



УДК 571.27

DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ90324>

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ *TLR* И ТЕЧЕНИЕ ДВУСТОРОННЕЙ ПНЕВМОНИИ ПРИ COVID-19

А.В. Евдокимов¹, Т.А. Сулова^{1,2}, С.В. Беляева^{1,2}, А.Л. Бурмирова¹, Д.С. Сташкевич¹¹ Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия;² Челябинская областная станция переливания крови, Челябинск, Россия

Для цитирования: Евдокимов А.В., Сулова Т.А., Беляева С.В., Бурмирова А.Л., Сташкевич Д.С. Полиморфизм генов *TLR* и течение двусторонней пневмонии при COVID-19 // Медицинский академический журнал. 2021. Т. 21. № 4. С. 57–66.
DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ90324>

Рукопись получена: 29.11.2021

Рукопись одобрена: 13.12.2021

Опубликована: 30.12.2021

Обоснование. COVID-19 — заболевание, течение которого зависит от ряда факторов, в том числе генетических, среди которых особый интерес представляют гены рецепторов врожденной иммунной системы — толл-подобные рецепторы (TLR), играющие центральную роль в развитии реакций врожденного иммунитета. Структура вируса SARS-CoV-2 включает, помимо нуклеокапсида, белково-липидную мембранную оболочку, что определяет узнавание компонентов вируса разными TLR, в том числе и рецепторами подсемейства TLR2 (TLR1, 6, 10), генетические полиморфизмы генов которых встречаются с разной частотой в различных человеческих популяциях и не только влияют на функциональную активность системы врожденного иммунитета, но и определяют качество адаптивного иммунного ответа.

Цель исследования — определение ассоциации полиморфизмов генов толл-подобных рецепторов *TLR1*, *TLR6* и *TLR10* с тяжестью течения коронавирусной инфекции (COVID-19) в русской популяции Челябинской области.

Материалы и методы. В исследование вошли 86 пациентов из ковидных отделений больниц города Челябинска с диагнозом двусторонней пневмонии умеренной (У-ДСП, $n = 36$) или тяжелой (Т-ДСП, $n = 50$) степени тяжести. Контрольную группу составили 100 здоровых индивидов из регистра Челябинской областной станции переливания крови («Контроль»). Все исследованные индивиды принадлежали к русской этнической группе. Полиморфизмы 1805T>G гена *TLR1*, 745C>T гена *TLR6* и 721A>C гена *TLR10* были определены с помощью полимеразной цепной реакции с полиморфизмом длин рестрикционных фрагментов. Ассоциации между генотипами и статусом индивидов проводили с помощью анализа соответствий и метода Монте-Карло.

Результаты. Выявлено, что различия между исследованными группами полностью определяются генотипами *TLR1*. Генотип GG статистически значимо чаще встречался в группе «Контроль» по сравнению с У-ДСП и Т-ДСП ($p < 0,001$, ОШ 12,94), его можно оценивать как протекторный в отношении развития двусторонней пневмонии на фоне COVID-19. Генотип TT можно рассматривать как предрасполагающий к развитию тяжелой формы двусторонней пневмонии при COVID-19 ($p = 0,022$): генотип TT значимо реже (ОШ 0,20) выявлялся в группе У-ДСП по сравнению с Т-ДСП.

Заключение. Можно предположить, что генетический вариант 1805*G гена *TLR1*, обеспечивающий умеренный провоспалительный ответ и преобладающий в европейских популяциях, дает преимущество своим обладателям, препятствуя развитию осложненных состояний при COVID-19.

Ключевые слова: COVID-19; *TLR*; генетический полиморфизм; двусторонняя пневмония; иммуногенетика.

POLYMORPHISM OF *TLR* GENES AND THE COURSE OF COVID-19 BILATERAL PNEUMONIA

Alexander V. Evdokimov¹, Tatyana A. Suslova^{1,2}, Svetlana V. Belyaeva^{1,2}, Alexandra L. Burmistrova¹, Darya S. Stashkevich¹¹ Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia;² Chelyabinsk Regional Hemotransfusion Station, Chelyabinsk, Russia

For citation: Evdokimov AV, Suslova TA, Belyaeva SV, Burmistrova AL, Stashkevich DS. Polymorphism of *TLR* genes and the course of COVID-19 bilateral pneumonia. *Medical Academic Journal*. 2021;21(4):57–66. DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ90324>

Received: 29.11.2021

Accepted: 13.12.2021

Published: 30.12.2021

BACKGROUND: COVID-19 is a disease which course depends on a number of factors, including genetic ones, among which the genes of the innate immune system receptors — TLR (toll-like receptors), which play a central role in the development of innate immunity reactions, are of particular interest. The SARS-CoV-2 virus structure includes, in addition to the nucleocapsid, a protein-lipid membrane envelope, which determines the recognition of virus components by different TLRs, including TLR2 subfamily receptors (TLR1, 6, 10), which genetic polymorphisms occur with different frequencies in different human populations and affect not only the functional activity of the innate immunity but also determine the quality of the adaptive immune response.

Список сокращений

ДСП — двусторонняя пневмония; DAMP — лиганды, ассоциированные с повреждением (damage-associated molecular-pattern molecules); TLR — толл-подобные рецепторы (Toll-like receptor).

AIM: The study aimed to determine the association of polymorphisms of toll-like receptor genes *TLR1*, *TLR6* and *TLR10* with the severity of coronavirus infection (COVID-19) in the Russian population of the Chelyabinsk region.

MATERIALS AND METHODS: The study included 86 patients from COVID-departments of hospitals in Chelyabinsk with a diagnosis of bilateral pneumonia with a degree of severity: moderate (M-BLP, $n = 36$) or severe (S-BLP, $n = 50$). The control group consisted of 100 healthy individuals from the register of the Chelyabinsk regional hemotransfusion station ("Control"). All the individuals studied belonged to the Russian ethnic group. Polymorphisms 1805T>G of *TLR1* gene, 745C>T of *TLR6* gene and 721A>C of *TLR10* gene were determined using polymerase chain reaction with restriction fragment length polymorphism. The analysis of the association between genotypes and the status of individuals was carried out using the correspondence analysis and the Monte Carlo method.

