არტერიული წნევის განსხვავებული დღე-ღამური პროფილით. ესენციური ჰიპერტენზიის II სტადიით 92 ავადმყოფში შესწავლილია კომპრესულ-დეკომპრესიული სინჯის სადიაგნოსტიკო კრიტერიუმები ანგიოტენზიორეობაროგრაფიის (ატრბგ) ორიგინალური მეთოდიკის გამოყენებით. მას საფუძვლად უდევს წინამხრის ქსოვილების სისხლსავსეობის მოცულობით-იმპედანსური დამოკიდებულების, ფრჩხილის ბალიშის მიკროცირკულაციის და ცენტრალური ვენური წნევის ცვლილებების შეფასება არტერიული წნევის დღე-ღამურ რიტმთან მიმართებით. ატრბგ-ის გამოყენების შედეგები ადასტურებს, რომ ესენციური ჰიპერტენზიის II სტადიით ავადმყოფთა უმეტესობაში იგი შეუღლებულია ვენურ ჰიპერტენზიასთან. დადგენილია უკუკავშირი ცენტრალური ვენური წნევის მომატებასა და მოფუნქციონირე კაპილარების კუთრი სიმჭიდროვის შემცირებას შორის პაციენტებში არტერიული წნევის დაბალი (Non-dipper) და უარყოფითი (Night-picker) დღე-ღამური რიტმით,რაც,შესაძლოა, შეთავაზებულ იქნას ესენციური ჰიპერტენზიის პროგრესიული მიმდინარეობის სადიაგნოსტიკო კრიტერიუმად.

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ TLR-2, TLR-3, TLR-4 ПРИ ГРИППЕ

[1]Дубинская Г.М., [1]Прийменко Н.О., [1]Кайдашев И.П., [1]Похилько В.И., [2]Чуб К.Ф.

[1]Высшее государственное учебное заведение Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия», Полтава; [2]Полтавский национальный педагогический университет им. В.Г. Короленко, Украина

Несмотря на значительное количество исследований последних лет, направленных на изучение гриппа, данная инфекция остается недостаточно контролируемой и малоуправляемой, занимая первое место по распространенности и летальности среди вирусных поражений человека [2].

Известно, что врожденная иммунная система играет определяющую роль в первичной защите организма от патогенов, распознавание которых положено на семейство рецепторов Toll-like (TLR). Особый интерес с точки зрения изучения патогенеза гриппа и его осложнений представляют TLR-2 и TLR-4, которые взаимодействуют с вирусным гемагглютинином, а также TLR-3, обладающий специфичностью в отношении различных вирусных агентов, так как его лигандом является дцРНК-продукт репликации и транскрипции как РНК-, так и ДНК-содержащих вирусов [3,9].

В последние годы опубликовано все больше сведений о роли дисфункции TLR при соматических и инфекционных заболеваниях. Доказано, что полиморфизм Asp299Gly гена TLR-4 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 [1,4,11,13,14]. Полиморфизм Arg753Gln гена TLR-2 ассоциируется с повышенной восприимчивостью к туберкулезу, стафилококковым инфекциям [10,12]. Вариант полиморфизма Leu412Phe гена TLR-3 связывают с развитием подострого склерозирующего панэнцефалита при кори, миокардита и дилятационной кардиомиопатии при энтеровирусной инфекции [7,8]. Однако об изучении роли полиморфизма Arg753Gln гена TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 при гриппе в научной литературе опубликованы единичные сообщения [5].

Учитывая тот факт, что в прогрессировании воспаления существенную роль играют изменения иммунологического статуса и генетический фон, определение генетических маркеров, ассоциированных с развитием гриппа и его осложнений, является актуальной научно-практической задачей, решение которой позволит прогнозировать тяжесть течения и исход данной патологии.

Цель исследования – изучить распространенность и определить прогностическое значение полиморфизма Arg753Gln гена TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 при гриппе.

