больных гриппом А(Н3N2)

Группа	Аллель	Частота аллели, Р	$\chi^2$ ; p	Генотип	Частота генотипа, %	$\chi^2$ ; p
Больные гриппом А(Н3N2) (n=89)	<i>T</i>	0,618	10,08 0,002	<i>T/T</i>	43,8	12,39 0,002
	<i>G</i>	0,382		<i>T/G</i>	36,0	
				<i>G/G</i>	20,2	
Контрольная группа (n=96)	<i>T</i>	0,453	0,002	<i>T/T</i>	19,8	0,002
	<i>G</i>	0,547		<i>T/G</i>	51,0	
				<i>G/G</i>	29,2	

Принимая во внимание тот факт, что исследуемый SNP расположен в промоторном регионе, мы проследили функцию ЛТА и концентрацию *IL-2* у больных гриппом А(Н3N2) в зависимости от полиморфных вариантов региона *T330G* гена *IL-2* (Таблица 2).

Обнаружено, что у пациентов-носителей варианта *T/T* гена *IL-2* (*T330G*) на фоне повышенного количества лимфоцитов абсолютный показатель ЛТА достигал 0,78 [0,57;1,09]  $\times 10^9$ /л ( $p_1 < 0,001$ ), тогда как среди здоровых лиц – до 0,23 [0,21;0,38]  $\times 10^9$ /л ( $p_1 < 0,001$ ) (Таблица 2).

Таблица 2 – Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у больных гриппом А(Н3N2) в зависимости от генотипа полиморфизма промотора гена *IL-2* (*T330G*) (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Наблюдаемые группы	Абсолютное содержание лимфоцитов, ×10 <sup>9</sup> /л	Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия		
		Показатель ЛТА		Степень ЛТА
		Относит.,%	Абсол., ×10 <sup>9</sup> /л	
Генотип <i>T/T</i>				
Контрольная группа (n=19)	1,69 [1,59;2,06]	15,0 [14,1;15,9]	0,23 [0,21;0,38]	3,1 [2,4;3,6]
Больные гриппом (n=39)	2,8 [2,78;3,86] p <sub>1</sub> <0,001	24,8 [22,1;27,9] p <sub>1</sub> <0,001	0,78 [0,57;1,09] p <sub>1</sub> <0,001	3,7 [3,0;4,4] p <sub>1</sub> <0,05
Генотип <i>T/G</i>				
Контрольная группа (n=49)	1,86 [1,67;2,19]	14,5 [12,9;14,8]	0,28 [0,19;0,28]	3,3 [2,5;3,8]
Больные гриппом (n=32)	3,0 [2,71;3,62] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05	19,8 [17,9;26,1] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05	0,63 [0,42;0,87] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,05	4,1 [3,5;4,2] p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> >0,05
Генотип <i>G/G</i>				
Контрольная группа (n=28)	1,79 [1,61;2,26]	14,1 [11,8;14,8]	0,25 [0,18;0,33]	3,2 [2,2;3,6]
Больные гриппом (n=18)	3,2 [2,51;3,79] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05 p <sub>3</sub> >0,05	18,8 [17,3;23,1] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05 p <sub>3</sub> >0,05	0,61 [0,39;0,83] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05 p <sub>3</sub> >0,05	3,9 [3,3;4,1] p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> >0,05 p <sub>3</sub> >0,05

Примечание: p<sub>1</sub> – статистическая значимость различий с контролем; p<sub>2</sub> – статистическая значимость различий по сравнению с гомозиготными вариантами *T/T*; p<sub>3</sub> – статистическая значимость различий по сравнению с гетерозиготными вариантами *T/G*.

При этом степень ЛТА также превышала контрольные показатели и составила 3,7 [3,0;4,4], что выше по сравнению с контрольной группой (p<sub>1</sub><0,05).

В группе больных гриппом А(Н3N2) у обладателей гомозигот *G/G* гена *IL-2* (*T330G*) выявлено минимальное количество и наименьший абсолютный показатель ЛТА по сравнению со здоровыми (18,8 [17,3;23,1] и 0,61 [0,39;0,83]  $\times 10^9/\text{л}$  соответственно ( $p < 0,001$ )) (Таблица 2).

На 5-6 сутки после проведенного лечения абсолютное число лимфоцитов среди больных гриппом А(Н3N2) составляло 1,98 [1,73;2,21]  $\times 10^9/\text{л}$ , при этом достоверных различий по сравнению с контрольной группой не обнаружено (1,78 [1,62;2,17]  $\times 10^9/\text{л}$ ) ( $p > 0,05$ ). Среди пациентов лимфоцитарно-тромбоцитарное розеткообразование превышало показатели контрольной группы (16,5 [13,2;19,1] и 14,9 [14,1;16,3] соответственно), однако достоверных различий в исследуемых показателях также не выявлено ( $p > 0,05$ ). При этом, например, в проведенных нами ранее работах по оценке показателя ЛТА у пациентов с гриппом А(Н1N1) на фоне проводимой противовирусной терапии в эти же сутки отмечена более выраженная функциональная активность иммунокомпетентных клеток по сравнению с группой здоровых лиц ( $p < 0,05$ ) [67].

Таким образом, показатели функции лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии при гриппе А(Н3N2) в дебюте болезни зависят от носительства генотипов полиморфизма промотора гена *IL-2* (*T330G*).

При изучении концентрации *IL-2* в сыворотке крови больных гриппом А(Н3N2) установлено, что у носителей генотипа *T/T* определяется максимальное содержание *IL-2* – 20,6 [17,2;24,7] пкг/мл ( $U=921,6$ ,  $p < 0,001$ ), тогда как у обладателей гомозигот *G/G* обнаружено минимальное количество кодируемого цитокина – 7,9 [6,6;8,6] пкг/мл ( $U=582,1$ ,  $p < 0,001$ ) ( $H=8,07$ ,  $p < 0,05$ ) (Таблица 3, Рисунок 2).

Таблица 3 – Содержание IL-2 в крови больных гриппом А(Н3N2) в зависимости от генотипа полиморфизма промотора гена *IL-2* (*T330G*), пкг/мл (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Генотип	Здоровые лица	Больные гриппом	U-критерий
<i>T/T</i>	0,8 [0,6;1,1]	20,6 [17,2;24,7]	U=921,6 (p <sub>1</sub> <0,001)
<i>T/G</i>	1,1 [0,6;1,2]	12,4 [9,7;15,9]	U <sub>1</sub> =1077,5 (p <sub>1</sub> <0,001) U <sub>2</sub> =1386,5 (p <sub>2</sub> <0,01) U <sub>3</sub> =2025,5 (p <sub>3</sub> <0,01)
<i>G/G</i>	1,7 [1,1;2,5]	7,9 [6,6;8,6]	U <sub>1</sub> =582,0 (p <sub>1</sub> <0,001) U <sub>2</sub> =923,5 (p <sub>2</sub> <0,01) U <sub>3</sub> =1020,0 (p <sub>3</sub> <0,01) U <sub>4</sub> =1407,5 (p <sub>4</sub> <0,01) U <sub>5</sub> =1397,5 (p <sub>5</sub> <0,01)

Примечание (U-критерий Манна-Уитни): p<sub>1</sub> – значимость различий с контролем; p<sub>2</sub> – значимость различий по сравнению с вариантами *T/T* в группе здоровых; p<sub>3</sub> – значимость различий по сравнению с вариантами *T/T* в группе больных гриппом; p<sub>4</sub> – значимость различий по сравнению с вариантами *T/G* в группе здоровых; p<sub>5</sub> – значимость различий по сравнению с вариантами *T/G* в группе больных гриппом.

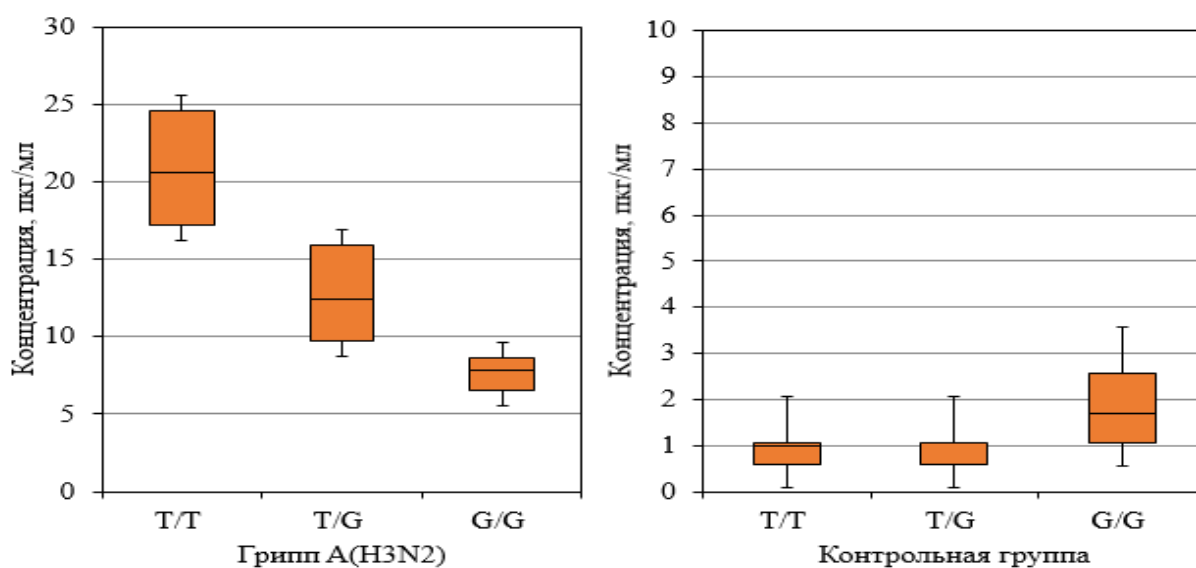


Рисунок 2 – Содержание IL-2 в крови больных гриппом А(Н3N2) в зависимости от полиморфных вариантов гена *IL-2* (*T330G*), пкг/мл (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>).



Таким образом, наивысшая розеткообразующая способность лимфоцитов и наибольшая концентрация транслируемого цитокина выявляется у носителей гомозиготного генотипа *T/T*. Данный генотип ассоциирован с гиперфункцией лимфоцитов с избыточной продукцией *IL-2* и усилением лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии. Содержание *IL-2* и показатели функции лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии при гриппе А(Н3N2) зависят от носительства генотипов промоторного региона *T330G* гена *IL-2*. Следовательно, носительство мажорной аллели *T* и гомозиготного варианта *T/T* промотора гена *IL-2* (*T330G*) предрасполагают к развитию гриппа А(Н3N2).

### **3.1.2. Полиморфизм промотора гена *IL-4* (*C589T*) и его влияние на показатель лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии и содержание интерлейкина 4 в сыворотке крови пациентов при гриппе А(Н3N2)**

Известно, что противовоспалительный цитокин *IL-4* принимает участие в ограничении воспалительного ответа, подавляя секрецию провоспалительных цитокинов в клетках-продуцентах, индуцируя синтез рецепторных антагонистов интерлейкинов, снижая плотность провоспалительных рецепторов на клетках [47]. Кроме того, важной функцией *IL-4* является активация продукции антител [91]. Можно предположить, что SNP промоторного региона *C589T* гена *IL-4* приведет как к модификации конечного продукта, так и к изменению уровня экспрессии самого цитокина, тем самым оказывая влияние на иммунный ответ.

В результате проведенного генетического анализа среди больных гриппом и практически здоровых резидентов обнаружено, что распределение частот аллелей и генотипов исследуемого полиморфизма *IL-4* (*C589T*) соответствует эквилибриуму Харди-Вайнберга ( $p > 0,05$ ) (Таблица 4).

Соответственно этому распределение генотипов среди пациентов с гриппом А(Н3N2) также значительно отличалось от здоровых лиц.

Установлено, что у больных гомозиготы *C/C* встречались в 37,1% случаев, гетерозиготы *C/T* – в 46,1%, гомозиготы *T/T* – в 16,8% ( $\chi^2=13,15$ ;  $p<0,05$ ). Распределение генотипов среди здоровых резидентов оказалось следующим: *C/C* – 62,5%, *C/T* – 31,3%, *T/T* – 6,2% ( $\chi^2=13,15$ ;  $p<0,05$ ) (Таблица 4).

Таблица 4 – Встречаемость SNP *IL-4* (*C589T*) у здоровых лиц и больных гриппом А(Н3N2)

Группа	Аллель	Частота аллели, Р	$\chi^2$ ; p	Генотип	Частота генотипа, %	$\chi^2$ ; p
Больные гриппом А(Н3N2) (n=89)	<i>C</i>	0,601	14,13 0,0002	<i>C/C</i>	37,1	13,15 0,001
	<i>T</i>	0,399		<i>C/T</i>	46,1	
				<i>T/T</i>	16,8	
Контрольная группа (n=96)	<i>C</i>	0,781		<i>C/C</i>	62,5	
	<i>T</i>	0,219		<i>C/T</i>	31,3	
				<i>T/T</i>	6,2	

В группе больных превалировала аллель *C* с частотой 0,601, а аллель *T* выявлялась с частотой 0,399, что в 1,8 раза чаще, чем в контрольной группе ( $\chi^2=14,13$ ;  $p<0,001$ ) (Таблица 4).

Исходя из полученных данных о распределении частот, шанс развития гриппа А(Н3N2) возрастает у лиц-носителей аллели *T* (OR=2,37 [CI95%: 1,50-3,74]) ( $p=0,0002$ ), гетерозиготного варианта *C/T* (OR=1,88 [CI95%: 1,03-3,42]) и гомозиготного генотипа *T/T* (OR=3,04 [CI95%: 1,12-8,23]) промотора гена *IL-4* (*C589T*) ( $p=0,001$ ) (табл. 4). Вероятность развития заболевания снижена у обладателей аллели *C* (OR=0,42 [0,27-0,67]) и гомозиготного варианта *C/C* (OR=0,35 [0,19-0,64]) (Таблица 4).

Учитывая, что исследуемый SNP расположен в промоторном регионе, мы проследили функцию ЛТА и концентрацию IL-4 у больных гриппом А(Н3N2) в зависимости от полиморфных вариантов участка *C589T* гена *IL-4* (Таблица 5).

Среди пациентов-носителей генотипа *C/C* полиморфизма гена *IL-4* способность лимфоцитов контактировать с тромбоцитами оказалась максимальной (Таблица 5).

Так, абсолютное значение коагрегатов в крови этих пациентов достигало  $0,82 [0,69;1,15] \times 10^9/\text{л}$ , тогда как у здоровых –  $0,29 [0,22;0,39] \times 10^9/\text{л}$  ( $p_1 < 0,001$ ). У больных гриппом с выявленным генотипом *T/T* SNP *IL-4* (*C589T*) способность лимфоцитов к адгезии кровяных пластинок оказалась наименьшей –  $0,64 [0,47;0,73] \times 10^9/\text{л}$ , однако этот показатель был выше, чем в контрольной группе –  $0,22 [0,16;0,27] \times 10^9/\text{л}$  ( $p_1 < 0,001$ ) (Таблица 5).

Проследив изменение контактных взаимодействий лимфоцитов и тромбоцитов в динамике на 5-6 сутки от момента госпитализации и проводимого лечения, нами отмечена нормализация показателей ЛТА вне зависимости от носительства генотипов гена *IL-4* (*C589T*) (относительного – до  $17,1 [14,0;19,3] \%$ , абсолютного – до  $0,36 [0,27;0,41] \times 10^9/\text{л}$ ), что достоверно не отличается от значений здоровых (относительный – до  $14,9 [14,1;16,3] \%$ , абсолютный – до  $0,26 [0,18;0,32] \times 10^9/\text{л}$ ) ( $p > 0,05$ ).

Таким образом, наивысшая способность к лимфоцитарно-тромбоцитарному розеткообразованию при гриппе А(Н3N2) в дебюте болезни выявляется у лиц-носителей генотипа *C/C* промотора гена *IL-4* (*C589T*).

В таблице 6 приведены данные о содержании *IL-4* в крови больных гриппом А(Н3N2) и здоровых лиц в зависимости от генотипа полиморфизма гена *IL-4* (*C589T*).

В контрольной группе у практически здоровых людей-носителей различных SNP гена *IL-4* (*C589T*) концентрация одноименного цитокина не отличается. При этом среди больных гриппом А(Н3N2) в условиях стимуляции иммунокомпетентных клеток у обладателей гомозигот *C/C* определялась минимальная концентрация *IL-4* –  $7,9 [6,8;9,5] \text{ пкг/мл}$  ( $U=1012,4$ ,  $p < 0,001$ ), а максимальная – у носителей вариантов *T/T* –  $9,5 [8,5;11,7] \text{ пкг/мл}$  ( $U=479,4$ ,  $p < 0,001$ ) ( $H=6,84$ ,  $p < 0,05$ ) (Таблица 6, рисунок 3).

Таблица 5 – Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у больных гриппом А(Н3N2) в зависимости от генотипа полиморфизма промотора гена *IL-4* (C589T) (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Наблюдаемые группы	Абсолютное содержание лимфоцитов, *10 <sup>9</sup> /л	Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия		
		Показатель ЛТА		Степень ЛТА
		Относит.,%	Абсол., × 10 <sup>9</sup> /л	
Генотип C/C				
Контрольная группа (n=60)	1,89 [1,72;2,38]	14,8 [14,1;15,4]	0,29 [0,22;0,39]	3,5 [2,4;3,9]
Больные гриппом (n=33)	2,9 [2,71;3,67] p <sub>1</sub> <0,001	27,4 [23,8;31,7] p <sub>1</sub> <0,001	0,82 [0,69;1,15] p <sub>1</sub> <0,001	4,3 [3,3;4,8] p <sub>1</sub> <0,05
Генотип C/T				
Контрольная группа (n=30)	1,74 [1,69;2,09]	14,2 [12,5;14,9]	0,26 [0,18;0,29]	3,3 [2,3;3,7]
Больные гриппом (n=41)	3,5 [2,94;3,82] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05	22,5 [18,3;25,3] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05	0,72 [0,61;0,89] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,05	3,7 [3,2;4,2] p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> >0,05
Генотип T/T				
Контрольная группа (n=6)	1,61 [1,59;1,98]	14,1 [11,9;14,7]	0,22 [0,16;0,27]	3,1 [2,1;3,4]
Больные гриппом (n=15)	3,3 [2,83;3,59] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05 p <sub>3</sub> >0,05	18,6 [16,2;25,4] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05 p <sub>3</sub> >0,05	0,64 [0,47;0,73] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05 p <sub>3</sub> >0,05	3,4 [2,7;3,9] p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> >0,05 p <sub>3</sub> >0,05

Примечание: p<sub>1</sub> – статистическая значимость различий с контролем; p<sub>2</sub> – статистическая значимость различий по сравнению с гомозиготными вариантами C/C; p<sub>3</sub> – статистическая значимость различий по сравнению с гетерозиготными вариантами C/T.

Таблица 6 – Содержание IL-4 в крови больных гриппом А(Н3N2) в зависимости от генотипа полиморфизма промотора гена *IL-4* (*C589T*), пкг/мл (Me,  $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ )

Генотип	Здоровые лица	Больные гриппом	U-критерий
<i>C/C</i>	0,4 [0,1;0,6]	7,9 [6,8;9,5]	$U_1=1012,5$ ( $p_1<0,001$ )
<i>C/T</i>	0,7 [0,3;0,9]	8,9 [7,1;10,2]	$U_1=1379,5$ ( $p_1<0,001$ ) $U_2=1498,0$ ( $p_2<0,01$ ) $U_3=1507,0$ ( $p_3<0,01$ )
<i>T/T</i>	0,9 [0,8;1,1]	9,5 [8,5;11,7]	$U_1=479,5$ ( $p_1<0,001$ ) $U_2=544,5$ ( $p_2<0,01$ ) $U_3=1007,0$ ( $p_3<0,01$ ) $U_4=589,5$ ( $p_4<0,01$ ) $U_5=1030,5$ ( $p_5<0,01$ )

Примечание (U-критерий Манна-Уитни):  $p_1$  – значимость различий с контролем;  $p_2$  – значимость различий по сравнению с вариантами *C/C* в группе здоровых;  $p_3$  – значимость различий по сравнению с вариантами *C/C* в группе больных гриппом;  $p_4$  – значимость различий по сравнению с вариантами *C/T* в группе здоровых;  $p_5$  – значимость различий по сравнению с вариантами *C/T* в группе больных гриппом.

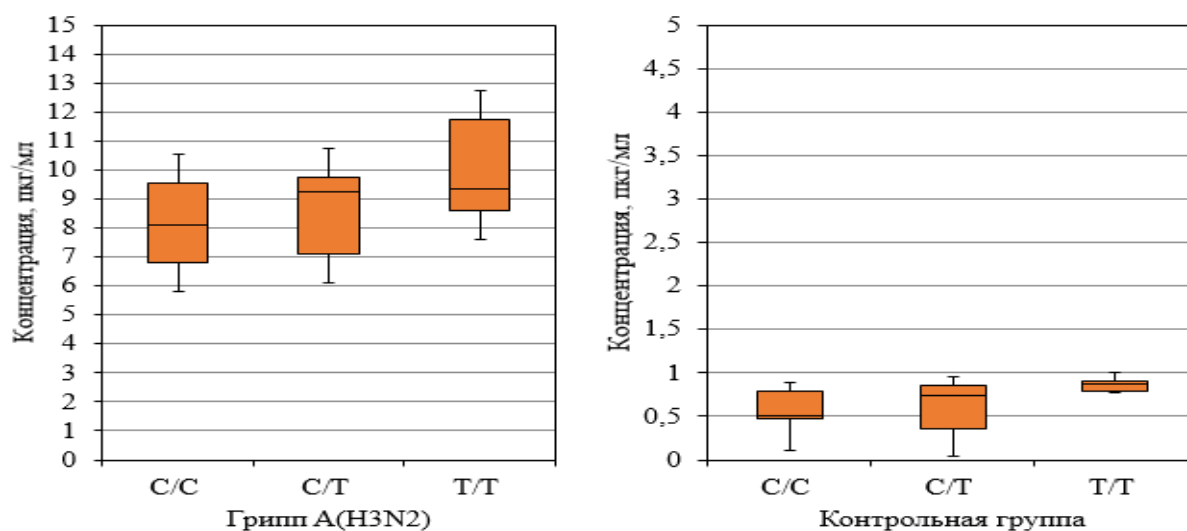


Рисунок 3 – Содержание IL-4 в крови больных гриппом А(Н3N2) в зависимости от полиморфных вариантов гена *IL-4* (*C589T*), пкг/мл (Me,  $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ ).