RESULTS: It was revealed that the differences between the studied groups are completely determined by *TLR1* genotypes. The GG genotype with statistical significance is more often detected in the "Control" group compared to M-BLP and S-BLP ($p < 0.001$, OR = 12.94) and can be assessed as protective in relation to the development of bilateral pneumonia in COVID-19. The TT genotype can be considered as predisposing to the development of a severe form of bilateral pneumonia in COVID-19 ($p = 0.022$): the TT genotype is significantly less common (OR = 0.20) in the M-BLP group compared to S-BLP.

CONCLUSIONS: It can be assumed that the genetic variant 1805*G of the *TLR1* gene, which provides a moderate pro-inflammatory response and predominates in European populations, gives an advantage to its owners, preventing the development of complicated conditions in COVID-19 infection.

Keywords: COVID-19; *TLR*; genetic polymorphism; bilateral pneumonia; immunogenetics.

Обоснование

Коронавирус SARS-CoV-2 очень быстро, через несколько месяцев после появления в человеческой популяции, вызвал пандемию COVID-19, которая по скорости развития и негативным последствиям значительно превосходит все другие коронавирусные эпидемии, наблюдавшиеся в прошлом. С начала пандемии было зафиксировано более 250 млн случаев заболевания и около 5 млн смертей от этой инфекции, и данные показатели продолжают быстро расти, практически без снижения темпов [1]. Важно учитывать, что клинические проявления коронавирусной инфекции значительно варьируют: от бессимптомных форм до тяжелой дыхательной недостаточности, сопровождающейся двусторонней пневмонией с острым респираторным дистресс-синдромом, которые и обуславливают большую часть смертельных исходов. Совершенно очевидно, что для снижения вероятности летального исхода необходимо разработать принципы предиктивной диагностики с целью выявления групп пациентов с высоким фактором риска к развитию тяжелых клинических форм COVID-19. К сожалению, до сих пор конкретные причины и факторы риска, предрасполагающие к развитию тяжелых форм COVID-19, не известны. Среди возможных причин во многих исследованиях рассматривают пол, возраст, метаболические нарушения (в том числе сахарный диабет), сердечно-сосудистые заболевания (гипертензия) [2, 3]. Остается неясным количество предрасполагающих факторов и относительный вклад каждого из них в формирование чувствительности к коронавирусной инфекции и развитие осложнений. В настоящее время высказан ряд предположений, что в популяциях разного происхождения уровни заболеваемости COVID-19 и вероятность развития осложнений существенно различаются [3].

В связи с этим представляется важным проведение исследований по определению генетических различий между группами людей с разными исходами COVID-19, а также между инфицированными и здоровым населением одной популяции. Исходя из вышеизложенного особую значимость приобретает изучение полиморфизма генов иммунного ответа, особенно генов, кодирующих клеточные рецепторы, определяющие первичное узнавание клетками вирусных частиц и активацию реакций врожденного и адаптивного иммунного ответа, в том числе толл-подобные рецепторы (TLR).

Рецепторы TLR, являясь компонентами системы врожденного иммунитета, лежат в основе комплекса реакций, приводящих к активации системы адаптивного иммунного ответа [4, 5]. Современные данные свидетельствуют, что сигналы TLR выступают фундаментальным мостом между адаптивным и врожденным иммунными ответами, совместно определяющими активацию иммунной системы через продукцию широкого спектра провоспалительных цитокинов [4, 6]. Более того, TLR экспрессируются на Т-лимфоцитах ($CD4^+$, $CD8^+$) в качестве костимуляторов, способных определять функцию и судьбу Т-лимфоцитов, то есть отвечать за активацию и ингибирование их функции. При недостаточности сигналов от TLR при встрече Т-лимфоцитов с их антигеном последние проявляют несостоятельность своего ответа или входят в состояние анергии [6]. Следовательно, тоническая стимуляция или дезинтеграция TLR-сигналов может приводить к Т-клеточно-зависимому увеличению воспаления, определяющего, как правило, исход заболевания. Особую роль в образовании димеров TLR на поверхности клетки играет TLR2, информационные сигналы которого снижают активационный порог $CD8^+$ Т-лимфоцитов

к антигену и в последующем повышают его клеточную выживаемость и усиливают функции. Кроме того, в ряде популяционно-генетических исследований было установлено, что гены *TLR* подсемейства *TLR2*, входящие в генный кластер *TLR10–TLR1–TLR6*, представляют собой «горячую точку» эволюции [7]. Гены данного кластера несут следы положительного естественного отбора, что в рамках теории нейтральной эволюции представляется довольно редким явлением [8, 9]. Все эти данные свидетельствуют о важной роли TLR в событиях адаптивной эволюции, происходивших, по-видимому, с момента появления человечества и определявших чувствительность и резистентность к различным инфекционным заболеваниям, а также мультифакторным заболеваниям [10–12].