Материал и методы. Обследовано 112 больных гриппом, из них 63 - с неосложненным течением заболева-

ния и 49 - с грипп-ассоциированной пневмонией. Больные находились на лечении в Полтавской областной клинической инфекционной больнице в эпидсезон в 2009-2014 гг. Среди них женщин - 55 (49,1%), мужчин - 57 (50,9%), возраст больных варьировал в пределах от 17 до 61 года (средний - 34,4±1,38). Большинство обследованных (76,8%) - лица молодого и среднего возраста. Пациенты с грипп-ассоциированной пневмонией не имели общепризнанных факторов риска развития осложнений при гриппе (ожирение, беременность, хронические заболевания легких и т.д.).

Группу популяционного контроля для изучения распространенности полиморфизма Arg753Gln гена TLR-2 и Asp299Gly TLR-4 составили 90, для Leu412Phe TLR-3 - 80 практически здоровых жителей Полтавской области.

Грипп диагностировали на основании характерных клинико-эпидемиологических данных и подтверждали результатами лабораторных исследований (серологического и молекулярно-биологического) [2]. Вирус гриппа A/H1N1 выделен у 39,3%, A/H3N2 – у 35,7%, A/H2N2 - у 0,9%, B - у 21,4%. Микст-формы были представлены сочетанием антигенных вариантов вирусов гриппа A (H1N1+H3N2) (1,8%), вирусов A/H1N1 и B (0,9%), которые регистрировались лишь у больных грипп-ассоциированной пневмонией.

Диагноз пневмонии верифицировали согласно рекомендациям Европейского респираторного общества (ERS, 2011) и Приказу МОЗ Украины № 128 от 19.03.2007 р. «Об утверждении клинических протоколов предоставления медицинской помощи по специальности «Пульмонология».

Полиморфный участок Arg753Gln гена TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 генотипировали методом полимеразной цепной реакции с использованием олигонуклеотидных праймеров. Амплификация проведена на амплификаторе «Терцик» («ДНК-Технология», Россия).

При математической обработке полученных данных использовали программу «Statistica for Windows 7.0» (StatSoft Inc) и электронные таблицы «MS Excel». Сравнение частот генотипов и аллелей между группами проводили посредством точного теста Фишера. Достоверными считали различия при $p<0,05$. Относительный риск развития заболевания и осложнений оценивали посредством показателя соотношения шансов (OR): OR=1 рассматривали как отсутствие, OR>1 – как положительную (повышенный риск развития патологии), OR<1 – как отрицательную (пониженный риск развития патологии) ассоциацию аллеля или генотипа с заболеванием.

Результаты и их обсуждение. Проведенные исследования показали, что у больных гриппом полиморфноизмененные генотипы TLR-3, TLR-4, а также их сочетание с TLR-2 выявлялись чаще в сравнении с практически здоровыми.

Распределение частот генотипов по исследуемым генам TLR представлено в таблице 1.

Таблица 1. Распределение частот генотипов TLR-2, TLR-3, TLR-4 среди больных гриппом, грипп-ассоциированной пневмонией и здоровых, абс. число (%)

Генотипы TLR / Группы обследованных	Leu412Phe TLR-3		
	Leu/Leu	**Leu/Phe**	**Phe/Phe**
Здоровые	36 (45,00)	40 (50,00)	4 (5,00)
Грипп	35 (55,55)	25 (39,68)	3 (4,76)
Грипп-ассоциированная пневмония	16 (32,65)	24 (48,98)	9 (18,37) p_1=0,03; p_2=0,02
Здоровые	**Asp299Gly TLR-4**		
	Asp/Asp	**Asp/Gly**	**Gly/Gly**
	87 (96,66)	3 (3,33)	0 (0,0)
Грипп	55 (87,30)	8 (12,69) p_1<0,05	0 (0,0)
Грипп-ассоциированная пневмония	42 (85,71)	7 (14,28) p_1=0,03	0 (0,0)
Здоровые	**Arg753Gln TLR-2**		
	Gln/Gln	**Arg/Gln**	**Arg/Arg**
	87 (96,66)	3 (3,33)	0 (0,0)
Грипп	60 (95,23)	3 (4,76)	0 (0,0)
Грипп-ассоциированная пневмония	46 (93,88)	3 (6,12)	0 (0,0)