Таким образом, носительство аллели *T*, гетерозиготного варианта *C/T* и гомозиготного генотипа *T/T* гена *IL-4 (C589T)* увеличивают вероятность развития гриппа А(Н3N2). Содержание *IL-4* и показатели функции лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии при гриппе А(Н3N2) зависят от носительства генотипов промоторного региона *C589T* гена *IL-4*. У носителей гомозиготного генотипа *C/C* гена *IL-4 (C589T)* определена абберантная (недостаточная) продукция *IL-4*.

### **3.1.3. Полиморфизм промоторных регионов гена *IL-10 (C819T, G1082A)* и их влияние на показатель лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии и содержание интерлейкина 10 в крови пациентов при гриппе А(Н3N2)**

Известно, что *IL-10* обладает противовоспалительным эффектом и оказывает ингибирующее действие на Т-клеточный ответ при вирусных инфекциях [29]. Вполне вероятно, что мутации в промоторных областях гена *IL-10* могут приводить к изменению продукции одноименной молекулы, оказывая значительное влияние на патогенез воспалительного ответа.

В ходе молекулярно-генетического исследования обнаружены все искомые мутации промоторных регионов *C819T, G1082A* гена *IL-10* в гомо- и гетерозиготном состоянии с частотным подчинением эквilibриуму Харди-Вайнберга ( $p > 0,05$ ). Распределение частот аллелей и генотипов тестируемых групп значительно отличалось между собой (Таблица 7).

В группе пациентов в 1,2 раза реже выявлялась аллель *C* гена *IL-10(C819T)* с частотой 0,697, и в 1,8 раза чаще аллель *T* – с частотой 0,303, чем в группе здоровых лиц ( $\chi^2=9,68$ ;  $p=0,002$ ) (Таблица 7).

Распределение генотипов среди здоровых резидентов оказалось следующим: *C/C* – 69, 8%, *C/T* – 27, 1%, *T/T*– 3,1% ( $\chi^2=12,85$ ;  $p=0,002$ ). Среди пациентов с гриппом А(Н3N2) преобладал гетерозиготный генотип *C/T* (51,7%), и реже всего обнаруживался гомозиготный вариант *T/T* – 4,5% ( $\chi^2=12,85$ ;  $p=0,002$ ) (Таблица 7).

Носительство SNP *IL-10(G1082A)* у больных гриппом А(Н3N2) и здоровых лиц оказалось различным. В группе больных превалировала мажорная аллель *G* с частотой 0,624, а минорная аллель *A* – с частотой 0,376, что в 3 раза чаще, чем в контрольной группе ( $\chi^2=31,48$ ;  $p=0,002$ ) (Таблица 7). Выявлено, что у пациентов гомозиготные варианты *G/G* встречались в 36,0% случаев, гомозиготные варианты *A/A* – в 11,2%, преобладающими были гетерозиготы *G/A*– 52,8% ( $\chi^2=35,54$ ;  $p=0,001$ ). В контрольной группе выявлялись все возможные генотипы, подчиняемые закону Харди-Вайнберга (Таблица 7).

Исходя из полученных данных, вероятность развития заболевания возрастает у лиц-носителей аллели *T* (2,18 [CI95%: 1,33-3,58]) и генотипа *C/T* (2,88 [CI95%: 1,56-5,32]) гена *IL-10 (C819T)*, аллели *A* (4,23 [CI95%: 2,50-7,14]) и генотипа *G/A* (5,60 [CI95%: 2,84-11,04]) гена *IL-10 (G1082A)* (Таблица 7). Вероятность развития заболевания снижена у лиц-носителей аллели *C* (0,46 [CI95%: 0,28-0,75]) и генотипа *C/C* (0,34 [CI95%: 0,18-0,62]) гена *IL-10 (C819T)*, аллели *G* (0,24 [CI95%: 0,14-0,40]) и генотипа *G/G* (0,15 [CI95%: 0,08-0,28]) гена *IL-10 (G1082A)* (Таблица 7).

При изучении контактных взаимодействий клеток было установлено, что у больных гриппом А(Н3N2) повышается интенсивность розеткообразования между тромбоцитами и лимфоцитами. Так, у пациентов-носителей варианта *C/C* гена *IL-10 (C819T)* выявлялось 28,7% ([25,8;32,1],  $p_1<0,001$ ) коагрегатов, варианта *C/T* – 24,1% ([22,1;27,2],  $p_1<0,001$ ), варианта *T/T* – 20,8% ([16,8;23,4],  $p_1<0,001$ ) (Таблица 8).

Примерно такое же количество лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов обнаруживалось у обладателей варианта *G/G* гена *IL-10 (G1082A)* – 28,3% ([25,4;31,6],  $p_1<0,001$ ), варианта *G/A* – 24,3% ([21,7;26,9],  $p_1<0,001$ ), варианта *A/A* – 21,1% ([16,4;23,7],  $p_1<0,001$ ), тогда как в норме этот показатель составлял 14-16% (Таблица 9).

На 5-6 сутки различий в содержании исследуемых показателей не выявлено: так относительный показатель ЛТА среди пациентов составил 17,3 [14,6;19,8] %,

абсолютный – 0,38 [0,29;0,42] × 10<sup>9</sup>/л, что достоверно не отличалось от аналогичных параметров среди здоровых (p>0,05).

Таблица 7 – Встречаемость SNP *IL-10* у здоровых лиц и больных гриппом А(Н3N2)

Группа	Аллель	Частота аллели, Р	$\chi^2$ ; p	Генотип	Частота генотипа, %	$\chi^2$ ; p
<i>C819T</i>						
Больные гриппом А(Н3N2) (n=89)	С	0,697	9,68 0,002	СС	43,8	12,85 0,002
	Т	0,303		СТ	51,7	
				ТТ	4,5	
Контрольная группа (n=96)	С	0,833		СС	69,8	
	Т	0,167		СТ	27,1	
				ТТ	3,1	
<i>G1082A</i>						
Больные гриппом А(Н3N2) (n=89)	G	0,624	31,48 0,002	GG	36,0	35,54 0,001
	A	0,376		GA	52,8	
				AA	11,2	
Контрольная группа (n=96)	G	0,875		GG	79,2	
	A	0,125		GA	16,7	
				AA	4,2	



Таблица 8 – Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у больных гриппом А(Н3N2) в зависимости от генотипа полиморфизма промотора гена *IL-10* (*C819T*) (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Наблюдаемые группы	Абсолютное содержание лимфоцитов, ×10 <sup>9</sup> /л	Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия		
		Показатель ЛТА		Степень ЛТА
		Относит.,%	Абсол.,×10 <sup>9</sup> /л	
Генотип <i>C/C</i>				
Контрольная группа (n=67)	1,98 [1,76;2,31]	14,9 [13,8;15,6]	0,28 [0,23;0,35]	3,5 [2,7;3,9]
Больные гриппом (n=39)	3,6 [3,10;3,91] p <sub>1</sub> <0,01	28,7 [25,8;32,1] p <sub>1</sub> <0,001	0,93 [0,82;1,17] p <sub>1</sub> <0,001	4,3 [3,6;4,8] p <sub>1</sub> <0,05
Генотип <i>C/T</i>				
Контрольная группа (n=26)	1,87 [1,63;2,29]	14,7 [13,2;15,3]	0,24 [0,19;0,31]	3,3 [2,4;3,6]
Больные гриппом (n=46)	3,2 [2,85;3,67] p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> >0,05	24,1 [22,1;27,2] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05	0,79 [0,61;0,97] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,05	3,9 [3,3;4,8] p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> >0,05
Генотип <i>T/T</i>				
Контрольная группа (n=4)	1,66 [1,52;1,91]	14,1 [12,5;14,9]	0,20 [0,15;0,27]	3,1 [2,2;3,4]
Больные гриппом (n=3)	2,7 [2,44;3,61] p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> >0,05 p <sub>3</sub> >0,05	20,8 [16,8;23,4] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05 p <sub>3</sub> >0,05	0,64 [0,53;0,74] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05 p <sub>3</sub> >0,05	3,7 [3,2;4,2] p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> >0,05 p <sub>3</sub> >0,05

Примечание: p<sub>1</sub> – статистическая значимость различий с контролем; p<sub>2</sub> – статистическая значимость различий по сравнению с гомозиготными вариантами *C/C*; p<sub>3</sub> – статистическая значимость различий по сравнению с гетерозиготными вариантами *C/T*.

Таблица 9 – Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у больных гриппом А(Н3N2) в зависимости от генотипа полиморфизма промотора гена *IL-10* (*G1082A*) (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Наблюдаемые группы	Абсолютное содержание лимфоцитов, ×10 <sup>9</sup> /л	Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия		
		Показатель ЛТА		Степень ЛТА
		Относит.,%	Абсол., ×10 <sup>9</sup> /л	
Генотип G/G				
Контрольная группа (n=76)	1,93 [1,73;2,26]	14,8 [13,9;15,3]	0,26 [0,21;0,35]	3,4 [2,6;3,7]
Больные гриппом (n=32)	3,5 [3,08;3,84] p <sub>1</sub> <0,01	28,3 [25,4;31,6] p <sub>1</sub> <0,001	0,92 [0,81;1,13] p <sub>1</sub> <0,001	4,2 [3,5;4,7] p <sub>1</sub> <0,05
Генотип G/A				
Контрольная группа (n=16)	1,84 [1,57;2,14]	14,5 [13,3;15,1]	0,23 [0,18;0,32]	3,2 [2,3;3,5]
Больные гриппом (n=47)	3,3 [2,79;3,58] p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> >0,05	24,3 [21,7;26,9] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05	0,78 [0,63;0,95] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,05	3,9 [3,3;4,8] p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> >0,05
Генотип A/A				
Контрольная группа (n=4)	1,62 [1,53;1,88]	13,9 [12,2;14,6]	0,21 [0,16;0,25]	3,0 [2,4;3,3]
Больные гриппом (n=10)	2,8 [2,51;3,46] p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> >0,05 p <sub>3</sub> >0,05	21,1 [16,4;23,7] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05 p <sub>3</sub> >0,05	0,62 [0,51;0,73] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05 p <sub>3</sub> >0,05	3,6 [3,1;3,9] p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> >0,05 p <sub>3</sub> >0,05

Примечание: p<sub>1</sub> – статистическая значимость различий с контролем; p<sub>2</sub> – статистическая значимость различий по сравнению с гомозиготными вариантами G/G; p<sub>3</sub> – статистическая значимость различий по сравнению с гетерозиготными вариантами G/A.

Сопоставив концентрацию IL-10 в крови пациентов с гриппом А(Н3N2) в зависимости от полиморфных вариантов гена *IL-10*, было отмечено ее увеличение по сравнению с группой здоровых лиц при отсутствии иммунной стимуляции ( $p < 0,01$ ) (Таблица 10, 11, Рисунок 4, 5).

Так, у лиц-носителей гомозигот *C/C* гена *IL-10* (*C819T*) и гомозигот *G/G* гена *IL-10* (*G1082A*) определялась минимальная концентрация кодируемого цитокина – 11,3[8,7;14,6] пкг/мл ( $U=1353,6$ ,  $p < 0,001$ ) и 10,6[8,6;14,5] пкг/мл ( $U=1035,2$ ,  $p < 0,001$ ) соответственно ( $N=9,04$ ,  $p < 0,05$ ) (Таблица 10, Рисунок 4). При этом максимальная концентрация выявлялась у обладателей вариантов *T/T* гена *IL-10* (*C819T*) и *A/A* гена *IL-10* (*G1082A*) по сравнению с контрольной группой ( $p_1 < 0,001$ ) (Таблица 10, 11, Рисунок 4, 5).

Таблица 10 – Содержание IL-10 в крови больных гриппом А(Н3N2) в зависимости от генотипа полиморфизма промотора гена *IL-10* (*C819T*), пкг/мл (Me,  $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ )

Генотип	Здоровые лица	Больные гриппом	U-критерий
<i>C/C</i>	0,7 [0,6;1,0]	11,3 [8,7;14,6]	$U_1=1353,0$ ( $p_1 < 0,001$ )
<i>C/T</i>	0,9 [0,7;1,1]	13,7 [10,2;17,3]	$U_1=1244,0$ ( $p_1 < 0,001$ ) $U_2=1452,5$ ( $p_2 < 0,01$ ) $U_3=1974,5$ ( $p_3 < 0,01$ )
<i>T/T</i>	1,1 [0,8;1,3]	17,6 [16,2;21,8]	$U_1=108,5$ ( $p_1 < 0,01$ ) $U_2=391,0$ ( $p_2 < 0,01$ ) $U_3=497,0$ ( $p_3 < 0,01$ ) $U_4=448,5$ ( $p_4 < 0,01$ ) $U_5=1045,5$ ( $p_5 < 0,01$ )

Примечание (U-критерий Манна-Уитни):  $p_1$  – значимость различий с контролем;  $p_2$  – значимость различий по сравнению с вариантами *C/C* в группе здоровых;  $p_3$  – значимость различий по сравнению с вариантами *C/C* в группе больных гриппом;  $p_4$  – значимость различий по сравнению с вариантами *C/T* в группе здоровых;  $p_5$  – значимость различий по сравнению с вариантами *C/T* в группе больных гриппом.

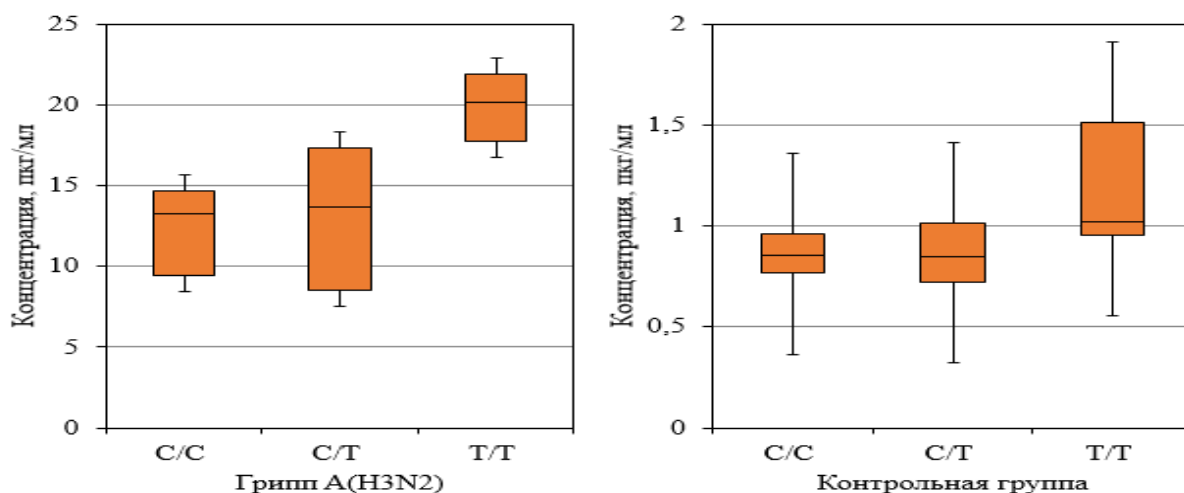


Рисунок 4 – Содержание IL-10 в крови больных гриппом А(Н3N2) в зависимости от полиморфных вариантов гена *IL-10* (*C819T*), пкг/мл (Me,  $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ ).

Таблица 11 – Содержание IL-10 в крови больных гриппом А(Н3N2) в зависимости от генотипа полиморфизма промотора гена *IL-10* (*G1082A*), пкг/мл (Me,  $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ )

Генотип	Здоровые лица	Больные гриппом	U-критерий
<i>G/G</i>	0,7 [0,3;1,0]	10,6 [8,6;14,5]	$U_1=1035,5$ ( $p_1<0,001$ )
<i>G/A</i>	0,8 [0,5;1,2]	15,7 [9,7;17,9]	$U_1=1131,5$ ( $p_1<0,001$ ) $U_2=2301,0$ ( $p_2<0,001$ ) $U_3=1976,0$ ( $p_3<0,001$ )
<i>A/A</i>	1,1 [0,6;1,3]	19,5 [15,8;22,9]	$U_1=112,5$ ( $p_1<0,01$ ) $U_2=539,5$ ( $p_2<0,01$ ) $U_3=483,0$ ( $p_3<0,01$ ) $U_4=481,5$ ( $p_4<0,01$ ) $U_5=662,5$ ( $p_5<0,01$ )

Примечание (U-критерий Манна-Уитни):  $p_1$  – значимость различий с контролем;  $p_2$  – значимость различий по сравнению с вариантами *G/G* в группе здоровых;  $p_3$  – значимость различий по сравнению с вариантами *G/G* в группе больных гриппом;  $p_4$  – значимость различий по сравнению с вариантами *G/A* в группе здоровых;  $p_5$  – значимость различий по сравнению с вариантами *G/A* в группе больных гриппом.

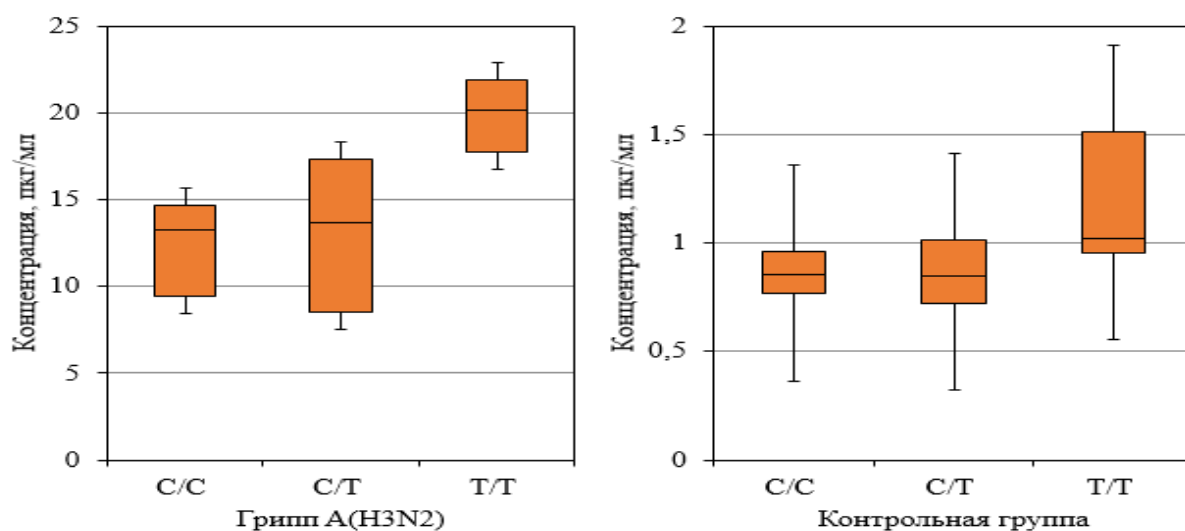


Рисунок 5 – Содержание IL-10 в крови больных гриппом А(Н3N2) в зависимости от полиморфных вариантов гена *IL-10* (*G1082A*), пкг/мл (Me,  $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ ).

Таким образом, носительство аллели *T*, гетерозиготного варианта *C/T* гена *IL-10* (*C819T*), аллели *A*, гетерозиготного варианта *G/A* гена *IL-10* (*G1082A*) увеличивают риск развития гриппа А(Н3N2). Содержание IL-10 и показатели функции лимфоцитарно-тромбоцитарного розеткообразования при гриппе А(Н3N2) также зависят от носительства SNP промоторных регионов *C819T* и *G1082A* гена *IL-10*. У носителей гомозиготного генотипа *C/C* гена *IL-10* (*C819T*) и гомозиготного генотипа *G/G* гена *IL-10* (*G1082A*) определена абберантная (недостаточная) продукция IL-10.

### 3.2. Исследование полиморфизма сигнальных молекул *CD14* (*C159T*), *TLR2* (*Arg753Gln*), *TLR3* (*Phe412Leu*), *TLR4* (*Asp299Gly*) и *TLR4* (*Thr399Ile*) у больных гриппом А(Н3N2) и здоровых лиц

Узнавание лиганда вируса осуществляется рецепторами, распознающими патоген, в первую очередь рецепторами эндоцитоза (*CD14*) и сигнальными рецепторами (Toll-рецепторы).

Исходя из этого, мы изучили распределение полиморфных вариантов генов *CD14* (*C159T*), *TLR2* (*Arg753Gln*), *TLR3* (*Phe412Leu*), *TLR4* (*Asp299Gly*) и *TLR4* (*Thr399Ile*) среди здоровых лиц и больных гриппом А(Н3N2).

В результате проведенного генетического исследования в наблюдаемых группах обнаружено, что распределение частот аллелей и генотипов изучаемого полиморфизма *CD14* (*C159T*) соответствует равновесию Харди-Вайнберга ( $p > 0,05$ ) (Таблица12).

Среди пациентов в 2,2 раза чаще определялась аллель *T* с частотой 0,483, и в 1,5 раза реже встречалась аллель *C* – с частотой 0,517, чем в группе здоровых лиц ( $\chi^2=28,54$ ;  $p=0,0001$ ) (Таблица12).

В группе больных гриппом А(Н3N2) реже всего регистрировался генотип *T/T* (22,5%), и преобладал гетерозиготный вариант *C/T* (51,7%) ( $\chi^2=27,17$ ;  $p=0,0003$ ). Распределение полиморфных вариантов в контрольной группе оказалось следующим: *C/C* – 62,5%, *C/T* – 31,3%, *T/T* – 6,2% ( $\chi^2=27,17$ ;  $p=0,0003$ ) (Таблица12).

Исходя из полученных результатов, шанс развития гриппа А(Н3N2) у обладателей аллели *C* равен 0,30 [CI95%: 0,19-0,47], тогда как у лиц-носителей аллели *T* – 3,34 [CI95%: 2,13-5,24] (Таблица12).

Вероятность развития заболевания для лиц-обладателей гомозигот *C/C* составляет 0,21 [CI95%: 0,11-0,39], для резидентов, несущих гетерозиготный вариант *C/T* – 2,35 [CI95%: 1,29-4,29], для лиц, с выявленным гомозиготным генотипом *T/T* – 4,35 [CI95%: 1,66-11,41] (Таблица12).