Рецепторы TLR способны связываться с самыми разными компонентами патогенов: TLR1, TLR6, TLR10 в комплексе с TLR2 связывают липопептиды, TLR4 — мембранные липополисахариды, TLR3, TLR7, TLR8, TLR9 — чужеродные (в частности, вирусные) нуклеиновые кислоты [4, 5]. Вирус SARS-CoV-2 обладает довольно сложной структурой, которая включает и мембранную оболочку, в связи с чем этот вирус, вероятно, «узнается» с помощью сразу нескольких типов TLR-рецепторов. Было показано, что при моделировании взаимодействия рецепторов TLR1, TLR4 и TLR6 с антигенами SARS-CoV-2 отмечается активное связывание указанных рецепторов с вирусным S-белком [13]. Помимо этого, гетеродимеры TLR1/TLR2 и TLR6/TLR2, за счет распознавания специфических вирусных гликопротеинов, способствуют усилению провоспалительных реакций во время вирусной инфекции [14]. Иммунопатологическая роль TLR1 и TLR6 во время заражения COVID-19 остается неясной. Однако обнаружены повышенные уровни лигандов, ассоциированных с повреждением (DAMP), к TLR1/2/6 в мононуклеарных клетках периферической крови и сыворотке, собранной у пациентов с COVID-19 [14]. Прямая связь между DAMP и соответствующими им TLR способна активировать TLR-опосредованный воспалительный ответ, идентичный тому, который возникает посредством распознавания патоген-ассоциированных лигандов PAMP [15, 16]. Распознавание DAMP с помощью TLR-рецепторов может стать критично важным при тяжелых формах заболевания, когда массово гибнущие клетки уже не могут быть эффективно переработаны макрофагами и DAMP образуются в огромном количестве [17]. Следовательно, активация TLR1/2/6 и последующая передача сигнала могут быть в какой-то мере ответственны за клинические иммунопатологические проявления, испытываемые пациентами с COVID-19 [13].

Материалы и методы

Исследование было проведено ретроспективно с участием 86 пациентов из ковидных отделений больниц города Челябинска с диагнозом двусторонней пневмонии (ДСП) умеренной (36 человек) или тяжелой (50 человек) формы. Степень тяжести была определена с помощью компьютерной томографии. Других тяжелых сопутствующих заболеваний у пациентов не было. Диагноз COVID-19 был подтвержден обнаружением РНК вируса SARS-CoV-2 с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в образцах носоглоточных мазков пациентов (набор реактивов АО «Вектор-Бест»). У всех пациентов выявлены антитела IgG к SARS-CoV-2 (АО «Вектор-Бест»). В качестве контрольной группы были взяты 100 здоровых индивидов из регистра Челябинской областной станции переливания крови. Контрольная группа была сформирована до 2016 г., что определяет отсутствие в ней случаев вакцинации против SARS-CoV-2. Все исследованные индивиды относили себя к русской этнической группе, а их предки в течение трех поколений проживали на территории Челябинской области.

ДНК была выделена из образцов цельной крови с помощью колоночного сорбционного метода с использованием набора реагентов Protrans DNA Box. Полиморфизмы 1805T>G гена *TLR1*, 745C>T гена *TLR6* и 721A>C гена *TLR10* были определены с помощью полимеразной цепной реакции с полиморфизмом длин рестрикционных фрагментов (рестриктазы AluI, BmeI8I и FaeI соответственно; НПО «СибЭнзим») [18, 19].

Статистическая обработка. По результатам генотипирования по трем локусам были рассчитаны абсолютные частоты различных сочетаний генотипов (*TLR1/TLR6/TLR10*) в трех исследуемых группах — контрольной («Контроль»), умеренной формы ДСП (У-ДСП), тяжелой формы ДСП (Т-ДСП). Полученную таблицу сопряженности обрабатывали с помощью многомерного метода анализа соответствий. Статистическую значимость ассоциации генотипов с формой заболевания, а также значимость различий по частотам встречаемости отдельных генотипов ввиду малонасыщенности таблиц оценивали с применением рандомизационного метода Монте-Карло (число перестановок $N = 99999$) [20]. В случае множественных сравнений использовали поправку Беньямини — Йекутили [21]. p -Значение записывали с точностью до тысячных, ассоциацию или различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Расчет 95 % доверительных интервалов (95 % ДИ) для относительных частот проводили с помощью метода

Клоппера – Пирсона [22]. Отношения шансов (ОШ) и 95 % ДИ к ним рассчитывали по методу Вульфа [22]. Статистическую обработку данных и построение диаграмм осуществляли в программной среде R (v. 4.0.2) [23].

Результаты и обсуждение

На первом этапе была получена таблица сопряженности, содержащая абсолютные частоты встречаемости разных сочетаний генотипов по трем локусам генов *TLR* (табл. 1). С применением рандомизационной техники Монте-Карло обнаружены статистически значимые ассоциации между различными генотипами и статусом исследованных индивидов ($p < 0,001$).

Для определения сочетаний генотипов, которые внесли наибольший вклад в обнаруженную ассоциацию, и выявления роли этих сочетаний

в развитии разных форм ДСП (протекторные и предрасполагающие сочетания генотипов) был выполнен анализ соответствий. Данный метод позволяет на основании таблицы частот конкретизировать ассоциацию между признаками путем выделения нескольких направлений в множестве данных. Эти направления можно представить как некие латентные переменные, с помощью которых можно объяснить наблюдаемые различия в распределении разных сочетаний генотипов между исследуемыми группами. Полученные направления затем будут использованы как оси для построения координатной плоскости, на которой изучаемые сочетания генотипов и исследуемые группы представлены как точки пространства.

Анализ соответствий показал, что среди всех сочетаний генотипов наибольший вклад в ассоциацию вносят девять: ТТ/ТТ/АА, ТГ/ТТ/АА,

Таблица 1 / Table 1

Абсолютные частоты разных сочетаний генотипов *TLR1* (1805Т>G), *TLR6* (745С>Т) и *TLR10* (721А>С) в исследованных группах

Absolute frequencies of different *TLR1* (1805Т>G), *TLR6* (745С>Т) and *TLR10* (721А>С) genotypes combinations in the studied groups

Сочетание генотипов (<i>TLR1/TLR6/TLR10</i>)	Группа «Контроль» <i>n</i> = 100	Группа У-ДСП <i>n</i> = 50	Группа Т-ДСП <i>n</i> = 36
GG/TT/AC	1	0	1
GG/TT/AA	13	1	0
TT/TT/AA	0	0	4
TT/CT/AC	0	0	3
TT/CT/AA	1	1	1
TT/CC/CC	2	1	1
TT/CC/AC	1	0	3
TT/CC/AA	0	3	1
TG/CC/AC	10	7	6
TG/CC/CC	4	0	0
GG/CC/AC	5	2	1
TG/CT/AA	3	9	6
TG/TT/AA	0	5	0
TG/CC/AA	1	7	2
TG/CT/AC	12	10	5
GG/CT/AA	17	2	1
GG/CT/AC	18	2	0
GG/CC/CC	3	0	0
TG/TT/AC	0	0	1
TG/CT/CC	3	0	0
GG/CC/AA	6	0	0

Примечание. У-ДСП — двусторонняя пневмония с умеренной степенью тяжести; Т-ДСП — двусторонняя пневмония тяжелого течения.