примечание: p_1 – сравнение с группой здоровых; p_2 – сравнение с гриппом

Как следует из представленных в таблице 1 данных, мутантный гомозиготный генотип Phe/Phe TLR-3 выявлен достоверно чаще у больных грипп-ассоциированной пневмонией в сравнении со здоровыми (в 3,7 раз) и больными гриппом (в 3,8 раза). При изучении распространенности полиморфизма Arg753Gln гена TLR-2, Asp299Gly TLR-4 отмечено отсутствие мутантных гомозиготных генотипов Arg753Arg и Gly299Gly как среди больных гриппом, так и здоровых, что согласуется с данными научной литературы о низкой частоте их распространенности в популяции [6,12]. Гетерозиготный генотип Asp/Gly TLR-4 достоверно чаще выявлен у больных гриппом (12,69%) и грипп-ассоциированной пневмонией (14,28%) в сравнении со здоровыми (3,33%). При сравнении частот генотипов Arg753Gln TLR-2 статистически значимых различий между группами обследованных больных не выявлено. Следует отметить, что комбинации полиморфноизмененных генотипов TLR-2, TLR-3, TLR-4 определяли только у больных гриппом (11,11%) и грипп-ассоциированной пневмонией (14,28%).

По результатам расчета показателя соотношения шансов установлено, что риск развития гриппа в 4,2 раза выше у людей с генотипом Asp/Gly TLR-4 (OR=4,22; 95% CI 1,07-16,59), в 15 раз – при наличии комбинаций мутантных генотипов TLR-2, TLR-3, TLR-4 (OR=15,0; 95% CI 1,83-286,93). У больных гриппом с мутантным гомозиготным генотипом Phe/Phe TLR-3 в 4,5 раза выше риск развития пневмонии (OR=4,5; 95% CI 1,15-17,65) в сравнении с нормальным генотипом Leu/Leu TLR-3.

Данные сравнительного анализа частот аллелей в исследуемых группах согласуются с результатами, полученными при изучении частоты генотипов исследуемых TLR. Распределение частот аллелей генов TLR-2, TLR-3, TLR-4 представлено в таблице 2.

Так, из приведенных в таблице 2 данных следует, что мутантный аллель 412Phe гена TLR-3 достоверно чаще выявлялся у больных грипп-ассоциированной пневмонией (42,86%) в сравнении со здоровыми (30,0%) и больными гриппом (24,60%). Частота мутантного аллеля 299Gly TLR-4 оказалась выше среди больных гриппом (6,35%) и грипп-ассоциированной пневмонией (7,14%) в сравнении с популяционным контролем (1,66%). Мутантный аллель 753Gln гена TLR-2 выявлен с одинаковой частотой в обследованных группах.

Таблица 2. Распределение частот аллелей генов TLR-2, TLR-3, TLR-4 среди больных гриппом, грипп-ассоциированной пневмонией и здоровых, абс. число (%)

Аллели генов TLR / **Группы обследованных**	**Leu412Phe TLR-3**	
	Leu	**Phe**
Здоровые	112 (70,00)	48 (30,00)
Грипп	95 (75,39)	31 (24,60)
Грипп-ассоциированная пневмония	56 (57,14)	42 (42,86) p_1=0,03; p_2=0,004
Здоровые	**Asp299Gly TLR-4**	
	Asp	**Gly**
	177 (98,33)	3 (1,66)
Грипп	118 (93,65)	8 (6,35) p_1<0,05
Грипп-ассоциированная пневмония	91 (92,86)	7 (7,14) p_1=0,03
Здоровые	**Arg753Gln TLR-2**	
	Gln	**Arg**
	177 (98,33)	3 (1,66)
Грипп	123 (97,62)	3 (2,38)
Грипп-ассоциированная пневмония	95 (96,94)	3 (3,06)