Таблица 12 – Встречаемость SNP *CD14* (*C159T*) у больных гриппом А(Н3N2) и здоровых лиц

Генотипы (%) Аллели (P)	Контрольная группа n=96	Больные гриппом А(Н3N2) n=89	$\chi^2$ (p)
<i>C/C</i>	62,5%	25,8%	27,17 0,0003
<i>C/T</i>	31,3%	51,7%	
<i>T/T</i>	6,2%	22,5%	
<i>C</i>	0,781	0,517	28,54
<i>T</i>	0,219	0,483	0,0001

Обнаружено, что в группе больных гриппом А(Н3N2) встречаемость полиморфных вариантов *TLR2* (*Arg753Gln*), *TLR3* (*Phe412Leu*), *TLR4* (*Asp299Gly*) и *TLR4* (*Thr399Ile*) существенно отличалась от контрольной группы (Таблица13).

У пациентов в 2,1 раза чаще выявлялась аллель *-753Gln* гена *TLR2* с частотой 0,129, тогда как среди здоровых она составила 0,063 ( $\chi^2=4,80$ ;  $p=0,03$ ). При этом в группе больных преобладал гомозиготный генотип *TLR2* (*753Arg/Arg*) (74,2%) и не обнаруживались носители гомозиготного варианта *TLR2* (*753Gln/Gln*) (Таблица13).

Среди больных гриппом А(Н3N2) в 1,7 раза чаще регистрировалась аллель *-412Leu* гена *TLR3* (с частотой 0,433), тогда как среди здоровых ее встречаемость оказалась 0,249 ( $\chi^2=9,45$ ;  $p=0,009$ ) (Таблица13). Установлено, что среди больных гриппом А(Н3N2) преобладали гетерозиготные варианты *Phe412Leu* (41,6%), и в 3 раза чаще регистрировались гомозиготные варианты *Leu412Leu* ( $\chi^2=11,68$ ;  $p=0,003$ ). В контрольной группе выявлялись все возможные генотипы, подчиняемые закону Харди-Вайнберга (Таблица13).

Таблица 13 – Встречаемость SNP *TLR2* (*Arg753Gln*), *TLR3* (*Phe412Leu*), *TLR4* (*Asp299Gly*), *TLR4* (*Thr399Ile*) у больных гриппом А(Н3N2) и здоровых лиц

Генотипы (%) Аллели (P)	Больные гриппом А(Н3N2) n=89	Контрольная группа n=96	$\chi^2$ (p)
<i>TLR2</i> ( <i>Arg753Gln</i> )			
<i>Arg</i>	0,871	0,938	4,80
<i>Gln</i>	0,129	0,063	0,03
<i>Arg/Arg</i>	74,2%	88,5%	8,26 0,02
<i>Arg/Gln</i>	25,8%	10,4%	
<i>Gln/Gln</i>	0%	1,1%	
<i>TLR3</i> ( <i>Phe412Leu</i> )			
<i>Phe</i>	0,567	0,751	9,45
<i>Leu</i>	0,433	0,249	0,009
<i>Phe/Phe</i>	35,9%	59,3%	11,68 0,003
<i>Phe/Leu</i>	41,6%	31,3%	
<i>Leu/Leu</i>	22,5%	9,4%	
<i>TLR4</i> ( <i>Asp299Gly</i> )			
<i>Asp</i>	0,837	0,932	8,32
<i>Gly</i>	0,163	0,068	0,004
<i>Asp/Asp</i>	73,0%	87,5%	6,97 0,03
<i>Asp/Gly</i>	21,3%	11,5%	
<i>Gly/Gly</i>	5,6%	1,0%	
<i>TLR4</i> ( <i>Thr399Ile</i> )			
<i>Thr</i>	0,843	0,938	8,61
<i>Ile</i>	0,157	0,063	0,003
<i>Thr/Thr</i>	71,9%	87,5%	8,39 0,02
<i>Thr/Ile</i>	24,7%	12,5%	
<i>Ile/Ile</i>	3,4%	0%	

Распределение полиморфных вариантов SNP *TLR4* (*Asp299Gly*) у пациентов с гриппом А(Н3N2) и здоровых лиц оказалось различным. В группе больных аллель *-299Gly* обнаруживалась с частотой 0,163, что в 2,4 раза чаще, чем в контрольной группе ( $\chi^2=8,32$ ;  $p=0,004$ ) (Таблица 13). Установлено, что у пациентов



гомозиготы *TLR4* (*Asp299Asp*) встречались в 73,0% случаев, и в 5,6 раза чаще определялись гомозиготы *TLR4* (*Gly299Gly*) по сравнению с группой контроля ( $\chi^2=6,97$ ;  $p=0,03$ ) (Таблица 13).

В точке SNP *Thr399Ile* гена *TLR4* в 2,5 раза чаще выявлялась аллель *-399Ile* с частотой 0,157, тогда как среди здоровых она составила 0,063 ( $\chi^2=8,61$ ;  $p=0,003$ ) (Таблица 13). Среди группы больных преобладал гомозиготный вариант *TLR4* (*399Thr/Thr*) (71,9%), распределение генотипов среди здоровых резидентов оказалось следующим: *399Thr/Thr* – 87,5%, *399Thr/Ile* – 12,5% ( $\chi^2=8,39$ ;  $p=0,02$ ). Стоит отметить, что в контрольной группе не выявлено случаев носительства генотипов *399Ile/Ile* гена *TLR4* (Таблица 13).

Исходя из полученных данных, шанс развития гриппа А(Н3N2) повышается у носителей аллели *-753Gln* *TLR2* (OR=2,23 [CI95%: 1,07-4,62]), генотипа *Arg753Gln* *TLR2* (OR=3,00 [CI95%: 1,33-6,73]), аллели *-412Leu* *TLR3* (OR=2,61 [CI95%: 1,44-4,72]), генотипа *Leu412Leu* *TLR3* (OR=2,39 [CI95%: 1,04-3,61]), аллели *-299Gly* *TLR4* (OR=2,68 [CI95%: 1,35-5,34]), генотипа *Asp299Gly* *TLR4* (OR=2,15 [CI95%: 1,02-4,70]), аллели *-399Ile* *TLR4* (OR=2,80 [CI95%: 1,38-5,70]), генотипа *Thr399Ile* *TLR4* (OR=2,30 [CI95%: 1,06-4,88]) (Таблица 13).

Вероятность развития гриппа А(Н3N2) снижается у обладателей аллели *-753Arg* *TLR2* (OR=0,45 [CI95%: 0,22-0,93]), генотипа *Arg753Arg* *TLR2* (OR=0,37 [CI95%: 0,17-0,82]), аллели *-412Phe* *TLR3* (OR=0,44 [CI95%: 0,28-0,68]), генотипа *Phe412Phe* *TLR3* (OR=0,38 [CI95%: 0,21-0,70]), аллели *-299Asp* *TLR4* (OR=0,37 [CI95%: 0,19-0,74]), генотипа *Asp299Asp* *TLR4* (OR=0,39 [CI95%: 0,18-0,83]), аллели *-399Thr* *TLR4* (OR=0,36 [CI95%: 0,18-0,73]), генотипа *Thr399Thr* *TLR4* (OR=0,37 [CI95%: 0,17-0,78]) (Таблица 13).

Таким образом, аллель *T*, генотипы *C/T* и *T/T* гена *CD14* (*C159T*), аллель *-753Gln*, генотип *Arg753Gln* гена *TLR2*, аллель *-412Leu*, генотип *Leu412Leu* гена *TLR3*, аллель *-299Gly*, генотип *Asp299Gly* гена *TLR4*, аллель *-399Ile*, генотип *Thr399Ile* гена *TLR4* предрасполагают к развитию гриппа А(Н3N2). Аллель *C*, генотип *C/C* гена *CD14* (*C159T*), аллель *-753Arg*, генотип *Arg753Arg* гена *TLR2*,

аллель *-412Phe*, генотип *Phe412Phe* гена *TLR3*, аллель *-299Asp*, генотип *Asp299Asp* гена *TLR4*, аллель *-399Thr*, генотип *Thr399Thr* гена *TLR4* препятствуют развитию гриппа А(Н3N2).

### 3.3. Модель индивидуального прогнозирования развития гриппа А(Н3N2) у клинически здоровых лиц на основе анализа полиморфизма генов *TLR2 (Arg753Gln)*, *TLR3 (Phe412Leu)*, *TLR4 (Asp299Gly)*, *TLR4 (Thr399Ile)*

Для создания модели прогнозирования в нашем исследовании были определены частоты встречаемости SNPTLR2 (*Arg753Gln*), *TLR3 (Phe412Leu)*, *TLR4 (Asp299Gly)*, *TLR4 (Thr399Ile)*.

Учитывая дихотомичность результативной переменной, для построения модели использовалась бинарная логистическая регрессия (Таблица 14).

Таблица 14 – Значимость показателей в структуре разработанной модели

SNP	В	Средне квадра- тичная ошибка	Вальд	Степень свободы	Значи- мость	Exp (В)	95% ДИ для EXP(В)	
							Нижняя	Верхняя
<i>TLR2</i>	0,359	0,420	0,733	1	0,392	1,432	0,629	3,259
<i>TLR3</i>	0,684	0,222	9,496	1	0,002	1,982	1,238	3,062
<i>TLR4</i>	0,807	0,829	0,948	1	0,330	2,241	0,442	11,368
Конст анта	-0,792	0,229	11,916	1	0,001	0,453		

В результате чего было получено уравнение вероятности развития гриппа А(Н3N2) следующего вида:

$$K = \frac{1}{1 + e^{0,79 - 0,36 \cdot TLR2 - 0,68 \cdot TLR3 - 0,81 \cdot TLR4}}$$

где  $-0,79$  – константа (регрессионный коэффициент  $b_0$ );  $0,36$ ,  $0,68$ ,  $0,81$  – нестандартизованные коэффициенты  $b$ ;  $e$  – основание натурального логарифма ( $e = 2,72$ ); полиморфные варианты генов  $TLR2$  (*Arg753Gln*),  $TLR3$  (*Phe412Leu*),  $TLR4$  (*Asp299Gly*) принимают значение «0» при доминантной (нормальной) гомозиготе, «1» – при гетерозиготе, «2» – при рецессивной (патологической) гомозиготе.

Значение коэффициента  $K$ , равное  $0,52$  и более, свидетельствует о высокой вероятности развития гриппа А(Н3N2) при контакте с вирусом *Influenza virus A*, менее  $0,52$  – о низкой вероятности ( $V=0,32$ ,  $p<0,001$ ).

Оценка информативности разработанной модели определена путём ROC-анализа (Рисунок 6).

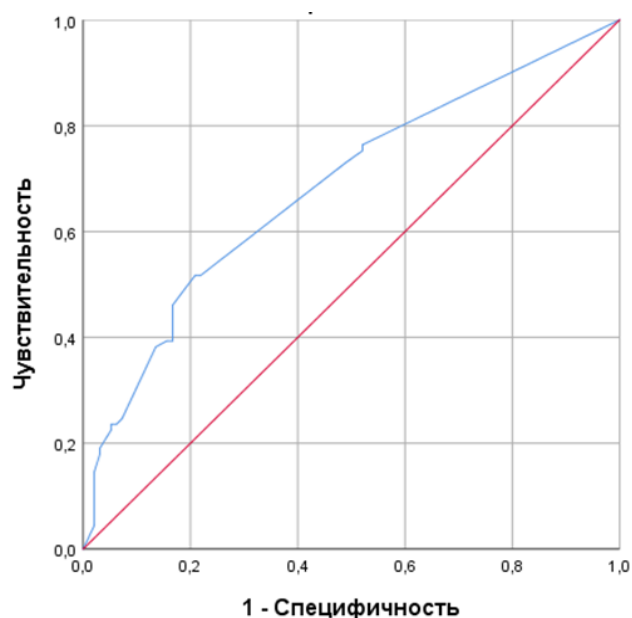
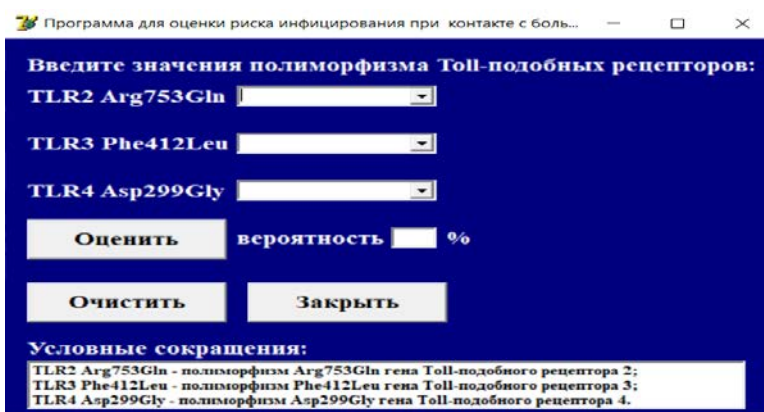


Рисунок 6 – Площадь под ROC-кривой для разработанной модели.

Чувствительность разработанной прогностической модели составляет 0,52, специфичность – 0,79, точность – 0,66. Площадь под ROC-кривой составляет 0,85 [CI95%: 0,61-0,76],  $p < 0,001$ ; стандартная ошибка – 0,04.

Учитывая сложность необходимых расчетов, для удобства и упрощения использования данного способа в клинической практике создана программа для ЭВМ (Рисунок 7), которая позволяет определить риск инфицирования при контакте с больным гриппом А(Н3N2) (Свидетельство о государственной регистрации для ЭВМ №2021668224) [88].

Набор действий создается в специальном режиме работы пользовательского окна, в котором пользователь получает доступ к вводу данных о содержании в крови полиморфных вариантов генов Toll-подобных рецепторов: *Arg753Gln TLR2*, *Phe412Leu TLR3*, *Asp299Gly TLR4* (Рисунок 7). Вывод результата также осуществляется в проекции пользовательского окна, включает определение риска развития заболевания: при высоком риске инфицирования загорается красное окно (Рисунок 8), при низком – зеленое окно (Рисунок 9).



Программа для оценки риска инфицирования при контакте с боль...

Введите значения полиморфизма Toll-подобных рецепторов:

TLR2 Arg753Gln

TLR3 Phe412Leu

TLR4 Asp299Gly

вероятность  %

Условные сокращения:

TLR2 Arg753Gln - полиморфизм Arg753Gln гена Toll-подобного рецептора 2;  
TLR3 Phe412Leu - полиморфизм Phe412Leu гена Toll-подобного рецептора 3;  
TLR4 Asp299Gly - полиморфизм Asp299Gly гена Toll-подобного рецептора 4.

Рисунок 7 – Программа для оценки риска инфицирования при контакте с больным гриппом А(Н3N2).

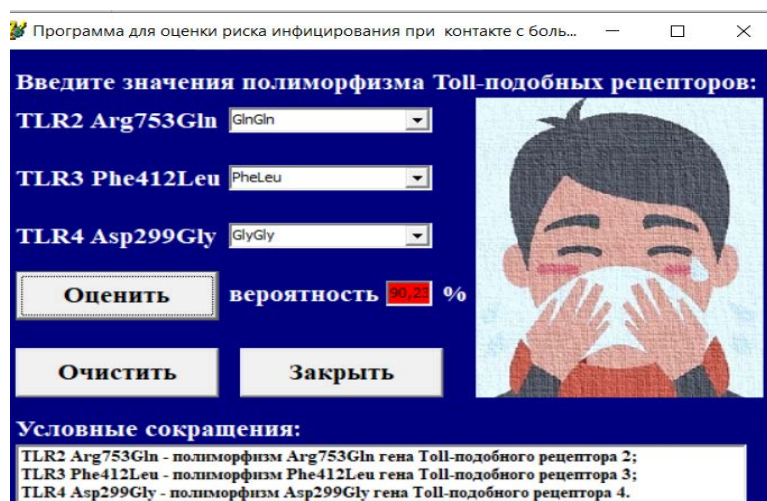


Рисунок 8 – Программа для оценки риска инфицирования при контакте с больным гриппом А(Н3N2) (высокий риск инфицирования).

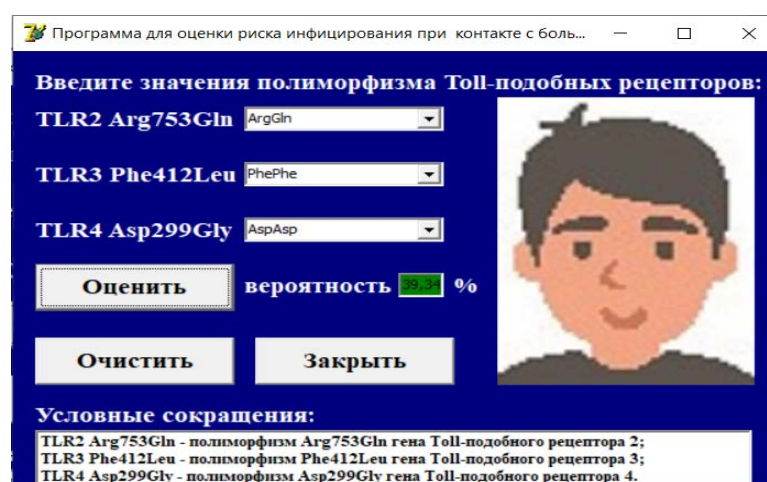


Рисунок 9 – Программа для оценки риска инфицирования при контакте с больным гриппом А(Н3N2) (низкий риск инфицирования).

Программа носит прикладной характер и обеспечивает возможность индивидуализировать алгоритм профилактических мероприятий у лиц, относящихся к категории высокого риска заболевания гриппом.

Способ прогнозирования риска инфицирования при контакте с больным гриппом А(Н3N2) иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1.

Донор Б., русский, 34 года.

Для проведения анализа у относительно здорового донора была взята венозная кровь, выполнено генотипирование ДНК-маркеров по полиморфным локусам *Arg753Gln* гена *TLR2*, *Phe412Leu* гена *TLR3*, *Asp299Gly* гена *TLR4*. В результате выявлено следующее сочетание исследуемых полиморфизмов генов: - *753Arg/GlnTLR2* / -*412Phe/PheTLR3* / -*299Gly/GlyTLR4*. Наличие этой комбинации генотипов позволяет прогнозировать высокий риск инфицирования при контакте с больным гриппом А(Н3N2).

Данный мужчина включен в группу риска развития гриппа А(Н3N2), и ему назначен комплекс профилактических мероприятий. Катамнез прослежен в течение 2-х эпидемических сезонов, в период которых зарегистрированы случаи инфицирования гриппом А(Н3N2) (грипп А(Н3N2), средней степени тяжести) в результате несоблюдения профилактических рекомендаций.

Пример 2.

Донор М., русская, 50 лет.

Для проведения анализа у донора был взят буккальный соскоб, выполнено генотипирование ДНК-маркеров по полиморфным локусам *Arg753Gln* гена *TLR2*, *Phe412Leu* гена *TLR3*, *Asp299Gly* гена *TLR4*. В результате выявлено сочетание исследуемых полиморфизмов генов: -*753Arg/Arg TLR2* / -*412Phe/Phe TLR3* / -*299Asp/Asp TLR4*. Наличие этой комбинации генотипов позволяет предполагать низкий риск инфицирования при контакте с больным гриппом А(Н3N2). Катамнез прослежен в течение 2-х эпидемических сезонов – эпизодов гриппа А(Н3N2) не отмечалось.

**3.4. Регрессионная многофакторная модель установления патогенетических механизмов развития гриппа А(Н3N2) с учетом полиморфизма генов *CD14 (C159T)*, *TLR2 (Arg753Gln)*, *TLR3 (Phe412Leu)*, *TLR4 (Asp299Asp)*, *TLR4 (Thr399Thr)*, *IL-2 (T330G)*, *IL-4 (C589T)*, *IL-10 (C819T)*, *IL-10 (G1082A)*, содержания ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10 в плазме крови и параметров лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии**

На первом этапе нашего исследования проведен поиск взаимосвязей между изучаемыми полиморфизмами генов, параметрами лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии и их влиянием на развитие гриппа А(Н3N2).

На основе всех изученных полиморфизмов мы провели многофакторный регрессионный анализ, в котором оценили описываемую патогенетическую ось. Регрессионная модель включала данные о распределении SNP генов *CD14 (C159T)*, *TLR2 (Arg753Gln)*, *TLR3 (Phe412Leu)*, *TLR4 (Asp299Asp)*, *TLR4 (Thr399Thr)*, *IL-2 (T330G)*, *IL-4 (C589T)*, *IL-10 (C819T)*, *IL-10 (G1082A)*, содержания ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10 в плазме крови, параметрах лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии.

Результаты многофакторной регрессии показали, что высокую связь с развитием гриппа А(Н3N2) обнаруживается при определении мутации *412Leu/Leu* гена *TLR3 (Phe412Leu)* (шаг 1). Точность прогнозирования повышается при добавлении генотипа *-589T/T* гена *IL-4* (шаг 2), генотипа *330T/T* гена *IL-2* (шаг 3), содержания ИЛ-2 (шаг 4), параметров лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (шаг 5). При добавлении других исследуемых показателей значимая прогностическая мощьность не увеличивалась (Таблица 15).

Достоверность и чувствительность регрессионной модели определяется параметрами: значительная линейная зависимость между факторами влияния и откликом – коэффициент (К) корреляции (множественный) = 0,939, степень соответствия эмпирическим данным – коэффициент (R<sup>2</sup>) детерминации = 0,882 при  $p < 0,000001$  [197].

Таблица 15 – Прогностическое значение показателей в многофакторной модели развития гриппа А(Н3N2)

<b>N=185</b>	<b><math>\beta</math></b>	<b>Std. Err. of <math>\beta</math></b>	<b>B</b>	<b>Std. Err. B</b>	<b>p</b>
Св. член			1,903653	0,116792	0,000001
-412 <i>Lew/Leu</i> гена <i>TLR3</i>	0,110423	0,029922	0,091830	0,024884	0,0003
-589 <i>T/T</i> гена <i>IL-4</i>	0,083957	0,029966	0,062937	0,022464	0,0005
-330 <i>T/T</i> гена <i>IL-2</i>	-0,072314	0,030073	-0,050106	0,020838	0,002
Концентрация <i>IL-2</i>	0,278356	0,108329	0,015633	0,006084	0,006
ЛТА	-0,153819	0,071682	-0,012989	0,006053	0,009

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

Таким образом, использование описанных алгоритмов позволяет выявить наиболее значимые полиморфизмы и изменение в содержании молекул таких, как -412*Lew/Leu* гена *TLR3*, -589*T/T* гена *IL-4*, -330 *T/T* гена *IL-2*, концентрации *IL-2* и показателя лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии.