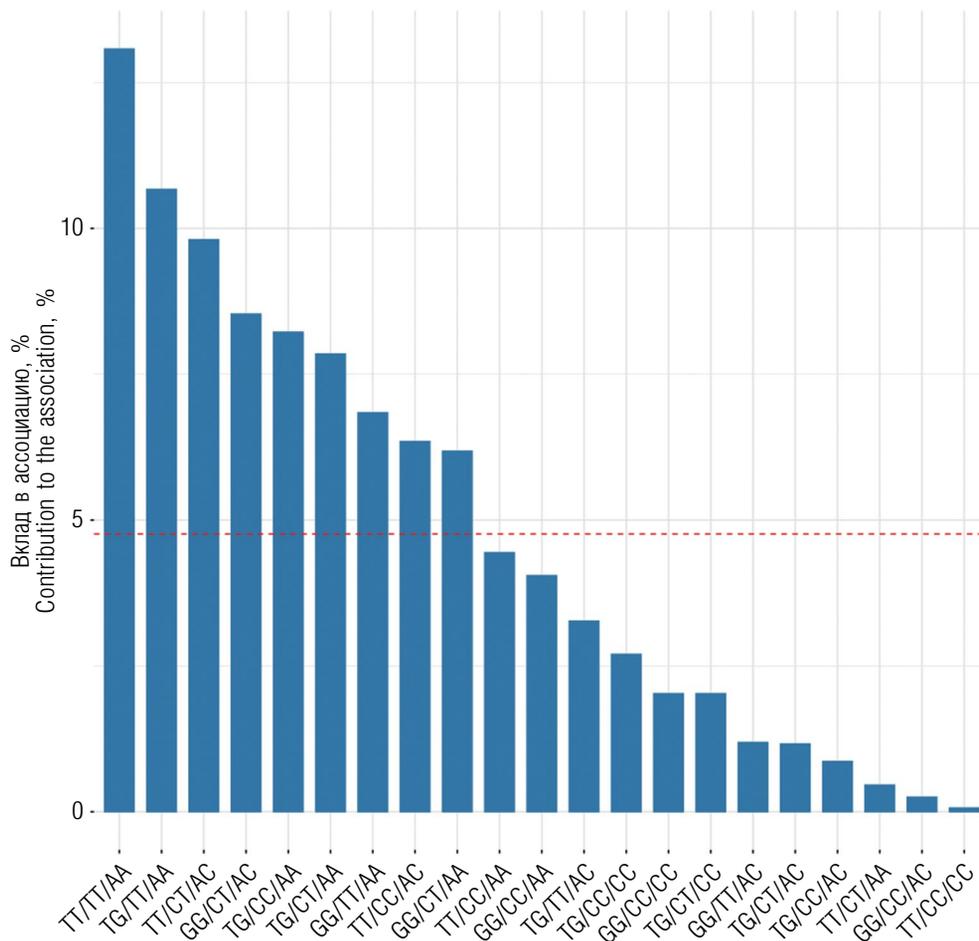


Рис. 1. Вклад разных сочетаний генотипов *TLR1/TLR6/TLR10* в ассоциацию с формой двусторонней пневмонии. Пунктирной линией отмечен средний уровень, выше которого вклад считается значимым

Fig. 1. Contribution of different *TLR1/TLR6/TLR10* genotypes combinations to the association with the BLP form. The dashed line marks the average level above which the contribution is considered significant

TT/CT/AC, GG/CT/AC, TG/CC/AA, TG/CT/AA, GG/TT/AA, TT/CC/AC, GG/CT/AA (рис. 1).

Результаты анализа соответствий удобнее всего представить как двойной график (рис. 2). На этом графике в пространстве двух выделенных направлений (ось 1 и ось 2) сочетания генотипов и ДСП-статус изученных групп представлены одновременно в виде точек (см. рис. 2). При этом к точкам, обозначающим сочетания генотипов, из начала координат ведут стрелки, позволяющие определить вклад каждого сочетания в направления: чем больше проекция стрелки на ось, тем больше вклад в соответствующее направление.

Согласно рис. 2 направление оси абсцисс (ось 1) позволяет объяснить 65,6 % распределения частот генотипов и соответствует разделению на условно-здоровых («Контроль») и больных с COVID-ассоциированной ДСП (У-ДСП и Т-ДСП). В наибольшей степени с группой «Контроль» связаны сочетания GG/CT/AC, GG/TT/AA и GG/CT/AA, которые, таким образом, можно считать протекторными

по отношению к COVID-ассоциированной ДСП. Направление оси ординат (ось 2) объясняет 34,4 % наблюдаемого распределения частот генотипов и определяет разделение групп с разными формами ДСП. При этом с группой У-ДСП в большей степени связаны сочетания TG/TT/AA, TG/CC/AA, которые можно определить как протекторные в отношении тяжелой формы ДСП. Для группы Т-ДСП характерны сочетания TT/TT/AA, TT/CT/AC и TT/CC/AC — предрасполагающие к развитию тяжелой формы ДСП.