примечание: p_1 – сравнение с группой здоровых; p_2 – сравнение с гриппом

Согласно расчету показателя соотношения шансов, наличие мутантного аллеля 299Gly TLR-4 в 4 раза повышает риск развития гриппа (OR=4,0; 95% CI 1,04-15,39), а аллеля 412Phe гена TLR-3 - в 2,3 раза грипп-ассоциированной пневмонии (OR=2,3; 95% CI 1,3-4,06).

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют рассматривать полиморфизм генов TLR-2, TLR-3, TLR-4 в качестве прогностических факторов развития гриппа и его осложнений.

Выводы

1. Частота гетерозиготного генотипа Asp/Gly TLR-4 у больных гриппом составляет 12,69%, грипп-ассоциированной пневмонией - 14,28%, что превышает показатели популяционного контроля в 3,8-4,3 раза (3,33%, p<0,05).
2. Гомозиготный генотип Phe/Phe TLR-3 у больных грипп-ассоциированной пневмонией определяется с частотой 18,37%, что превышает показатели больных неосложненным гриппом (4,76%, p=0,02) и здоровых (5,00%, p=0,03).
3. Комбинация мутантных генотипов TLR-2, TLR-3, TLR-4 не выявляется у здоровых и определяется у больных гриппом и грипп-ассоциированной пневмонией с частотой 11,11-14,28% (p<0,05).
4. Наличие полиморфноизмененных генотипов TLR-4, TLR-3 и их комбинаций с TLR-2 позволяет прогнозировать развитие гриппа и грипп-ассоциированной пневмонии. По данным расчета показателя соотношения шансов риск развития грипа в 4,2 раза выше у людей с генотипом Asp/Gly TLR-4, в 15 - при комбинациях мутантных генотипов TLR-2, TLR-3, TLR-4; риск развития грипп-ассоциированной пневмонии в 4,5 раза выше у больных с мутантным гомозиготным генотипом Phe/Phe TLR-3.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вовк Ю.А., Ткаченко О.Я., Измайлова О.В. и др. Полиморфизм Asp299Gly гена TLR4 и тяжелое течение атопической бронхиальной астмы у детей. Клиническая иммунология, аллергология, инфектология 2013; 2: 98-99.
2. Возианова Ж.И. Инфекционные и паразитарные болезни. К.: ЗДОРОВ'Я; 2000: 63.
3. Друцкая М. С., Белоусов М. С., Недоспасов С. А. Врожденное распознавание вирусов. Молекулярная биология 2011; 45(1): 7-19.
4. Cheryl L. Holmes, James A. Russell, Keith R. Walley. Genetic Polymorphisms in Sepsis and Septic Shock: Role in Prognosis and Potential for Therapy Free To View. J. CHEST. 2003; 124(3): 1103-1115.
5. Esposito S., Molteni C. G., Giliani S., et al. Toll-like receptor 3 gene polymorphisms and severity of pandemic A/H1N1/2009 influenza in otherwise healthy children. Virol J. 2012; 9: 270.
6. Ferwerda B., McCall MB., Alonso S., et al. TLR4 polymorphisms, infectious diseases, and evolutionary pressure during migration of modern humans. Proc Natl Acad Sci USA 2007; 104(42):16645-16650.
7. Gorbea C., Makar K.A., Pauschinger M., et al. A Role for Toll-like Receptor 3 Variants in Host Susceptibility to Enteroviral Myocarditis and Dilated Cardiomyopathy. Journal of Biological Chemistry 2010; 285: 23208-23223.
8. Ishizaki Y., Takemoto M., Kira R., et al. Association of toll-like receptor 3 gene polymorphism with subacute sclerosing panencephalitis. Journal of NeuroVirology. 2008; 14: 486-491.
9. Kawai T. Akira S. Innate immune recognition of viral infection. Nat. Immunol. 2009; 7: 131-137.
10. Lorenz E., Mira J., Cornish K., et al. A novel polymorphism in the toll-like receptor 2 gene and its potential association with staphylococcal infection. Infect Immun. 2000; 68: 6398-6401.
11. Montes A.H., Asensi V., Alvarez V., et al. The TLR4 (TLR4 Asp299Gly) polymorphism is a risk factor for gram-negative and haematogenous osteomyelitis. J. Clin. Exp. Immunol. 2006; 143(3): 404-413.
12. Ogus A.C., Yoldas B., Ozdemir T., et al. The Arg753GIn polymorphism of the human toll-like receptor 2 gene in tuberculosis disease. Eur Respir J. 2004; 23: 219-223.
13. Thomas E., Turvey S.E. Common human Toll-like receptor 4 polymorphisms: role in susceptibility to respiratory syncytial virus infection and functional immunological relevance. Clin. Immunol. 2007; 123: 252-257.
14. Van der Graa C.A., Netea M.G., Morre S.A., et al. Candida-specific INF-gamma deficiency and toll-like receptor polymorphisms in patients with chronic mucocutaneous candidiasis. J. Eur. Cytokine Netw. 2006; 17(1): 29.