## Г Л А В А 4

### ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

РНК-вирусы представляют собой серьезную угрозу для здоровья населения во всем мире. Из всех инфекций, циркулирующих у людей, только грипп и ОРВИ вызывают массовые вспышки заболеваний, почти ежегодно принимающие характер эпидемий [22, 67].

РНК-вирусы демонстрируют быструю кинетику репликации, высокую скорость мутаций и сложную эволюционную динамику, поэтому представляют серьезные проблемы для здоровья человека. Несколько представителей РНК-вирусов являются пандемическими и заражают сотни миллионов людей по всему миру, что приводит к смерти миллионов людей каждый год.

Ежегодно, по данным Всемирной организации здравоохранения, в мире регистрируется от 3 до 5 млн. случаев тяжёлых форм и от 250 до 500 тыс. случаев смерти от гриппа [22].

Вместе с тем осложнения после гриппа возникают не только у лиц, входящих в группы риска, но и у молодых пациентов без сопутствующих нарушений здоровья. Каждая вспышка гриппа наносит существенный ущерб здоровью населения и экономике соответствующего региона и страны [67].

Патогенез гриппа является результатом взаимодействия множества факторов макроорганизма с вирусными белками. Рецепторы клеток, к которым вирусы гриппа человека имеют предпочтение, экспрессируются на эпителиальных клетках на всем протяжении дыхательных путей. Вследствие токсического действия и активной репликации вируса в эпителиальных клетках, появляется большое количество токсинов, провоцирующих развитие токсинемии. Массивный выход зрелых вирусных частиц, сопровождается гибелью клеток, развитием некроза эпителия, что, в свою очередь, инициирует разрушение

естественного защитного барьера, приводящее к вирусемии. Эти процессы вызывают поражение микроциркуляторного русла, расстройство микроциркуляции и гемостаза, нарушение функций миокарда и снижение артериального давления [42, 47, 93, 94].

Несмотря на продолжительную историю изучения вируса гриппа, имеющиеся несомненные успехи в профилактике, диагностике и лечении, грипп до сих пор остается «малоуправляемой» инфекцией.

### **Полиморфизм генов сигнальных молекул и их значение в развитии гриппа А (H3N2)**

Врожденный иммунитет играет ключевую роль в распознавании патогенов и иницировании защитного иммунного ответа посредством распознавания патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (PAMP) своими рецепторами распознавания паттернов (PRR). Нуклеиновые кислоты, являются главными PAMP патогенов, особенно вирусов. Именно врожденные иммунные реакции играют ключевую роль в обнаружении РНК-вирусов. Это оказывает большое влияние на противовирусные реакции и патогенез заболеваний, вызываемых РНК-вирусами.

Учитывая тот факт, что генетический фон и изменения иммунологического статуса играют существенную роль в развитии и прогрессировании воспаления, определение генетических маркеров, ассоциированных с развитием гриппа и его осложнений, является актуальной научно-практической задачей.

Экспрессия рецепторов распознавания патогенов (PRR) в обнаружении нуклеиновых кислот как патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (PAMP), присутствующих в РНК-вирусах определяет потребность во врожденной защите от патогенов.

Мы показали, что первичное распознавание поверхностных гликопротеинов вируса гриппа связано с генетическим полиморфизмом молекул CD14, TLR2, TLR3, TLR4 [16, 17, 19, 88].

В настоящем исследовании установлено, что аллель *-753Gln*, генотип *Arg753Gln* гена *TLR2*, аллель *-412Leu*, генотип *Leu412Leu* гена *TLR3*, аллель-*299Gly*, генотип *Asp299Gly* гена *TLR4*, аллель *-399Ile*, генотип *Thr399Ile* гена *TLR4* предрасполагают к развитию гриппа А(Н3N2) [16, 19, 88].

Первоначальной мишенью вируса гриппа, равно как и других респираторных вирусов, является эпителий респираторного тракта [14, 21, 68].

Врожденная иммунная система представляет собой первую линию защиты от патогенов посредством постоянного мониторинга молекулярных паттернов, ассоциированных с патогенами (PAMP), и последующей активации ряда защитных механизмов для устранения инфекций. При этом развивается быстрый, но неспецифический ответ. Во время заражения гриппом вирусные консервативные компоненты PAMP распознаются при помощи паттерн-распознающих рецепторов (PRR). При восприятии PAMP PRR запускают внутриклеточную сигнализацию, что приводит к транскрипционной активации и экспрессии цитокинов, хемокинов, МНС и костимулирующих молекул. Кроме того, клеточная сигнализация, запускаемая PRR, индуцирует несколько транскрипционно-независимых клеточных процессов, таких как фагоцитоз, аутофагия, гибель клеток и выработку цитокинов, которые запускают реакции адаптивного иммунного ответа с участием лимфоцитов.

Адаптерные молекулы MyD88, TIRAP, TRIF, TIRP принимают участие в TLR-ассоциированной передаче сигнала, обуславливая дифференцированную активацию внутриклеточных сигнальных каскадов [11, 19, 26, 32, 35, 63, 96, 142].

Вирус гриппа связывается своими гликопротеинами с сиаловыми кислотами клетки; одновременно происходит распознавание вируса TLR2 и 4, способными идентифицировать односпиральную RNA (ssRNA).

Семейство Toll-подобных рецепторов (TLR) является самыми ранними обнаруженными PRR. В настоящее время у человека имеется 10 TLR. Все TLR являются трансмембранными белками типа I и состоят из N-концевого эктодомена или внеклеточного домена, среднего трансмембранного домена и C-

концевого цитоплазматического домена рецептора Toll/IL-1 (TIR). Внеклеточный домен содержит 20–26 мотивов повторов, богатых лейцином (LRR), которые сопоставляются в виде подковообразного соленоида или кольцевой структуры.  $\alpha$ -спираль каждого LRR расположена на выпуклой поверхности соленоидной структуры, а  $\beta$ -слой каждого LRR собирается и формируется в вогнутую поверхность соленоидной структуры. В отличие от других белков, содержащих LRR, TLR связывают свои лиганды, включая агонисты, на боковой выпуклой поверхности вместо вогнутой поверхности. Образование M-образного димера или мультимера необходимо для активации всех TLR, так что C-концевые области двух TLR внеклеточного домена сближаются. Это, в свою очередь, вызывает мультимеризацию цитоплазматических доменов TIR, которые будут привлекать нижестоящие адаптеры TRIF или MyD88 посредством гомотипического взаимодействия, далее формируя сигнальный комплекс, называемый сигналосомой, и активируя нижестоящие факторы транскрипции: один из них — NF- $\kappa$ B, который индуцирует провоспалительные цитокины, другой — регуляторный фактор интерферона (IRF), который индуцирует противовирусный интерферон I типа (IFN). Таким образом, активированные TLR передают сигнал на две адаптерные молекулы MyD88 и TRIF, что приводит к активации главных адаптерных молекул: ядерного фактора трансляции NF- $\kappa$ B и интерферон-респонсивных факторов 3/7 (IRF-3/7), которые мигрируют в ядро и запускают синтез предшественников провоспалительных цитокинов pro-IL-1 $\beta$  и pro-IL-18, а также IFN- $\beta$  [94].

Поскольку все TLR являются белковыми молекулами, то точечные замены нуклеотидов в их генах могут приводить к появлению различных генетических вариантов рецепторов, которые могут определять скорость и качество внутриклеточной сигнальной передачи.

После фиксации вируса гриппа на цитоплазматической мембране происходит его инвагинация, завершающаяся процессом эндоцитоза вируса с последующим формированием эндосомы. В эндосоме происходит переваривание

оболочки вириона, высвобождая ssRNA (односпиральную РНК) и активируя RdRp (РНК-зависимая РНК-полимераза), с помощью которой ssRNA строит позитивную цепь, превращаясь в dsRNA (двухспиральная РНК), которая высвобождается в цитоплазму и мигрирует в ядро [94]. Двухспиральная RNA активирует IRF и NF-κB, передающие сигналы в ядро клетки: IRF вызывает экспрессию генов и синтез IFN-α/β, NF-κB инициирует продукцию провоспалительных цитокинов [51, 94]. Так, например, по мнению ряда авторов, передача сигналов TLR3 через адаптерный белок TRIF обеспечивает наиболее эффективные внутренние противовирусные защитные реакции клетки-хозяина в ответ на внедрение вируса SARS-CoV, в то время как удаление любой ветви передачи сигналов TLR вызывает летальный исход [241]. При этом функциональный полиморфизм генов TLR снижает способность к распознаванию соответствующих лигандов, либо к проведению внутриклеточных сигналов, изменяя развитие защитных противовирусных реакций [51, 200].

Имеются сведения об участии TLR3 в распознавании двухцепочечных молекул вирусной РНК реовирусов, репликативных форм двухцепочечной РНК пикорнавирусов и вируса гриппа А [17, 32, 63].

Так, например, в некоторых исследованиях показано, что маркерами повышенного риска гриппа являются аллель *299Gly* и генотип *299Asp/Gly TLR4* и комбинация мутантных генотипов *412Leu/Phe* и *412Phe/Phe TLR3* с *299Asp/Gly TLR4* и *Arg/Gln TLR2*, а для гриппозависимой пневмонии – аллель *412Phe* и генотип *412Phe/Phe TLR3* [155].

Работами, проводимыми сотрудниками ФГБОУ ВО ЧГМА, было показано, что гаплотип [CD14 (159CC); FCGR2A (166RR)] повышает вероятность тяжелого течения и летального исхода у пациентов с гриппом А/Н1N1, осложненной пневмонией [18].

Другим коллективом ученых обнаружено, что наличие рецессивных генетических вариантов SNP генов IFITM3, TLR3 ассоциировано с высоким риском смерти у пациентов с гриппом H7N9/H1N1pdm09 в китайской популяции

[151]. При изучении полиморфизма гена *TLR4* *rs4986790/4986791* авторами обнаружено отсутствие достаточной связи с развитием гриппа H7N9/H1N1pdm09, однако носительство мутантных гомозигот SNP гена *TLR3* *rs5743313* увеличивало риск летального исхода у таких пациентов [166].

Подобные результаты были получены Esposito S. et al. (2012), которые установили, что полиморфизмы *TLR2* *rs5743708*, *TLR3* *rs5743313*, *TLR4* *rs4986790* и *TLR4* *rs4986791* ассоциированы с развитием гриппа A/H1N1/2009 детей, неосложненного пневмонией. При этом у носителей гетерозиготных вариантов *rs5743313* гена *TLR3* повышался риск развития пневмонии [240].

Исходя из вышеизложенного, можно предположить, что дефекты на уровне рецепторов, а также факторов, регулирующих их функцию, определяют разное сродство с антигеном *Influenza virus*, что сказывается на эффекторных функциях иммунокомпетентных клеток в процессе реализации иммунного ответа и воспалительного процесса при гриппе [17, 32, 63, 96].

Изучение роли генетического полиморфизма молекул PRR в распознавании вирусных лигандов, клеточной сигнализации, механизмах активации, эфферентных ответах по продукции интерферонов и цитокинов представляется важным для понимания противовирусного иммунного ответа.

Мы установили, что предрасположенность к гриппу А (H3N2) связана с генетическими вариантами молекул *TLR4* и *CD14*. Общность этих рецепторов связана с аффинностью к одному и тому же лиганду – липополисахариду (ЛПС). Поэтому неспецифическая защита против патогенов, несущих патерн - ЛПС, включая возможное присоединение бактериальной инфекции, связано с генетическими вариантами этих патерн-распознающих рецепторов.

*TLR4* активируется ЛПС (эндотоксином), основным компонентом внешней мембраны грамотрицательных бактерий. Во время инфекции *TLR4* реагирует на ЛПС, присутствующий в тканях и кровотоке, и запускает провоспалительные реакции. *TLR4* также может активироваться эндогенными соединениями, называемыми молекулярными паттернами, связанными с повреждением клеток

(DAMP), включая белок 1 группы высокой подвижности (HMGB1) и гиалуроновую кислоту. Эти соединения высвобождаются при повреждении тканей и могут активировать TLR4 в неинфекционных условиях, чтобы вызвать восстановление тканей. Всего, помимо ЛПС и его производных, постулировано до 30 природных агонистов TLR4 с различными химическими структурами. Влияние эндогенных DAMP на активность TLR4 расширяет спектр патофизиологических состояний, включающих индуцированные TLR4 провоспалительные реакции, далеко за пределы инфекционных заболеваний.

TLR4 связывает ЛПС с помощью ЛПС-связывающего белка (LBP) и CD14, а также незаменимого вклада белка MD-2, стабильно связанного с внеклеточным фрагментом рецептора. Связывание молекулы ЛПС с комплексом TLR4/MD-2 включает ацильные цепи и фосфатные группы липида А, консервативной части ЛПС и основного индуктора провоспалительных ответов на ЛПС. Гексаацилированный и дифосфорилированный ЛПС является одним из самых мощных агонистов TLR4, тогда как недоацилированные ЛПС и дефосфорилированные виды ЛПС обладают более слабой провоспалительной активностью[49, 91,105,106].

TLR4 экспрессируется в иммунных клетках, в основном миелоидного происхождения, включая моноциты, макрофаги и дендритные клетки (DC), а также в некоторых неиммунных клетках, таких как эндотелиальные клетки. Большинство миелоидных клеток экспрессируют также большое количество CD14, закрепленного на плазматической мембране, что облегчает активацию TLR4 ЛПС и контролирует последующую интернализацию активированного ЛПС TLR4, важного для сигнализации рецептора и деградации. С помощью CD14 TLR4, в отличие от всех других TLR, запускает два сигнальных пути, называемых MyD88-зависимым и TRIF-зависимым по названию адаптерных белков, участвующих в их индукции. Эти сигнальные пути приводят к продукции двух наборов провоспалительных цитокинов, которые лишь частично перекрываются. Сигнальные пути, зависящие от MyD88 и TRIF, запускаются последовательно и

связаны с перераспределением активированного ЛПС TLR4 из плазматической мембраны в эндосомы. Транслокация TLR4 внутрь клетки и его дальнейшая лизосомальная деградация способствуют прекращению воспалительной реакции.

Генетические варианты TLR4 не только по-разному сигнализируют клетки о патогене или повреждении при появлении PAMP и DAMP, но и могут обуславливать различную связь с поверхностными молекулами CD14, как об этом косвенно свидетельствуют наши наблюдения.

CD14 представляет собой белок, закрепленный на гликозилфосфатидилинозитоле (GPI), локализованный в нанодоменах плазматической мембраны, обогащенных холестерином и сфинголипидами, так называемых плотках, которые, следовательно, считаются участками активации TLR4. CD14 обнаруживается преимущественно на поверхности клеток миелоидной линии; однако небольшие количества также обнаруживаются в немиелоидных клетках, например, гепатоцитах, адипоцитах, роговичных и эпителиальных клетках кишечника. Эти последние клетки продуцируют в основном растворимую форму CD14, лишенную якоря GPI (sCD14). Протеолиз мембраносвязанного CD14 может осуществляться на поверхности клетки или внутриклеточно, после фагоцитоза бактерий.

Как связанный с мембраной, так и растворимый CD14 может переносить молекулу ЛПС в комплекс TLR4/MD-2. ЛПС связан в N-концевом гидрофобном кармане CD14, который отличается некоторыми деталями структуры между человеческим и мышинным CD14. Гидрофобный карман CD14, вероятно, вмещает до пяти ацильных цепей эндотоксина, в то время как оставшаяся может способствовать ассоциации комплекса CD14-ЛПС с MD-2.

Как видно, многообразие реакций с участием молекул CD14 позволяет утверждать, что их генетические варианты могут влиять на течение инфекционного процесса на разном уровне.

Взаимодействие двух поверхностных рецепторов CD14 и TLR4, генетический полиморфизм которых мы изучили у пациентов, в основном



направлен на развитие провоспалительных реакций, в которых участвуют провоспалительные цитокины, главным образом, IL1. Этот фоновый механизм уже предполагает вовлечение в защитные реакции адаптивного иммунитета с обязательным участием лимфоцитов и конечной продукцией антител. Участие иммунных клеток в противовирусной защите несомненно требует их миграции в очаг воспаления. Учитывая, что при развитии неспецифической защиты часто повреждаются эндотелий сосудов, альтернативным механизмом миграции может служить контакт лимфоцитов с тромбоцитами. Регуляторами этого процесса выступают как провоспалительные, так и противовоспалительные цитокины. Их генетический полиморфизм также влияет на предрасположенность к вирусной инфекции. Этому механизму мы посвятили отдельные исследования.

Таким образом, индивидуальная предрасположенность к инфекции гриппа А(Н3N2) носит мультигенный характер и сопряжена с носительством SNP генов отдельных паттерн-распознающих рецепторов (*CD14, TLR2, TLR3, TLR4*), а также цитокинов (*IL-2, IL-4, IL-10*).

### **Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия и полиморфизм генов цитокинов при гриппе А(Н3N2)**

Тромбоциты и лимфоциты взаимно регулируют свои функции, т. е. осуществляют перекрестные взаимодействия между собой [13, 24, 30, 57, 58, 82, 96]. Гетеротипические взаимодействия стали важными регуляторными механизмами в патофизиологических процессах тромбоза, воспаления, иммунитета и атеросклероза. Тромбоциты влияют на функцию лимфоцитов через прямой контакт клетка-клетка и/или растворимые медиаторы - интерлейкины. Тромбоциты усиливают адгезию и миграцию клеток Т-лимфоцитов, НК и В-клеток. Тромбоциты влияют на другие функциональные аспекты субпопуляций лимфоцитов сложным образом. Они могут ослаблять секрецию цитокинов и иммуносупрессивные реакции Т-клеток и усиливать пролиферацию и цитотоксичность Т-клеток. Тромбоциты способствуют смене изотипа и выработке

антител В-клетками. Тромбоциты выделяют многочисленные воспалительные медиаторы, которые не играют известной роли в гемостазе. Многие из этих медиаторов изменяют лейкоцитарную и эндотелиальную реакцию на ряд различных воспалительных стимулов. Кроме того, тромбоциты образуют агрегаты с лейкоцитами и образуют мосты между лейкоцитами и эндотелием, в значительной степени опосредованные тромбоцитарным Р-селектином. Благодаря их взаимодействию с моноцитами, нейтрофилами, лимфоцитами и эндотелием тромбоциты, таким образом, являются важными координаторами воспаления и как врожденных, так и адаптивных иммунных реакций. Лимфоциты также могут регулировать агрегацию и секрецию тромбоцитов, а также функцию эффекторных клеток тромбоцитов в иммунной защите. Тромбоциты и лимфоциты сотрудничают в трансцеллюлярном метаболизме фосфолипидов, межклеточной сигнализации, опосредованной лигандом CD40-CD40, и их участии в патологических процессах, как об этом подробно описали А.В. Солпов, Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник (1999-2020).

Известно, что интерлейкины являются регуляторами процесса взаимодействия лимфоцитов и тромбоцитов. Как показали Читинские исследователи, лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия является одной из физиологических функций, присущих различным субпопуляциям лимфоцитов, и реализуемой посредством адгезивных молекул. Ими установлено, что лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия регулируется цитокинами и индукторами агрегации тромбоцитов. Повышают эту функцию IL-1 $\beta$ , IL-2, коллаген, адреналин и ADP. Ингибиторами лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии являются IL-4, IL-10 и IFN $\gamma$ . Механизм лимфоцитарно-тромбоцитарного взаимодействия включает в себя образование интегриновых и неинтегриновых мостов, таких как  $\alpha_{IIb}/\beta_3$ - и  $\beta_1$ -связанные интегрины, Р-селектин-PSGL и CD40-CD40L.

В связи с вышеизложенным было логичным изучить как влияют разные генетические варианты цитокинов на лимфоцитарно-тромбоцитарную адгезию при гриппе А(Н3N2).

Мы изучили распределение частот аллелей и генотипов полиморфных ДНК-локусов генов *IL-2* (*T330G*), *IL-4* (*C589T*), *IL-10* (*G1082A*), *IL-10* (*C819T*) [73, 74, 76].

Установлено, что вероятность развития гриппа А(Н3N2) повышается у лиц-носителей аллели *T* и гомозиготного генотипа *T/T* промотора гена *IL-2*, аллели *T*, гетерозиготного варианта *C/T* и гомозиготного генотипа *T/T* промотора гена *IL-4* (*C589T*), аллели *T* и гетерозиготного варианта *C/T* гена *IL-10* (*C819T*), аллели *A* и гетерозиготного варианта *G/A* гена *IL-10* (*G1082A*) [73, 74].

Показано, что у пациентов-носителей генотипа *T/T* гена *IL-2* (*T330G*) в крови определяется максимальное содержание *IL-2*, тогда как у обладателей гомозигот *G/G* обнаружено минимальное количество кодируемого цитокина. Среди больных гриппом А(Н3N2) у обладателей гомозигот *T/T* гена *IL-4* (*C589T*) определялась максимальная концентрация *IL-4*, а минимальная – у носителей вариантов *C/C*. У лиц-носителей гомозигот *C/C* гена *IL-10* (*C819T*) и гомозигот *G/G* гена *IL-10* (*G1082A*) определялась минимальная концентрация кодируемого цитокина *IL-10*, при этом максимальная концентрация выявлялась у обладателей вариантов *T/T* гена *IL-10* (*C819T*) и *A/A* гена *IL-10* (*G1082A*).

Мы предполагаем, что генетические варианты промоторов генов *IL-2*, *IL-4* и *IL-10*, при которых выявляется максимальная концентрация соответствующих интерлейкинов связана с более медленным процессингом ДНК-полимеразы при инициации и последующей инерции старта соответствующих проматричных РНК, благодаря чему трансляция белка оказывается более длительной.

У обладателей различных полиморфизмов цитокинов функция лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии оказалась неодинаковой.

Выявлено, что среди больных гриппом А(Н3N2) повышается ЛТА, о чем свидетельствуют относительные и абсолютные показатели функции [247].

Наибольшие параметры лимфоцитарно-тромбоцитарного розеткообразования определены у обладателей вариантов *T/T* гена *IL-2* (*T330G*), генотипа *C/C* полиморфизма гена *IL-4* (*C589T*), генотипа *C/C* гена *IL-10* (*C819T*), генотипа *G/G* гена *IL-10* (*G1082A*) [73, 74].