При анализе полученных сочетаний генотипов обращает на себя внимание неравноценный вклад отдельных локусов: только генотип *TLR1* однозначно различается в исследованных группах, в то время как одни и те же генотипы *TLR6* и *TLR10* встречаются в разных группах. Именно поэтому на следующем этапе исследования оценивали различия между исследованными группами по частотам встречаемости генотипов полиморфизма гена *TLR1*. Абсолютные и относительные частоты генотипов *TLR1*, а также

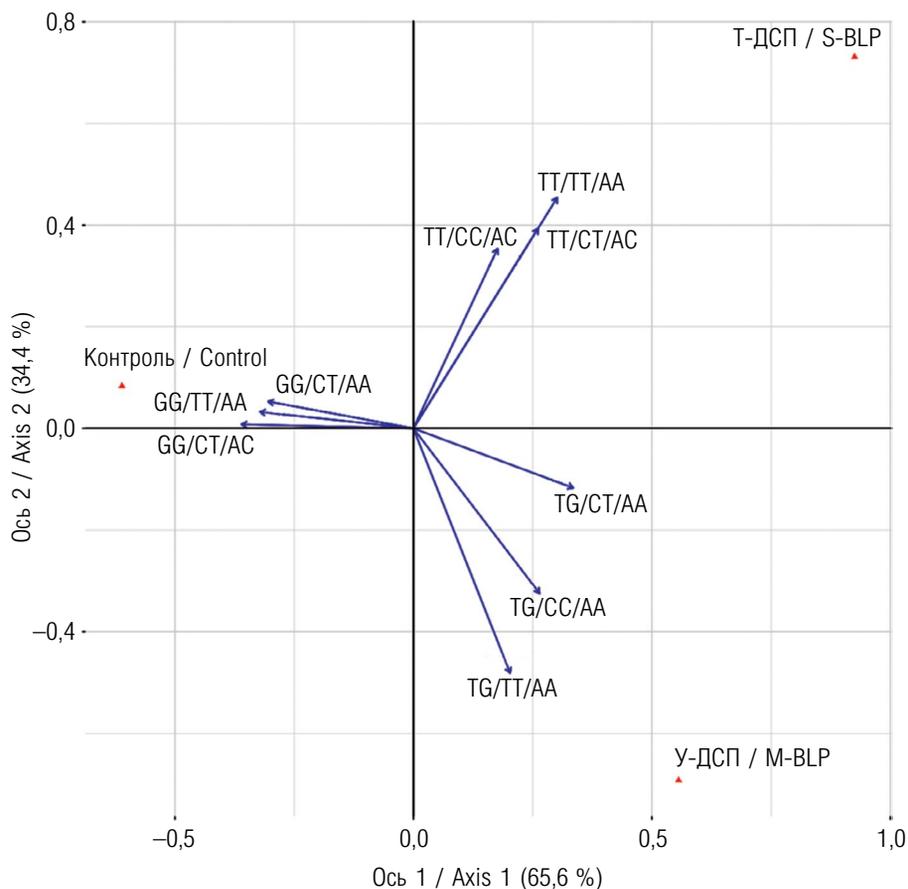


Рис. 2. Двойной график анализа соответствий. На графике одновременно показаны и сочетания генотипов (изображены лишь внесшие наибольший вклад в ассоциацию с изученными группами), и сами группы. У-ДСП — умеренная форма двусторонней пневмонии; Т-ДСП — тяжелая форма двусторонней пневмонии

Fig. 2. Biplot of correspondence analysis. The graph simultaneously shows both combinations of genotypes (only those that have made the greatest contribution to the association with the studied groups are depicted) and the groups themselves. M-BLP — moderate bilateral pneumonia; S-BLP — severe bilateral pneumonia

результаты сравнений (ОШ и p -значения) представлены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, статистически значимые различия обнаружены как при сравнении условно-здоровых индивидов с больными ДСП ($p < 0,001$), так и при сравнении двух

групп с разными формами ДСП ($p = 0,022$). Для контрольной группы характерны преобладание генотипа GG (ОШ 12,94) и небольшая доля генотипов TT (ОШ 0,16) и TG (ОШ 0,24). В группе с умеренной формой ДСП по сравнению с группой с тяжелой формой чаще встречается

Таблица 2 / Table 2

Частоты генотипов гена *TLR1* (1805T>G) в исследованных группах и результаты сравнения между ними
TLR1 (1805T>G) gene genotypes frequencies in the studied groups and the results of comparison between them

Группа	Частота генотипа TT		Частота генотипа TG		Частота генотипа GG		Результат сравнения групп, ОШ [95% ДИ], p
	отн. % [95% ДИ]	абс.	отн. % [95% ДИ]	абс.	отн. % [95% ДИ]	абс.	
Контроль	4,0 [1,1; 9,9]	4	33,0 [23,9; 43,1]	33	63,0 [52,8; 72,4]	63	ОШ _{TT} = 0,16 [0,05; 0,49] ОШ _{TG} = 0,24 [0,13; 0,44] ОШ _{GG} = 12,94 [5,97; 28,07] $p < 0,001$
У-ДСП + Т-ДСП	20,9 [12,9; 31,0]	18	67,4 [56,5; 77,2]	58	11,6 [5,7; 20,3]	10	
У-ДСП	10,0 [3,3; 21,8]	5	76,0 [61,8; 86,9]	38	14,0 [5,8; 26,7]	7	ОШ _{TT} = 0,20 [0,06; 0,62] ОШ _{TG} = 2,53 [1,01; 6,38] ОШ _{GG} = 1,79 [0,43; 7,46] $p = 0,022$
Т-ДСП	36,1 [20,8; 53,8]	13	55,6 [38,1; 72,1]	20	8,3 [1,8; 22,5]	3	

Примечание. У-ДСП — умеренная форма двусторонней пневмонии; Т-ДСП — тяжелая форма двусторонней пневмонии.

генотип TG (ОШ 2,53), а генотип TT — значимо реже (ОШ 0,20). Увеличение частоты встречаемости генотипа GG (ОШ 1,79) не является статистически значимым, так как ДИ для ОШ содержит 1.