SUMMARY

THE ROLE OF TLR-2, TLR-3, TLR-4 GENES POLYMORPHISM OF GRIPPE

[1]Dubinskaya G., [1]Pryimenko N., [1]Kaidashev I., [1]Pokhylko V., [2]Chub K.

[1]Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian medical stomatological academy", Poltava; [2]Poltava National Pedagogical University named after V.G. Korolenko, Ukraine

Distribution and prognostic value of Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 genes polymorphism in case of grippe have been studied in the present article. The examination has comprised 112 patients with grippe including 63 cases with uncomplicated course and 49 cases with grippe-associated pneumonia. The population control group has included 90 scarcely healthy persons to study Arg753Gln TLR-2 gene polymorphism and 80 ones to study Leu412Phe TLR-3 gene polymorphism.

The conducted researches results have shown reliably higher frequency of heterozygous genotype Asp/Gly TLR-4 in patients with grippe (12,69%) and grippe-associated pneumonia (14,28%) compared with population control (3,33%). The frequency of homozygous genotype Phe/Phe TLR-3 in patients with grippe-associated pneumonia (18,37%) has exceeded the indices of patients with uncomplicated grippe (4,76%, p=0,02) and healthy persons (5,00%, p=0,03). Mutant genotypes combinations TLR-2, TLR-3, TLR-4 have been determined barely in patients with grippe and grippe-associated pneumonia with the frequency 11,11%-14,28%. It has been established that there is the increased risk of grippe development for persons with Asp/Gly TLR-4 genotype and TLR-2, TLR-3, TLR-4 mutant genotypes combinations; there is the increased risk of grippe-associated pneumonia for patients with mutant homozygous genotype Phe/Phe TLR-3.

Keywords: grippe, grippe-associated pneumonia, gene polymorphism.

РЕЗЮМЕ

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ TLR-2, TLR-3, TLR-4 ПРИ ГРИППЕ

[1]Дубинская Г.М., [1]Прийменко Н.О., [1]Кайдашев И.П., [1]Похилько В.И., [2]Чуб К.Ф.

[1]Высшее государственное учебное заведение Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия», Полтава; [2]Полтавский национальный педагогический университет им. В.Г. Короленко, Украина

В статье изучены распространенность и прогностическое значение полиморфизма Arg753Gln гена TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 при гриппе. Обследовано 112 больных гриппом, из них 63 - с неосложненным течением заболевания и 49 - с грипп-ассоциированной пневмонией. Группу популяционного контроля для изучения распространенности полиморфизма Arg753Gln гена TLR-2 и Asp299Gly TLR-4 составили 90, для Leu412Phe TLR-3 - 80 практически здоровые лица.