Обнаружено, что генотип *T/T* гена *IL-2* (*T330G*) ассоциирован с гиперфункцией лимфоцитов с избыточной продукцией  $IL-2$  и усилением лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии, в то время как у носителей гомозиготного генотипа *C/C* гена *IL-4* (*C589T*) определена абберантная (недостаточная) продукция  $IL-4$ , а среди носителей гомозиготного генотипа *C/C* гена *IL-10* (*C819T*) и гомозиготного генотипа *G/G* гена *IL-10* (*G1082A*) определена абберантная (недостаточная) продукция  $IL-10$ .

Как можно объяснить сведения о полиморфизме промоторного региона гена  $IL-2$  (*T330G*) и его влиянии на лимфоцитарно-тромбоцитарную адгезию индивидуальную иммунологическую ответ организма при гриппе А(Н3N2)?

Известно, что особую роль в дизрегуляции иммунной системы при инфекционном процессе играют нарушения межклеточной кооперации, реализацию и стабилизацию которой регулирует цитокин-рецепторная сеть, отвечающая за активацию противoinфекционной защиты клетками макроорганизма [47, 97, 104].

Столкновение вируса и макрофага заканчивается стимуляцией последнего, в результате чего секретируются провоспалительные цитокины:  $IL-1\beta$  активирует Т-хелперы 1-го типа, который в ответ на антигенную и цитокиновую стимуляцию продуцирует  $IL-2$ . Продукция  $IL-2$  сопровождается активацией лимфоцитов, несущих маркеры  $CD4^+$ , среди которых находятся Т-хелперы 2-го типа. Активированные Т-лимфоциты вступают в контакт с тромбоцитами на поверхности поврежденного эндотелия и усиливают свою миграцию в ткани, где развивается воспалительный процесс, и осуществляется иммунный ответ [47, 77].

Ранее в наших работах полученные результаты такого изменения параметров лимфоцитарно-тромбоцитарного взаимодействия были объяснены

уровнем цитокинов у обладателей различных SNP. У пациентов-носителей полиморфных вариантов, усиливающих продукцию IL-2, показатели ЛТА максимальные, и, напротив, когда распознающие антиген клетки выделяют больше противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10 – способность лимфоцитов к розеткообразованию с кровяными пластинками снижается [47].

Результаты настоящего исследования согласуются с данными, полученными Ю.А. Витковским, А.В. Солповым, Б.И. Кузником (2006) при описании феномена лейкоцитарно-тромбоцитарной адгезии, когда в эксперименте было установлено, что IL-2 повышает способность хелперно-индуцирующих клеток к розеткообразованию с интактными тромбоцитами и индуцирует ее у натуральных киллеров (CD16+). При этом антитела против IL-2 препятствуют стимулирующему влиянию IL-2 на формирование лимфоцитарно-тромбоцитарных коагратов. И, напротив, противовоспалительные цитокины IL-4 и IL-10 угнетают деятельность Th1, являющихся продуцентами IL-2, следовательно, увеличение в крови IL-4 и IL-10 будет сопровождаться уменьшением ЛТА, что, в свою очередь, приведет к прекращению миграции клеток, осуществляющих иммунный ответ [13].

Таким образом, полиморфизм генов цитокинов *IL-2*, *IL-4*, *IL-10* и концентрация кодируемых молекул влияют на показатели функции лимфоцитарно-тромбоцитарного розеткообразования при гриппе А(Н3N2) [73, 74, 76].

В настоящей работе мы сосредоточили свое внимание на оси иммунопатогенеза гриппа А(Н3N2): «вирус – паттерн-распознающие рецепторы – макрофаг – лимфоцит – эффекторные молекулы – лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия».

При анализе этой оси выявляются генотипы с высоким и низким иммунным фенотипом. Мы считаем, что высокие показатели ЛТА могут свидетельствовать о более агрессивном иммунном ответе. При этом лимфоциты гораздо эффективнее экспрессируют адгезивные молекулы к кровяным пластинкам на фоне усиленной

продукции IL-2. Т-хелперы первого клона, продуцирующие этот цитокин, получают сигнал о патогене посредством рецепторных молекул (CD14+, Toll-like) на мембранах макрофагов и лимфоцитов при их стимуляции PAMP, экспрессируемыми вирусами.

На основании вышеизложенного, мы можем понимать различия иммунного ответа у пациентов с гриппом А(Н3N2) следующими рассуждениями.

Более низкий иммунный ответ у носителей полиморфизма рецепторных молекул можно объяснить несколькими механизмами:

1) Недостаточной экспрессией паттерн-распознающих рецепторов CD14+, Toll-рецепторов иммунокомпетентными клетками при недостаточной стимуляции как молекулами PAMP, так и цитокинами;

2) Понижением аффинности рецепторных молекул к соответствующим лигандам;

3) Низким уровнем сигнальных молекул, необходимых для стимуляции иммунокомпетентных клеток;

4) Реципрокным характером воздействия про- и противовоспалительных цитокинов на иммунокомпетентные клетки. При этом избыток IL-4 и IL-10 вызывает торможение Т-хелперов 1 клона.

Первых два патогенетических механизма уменьшают внутриклеточные сигнальные пути (киназный, цитокиновый) иммунокомпетентных клеток.

Третий и четвёртый механизмы тормозят внешний сигнальный путь активации иммунокомпетентных клеток.

Результаты наших размышлений представлены в концептуальной схеме патогенеза гриппа А(Н3N2).

В результате исследований оказалось, что высокую прогностическую ценность имеет выявление генотипов *412Leu/Leu* гена *TLR3*, *589T/T* гена *IL-4*, *330T/T* гена *IL-2*, содержания IL-2 и параметров лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии, что может способствовать как своевременному обнаружению, так и

прогнозированию особенностей развития клинических проявлений и исходов при гриппе А(Н3N2).

Исходя из полученных результатов, на рисунке 10 представлена концептуальная схема участия единичных полиморфизмов и их влияние на концентрацию про- и противовоспалительных цитокинов и функцию ЛТА в иммунопатогенезе гриппа А(Н3N2).

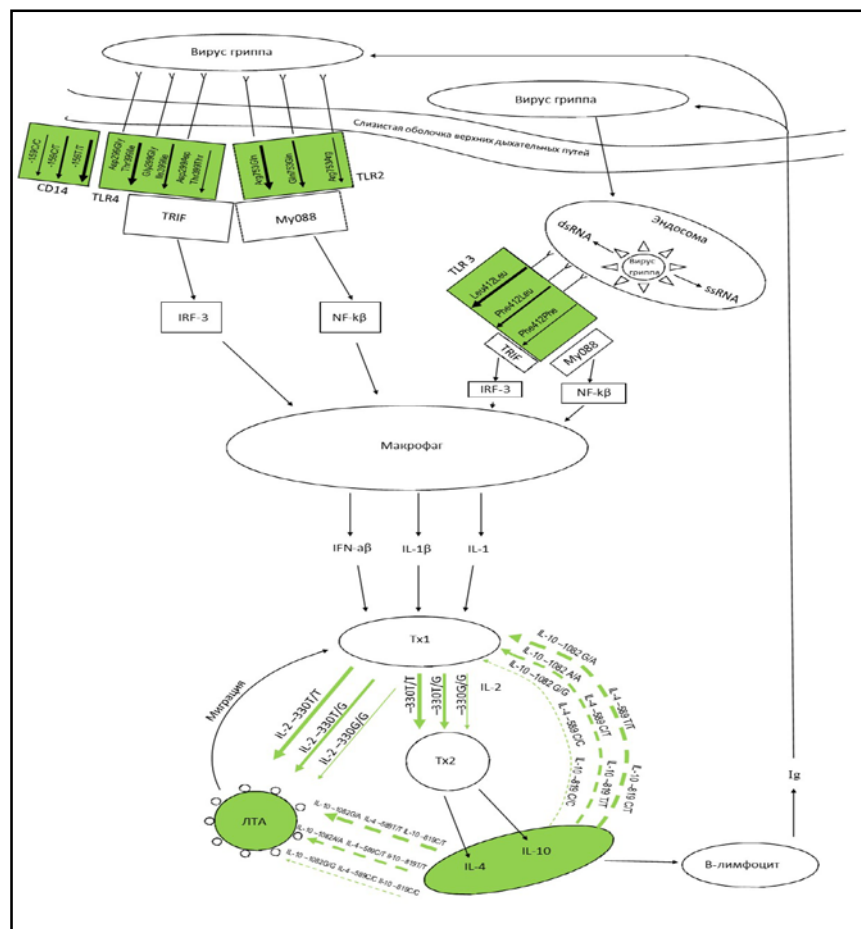


Рисунок 10 – Схема патогенеза гриппа (по данным Емельяновой А.Н. [29], Смирнова В.С. и соавт. [94]) с дополнениями по результатам настоящего исследования: точки влияния SNP генов *IL-2*, *IL-4*, *IL-10*, *CD14*, *TLR2*, *TLR3*, *TLR4*, соответствующих цитокинов и ЛТА.

На схеме цельные линии (—) – стимуляция, пунктирная (- - - - -) – торможение, а толщина линий с указанием полиморфных вариантов генов интерлейкинов условно пропорциональна концентрации молекул, кодируемых SNP.

В настоящей работе мы совершили попытку объяснить механизмы патогенеза инфекционного процесса при встрече с вирусом А(Н3N2) в зависимости от индивидуальных особенностей защитных механизмов, определяемых генетическими вариантами молекул-участников врожденного и адаптивного иммунитета.

Представленная схема предполагает индивидуальную ответную реакцию в зависимости от генетического полиморфизма молекул, участвующих как во врожденном, так и адаптивном иммунном ответе, начиная со встречи вируса гриппа с макрофагом и заканчивая передачей сигнала на В-лимфоциты, ответ которых сопровождается продукцией специфических антител.

Врожденный иммунитет, как известно, является первой линией защиты и часто ее вполне достаточно для предупреждения развития более широкого инфекционного процесса в организме. Первая линия иммунной защиты в основном действует путем обнаружения широкого спектра молекулярных паттернов, чужеродных тканям млекопитающих, называемых патоген-ассоциированными молекулярными паттернами, которые индуцируют активацию врожденного иммунитета и воспалительную реакцию. Конститутивная экспрессия ограниченного набора рецепторов распознавания образцов многими типами клеток врожденного иммунитета не требует клональной экспансии специфических клеточных популяций. Экспрессия ограниченного числа высокоактивных генов во время активации врожденного иммунитета способна индуцировать быстрые (от минут до часов) эффективные защитные иммунные реакции.

Однако индивидуальный набор генетических вариантов молекул, участвующих во иммунных реакциях, определяет способность каждого отдельного организма регулировать активацию врожденного иммунитета и местных воспалительных реакций имеет решающее значение для инициирования защитного действия против патогенов, ограничения повреждения тканей и ускорения быстрого восстановления и заживления тканей.



При гриппе всегда имеет место повреждение клеток, при котором развивается воспалительная реакция, представляющая собой сложную сеть молекулярных и клеточных взаимодействий, направленных на облегчение возврата к физиологическому гомеостазу и восстановлению тканей. При этом цитокины обеспечивают передачу сигналов от клетки к клетке, а также инициируют развитие адаптивного иммунитета. Когда причины воспалительной реакции имеют высокую интенсивность, продукция цитокинов увеличивается, и они высвобождаются в кровоток, провоцируя «реакцию острой фазы». С другой стороны, «ингибирующие» цитокины, такие как IL-10, подавляют активацию некоторых эффекторных функций Т-лимфоцитов и мононуклеарных фагоцитов, ингибируя высвобождение провоспалительных цитокинов и тем самым отключая воспалительные процессы.

Более низкие концентрации молекулярных маркеров воспалительного процесса позволяют более тонко контролировать течение защитных реакций и, следовательно, при этом вовлечение органов и тканей в воспалительный процесс. Наша иммунная система эволюционировала, чтобы контролировать патогены, поэтому высокие провоспалительные реакции, вероятно, эволюционно запрограммированы на агрессивное сопротивление инфекционным заболеваниям. Именно, воспалительные генотипы являются важной и необходимой частью нормальных реакций хозяина на патогены в раннем возрасте, но перепроизводство воспалительных молекул может вызывать иммуннозависимые воспалительные заболевания с развитием осложнений.

Таким образом, генотипы с низким ответом, участвующие в регуляции врожденных защитных механизмов, могут лучше контролировать воспалительные реакции и развитие инфекционных заболеваний, что приводит к уменьшению риска развития осложнений с уменьшенной патогенной нагрузкой и более благоприятным течением патологического процесса.

## Заключение

Проведенные нами исследования показали, что SNP паттерн-распознающих рецепторов CD14, TLR2, TLR3, TLR4, а также цитокинов IL-2, IL-4, IL-10 могут как препятствовать агрессивному воздействию *Influenza virus A*, так и усиливать вероятность развития воспалительного заболевания.

Полученные нами результаты объясняют молекулярно-клеточные механизмы развития защитных реакций, что расширяет представление об известных механизмах патогенеза гриппа А, а также дает возможность проведения своевременных профилактических мероприятий, а в случае вероятности возникновения заболевания – осуществления персонализированного прогноза развития гриппа А(Н3N2).

## ВЫВОДЫ

1. У больных гриппом А(Н3N2) превалирует мажорная аллель *T* полиморфизма гена промотора *IL-2* (*T330G*) и гомозиготный генотип *T/T* по сравнению с контрольной группой. У пациентов-носителей гомозиготного варианта *T/T* SNP гена *IL-2* (*T330G*) на фоне повышенной продукции *IL-2* и содержания количества лимфоцитов, абсолютный показатель ЛТА увеличивается по сравнению со здоровыми лицами.

2. При гриппе А(Н3N2) аллель *T* SNP *IL-4* (*C589T*) встречается чаще, чем у здоровых лиц; преобладает гетерозиготный вариант *C/T* и гомозиготный вариант *T/T* (в 1,2 и 2,5 раза соответственно) по сравнению с контрольной группой. Среди пациентов-носителей генотипа *C/C* SNP *IL-4*(*C589T*) способность лимфоцитов контактировать с тромбоцитами максимальная, а при генотипе *T/T* – минимальная. Среди заболевших гриппом А(Н3N2) у обладателей гомозиготного варианта *C/C* концентрация *IL-4* в сыворотке крови наименьшая, а у гомозигот *T/T* – наибольшая.

3. У больных гриппом А(Н3N2) аллель *T* гена *IL-10* (*C819T*) выявляется чаще, а аллель *C* – реже по сравнению со здоровыми. У больных гриппом А(Н3N2) превалирует гетерозиготное носительство аллелей – генотип *C/T* SNP *IL-10* (*C819T*). Среди пациентов с гриппом А (Н3N2) в 3 раза чаще встречается минорная аллель *A* и генотип *A/A* SNP *IL-10* (*G1082A*). Способность лимфоцитов контактировать с тромбоцитами – максимальная у носителей геноварианта *C/C* гена *IL-10* (*C819T*) и *G/G* гена *IL-10* (*G1082A*) при минимальной концентрации *IL-10* в сыворотке крови.

4. Носительство аллели *T* SNP *CD14* (*C159T*) у больных гриппом выявляется чаще, а *C* – реже по сравнению со здоровыми. Частота генотипа *T/T* у больных в 3 раза превышает его встречаемость среди здоровых лиц. У заболевших гриппом А(Н3N2) превалирует аллель *-753Gln* гена *TLR2* в виде гетерозиготного носительства *Arg/Gln*. У больных гриппом в 2 раза чаще

регистрируется аллель *-412Leu* гена *TLR3* и в 3 раза чаще гомозиготные варианты ее носительства (*Leu412Leu*). У пациентов с гриппом А(Н3N2) аллель *-299Gly* SNP *TLR4* (*Asp299Gly*) и ее гомозиготный вариант *TLR4* (*Gly299Gly*) обнаруживается в 2,5 раза чаще, чем в контрольной группе. У них аллель *-399Ile* SNP гена *TLR4* (*Thr399Ile*) в гетеро- и гомозиготном носительстве в 2,5 раза встречается чаще по сравнению со здоровыми.

5. Наиболее значимыми в патогенетических механизмах неосложненных форм гриппа А(Н3N2) является носительство геновариантов *-412Leu/Leu* гена *TLR3*, *-589T/T* гена *IL-4*, *-330 T/T* гена *IL-2*, уровень ЛТА и концентрация *IL-2* в сыворотке крови.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

С целью прогнозирования риска инфицирования при контакте с больным гриппом А(Н3N2) рекомендовано определять полиморфизм генов Toll-подобных рецепторов: *Arg753Gln TLR2*, *Phe412Leu TLR3*, *Asp299Gly TLR4*.

Для использования данного способа в клинической практике можно использовать разработанную программу для ЭВМ (Свидетельство о государственной регистрации для ЭВМ №2021668224).

Предложенная программа может стать полезной для категории лиц с абсолютными противопоказаниями к вакцинации, а также женщин в I триместре беременности, в случае развития гриппа у контактных с ней лиц из числа близкого эпидемиологического окружения, с целью уменьшения риска реализации развития инфекции и принятия ранних превентивных мер.

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Перспективы дальнейшего развития результатов исследования состоят в необходимости разработки персонифицированных подходов к диагностике и лечению гриппа А(Н3N2), создании клинико-генетических критериев для прогнозирования риска развития гриппа А(Н3N2), что позволит определить патогенетически обоснованную терапию и возможности персонализированной профилактики данного заболевания.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ДВС – синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЛТА – лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия

мРНК – матричная РНК

ОДН – острая дыхательная недостаточность

ОРВИ – острые респираторно-вирусные инфекции

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ХВГС – хронический вирусный гепатит

BCGF-I – фактор роста В-клеток

CD – кластер дифференцировочных антигенов

CI – доверительный интервал

dsRNA – двуспиральная РНК

ENA-78 – эпителиальный нейтрофил-активирующий белок-78

НА – гемагглютинин

IFN – интерферон

IL – интерлейкин

IRAK – киназа, связанная с рецептором интерлейкина-1

LPS – липополисахарид-связывающий белок

Mac-1 – мембранный белок

MDA-5 – белок, ассоциированный с дифференцировкой меланомы

MIP-1 $\alpha$  – макрофагальный воспалительный белок-1 $\alpha$

MyD – ген первичной реакции миелоидной дифференцировки

NF-kB – ядерный фактор каппа-цепи в-лимфоцитов

NLR – цитоплазматические клеточные рецепторы

PAMP – патоген-ассоциированные молекулярные структуры

PCC – рецептор-связывающий сайт

PF4 – тромбоцитарный фактор 4

RdRp – РНК-зависимая РНК-полимераза

RIG-I – внутриклеточные рецепторы опознавания структур

OR – отношение шансов

PRR – образ-распознающие рецепторы

RSV – респираторно-синцитиальный вирус

SNP – полиморфизм единичных нуклеотидов

ssRNA – односпиральная РНК

TGF – трансформирующий фактор роста

Th1 – Т-хелпер 1-го типа

Th2 – Т-хелпер 2-го типа

TIR – толл-интерлейкин-1 гомологичный домен

TIRAP – домен рецептора толл-интерлейкина-1, содержащий адаптерный белок

TLR – toll-подобные рецепторы

TRAF – фактор, ассоциированный с рецептором фактора некроза опухолей

TRIF – доменсодержащий адаптер-индуцирующий интерферон- $\beta$



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анализ эпидемии гриппа 2016 года и пандемии 2009 года по материалам двух Национальных Центров ВОЗ в Российской Федерации / Л.С. Карпова, Н.М. Поповцева, Т.П. Столярова [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2016. – Т. 15, № 4 (89). – С. 4–12.
2. Артемьева О.В. Воспалительное старение как основа возраст-ассоциированной патологии / О.В. Артемьева, Л.В. Ганковская. – DOI 10.15789/1563-0625-IAT-1938 // Медицинская иммунология. – 2020. – Т. 22, № 3. – С. 419–432.
3. Ассоциация полиморфных маркеров G(-20)A, C(-44)G и G(-52)A гена DEFB1 с развитием преждевременных родов и внутриутробным инфицированием плода / О.А. Ганковская, И.В. Бахарева, Л.В. Ганковская [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2011. – № 1. – С. 26–33.
4. Байке Е.В. Полиморфизм генов IL-1B, IL-6, IL-10 и TNF-A у больных разными формами хронического гнойного среднего отита / Е.В. Байке, Е.Е. Байке // Современные проблемы науки и образования: сетевое издание. – 2015. – № 4. – URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=21205> (дата обращения: 12.05.2023).
5. Бекенова Н.Б. Ассоциация полиморфизмов генов цитокинов IL1B (rs1143627), IL10 (rs1800896), IL17A (rs2275913, rs8193036) с инфекционными заболеваниями, в том числе и рожей / Н.Б. Бекенова, А.М. Гржибовский, Л.А. Муковозова // Наука и здравоохранение. – 2016. – № 4. – С. 104–118.
6. Белов А.Б. Дискуссионные вопросы эпидемиологии и профилактики гриппа в свете результатов ретроспективного анализа эпидемической ситуации 2009–2010 гг. / А.Б. Белов, П.И. Огарков // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2011. – № 3. – С. 38–42.

7. Белов А.Б. Решенные и проблемные вопросы эпидемиологии гриппа через сто лет после пандемии "испанки" / А.Б. Белов, П.В. Куликов // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2019. – № 18 (5). – С. 109–120.
8. Белова Е.Г. Грипп – болезнь всех возрастов // Лечащий врач. – 2003. – № 10. – С. 73–75.
9. Биличенко Т.Н. Заболеваемость и смертность населения России от острых респираторных вирусных инфекций, пневмонии и вакцинопрофилактика / Т.Н. Биличенко, А.Г. Чучалин // Терапевтический архив. – 2018. – № 90 (1). – С. 22–26.
10. Бойцова Е.А. Интерлейкин 4. Биологические функции и клиническое значение в развитии аллергии (научный обзор) / Е.А. Бойцова, Г.О. Азимуродова, Т.В. Косенкова // Профилактическая и клиническая медицина. – 2020. – № 2 (75). – С. 70–79.
11. Васильева К.А. Усиление иммуногенности антигенных детерминант вирусов гриппа а путем подавления иммуносупрессорной функции белка NS1 : специальность 03.02.02 «Вирусология» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Васильев Кирилл Александрович. – Санкт-Петербург 2020. – 24 с.
12. Взаимосвязь цитокинового статуса и выраженности интоксикационного синдрома при гриппе / Л.В. Волощук, Е.Г. Головачева, А.Л. Мушкатина [и др.]. – DOI 10.15789/2220-7619-2013-3-263-268 // Инфекция и иммунитет. – 2013. – № 3 (3). – С. 263–268.
13. Витковский Ю.А. Патогенетическое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии / Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник, А.В. Солпов // Медицинская иммунология. – 2006. – № 8 (5-6). – С. 745–753.
14. Влияние полиморфных генов на развитие неблагоприятного течения гриппа / Н.О. Бокова, Н.Д. Ющук, К.Р. Дудина [и др.] // Инфекционные болезни. Новости. Мнения. Обучение. – 2013. – № 2 (3). – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-polimorfnyh-genov-na-razvitie-neblagopriyatnogo-techeniya-grippa> (дата обращения: 17.12.2021).