Интересно, что точковый полиморфизм 1805T>G гена *TLR1* в ряде исследований был связан с некоторым снижением провоспалительного ответа при стимуляции соответствующими лигандами, в частности со снижением выработки IL-6: полиморфизм приводит к замене изолейцина на серин в положении 602 трансмембранного участка молекулы рецептора TLR1, что существенно сокращает вероятность встраивания вновь синтезированной молекулы рецептора в клеточную мембрану [24]. Генетический вариант 1805*G, обеспечивающий умеренный провоспалительный ответ, преобладает в европейских популяциях и, как считается, подвергся положительному естественному отбору в ходе каких-то прошлых эпидемий на территории Европы (вероятнее всего, чумы) [9]. Предполагают, что умеренно-провоспалительный вариант 1805*G давал преимущество своим обладателям при появлении нового патогена, не адаптированного к существующей экосистеме [24]. В случае чумы *Y. pestis* попала в Европу из Азии и на новом месте включилась в цепь передачи, нехарактерную ранее для нее. Большая плотность населения в Европе сместила пути передачи инфекции: прежде зооантропонозная инфекция стала практически полностью антропонозной [25–27]. В такой ситуации вирулентность возбудителя чумы увеличилась (смертность во время эпидемии составила около 50 %), и преимущество получили индивиды, иммунная система которых реагирует умеренно: сильный иммунный ответ в условиях агрессивного патогена с высокой вероятностью может привести, за счет обратной положительной связи, к обширному повреждению собственных тканей и гибели в результате неадекватного действия собственных иммунных механизмов (цитокиновый шторм). Можно предположить, что в случае COVID-19 наблюдается сходная ситуация: появление нового патогена, еще не адаптированного к новой экосистеме, определяет его высокую вирулентность (в сравнении с аналогичными вирусами), и преимущество получают носители вариантов генов, обеспечивающих умеренный иммунный ответ. Ранее нами в сравнительном популяционно-генетическом исследовании русских, башкир и нагайбаков Челябинской области было показано, что популяция русских статистически значимо отличается от других популяций по частотам полиморфизмов кластера генов *TLR1–TLR6–TLR10* и демонстрирует сходство с европейскими популяциями: частота

встречаемости варианта 1805*G гена *TLR1* среди русского населения территории Челябинской области в среднем не отличается от таковой для европейского населения, особенно Северо-Запада Европы, достигая высоких значений (около 76 %) [28]. Вероятно, в популяциях с высокой частотой варианта 1805*G генотип по этому полиморфизму может служить одним из важных факторов, наряду с другими признаками как генетической, так и не генетической природы, позволяющим прогнозировать ход течения COVID-19. Очевидно, что необходимы дальнейшие популяционные исследования, которые будут учитывать и другие гены иммунной системы, а также сопутствующие заболевания.

Выводы

Можно предположить, что генетический вариант 1805*G гена *TLR1*, обеспечивающий умеренный провоспалительный ответ и преобладающий в европейских популяциях, дает преимущество своим обладателям, препятствуя развитию осложненных состояний при инфекции COVID-19.

1. Между группами условно-здоровых индивидов и больных с разной формой тяжести COVID-ассоциированной ДСП наблюдаются статистически значимые различия в частотах встречаемости генотипов *TLR*, которые могут быть сведены к различиям единственного полиморфизма — 1805T>G гена *TLR1*.
2. Генотип GG по гену *TLR1* может оцениваться как протекторный в отношении развития ДСП на фоне COVID-19.
3. Генотип TT по гену *TLR1* можно рассматривать как предрасполагающий к развитию тяжелой формы ДСП при COVID-19.

Дополнительная информация

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках проекта № 20-44-740004 «Генетические факторы, определяющие чувствительность к коронавирусной инфекции (COVID-19) в популяции русских Челябинской области».

Соблюдение этических норм. Все участники исследования подписали информированное согласие. Выполнение исследования одобрено локальным этическим комитетом Челябинского государственного университета (протокол № 3 от 21.09.2020).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов. А.В. Евдокимов — обзор литературы, получение и статистический анализ

данных, написание текста. *Т.А. Сулова* — концепция и дизайн исследования, сбор материалов для исследования, подготовка текста к публикации. *С.В. Беляева* — сбор материалов для исследования, подготовка текста к публикации. *А.Л. Бурмистрова* — обзор литературы, написание текста, подготовка текста к публикации. *Д.С. Сташкевич* — методика исследования, подготовка текста к публикации.