Результаты проведенных исследований выявили, что частота гетерозиготного генотипа Asp/Gly TLR-4 достоверно выше у больных гриппом (12,69%) и грипп-ассоциированной певмонией (14,28%) в сравнении с популяционным контролем (3,33%). Частота гомозиготного генотипа Phe/Phe TLR-3 у больных грипп-ассоциированной пневмонией (18,37%) превышает показатели больных неосложненным гриппом (4,76%, p=0,02) и здоровых (5,00%, p=0,03). Комбинации мутантных генотипов TLR-2, TLR-3, TLR-4 определяются только у больных гриппом и грипп-ассоциированной пневмонией с частотой 11,11-14,28%. Установлено, что повышенный риск развития гриппа имеют лица с генотипом Asp/Gly TLR-4 и комбинациями мутантных генотипов TLR-2, TLR-3, TLR-4, а грипп-ассоциированной пневмонии - больные с мутантным гомозиготным генотипом Phe/Phe TLR-3.

რეზიუმე

TLR-2, TLR-3 და TLR-4 გენების პოლიმორფიზმის როლი გრიპის გავრცელებასა და მიმდინარეობის პროგნოზირებაში

[1]გ. დუბინსკაია, [1]ნ. პრიიმენკო,
[1]ი. კაიდაშევი, [1]ვ. პოხილკო, [2]კ. ჩუბი

[1]უკრაინის უმაღლესი სახელმწიფო სასწავლებელი "უკრაინის სამედიცინო სტომატოლოგიური აკადემია",პოლტავა; [2]ვ.გ. კოროლენკოს სახ. პოლტავის ნაციონალური პედაგოგიური უნივერსიტეტი, უკრაინა

ნაშრომში შესწავლილია Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 გენების პოლიმორფიზმის გავრცელება და პროგნოზული მნიშვნელობა გრიპის დროს.

გამოკვლეულია გრიპით დაავადებული 112 ადამიანი,მათგან 63 - გართულების გარეშე,49 - გრიპთან ასოცირებული პნევმონიით. პოპულაციური კონტროლის ჯგუფი შეადგინა 170 პრაქტიკულად ჯანმრთელმა პირმა.

დადგენილია, რომ ჰეტეროზიგოტული გენოტიპ Asp/Gly TLR-4 სიხშირე სარწმუნოდ მაღალია გრიპით დაავადებულ ჯგუფში (12,69%) და გრიპთან ასოცირებული პნევმონიის შემთხვევაში (14,28%), პოპულაციურ კონტროლთან (3,33%) შედარებით. ჰომოზიგოტური გენოტიპ Phe/Phe TLR-3 სიხშირე პნევმონიით დაავადებულ ჯგუფში (18,37%) აღემატება გართულების გარეშე გრიპით დაავადებულთა (4,76%; p=0,02) და ჯანმრთელ პირთა (5,00%; p=0,02) მაჩვენებლებს. მუტანტური გენოტიპები TLR-2, TLR-3 და TLR-4 აღირიცხება მხოლოდ გრიპით დაავადებულთა და გრიპთან ასოცირებული პნევმონიით დაავადებულთა შორის (11,11% და 14,28%, შესაბამისად).

დადგენილია, რომ გრიპის განვითარების რისკი აღენიშნება პირებს,გენოტიპით Asp/Gly TLR-4 და მუტანტური გენოტიპების TLR-2, TLR-3 და TLR-4 კომბინაციით, ხოლო გრიპთან ასოცირებული პნევმონიის რისკი - ავადმყოფებს ჰომოზიგოტური გენოტიპით Phe/Phe.