15. Внутренние болезни: учебник : в 2 т. Т. 1 / под ред. В.С. Моисеева, А.И. Мартынова, Н.А. Мухина. – 3-е изд., перераб. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2019. – 960 с. : ил. – ISBN 978-5-9704-5314-8.
16. Генетический полиморфизм некоторых генов TOLL-подобных рецепторов у пациентов с гриппом А (H3N2) / Г.А. Чупрова, А.Н. Емельянова, А.С. Емельянов [и др.]. – DOI 10.17816/KMJ109935 // Казанский медицинский журнал. – 2023. – Т. 104, № 2. – С. 192–197.
17. Генетический полиморфизм CD14 (C159T) у больных гриппом А(H3N2) в Забайкальском крае / А.Н. Емельянова, А.С. Емельянов, Г.А. Чупрова [и др.] // Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы: материалы XI ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием, г. Москва, 1-3 апреля 2019. – Москва, 2019. – С. 57.
18. Генетический полиморфизм CD14, TNF $\alpha$  и FCGR2A у больных гриппом А H1N1 В Забайкальском крае / А.А. Петров, Н.Н. Страмбовская, А.В. Говорин, Ю.А. Витковский. – DOI 10.15789/1563-0625-2011-1-83-86 // Медицинская иммунология. – 2011. – № 13 (1). – С. 83–86.
19. Генетический полиморфизм toll-подобного рецептора-3 у больных гриппом А(H3N2) и гриппом В / А.С. Емельянов, Г.А. Чупрова, А.Н. Емельянова [и др.] // Забайкальский медицинский вестник: электронное научное издание. – 2021. – № 1. – С. 17–21. – URL: <http://zabmedvestnik.ru/arhiv-nomerov/nomer-1-za-2021/geneticheskij-polimorfizm-toll-podobnogo-receptora-3-u-bolnyh-grippom-a-h3n2-i-grippom-b>(дата обращения: 13.05.2021).
20. Гржибовский А.М. Анализ биомедицинских данных с использованием пакета статистических программ SPSS: учебное пособие / А.М. Гржибовский, Т.Н. Унгурияну. – Архангельск: СГМУ, 2017. – 293 с. – ISBN 978-5- 91702-255-0.
21. Грипп в практике клинициста, эпидемиолога и вирусолога / А.В. Васин, Т.В. Сологуб, Л.М. Цыбалова [и др.]. – Москва: Медицинское информационное агентство, 2017. – 272 с.

22. Грипп и острые респираторные вирусные инфекции: современная рациональная этиотропная и патогенетическая терапия. Алгоритмы оказания медицинской помощи больным: методические рекомендации / составители В.В. Никифоров [и др.]. – Москва: Спецкнига, 2018. – 20 с.
23. Грипп у беременных: клинический случай / Г.Э. Рыжов, А.Н. Турапова, Ж.Б. Понежева, В.Б. Ромейко. – DOI 10.51793/OS.2022.25.4.008 // Лечащий врач. – 2022. – № 4 (25). – С. 44–48.
24. Дивакова Ю.В. Эндотелиально-тромбоцитарное взаимодействие при сепсисе / Ю.В. Дивакова, А.В. Колосков. –DOI 10.35754/0234-5730-2022-67-3-406-418 // Гематология и трансфузиология. – 2022. – № 67 (3). – С. 406–418.
25. Егоров А. Проблема бактериальных осложнений при респираторных вирусных инфекциях / А. Егоров. – DOI 10.18527/2500-2236-2018-5-1-1-11 // MIR journal. – 2018. – № 5 (1). – С. 1–11.
26. 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.
27. Емельянов А.С. Современные аспекты прогнозирования рожи / А.С. Емельянов, А.Н. Емельянова, Ю.А. Витковский // Забайкальский медицинский вестник: электронное научное издание. – 2018. – № 4. – С. 9–13. – URL: <http://zabmedvestnik.ru/journal/2018/4/2.pdf> (дата обращения: 18.05.2019).
28. Емельянов А.С. Частота аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов IL-2 и IL-10 у больных гриппом А/Н1N1(2009) / А.С. Емельянов, А.Н. Емельянова, Ю.А. Витковский // Забайкальский медицинский вестник : электронное научное издание. – 2015. – № 1. – С. 79–82. – URL: <http://zabmedvestnik.ru/journal/2015/1/12.pdf> (дата обращения: 18.05.2019).
29. Емельянова А.Н. Иммуногенетические механизмы патогенеза некоторых инфекционных заболеваний: специальность 14.03.03 «Патологическая физиология» : диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Альвина Николаевна Емельянова. – Чита, 2015. – 30 с.

30. Емельянова А.Н. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия и содержание провоспалительных цитокинов у больных рожей / А.Н. Емельянова, Ю.А. Витковский // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – Т. 27, № 1. – С. 57–59.
31. Журкин А.Т. Влияние интерлейкина-2 на иммунологические и биохимические показатели больных хроническим гепатитом С / А.Т. Журкин, С.Л. Фирсов, М.В. Маркова // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2001. – № 5. – С. 28–31.
32. Заморина С.А. Toll-подобные рецепторы - подъем по тревоге / С.А. Заморина, М.Б. Раев // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. – 2016. – № 2. – С. 8.
33. Иванов В.В. Исследование концентрации цитокинов, вырабатываемых Th2-лимфоцитами, у больных парагриппом / В.В. Иванов, М.В. Шипилов // Медицина: вызовы сегодняшнего дня : материалы I Международной научной конференции, г. Челябинск, июнь 2012 г. – Челябинск : Два комсомольца, 2012. – С. 39-41. – URL: <https://moluch.ru/conf/med/archive/52/1947/> (дата обращения: 14.04.2023).
34. Изменение фенотипических свойств эскейп-мутантов и реадаптантов вируса гриппа А (H1N1) pdm09 под воздействием селекционированных мутаций в молекуле гемагглютинина / Т.А. Тимофеева, И.А. Руднева, А.А. Шилов [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2019. – Т. 64, № 2. – С. 73–78.
35. Ильичева Т.Н. COVID-19, грипп и другие острые респираторные вирусные инфекции: этиология, иммунопатогенез, диагностика и лечение. / Т.Н. Ильичева, С.В. Нетесов, В.Н. Гуреев // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2022. №1. – С.3-11.
36. Иммунология. Атлас / Р.М. Хайтов, Ф.Ю. Гариб. – DOI 10.33029/9704-5525-8-ИММ-2020-1-416. – 2-е изд., обновл. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2020. – 416 с.
37. Иммунология и аллергология: учебное пособие для студентов медицинских вузов / под редакцией А.А. Воробьева. – Москва: Практическая медицина, 2006. – 287 с.

38. Исследование отдельных звеньев иммунной системы мышей, иммунизированных сайт-специфическими мутантами вируса гриппа / С.Г. Маркушин, Н.К. Ахматова, В.Н. Столпникова [и др.]. – DOI 10.15789/2220-7619-EIA-1175 // Инфекция и иммунитет. – 2020. – № 10 (2). – С. 295–304.
39. Каверин Н.В. Ортомиксовирусы (Orthomyxoviridae) / Н.В. Каверин, Д.К. Львов, М.Ю. Щелканов // Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных: монография / под ред. Д.К. Львова. – Москва: МИА, 2013. – С. 307–314. – ISBN 978-5-9986-0145-3.
40. Калинина Э.Н. Вакцинация беременных от гриппа – эффективное средство профилактики заболеваемости данной нозологией / Э.Н. Калинина, И.Н. Зимина, Н.О. Огибенина [и др.] // Медицинские технологии и оборудование: материалы Всероссийской научно-практической конференции, г. Чита, 22 ноября 2019 г. / ответственный редактор В.А. Устюжанин. – Чита: Забайкальский государственный университет, 2019. – С. 49–52. – ISBN 978-5-9293-2440-6.
41. Канипов Р.Р. Грипп: клинические проявления, диагностика и лечение заболевания. Роль иммунитета в защите от острых респираторных вирусных инфекций / Р.Р. Канипов // Молодой ученый. – 2022. – № 40 (435). – С. 16–20.
42. Кареткина Г.Н. Грипп, ОРВИ: проблемы профилактики и лечения // Инфекционные болезни. Новости. Мнения. Обучение. – 2015. – № 4. – С. 25–
43. Карпова Н.И. Патогенетические механизмы нарушений врожденного и адаптивного иммунитета, системы гемостаза и межклеточных взаимоотношений при респираторно-вирусных инфекциях у часто болеющих детей: специальность 14.03.03 «Патологическая физиология» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Карпова Наталья Игоревна. – Чита, 2011. – 19 с.
44. Каштальян О.А. Цитокины как универсальная система регуляции / О.А. Каштальян, Л.Ю. Ушакова // Медицинские новости. – 2017. – № 9. – С. 3–7.
45. Клинико-лабораторная характеристика гриппа в Забайкальском крае на современном этапе / Г.А. Чупрова, А.Н. Емельянова, А.С. Емельянов [и др.] //

Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2019. – Т. 18, № 3. – С. 104–110.

46. Клинико-эпидемиологическая характеристика гриппа в 2015-2016 и 2016-2017 гг. / Н.И. Брико, Т.С. Салтыкова, А.Н. Герасимова [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2017. – № 4. – С. 4–13.

47. Клинические и патогенетические закономерности гриппа H1N1/09 / А.В. Говорин, Е.Н. Романова, Н.А. Мироманова. – Новосибирск: Наука, 2015. – 303 с. – ISBN 978-5-02-019208-9.

48. Ковальчук Л.В. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии / Л.В. Ковальчук, Л.В. Ганковская, Р.Я. Мешкова. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 234 с.

49. Кокряков В.Н. Очерки о врожденном иммунитете / В.Н. Кокряков. – Санкт-Петербург: Наука, 2006. – 261 с.

50. Колесов В.В. Математика для медицинских вузов: учебное пособие / В.В. Колесов. – Москва: Феникс, 2015. – 379 с. – ISBN 978-5-222-23522-5.

51. Коровкина Е.С. Роль Toll-подобных рецепторов в патогенезе воспалительных заболеваний бронхолегочной системы / Е.С. Коровкина, С.В. Кажарова. – DOI 10.15789/2220-7619-2016-2-109-116 // Инфекция и иммунитет. – 2016. – Т. 6, № 2. – С. 109–116.

52. Красько О.В. Статистический анализ данных в медицинских исследованиях: учебно-методическое пособие: в 2 ч. Ч. I / О.В. Красько. – Минск: МГЭУ им. А.Д. Сахарова, 2014. – 127 с.

53. Крючко Т.А. Роль генетических факторов в развитии тяжелой атопической бронхиальной астмы у детей / Т.А. Крючко, Ю.А. Вовк, О.Я. Ткаченко // Здоровье ребенка. – 2012. – № 5 (40). – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/rol-geneticheskikh-faktorov-v-razvitii-tyazheloy-atopicheskoy-bronhialnoy-astmy-u-detey> (дата обращения: 12.12.2021).

54. Кузнецов О.К. Условия, способствующие появлению вируса гриппа с пандемическими потенциями. Профилактические меры // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2003. – № 3. – С. 5–12.
55. Кузник Б.И. Единая клеточно-гуморальная система защиты организма / Б.И. Кузник, Н.Н. Цыбиков, Ю.А. Витковский // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2005. – № 2. – С. 3–14.
56. Лещенко И.В. Контроль над бронхиальной астмой: актуальная проблема и ее решение в реальной клинической практике / И.В. Лещенко // Пульмонология. – 2019. – № 29 (3). – С. 346–352.
57. Лимфоцитарная агрегация и лимфоцитарно-тромбоцитарное кластерообразование / А.В. Солпов, Н.А. Серебрякова, А.Ф. Лончакова [и др.] // Материалы XXIII съезда Физиологического общества им. И.П. Павлова, г. Воронеж, 18-22 сент. 2017 г. – Воронеж: Истоки, 2017. – С. 2181–2183. – ISBN 978-54473-0166-8.
58. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия и лимфоцитарно-тромбоцитарное кластерообразование у пациентов, инфицированных вирусом гриппа H3N2 / А.С. Емельянов, А.Н. Емельянова, Н.Ф. Белозерцева [и др.] // Материалы XXIII съезда Физиологического общества им. И.П. Павлова (Воронеж, 18-22 сент. 2017 г.). – Воронеж, 2017. – С. 2180–2181. – ISBN 978-54473-0166-8.
59. Литвицкий П.Ф. Врожденный иммунитет: механизмы реализации и патологические синдромы / П.Ф. Литвицкий, Т.Г. Синельникова // Вопросы современной педиатрии. – 2009. – № 1. – С. 54–58.
60. Меджитов Р. Врожденный иммунитет // Казанский медицинский журнал. – 2004. – № 3. – С. 161–169.
61. Наследов А.Д. SPSS 19. Профессиональный статистический анализ данных / А.Д. Наследов. – Санкт-Петербург: Питер, 2011. – 399 с. – ISBN 978-5- 459-00344-4.



62. Невынашивание беременности, инфекция, врожденный иммунитет / О.В. Макаров, Л.В. Ковальчук, Л.В. Ганковская [и др.]. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 196 с. – ISBN978-5-9704-0484-3.
63. Никонова А.А. Перспективы использования агонистов и антагонистов Toll-подобных рецепторов для профилактики и лечения вирусных инфекций / А.А. Никонова, М.Р. Хаитов, Р.М. Хаитов. – DOI 10.15789/1563-0625-2019-3-397-406 // Медицинская иммунология. – 2019. – № 3 (21). – С. 397–406.
64. Осидак Л.В. Острые респираторные инфекции у детей и подростков: практическое руководство для врачей / Л.В. Осидак, В.П. Дриневский, Л.М. Цыбалова ; под редакцией Л.В. Осидак. – 3-е изд., доп. – Санкт-Петербург: ИнформМед, 2010. – 216 с. – ISBN 978-5-904192-22-8.
65. Основы иммунитета и ВИЧ-инфекция: монография / А.П. Кузнецов, Л.Н. Смелышева, Н.В. Сажина, О.А. Архипова. – Курган: Изд-во Курганского гос. ун-та, 2021. – 168 с.
66. Особенности этиологии и клиники гриппа у детей в эпидемические сезоны 2004-2006 гг. / О.И. Афанасьева, Е.Г. Королева, К.К. Милькинт [и др.] // Детские инфекции. – 2008. – Т. 7, № 2. – С. 14–16.
67. Оценка эффективности противовирусной терапии гриппа А (H1N1) в эпидемические сезоны 2017-2018 и 2018-2019 гг. / А.Н. Емельянова, Е.П. Тихонова, Т.Ю. Кузьмина [и др.]. – DOI 10.30906/0869-2092-2020-83-3-23-27 // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2020. – Т. 83, № 3. – С. 23–27.
68. Пандемия испанки 1918 года в России. Вопросы сто лет спустя / О.М. Морозова, Т.И. Трошина, Е.Н. Морозова, А.Н. Морозов. – DOI 10.36233/0372-9311-98 // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2021. – Т. 98, № 1. – С. 113–124.
69. Патогенез гриппа: механизмы модуляции белками возбудителя / М.Ю. Щелканов, А.Ф. Попов [и др.]. – DOI 10.22625/2072-6732-2015-7-2-31-46 // Журнал инфектологии. – 2015. – № 7 (2). – С. 31–46.

70. Полиморфизм генов и внебольничная пневмония / Ф.Ф. Ризванова, О.И. Пикуза, Е.В. Генералова [и др.] // Практическая медицина. – 2018. – Т. 16, № 8. – С.70–73.
71. Полиморфизм генов про- ипротивовоспалительных цитокинов и острый бронхит у детей / О.И. Пикуза, Ф.Ф. Ризванова, Е.В. Генералова, О.А. Кравцова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2017. – Т. 62, № 5. – С. 136–138.
72. Полиморфизм промотора гена IL1B (G1473C) и его влияние на содержание интерлейкина 1 в крови больных рожей / А.С. Емельянов, А.Н. Емельянова, Б.С. Пушкарёв, Ю.А. Витковский [и др.] // Медицинская генетика. – 2017. – Т. 16, № 8. – С. 32–35.
73. Полиморфизм промотора гена интерлейкина-2 (T330G) и показатель лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии при гриппе А(Н3N2) / Г.А. Чупрова, А.Н. Емельянова, А.С. Емельянов, Ю.А. Витковский // Журнал инфектологии. – 2022. – Т. 14, № 1. – С. 125–130.
74. Полиморфизм промотора гена IL-4 (C589T) и его влияние на показатель лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии и содержание интерлейкина 4 в крови пациентов при гриппе А(Н3N2) / А.С. Емельянов, Г.А. Чупрова, А.Н. Емельянова, Ю.А. Витковский. – DOI 10.52485/19986173\_2022\_4\_42 // Забайкальский медицинский вестник: электронное научное издание. – 2022. – № 4. – С. 42–49. – URL: <http://zabmedvestnik.ru> (дата обращения: 15.01.2023).
75. Попов С.Ф. Эпидемиологические особенности современного течения гриппа у пациентов пожилого и старческого возраста / С.Ф. Попов, Е.А. Иоанниди, О.В. Александров // Вестник ВолГМУ. – 2021. – № 1 (77). – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/epidemiologicheskie-osobennosti-sovremennogo-techeniya-grippa-u-patsientov-pozhilogo-i-starcheskogo-vozrasta> (дата обращения: 19.03.2021).
76. Полиморфизм промоторных регионов гена IL-10 (C819T, G1082A) и их влияние на содержание интерлейкина 10 и показатель лимфоцитарно-

- тромбоцитарной адгезии при гриппе А(Н3N2) / А.Н. Емельянова, А.С. Емельянов, Г.А. Чупрова [и др.] // Вестник Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова. Серия: медицинские науки. – 2022. – № 4. – С. 27–35.
77. Пузырева Л.В. Генетический полиморфизм цитокинов: прошлое и будущее / Л.В. Пузырева, А.Д. Сафонов. – DOI 10.15789/2220-7619-2016-2-103-108 // Инфекция и иммунитет. – 2016. – Т. 6, № 2. – С. 103–108.
78. Ранние цитокиновые реакции при вирусных инфекциях / Ф.И. Ершов, А.Н. Наровлянский, М.В. Мезенцева // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3, № 1. – С. 3–6.
79. Роль Toll-подобных рецепторов в патогенезе COVID-19 / И.А. Синякин, И.А. Андриевская, Н.А. Ишутина [и др.]. – DOI 10.36604/1998-5029-2021-82-107-115 // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2021. – Вып. 82. – С. 107–115.
80. Роль Toll-подобных рецепторов в патогенезе инфекционных заболеваний человека / Л.В. Ковальчук, О.А. Свитич, Л.В. Ганковская [и др.] // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2012. – № 2. – С. 147–153.
81. Роль липидов в механизмах сигнализации толл-подобных рецепторов / О.Ю. Кытикова, Т.П. Новгородцева, Ю.К. Денисенко [и др.]. – DOI 10.15690/vramn1179 // Вестник РАМН. – 2020. – № 75 (6). – С. 585–593.
82. Роль тромбоцитов в воспалении и иммунитете / С.П. Свиридова, О.В. Соменова, Ш.Р. Кашия [и др.]. – DOI 10.17709/2409-2231-2018-5-3-4 // Исследования и практика в медицине. – 2018. – Т. 5, № 3. – С. 40–52.
83. Роль тромбоцитов в противовирусном иммунитете / Е.В. Слуханчук, В.О. Бицадзе, Д.Х. Хизроева [и др.]. – DOI 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2022.305 // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2022. – Vol. 16 (2). – P. 204–212.
84. Романова Е.Н. Генетические особенности у больных гриппом А / H1N1 / 09, осложненным пневмонией / Е.Н. Романова, А.В. Говорин. – DOI

- 10.18093/0869-0189-2015-25-4-425-432 // Пульмонология. – 2015. – № 25 (4). – С. 425–432.
85. Романова Е.Н. Генетический полиморфизм TNF $\alpha$ , IL-10, eNOS у больных гриппом А/Н1N1, осложненным пневмонией / Е.Н. Романова, А.В. Говорин // Терапевтический архив. – 2013. – № 3. – С. 58–62.
86. Самсыгина Г.А. Пневмонии у детей / Г.А. Самсыгина. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 176 с. – ISBN 978-5-9704-4395-8.
87. Сахарова Д.А. Роль генетического полиморфизма иммунорегуляторных молекул в патогенезе хронического вирусного гепатита С : специальность 14.03.03 «Патологическая физиология» : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Сахарова Дарья Александровна. – Чита, 2019. – 162 с.
88. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021668224 Российская Федерация. Программа для оценки риска инфицирования при контакте с больным гриппом А(Н3N2) / Чупрова Г.А., Емельянова А.Н., Емельянов А.С., Мудров В.А. ; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – № 2021668244 ; дата поступления 29.10.2021 ; дата государственной регистрации в реестре программ для ЭВМ 11.11.2021. – 1 с.
89. Сергеева И.В. Особенности течения гриппа и вирусно-бактериальных пневмоний (по материалам многопрофильных стационаров г. Красноярска) : учебное пособие для курсантов Института последипломного образования, ординаторов по специальностям: 14.01.04 "Внутренние болезни", 14.01.09 - "Инфекционные болезни"/ И.В. Сергеева, И.В. Демко. – Москва: Издательский дом Академии естествознания, 2017. – 178 с. – ISBN 978-8-91327-476-2.
90. Симбирцев А.С. Цитокины в иммунопатогенезе аллергии / А.С. Симбирцев. – DOI 10.32364/2587-6821-2021-5-1-32-37 // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2021. – № 5 (1). – С. 32–37.

91. Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека / А.С. Симбирцев. – Санкт-Петербург: Фолиант, 2018. – 512 с. – ISBN 978-5-93929-283-2.
92. Ситуация по гриппу в мире и эпидемия в России в сезон 2016–2017 годов / Л.С. Карпова, М.Ю. Пелих, К.А. Столяров [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2017. – № 4 (95). – С. 9–24.
93. Смирнов В.С. Биорегуляторы в профилактике и лечении гриппа / В.С. Смирнов, А.А. Селиванов. – Санкт-Петербург: Наука, 1996.– 67 с. – ISBN 5-02-026074-6.
94. Смирнов В.С. Грипп и острые респираторные вирусные инфекции (характеристика, патогенез, профилактика и лечение / В.С. Смирнов, С.В. Петленко. – Санкт-Петербург: Гиппократ, 2019. – 248 с.
95. Смирнова С.В. Риск развития пневмонии и полиморфизм генов TLR2 и TLR4: мета-анализ / С.В. Смирнова, Л.Е. Сальникова // Общая реаниматология. – 2015. – Т. 11, № 6. – С. 6–18.
96. Солпов А.В. Тромбоцитарно-лейкоцитарная адгезия в норме и патологии : специальность 03.03.01 «Физиология» : диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Солпов Алексей Владимирович. – Чита, 2015. – 233 с.
97. Солпова О.А. Участие TCR  $\alpha\beta$ - и  $\gamma\delta$ - Т лимфоцитов, Р-селектина в формировании клеточно-тромбоцитарных коагрегатов / О.А. Солпова, М.А. Аветисян, П.П. Терешков [и др.] // Забайкальский медицинский вестник : электронное научное издание. – 2016. – № 2. – С. 71–79. – URL: <http://zabmedvestnik.ru/arhiv-nomerov/nomer-2-za-2016-god/uchastie-tcr-i-t-limfocitov-p-selektina-v-formirovanii-kletochno-trombocitarnyh-koagregatov>(дата обращения: 16.03.2020).
98. Супрун Е.Н. Динамика иммунного ответа / Е.Н. Супрун // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2014. – № 2 (37). – С. 35-40.

99. 100 лет пандемии «испанки». Эволюция вируса гриппа и развитие гриппозных вакцин. – DOI 10.31631/2073-3046-2018-17-4-68-97 // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2018. – № 17 (4). – С. 68–97.
100. Толстопятова М.А. Роль врожденного иммунитета в развитии инфекционной патологии у новорожденных детей / М.А. Толстопятова, Г.А. Буслаева, И.Г. Козлов // Педиатрия. – 2009. – Т. 89, № 1. – С. 115–120.
101. Трошина Е.А. Вклад центральных регуляторов иммунного ответа в развитие заболеваний щитовидной железы / Е.А. Трошина, Е.С. Сеньюшкина. – DOI 10.14341/probl10304 // Проблемы Эндокринологии. – 2019. – № 65 (6). – С. 458–465.
102. Трошина Е.А. Роль цитокинов в процессах адаптивной интеграции иммунных и нейроэндокринных реакций организма / Е.А. Трошина. – DOI 10.14341/probl12744 // Проблемы эндокринологии. – 2021. – № 67 (2). – Р. 4–9.
103. Унгуряну Т.Н. Краткие рекомендации по описанию, статистическому анализу и представлению данных в научных публикациях / Т.Н. Унгуряну, А.М. Гржибовский // Экология человека. – 2011. – № 5. – С. 55–60.
104. Функциональный полиморфизм генов провоспалительных цитокинов при туберкулезе легких / Е.Г. Чурина, О.И. Уразова, В.В. Новицкий [и др.]. – DOI 10.15789/1563-0625-2019-1-149-156 // Медицинская иммунология. – 2019. – Т. 21, № 1. – С. 149–156.
105. Хаитов Р.М. Иммунология / Р.М. Хаитов, Г.А. Игнатова, И.Г. Сидорович. – Москва: Медицина, 2018. – 432 с.
106. Хаитов Р.М. Иммунология: структура и функции иммунной системы: учебное пособие / Р.М. Хаитов. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2019. – 328 с. – ISBN 978-5-9704-4962-2.
107. Хасанова Р.Р. Заболеваемость и смертность населения России от гриппа в 2008-2019 гг. // Экономическое развитие России. – 2020. – № 4. – С. 88–92. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/zabolevaemost-i-smertnost-naseleniya-rossii-ot-grippa-v-2008-2019-gg>(дата обращения: 25.04.2020).

108. Цитокины в кроветворении, иммуногенезе и воспалении / Е.Б. Жибурт, Н.Б. Серебрянная, И.В. Каткова, В.В. Дьякова // *Терра Медика Нова*. – 1996. – № 3. – С. 11–14.
109. Щелканов М.Ю. Эволюция высоковирулентного вируса гриппа А (H5N1) в экосистемах Северной Евразии (2005-2009 гг.) : специальность 03.02.02 «Вирусология» : диссертация на соискание учёной степени доктора биологических наук / Щелканов Михаил Юрьевич. – Москва, 2010. – 488 с.
110. Эпидемиологические особенности эпидемии гриппа 2016 года в Санкт-Петербурге / Л.С. Карпова, Н.М. Поповцева, Т.П. Столярова [и др.] // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. – 2016. – Т. 15, № 4 (89). – С. 13–21.
111. Эпидемия гриппа в России в сезон 2012-2013 гг. / Л.С. Карпова, А.А. Сомнина, М.Ю. Пелих [и др.] // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. – 2013. – № 4 (71). – С. 7–13.
112. Эпителиальные клетки слизистых оболочек и новые подходы к иммунопрофилактике и иммунотерапии инфекционных заболеваний / Б.В. Пинегин, М.В. Пащенко, В.Б. Пинегин, Р.М. Хаитов. – DOI 10.33029/0206-4952-2020-41-6-486-500 // *Иммунология*. – 2020. – № 41 (6). – С. 486–500.
113. Этиология летальных пневмоний в период развития пандемии, вызванной вирусом гриппа А (H1N1) pdm09 в России / В.В. Лаврищева, Е.И. Бурцева, Ю.Н. Хомяков [и др.] // *Вопросы вирусологии*. – 2013. – Т. 58, № 3. – С. 17–21.
114. Этиология современного гриппа / О.М. Литвинова, Е.А. Смородинцева, Э.Г. Деева [и др.] // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. – 2001. – № 1. – С. 5–9.
115. Ющук Н.Д. Профилактика гриппа и острых респираторных вирусных инфекций с учетом особенности их эпидемического процесса (материалы для подготовки лекции) / Н.Д. Ющук, О.С. Хадарцев. – DOI 10.24411/2305-3496-2018-12004 // *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. – 2018. – Т. 7, № 2 (25). – С. 44–51.
116. A common TLR1 polymorphism is associated with higher parasitaemia in a Southeast Asian population with *Plasmodium falciparum* malaria / W.O. Hahn, S.

Harju-Baker, L.K. Erdman [et al.]. – DOI10.1186/s12936-015-1071-y // *Malar. J.* – 2016. – Vol. 15, № 1. – P. e:12.

117. 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, F.M. Pan, L.Z. Zhang [et al.] // *Infection.* – 2011. – Vol. 39 (1). – P. 21–27.

118. A novel polymorphism in the toll-like receptor 2 gene and its potential association with staphylococcal infection / E. Lorenz, J.P. Mira, K.L. Cornish [et al.]. – DOI 10.1128/IAI.68.11.6398-6401.2000 // *Infect Immun.* – 2000. – Vol. 68 (11). – P. 6398–6401.

119. A review of the value of quadrivalent influenza vaccines and their potential contribution to influenza control / R. Ray, G. Dos Santos, P.O. Buck [et al.] // *Human vaccines and immunotherapeutics.* – 2017. – Vol. 13, № 7. – P. 1640–1652.

120. A role for Toll-like receptor 3 variants in host susceptibility to enteroviral myocarditis and dilated cardiomyopathy / C. Gorbea, K.A. Makar, M. Pauschinger [et al.]. – DOI 10.1074/jbc.M109.047464 // *J Biol Chem.* – 2010. – Vol. 285 (30). – P. 23208–23223.

121. Activated platelets signal chemokine synthesis by human monocytes / A.S. Weyrich, M.R. Elstad, R.P. McEver [et al.]. – DOI 10.1172/JCI118575 // *J Clin Invest.* – 1996. – Vol. 97. – P. 1525–1534.

122. Age and Age-Related Diseases: Role of Inflammation Triggers and Cytokines / I.M. Rea, D.S. Gibson, V. McGilligan [et al.]. – DOI 10.3389/fimmu.2018.00586 // *Front Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 586.

123. Allen J.D. H3N2 influenza viruses in humans: Viral mechanisms, evolution, and evaluation / J.D. Allen, T.M. Ross. – DOI 10.1080/21645515.2018.1462639 // *Hum Vaccin Immunother.* – 2018. – Vol. 14 (8). – P. 1840–1847.

124. Andreasen V. Pease (1987): The evolution ary epidemiology of influenza A / V. Andreasen, J.R. Gog. – DOI 10.1016/j.tpb.2019.12.006 // *Theor Popul Biol.* – 2020. – Vol. 133. – P. 29–32.



125. Arg753Gln polymorphism of the human toll-likereceptor-2 gene in children with recurrent febrile infections / N. Kutukculer, B.S. Yeniay, G. Aksu, A. Berdeli. – DOI 10.1007/s10528-007-9091-0 // *Biochem. Gen.* – 2007. – Vol. 45, № 7-8. – P. 507–514.
126. Association between single nucleotide polymorphisms in TLR4, TLR2, TLR9, VDR, NOS2 and CCL5 genes with acute viral bronchiolitis / A.E. Alvarez, F.A.L. Marson, C.S. Bertuzzo [et al.]. – DOI 10.1016/j.gene.2017.12.022 // *Gene.* – 2018. – Vol. 645. – P. 7–17.
127. Association between the -159C/T polymorphism in the promoter region of the CD14 gene and sepsis: a meta-analysis / Q. Wu, X. Xu, J. Ren [et al.]. – DOI 10.1186/s12871-017-0303-9 // *BMC Anesthesiol.* – 2017. – Vol. 17, № 1. – P. 11.
128. Association between CD14 Gene Polymorphisms and Cancer Risk: A Meta-Analysis / J. Wang, X. Guo, S. Yu [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0100122 // *PLoS ONE.* – 2014. – Vol. 9 (6). – P. e100122.
129. Association of -330 interleukin-2 gene polymorphism with oral cancer / P.K. Singh, V. Kumar, M.K. Ahmad [et al.]. – DOI 10.4103/ijmr.IJMR\_1949\_15 // *Indian J Med Res.* – 2017. – Vol. 146 (6). – P. 730–737.
130. Association of IL-2 polymorphisms and IL-2 serum levels with susceptibility to HBV-related hepatocellular carcinoma in a Chinese Zhuang population / Q. Peng, H. Li, X. Lao [et al.]. – DOI 10.1016/j.meegid.2014.08.021 // *Infect Genet Evol.* – 2014. – Vol. 27. – P. 375–381.
131. Association of Toll-like receptor 4 polymorphism with hepatitis E virusinfected Indian patients / R.P. Arya, N. Mishra, K. Biswas [et al.]. – DOI 10.1111/jvh.12980 // *J. Viral. Hepat.* – 2018. – № 12. – P. 1617–1623.
132. Association of IL-4 Polymorphisms with Allergic Rhinitis in Jordanian Population / B. Moh'd Al-Rawashdeh, A. SadaAlhanjori, E. Ali, M. Zihlif. – DOI 10.3390/medicina56040179 // *Medicina (Kaunas).* – 2020. – Vol. 56 (4). – P. 179.
133. Associations of IL-2 and IL-4 Expression and Polymorphisms With the Risks of *Mycoplasma pneumoniae* Infection and Asthma in Children / R.S. Wang, H.X. Jin, S.Q.

- Shang [et al.]. – DOI 10.1016/j.arbres.2014.11.004 // Arch Bronconeumol. – 2015. – Vol. 51 (11). – P. 571–578.
134. Belz G.T. Life in the balance: killer T-cell self-control fends off lethal influenza? / G.T. Belz. – DOI 10.1038/icb.2009.22 // Immunol Cell Biol. – 2009. – Vol. 87 (5). – P. 364–365.
135. Blockade of TLR3 protects mice from lethal radiation-induced gastrointestinal syndrome / N. Takemura, T. Kawasaki, J. Kunisawa [et al.] // Nat Commun. – 2014. – Vol. 5. – P. 3492.
136. Boehlen F. Platelet chemokines and their receptors: what is their relevance to platelet storage and transfusion practice? / F. Boehlen, K.J. Clemetson // Transfus Med. – 2001. – Vol. 11. – P. 403–417.
137. Cancer and Thrombosis: The Platelet Perspective / C.K.S. Meikle, C.A. Kelly, P. Garg [et al.]. – DOI 10.3389/fcell.2016.00147 // Front Cell Dev Biol. – 2017. – Vol. 4. – P. 147.
138. CD14: Biology and role in the pathogenesis of disease / Z. Wu, Z. Zhang, Z. Lei, P. Lei. – DOI 10.1016/j.cytogfr.2019.06.003 // Cytokine Growth Factor Rev. – 2019. – Vol. 48. – P. 24–31.
139. Clinical and epidemiological characteristics of 245 cases of influenza A (H3N2) / Q.S. Yan, J.S. Zhong, H. Zhou, J.Y. Zhou. – DOI 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2019.07.010 // Zhonghua Jie He He Hu Xi ZaZhi. – 2019. – Vol. 42 (7). – P. 510–514.
140. Clinical Effectiveness and Safety of Antivirals for Influenza in Pregnancy / E.J. Chow, R.H. Beigi, L.E. Riley, T.M. Uyeki. – DOI 10.1093/ofid/ofab138 // Open Forum Infect Dis. – 2021. – Vol. 8 (6). – ofab138.
141. Co-circulation and persistence of multiple A/H3N2 influenza variants in China / W. Shi, C. Ke, S. Fang [et al.]. – DOI 10.1080/22221751.2019.1648183 // Emerg Microbes Infect. – 2019. – Vol. 8 (1). – P. 1157–1167.

142. Cutting Edge: influenza A virus activates TLR3-dependent inflammatory and RIG-I-dependent antiviral responses in human lung epithelial cells / R. Le Goffic, J. Pothlichet, D. Vitour [et al.] // *J Immunol.* – 2007. – Vol. 178. – P. 3368–3372.
143. Deposition of platelet RANTES triggering monocyte recruitment requires P-selectin and is involved in neointima formation after arterial injury / A. Schober, D. Manka, P. Von Hundelshausen [et al.]. – DOI 10.1161/01.cir.0000028590.02477.6f // *Circulation.* – 2002. – Vol. 106. – P. 1523–1529.
144. Dhupkar P. Interleukin-2: Old and New Approaches to Enhance Immune-Therapeutic Efficacy / P. Dhupkar, N. Gordon. – DOI 10.1007/978-3-319-53156-4\_2 // *AdvExpMedBiol.* – 2017. – Vol. 995. – P. 33–51.
145. Differential regulation of matrix metalloproteinase-9 by monocytes adherent to collagen and platelets / S.W. Galt, S. Lindemann, D. Medd [et al.]. – DOI 10.1161/hh1801.096339 // *Circ Res.* – 2001. – Vol. 89. – P. 509–516.
146. Dupilumab improves the molecular signature in skin of patients with moderate-to-severe atopic dermatitis / J.D. Hamilton, M. Suárez-Fariñas, N. Dhingra [et al.] // *J Allergy Clin Immunol.* – 2014. – Vol. 134 (6). – P. 1293–1300.
147. Effect of IL-12B, IL-2, TGF- $\beta$ 1, and IL-4 polymorphism and expression on hepatitis B progression / R. Saxena, Y.K. Chawla, I. Verma, J. Kaur. – DOI 10.1089/jir.2013.0043 // *J Interferon Cytokine Res.* – 2014. – Vol. 34 (2). – P. 117–128.
148. Elucidation of Bacterial Pneumonia-Causing Pathogens in Patients with Respiratory Viral Infection / H.S. Jung, B.J. Kang, S.W. Ra [et al.]. – DOI 10.4046/trd.2017.0044 // *TubercRespir Dis (Seoul).* – 2017. – Vol. 80 (4). – P. 358–367.
149. Epidemiological and Immunological Features of Influenza Viruses in Hospitalized Children with Influenza Illness in Hangzhou / W. Li, L.F. Liu, J.L. Xu, S.Q. Shang. – DOI 10.1080/15513815.2019.1636429 // *Fetal Pediatr Pathol.* – 2020. – Vol. 39 (1). – P. 21–28.

150. Epidemiology of respiratory infections among adults in Qatar (2012-2017) / H.E. Al-Romaihi, M.K. Smatti, N. Ganesan [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.021809 // PLoSOne. – 2019. – Vol. 14 (6). – P. e0218097.
151. Epidemiology, Evolution, and Pathogenesis of H7N9 Influenza Viruses in Five Epidemic Waves since 2013 in China / S. Su, M. Gu, D. Liu [et al.]. – DOI 10.1016/j.tim.2017.06.008 // Trends Microbiol. – 2017. – Vol. 25 (9). – P. 713–728.
152. Expression levels and genetic polymorphisms of interleukin-2 and interleukin-10 as biomarkers of Graves' disease / C. Liang, W. Du, Q. Dong [et al.]. – DOI 10.3892/etm.2015.2180 // Exp Ther Med. – 2015. – Vol. 9 (3). – P. 925–930.
153. Gavigan P. Influenza: annual seasonal severity / P. Gavigan, J.A. McCullers. – DOI 10.1097/MOP.0000000000000712 // Curr Opin Pediatr. – 2019. – Vol. 31 (1). – P. 112–118.
154. Genetic diversity of influenza A viruses circulating in Bulgaria during the 2018-2019 winter season / N. Korsun, R. Daniels, S. Angelova [et al.]. – DOI 10.1099/jmm.0.001198 // J Med Microbiol. – 2020. – Vol. 69 (7). – P. 986–998.
155. Genetic polymorphism ARG753GLN of TLR-2, LEU412PHE of TLR-3, ASP299GLY of TLR-4 in patients with influenza and influenza-associated pneumonia / N.O. Pryimenko, T.M. Kotelevska, T.I. Koval [et al.] // Wiad Lek. – 2019. – Vol. 72 (12 cz 1). – P. 2324–2328.
156. Genetic polymorphism in CD14 gene, a co-receptor of TLR4 associated with non-alcoholic fatty liver disease / S. Kapil, A. Duseja, B.K. Sharma [et al.]. – DOI 10.3748/wjg.v22.i42.9346 // World J Gastroenterol. – 2016. – Vol. 22 (42). – P. 9346–9355.
157. Genetic Polymorphisms in Cytokine Genes in Colombian Patients with Ocular Toxoplasmosis / C.A. Naranjo-Galvis, A. de-la-Torre, L.E. Mantilla-Muriel [et al.]. – DOI 10.1128/IAI.00597-17 // Infect Immun. – 2018. – Vol. 86 (4). – P. e00597–17.
158. Genetic variations in toll-like receptors 7 and 8 modulate natural hepatitis C outcomes and liver disease progression / F.Z. Fakhir, M. Lkhider, W. Badre [et al.]. – DOI 10.1111/liv.13533 // Liver Int. – 2018. – Vol. 38 (3). – P. 432–442.

159. Global mortality associated with seasonal influenza epidemics: New burden estimates and predictors from the GLaMOR Project / J. Paget, P. Spreeuwenberg, V. Charu [et al.]. – DOI 10.7189/jogh.09.020421 // *J Glob Health*. – 2019. – Vol. 9 (2). – P. 020421.
160. Goldsby R.A. *Immunology* / R.A. Goldsby, T.K. Kindt, B.A. Osborne et al. – 5th Edition. – New York: W.H. Freeman and Company, 2003. – 350 p.
161. Goldschmidt Toll-like receptor 3 is involved in airway epithelial cell response to nontypeable *Haemophilus influenzae* / F. Teng, V. Slavik, K.E. Duffy [et al.] // *Cell Immunol*. – 2010. – Vol. 260. – P. 98–104.
162. Gould B. *Pathophysiology for the Health Profession* / B. Gould. – 3th Ed. Elsevier. – 2006. – P. 46–53.
163. Ho I.C. Regulation of IL-4 Expression in Immunity and Diseases / I.C. Ho, S.C. Miaw. – DOI 10.1007/978-94-024-0921-5\_3 // *Adv Exp Med Biol*. – 2016. – Vol. 941. – P. 31–77.
164. Hui D.S. Editorial commentary: Host and viral factors in emergent influenza virus infections / D.S. Hui, F.G. Hayden. – DOI 10.1093/cid/ciu054 // *Clin Infect Dis*. – 2014. – Vol. 58. – P. 1104–1106.
165. Human endothelial cells synthesize ENA-78: relationship to IL-8 and to signaling of PMN adhesion / T. Imaizumi, K.H. Albertine, D.L. Jicha [et al.]. – DOI 10.1165/ajrcmb.17.2.2818 // *Am J Respir Cell Mol Biol*. – 1997. – Vol. 17. – P. 181–192.
166. IFITM3, TLR3, and CD55 Gene SNPs and Cumulative Genetic Risks for Severe Outcomes in Chinese Patients With H7N9/H1N1pdm09 Influenza / N. Lee, B. Cao, C. Ke [et al.]. – DOI 10.1093/infdis/jix235 // *J Infect Dis*. – 2017. – Vol. 216 (1). – P. 97–104.
167. IL-2 gene C/T polymorphism is associated with prostate cancer / H.C. Wu, C.H. Chang, L. Wan [et al.]. – DOI 10.1002/jcla.20149 // *J Clin Lab Anal*. – 2006. – Vol. 20 (6). – P. 245–249.