Список литературы

1. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://covid19.who.int/>. Дата обращения: 29.11.2021.
2. Pinheiro D.S., Santos R.S., Jardim P.C.B.V. et al. The combination of ACE I/D and ACE2 G8790A polymorphisms reveals susceptibility to hypertension: A genetic association study in Brazilian patients // *PLoS One*. 2019. Vol. 14, No. 8. P. e0221248. DOI: 10.1371/journal.pone.0221248
3. Gemmati D., Tisato V. Genetic hypothesis and pharmacogenetics side of Renin-Angiotensin-System in COVID-19 // *Genes (Basel)*. 2020. Vol. 11, No. 9. P. 1044. DOI: 10.3390/genes11091044
4. Iwasaki A., Medzhitov R. Control of adaptive immunity by the innate immune system // *Nat. Immunol.* 2015. Vol. 16, No. 4. P. 343–353. DOI: 10.1038/ni.3123
5. Beutler B., Jiang Z., Georgel P. et al. Genetic analysis of host resistance: toll-like receptor signaling and immunity at large // *Annu. Rev. Immunol.* 2006. Vol. 24. P. 353–389. DOI: 10.1146/annurev.immunol.24.021605.090552
6. Mercier B.C., Cottalorda A., Coupet C.A. et al. TLR2 engagement on CD8 T cells enables generation of functional memory cells in response to a suboptimal TCR signal // *J. Immunol.* 2009. Vol. 182, No. 4. P. 1860–1867. DOI: 10.4049/jimmunol.0801167
7. Enard D., Depaulis F., Crollius H.R. Human and non-human primate genomes share hotspots of positive selection // *PLoS Genet.* 2010. Vol. 6, No. 2. P. e1000840. DOI: 10.1371/journal.pgen.1000840
8. Barreiro L.B., Quintana-Murci L. From evolutionary genetics to human immunology: how selection shapes host defense genes // *Nat. Rev. Genet.* 2010. Vol. 11, No. 1. P. 17–30. DOI: 10.1038/nrg2698
9. Casanova J.L., Abel L., Quintana-Murci L. Human TLRs and IL-1Rs in host defense: natural insights from evolutionary, epidemiological, and clinical genetics // *Annu. Rev. Immunol.* 2011. Vol. 29. P. 447–491. DOI: 10.1146/annurev-immunol-030409-101335
10. Fumagalli M., Sironi M., Pozzoli U. et al. Signatures of environmental genetic adaptation pinpoint pathogens as the main selective pressure through human evolution // *PLoS Genet.* 2011. Vol. 7, No. 11. P. e1002355. DOI: 10.1371/journal.pgen.1002355
11. Karlsson E.K., Kwiatkowski D.P., Sabeti P.C. Natural selection and infectious disease in human populations // *Nat. Rev. Genet.* 2014. Vol. 15, No. 6. P. 379–393. DOI: 10.1038/nrg3734
12. Pickrell J.K., Coop G., Novembre J. et al. Signals of recent positive selection in a worldwide sample of human populations // *Genome Res.* 2009. Vol. 19, No. 5. P. 826–837. DOI: 10.1101/gr.087577.108
13. Choudhury A., Mukherjee S. *In silico* studies on the comparative characterization of the interactions of SARS-CoV-2 spike glycoprotein with ACE-2 receptor homologs and human TLRs // *J. Med. Virol.* 2020. Vol. 92, No. 10. P. 2105–2113. DOI: 10.1002/jmv.25987
14. Gadanec L.K., McSweeney K.R., Qaradakhi T. et al. Can SARS-CoV-2 virus use multiple receptors to enter host cells? // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. Vol. 22, No. 3. P. 992. DOI: 10.3390/ijms22030992
15. Patel S. Danger-Associated Molecular Patterns (DAMPs): The derivatives and triggers of inflammation // *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2018. Vol. 18, No. 11. P. 63. DOI: 10.1007/s11882-018-0817-3
16. Komai K., Shichita T., Ito M. et al. Role of scavenger receptors as damage-associated molecular pattern receptors in Toll-like receptor activation // *Int. Immunol.* 2017. Vol. 29, No. 2. P. 59–70. DOI: 10.1093/intimm/dxx010
17. Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self // *Science*. 2002. Vol. 296, No. 5566. P. 301–305. DOI: 10.1126/science.1071059
18. Leoratti F.M., Farias L., Alves F.P. et al. Variants in the toll-like receptor signalling pathway and clinical outcomes of malaria // *J. Infect. Dis.* 2008. Vol. 198, No. 5. P. 772–780. DOI: 10.1086/590440
19. Mailaparambil B., Krueger M., Heinze J. et al. Polymorphisms of toll-like receptors in the genetics of severe RSV associated diseases // *Dis. Markers*. 2008. Vol. 25, No. 1. P. 59–65. DOI: 10.1155/2008/619595
20. Hope A.C.A. A simplified Monte Carlo significance test procedure // *Journal of the Royal Statistical Society Series B*. 1968. Vol. 30. P. 582–598. DOI: 10.1111/j.2517-6161.1968.tb00759.x
21. Benjamini Y., Yekutieli D. The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency // *Annals of Statistics*. 2001. Vol. 29, No. 4. P. 1165–1188. DOI: 10.1214/aos/1013699998
22. Clopper C., Pearson E.S. The use of confidence or fiducial limits illustrated in the case of the binomial // *Biometrika*. 1934. Vol. 26. P. 404–413. DOI: 10.1093/BIOMET/26.4.404
23. R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.R-project.org/index.html>. Дата обращения: 29.11.2021.
24. Hawn T.R., Misch E.A., Dunstan S.J. et al. A common human TLR1 polymorphism regulates the innate immune response to lipopeptides // *Eur. J. Immunol.* 2007. Vol. 37, No. 8. P. 2280–2289. DOI: 10.1002/eji.200737034
25. Bramanti B., Stenseth N.C., Walløe L., Lei X. Plague: a disease which changed the path of human civilization // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2016. Vol. 918. P. 1–26. DOI: 10.1007/978-94-024-0890-4_1
26. Buntgen U., Ginzler C., Esper J. et al. Digitizing historical plague // *Clin. Infect. Dis.* 2012. Vol. 55, No. 11. P. 1586–1588. DOI: 10.1093/cid/cis723