168. IL2RA genetic variants reduce IL-2-dependent responses and aggravate human cutaneous leishmaniasis / P.R. Oliveira, H. Dessein, A. Romano [et al.]. – DOI 10.4049/jimmunol.1402047 // *J Immunol.* – 2015. – Vol. 194 (6). – P. 2664–2672.
169. Immune-mediated approaches against COVID-19 / H.F. Florindo, R. Kleiner, D. Vaskovich-Koubi [et al.]. – DOI 10.1038/s41565-020-0732-3 // *Nat. Nanotechnol.* – 2020. – Vol. 15 (8). – P. 630–645.
170. Infliximab in the treatment of moderate to severe atopic dermatitis / A. Jacobi, C. Antoni, B. Manger [et al.] // *J Am Acad Dermatol.* – 2005. – Vol. 52 (3 pt 1). – P. 522–526.
171. Influenza B virus infection complicated by life-threatening pericarditis: a unique case-report and literature review / S. Spoto, E. Valeriani, L. Locorriere [et al.]. – DOI 10.1186/s12879-018-3606-7 // *BMC Infect Dis.* – 2019. – Vol. 19 (1). – P. 40.
172. Influenza epidemiology among hospitalized children in Stockholm / R. Bennet, J. Hamrin, B. Zweygberg Wirgart [et al.] // *Sweden. Vaccine.* – 2016. – Vol. 34. – P. 3298–3302.
173. Influenza in the Asia-Pacific region: findings and recommendations from the global influenza initiative / B.J. Cowling, S. Caini, T. Chotpitayasunondh [et al.]. – DOI 10.1016/j.vaccine.2016.12.064 // *Vaccine.* – 2017. – Vol. 35 (6). – P. 856–864.
174. Influenza-associated excess respiratory mortality in China, 2010-15: a population-based study / L. Li, Y. Liu, P. Wu [et al.]. – DOI 10.1016/S2468-2667(19)30163-X // *Lancet Public Health.* – 2019. – Vol. 4(9). – P. e473-e481.
175. Influenza-associated mortality in Yancheng, China, 2011-15 / H. Zhang, Q. Xiong, P. Wu [et al.]. – DOI 10.1111/irv.12487 // *Influenza Other Respir Viruses.* – 2018. – Vol. 12 (1). – P. 98–103.
176. Intensive cytokine induction in pandemic H1N1 influenza virus infection accompanied by robust production of IL-10 and IL-6 / X. Yu, X. Zhang, B. Zhao [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0028680 // *PLoS One.* – 2011. – Vol. 6 (12). – P. e28680.

177. Interleukin-10 Family Cytokines Immunobiology and Structure / H. Wei, B. Li, A. Sun, F. Guo. – DOI 10.1007/978-981-13-9367-9\_4 // *Adv Exp Med Biol.* – 2019. – Vol. 1172. – P. 79–96.
178. Interleukin-4 and Interleukin-10 Gene Polymorphisms in Patients with Inflammatory Bowel Disease / N. Ebrahimi Daryani, A. Saghazadeh, S. Moossavi [et al.]. – DOI 10.1080/08820139.2017.1360343 // *ImmunolInvest.* – 2017. – Vol. 46 (7). – P. 714-729.
179. Interleukin-4 but not interleukin-10 protects against spontaneous and recurrent Type 1 diabetes by activated CD1d-restricted invariant natural killer T-cells / Q. Mi, D. Ly, P. Zucker [et al.]. – DOI 10.2337/diabetes.53.5.1303 // *Diabetes.* – 2004. – Vol.53 (5). – P. 1303–1310.
180. Interleukin-4 causes delayed virus clearance in influenza virus-infected mice / T.M. Moran, H. Isobe, A. Fernandez-Sesma, J.L. Schulman. – DOI 10.1128/JVI.70.8.5230-5235.1996 // *J Virol.* – 1996. – Vol. 70 (8). – P. 5230–5235.
181. Interleukin-4 protects mice against lethal influenza and *Streptococcus pneumoniae* co-infected pneumonia / Y. Peng, X. Wang, H. Wang [et al.]. – DOI 10.1111/cei.13628 // *ClinExpImmunol.* – 2021. – Vol. 205 (3). – P. 379–390.
182. Jester B.J. Fifty Years of Influenza A(H3N2) Following the Pandemic of 1968 / B.J. Jester, T.M. Uyeki, D.B. Jernigan. – DOI 10.2105/AJPH.2019.305557 // *American Journal of Public Health.* – 2020. – Vol. 110, № 5. – P. 669–676.
183. Kalil A.C. Influenza virus-related critical illness: pathophysiology and epidemiology / A.C. Kalil, P.G. Thomas. – DOI 10.1186/s13054-019-2539-x // *Crit Care.* – 2019. – Vol. 23 (1). – P. 258.
184. Khanmohammadi S. Role of Toll-like receptors in the pathogenesis of COVID-19 / S. Khanmohammadi, N. Rezaei. – DOI 10.1002/jmv.26826 // *J. Med. Virol.* – 2021. – Vol. 93, № 5. – P. 2735–2739.
185. Koj A. From the obscure and mysterious acute phase response to toll-like receptors and the cytokine network / A. Koj. – DOI 10.2174/157339508786447922 // *Current Immunology Reviews.* – 2008. – № 4. – P. 199–214.

186. Kumar R. The Role of IL-10 in Malaria: A Double Edged Sword / R. Kumar, S. Ng, C. Engwerda. – DOI 10.3389/fimmu.2019.00229 // *Front Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 229.
187. Kuziel W.A. Interleukin-2 and the IL-2 receptor: new insights into structure and function / W.A. Kuziel, W.C. Greene. – DOI 10.1111/1523-1747.ep12875017 // *J Invest Dermatol.* – 1990. – Vol. 94, 6 suppl. – P. 27S–32S.
188. Lester S.N. Toll-like receptors in antiviral innate immunity / S.N. Lester, K. Li. – DOI 10.1016/j.jmb.2013.11.024 // *J. Mol. Biol.* – 2014. – Vol. 426, № 6. – P. 1246–1264.
189. Lin J.X. The Common Cytokine Receptor  $\gamma$  Chain Family of Cytokines / J.X. Lin, W.J. Leonard. – DOI 10.1101/csh.perspect.a028449 // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* – 2018. – Vol. 10 (9). – P. a028449.
190. Literature review of the epidemiology of influenza B disease in 15 countries in the Asia-Pacific region / L. Jennings, Q.S. Huang, I. Barr [et al.]. – DOI 10.1111/irv.12522 // *Influenza Other Respir Viruses.* – 2018. – Vol. 12 (3). – P. 383–411.
191. Lotfi M. SARS-CoV-2: A comprehensive review from pathogenicity of the virus to clinical consequences / M. Lotfi, N. Rezaei. – DOI 10.1002/jmv.26123 // *J. Med. Virol.* – 2020. – Vol. 92 (10). – P. 1864–1874.
192. Lousa D. Molecular mechanisms of the influenza fusion peptide: insights from experimental and simulation studie / D. Lousa, C.M. Soares. – DOI 10.1002/2211-5463.13323 // *FEBS Open Bio.* – 2021. – Vol. 11 (12). – P. 3253–3261.
193. Maglione P.J. Toll-like receptor signaling in primary immune deficiencies / P.J. Maglione, N. Simchoni, C. Cunningham-Rundles. – DOI 10.1111/nyas.12763 // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2015. – Vol. 1356. – P. 1–21.
194. Mauad T. Lung pathology in fatal novel human influenza A(H1N1) infection / T. Mauad, L.A Hajjar, G.D Callegari [et al.]. – DOI 10.1164/rccm.200909-1420OC // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* – 2010. – Vol. 181, № 1. – P. 72–79.



195. McCance K. Pathophysiology. The Biologic Basis for Disease in Adults and Children / K. McCance, S. Huenter. – 5th Ed. Elsevier, 2006. – P.175–248.
196. McEver R.P. Adhesive interactions of leukocytes, platelets, and the vessel wall during hemostasis and inflammation // *Thromb Haemost.* – 2001. – Vol. 86. – P. 746–756.
197. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity / R. Medzhitov. – DOI 10.1038/35100529 // *Nature Rev. Immunol.* – 2001. – Vol. 1. – P. 135–145.
198. Middleton E. Platelets in infectious disease / E. Middleton, M.T. Rondina. – DOI 10.1182/asheducation-2016.1.256 // *Hematology.* – 2016. – Vol. 2016 (1). – P. 256–261.
199. Modeling the receptor pharmacology, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of NKTR-214, a kinetically-controlled interleukin-2 (IL2) receptor agonist for cancer immunotherapy / D. Charych, S. Khalili, V. Dixit [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0179431 // *PLoS One.* – 2017. – Vol. 12 (7). – P. e0179431.
200. Molteni M. The role of toll-like receptor 4 in infectious and noninfectious inflammation / M. Molteni, S. Gemma, C. Rossetti. – DOI 10.1155/2016/6978936 // *Mediators of Inflammation.* – 2016. – P. 6978936.
201. Negative Regulation of Cytokine Signaling in Immunity / A. Yoshimura, M. Ito, S. Chikuma [et al.]. – DOI 10.1101/csh.perspect.a028571 // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* – 2018. – Vol. 10 (7). – P. a028571.
202. Ocular Toxoplasmosis. C.A. Naranjo-Galvis [et al.] // *Infect Immun.* – 2018. – Vol.86, №4.
203. Pang I.K. Control of antiviral immunity by pattern recognition and the microbiome / I.K. Pang, A. Iwasaki. – DOI 10.1111/j.1600-065X.2011.01073.x // *Immunol. Rev.* – 2012. – Vol. 245. – P. 209–226.
204. Paul W. Interleukin-4: A prototypic immunoregulatory lymphokine // *Blood.* – 1991. – Vol. 77 (9). – P. 1859–1870.

205. Pérol L. New Molecular and Cellular Mechanisms of Tolerance: Tolerogenic Actions of IL-2 / L. Perol, E. Piaggio. – DOI 10.1007/978-1-4939-3139-2\_2 // *Methods Mol Biol.* – 2016. – Vol. 1371. – P. 11–28.
206. Petrova V.N. The evolution of seasonal influenza viruses / V.N. Petrova, C.A. Russell. – DOI 10.1038/nrmicro.2017.118 // *Nat Rev Microbiol.* – 2018. – Vol. 16 (1). – P. 47–60.
207. Platelets enhance CD4+ lymphocyte adhesion to extracellular matrix under flow conditions: role of platelet aggregation, integrins, and non-integrin receptors / A. Solpov, Y. Vitkovsky, B. Shenkman [et al.] // *Thrombosis and Haemostasis.* – 2006. – Vol. 95 (5). – P. 815–821.
208. Pneumonia and respiratory failure from swine-origin influenza A (H1N1) in Mexico / R. Perez-Padilla, D. de la Rosa-Zamboni, S. Ponce de Leon [et al.]. – DOI 10.1056/NEJMoa0904252 // *N Engl J Med.* – 2009. – Vol. 361 (7). – P. 680–689.
209. Polymorphisms in Toll-like receptor 3 confer natural resistance to human herpes simplex virus type 2 infection / A. Svensson, P. Tunbäck, I. Nordström, L. Padyukov [et al.]. – DOI 10.1099/vir.0.042572-0 // *J. Gen. Virol.* – 2012. – Vol. 93, pt 8. – P. 1717–1724.
210. Predominance of influenza B/Yamagata lineage viruses in Bulgaria during the 2017/2018 season / N.S. Korsun, S.G. Angelova, I.T. Trifonova [et al.]. – DOI 10.1017/S0950268818003588 // *Epidemiol Infect.* – 2019. – Vol. 147. – P. e76.
211. Predominance of Th2 cytokines, CXC chemokines and innate immunity mediators at the mucosal level during severe respiratory syncytial virus infection in children / J.F. Bermejo-Martin, M.C. Garcia-Arevalo, R.O. De Lejarazu [et al.]. – DOI 10.1684/ecn.2007.0096 // *Eur Cytokine Netw.* – 2007. – Vol. 18 (3). – P. 162–167.
212. Prevented damage during vaccination against influenza with 3- and 4-valent vaccines / S.M. Harit, A.V. Rudakova, A.N. Uskov [et al.] // *Zhurnal infektologii.* – 2017. – Vol. 2. – P. 17–22.

213. Rajae A. Pathogen- and Danger-Associated Molecular Patterns and the Cytokine Response in Sepsis / A. Rajae, R. Barnett, W.G. Cheadle. – DOI 10.1089/sur.2017.264 // *Surg Infect (Larchmt)*. – 2018. – Vol. 19 (2). – P. 107–116.
214. Reed G.L. Platelet secretion / G.L. Reed // *Platelets* / A.D. Michelson. – San Diego : Elsevier Science, 2002. – P. 181– 195.
215. Relationship between Single Nucleotide Polymorphisms of IL2RA, IL-10 Gene and Epstein-Barr Virus Associated Hemophagocytic Lymphohistiocytosis in children / L. Jiang, X.J. Wu, J.B. Huang [et al.]. – DOI 10.19746/j.cnki.issn.1009-2137.2020.02.048 // *Zhongguo Shi Yan Xue Ye XueZaZhi*. – 2020. – Vol. 28 (2). – P. 646–651.
216. Relevance of mutations in the TLR4 receptor in patients with Gram-negative septic shock / E. Lorenz, J.P. Mira, K.L. Frees, D.A. Schwartz. – DOI 10.1001/archinte.162.9.1028 // *Arch. Int. Med.* – 2002. – Vol. 162, № 9. – P. 1028–1032.
217. Rendu F. The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions / F. Rendu, B. Brohard-Bohn // *Platelets*. – 2001. – Vol. 12. – P. 261–273.
218. Saghazadeh A. Implications of Toll-like receptors in Ebola infection / A. Saghazadeh, N. Rezaei. – DOI 10.1080/14728222.2017.1299128 // *Expert Opin. Ther. Targets*. – 2017. – Vol. 21 (4). – P. 415–425.
219. Single nucleotide polymorphisms of IL-2, but not IL-12 and IFN- $\gamma$ , are associated with increased susceptibility to chronic spontaneous urticarial / M. Movahedi, M. Tavakol, F. Rahmani [et al.]. – DOI 10.1016/j.aller.2016.10.009 // *Allergol Immunopathol (Madr)*. – 2017. – Vol. 45 (4). – P. 333–338.
220. Soluble CD14 Subtype in Peripheral Blood is a Biomarker for Early Diagnosis of Sepsis / W. Zhou, H. Rao, Q. Ding [et al.]. – DOI 10.1093/labmed/lmaa015 // *LabMed*. – 2020. – Vol. 51 (6). – P. 614–619.
221. Spatial, Temporal and Genetic Dynamics Characteristics of Influenza B Viruses in China, 1973-2018 / X. Li, K.K.Y. Chan, B. Xu [et al.]. – DOI 10.1007/s12250-019-00161-w // *Virol Sin*. – 2020. – Vol. 35 (1). – P. 14–20.

222. Spolski R. Biology and regulation of IL-2: from molecular mechanisms to human therapy / R. Spolski, P. Li, W.J. Leonard. – DOI 10.1038/s41577-018-0046-y // *NatRevImmunol.* – 2018. – Vol. 18 (10). – P. 648–659.
223. Steinke J. Th2 cytokines and asthma-interleukin-4: Its role in the pathogenesis of asthma, and targeting it for asthma treatment with interleukin-4 receptor antagonists / J. Steinke, L. Borish. – DOI 10.1186/rr40 // *Respir Res.* – 2001. – Vol. 2 (2). – P. 66–70.
224. Structure and receptor binding preferences of recombinant human A(H3N2) virus hemagglutinins / H. Yang, P.J. Carney, J.C. Chang [et al.]. – DOI 10.1016/j.virol.2014.12.024 // *Virology.* – 2015. – Vol. 477. – P. 18–31.
225. Sulfatide regulates caspase-3-independent apoptosis of influenza A virus through viral PB1-F2 protein / T. Takahashi, M. Takaguchi, T. Kawakami, T. Suzuki. – DOI 10.1371/journal.pone.0061092 // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8 (4). – P. e61092.
226. Tang L. Association of IL-4 promoter polymorphisms with asthma: a meta-analysis / L. Tang, H.G. Lin, B.F. Chen. – DOI 10.4238/2014.February.28.11 // *GenetMolRes.* – 2014. – Vol. 13 (1). – P. 1383–1394.
227. Targeting IL-10 Family Cytokines for the Treatment of Human Diseases / X. Wang, K. Wong, W. Ouyang, S. Rutz. – DOI 10.1101/cshperspect.a028548 // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* – 2019. – Vol. 11 (2). – P. a028548.
228. Th1 and Th17 hypercytokinemia as early host response signature in severe pandemic influenza / J.F. Bermejo-Martin, R.O. de Lejarazu, T. Pumarola [et al.]. – DOI 10.1186/cc8208 // *Crit Care.* – 2009. – Vol. 13, № 6. – P. 201.
229. The disease burden of influenza beyond respiratory illness / A.E. Macias, J.E. McElhaney, S.S. Chaves [et al.]. – DOI 10.1016/j.vaccine.2020.09.048 // *Vaccine.* – 2021. – Vol. 39, suppl 1. – A6-A14.
230. The dorsoventral regulatory gene *cas-settespatzle/toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults / B. Lemaire, E. Nicolas, L. Michaut [et al.] // *Cell.* – 1996. – Vol. 86. – P. 973–983.

231. The glycoprotein Ib–IX–V complex in platelet adhesion and signaling / R.K. Andrews, Y. Shen, E.E. Gardiner [et al.] // *Thromb Haemost.* – 1999. – Vol. 82. – P. 357–364.
232. The hidden burden of influenza: A review of the extra-pulmonary complications of influenza infection / S.A. Sellers, R.S. Hagan, F.G. Hayden, W.A. Fischer. – DOI 10.1111/irv.12470 // *Influenza Other Respir Viruses.* – 2017. – Vol. 11 (5). – P. 372–393.
233. The IL-4 rs2070874 polymorphism may be associated with the severity of recurrent viral-induced wheeze / F. Amat, M. Louha, M. Benet [et al.]. – DOI 10.1002/ppul.23834 // *PediatrPulmonol.* – 2017. – Vol. 52 (11). – P. 1435–1442.
234. The impact of virus infections on pneumonia mortality is complex in adults: a prospective multicentre observational study / N. Katsurada, M. Suzuki, M. Aoshima [et al.]. – DOI 10.1186/s12879-017-2858-y // *BMC Infect Dis.* – 2017. – Vol. 17 (1). – 755 p.
235. The Inflammasome in Times of COVID-19 / J.C. de Rivero Vaccari, W.D. Dietrich, R.W. Keane, de Rivero Vaccari J.P. *Front.* – DOI 10.3389/fimmu.2020.583373 // *Immunol.* – 2020. – Vol. 8 (11). – P. 583373.
236. The presence of interleukin 4 during invitro priming determines the lymphokine-producing potential of CD4+ T cells from T cell receptor transgenic mice/R. Seder, W. Paul, M. Davis, B. Fazekas de St Groth. – DOI 10.1084/jem.176.4.1091// *J Exp Med.* – 1992. – Vol. 176 (4). – P. 1091–1098.
237. Thompson W.W. Influenza – associated hospitalizations in the United States / W.W. Thompson, D.K. Shay, E. Weintraub [et al.]. – DOI 10.1001/jama.292.11.1333 // *JAMA.* – 2004. – Vol. 292, № 11. – P. 1333–1340.
238. TLR activation of Langerhans cell-like dendritic cells triggers an antiviral immune response / C.N. Renn, D.J. Sanchez, M.T. Ochoa [et al.]. – DOI 10.4049/jimmunol.177.1.298 // *J Immunol.* – 2006. – Vol. 177 (1). – P. 298–305.

239. TLR3 and TLR4 SNP variants in the liver disease resulting from hepatitis B virus and hepatitis C virus infection / I. Sghaier, S. Zidi, L. Mouelhi [et al.]. – DOI 10.1080/09674845.2018.1547179 // *Br J BiomedSci.* – 2019. – Vol. 76 (1). – P. 35–41.
240. Toll-like receptor 3 gene polymorphisms and severity of pandemic A/H1N1/2009 influenza in otherwise healthy children / S. Esposito, C.G. Molteni, S. Giliani [et al.]. – DOI 10.1186/1743-422X-9-270 // *Viol J.* – 2012. – Vol. 9. – P. 270.
241. Toll-Like Receptor 3 Signaling via TRIF Contributes to a Protective Innate Immune Response to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Infection / A. L. Totura, A. Whitmore, S. Agnihothram [et al.]. – DOI 10.1128/mBio.00638-15 // *mBio.* – 2015. – Vol. 6 (3). – P. e00638-15.
242. Toll-like receptor signaling in primary immune deficiencies / P.J. Maglione, N. Simchoni, C. Cunningham-Rundles. – DOI 10.1111/nyas.12763 // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2015. – Vol. 1356. – P. 1–21.
243. Toll-like receptors: Significance, ligands, signaling pathways, and functions in mammals / M.K. Vidya, V.G. Kumar, V. Sejian [et al.]. – DOI 10.1080/08830185.2017.1380200 // *International reviews of immunology.* – 2018. – Vol. 37 (1). – P. 20–36.
244. Treatment of recalcitrant atopic dermatitis with omalizumab / J.E. Lane, J.M. Cheyney, T.N. Lane [et al.] // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2006. – Vol. 54 (1). – P. 68–72.
245. Uyeki T.M. Influenza / T.M. Uyeki. – DOI 10.7326/AITC201709050 // *Ann Intern Med.* – 2017. – Vol. 167 (5). – ITC33-ITC48.
246. Valkenburg, et al. Highly pathogenic avian influenza A H5N1 and pandemic H1N1 virus infections have different phenotypes in Toll-like receptor 3 knockout mice / Y.H. Leung, J.M. Nicholls, C.K. Ho [et al.] // *J Gen Virol.* – 2014. – Vol. 95. – P. 1870–1879.
247. Varicella zoster virus differentially alters morphology and suppresses proinflammatory cytokines in primary human spinal cord and hippocampal astrocytes / A.N. Bubak, C.N. Como, A.M. Blackmon [et al.]. – DOI 10.1186/s12974-018-1360-9 // *J Neuroinflammation.* – 2018. – Vol. 15 (1). – P. 318.

248. Wong L.S. Inflammatory and Noninflammatory itch: implications in pathophysiology- directed treatments / L.S. Wong, T. Wu, C.H. Lee. – DOI 10.3390/ijms18071485 // *Int J. Mol Sci.* – 2017. – № 18 (7). – pii: e1485.
249. Yao C. Prostaglandin-cytokine crosstalk in chronic inflammation / C. Yao, S. Narumiya. – DOI 10.1111/bph.14530 // *Br J Pharmacol.* – 2019. – Vol. 176 (3). – P. 337–354.
250. Zamorano J. Interleukin-4: A multifunctional cytokine / J. Zamorano, M. Rivas, G. Pérez // *Inmunología.* – 2003. – Vol. 22 (2). – P. 215–224.
251. Zheng M. TLR2 senses the SARS-CoV-2 envelope protein to produce inflammatory cytokines / M. Zheng, R. Karki, E.P. Williams. – DOI 10.1038/s41590-021-00937-x // *Nat. Immunol.* – 2021. – Vol. 22, № 7. – P. 829–838.
252. Zimmerman G.A. Two by two. the pairings of P-selectin and P-selectin glycoprotein ligand 1 / G.A. Zimmerman. – DOI 10.1073/pnas.191367898 // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2001. – Vol. 98. – P. 10023–10024.