27. Schmid B.V., Buntgen U., Easterday W.R. et al. Climate-driven introduction of the Black Death and successive plague reintroductions into Europe // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2015. Vol. 112, No. 10. P. 3020–3025. DOI: 10.1073/pnas.1412887112
28. Евдокимов А.В. Генетические паттерны кластера TLR10–TLR1–TLR6 популяций Челябинской области (русские, башкиры, нагайбаки) в сопоставлении с некоторыми евразийскими популяциями: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Челябинск, 2016.
13. Choudhury A, Mukherjee S. *In silico* studies on the comparative characterization of the interactions of SARS-CoV-2 spike glycoprotein with ACE-2 receptor homologs and human TLRs. *J Med Virol*. 2020;92(10):2105–2113. DOI: 10.1002/jmv.25987
14. Gadanec LK, McSweeney KR, Qaradakhli T, et al. Can SARS-CoV-2 virus use multiple receptors to enter host cells? *Int J Mol Sci*. 2021;22(3):992. DOI: 10.3390/ijms22030992
15. Patel S. Danger-Associated Molecular Patterns (DAMPs): The derivatives and triggers of inflammation. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2018;18(11):63. DOI: 10.1007/s11882-018-0817-3
16. Komai K, Shichita T, Ito M, et al. Role of scavenger receptors as damage-associated molecular pattern receptors in Toll-like receptor activation. *Int Immunol*. 2017;29(2):59–70. DOI: 10.1093/intimm/dxx010
17. Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. *Science*. 2002;296(5566):301–305. DOI: 10.1126/science.1071059
18. Leoratti FM, Farias L, Alves FP, et al. Variants in the toll-like receptor signalling pathway and clinical outcomes of malaria. *J Infect Dis*. 2008;198(5):772–780. DOI: 10.1086/590440
19. Mailaparambil B, Krueger M, Heinze J, et al. Polymorphisms of toll-like receptors in the genetics of severe RSV associated diseases. *Dis Markers*. 2008;25(1):59–65. DOI: 10.1155/2008/619595
20. Hope ACA. A simplified Monte Carlo significance test procedure. *Journal of the Royal Statistical Society Series B*. 1968;30: 582–598. DOI: 10.1111/j.2517-6161.1968.tb00759.x
21. Benjamini Y, Yekutieli D. The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency. *Annals of Statistics*. 2001;29(4):1165–1188. DOI: 10.1214/aos/1013699998
22. Clopper C, Pearson ES. The use of confidence or fiducial limits illustrated in the case of the binomial. *Biometrika*. 1934;26:404–413. DOI: 10.1093/BIOMET/26.4.404
23. R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria [Internet]. Available from: <http://www.R-project.org/index.html>. Accessed: Nov 29, 2021.
24. Hawn TR, Misch EA, Dunstan SJ, et al. A common human TLR1 polymorphism regulates the innate immune response to lipopeptides. *Eur J Immunol*. 2007;37(8):2280–2289. DOI: 10.1002/eji.200737034
25. Bramanti B, Stenseth NC, Walløe L, Lei X. Plague: a disease which changed the path of human civilization. *Adv Exp Med Biol*. 2016;918:1–26. DOI: 10.1007/978-94-024-0890-4_1
26. Buntgen U, Ginzler C, Esper J, et al. Digitizing historical plague. *Clin Infect Dis*. 2012;55(11):1586–1588. DOI: 10.1093/cid/cis723
27. Schmid BV, Buntgen U, Easterday WR, et al. Climate-driven introduction of the Black Death and successive plague reintroductions into Europe. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015;112(10):3020–3025. DOI: 10.1073/pnas.1412887112
28. Evdokimov AV. Генетические паттерны кластера TLR10–TLR1–TLR6 популяций Челябинской области (русские, башкиры, нагайбаки) в сопоставлении с некоторыми евразийскими популяциями [dissertation]. Челябинск; 2016. (In Russ.)

References

Информация об авторах / Information about the authors

Александр Викторович Евдокимов — канд. биол. наук, доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета. ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7011-368X>; Scopus Author ID: 56946405800; eLibrary SPIN: 9092-4429; e-mail: avdax@yandex.ru

Татьяна Александровна Сулова — канд. мед. наук, доцент, заведующая лабораторией иммунологических исследований. ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», Челябинск, Россия; доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета. ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7028-6839>; eLibrary SPIN: 2869-1066; e-mail: hla_chel@mail.ru

Светлана Валерьевна Беляева — канд. биол. наук, биолог лаборатории иммунологических исследований. ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», Челябинск, Россия; доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета. ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия. eLibrary SPIN: 9485-3361; e-mail: shshvetlana@gmail.com

Александра Леонидовна Бурмистрова — д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедрой микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета. ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6462-9500>; Scopus Author ID: 6701593671; eLibrary SPIN: 2374-7309; e-mail: burmal@csu.ru

Дарья Сергеевна Сташкевич — канд. биол. наук, доцент, декан биологического факультета. ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия. eLibrary SPIN: 6592-1469; e-mail: stashkevich_darya@mail.ru

Alexander V. Evdokimov — Cand. Sci. (Biol.), Assistant Professor at the Department of Microbiology, Immunology and General Biology of the Biology Faculty. Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7011-368X>; Scopus Author ID: 56946405800; eLibrary SPIN: 9092-4429; e-mail: avdax@yandex.ru

Tatyana A. Suslova — MD, Cand. Sci. (Med.), Assistant Professor, Head of the Laboratory of Immunological Research. Chelyabinsk Regional Hemotransfusion Station, Chelyabinsk, Russia; Assistant Professor at the Department of Microbiology, Immunology and General Biology of the Biology Faculty. Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7028-6839>; eLibrary SPIN: 2869-1066; e-mail: hla_chel@mail.ru

Svetlana V. Belyaeva — Cand. Sci. (Biol.), biologist of the Laboratory of Immunological Research. Chelyabinsk Regional Hemotransfusion Station, Chelyabinsk, Russia. Assistant Professor at the Department of Microbiology, Immunology and General Biology of the Biology Faculty. Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia. eLibrary SPIN: 9485-3361; e-mail: shshvetlana@gmail.com

Alexandra L. Burmistrova — MD, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Microbiology, Immunology and General Biology of the Biology Faculty. Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6462-9500>; Scopus Author ID: 6701593671; eLibrary SPIN: 2374-7309; e-mail: burmal@csu.ru

Darya S. Stashkevich — Cand. Sci. (Biol.), Assistant Professor, Dean of the Biology Faculty. Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia. eLibrary SPIN: 6592-1469; e-mail: stashkevich_darya@mail.ru

✉ Контактное лицо / Corresponding author

Александр Викторович Евдокимов / Alexander V. Evdokimov
Адрес: Россия, 454001, Челябинск, ул. Братьев Кашириных, д. 129
Address: 129 Bratiev Kashirinykh Str., Chelyabinsk, 454001, Russia
E-mail: avdax@yandex.ru